



Universitat de Lleida

## Papel de la interleuquina 6 y las angiopoyetinas 1 y 2 en la evolución de pacientes diagnosticados de Mieloma Múltiple

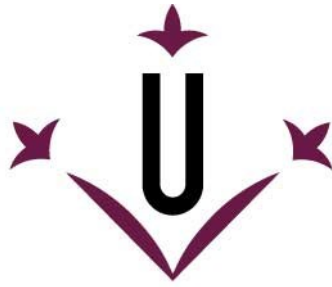
Rosa Isabel Upegui Villegas

<http://hdl.handle.net/10803/689929>

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

**WARNING.** Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.



**Universitat de Lleida**

**TESI DOCTORAL**

**Papel de la interleuquina 6 y las angiopoyetinas 1  
y 2 en la evolución de pacientes diagnosticados de  
Mieloma Múltiple**

Rosa Isabel Upegui Villegas

Memoria presentada para optar al grado de Doctor por la Universidad de  
Lleida

Programa de Doctorat en Salut (1306)

Director/a

Dr. Xavier Gómez Arbonés

Tutor/a

Dr. Xavier Gómez Arbonés

2023

# INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	8
ABREVIATURAS.....	9
RESUMEN .....	10
RESUM .....	11
ABSTRACT.....	12
1. INTRODUCCIÓN .....	13
2. MARCO TEÓRICO.....	14
2.1. MIELOMA MÚLTIPLE.....	14
2.1.1. <i>Definición y etiología del mieloma múltiple</i> .....	14
2.1.2. <i>Epidemiología</i> .....	16
2.1.3. <i>Diagnóstico</i> .....	18
2.1.4. <i>Tratamiento del mieloma múltiple</i> .....	24
2.2. NEOVASCULARIZACIÓN .....	29
2.2.1. <i>Vasculogénesis</i> .....	29
2.2.2. <i>Angiogénesis</i> .....	30
2.2.3. <i>Características estructurales y disfuncionales de los vasos sanguíneos tumorales</i> .....	31
2.2.4. <i>Mecanismos de señalización</i> .....	32
2.2.5. <i>Angiopoyetinas</i> .....	33
2.2.6. <i>Interleuquina 6 (IL6)</i> .....	38
2.2.7. <i>Aplicación terapéutica de las terapias antiangiogénicas</i> .....	40
3. JUSTIFICACIÓN.....	42
4. HIPÓTESIS .....	43
5. OBJETIVOS .....	44
6. MATERIAL Y MÉTODOS .....	45
6.1. RESPONSABILIDADES ÉTICAS .....	47
6.1.1. <i>Confidencialidad de los datos</i> .....	47
6.2. MATERIALES.....	47
6.2.1. <i>Pruebas diagnósticas</i> .....	47
6.2.2. <i>Pruebas de ELISA</i> .....	48
6.2.3. <i>Procesamiento de las muestras de sangre periférica</i> .....	49
6.3. TRATAMIENTOS UTILIZADOS EN EL HUAV DURANTE EL ESTUDIO .....	51
6.3.1. <i>Pacientes no candidatos a TASPE de médula ósea</i> .....	51
6.3.2. <i>Pacientes elegibles para TASPE de médula ósea</i> .....	51
6.3.3. <i>Tratamiento en caso de recaída o enfermedad refractaria</i> .....	52
7. PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS .....	53
8. RESULTADOS .....	54
8.1. VARIABLES BIOLÓGICAS Y CLÍNICAS .....	54
8.2. TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO .....	56
8.3. CUANTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES SEROLÓGICOS .....	58
8.3.1. <i>Angiopoyetinas e Interleuquina 6</i> .....	58

8.4. CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES AL DIAGNÓSTICO Y LOS BIOMARCADORES.....	60
8.4.1. <i>Edad</i> .....	61
8.4.2. <i>Sexo</i> .....	61
8.4.3. <i>ISS</i> .....	62
8.5. SUPERVIVENCIA.....	65
8.5.1. <i>Supervivencia Libre de progresión (SLP)</i> .....	65
8.5.2. <i>Supervivencia Global (SG)</i> .....	73
8.5.3. <i>Resultados de supervivencia de los biomarcadores angiogénicos</i> .....	82
9. DISCUSIÓN.....	86
10. CONCLUSIONES.....	97
10.1. Posibles investigaciones a futuro.....	98
11. GLOSARIO.....	99
12. ANEXOS.....	106
12.1. ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	106
12.2. ANEXO 2. HOJA INFORMATIVA.....	107
13. BIBLIOGRAFÍA.....	109
13.1. BASES DE DATOS CONSULTADAS.....	121

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos del ECIS (European cancer information system) en España en el año 2020.....	16
Tabla 2. Mortalidad por MM en ambos sexos, España (2000 a 2016).....	16
Tabla 3. Incidencia del MM en Cataluña en los años 2016 y 2017.....	17
Tabla 4. Mortalidad del MM en Cataluña en los años 2016 y 2017.....	17
Tabla 5. Criterios diagnósticos del MM sintomático.....	18
Tabla 6. Pruebas utilizadas en el diagnóstico del MM.....	22
Tabla 7. Clasificación de Durie-Salmon.....	23
Tabla 8. Estadificación ISS, validada en 2005 como predictor de supervivencia. ....	24
Tabla 9. El ISS-R .....	24
Tabla 10. Fármacos para MM.....	26
Tabla 11. Criterios de respuesta del “International Myeloma Group (2016)” .....	27
Tabla 12. Valores de referencia para las angiopoyetinas definidos en algunos estudios.....	37
Tabla 13. Medicamentos antiangiogénicos aprobados por la FDA y la EMEA.....	40
Tabla 14. Pruebas diagnósticas realizadas a los pacientes con MM.....	47
Tabla 15. Kits de ELISA de la R&D systems.....	48
Tabla 16. Instrucciones. Preparación de kits de ELISA de R&D systems.....	50
Tabla 17. Sexo y edad de los grupos seleccionados en el estudio.....	54
Tabla 18. Variables analíticas al diagnóstico de los pacientes con MM.....	55
Tabla 19. Incidencia de las gammapatías previas al diagnóstico de MM.....	56
Tabla 20. Respuesta al tratamiento de primera línea en < 70 años.....	57
Tabla 21. Respuesta al tratamiento de primera línea en ≥ 70 años.....	57
Tabla 22. Causas de exclusión para trasplante.....	57
Tabla 23. Resultados de los marcadores angiogénicos en el grupo de pacientes con MM .....	58
Tabla 24. Resultados de los marcadores angiogénicos en el grupo control.....	58
Tabla 25. Prueba de T de student para valorar las diferencias entre las medias de los biomarcadores angiogénicos .....	59
Tabla 26. Coeficiente de correlación de Pearson entre los 82 casos incluidos en el estudio.....	59
Tabla 27. Correlación de Pearson entre variables analíticas y biomarcadores angiogénicos.....	60
Tabla 28. Comparativa entre los estadios ISS y las medias de los biomarcadores.....	62
Tabla 29. SLP en pacientes con MM.....	65
Tabla 30. SLP en mujeres y hombres.....	65
Tabla 31. SLP según la edad.....	66
Tabla 32. SLP según los valores de LDH (< 450U/L vs > 450U/L).....	67
Tabla 33. SLP según los resultados de B2 microglobulina.....	67
Tabla 34. Número de pacientes <70 años con progresión según ISS.....	68
Tabla 35. Número de pacientes ≥70 años con progresión según ISS.....	68
Tabla 36. SLP según la clasificación ISS.....	69
Tabla 37. SLP según la comparación entre los estadios ISS I/II e ISS III.....	69

Tabla 38. SLP según el CM.....	70
Tabla 39. SLP según los resultados de la proteína de Bence Jones.....	70
Tabla 40. SLP según la ratio de CLL (<100 vs >100).....	71
Tabla 41. SLP según la cantidad de CP en médula ósea.....	71
Tabla 42. SLP según la ratio de FG.....	72
Tabla 43. SLP en pacientes trasplantados y no trasplantados.....	73
Tabla 44. Resultados generales de supervivencia global.....	73
Tabla 45. Supervivencia global según sexo.....	74
Tabla 46. SG según la edad.....	74
Tabla 47. SG según los valores de LDH (< 450U/L vs > 450U/L).....	75
Tabla 48. SG según los resultados de B2 microglobulina.....	76
Tabla 49. SG según estadiaje ISS.....	77
Tabla 50. SG según la comparación entre los estadios ISS I/II e ISS III.....	77
Tabla 51. SG según los resultados del CM.....	78
Tabla 52. SG según los resultados de la proteína de Bence Jones.....	79
Tabla 53. SG según la ratio de cadenas ligeras (<100 vs >100).....	79
Tabla 54. SG según la cantidad de CP en médula ósea.....	80
Tabla 55. SG según la ratio de FG.....	81
Tabla 56. SG de pacientes trasplantados y no trasplantados.....	81
Tabla 57. SLP según los resultados de la ratio Ang1/Ang2. ....	82
Tabla 58. SG según los resultados de la ratio Ang1/Ang2.....	83
Tabla 59. Análisis multivariante de la SLP con respecto a la ratio de Ang1/Ang2 y otras variables.....	84
Tabla 60. Análisis multivariante de la SG con respecto a la ratio de Ang1/Ang2 y otras variables.....	85

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mieloma múltiple .....	14
Figura 2. Imagen de células plasmáticas en médula ósea.....	15
Figura 3. Tipos de gammapatías.....	19
Figura 4. Evolución gammapatías monoclonales.....	23
Figura 5. Evolución de algunas líneas de tratamiento para el MM.....	25
Figura 6. Origen de las células endoteliales y formación de la vasculatura. ....	31
Figura 7. El efecto de la Ang2 sobre el lecho vascular.....	34
Figura 8. Señalización de la unión Ang1/Tie2 durante la angiogénesis.....	35
Figura 9. Funciones de la IL6.....	38
Figura 10. Principales dianas moleculares de los fármacos antiangiogénicos aprobados.....	41
Figura 11. Distribución de grupos seleccionados en el estudio.....	46
Figura 12. Analizador Triturus.....	48
Figura 13. Analizador Triturus y microplaca .....	49
Figura 14. Correlación entre la edad y la Ang2.....	61
Figura 15. Sexo y Ang1.....	61
Figura 16. Niveles de Ang1 en los pacientes con MM vs controles.....	63
Figura 17. Niveles de Ang2 en los pacientes con MM vs controles.....	63
Figura 18. Niveles de la ratio de Ang1/Ang2 en los pacientes con MM vs controles.....	64
Figura 19. SLP en pacientes con MM.....	65
Figura 20. SLP según el tipo de sexo.....	66
Figura 21. SLP según la edad (< 70 vs > 70 años) .....	66
Figura 22. SLP según valores de LDH (< 450 vs > 450 U/L) en pacientes con MM.....	67
Figura 23. SLP según valores de B2 microglobulina, > 5mg/dL o < 5mg/dL.....	68
Figura 24. SLP según la clasificación ISS.....	69
Figura 25. SLP según la comparación entre los estadios ISS I/II e ISS III.....	69
Figura 26. SLP según el valor de CM.....	70
Figura 27. SLP según la presencia o no de la proteína de Bence Jones.....	71
Figura 28. SLP según la infiltración por CP en médula ósea.....	72
Figura 29. SLP según la ratio de filtración glomerular.....	72
Figura 30. SLP en pacientes trasplantados y no trasplantados.....	73
Figura 31. Tiempo de supervivencia global.....	74
Figura 32. Supervivencia global en relación con el Sexo.....	74
Figura 33. SG según la edad (< 70 y > 70 años) .....	75
Figura 34. SG según valores de LDH (< 450 vs > 450 U/L) en pacientes con MM.....	76
Figura 35. SG según valores de B2 microglobulina (> 5mg/dL o < 5mg/dL).....	76
Figura 36. SG según los estadios del ISS.....	77
Figura 37. SG según la comparación entre los estadios ISS I/II e ISS III.....	78
Figura 38. SG según el componente monoclonal.....	78
Figura 39. SG según la presencia o no de la proteína de BJ.....	79
Figura 40. SG según el ratio de cadena ligera.....	80
Figura 41. SG según la infiltración de CP en médula ósea.....	80
Figura 42. SG según la ratio de FG.....	81
Figura 43. SG en pacientes trasplantados y no trasplantados.....	82
Figura 44. SLP según la ratio Ang1/Ang2 (> 6 o < 6) .....	83
Figura 45. SG con relación a la ratio Ang1/Ang2 (< 6 o > 6) .....	84

“Llegar juntos es el principio; mantenerse juntos es el progreso; trabajar juntos es el éxito.”

HENRY FORD



## AGRADECIMIENTOS

Antes que nada, he de agradecer a todos los pacientes participantes en nuestro estudio por su amable y generosa cooperación, pues sin su ayuda no podrían llevarse a cabo iniciativas como la que hemos presentado en este trabajo.

Ahora no me cabe duda de que, para la planeación y realización de un proyecto, no solamente se necesita una idea o iniciativa de la cual partir, también se necesita el soporte y la guía de aquellos que conocen y trabajan día a día en esa área. Es por ello que debo agradecer inmensamente al Dr. Antonio García Guiñón, por todo el apoyo que me ha dado durante estos años y, sobre todo, por no claudicar a pesar de los obstáculos que se nos han presentado en el camino.

Agradezco también a el Dr. Xavier Gómez por su amable consejo, apoyo y disponibilidad en todo momento, pues siempre nos aportó guía y serenidad a la hora de tomar una decisión.

No puedo dejar de agradecer, igualmente, a la Sra. Anais Panosa del IRB Lleida y a algunos de los adjuntos del Laboratorio Clínico del Hospital Arnau de Vilanova en Lleida, como son: la Dra. Montserrat Teixidó Amoros y el Dr. Aureli Esquerda Serrano, por su cordialidad y ayuda a la hora de dedicar su tiempo de forma desinteresada para analizar algunas de las muestras de nuestro estudio.

Mis agradecimientos también van dirigidos al Servicio de Hematología del Hospital Arnau por su apoyo al permitirme acceder a una parte de sus recursos financieros y bases de datos durante el desarrollo de la investigación.

Por último, pero no menos importante, le agradezco a mi familia su paciencia, apoyo y buen humor durante todos estos años.

A todos ellos, gracias por estar ahí.

## ABREVIATURAS

AcMO	Anticuerpos monoclonales específicos
Ang	Angiopoyetina
CE	Célula endotelial
CM	Componente monoclonal
CMF	Citometría de flujo
CP	Célula plasmática
CRAB	Hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia, lesiones óseas
Dim	Disminuido
dL	Decilitro
EDTA	Ácido etilen diamino tetraacético
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay</i>
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FG	Filtración glomerular
FISH	<i>Fluorescence in situ hybridization</i> (Hibridación in situ fluorescente)
CLL	Cadenas ligeras libres ( <i>Free light chains</i> )
FNT	Factor de necrosis tumoral
Hb	Hemoglobina
hab	Habitantes
Igs	Inmunoglobulinas
IL6	Interleuquina -6
ISS	Índice pronóstico internacional
IMWG	Grupo internacional de Mieloma múltiple ( <i>International Mieloma Working Group</i> )
LDH	Lactato deshidrogenasa
mg	Miligramo
MM	Mieloma múltiple
MO	Médula Ósea
NGS	Secuenciación de nueva generación (Next generation sequencing)
PCR	Proteína C reactiva
PET/TAC	Tomografía por emisión de positrones
RNM	Resonancia Magnética
p	Valor de p (significancia estadística)
r	Coefficiente de correlación
SG	Supervivencia global
SLP	Supervivencia libre de progresión
SP	Sangre periférica
TASPE	Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos
T°	Temperatura
TGFβ	Factor de crecimiento transformante tipo beta
TNF	Factor de necrosis tumoral
Tto	Tratamiento
VE	Factor endotelial vascular
VEGF	Factor de crecimiento endotelial

## RESUMEN

El mieloma múltiple (MM) es la segunda neoplasia hematológica más frecuente, representa el 1% de todos los cánceres y, aproximadamente, el 10% de las neoplasias hematológicas malignas. Se caracteriza por la expansión clonal de las células plasmáticas malignas en la médula ósea, donde proliferan y adquieren resistencia a la apoptosis, conduciendo eventualmente a la aparición de: osteólisis, disfunción renal, anemia, hipercalcemia, etc.

Es conocida la importancia de la angiogénesis en la fisiopatología del cáncer y, por ende, también en el mieloma. Por esta razón, se decidió llevar a cabo un estudio prospectivo en el servicio de Hematología del Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida, con el propósito de valorar el comportamiento al diagnóstico de la interleuquina 6 y las angiopoyetinas 1 y 2, con respecto a la supervivencia de los pacientes con MM.

En el estudio se incluyeron 62 pacientes con MM diagnosticados entre 2014 y 2019, junto a 20 sujetos sanos (o controles). En este período se registraron: los resultados de las variables clínico-biológicas más relevantes en el diagnóstico del MM, las primeras líneas de tratamiento administradas, los marcadores angiogénicos seleccionados y su relación con la supervivencia de los pacientes.

En nuestro estudio observamos que las angiopoyetinas 1 y 2 pueden llegar a ser marcadores útiles para determinar la evolución de la enfermedad. En el caso de la Ang1 observamos que se encuentra elevada en sujetos sanos y en estadios más tempranos de la enfermedad; a diferencia de aquellos casos en los que la patología está presente o se encuentra en un estadio avanzado, ( $p < 0,050$ ). Lo contrario ocurre en el caso de la Ang2, que al parecer presenta un comportamiento inverso a la Ang1 ( $r = -0,256$ ,  $p = 0,020$ ).

De la misma forma, hemos observado que en aquellos pacientes con una ratio de Ang1/Ang2  $< 6$  la supervivencia libre de progresión (SLP) fue de 24,8 meses (15,0-34,5 meses, IC95%), en comparación con aquellos con una ratio  $> 6$  cuya SLP fue de 48,2 meses (40,2-56,1 meses, IC95%),  $p = 0,019$ .

La supervivencia global (SG) de los pacientes con una ratio de Ang1/Ang2  $> 6$  fue de 63,3 meses (55,6-71,0 meses, IC95%); y la de aquellos con una ratio  $< 6$  fue de 39,3 meses (28,6-49,9 meses, IC95%),  $p = 0,009$ .

Tanto con la SLP como con la SG se observó una relación estadísticamente significativa con respecto a la ratio de Ang1/Ang2, sin embargo, no obtuvimos los mismos resultados con la IL6 ( $p = 0,507$ ). En el caso de la ratio de Ang1/Ang2, se pudo apreciar su posible utilidad como un factor pronóstico independiente en la supervivencia global, de la misma forma que la edad y el sexo de los pacientes diagnosticados con MM ( $p = 0,032$ ).

Los resultados obtenidos, probablemente, se han visto favorecidos por la propia actividad antiangiogénica de algunos de los medicamentos que se administran actualmente en el tratamiento de esta patología. Esta potencial relación soporta la idea de considerar a la angiogénesis como un proceso crucial en la progresión del MM, y como un indicador pronóstico en el seguimiento de la enfermedad.

## RESUM

El mieloma múltiple (MM) és la segona neoplàsia hematològica més freqüent, representa l'1% de tots els càncers i, aproximadament, el 10% de les neoplàsies hematològiques malignes. Es caracteritza per l'expansió clonal de les cèl·lules plasmàtiques malignes a la medul·la òssia, on proliferen i adquireixen resistència a l'apoptosi, conduint eventualment a l'aparició de: osteòlisi, disfunció renal, anèmia, hipercalcèmia, etc.

És coneguda la importància de l'angiogènesi en la fisiopatologia del càncer i, per tant, també en el mieloma. Per aquesta raó, es va decidir dur a terme un estudi prospectiu al servei d'Hematologia de l'Hospital Universitari Arnau de Vilanova de Lleida, amb el propòsit de valorar el comportament al diagnòstic de la interleuquina 6 i les angiopoietines 1 i 2, respecte a la supervivència dels pacients amb MM.

A l'estudi es van incloure 62 pacients amb MM diagnosticats entre 2014 i 2019, juntament amb 20 subjectes sans (o controls). En aquest període es van registrar: els resultats de les variables clinicobiològiques més rellevants en el diagnòstic del MM, les primeres línies de tractament administrades, els marcadors angiogènics seleccionats i la seva relació amb la supervivència dels pacients.

Al nostre estudi observem que les angiopoietines 1 i 2 poden arribar a ser marcadors útils per determinar l'evolució de la malaltia. En el cas de l'Ang1 observem que es troba elevada en subjectes sans i en estadis més primerencs de la malaltia, a diferència dels casos en què la patologia és present o es troba en un estadi avançat ( $p = < 0,050$ ). El contrari passa en el cas de l'Ang2, que sembla que presenta un comportament invers a l'Ang1 ( $r = -0,256$ ,  $p = 0,020$ ).

De la mateixa manera, hem observat que en aquells pacients amb una ràtio d'Ang1/Ang2  $< 6$  la supervivència lliure de progressió (SLP) va ser de 24,8 mesos (15,0-34,5 mesos, IC95%), en comparació amb aquells amb una ràtio  $> 6$  la SLP dels quals va ser de 48,2 mesos (40,2-56,1 mesos, IC95%),  $p = 0,019$ .

La supervivència global (SG) dels pacients amb una ràtio d'Ang1/Ang2  $> 6$ , va ser de 63,3 mesos (55,6-71,0 mesos, IC95%), i la d'aquells amb una ràtio  $< 6$  va ser de 39,3 mesos (28,6-49,9 mesos, IC95%),  $p = 0,009$ .

Tant amb la SLP com amb la SG es va observar una relació estadísticament significativa respecte a la ràtio d'Ang1/Ang2, però no vam obtenir els mateixos resultats amb la IL6 ( $p = 0,507$ ). En el cas de la ràtio d'Ang1/Ang2 es va poder apreciar la seva possible utilitat com a factor pronòstic independent en el cas de la supervivència global, de la mateixa manera que l'edat i el sexe dels pacients diagnosticats amb MM ( $p = 0,032$ ).

Els resultats obtinguts, probablement, han estat afavorits per la pròpia activitat anti-angiogènica d'alguns dels medicaments que actualment s'administren en el tractament d'aquesta patologia. Aquesta relació potencial suporta la idea de considerar l'angiogènesi com un procés crucial en la progressió del MM, i com un indicador pronòstic en el seguiment de la malaltia.

## ABSTRACT

Multiple myeloma (MM) is the second most common hematologic malignancy, accounting for 1% of all cancers and approximately 10% of hematologic malignancies. It is characterized by the clonal expansion of malignant plasma cells in the bone marrow, where they proliferate and acquire resistance to apoptosis, eventually leading to the appearance of: osteolysis, renal dysfunction, anemia, hypercalcemia, etc.

The importance of angiogenesis in the pathophysiology of cancer and, therefore, also in myeloma is well known. For this reason, we decided to carry out a prospective study in the Hematology Service of Arnau of Vilanova University Hospital in Lleida, with the purpose of assessing the behavior at diagnosis of interleukin 6 and angiopoietins 1 and 2, regarding to the survival of patients with MM.

The study included 62 patients with MM diagnosed between 2014 and 2019, along with 20 healthy subjects (or controls). During this period, the results of the most relevant clinical-biological variables in the diagnosis of MM, the first lines of treatment administered, the selected angiogenic markers and their relationship with patient survival were recorded.

In our study, we observed that angiopoietins 1 and 2 can become useful markers to determine the evolution of the disease. In the case of Ang1, we observed that it is elevated in healthy subjects and in earlier stages of the disease, unlike those cases in which the pathology is present or in an advanced stage ( $p = <0,050$ ). The opposite occurred in the case of Ang2, which presented an inverse behavior to Ang1 ( $r = -0,256$ ,  $p = 0,020$ ).

In the same way, we have observed that in those patients with an Ang1/Ang2 ratio  $<6$ , the progression-free survival (PFS) was 24,8 months (15,0 - 34,5 months, 95%CI), compared with those with a ratio  $>6$  whose PFS was 48,2 months (40,2-56,1 months,95%CI),  $p = 0,019$ .

The overall survival (OS) of patients with an Ang1/Ang2 ratio  $> 6$  was 63,3 months (55,6 - 71,0 months, 95%CI), and that of those with a ratio  $< 6$  was 39,3 months (28,6 - 49,9 months, 95%CI),  $p = 0,009$ .

With both PFS and OS, a statistically significant relationship was observed with respect to the Ang1/Ang2 ratio, however, we did not obtain the same results with IL6 ( $p = 0,507$ ). In the case of the Ang1/Ang2 ratio, it was possible to appreciate its utility as an independent prognostic factor in the case of overall survival, in the same way as age and gender for patients diagnosed with MM ( $p = 0,032$ ).

The results obtained have probably been favored by the antiangiogenic activity of some of the drugs currently administered in the treatment of this pathology. This potential relationship supports the idea of considering angiogenesis as a crucial process in the progression of MM, and as a prognostic indicator in the follow-up of the disease.

## 1. INTRODUCCIÓN

El interés en el papel de la angiogénesis, en el crecimiento y la expansión de los tumores sólidos y hematológicos, ha ido aumentando en las últimas décadas por parte de algunos investigadores<sup>1,2</sup>. En el caso del MM se han realizado estudios que han evidenciado la importancia del microambiente tumoral para la proliferación de las células tumorales, la invasión y los fenómenos de metástasis a través de procesos, como: la generación de señales de supervivencia, la interacción de moléculas de adhesión, y la producción de factores de crecimiento y proangiogénicos<sup>2,3</sup>.

Se ha observado cierta interacción entre las células endoteliales maduras o circulantes (CEC), las células endoteliales inmaduras o progenitoras (CEP), las células plasmáticas (CP) y las células del estroma de la médula ósea (células madre hematopoyéticas, fibroblastos, osteoblastos, osteoclastos, condroclastos, linfocitos, macrófagos y mastocitos)<sup>4</sup>. Dicha interacción es mediada por una serie de: citoquinas, receptores y moléculas de adhesión que modulan la respuesta angiogénica en algunos tipos de tumores, llegando a asociarse la presencia de algunas moléculas (IL6, angiopoyetinas, VEGF, etc.) con el tipo de respuesta mostrada en la fase de tratamiento y/o la supervivencia observados en estas entidades<sup>5,2,6</sup>.

Debido a que la angiogénesis es un proceso clave en el crecimiento tumoral y la metástasis, es comprensible esperar que en la investigación sobre las características y los mecanismos reguladores de la expresión de factores angiogénicos, se dirija la mirada hacia la identificación de nuevos marcadores y de procesos involucrados en la función de algunas moléculas pro-angiogénicas, la activación de las células endoteliales y/o su papel en la evolución de algunas patologías, como: el cáncer de ovario, el cáncer de pulmón, el linfoma, el MM u otros tipos de neoplasias<sup>7</sup>.

Se ha demostrado que los inhibidores de la vía del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), como: la talidomida, el bevacizumab u otros medicamentos inhibidores de la angiogénesis (axitinib, sunitinib, lenalidomida, etc.), prolongan la supervivencia libre de progresión y la supervivencia global de los pacientes afectados por cierto tipo de tumores, por lo que han sido aprobados por la EMEA y la FDA para su tratamiento<sup>8,9</sup>.

De aquí que, llevar a cabo la estratificación de los pacientes en función de los niveles de estas citoquinas en el momento del diagnóstico podría ser útil para detectar diferentes grupos de riesgo, su respuesta al tratamiento o su evolución<sup>10</sup>.

Dicho lo anterior, cabe resaltar que las células endoteliales en sangre periférica y algunos marcadores serológicos proangiogénicos son cuantificables en los sujetos sanos<sup>11,12</sup>. Sin embargo, se ha evidenciado que sus niveles varían en diferentes patologías, como: la enfermedad coronaria, los cuadros infecciosos, los trastornos inmunológicos y el cáncer<sup>13</sup>.

La determinación de algunos marcadores séricos (como es el caso de la interleuquina 6 y las angiopoyetinas) podría ser un recurso útil para determinar: el grado de daño vascular, la remodelación y la disfunción tisular que producen algunas patologías como el MM<sup>14</sup> y, por tanto, estos marcadores podrían tener un impacto importante a la hora de determinar el pronóstico de los pacientes afectados por dichas enfermedades.

## 2. MARCO TEÓRICO

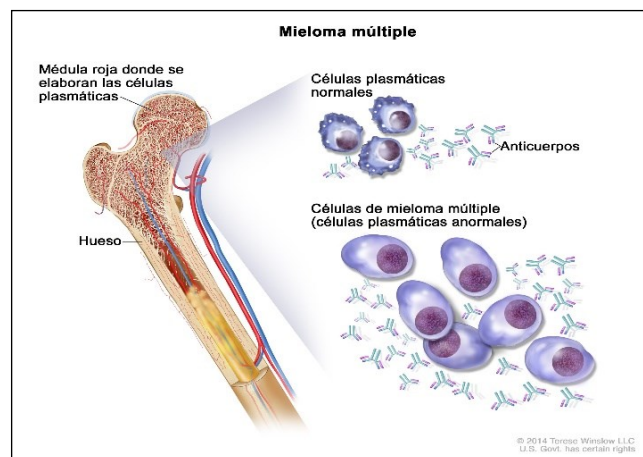
### 2.1. MIELOMA MÚLTIPLE

#### 2.1.1. Definición y etiología del mieloma múltiple

El Mieloma múltiple (conocido como enfermedad de Kahler o enfermedad de Bozzolo en el siglo XIX<sup>15</sup>) es una gammapatía o neoplasia clonal maligna de células plasmáticas que secretan una inmunoglobulina (Ig) monoclonal, que puede ser detectada en suero y/o orina por electroforesis o inmunofijación (esta asociación entre el MM con una proteína monoclonal en suero se describió a finales de la década de 1930, y en el año 1950 se utilizaron por primera vez la electroforesis y la inmunofijación para su diagnóstico).

Las proteínas de Bence-Jones descritas a mediados del siglo XIX por el Dr. Henry Bence Jones, fueron identificadas como cadenas ligeras de inmunoglobulinas en 1963 por el premio Nobel Gerald Edelman <sup>16</sup>.

Las células plasmáticas se albergan y expanden en la médula ósea, favoreciendo la aparición de: anemia, dolor óseo, fracturas patológicas, debilidad, hipercalcemia, compresión de la médula espinal, insuficiencia renal, inmunosupresión e infección <sup>17</sup>.



**Figura 1.** Mieloma múltiple (imagen extraída de: [www.cancer.gov/images/cdr/live/CDR766670.jpg](http://www.cancer.gov/images/cdr/live/CDR766670.jpg))<sup>18</sup>

A pesar de algunos resultados poco concluyentes, en los que se ha observado cierta relación entre: alteraciones citogenéticas, la radiación ionizante, las infecciones por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el virus de la hepatitis C <sup>19</sup> (que parecen elevar el riesgo de padecer la enfermedad), la etiología del MM es poco conocida. Hasta el momento, no se ha encontrado relación entre su aparición y algunos factores de riesgo reconocidos en el desarrollo de otras patologías malignas como, por ejemplo: el tabaquismo, una dieta alta en grasas, infecciones u otros factores predisponentes<sup>20,21</sup>.

Esta patología es más frecuente en mayores de 50 años (la mayoría se diagnostica entre los 60 y 70 años), y es rara antes de los 40 años (2%). Se reporta con más frecuencia en la etnia negra, y se han descrito casos en casi todos los lugares del mundo <sup>1,22</sup>.



Como ya se ha mencionado, una de las principales características de la enfermedad es la producción de proteína monoclonal. Para comprender su aparición es necesario mencionar la producción inicial de inmunoglobulina monoclonal (M) por parte de las CP inmaduras (con una vida media más corta), que participa en la respuesta inmune primaria.

En algunas circunstancias estas proteínas experimentan hipermutaciones de los genes variables de las cadenas ligeras y pesadas de las inmunoglobulinas (Igs), que activan la producción de otros isotipos de inmunoglobulinas como: la IgG y la IgA o, con menor frecuencia, la IgE y la IgD.

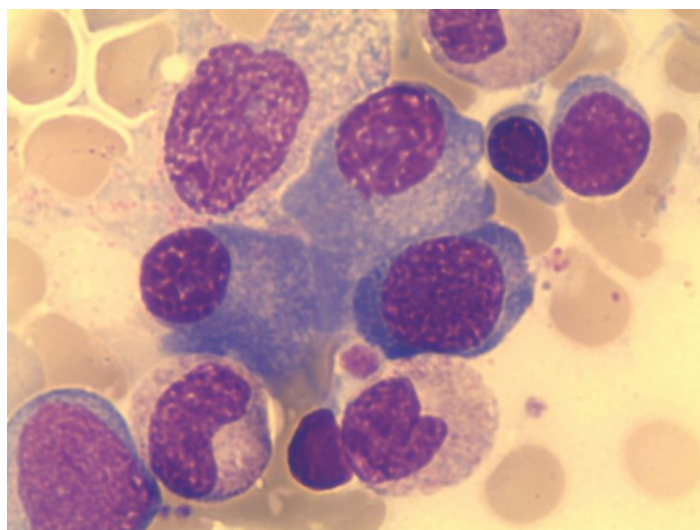
Tras estos cambios las células linfocitarias migran a la médula ósea para diferenciarse en CP con una vida media más prolongada (días o meses). Sin embargo, cuando las CP monoclonales proliferan de forma anormal en la médula ósea y producen grandes cantidades de inmunoglobulinas o componente monoclonal, aparece el MM.

Algunos investigadores han demostrado que muchos de los casos de MM surgen a partir de una alteración monoclonal preexistente de las células plasmáticas, siendo la más frecuente la gammapatía monoclonal de significado indeterminado (o incierto, GMSI)<sup>23</sup>.

La GMSI se caracteriza por el aumento de una inmunoglobulina monoclonal sérica sin asociarse a daño de un órgano diana.

La progresión de la enfermedad a MM ha sido reconocida como el resultado de diferentes cambios a nivel del microambiente medular que favorecen la adquisición de autosuficiencia por parte de estas células. Esto a su vez facilita el desarrollo de: capacidades invasivas, propagación, evasión de la apoptosis y generación de señales de crecimiento<sup>22</sup> (por el momento, los estudios de expresión génica de las CP en la GMSI y el MM, demuestran que las células malignas difieren de las normales, pero sin diferencias significativas entre ambos tipos de gammapatías<sup>24</sup>).

Es decir, las células neoplásicas pueden activar a los fibroblastos y a las células endoteliales, para iniciar una respuesta angiogénica y facilitar la extensión de la enfermedad<sup>25</sup>.



**Figura 2** . Imagen de células plasmáticas en médula ósea (imagen de Rosa I. Upegui).



## 2.1.2. Epidemiología

El MM es una patología poco frecuente (a pesar de ser la segunda neoplasia hematológica más diagnosticada). Según las estadísticas de 2020 de la “International Agency for research of cancer from WHO organization (Globocan)”, se estima que hubo 176404 casos nuevos de MM a nivel mundial, es decir, el 0,91% de todos los diagnósticos de cáncer reportados. Aproximadamente, 98613 de esos casos eran hombres y 77791 eran mujeres, lo que equivale a una incidencia de 2,2/100000 hab (habitantes) y 1,5/100000 hab, respectivamente<sup>26</sup>. Esta patología se presenta más frecuentemente en territorios desarrollados como: Australia, Nueva Zelanda, Europa y Norte América<sup>27</sup>.

### 2.1.2.1. Incidencia y Mortalidad en España

En España al igual que en el resto del mundo, la incidencia y mortalidad del MM son elevadas en los pacientes mayores de 65 años. Estos representan más de un 75% de los casos reportados en la población mayor de 60 años (solo un 2% de los pacientes son menores de 40 años). Otros factores asociados a un mayor riesgo de padecer la enfermedad son: el sexo masculino, la raza afroamericana, la inmunodeficiencia y la presencia de enfermedades inflamatorias crónicas (obesidad, diabetes mellitus, etc.)<sup>22,28</sup>.

Datos sobre incidencia y mortalidad 2020	
Incidenia	4,9/100000 hab. en mujeres y 8,7/100000 hab. en hombres
Supervivencia	3,4/100000 hab. en mujeres y 5,5/100000 hab. en hombres

**Tabla 1.** Datos extraídos del ECIS (European cancer information system) sobre incidencia y mortalidad del MM en España en el año 2020<sup>29,30,31</sup>.

Año	Mortalidad /100000 habitantes	
	Hombre	Mujer
2000	6,59	4,75
2001	6,62	4,67
2002	6,25	4,39
2003	6,34	4,46
2004	5,85	4,36
2005	5,99	4,08
2006	5,43	3,85
2007	5,87	4,08
2008	5,05	4,15
2009	5,53	3,67
2010	5,17	3,69
2011	5,75	3,96
2012	5,64	3,77
2013	5,42	3,72
2016	4,50	3,95

**Tabla 2.** Mortalidad por MM en ambos sexos, España 2000 a 2016 (datos extraídos de WHO cancer mortality database (IARC). <http://www-dep.iarc.fr/WHODb/WHODb.html>)<sup>32</sup>.

La tabla anterior contiene las cifras de mortalidad de la enfermedad en ambos sexos, entre el año 2000 y 2016 en España. En ésta se evidencia una disminución progresiva en el número de exitus para ambos grupos hasta llegar al año 2016, probablemente, gracias al desarrollo de nuevas líneas de tratamiento durante los últimos 20 años.

En el caso de la “American Cancer society”, la tasa relativa de supervivencia global entre 2009 y 2015 a 5 años fue del 60% después del diagnóstico<sup>33</sup>.

Según las cifras del observatorio de la Organización mundial de la salud (Globocan), las muertes reportadas en 2020 por MM fueron 117077 (de estos 65197 fueron hombres y 51880 mujeres)<sup>27</sup>.

### 2.1.2.2. Incidencia de mieloma múltiple en Cataluña

Con el objetivo de describir en el ámbito regional el comportamiento de la enfermedad en Cataluña, se han consultado los datos suministrados por el IDESCAT (a través del padrón continuo) publicados en mayo del 2018 en el canal cáncer por el “Plan director de oncología de Cataluña”. Los últimos datos consultados en esta página web describían las cifras de incidencia y mortalidad del MM de entre el total de casos de cáncer reportados durante los años 2016 y 2017 (ver tablas 3 y 4).

Incidencia	2016		2017	
	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre
N.º de Casos nuevos	272	271	279	274
N.º Total de casos de cáncer (sin tumores de piel diferentes al melanoma)	15922	22562	16095	23067

**Tabla 3.** Incidencia del MM en Cataluña en los años 2016 y 2017 (datos extraídos de <http://canalsalut.gencat.cat/ca/salut-a-z/c/cancer>)<sup>34</sup>.

Mortalidad	2016		2017	
	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre
N.º de fallecimientos	161	171	164	175
N.º Total de muertes por cáncer (sin tumores de piel diferentes al melanoma)	6573	10687	6611	10770

**Tabla 4.** Mortalidad del MM en Cataluña en los años 2016 y 2017 (datos extraídos de <http://canalsalut.gencat.cat/ca/salut-a-z/c/cancer>)<sup>34</sup>.

En los años 2016 y 2017, según las fuentes consultables por la página web de la Generalitat de Cataluña, se evidenciaron cifras muy similares entre ambos sexos en cuanto a la incidencia de la enfermedad, sin embargo, las defunciones eran ligeramente mayores en varones.

### 2.1.3. Diagnóstico

Como ya se ha mencionado anteriormente, el MM forma parte de un grupo de patologías denominadas gammapatías monoclonales, cuyas características más relevantes se describen de forma resumida a continuación (según los criterios diagnósticos del grupo de trabajo internacional de Mieloma, sobre mieloma múltiple y otros trastornos relacionados de las células plasmáticas).

#### 2.1.3.1. Mieloma múltiple activo (sintomático)

Los criterios utilizados para el diagnóstico del MM fueron los recomendados por el grupo de trabajo internacional en MM (International Mieloma Working Group - IMWG) en el año 2014. En estas guías se adicionaron nuevos biomarcadores para complementar el estudio de aquellos casos en los que no se lograban objetivar los criterios diagnósticos más utilizados (criterios “CRAB”) para determinar la presencia de la enfermedad<sup>35,36</sup>.

El cuadro clínico de esta entidad se relaciona con la proliferación de CP clonales en la médula ósea (deben contabilizarse  $\geq 10\%$ ) y, en algunas ocasiones, con el compromiso de otros órganos. Es frecuente observar signos y síntomas como: anemia (70%), lesiones óseas (60-80%), insuficiencia renal (20%), hipercalcemia (15%), astenia (32%), disfunción de la capacidad efectora de los linfocitos T y, con menor frecuencia: parestesias, hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenopatías y fiebre<sup>35,37</sup>.

C (Hipercalcemia)	$\geq 11,5$ mg/dL ( $> 2,65$ mmol/L) o $> 1$ mg/dL sobre el límite superior.
R (Insuficiencia renal)	Creatinina $\geq 2$ mg/dL ( $>177$ mmol/L) o aclaramiento de creatinina $<40$ mL/min.
A (Anemia)	Hemoglobina $<10$ g/dL o 2 g/dL por debajo del límite inferior ( $<12,5$ mmol/L).
B (Lesiones óseas)	Una o más lesiones osteolíticas en la radiografía simple, Tomografía o PET-TC (incidencia del 70%), u osteoporosis con fracturas compresivas no atribuibles a causas habituales.
Uno o más de estos biomarcadores de alto riesgo (incluso en ausencia de CRAB)	<ol style="list-style-type: none"> <li><math>\geq 60\%</math> CP clonales en médula ósea.</li> <li>Ratio de cadenas ligeras libres en suero (CLL): alterada/no alterada <math>\geq 100</math> (la CLL alterada debe ser <math>\geq 100</math> mg/dL, <math>\kappa</math> o <math>\lambda</math>).</li> <li><math>&gt;1</math> lesión focal de <math>\geq 5</math> mm en los resultados de la resonancia magnética (RM).</li> </ol>

**Tabla 5.** Criterios diagnósticos del MM sintomático (datos extraídos de Rajkumar SV, et al. *Lancet Oncol.* 2014;15(12):e538-e548)<sup>35</sup>.

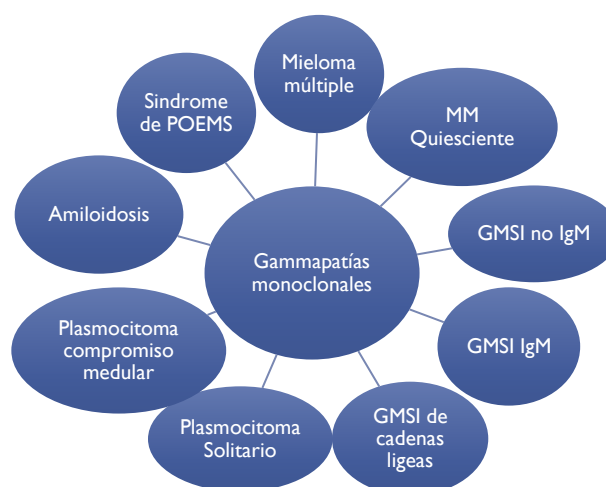
Durante al diagnóstico del MM debe considerarse la posibilidad de encontrar algunas formas poco frecuentes como: el MM no secretor que representa entre el 3 a 5 % de los MM diagnosticados, y se caracteriza por no presentar un CM en suero ni en orina cuantificable. Sin embargo, pueden detectarse cadenas ligeras en suero hasta en dos tercios de los pacientes<sup>38</sup>. Si bien la presentación clínica es similar a un MM estándar, la anemia y las lesiones líticas pueden observarse con mayor frecuencia, mientras que la insuficiencia renal es poco común<sup>39,40</sup>. Otros tipos de MM mucho más raros como el MM IgD, representan alrededor de un 2%.

En el informe del Comité clínico asesor sobre “la clasificación de consenso internacional de neoplasias linfoides maduras” de 2022<sup>41,49</sup>, se propuso subdividir formalmente al MM en dos grupos mutuamente excluyentes:

1. Mieloma múltiple no especificado (NOS): 9–10 % de los casos
2. MM con anomalía genética recurrente: 90% de los casos
  - MM con translocación familiar CCND: con una frecuencia del 18-20% y un riesgo estándar en cuanto a la progresión de la enfermedad.
    - t(11;14) CCND1::IGH (16%)
    - t(12;14) CCND2::IGH (< 1%)
    - t(8;14) CCND3::IGH (2–6 %)
  - MM con translocación familiar MAF: con una frecuencia de 6–8% y un riesgo bajo.
    - t(14;16) IGH::MAF (3–5 %)
    - t(8;14) MAFA::IGH (1%)
    - t(14;20)IGH::MAFB (2%)
  - MM con translocación NSD2 t(4;14): una incidencia del 13–15% y un riesgo bajo.
  - MM con hiperdiploidia: aparece en un 45% de los casos con un pronóstico favorable.

### 2.1.3.2. Otras gammopatías

Durante el período diagnóstico del MM encontramos otros tipos de entidades a descartar estrechamente relacionadas entre sí, por ejemplo:



**Figura 3.** Tipos de gammopatías (imagen de Rosa I. Upegui).

### 1. Gammapatía de significado incierto (GMSI)

Es un trastorno premaligno de CP clonales, caracterizado por la presencia de una proteína monoclonal (M), <10% de CP clonales en la médula ósea y ausencia de MM o neoplasias linfoplasmocíticas relacionadas. La GMSI está presente en cerca del 1% de la población sana mayor de 50 años, y su prevalencia aumenta con la edad, llegando al 3% en las personas sanas mayores de 70 años.

Los criterios diagnósticos de la GMSI a tener en cuenta, son <sup>21,42</sup>:

- Proteína M (o paraproteína sérica): IgG e IgA < 3 g/dL (no IgM).
- Proteína de Bence Jones < 500 mg/24 h.
- Células plasmáticas clonales en médula ósea < 10%.
- Ausencia de criterios diagnósticos de MM o amiloidosis.

### 2. Mieloma múltiple quiescente (asintomático)

El MM quiescente o "Smoldering multiple myeloma" (SMM) es una etapa asintomática (considerada premaligna) caracterizada por una infiltración de CP en la médula ósea de entre un 10-60%, en ausencia de eventos característicos de MM o daño orgánico.

Los Criterios diagnósticos a tener en cuenta, son <sup>43,44</sup>:

- Proteína monoclonal (M) en suero: IgG e IgA  $\geq$  3 g/dL.
- Proteína de Bence Jones  $\geq$  500 mg/24 h.
- Células plasmáticas clonales en médula ósea 10% - 60%.
- Ausencia de criterios diagnósticos de MM o amiloidosis.

### 3. Leucemia de células plasmáticas (LCP)

Este tipo de leucemia es poco frecuente, presenta una incidencia global de 0,04 casos nuevos/100000 personas al año en Europa.

Tradicionalmente, el diagnóstico de LCP se ha basado en los criterios de Kyle, que definen la entidad como la presencia de >20 % de CP en sangre periférica y/o un recuento de  $\geq 2 \times 10^9/L$ . Sin embargo, recientemente algunos estudios sugieren que podría aplicarse un umbral de  $\geq 5\%$  de CP, pues los pacientes que tienen este porcentaje de células al momento del diagnóstico, tienen un pronóstico similar a aquellos con  $\geq 20\%$ <sup>28,45</sup>.

La LCP puede presentarse sin haber un diagnóstico de MM previo, es decir, LCP primaria (60% de los casos); o tras un diagnóstico de MM (LCP secundaria, 40 % de los casos)<sup>46</sup>. Hasta la fecha, los eventos biológicos y moleculares responsables de esta transformación leucémica no se han explicado adecuadamente <sup>47</sup>.

### 4. Plasmocitoma solitario en tejido óseo

Los plasmocitomas óseos solitarios (tumor único de CP a nivel óseo) representan alrededor del 4-5% de todas las neoplasias de células plasmáticas. No se observan los síntomas descritos en el MM (no hay CRAB), ni alteraciones en el aspirado o biopsia de médula ósea <sup>48</sup>, sin embargo, a los 10 años entre el 60-85% de los pacientes termina desarrollando un MM <sup>46,49</sup>.

#### 5. Plasmocitoma solitario en partes blandas

Los plasmocitomas extramedulares comprenden el 1-3% de los tumores malignos de células plasmáticas. Esta lesión se define como un tumor solitario de CP en los tejidos blandos, que se presentan con mayor frecuencia en: amígdalas, nasofaringe o senos paranasales. Se caracteriza por no haber compromiso del tejido óseo <sup>50</sup>.

El riesgo de progresión a MM es del 12 a 35% después de 10 años<sup>49</sup>.

#### 6. Mieloma osteo - esclerótico (síndrome POEMS)

Las siglas de este síndrome significan: polineuropatía, organomegalia, endocrinopatía, componente monoclonal y alteraciones en piel. Es una causa poco común de neuropatía mixta desmielinizante y axonal, asociada a un trastorno proliferativo de CP monoclonales y afectación de múltiples órganos. Su patogenia aún no es todo bien comprendida, pero es probable que la sobreproducción del VEGF se asocie a su aparición. Es una enfermedad potencialmente mortal que deteriora rápidamente la calidad de vida los de pacientes <sup>51</sup>.

#### 7. Amiloidosis

La amiloidosis es un conjunto de enfermedades cuya patología consiste en la acumulación extracelular de fibrillas proteicas, que muestran una birrefringencia a la luz polarizada con la tinción del rojo Congo. Esta enfermedad se debe a un trastorno del metabolismo de las proteínas en el que se produce el depósito extracelular de un material proteico fibrilar o amiloide, que es el responsable del fracaso lento y gradual del órgano afectado<sup>52</sup>.

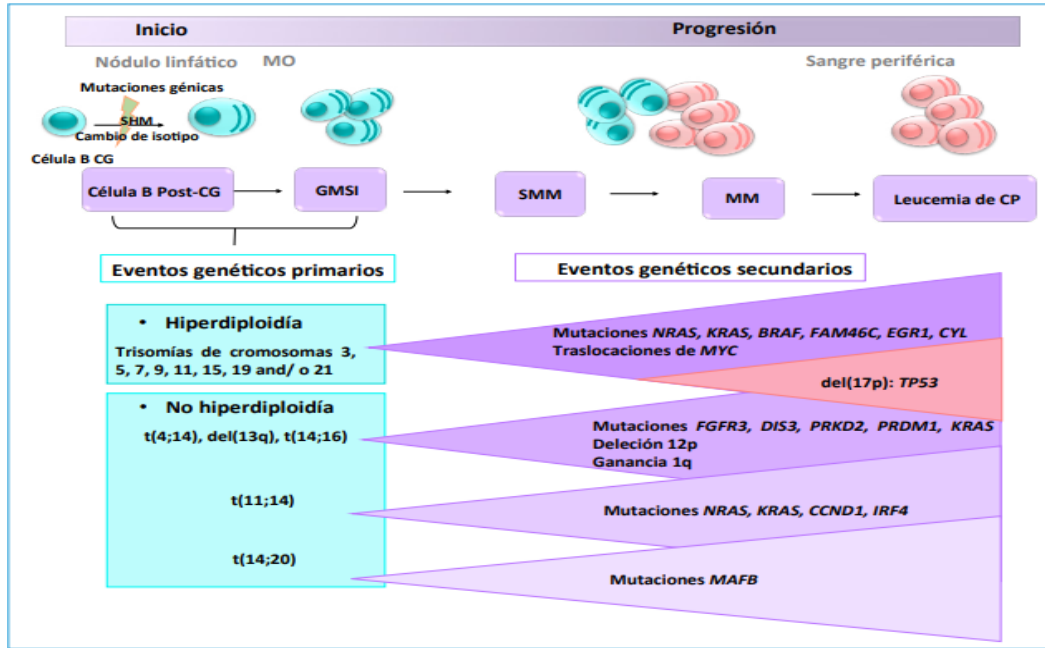
### 2.1.3.3. Pruebas diagnósticas

Para el diagnóstico del MM se han de valorar los siguientes biomarcadores (en sangre, suero y orina), junto con las pruebas de imagen que complementan la evaluación de los criterios clínicos observados previamente por el facultativo.

Prueba	Descripción
Analítica básica	Hemograma, pruebas de función renal, iones séricos, B2 microglobulina, LDH, albúmina.
Aspirado medular	Cuantificación y morfología celular.
Citometría de flujo (Inmunofenotipo)	Análisis de anticuerpos monoclonales expresados por las CP, como: subexpresión de CD19, CD27, CD38, CD45 y/o CD81; sobreexpresión de CD28 y/o CD56, y asincronía de CD117.
Citogenética y FISH	Descartar la presencia de t(4;14), t(14; 16), t(14;20), ganancia 1q21/1p, del(13),del(17p) o mutación p53.
Electroforesis	Detecta y cuantifica las Igs en suero y/o orina, se prefiere la electroforesis en gel de agarosa o la electroforesis capilar, para cuantificar el componente monoclonal (M) de la muestra. La cuantificación de la inmunoglobulina sérica por nefelometría (incluyendo la no comprometida) se recomienda para el estudio de los casos de “inmunoparesia”.
Cadenas ligeras en suero (CLL)	Son indicadores pronósticos, particularmente valiosos para el seguimiento de los MM oligosecretores (cuantificación por nefelometría).
Seriada ósea	Radiografías simples de: cráneo, fémur, columna completa, húmero, tórax (costillas y escápula) y pelvis.
RNM	Es una técnica de imagen bastante sensible para la detección de lesiones óseas en la columna vertebral. Proporciona información sobre la extensión de la enfermedad en los tejidos blandos, y el patrón de infiltración medular.
PET/TAC (Prueba de imagen de elección para diagnóstico y seguimiento del compromiso óseo en MM)	La 18F-fluorodesoxiglucosa capta el hipermetabolismo de la glucosa a nivel medular y extramedular, y ayuda a detectar lesiones óseas como las osteolíticas. Ante la persistencia de al menos una lesión osteolítica ( $\geq 5$ mm) es necesario descartar afectación ósea <sup>53</sup> .

**Tabla 6.** Pruebas utilizadas en el diagnóstico del MM (datos extraídos de: *Clin CancerRes*.2016; 22(22):5428-5433; *Lancet Oncol*.2016;17(8):e328-e346; y [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK66001](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK66001))<sup>54,55,56</sup>.

Con respecto a las alteraciones genéticas que actualmente se tienen presentes en el diagnóstico de las gammopatías monoclonales<sup>43</sup>, se ha observado que varias de ellas acompañan a la enfermedad desde sus comienzos y favorecen la expansión de las clonas neoplásicas, como se describe en la figura 4.



**Figura 4.** Evolución gammopatías monoclonales. En este esquema se muestra la aparición de los diferentes eventos genéticos desde la etapa premaligna de GMSI hasta llegar al MM y la evolución clonal según las teorías de Darwin (imagen tomada de Cardona IJ, et al. *Cells*. 2021;10(2):1-28)<sup>16,57</sup>.

2.1.3.4. Sistemas de estadificación para mieloma múltiple

Algunas de las herramientas más utilizadas para determinar el grado de afectación o compromiso del paciente al diagnosticar la enfermedad, son: el sistema de estadificación internacional Durie Salmon, el ISS y el R-ISS<sup>35,46</sup>.

Estadio	Clasificación de Durie & Salmon	SLP
I	- Niveles de Hb > 10 g/dL - Calcio en sangre normal - Rx normales o presencia de Plasmocitoma solitario - Niveles de IgG < 5 gr/dL; IgA < 3 gr/dL - Cadenas libres en orina < 4 gr/24hr	60 meses
II	- No cumple criterios de estadio I ni de estadio III	41 meses
III	- Niveles de hemoglobina < 8,5 g/dL - Calcio en sangre de > 12 mg/dL - Lesiones osteolíticas en más de tres localizaciones o fractura patológica no vertebral - IgG ≥ 7g/dL, IgA ≥ 5 g/dL y cadenas ligeras >12 g/dL	23 meses

A cada estadio se debe añadir, según la función renal, la letra A (cifras de creatinina < 2mg/dL) o B (cifras de creatinina > 2mg/dL).

**Tabla 7.** Clasificación de Durie-Salmon. Utilizada desde 1975, ha tenido un papel importante en el estadiaje del MM, sin embargo, ha sido reemplazada poco a poco por las clasificaciones ISS y/o ISS-R (datos extraídos de: Filonzi G, et al. *Myeloma*.2017;(July):152-158; Palumbo A, et al. *J Clin Oncol*. 2015;33(26):2863-2869; y Conté L G, et al. *Rev Med Chil*. 2008;136(1):7-12)<sup>58,59,60</sup>.



Estadio	Sistema de estadificación internacional (ISS)	SLP
I	Beta2 microglobulina <3,5mg/L, albúmina ≥ 3,5g/dL	62 meses
II	No etapa I ni III	44 meses
III	Beta2 microglobulina ≥ 5,5 mg/dL	29 meses

**Tabla 8.** Estadificación ISS, validada en 2005 como predictor de supervivencia (datos extraídos de: Greipp PR, et al. *J Clin Oncol.* 2005;23(15):3412-3420)<sup>61</sup>.

Estadio	Sistema de estadificación internacional (ISS – R)	SLP
I	Beta2 microglobulina <3,5 mg/L, albúmina sérica ≥ 3,5g/dL, LDH normal y FISH normal	66 meses
II	No etapa I ni III	42 meses
III	Beta2 microglobulina ≥5.5 mg/L, LDH sérica elevada o FISH anormal [t(4;14), t(14;16) o del17p]	29 meses

**Tabla 9.** El ISS-R fue validado en 2015 como una herramienta pronóstica eficaz al incluir los resultados de LDH y FISH (datos extraídos de: Filonzi G, et al. 2017;(July):152-158.Mikhael J, et al. *J Clin Oncol.* 2019;37(14):1228-1263)<sup>59,62</sup>.

#### 2.1.4. Tratamiento del mieloma múltiple

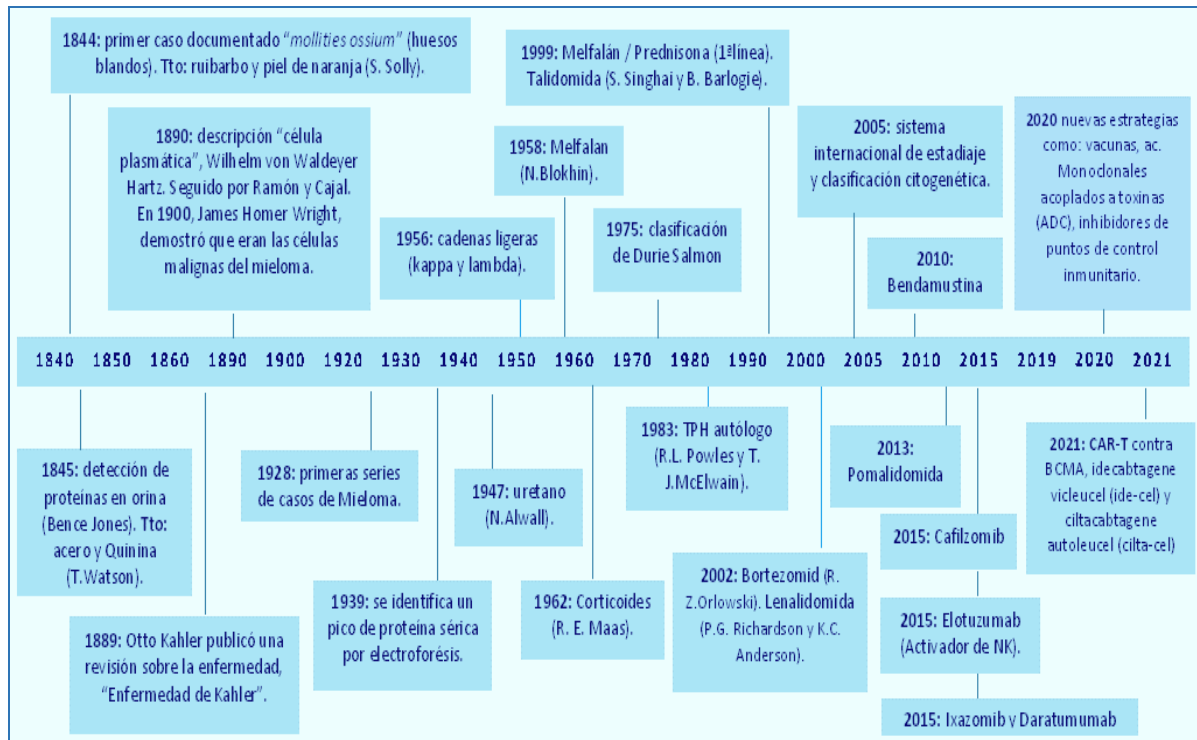
Antes del siglo XXI y tras casi un siglo y medio de haberse descrito el primer caso de MM, la mayoría de los pacientes morían pocos años después de ser diagnosticados (alrededor de 2 a 3 años).

En las últimas dos décadas la supervivencia libre de progresión (SLP), la supervivencia global (SG) y la calidad de vida de los pacientes que padecen la enfermedad han mejorado gracias a nuevas líneas de tratamiento que han desplazado a la anterior terapia estándar (ésta se limitaba a trasplantes de células madre, agentes alquilantes y esteroides)<sup>7,63</sup>.

Algunos de estos nuevos tratamientos incluyen: agentes inmunomoduladores (IMiD), inhibidores del proteasoma (IP), anticuerpos monoclonales (mAb), terapia de células T con receptor de antígeno quimérico (CAR-T)<sup>64</sup>, inhibidores de histona deacetilasa (HDIs)<sup>65</sup> e inhibidores de la exportación nuclear (ver tabla 10)<sup>66,67</sup>, llegando a alcanzar una supervivencia de entre 8 a 10 años<sup>56</sup>.

Por otro lado, el trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TASPE) desde que se implementó en los años 90's continúa siendo una herramienta útil en el tratamiento del MM. Lo anterior ha podido objetivarse tras la realización de algunos ensayos clínicos controlados que compararon la asociación del TASPE con algunas líneas de tratamiento habituales hoy en día (como la terapia combinada de dos o más medicamentos, ejemplo: inhibidores del proteasoma, dexametasona, ciclofosfamida, talidomida, lenalidomida, etc.), y se obtuvieron resultados de SG favorables<sup>68,75,79,96</sup>.

En la siguiente figura se describe brevemente la evolución de algunas de las líneas de tratamiento del MM a través de los años.



**Figura 5.** Evolución de algunas líneas de tratamiento para el MM descritas hasta el momento<sup>16, 69</sup> (imagen de Rosa I. Upegui).

#### 2.1.4.1. Mecanismos de acción de los fármacos utilizados en el MM

Diversas combinaciones de medicamentos como: la talidomida, la lenalidomida y/o el bortezomib, con el melfalán y la prednisona (u otras drogas) como terapias de primera línea, han dado mejores tasas de respuestas y una supervivencia global superior. Sin embargo, un importante número de pacientes con MM recaen y requieren, posteriormente, un cambio en la línea de tratamiento<sup>70</sup>.

A continuación, se describen algunos de los fármacos más utilizados para tratar el MM:

Fármaco	Mecanismo de acción
Inhibidores de proteosomas (bortezomib, carfilzomib, ixazomib)	Inhibición de la actividad del proteosoma; inhibición de NF- $\kappa$ B; inducción de apoptosis activando caspasa-8 y caspasa-9; regulación positiva de NOXA; regulación descendente de las moléculas de adhesión
Agentes inmunomoduladores (talidomida, lenalidomida, pomalidomida)	Interacción con el microambiente medular con baja regulación de las moléculas de adhesión; regulación de citoquinas pro- y antiinflamatorias; regulación de la actividad de células T y NK; anti-angiogénesis; inducción de la apoptosis (activando las caspasas 8 y 9).
Anticuerpos monoclonales (daratumumab, elotuzumab, isatuximab)	Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos y del complemento; fagocitosis mediada por macrófagos; uniones mediadas por <i>FCyR</i> ; regulación de linfocitos <i>Tregs</i> y estimulación de las células T y NK.
Agentes alquilantes (melfalán, ciclofosfamida) Antraciclinas (doxorrubicina)	Daño en el ADN; inhibición de la topoisomerasa II
Corticosteroides (prednisolona, dexametasona, metilprednisolona)	Inducción de apoptosis
Inhibidores de histona deacetilasa (panobinostat, vorinostat)	Los inhibidores de histona deacetilasas (HDIs), que llevan a la muerte celular.
Inhibidores de la exportación nuclear (selinexor)	Inhibe la exportación de ciertas proteínas supresoras de tumores y reguladores del crecimiento de tumores al bloquear la exportación 1 (XPO1).

**Tabla 10.** Fármacos para MM (datos extraídos de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK66001>)<sup>56</sup>

### Tratamiento de soporte

- Bifosfonatos (BPs): fueron la primera clase de fármacos en tratar y prevenir lesiones osteolíticas relacionadas con enfermedades óseas. Los BPs (clodronato, pamidronato y ácido zoledrónico) inhiben los osteoclastos y los precursores de osteoclastos para prevenir la reabsorción ósea inducida por ellos. Actualmente, se están desarrollando otros agentes para controlar la producción de moléculas pro-osteoclastogénicas y/o anti-osteoblastogénicas, como en el caso de: IL-3, activina A, TRAF6 y BTK<sup>73,74</sup>.
- La eritropoyetina (EPO) humana recombinante (rHuEpo): participa en la regulación de la respuesta angiogénica a través de su acción sobre los macrófagos y las células endoteliales de la médula ósea. Es un agente estimulante de la eritropoyetina (AEE), una versión producida farmacológicamente, ejemplo: metoxipolietilenglicol-epoetina beta epoetina y darbepoetina. Los AEE están indicados en condiciones en las que persiste una producción deficiente de glóbulos rojos o anemia crónica<sup>71,72</sup>.

## 2.1.4.2. Criterios de respuesta al tratamiento

Los criterios de respuesta a el tratamiento en los pacientes con MM, abarcan desde la respuesta completa hasta la recaída:

Tipos de respuesta al tratamiento	
RC (Respuesta completa)	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- CM ausente en suero y orina, comprobado por inmunofijación (RC/IF-).</li> <li>- Desaparición de cualquier plasmocitoma presente en tejidos blandos.</li> <li>- Cantidad de CP en medula ósea &lt; 5%.</li> <li>- Si la enfermedad sólo es medible por CLL, se debe tener una ratio normal.</li> </ul>	
Respuesta completa estricta	
<p>Reúne los criterios de RC, junto con:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ratio de cadenas ligeras (CLL) normal.</li> <li>- Ausencia de CP clonales por Inmunohistoquímica o citometría (2 a 4 colores).</li> </ul>	
MBRP ("Muy buena respuesta parcial")	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- CM medido en suero y orina por inmunofijación (no por electroforesis), o reducción <math>\geq</math> 90% del CM en suero y de 100 mg/24hr del CM en orina.</li> <li>- En aquellos casos con enfermedad medible sólo por CLL, debe haber una disminución <math>\geq</math> 90% entre los niveles de CLL alterada vs no alterada, con una ratio anormal.</li> </ul>	
RP (Respuesta parcial)	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Reducción del CM: <math>\geq</math> 50% en suero y <math>\geq</math> 90% o &lt; 200 mg/24hr en orina.</li> <li>- Si el CM en suero y orina no es medible, se requiere una disminución <math>\geq</math>50% en la diferencia entre los niveles de cadenas ligeras libres.</li> <li>- Si el CM en suero y orina no es medible, ni tampoco las cadenas ligeras libres, se requiere una disminución <math>\geq</math> 50% de las CP en medula ósea (si el valor basal fue &gt; 30%).</li> <li>- Se requiere una reducción <math>\geq</math> 50% del tamaño de los plasmocitomas.</li> </ul>	
RM (Respuesta mínima)	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Reducción <math>\geq</math> 25% pero <math>\leq</math> 49% del CM en suero.</li> <li>- Reducción entre el 50%-89% del CM en orina de 24 horas.</li> <li>- Disminución del tamaño de plasmocitomas entre el 25-49%.</li> </ul>	
EP (Enfermedad progresiva)	
<p>Incremento de &gt;25% del valor basal en:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Componente monoclonal en suero (incremento <math>\geq</math> 0,5 g/dL).</li> <li>- Componente monoclonal en orina (incremento <math>\geq</math> 200 mg/24h).</li> <li>- En caso de no poder cuantificar el CM en suero y orina, la diferencia entre las CLL debería ser un aumento de &gt;10 mg/dL.</li> <li>- Aumento de las CP en medula ósea <math>\geq</math> 10%.</li> <li>- Nuevas lesiones óseas o plasmocitoma de tejidos blandos, o incremento en el tamaño de las lesiones óseas ya conocidas.</li> <li>- Hipercalcemia (calcio corregido &gt; 11,5 mg/dL).</li> </ul>	
EE (Enfermedad estable)	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- No cumple criterios de RC, MBRP, RP o EP</li> </ul>	

Recaída	
Recaída clínica	<p>Requiere uno o más de los siguientes criterios:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Nuevas lesiones óseas o plasmocitomas en partes blandas.</li> <li>- Aumento en el tamaño de los plasmocitomas o lesiones óseas preexistentes en un 50%, o al menos 1cm en mediciones la suma de los diámetros perpendiculares de una lesión medible.</li> <li>- Hipercalcemia (&gt;11,5 mg/dL o &gt; 2,8 mmol/L).</li> <li>- Disminución de la hemoglobina &gt;2 g/dL o &lt;10 g/dL.</li> <li>- Aumento en la creatinina sérica <math>\geq</math> 2 mg/dL e Hiperviscosidad.</li> </ul>
Recaída significativa de la paraproteína	<p>Incluye criterios biológicos, no los indicados en recaída clínica:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Duplicación del CM en 2 análisis consecutivos en &lt; 2 meses.</li> <li>- Aumento en los niveles de proteína M en suero <math>\geq</math> 1 g/dL.</li> <li>- Aumento de la paraproteína en orina <math>\geq</math> 500 mg/24h.</li> </ul> <p>Aumento de las cadenas ligeras <math>\geq</math> 20 mg/dL con una ratio anormal en dos mediciones consecutivas separadas por <math>\leq</math> 2 meses.</p>
Recaída o progresión biológica	<p>Ausencia de criterios de recaída sintomática, reaparición del CM o incremento de éste en suero u orina (en dos muestras consecutivas). Hay un aumento de <math>\geq</math> 25% a partir del valor más inferior alcanzado en la RC, en cualquiera de los siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- CM sérico (el incremento absoluto debe ser <math>\geq</math> 0,5 g/dL).</li> <li>- CM en orina (el incremento debe ser <math>\geq</math> 200 mg/24hr).</li> <li>- Sin enfermedad medible en suero ni orina, el aumento del 25% a partir del nivel inferior de la diferencia entre las CLL (aumento &gt;10mg/dL).</li> <li>- CM y/o niveles de CLL no medibles en suero ni orina, con <math>\geq</math>10% de CP.</li> </ul>
Enfermedad Mínima residual (EMR) o residual medible a partir de RC	
EMR negativa por IMF	Ausencia de CP medulares clonales fenotípicamente aberrantes usando criterios de EuroFlow* o de un método equivalente validado para la detección de EMR con una sensibilidad mínima de $10^{-5}$ .
EMR negativa por prueba molecular	Ausencia de CP medulares clonales por NGS**. La definición de clonalidad requiere dos lecturas de secuenciación idénticas, utilizando una plataforma LymphoSIGHT o método equivalente, validado para detectar EMR con una sensibilidad mínima de $10^{-5}$ .
EMR y Prueba de Imagen negativas	EMR-negativa (por NGS** y/o citometría) y desaparición de cualquier área de captación en el PET/TAC respecto del diagnóstico o descenso SUV tras compararla con el estudio inicial.
EMR negativa mantenida	Criterios de imagen/EMR negativa confirmados al menos con un año de diferencia. Reevaluaciones consecutivas deben especificar la duración de la negatividad (p.ej. EMR negativa a los 5 años).

**Tabla 11.** Criterios de respuesta del "International Myeloma Group" (datos extraídos de Kumar S, et al. *Lancet Oncol.* 2016;17(8):e328-e346) <sup>55</sup>.

\* EuroFlow Consortium (fundado en 2006 para el desarrollo y estandarización de la citometría de flujo). \*\* NGS (Next generation sequencing).

## 2.2. NEOVASCULARIZACIÓN

En el siglo XIX, Von Reckinghausen (1882) afirmó que los vasos sanguíneos estaban recubiertos por una monocapa de células endoteliales que constituye la superficie interna de los vasos del sistema cardiovascular y linfático<sup>71</sup>.

En condiciones fisiológicas, la angiogénesis depende del equilibrio entre moduladores angiogénicos positivos y negativos dentro del microambiente vascular, sin embargo, en las células tumorales este equilibrio se pierde y comienzan a producir factores de crecimiento específicos para las células endoteliales, capaces de estimular el crecimiento de vasos sanguíneos en el tejido afectado<sup>3</sup>. Dicho de otra forma, en los tejidos normales la quiescencia vascular se mantiene por la influencia dominante de los inhibidores endógenos sobre los estímulos angiogénicos. Este hecho podría tener relación con las metástasis que pueden alojarse en los tejidos, y permanecer inactivas hasta que aumenta la actividad angiogénica localmente<sup>72</sup>.

La mayoría de los tumores surgen y permanecen in situ durante meses o años, aunque en la etapa preneoplásica, como en el caso de los carcinomas de mama y de cuello uterino, estos se neovascularizan antes de que aparezca el tumor maligno.

En la década de 1970, el equipo de *Gullino et al*<sup>73</sup>, observó que la glándula mamaria de los roedores adultos en reposo tiene una capacidad angiogénica limitada, si es que tiene alguna, mientras que adquirida en los casos de carcinomas mamarios.

Las lesiones con una alta frecuencia de transformación neoplásica inducen angiogénesis a una tasa mucho más alta que las de baja frecuencia. Esta elevada capacidad angiogénica se observó mucho antes que cualquier signo morfológico de transformación neoplásica, por lo que no sería poco acertado pensar que el aumento de la actividad angiogénica puede considerarse un marcador temprano de transformación neoplásica<sup>72</sup>.

En el MM la densidad de la microvasculatura en la médula ósea es notablemente mayor en comparación con aquellos con GMSI o en sujetos sanos, y la densidad de los neovasos se correlaciona con el estadio de la enfermedad. Es decir, el número de vasos aumenta al diagnóstico, en la fase de recaída o refractariedad y la fase leucémica; pero disminuyen durante la fase de remisión<sup>74</sup>.

Hoy en día sabemos que para la formación de nuevos vasos sanguíneos son necesarios dos procesos complementarios: la vasculogénesis y la angiogénesis, que se describen a continuación.

### 2.2.1. Vasculogénesis

Es la formación de nuevos vasos sanguíneos durante el desarrollo embrionario o en la edad adulta, a partir de células endoteliales progenitoras (CEP) o angioblastos. Las CEP favorecen la formación de islotes de células endoteliales en una primera fase, que a su vez dan paso a la formación de una red vascular primitiva o plexo vascular primario (con ayuda de algunos factores de crecimiento) y, finalmente, a un vaso sanguíneo maduro<sup>75</sup>.

En la vasculogénesis adulta esta formación inicial de islotes interviene en los casos de: heridas, gestación, procesos tumorales e isquémicos<sup>76,77</sup>. La formación de nuevos vasos también puede producirse a través del reclutamiento, proliferación y tubulización de las células endoteliales progenitoras o mesenquimales circulantes derivadas de la médula ósea.<sup>3</sup>

En el caso del MM, en 1994 (Vacca y sus colegas)<sup>78</sup> demostraron que la densidad microvascular de la médula ósea (MO) aumentaba significativamente al compararla con la de la GMSI. Los investigadores plantearon la hipótesis de que la progresión de GMSI a MM se acompaña de un aumento de la densidad microvascular en la MO.

En otros estudios se ha demostrado que las células CD34 y VEGFR-2 positivas extraídas de sangre periférica en pacientes con MM y expuestas a VEGF-A, FGF-2 e IGF, en condiciones de cultivo adecuadas, adquieren una morfología típica (en forma de huso) y cambian su fenotipo por el de células endoteliales, con expresión de: el antígeno relacionado con el factor VIII (FVIII-RA), cadherina endotelial vascular, CD34, CD31, VEGFR-2, Tie-2 /Tek y E-selectina. Estos resultados in vitro se han confirmado en la MO de pacientes con MM<sup>79</sup>.

El mimetismo de vasculogénesis es un proceso patológico de neovascularización que se encuentra en tumores sólidos y hematológicos agresivos. En este proceso en particular, las células malignas y/u otras no CE, adquieren la capacidad de ensamblar una red similar a un vaso.

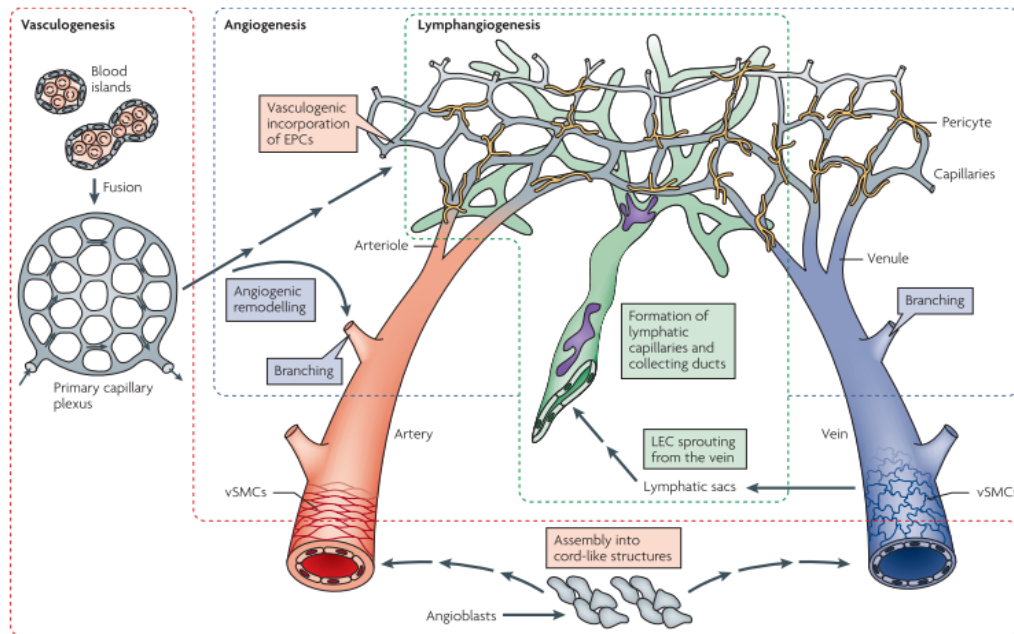
### 2.2.2. Angiogénesis

Es la formación de nuevos vasos sanguíneos por un proceso de brotes y ramificación a partir de vasos preexistentes, que es controlado por sustancias químicas estimulantes e inhibitoras que intervienen en: la migración, el crecimiento y la diferenciación de células endoteliales (CE). La angiogénesis es una parte esencial del desarrollo embrionario, la cicatrización de las heridas y la resolución de los procesos inflamatorios. Sin embargo, cuando su crecimiento y función son anormales pueden favorecer la aparición de cáncer u otras enfermedades<sup>13,80</sup>.

En los adultos los vasos sanguíneos forman redes que nutren todos los tejidos del cuerpo, con una superficie entre 4000 y 7000m<sup>2</sup>. Se compone de 1- 6 x10<sup>13</sup> células, con un peso de alrededor de 1 kg<sup>81,82</sup>. La integridad de esta red es gestionada por la renovación continua de las células endoteliales, con una tasa de replicación basal de 0,1% por día<sup>83,84</sup>.

Las CE actúan ante diferentes condiciones patológicas y su formación está limitada por las demandas metabólicas de los tejidos. Por ejemplo, pueden pasar de un estado procoagulante a uno proinflamatorio, dependiendo de la situación. Otras funciones de estas células son: la agregación plaquetaria, controlar el tono vascular y regular la respuesta inmunológica e inflamatoria<sup>85</sup>.





**Figura 6.** Origen de las células endoteliales y formación de la vasculatura.

Las células mesodérmicas en el embrión se diferencian en células endoteliales precursoras (EPCs) y forman agregados conocidos como islotos (*Blood islands*). La fusión de islotos forma los plexos capilares primarios (panal de abejas) en el saco vitelino y el embrión. Los plexos forman: arteriolas, arterias (rojo), capilares (gris), vénulas y venas (azul), y se establece la circulación sanguínea. La incorporación de EPC contribuye a la neovascularización regenerativa o patológica del adulto (imagen extraída de: Adams RH, et al. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8(6):464-478)<sup>76</sup>.

En el caso de las neoplasias aunque los mecanismos de crecimiento tumoral y de expansión no se conocen por completo, se establece que la formación y el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos es una *conditio sine qua non* para la supervivencia de los tejidos<sup>75,86</sup>. Se ha observado que la angiogénesis en el MM frecuentemente comienza con: un equilibrio deficiente entre el crecimiento de las CP y la vascularización (fase avascular), progresa hacia la proliferación activa, la diseminación de CP y una formación incontrolada de neovasos (fase vascular). La progresión del MM también está relacionada con: la activación de oncogenes (es decir, c-myc, c-fos, c-jun, ets-1, etc.), las translocaciones de inmunoglobulinas e inestabilidad genética.<sup>74</sup>

### 2.2.3. Características estructurales y disfuncionales de los vasos sanguíneos tumorales

En el MM las células neoplásicas inducen la angiogénesis mediante la secreción de factores proangiogénicos y por la pérdida de actividad antiangiogénica, favorecida por las CP de la médula ósea. Las interacciones entre las CP y las células estromales de la médula ósea están moduladas por: citoquinas específicas, receptores y moléculas de adhesión que son responsables de la proliferación, migración y supervivencia de las CP y, por tanto, de la progresión de la enfermedad y la adquisición de resistencia a los medicamentos<sup>2,87</sup>.



Como resultado del desequilibrio de los activadores e inhibidores angiogénicos, los vasos tumorales muestran anomalías estructurales y funcionales, como: una distribución desordenada de las células vasculares de apoyo (pericitos y células del músculo liso), falta de identidad arterial o venosa que conduce a un flujo sanguíneo caótico, la incorporación de células tumorales en la pared endotelial, la diferenciación de las células tumorales en otro tipo de células ("mimetismo vascular"), etc. Estos cambios, que pueden considerarse "marcadores de la vasculatura tumoral", regulan la diseminación de células neoplásicas en el torrente sanguíneo y mantienen las características del microambiente tumoral.

La densidad de los vasos tumorales puede ser muy heterogénea, es decir, hay una mayor cantidad de vasos en el borde invasor del tumor (donde la densidad es 4-10 veces mayor que dentro del tumor), y la disposición de los vasos en el centro del tumor, es mucho más caótica que en sus bordes. Es importante destacar, que el estrés mecánico generado por la proliferación de las células neoplásicas puede comprimir los vasos y causar: un flujo sanguíneo anormal, hipoxia, aumento de la permeabilidad y una presión intersticial elevada. Esto podría explicar la poca efectividad de algunos fármacos contra el cáncer<sup>88</sup>.

En la actualidad, el estudio de la fisiopatología de la angiogénesis en varios tipos de tumores (incluido el MM) es una línea de investigación activa de cara a la mejoría de los tratamientos ofrecidos por la mayoría de los centros. Tal ha sido el caso del carcinoma de células renales, en el que se ha valorado el efecto antiangiogénico de algunos medicamentos inhibidores de la vía del VEGF, como: el sunitinib, el sorafenib, el bevacizumab y el pazopanib, con los que se ha evidenciado un aumento de la SLP en esta enfermedad<sup>89,90</sup>.

Con respecto al MM se han estudiado medicamentos como la lenalidomida y la talidomida a las que se les atribuyen, entre otros, efectos antiangiogénicos. Estos fármacos han sido aprobados para el tratamiento de la enfermedad, tras conseguir importantes respuestas terapéuticas en un porcentaje considerable de pacientes<sup>91</sup>.

#### 2.2.4. Mecanismos de señalización

En 1971, *Judah Folkman* propuso la hipótesis de que el crecimiento tumoral y la metástasis dependían de la angiogénesis<sup>92,93</sup>. Según esta hipótesis, las células endoteliales podrían pasar de un estado de reposo a uno de crecimiento rápido, tras recibir una señal química que se originaría en las células tumorales. Este cambio dependería del aumento en la producción de uno o más reguladores positivos, como: el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), la interleuquina 6 (IL6), factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), angiopoyetinas (Ang), endoglina, etc. Sin embargo, la modificación en la actividad celular también puede favorecer la producción de inhibidores endógenos de la angiogénesis (como: la endostatina, la angiostatina, la trombospodina y otras moléculas), que en un principio no favorecen el crecimiento tumoral<sup>94</sup>.

Para el crecimiento tumoral se requiere una red vascular que proporcione nutrientes y oxígeno suficientes, para ello las células neoplásicas emiten señales químicas que estimulan la angiogénesis y a las células normales cercanas para que produzcan las moléculas de señalización necesarias para la formación de vasos sanguíneos.

### 2.2.5. Angiopoyetinas

Las angiopoyetinas (Angs) son ligandos multiméricos que se unen al receptor Tie-2, presente en las células endoteliales. Se componen de un dominio amino-terminal que sirve para promover la agrupación de estas moléculas, seguido de un dominio en espiral que promueve la multimerización, y de un dominio homólogo de fibrinógeno carboxi-terminal que contiene los sitios de unión para Tie2.

La angiopoyetina 1 (Ang1) y la angiopoyetina 2 (Ang2) pueden unirse al receptor tirosina quinasa Tie-2, y son factores importantes en el proceso de regulación y control de la angiogénesis. Es decir, forman la vía de señalización “Ang/Tie” que es esencial para un desarrollo vascular normal <sup>100</sup>.

Estas moléculas han sido objeto de algunos estudios relacionados con patologías neoplásicas, como: el cáncer de ovario<sup>95</sup>, cáncer de pulmón<sup>96</sup>, cáncer de mama<sup>97</sup>, el propio MM, etc. <sup>98,99</sup>

#### 2.2.5.1. Angiopoyetina 1

La angiopoyetina 1 (Ang1) se identificó inicialmente como un agonista del receptor Tie-2, mediante la fosforilación activa del Tie-2, que se expresa en las células endoteliales y perivasculares. Esta molécula actúa sobre la conversión de células endoteliales en estructuras vasculares multicelulares durante la angiogénesis, favorece la proliferación de células endoteliales y participa en la estabilización de los vasos sanguíneos y la comunicación entre el endotelio y otras células.

Esta molécula a través de la unión al receptor Tie-2, afecta las vías de señalización de PI3K/AKT y MAPK/ERK [Fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K) /Proteína quinasa B (AKT) /Proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK)/Quinasa regulada por señales extracelulares (ERK)], que controlan los procesos de: crecimiento, proliferación y supervivencia de las células endoteliales.

La importancia del papel de la Ang1 en la angiogénesis se ha evidenciado gracias a la experimentación con modelos murinos. A algunos de ellos se les suprimió la expresión del gen de la Ang1 lo que les ocasionó la muerte embrionaria por defectos cardíacos y vasculares severos, debido a que los vasos sanguíneos se formaban, pero carecían de una unión adecuada entre los pericitos y no se desarrollaban adecuadamente.

Una parte de la explicación a este fenómeno, es que la Ang1 interactúa con la vía de señalización Notch que es la responsable del: desarrollo, diferenciación y supervivencia de las células madre hematopoyéticas<sup>101,102</sup>. Las anteriores alteraciones son similares a las presentadas por ratones nulos para el receptor de Tie-2 <sup>103,104</sup>.

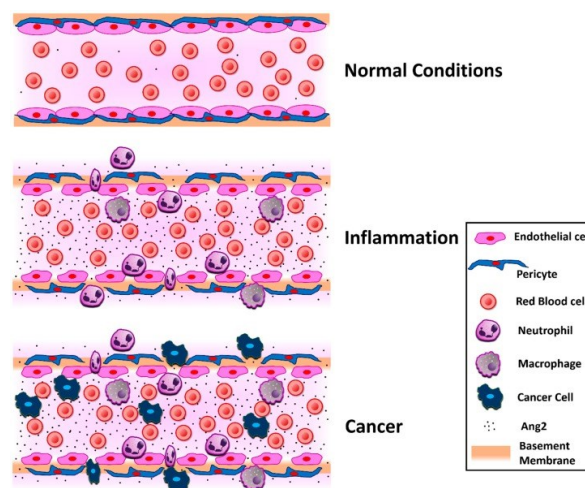
Bajo la premisa de que la Ang1 tiene un papel importante en la actividad angiogénica, y que se ha demostrado que las células del MM la expresan y la secretan, del mismo modo que a su antagonista, la angiopoyetina 2 (Ang2); algunos investigadores han observado que cerca del 47% de los pacientes recién diagnosticados de MM expresan la Ang1<sup>105</sup>.

### 2.2.5.2. Angiopoyetina 2

La angiopoyetina 2 (Ang2) es un factor de crecimiento que se expresa en las células endoteliales y algunas células del músculo liso. A diferencia de la Ang1, la expresión de Ang2 es responsable de la inducción de la apoptosis de las CE que conduce a la regresión de los vasos sanguíneos. Su expresión disminuye en los vasos maduros inactivos, pero aumenta en presencia de inflamación por la acción de: el TNF, la VEGF y la hipoxia<sup>106,107</sup>. Se ha demostrado que se encuentra elevada en plasma en una variedad de enfermedades como: sepsis, malaria, cáncer, etc.<sup>108</sup>

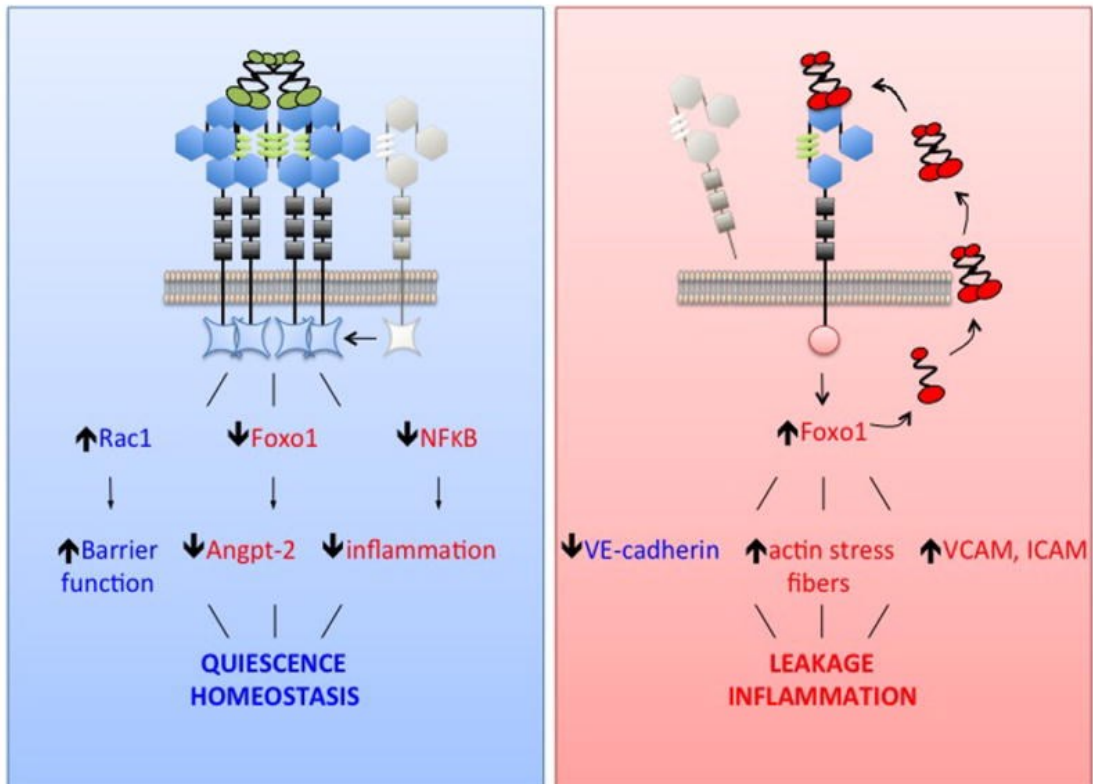
Dependiendo de la presencia de VEGF, la Ang2 puede ser tanto agonista como antagonista del receptor Tie-2. El eje Ang2/Tie2 en las células tumorales induce la angiogénesis. Al actuar sobre los pericitos el eje Ang2/Tie-2 desestabiliza los vasos sanguíneos, estimula la secreción de citocinas y afecta, no solo a las células endoteliales, también a los monocitos y macrófagos que expresan el receptor Tie-2<sup>102</sup>.

El papel agonista frente al antagonista de la Ang2, se determinó por la presencia del receptor endotelial de la Tirosina quinasa 1 (Tie1), ya que en el endotelio inflamado la ausencia de Tie1 conduce (en condiciones normales) al cambio de la actividad de la Ang2, es decir, de agonista a antagonista<sup>100</sup>. En otras palabras, en condiciones fisiológicas, la Ang2 se une al receptor Tie2 y actúa como un antagonista de la señalización generada por la unión Ang1/Tie2 durante la angiogénesis, y controla la respuesta de las células endoteliales frente a las demás citoquinas exógenas<sup>109</sup>.



**Figura 7.** El efecto de la Ang2 sobre el lecho vascular en condiciones normales, inflamación y cáncer. En condiciones fisiológicas normales los niveles de Ang2 son bajos, pero aumentan durante la inflamación o el cáncer. La Ang2 actúa sobre las células endoteliales, aumentando la permeabilidad endotelial y también sobre los pericitos, provocando el desprendimiento del pericitos de la membrana basal, lo que induce a fugas vasculares, migración transendotelial de células inmunitarias o cancerosas y deterioro de la condición clínica preexistente (datos extraídos de: Becker RC. *J Thromb Thrombolysis*. 2020;50(3):499-51)<sup>110</sup>.

En la siguiente figura se describe la interacción entre las angiopoyetinas y el Tie2:



**Figura 8.** Efectos de la señalización de Tie2 en quiescencia frente a inflamación vascular. Durante la quiescencia, el Tie2 está altamente fosforilado y mantiene la homeostasis. Un ejemplo de ello, es la inhibición del factor de transcripción inflamatorio NFκB a través de la proteína de señalización ABIN2. Durante la inflamación se apaga la señal de Tie2 mediante: su expresión disminuida en la superficie, reducción de Tie1 en la superficie por proteólisis, reducción de Angpt-1 (angiopoyetina 1) y aumento de Angpt-2 (angiopoyetina 2) por dos mecanismos: la liberación de la proteína Angpt-2 preformada de los cuerpos de Weibel-Palade y la síntesis de novo a medida que el Tie2 desfosforilado ya no puede reprimir a Foxo1. La Angpt-2 potencia la inflamación y la fuga vascular (datos extraídos de: *Curr Opin Hematol.* 2017 Sep; 24(5): 432–438)<sup>108</sup>.

Grupos de trabajo como el GIMEMA (Gruppo Italiano Malattie Ematologiche de l'Adulto) han estudiado la actividad de marcadores como la Ang2 en el MM, y han observado que los niveles elevados de esta molécula se podrían asociar a una respuesta terapéutica poco favorable. Según su investigación, la estratificación de los pacientes en función de los niveles de ciertos biomarcadores con actividad angiogénica al momento del diagnóstico y sus variaciones después del tratamiento, es útil para caracterizar los diferentes grupos de riesgo con respecto a la respuesta al tratamiento<sup>10</sup>.

### 2.2.5.3. Ratio Angiopoyetina 1/Angiopoyetina 2 (Ang1/Ang2)

El papel de las angiopoyetinas en los pacientes con enfermedades oncológicas o inflamatorias ha sido resaltado en varios estudios; sin embargo, en el caso de la ratio Ang1/Ang2 y el MM, hasta el momento, se han realizado pocas investigaciones. Algunas de ellas se describen a continuación:

1. En el año 2008 un grupo de investigadores griegos (Anargyrou K. et al,2008) concluyó que la neoangiogénesis está involucrada en la fisiopatología del MM, y las angiopoyetinas posiblemente contribuyan a la neovascularización inducida por el mieloma. Determinaron los niveles séricos de Ang1 y la Ang2 antes y después de la administración de bortezomib en 35 pacientes con MM en recaída o refractario. Encontraron que los niveles séricos de la Ang1 no difirieron en pacientes e individuos sanos, mientras que los niveles séricos de angiopoyetina-2 estaban elevados. Después del tratamiento los niveles de Ang1 aumentaron, y los niveles de Ang2 disminuyeron. En conclusión, los cambios de la ratio Ang1/Ang2 reflejaron la respuesta al bortezomib<sup>111</sup>.
2. Otro grupo de investigación griego (Terpos E, et al. 2012) evaluó los niveles circulantes de varias citocinas angiogénicas (Ang1, Ang2, VEGF, angiogenina y FGF) en 174 pacientes con MM sintomático, recién diagnosticado. Observaron que los niveles de la ratio de Ang1/Ang2 eran inferiores en los pacientes en comparación con los controles sanos, mientras que los niveles de VEGF y angiogenina aumentaron. Es decir, los pacientes con una ratio de Ang1/Ang2 circulante por debajo o igual al valor medio (6,03) tuvieron una supervivencia media de 26,3 meses en comparación con los 53 meses de todos los demás ( $p = 0,002$ ). El análisis multivariado reveló que una ratio de Ang1/Ang2 baja podría predecir de forma independiente una supervivencia inferior a la esperada (riesgo relativo (RR) 2,07; IC del 95%: 1,50-2,42;  $p < 0,001$ )<sup>99</sup>.

Al revisar los resultados descritos por los diferentes investigadores, se pudo observar que el comportamiento de estos marcadores en los sujetos sanos sugiere que en un estado basal se conserva un predominio de la Ang1 sobre la Ang2 en sangre periférica, obteniendo ratios o diferencias entre ambos marcadores (Ang1/Ang2) superiores a las de los pacientes afectados por: MM, hepatitis C o sepsis. Es decir, que en sujetos sanos los niveles de Ang1 superaron a los de la Ang2, pero esta diferencia se invierte en el caso de individuos enfermos.

En la tabla 12 se describen los valores de las angiopoyetinas 1 y 2, obtenidos en algunos estudios que incluyeron a pacientes con: MM, sepsis, hepatitis C y a sujetos sanos.

Grupos de investigación		(Mandriota SJ et al 1998/ Anargyrou K. et al, 2008) <sup>106,111</sup>	(Terpos et al 2012 / Xuan ZX et al 2016) <sup>99,96</sup>	(Saltarella I, et al. 2019) <sup>10</sup>	(Salcedo Mora et al 2005) <sup>112</sup>	(Fang et al 2015) <sup>113</sup>
Patologías estudiadas		MM	MM	MM	Hepatitis C crónica	Choque séptico
<b>Ang1</b>	<b>n</b>	<b>35</b>	<b>174</b>			<b>73</b>
	Edad (años)	68 (43-82)	66 (40-94)			75 (65-78)
	Media	24930	22600 ± 16100			3060
	Mediana	20833	19300			
	Rango	2518-56176	500-111600			990-7450
	IC 95%	1497 - 9789	-			732-824
	Valor de p	0,15	0,05			< 0,001
<b>Ang2</b>	<b>n</b>	<b>35</b>	<b>174</b>	<b>124</b>	<b>36</b>	<b>73</b>
	Edad (años)	68 (43-82)	66 (40-94)	71(56-85)	48 ± 8	75 (65-78)
	Media	4051	4500±3700	264939± 20830	1265 ±385	15700
	Mediana	3189	4000		1172	
	Rango	452-21163	100-17900	13405-1072635	846-2211	11400-27800
	IC 95%	1431-3949		734 - 871		750-837
	Valor de p	< 0,001	0,002	< 0,001	< 0,005	< 0,001
<b>Ang1/Ang2 ratio</b>	<b>n</b>	<b>35</b>	<b>174</b>			
	Edad (años)	68 (43-82)	66 (40-94)			
	Media	12	10,8 ± 17,0			
	Mediana	6,8	6,0			
	Rango	0.4-61.4	0,1-132			
	IC 95%	26200 - 23200				
	Valor de p	0,02	< 0,001			
<b>Sujetos sanos</b>	<b>n</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>54</b>	<b>15</b>	<b>55</b>
	Edad (años)	68 (43-82)	66(39-82)	69(54-88)	39 ± 12	61(54-71)
Ang1	Media	20785	27700± 15500			9540
	Mediana	20833	25100		723	
	Rango	120-45940	6000-62800			7560-10890
Ang2	Media	1361	2300±1600		833 ± 346	3410
	Mediana	1202	1900			
	Rango	189-3313	30-6900		470-1480	1450-6230
Ang1/ Ang2	Media	26,3	30,1 ± 76,6			
	Mediana	16,8	14,7			
	Rango	0,06-175,5	1,5-456			

**Tabla 12.** Valores de referencia para las angiopoyetinas (tabla comparativa elaborada con los datos extraídos de los estudios referenciados en la línea superior). \*Los valores de Ang1, Ang2 y Ang1/Ang2 ratio están expresados en pg/mL.



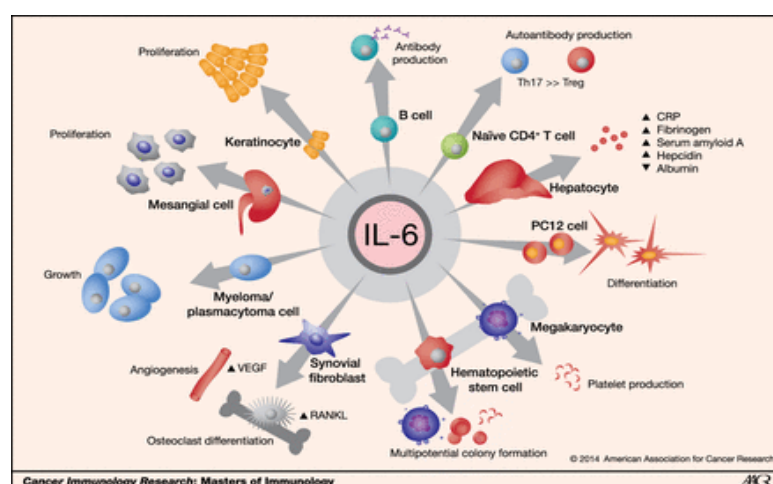
### 2.2.6. Interleuquina 6 (IL6)

La familia de la interleuquina 6 es un grupo de citocinas que actúan como mensajeros químicos a corta distancia, incluyen a: la IL6, la IL 11, el factor neurotrófico ciliar, el factor inhibidor de la leucemia, la oncostatina M, la cardiotrofina 1, la cardiotrofina similar a citocina y la IL 27. Estas citocinas son codificadas en el brazo corto del cromosoma 7(7p21), y comparten una estructura central con un transductor de señal en su receptor que desempeña diversas funciones<sup>114,115</sup>. Estas moléculas pueden ser producidas por varios tipos de células, como: macrófagos, células vasculares del músculo liso, adipocitos, CE, fibroblastos, células del músculo esquelético, etc. Esta diversidad en su producción y funciones, es la razón para darle diferentes nombres, como por ejemplo: factor estimulante de células B2 (BSF-2) o linfocitos B, factor estimulante de hepatocitos (HSF), factor de crecimiento de hibridoma (HGF) e interferón-β2 (debido a su actividad antiviral)<sup>116,117</sup>.

Este grupo de citocinas tiene actividades biológicas superpuestas y distintas (ejemplo: actividad proinflamatoria y antiinflamatoria). Debido a las múltiples facetas de esta molécula se describen a continuación, sus funciones:

- Inducción de la producción de anticuerpos en las células B activadas<sup>114</sup>.
- Facilitan junto al TGF-β (Tumoral grow factor-β) la diferenciación de células T CD4 y linfocitos vírgenes en células Th17, e inhiben el desarrollo de los linfocitos T reguladores (Treg). Cabe resaltar que el desequilibrio entre Th17/Treg puede provocar la aparición y progresión de enfermedades autoinmunes<sup>118</sup>.
- Estimula en los hepatocitos la producción de: proteína C reactiva, amiloide A sérico, fibrinógeno y hepcidina; pero reduce la síntesis de albúmina<sup>114</sup>.
- Favorece: la maduración de los megacariocitos en plaquetas, la activación de las células madre hematopoyéticas, la estimulación de la angiogénesis, la producción de colágeno, la diferenciación de los osteoclastos, el crecimiento de células de MM y mesangiales<sup>114</sup>.

La siguiente figura reúne algunas de las funciones de la IL6, ya descritas:



**Figura 9.** Funciones de la IL6. CRP (C reactive protein); VEGF (Vascular endothelial grow factor); RANKL (receptor activator of NF-κB ligand). Datos extraídos de: Cancer Immunol Res. 2014;2(4):288-294. doi:10.1158/2326-6066.CIR-14-0022 <sup>119</sup>.

La IL6 interviene en varias funciones fisiológicas vitales y, generalmente, en individuos sanos se encuentra en niveles bajos (aunque puede aumentar en adultos mayores, por razones aún no determinadas) <sup>119</sup>. Para esclarecer este aspecto, se han elaborado una serie de trabajos (algunos incentivados por la pandemia de SARS-CoV-2), por ejemplo, en una revisión bibliográfica de 2020 en Alemania, titulada “Interleukin-6 signalling in health and disease”, se realizó una breve descripción de la IL6 y sus diversos efectos en el cuerpo humano. Se estimó que en condiciones normales los niveles de IL6 en suero están alrededor de 1 a 5 pg/ml, pero durante los estados inflamatorios pueden aumentar más de 1000 veces, lo que hace de la IL6 una señal de alarma en respuesta a: infecciones, inflamación y, posiblemente, cáncer<sup>120</sup>.

Como en el caso de algunas citocinas proinflamatorias, la familia de la IL6 parece tener un papel principal en el desarrollo del cáncer al regular el crecimiento de las células cancerosas y contribuir a su progresión. Ha sido estudiada por múltiples grupos de investigación que han evaluado sus niveles séricos (junto con los de otras citoquinas), y los han correlacionado con el estadio del tumor y la supervivencia de los pacientes.

Algunas de las investigaciones realizadas sobre el papel de la IL6 en el cáncer son:

1. En diciembre de 2015 se publicó un metaanálisis realizado por investigadores chinos, sobre cáncer colorectal (“Diagnostic and prognostic value of serum interleukin-6 in colorectal cancer”), en el que se realizaron búsquedas en las bases de datos de las bibliotecas: Pubmed, Embase y Cochrane, sobre estudios elegibles para explorar el valor diagnóstico de la IL6 sérica en el cáncer colorectal. En total se incluyeron 17 trabajos, que tenían una sensibilidad de 0,72 (IC del 95%:0,46–0,88) y una especificidad de 0,74 (IC del 95%: 0,56–0,86).

En el análisis pronóstico, los niveles altos se asociaron inversamente con la supervivencia global (IC del 95%: 1,42-2,19,  $p < 0,001$ ) y la supervivencia libre de enfermedad (IC del 95%: 1,76-5,01,  $p < 0,001$ )<sup>121</sup>.

2. En una revisión bibliográfica publicada en Alemania en febrero de 2021 sobre carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (“Association between interleukin-6 and head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review”) <sup>122</sup>, se recopilaron 99 publicaciones de PubMed/Medline desde enero de 1995 hasta enero de 2019. Tras esta revisión (no acompañada de metaanálisis, por la heterogeneidad de los distintos investigadores a la hora de diagnosticar la enfermedad), se concluyó que la IL6 es una citoquina proinflamatoria que tiene un papel en varios mecanismos reguladores del cáncer. Se demostró que su sobreexpresión en suero y/o saliva se asocia con una mala supervivencia y una pobre respuesta terapéutica<sup>122</sup>.

Se ha descrito la participación de estas interleuquinas en el desarrollo de: linfoma de Hodgkin y no Hodgkin, plasmocitomas, enfermedad de Castleman y MM<sup>119,123</sup>. La IL6 favorece la diferenciación de las células B activadas en CP productoras de Igs y actúa como un factor de crecimiento para los plasmocitos. Algunos sugieren que podría proteger de la apoptosis a las CP patológicas, y que la estimulación del receptor activador del ligando NF- $\kappa$ B (RANKL)<sup>124</sup>, promueve la diferenciación y la activación de los osteoclastos, la resorción ósea y la aparición de la osteoporosis<sup>125</sup>.



### 2.2.7. Aplicación terapéutica de las terapias antiangiogénicas

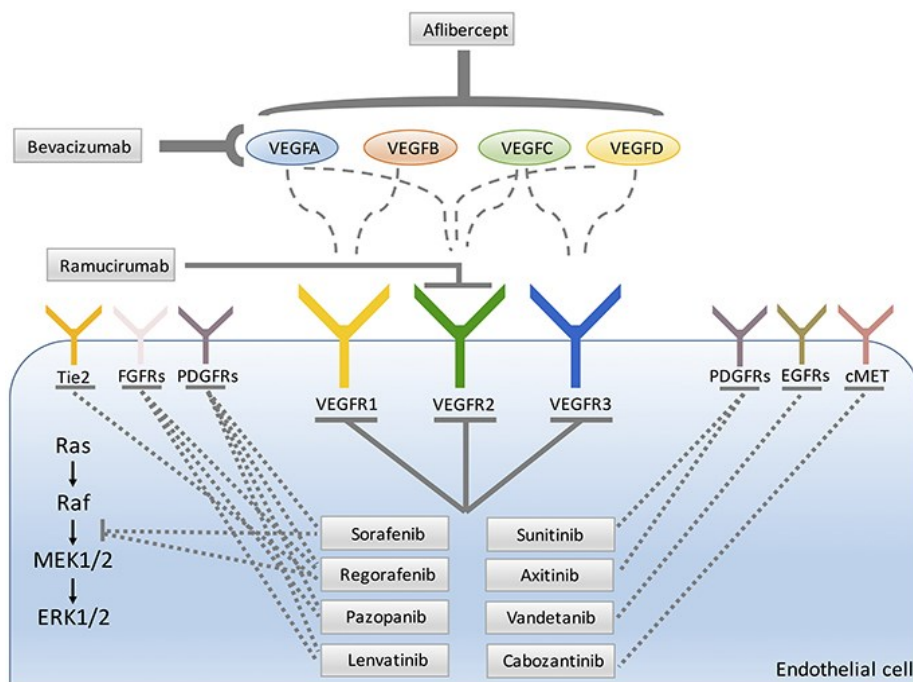
La inhibición de la angiogénesis se ha planteado como una estrategia prometedora para el tratamiento del MM y otras patologías<sup>126</sup>. Algunos de sus mayores progresos se han obtenido en los últimos años mediante estudios multicéntricos destinados a comprobar la eficacia de algunos tratamientos con actividad antiangiogénica<sup>74,127</sup>.

En la siguiente tabla se describen algunos medicamentos con actividad antiangiogénica y la patología en la que se ha aprobado su utilización:

Medicamentos	Neoplasia
Axitinib (Inlyta®)	Carcinoma de células renales
Bevacizumab (Avastin®)	Neoplasias de: mama, ovario, colorectal, riñón, células no pequeñas de pulmón.
Cabozantinib (Cometriq®)	Cáncer de tiroides
Everolimus (Afinitor®)	Cáncer de células renales, mama y páncreas.
Lenalidomida (Lenalidomida®)	MM, síndrome mielodisplásico, linfoma del Manto, Linfoma de zona marginal y folicular.
Talidomida (Synovir, Thalomid®)	MM
Tocilizumab (Roactemra)	Síndrome de liberación de citoquinas
Trebananib	Carcinoma de ovario: autorizado por la EMEA (Medicamento huérfano)
Sunitinib (Sutent®)	Carcinoma de: células renales, gástrico, neuroendocrino

**Tabla 13.** Medicamentos antiangiogénicos aprobados por la FDA y la EMEA. Datos extraídos de: <https://www.ema.europa.eu/en/search/search>; <https://federalreporter.nih.gov/projects/search>; <https://www.cancer.gov/types/myeloma/>; Committee for Orphan Medicinal Products; *Oncologist*. 2018;23(8):943-947)<sup>91,8,9,128,129</sup>.

Durante la progresión del tumor, algunos clones de las células tumorales experimentan un "cambio angiogénico" al interrumpir el equilibrio entre los inductores e inhibidores de la angiogénesis y manifiestan un fenotipo pro-angiogénico. Esto hace que las lesiones iniciales o las metástasis se vuelvan más agresivas, de aquí que los inhibidores de la angiogénesis se postularan como fármacos contra el cáncer en la década de 1970.



**Figura 10.** Principales dianas moleculares de los fármacos antiangiogénicos aprobados para el tratamiento de pacientes (datos extraídos de: Cell Dev Biol. 2017 Dec 7;5:101)<sup>126</sup>.

La familia de proteínas VEGF/factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) se caracteriza por la presencia de múltiples inductores angiogénicos: VEGFA, VEGFB, VEGFC, VEGFD, VEGFE y factor de crecimiento placentario (PLGF). El principal receptor de tirosina quinasa de señalización (TKR) es el receptor VEGF, VEGFR2 (también conocido como KDR). Otros receptores conocidos de la misma familia son el VEGFR1 y el VEGFR3<sup>126</sup>.

De entre todas las moléculas identificadas que lideran la formación de vasos sanguíneos, el VEGFA parece ser el principal impulsor molecular de la angiogénesis tumoral, y se sobre expresa en la mayoría de los tumores sólidos, por esta razón es actualmente el principal objetivo de los fármacos antiangiogénicos, y para contrarrestar la acción de otras moléculas con acción antiangiogénica, aún hace falta más investigación.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Este trabajo busca analizar si la cuantificación de diferentes marcadores angiogénicos como: la Ang1, la Ang2 y la IL6 en los pacientes recientemente diagnosticados de MM, tiene alguna relación con los parámetros biológicos y clínicos más usualmente valorados al estudiar inicialmente la enfermedad, y su posible impacto sobre la supervivencia libre de progresión y la supervivencia global.

En otras palabras, buscamos verificar si estos marcadores pueden dar información más certera sobre la posible evolución de los pacientes o su pronóstico.

## 4. HIPÓTESIS

La cuantificación de marcadores serológicos con actividad angiogénica, como: la IL6, la Ang1 y la Ang2 en el momento del diagnóstico de los pacientes con MM, se relaciona con la manifestación clínica de la enfermedad, la respuesta al tratamiento y el pronóstico de la patología.

## 5. OBJETIVOS

Con este trabajo se pretende correlacionar el valor pronóstico de la IL6, la Ang1 y la Ang2 en el momento del diagnóstico del MM con el comportamiento de algunas de las variables clínicas más conocidas para esta patología, su posible impacto en la respuesta al tratamiento y en la supervivencia.

Para el desarrollo de esta hipótesis se han propuesto los siguientes objetivos:

1. Valorar si existe alguna relación entre la cuantificación de los marcadores angiogénicos ya mencionados, y las características clínico-biológicas de los pacientes con MM en el momento del diagnóstico.
2. Describir la relación entre la determinación de estos marcadores angiogénicos y la respuesta terapéutica obtenida al final del tratamiento.
3. Valorar la relación entre los marcadores angiogénicos, la supervivencia global (SG), y la supervivencia libre de enfermedad (SLP).

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio llevado a cabo es de carácter prospectivo y observacional, realizado en el Servicio de hematología del Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida (HUAV), un centro de segundo nivel que da cobertura a toda la provincia de Lleida (450,000 habitantes, aproximadamente) y parte de los municipios limítrofes de Aragón con la provincia de Lleida.<sup>130</sup>

Los datos de la investigación se recopilaban a través de la revisión de la historia clínica de los pacientes seleccionados tras el diagnóstico de MM, con el fin de identificar la asociación biológica entre los bio-marcadores séricos con actividad angiogénica elegidos para el estudio (*IL6*, Ang1 y Ang2), y las pruebas utilizadas en el diagnóstico de la enfermedad de forma rutinaria.

El periodo de inclusión establecido se estimó en cinco años (2014 -2019), con el fin de obtener un grupo de pacientes alrededor de 60 - 70 individuos, aproximadamente. En total, se seleccionaron 62 pacientes de entre los 78 casos valorados inicialmente. De estos últimos, se descartaron dieciséis por las siguientes razones: en cinco de ellos hubo pérdida del seguimiento precoz, nueve no se consideraron por recibir tratamiento paliativo y dos no llegaron a recibir tratamiento por exitus precoz.

Se seleccionaron 20 sujetos sin patologías hematológicas conocidas y con parámetros analíticos dentro de la normalidad, para complementar nuestra investigación.

Los pacientes seleccionados se siguieron durante la actividad asistencial diaria del servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Universitario Arnau de Vilanova, previa obtención del correspondiente consentimiento informado, de conformidad con la declaración de principios de Helsinki y el dictamen favorable del comité de ética del HUAV.

El periodo de seguimiento del grupo de pacientes fue de dos años, durante este tiempo se realizó el registro de los distintos parámetros clínico-patológicos y analíticos correspondientes a la valoración rutinaria inicial de la enfermedad, es decir: hemograma, bioquímica, análisis nefelométrico de inmunoglobulinas séricas, inmunofijación en suero y orina (para definir la naturaleza de la proteína monoclonal), y la cuantificación de las cadenas ligeras kappa y lambda ( $\kappa$  y  $\lambda$ ).

Igualmente, se realizaron estudios de imagen y el examen hematopatológico de la médula ósea (aspirado de médula ósea), para valorar el grado de infiltración por CP (ver tabla 18). Paralelamente, se registraron durante el seguimiento: la fecha de la primera progresión para establecer la supervivencia libre de progresión, y la situación del paciente en el último seguimiento para determinar la supervivencia global.

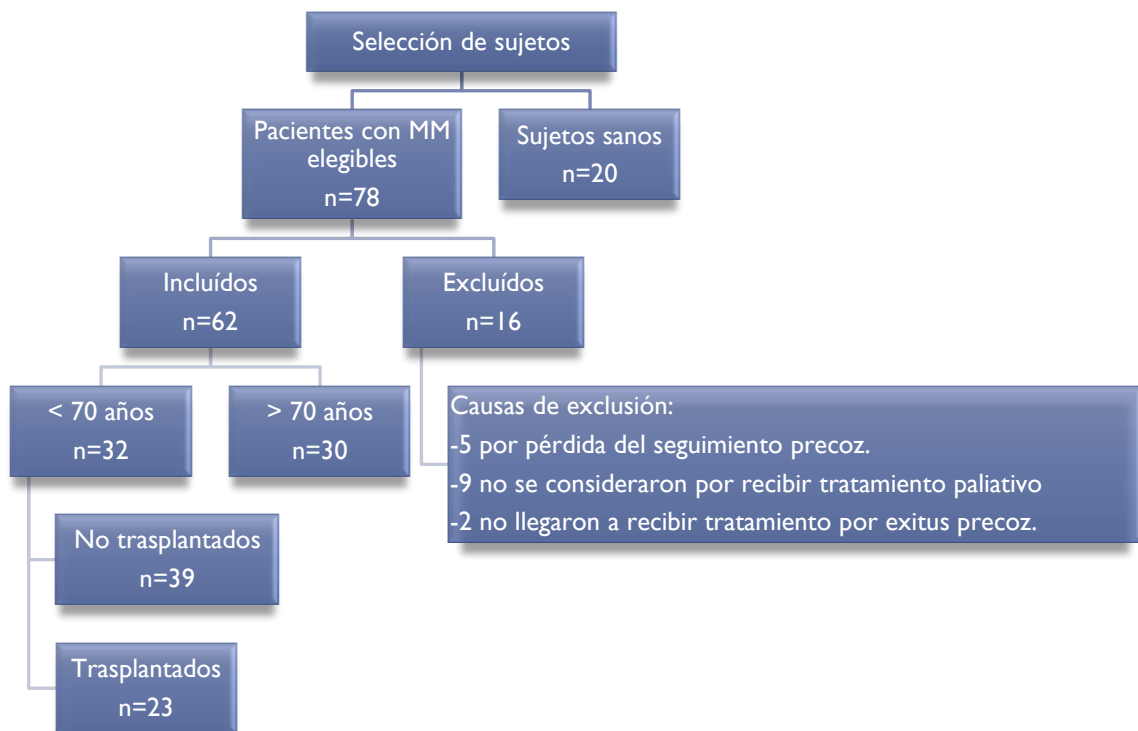
Por su parte, las pruebas de ELISA necesarias para la cuantificación de los bio-marcadores serológicos (*IL6*, Ang1 y Ang2), se realizaron en la sección de bioquímica del Laboratorio Clínico del Hospital Arnau de Vilanova.

Los resultados de las pruebas diagnósticas se analizaron en función de:

- Variables clínico-biológicas al diagnóstico.
- Cuantificación al diagnóstico de CP en médula ósea por técnicas de citomorfología y citometría de flujo.
- Determinación en suero de la *IL6* y de las angiopoyetinas (Ang1 y Ang2).
- Análisis de supervivencia: supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG).

Con respecto a las muestras para las pruebas de ELISA de cada paciente (previamente al tratamiento), se separó una muestra de suero para almacenar en el Bio-banco del IRB de Lleida (Banco acreditado dentro de la red nacional de Biobancos de España, N B.0000682)<sup>131</sup>, para su posterior procesamiento.

En el siguiente diagrama se describe la distribución de los grupos seleccionados en el estudio:



**Figura 11.** Distribución de grupos seleccionados en el estudio.

## 6.1. Responsabilidades éticas

Durante el seguimiento realizado a los pacientes en el transcurso del estudio, se cumplió con las normas establecidas por el comité de ética del HUAV, de acuerdo con la Asociación Médica Mundial<sup>132</sup> y la declaración de Helsinki<sup>133</sup>.

El estudio fue aprobado por el Comité de ética del HUAV con el código CEIC-1186.

### 6.1.1. Confidencialidad de los datos

Se han seguido los protocolos del HUAV para la publicación de los datos recogidos, y que todos los pacientes incluidos en el estudio han recibido información suficiente y han dado su consentimiento informado por escrito para participar en dicho estudio (ver anexos 12).

La información utilizada en el estudio ha sido tratada de forma confidencial y se ha seguido la ley orgánica de protección de datos (Ley Orgánica 3/2018, 5 de diciembre)<sup>134</sup>.

## 6.2. Materiales

### 6.2.1. Pruebas diagnósticas

Dentro de la práctica clínica habitual se siguió el protocolo del HUAV en la atención del paciente con MM, y se realizaron las siguientes analíticas:

	Pruebas
Sangre periférica	- Hemograma
	- Parámetros bioquímicos: creatinina, calcio, proteínas totales, albúmina, filtración glomerular (FG), lactato deshidrogenasa (LDH), B2-microglobulina, cadenas ligeras en suero kappa/lambda ( $\kappa/\lambda$ ), cuantificación de inmunoglobulinas y proteinograma.
Orina de 24hr	- Depuración de creatinina - Proteinuria Bence-Jones (BJ)
Médula ósea	- Porcentaje de CP por morfología y por citometría (porcentaje de CP atípicas respecto al total de CP). - Citogenética de médula ósea (cariotipo y FISH).
Estudio radiológico	- Se realizó PET/TAC, seriada ósea o resonancia magnética (RNM), dependiendo de la presentación y evolución de cada caso.

**Tabla 14.** Pruebas diagnósticas realizadas a los pacientes con MM.



### 6.2.2. Pruebas de ELISA

Utilizando el analizador Triturus (ANA-1Q-019) para inmunoensayo se procesaron las muestras de suero para las pruebas de ELISA, extraídas durante una de las primeras visitas clínicas de rutina, previas al tratamiento con quimioterapia.



**Figura 12.** Analizador Triturus Laboratorio clínico HUAV (imagen de Rosa I. Upegui)

Las muestras de suero se congelaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  en el Biobanco del IRB Lleida y, posteriormente, se analizaron mediante ensayo cuantitativo de inmunoabsorción enzimática de acuerdo con los protocolos de los fabricantes *R&D Systems*.

Kit de ELISA R&D systems	Angiopoyetina 1 Ang1	Angiopoyetina 2 Ang2	Interleuquina 6 IL6
Referencia KIT	DANG10	DANG20	D6050
Valores normales (pg/mL)	62,5–4000	46,9–3000	3,1–300
Concentración mínima detectable (pg/mL)	1,36-10,3	1,20-21,3	0,7
Coefficiente medio de variación intra-ensayo	-	-	4,0%

**Tabla 15.** Datos extraídos de los inserts de R&D System sobre los kits de ELISA utilizados en el estudio<sup>135,136,137</sup>.

En este estudio debido a la falta de consenso sobre el valor de referencia para la ratio de Ang1/Ang2, se escogió una ratio de 6. Lo anterior, se definió tras encontrar en la bibliografía la experiencia de un grupo de investigación con un número de muestras más representativo y unos resultados estadísticamente significativos a partir de este valor, por ejemplo: aquellos pacientes con una ratio Ang1/Ang2 circulante por debajo o igual al valor medio de 6,03, tuvieron una SG de 26,3 meses en comparación con los 53 meses de los que obtuvieron una ratio mayor ( $p = 0,002$ )<sup>99</sup>.

En cuanto a los sujetos sanos de nuestro estudio, presentaron valores compatibles con el rango de normalidad indicado por el proveedor (ver tabla 15).

### 6.2.3. Procesamiento de las muestras de sangre periférica

Para llevar a cabo la obtención y el procesamiento de las muestras se realizaron los siguientes pasos que se describen a continuación:

a) Recolección de la muestra:

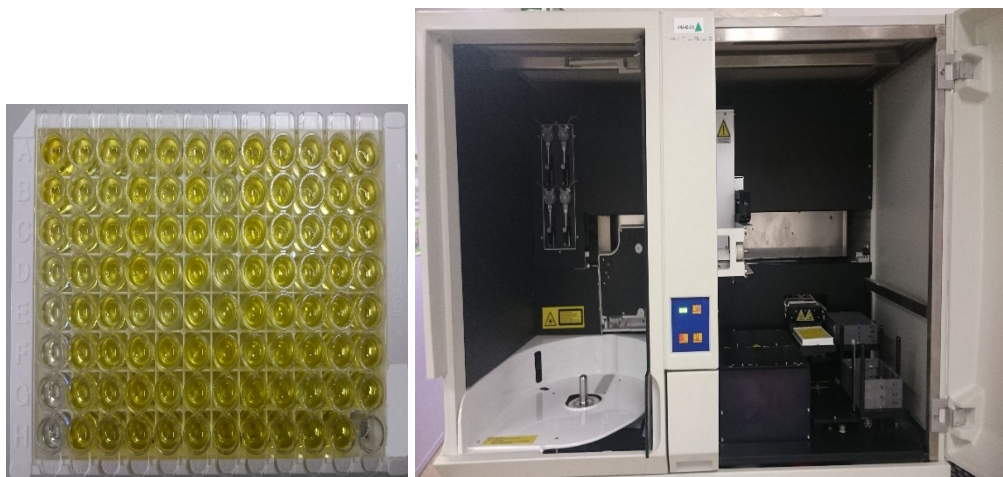
Por medio de las consultas externas del servicio de Hematología del Hospital Arnau de Vilanova de Lleida se realizaron las valoraciones de diagnóstico y seguimiento de los pacientes, junto con la firma del consentimiento informado necesario para la obtención de las muestras (además de los tubos necesarios para la analítica de rutina, se extrajeron tubos de suero de 3 mL para la determinación por ELISA de: IL6, Ang1 y Ang2).

b) Transporte de muestras:

Las muestras fueron transportadas a temperatura ambiente (18-25°C) en recipientes que cumplían con las directrices establecidas por el laboratorio clínico del HUAV, y los sueros seleccionados para ser almacenados y posteriormente procesados para la prueba de ELISA. Estos fueron almacenados en el Biobanco para ser congelados a -80°C.

c) Preparación de las muestras para ELISA:

Para la preparación de las muestras de ELISA se han seguido los protocolos indicados por la empresa R&D Systems en los inserts correspondientes a los marcadores séricos seleccionados para el estudio.



**Figura 13.** Analizador Triturus y microplaca utilizada en la técnica de inmunoensayo en el HUAV (imágenes de Rosa I. Upegui).

Procesamiento de las muestras para la realización de la técnica ELISA	
1	Prepare todos los reactivos, materiales de trabajo y muestras.
2	Retire el exceso de tiras de microplacas de la placa, deposítelas en la bolsa de aluminio que contiene el paquete con el papel secante y vuelva a sellar.
	IL6 <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Agregue 100 <math>\mu</math>L de diluyente de ensayo RD1W a cada pocillo.</li> <li>▪ Agregue 100 <math>\mu</math>L del control o muestra por pocillo.</li> </ul>
3	Ang1 <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Agregue 100 <math>\mu</math>L de diluyente de ensayo RD1-20 a cada pocillo. El diluyente de ensayo RD1-20 puede contener un precipitado. Mezcle bien antes y durante el uso.</li> <li>▪ Agregue 50 <math>\mu</math>L de control o muestra por pocillo.</li> </ul>
	Ang2 <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Agregue 100 <math>\mu</math>L de diluyente de ensayo RD1-76 a cada pocillo. El diluyente de ensayo RD1-20 puede contener un precipitado. Mezcle bien antes y durante el uso.</li> <li>▪ Agregue 50 <math>\mu</math>L de control o muestra por pocillo.</li> </ul>
4	Cubrir con la tira adhesiva e incube por 2 h a temperatura ambiente en un agitador de microplacas orbital horizontal a $500 \pm 50$ rpm.
5	Aspire cada pocillo y lave, repitiendo el proceso tres veces para un total de cuatro lavados. Lave llenando cada pocillo con tampón de lavado (400 $\mu$ l) usando una botella con atomizador, dispensador múltiple o <i>autowasher</i> . La eliminación completa de líquido en cada paso es esencial para un buen rendimiento. Después del último lavado, elimine cualquier tampón de lavado restante aspirando o decantando. Invierta el plato y séquelo contra toallas de papel limpias.
6	Agregue 200 $\mu$ L de <i>Ang1</i> o <i>Ang2</i> a cada pocillo. Cubra con una nueva tira adhesiva. Incubar por 2 h a T° ambiente en el agitador.
7	Repita la aspiración y lavado como en el paso 5.
8	Agregue 200 $\mu$ L de solución de sustrato a cada pocillo. Incubar durante 20 o 25 minutos (IL 5 o VEGF, respectivamente) a 30 minutos (endoglina y angiopoyetinas) a T° ambiente. Proteger de la luz.
9	Agregue 50 $\mu$ L de solución de parada a cada pocillo. El color en los pozos debe cambiar de azul a amarillo. Si el color en los pocillos es verde o el cambio de color no parece uniforme, golpee suavemente la placa para asegurar una mezcla completa.
10	Determine la densidad óptica de cada pocillo en 30 minutos, utilizando un lector de microplacas configurado a 450 nm. Si la corrección de longitud de onda está disponible, ajústela a 540 nm o 570 nm. Si la corrección de longitud de onda no está disponible, reste las lecturas a 540 nm o 570 nm de las lecturas a 450 nm. Esta resta corregirá las imperfecciones ópticas en la placa. Las lecturas realizadas directamente a 450 nm sin corrección pueden ser más altas y menos precisas.

**Tabla 16.** Instrucciones extraídas de R&D Systems para la preparación de kits de ELISA <sup>135,136,137</sup>.

### 6.3. Tratamientos utilizados en el HUAV durante el estudio

Las pautas de tratamiento de los 62 pacientes seleccionados en el estudio fueron establecidas con las recomendaciones dadas por el IMWG (International Myeloma Working Group)<sup>55</sup> y recogidas en el protocolo asistencial del HUAV<sup>138</sup>.

Teniendo en cuenta las recomendaciones establecidas en el protocolo de la institución, los pacientes mayores de 70 años no se consideraron candidatos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TASPE), a diferencia de los menores de 70 años (30 versus 32, respectivamente). En este segundo grupo pudo realizarse el trasplante a 23 de los pacientes, a excepción de aquellos cuyas comorbilidades no favorecieron su realización (ver tabla 22).

El tratamiento inicial para los candidatos o no a trasplante consistió, en la mayoría de los casos, en esquemas como: VRD (bortezomib, lenalidomida, dexametasona), VTD (bortezomib, talidomida, dexametasona), VMP (bortezomib, melfalán, dexametasona), VD (bortezomib, dexametasona) y Rd (lenalidomida y dexametasona).

#### 6.3.1. Pacientes no candidatos a TASPE de médula ósea

En la terapia inicial para pacientes que no fueron candidatos a trasplante se administró:

a. **Bortezomib / melfalán / prednisona (VMP)**

- Bortezomib 1,3 mg/m<sup>2</sup> subcutáneo (sc) los días 1, 4, 8, 11, 22, 25, 29 y 32, cada 42 días, (ciclos 1-4); 1.3mg/m<sup>2</sup> los días 1,8,22 y 29 (ciclos 5-9), cada 42 días; melfalán 9 mg/m<sup>2</sup> v.o los días 1 a 4; prednisona 60 mg/m<sup>2</sup> v.o, días 1-4; cada 35 días.

b. **Lenalidomida / dexametasona (Rd)**

- Lenalidomida 25 mg v.o días 1 a 21; dexametasona 40 mg vía oral los días 1, 8, 15, 22; repetido cada 28 días <sup>139</sup>.

c. **Melfalán / prednisona (MP)**

- Melfalán 0,25 mg/kg v.o los días 1-4 (0,20 mg/kg/día v.o los días 1-4 en pacientes  $\geq 75$  años); prednisona 2mg/kg v.o los días 1-4; repetido cada 4 semanas.

#### 6.3.2. Pacientes elegibles para TASPE de médula ósea

A los sujetos trasplantados se les administraron alrededor de 6 ciclos de inducción previamente. Los esquemas de tratamiento de primera línea utilizados, fueron:

1. **Bortezomib / talidomida / dexametasona (VTD)**

- Bortezomib 1,3 mg/m<sup>2</sup> s.c los días 1, 4, 8, 11; talidomida, 200 mg vía oral, días 1 a 28; dexametasona 40 mg/día después de bortezomib los días 1-4, 9-12; ciclos de 28 días, 6 ciclos de inducción previa al trasplante.

2. Bortezomib / lenalidomida / dexametasona (VRD)
  - Bortezomib 1,3 mg/m<sup>2</sup> s.c los días 1, 4, 8, 11; lenalidomida 25 mg v.o días 1-21; dexametasona 40 mg/día los días 1-4,9-12; ciclos de 28 días.
3. Bortezomib / ciclofosfamida / dexametasona (VCD)
  - Ciclofosfamida 300 mg/m<sup>2</sup> v.o los días 1, 8, 15 y 22; bortezomib 1,3 mg/m<sup>2</sup> s.c. los días 1, 4, 8,11; dexametasona 40mg v.o los días 1-4, 9-12; repetido cada 28 días.
4. Recogida de progenitores hematopoyéticos
  - Movilización: se realizó movilización con G-CSF (Neupogen® 300µg o Granocyte® 480µg). Dosis: 10µg/Kg/día (vía subcutánea).

El producto adecuado consistió en obtener una cantidad de células progenitoras (CD34 positivas) > 2 x10<sup>6</sup>/Kg<sup>140</sup>.

### 6.3.3. Tratamiento en caso de recaída o enfermedad refractaria

Los pacientes en recaída o con enfermedad refractaria fueron tratados según el protocolo de la institución<sup>138</sup>.

## 7. PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS

Los datos utilizados para la realización del estudio se han registrado en una base de datos informatizada y anonimizada.

Las variables categóricas se describieron mediante frecuencias absolutas y relativas. Para la descripción de las variables continuas se utilizaron: la media, la desviación típica, la mediana, el mínimo y el máximo, incluyendo el número total de valores válidos.

Para las comparaciones de variables cuantitativas entre subgrupos de pacientes se utilizaron pruebas paramétricas (t de Student o ANOVA) o no paramétricas (U de Mann-Whitney o Kruskal-Wallis), y para la comparación de datos entre visitas se realizaron pruebas paramétricas (t de Student de datos apareados o ANOVA de medidas repetidas) o no paramétricas (test de Wilcoxon o test de Friedman), según el cumplimiento de las asunciones requeridas de cada una de las pruebas, y el número de grupos a comparar.

Con las variables cualitativas se aplicó la prueba Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher, para comparar subgrupos de pacientes, o bien la prueba de McNemar para las comparaciones entre visitas.

Para la identificación de varios factores asociados con una variable dependiente, se utilizaron pruebas de análisis multivariante, como la regresión lineal o logística.

En el estudio de la supervivencia se emplearon tablas de vida, se calcularon y se compararon las funciones de supervivencia mediante el procedimiento de Kaplan-Meier y la prueba Log-Rank. En caso necesario se emplearon modelos de regresión de Cox

En todas las pruebas estadísticas se aplicó un nivel de significación estadística de 0,05 bilateral.

Para realizar los análisis estadísticos se ha empleado el paquete estadístico SPSS 25.0 (IBM).

## 8. RESULTADOS

Para la realización de este trabajo de investigación se realizó un seguimiento por una mediana de tiempo de 43 meses, entre los años 2014 y 2019, a un total de 62 pacientes. En este periodo de tiempo se registraron (durante las consultas médicas programadas y/o revisiones hospitalarias) los resultados de las pruebas diagnósticas y la información clínica necesaria para el control de la enfermedad.

En relación con los biomarcadores angiogénicos, se recogieron los datos de las muestras extraídas en el momento del diagnóstico.

### 8.1. Variables biológicas y clínicas

A continuación, se describen las características clínicas y biológicas de los sujetos seleccionados para el estudio. Comenzaremos por la distribución de los grupos estudiados, de los 62 pacientes escogidos 30 eran varones y 32 eran mujeres con una mediana de edad de 69 años.

En el caso del grupo de sujetos sanos, se analizaron las muestras de 20 individuos, con una mediana de edad de 42 años, sin enfermedades hematológicas conocidas u otros antecedentes patológicos relevantes.

	Mujeres	Hombres	Mediana de edad (años)	Rango de edad (años)	Total
Sujetos sanos	13 (65%)	7 (35%)	42	16 - 64	20
Pacientes	32 (51,6%)	30 (48,4%)	69	38 - 86	62

**Tabla 17.** Sexo y edad de los grupos seleccionados en el estudio.

En la siguiente tabla se describen los resultados de las pruebas diagnósticas realizadas, y su incidencia en el grupo de pacientes seleccionados. Los resultados registrados son los obtenidos en las pruebas realizadas en el momento del diagnóstico del MM.

Lo anterior, no solamente incluye la analítica del estudio inicial, sino también los resultados del estudio medular y del radiológico.

Los registros de estos resultados se realizaron seleccionando los valores en los que cada parámetro podría tener relevancia en la evolución de los pacientes o su supervivencia, según los criterios diagnósticos sugeridos por el IMWG<sup>43</sup>.



Variable	Descripción	n= 62
Tipo de Componente monoclonal	IgG	35 (56,5%)
	IgA	20 (32,3%)
	Bence Jones	5 (8%)
	No secretor	2 (3,2%)
Tipo de cadena ligera	Kappa	38 (61,2%)
	Lambda	22 (35,4%)
	Ausente	2 (3,2%)
Creatinina	≥ 2 mg/dL	4 (6,5%)
	< 2 mg/dL	58 (93,5%)
Filtrado glomerular (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	< 60	17 (27,4%)
	≥60	45 (72,6%)
Hb	≥ 10 g/dL	39 (62,9%)
	< 10 g/dL	23 (37,1%)
LDH	≥ 450 U/L	11 (17,7%)
	< 450 U/L	51 (82,3%)
Calcio	≥ 10,5 mg/dL	10 (16,1%)
	< 10,5 mg/dL	52 (83,9%)
Beta2microglobulina	< 3,5 mg/L	19 (30,6%)
	≥ 3,5 mg/L	43 (69,4%)
Infiltración células plasmáticas en MO	≥ 60%	16 (25,8%)
	< 60%	46 (74,2%)
Bence Jones	Kappa	24 (38,7%)
	Lambda	17 (27,4%)
	Ausente	21 (33,9%)
Ratio Cadenas ligeras κ/λ	Normales	4 (6,5%)
	Alteradas	58 (93,5%)
	< 100	42 (67,7%)
	≥ 100	20 (32,3%)
ISS	I	13 (20,9%)
	II	28 (45,2%)
	III	21 (33,9%)
Citogenética y FISH *	Alto riesgo	t(14:16) del(17p) Ganancia(1q) 10 (47,6%, del total de 21 pacientes)
	Riesgo estándar	Trisomias Hiperdiploidia y otros 11 (52,4%, del total de 21 pacientes)

**Tabla 18.** Variables analíticas al diagnóstico de los pacientes con MM.

\* En el caso del FISH y la citogenética se obtuvieron resultados en 21 pacientes (que se clasificaron según las recomendaciones del IMWG<sup>141</sup>) de los cuales 10 eran de alto riesgo y 11 de riesgo estándar. No fue posible registrar los resultados de los demás participantes debido principalmente a datos de laboratorio iniciales faltantes o insuficientes.



En los resultados obtenidos en las pruebas diagnósticas para MM descritas en la tabla anterior, se observó:

- Predominio en la expresión del componente monoclonal IgG (56,5%) y de las cadenas ligeras kappa (en orina se presentaron en un 38,7% de los pacientes y en suero en un 58,1%), en relación con las cadenas ligeras lambda (en orina se cuantificaron en un 27,4% de los sujetos y en suero en un 35,4%) y el resto de los casos.
- En cuanto a la ratio de las cadenas ligeras en suero, ésta estuvo alterada en el 93,5% de las muestras y la ratio  $\kappa/\lambda$  fue  $\geq 100$  en un 32,3% de los pacientes.
- Otros de los resultados obtenidos al momento del diagnóstico, que se asocian a un mayor compromiso clínico de los pacientes, fueron: la presencia de Hb  $<10$  g/dL en un 37,1%, niveles de LDH  $>450$  U/L en un 17,7%, calcio  $\geq 10$  mg/dL en el 16,1%, una ratio de FG  $<60$  mL/min/1,73m<sup>2</sup> en un 27,4%, y una infiltración tumoral en su médula ósea mayor al 60% en un 25,8% de los pacientes.
- En el caso de la Beta2 microglobulina encontramos que en un 69,4% de los pacientes fue  $\geq 3,5$  mg/dL (un 43,5% del total de las muestras fueron  $\geq 5$  mg/dL); mientras que un 30,6% obtuvo valores  $< 3,5$  mg/dL. En relación con la albúmina, esta fue  $<3,5$  mg/dL en un 48,4% de los sujetos.
- Por su parte, en la clasificación del ISS se observó un predominio de las etapas II (45,2%) y III (33,9%), con respecto al total de pacientes (el ISS I se dio en un 20,9% de los pacientes).
- Al buscar la presencia de una gammapatía previa al diagnóstico de MM se evidenció que, en el caso de la GMSI y el MM quiescente, estos se presentaron en un porcentaje moderado de pacientes.

Tipo de gammapatía	N.º Casos
GMSI	5 (8,1%)
Mieloma quiescente	9 (14,5%)

**Tabla 19.** Incidencia de las gammapatías previas al diagnóstico de MM sintomático.

- Por su parte, el diagnóstico de plasmocitoma (ya fuera o no solitario) se describió de forma concomitante en el momento del diagnóstico en 13 (20,9%) pacientes.

## 8.2. Tratamiento de primera línea y respuesta al tratamiento

A continuación, se describen las líneas de tratamiento iniciales recibidas por los pacientes mayores y menores de 70 años, y las respuestas observadas según los criterios del IMWG <sup>138</sup>:

< 70 años	n=30	% (n=62)	Respuesta	
Bortezomib, Talidomida y Dexametasona (VTD)	22	35,5	RC/IF-	9
			RC/IF+	2
			MBRP	3
			RP	5
			E. Progresiva	2
			No evaluado	1
Bortezomib, Lenalidomida y Dexametasona (VRD)	6	9,7	E. Progresiva	1
			RC/IF-	1
			RC/IF+	1
			RP	3
Ciclofosfamida, Bortezomib, Dexametasona – (VCD)	2	3,2	E. Estable	1
			E. Progresiva	1

**Tabla 20.** Respuesta al tratamiento de primera línea en < 70 años. En este grupo de edad se utilizaron esquemas de VTD, VRD y VCD.

≥70 años	n=32	% (n=62)	Respuesta	
Bortezomib, Melfalán y Prednisona (VMP)	21	33,9	RC/IF-	3
			RC/IF+	4
			RP	4
			E. Estable	2
			E. Progresiva	3
			No evaluado	5
Lenalidomida y Dexametasona (RD)	5	8,1	E. Estable	3
			E. Progresiva	1
			No evaluado	1
Bortezomib y Dexametasona (VD)	6	9,7	RC/IF-	2
			E. Estable	1
			RP	1
			No evaluado	2

**Tabla 21.** Respuesta al tratamiento de primera línea en ≥ 70 años. En este grupo de edad se administraron esquemas basados en bortezomib (MPV y VD) y lenalidomida (RD).

En ambos grupos de edad, los casos que no pudieron ser evaluados correspondían a exitus (8 pacientes) previos a la finalización del tratamiento, y en uno de los casos a la interrupción del seguimiento por consulta externa.

De entre el grupo de los 30 pacientes menores de 70 años que cumplían los requisitos necesarios para ser trasplantados, 7 fueron excluidos por las razones que se describen a continuación:

Motivos de exclusión	Refractariedad al tratamiento	1	3,3%
	Decisión paciente	1	3,3%
	Comorbilidad	2	6,7%
	Toxicidad al tratamiento	3	10%
	Total de casos	7	23,3%

**Tabla 22.** Causas de exclusión para trasplante.

### 8.3. Cuantificación de biomarcadores serológicos

Se analizaron los resultados de los tres biomarcadores séricos seleccionados, tanto en el grupo de pacientes como en el grupo de sujetos sanos.

#### 8.3.1. Angiopoyetinas e Interleuquina 6

##### 8.3.1.1. Resultados de la IL6 y las angiopoyetinas

A continuación, se describen las diferencias observadas en los resultados obtenidos de: IL6, Ang1, Ang2 y la ratio de Ang1/Ang2 entre el grupo de pacientes y sujetos sanos.

		IL6 3,1–300pg/ml	Ang1 62,5–4000pg/ml	Ang2 46,9–3000pg/ml	Ratio Angi1/Ang2
MM N = 62	Mediana	2,72	22250	2420	9,70
	Media	8,38	25491,94	2624,93	12,60
	DE	16,08	12415,19	1531,08	13,01
	Mínimo	0,00	6750	436	1,96
	Máximo	103	63650	9955	99,43

**Tabla 23.** Resultados de los marcadores angiogénicos en el grupo de pacientes con MM.

		IL6 3,1–300 pg/ml	Ang1 62,5–4000 pg/ml	Ang2 46,9–3000 pg/ml	Ratio Angi1/Ang2
Sujetos sanos N = 20	Mediana	1,99	39425	1762,50	28,09
	Media	4,83	42240	2009	28,90
	DE	5,52	17926,11	1030,77	20,12
	Mínimo	0,00	17000	535	3,77
	Máximo	19,20	76450	4515	78,97

**Tabla 24.** Resultados de los marcadores angiogénicos en el grupo control.

Con respecto a la IL6, se observaron niveles más elevados en los pacientes con MM que en los sujetos sanos.

En el caso de las angiopoyetinas, los valores de la Ang1 fueron más elevados en los sujetos sanos, a diferencia de los resultados de la Ang2 que fueron superiores en los pacientes con MM. Como consecuencia de lo anterior, los resultados de la ratio de Ang1/Ang2 en los sujetos sanos fueron mayores que en los enfermos de MM.

En cuanto a esta última variable se obtuvo una media de la ratio Ang1/Ang2 en los sujetos sanos de 28,90 (mediana de 28,09), y una media para los pacientes de 12,60 (mediana de 9,70). Sin embargo, como ya se explicó anteriormente, se ha aplicado un corte en “6”, tomando como base otros trabajos con un número mayor de individuos estudiados<sup>99,142</sup>.

Con el objetivo de determinar el tipo de asociación entre estos tres biomarcadores angiogénicos, se realizó un análisis de comparación de medias con el fin de representar las diferencias encontradas entre biomarcadores (tabla 25).

En la siguiente tabla se comparan las diferencias entre las medias de estos biomarcadores, obtenidas tanto en el grupo de pacientes (n=62), como en el de sujetos control (n=20):

Biomarcador	n	Media	IC 95% de la diferencia de las medias de biomarcador		p
			Inferior	Superior	
IL6 3,1 - 300 pg/ml	20	4,83	-11,28	4,18	0,363
	62	8,38			
Ang1 62,2–4000 pg/mL	20	42240	9,70	23,78	0,001
	62	25491,94			
Ang2 46,9–3000 pg/mL	20	2009	-1,25	20,62	0,058
	62	2624,93			
Ang1/Ang2	20	28,9	6,36	26,23	0,002
	62	12,6			

**Tabla 25.** Prueba de T de *student* para valorar las diferencias entre las medias de los biomarcadores angiogénicos.

Para complementar la información obtenida se valoró si el comportamiento de los biomarcadores estudiados estaba relacionado entre sí, y para ello se evaluó la correlación entre estas variables.

En la siguiente tabla se describe una correlación no significativa entre la IL6 y ambas angiopoyetinas ( $p = 0,650$  y  $p = 0,274$  para la Ang1 y la Ang2, respectivamente); y una relación inversa y estadísticamente significativa, entre la Ang1 y la Ang2 ( $p = 0,020$ ). Es decir, cuando la Ang1 se encuentra elevada la Ang2, por lo general, disminuye.

En cuanto a la Ang2 y a la IL6, a pesar de no obtener un valor de  $p$  significativo, fue notoria la diferencia de estas dos últimas variables al compararlas en ambos grupos, pues los valores de la Ang2 y la IL6 tendían a aumentar en aquellos individuos afectados por la enfermedad.

n = 82		IL6 3,1-300 pg/ml	Ang1 62,5-4000 pg/ml	Ang2 46,9-3000 pg/ml
IL6 3,1 - 300 pg/ml	r	1	-0,051	0,122
	p		0,650	0,274
Ang1 62,5-4000 pg/ml	r	-,051	1	-0,256
	p	0,650		0,020
Ang2 46,9-3000 pg/ml	r	0,122	-0,256	1
	p	0,274	0,020	

**Tabla 26.** Coeficiente de correlación de Pearson entre los 82 casos incluidos en el estudio.

El valor del índice de correlación (r) puede interpretarse así <sup>143,144</sup> :

- \* Si  $r = 1$ , existe una correlación positiva perfecta. El índice indica una *relación directa*: cuando una de ellas aumenta, la otra también lo hace en proporción constante.
- \* Si  $0 < r < 1$ , entonces existe una correlación positiva.
- \* Si  $r = 0$ , entonces no existe relación lineal, pero esto no implica que las variables sean independientes, pueden existir relaciones no lineales entre las dos variables.
- \* Si  $-1 < r < 0$ , existe una correlación negativa o inversa.
- \* Si  $r = -1$ , existe una correlación negativa perfecta. El índice indica una *relación opuesta*: cuando una de ellas aumenta, la otra disminuye en proporción constante.

#### 8.4. Correlación entre las variables al diagnóstico y los biomarcadores

Se realizó un análisis de correlación de Pearson entre los diferentes parámetros utilizados al diagnóstico y los niveles de IL-6, Ang1 y Ang2. Las variables analizadas fueron: la hemoglobina (Hb), la creatinina, la filtración glomerular, el lactato deshidrogenasa (LDH), la B2microglobulina, la albúmina, el calcio, la infiltración medular por células plasmáticas y la ratio de cadenas ligeras libres (CLL).

Los resultados fueron los siguientes:

- La IL6 con la ratio de CLL  $\kappa/\lambda$  ( $r = 0,464$ ,  $p = 0,001$ ), presentaron un  $r > 0$ , indicando una correlación directa y positiva.
- La Ang1 en relación con la Hb ( $r = 0,266$ ,  $p = 0,036$ ), tuvieron una correlación directa y positiva. En el caso de la B2 microglobulina ( $r = -0,296$ ,  $p = 0,019$ ), presentaron un  $r < 0$ , es decir, una correlación negativa e inversa.
- La ratio Ang1/Ang2 con la Hb ( $r = 0,286$ ,  $p = 0,024$ ) mostraron una asociación positiva.
- No se obtuvo significancia estadística al asociar la Ang2 con estos parámetros.

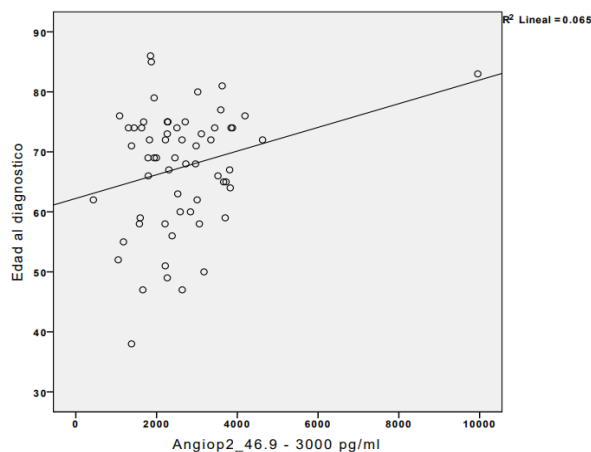
Variable			IL6 3,1-300pg/ml	Ang1 62,5-4000pg/ml	Ang2 46,9-3000pg/ml	Ratio Ang1/Ang2
<b>Hb</b>						
Mediana	10,9	r	-0,131	0,266	-0,177	0,286
Rango	5.8 - 15	p	0,311	0,036	0,169	0,024
<b>Creatinina</b>						
Mediana	0,96	r	-0,025	-0,017	-0,036	-0,023
Rango	0,5-7,2	p	0,847	0,895	0,782	0,858
<b>FG 60 mL/min/1.73m<sup>2</sup></b>						
Mediana	60,93	r	-0,054	0,183	-0,079	0,79
Rango	19,9-90	p	0,674	0,154	0,539	0,540
<b>LDH</b>						
Mediana	286,5	r	-0,078	-0,167	-0,074	-0,121
Rango	126-839	p	0,548	0,194	0,569	0,349
<b>B2microglobulina</b>						
Mediana	6,31	r	-0,014	-0,296	0,176	-0,221
Rango	1,2-47,6	p	0,912	0,019	0,172	0,085
<b>Albúmina</b>						
Mediana	3,5	r	-0,036	0,142	-0,114	0,136
Rango	1,6-4,5	p	0,781	0,272	0,376	0,292
<b>Calcio</b>						
Mediana	9,62	r	0,003	0,053	-0,102	0,026
Rango	7,2-11,8	p	0,979	0,682	0,432	0,843
<b>Infiltración en MO por CP</b>						
Mediana	42,5	r	0,76	-0,182	0,173	-0,224
Rango	0 - 100	p	0,557	0,158	0,178	0,08
<b>Ratio de CLL <math>\kappa/\lambda</math> normal vs anormal</b>						
Mediana	1,00	r	0,464	-0,175	-0,175	-0,066
Rango	0,003-5614,3	p	0,01	0,173	0,173	0,613
<b>Edad</b>						
Mediana	69	r	-0,182	-0,047	0,256	-0,185
Rango	38-86	p	0,157	0,715	0,045	0,150

**Tabla 27.** Correlación de Pearson entre variables analíticas y biomarcadores angiogénicos.

En cuanto a algunos de los factores biológicos analizados en el momento del diagnóstico y que mostraron significancia estadística al ser comparados con los marcadores angiogénicos estudiados, encontramos lo siguiente:

### 8.4.1. Edad

En el caso de la edad (menores y mayores de 70 años) se observó una asociación directa y significativa con la Ang2, es decir, a mayor edad mayor Ang2 ( $r = 0,256$ ,  $p = 0,045$ ). Pero en el caso de los otros biomarcadores no se observó significancia (Ang1 con  $r = -0,047$ ,  $p = 0,715$ ; ratio Ang1/Ang2 con  $r = -0,118$ ,  $p = 0,150$ ; e IL6 con  $r = -0,182$ ,  $p = 0,157$ ).

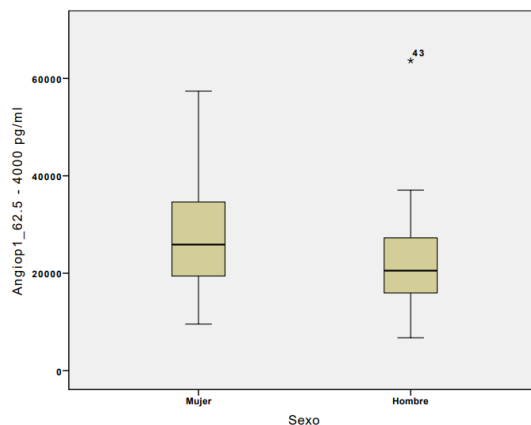


**Figura 14.** Correlación entre la edad y la Ang2. La  $r^2$  (0,065) fue mayor a 0, es decir, la edad y la Ang2 tienen una relación positiva y directa.

### 8.4.2. Sexo

Entre el sexo y la Ang1 se observó una asociación significativa e inversa ( $r = -0,270$ ,  $p = 0,034$ ), esta variable fue superior en el grupo de los pacientes de sexo femenino. Sin embargo, en el caso de la Ang2 ( $r = -0,130$ ,  $p = 0,313$ ) y la ratio Ang1/Ang2 ( $r = -0,185$ ,  $p = 0,150$ ), no se obtuvo una relación significativa.

Con respecto a la IL6, tampoco se observó significancia estadística ( $r = -0,023$ ,  $p = 0,856$ ). En la siguiente gráfica se observa como la Ang1 se encuentra más elevada en mujeres (media = 28645,31 pg/mL), que en varones (media = 22128,33pg/mL).



**Figura 15.** Sexo y Ang1.

### 8.4.3. ISS

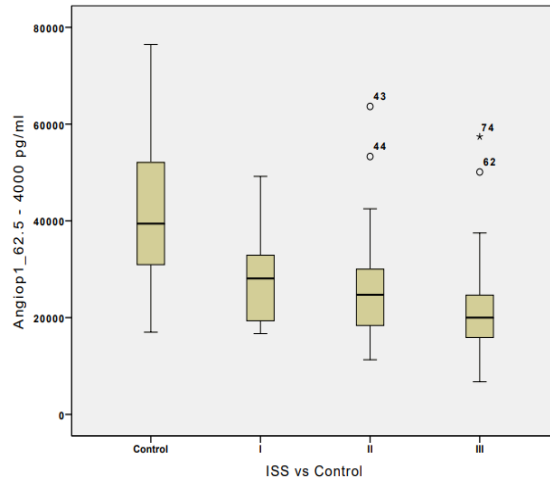
Para el análisis de los biomarcadores angiogénicos y la clasificación ISS de los pacientes al diagnóstico y de los sujetos control, se realizó una comparación entre las medias de estos grupos utilizando la técnica ANOVA, y se observaron los siguientes hallazgos:

- En el caso de la IL6 no se observó significancia estadística al asociarla con los estadios del ISS y los resultados del grupo control; sin embargo, puede verse el aumento del valor de su media a medida que se eleva el estadio del ISS (tabla 28).
- La Ang1 presentó valores de  $p = 0,001$  con respecto a la comparación de los tres estadios del ISS y los sujetos control, indicando que este biomarcador se encuentra en mayor cantidad en sujetos sanos o en etapas iniciales de la enfermedad (figura 16).
- Con la Ang2 no se obtuvo significancia estadística, sin embargo, se observó aumento del valor de su media a medida que se incrementaba el estadio del ISS, y presentó valores más bajos en sujetos sanos (tabla 28 y figura 17).
- El análisis de la ratio de Ang1/Ang2 con respecto a la clasificación ISS y los resultados de los controles mostró tener significancia estadística,  $p = 0,001$ . El valor de la ratio fue mayor ( $> 6$ ) en el grupo control y en los estadios tempranos de la enfermedad, y disminuía ( $< 6$ ) en las etapas más avanzadas del MM (figura 18).

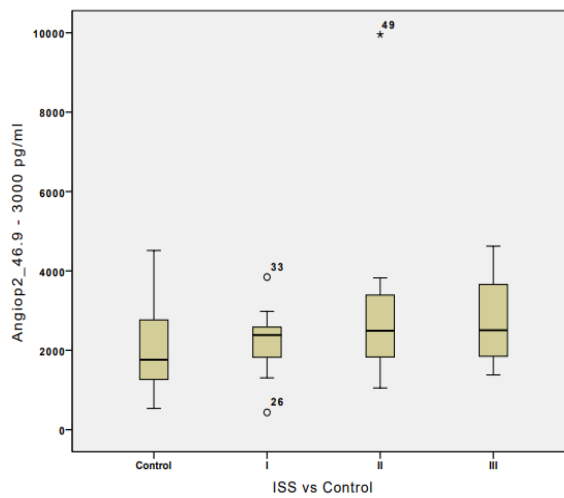
ISS vs Control		IL6_ 3.1 - 300 pg/ml	Ang1_62.5 - 4000 pg/ml	Ang2_46.9 - 3000 pg/ml	Ang1/Ang2
Control	Media	4,8305	42240,00	2009,00	28,9023
	n	20	20	20	20
	Desviación	5,52392	17926,110	1030,776	20,12724
I	Media	4,0238	28653,85	2244,65	18,5405
	n	13	13	13	13
	Desviación	8,52220	11038,615	834,012	24,65201
II	Media	7,6796	26350,00	2767,86	12,2409
	n	28	28	28	28
	Desviación	14,41664	11749,484	1646,252	9,36338
III	Media	12,0205	22390,48	2669,76	9,4146
	n	21	21	21	21
	Desviación	23,09941	13201,947	989,253	6,99233

**Tabla 28.** Comparativa entre los estadios ISS y las medias de los biomarcadores angiogénicos en el grupo de pacientes y de sujetos control.

Los resultados con respecto a el análisis de las medias de los biomarcadores en los grupos estudiados, describieron resultados estadísticamente significativos con respecto a la Ang1 y a la ratio de Ang1/Ang2, en comparación con la IL6 y la Ang2.



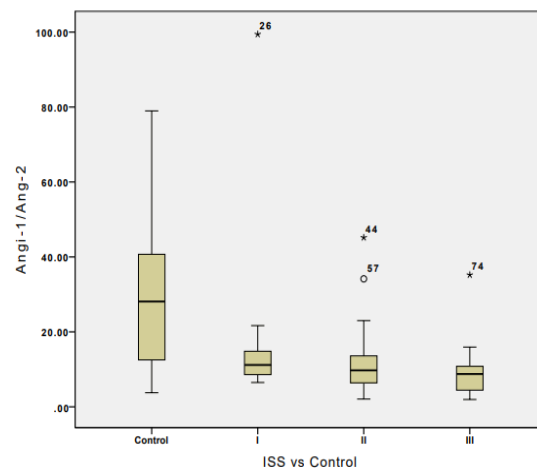
**Figura 16.** Niveles de Ang1 en los pacientes con MM vs controles. Comparación de los niveles de Ang1 en los pacientes con MM según su clasificación de ISS y en relación con los valores descritos en el grupo de sujetos sanos.



**Figura 17.** Niveles de Ang2 en los pacientes con MM vs controles. Comparación de los niveles de Ang2 en los pacientes con MM según su clasificación de ISS y en relación con los valores descritos en el grupo de sujetos sanos.

Por otro lado, los casos que al diagnóstico tuvieron un nivel de Ang2 más alto con respecto a la Ang1, se clasificaron principalmente con un ISS elevado, objetivándose un comportamiento con una tendencia inversa de la Ang2 con respecto a la Ang1.





**Figura 18.** Niveles de la ratio de Ang1/Ang2 en los pacientes con MM vs controles. Comparación de los niveles de la ratio de Ang1/Ang2 en los pacientes con MM vs controles según su clasificación de ISS y en relación con los valores descritos en el grupo de sujetos sanos.

En esta gráfica se demuestra concordancia con los datos descritos en la anterior figura, pues los casos que al diagnóstico presentaron una ratio de Ang1/Ang2 más elevada, tuvieron una clasificación de ISS menor que aquellos que presentaron una ratio más baja.

## 8.5. Supervivencia

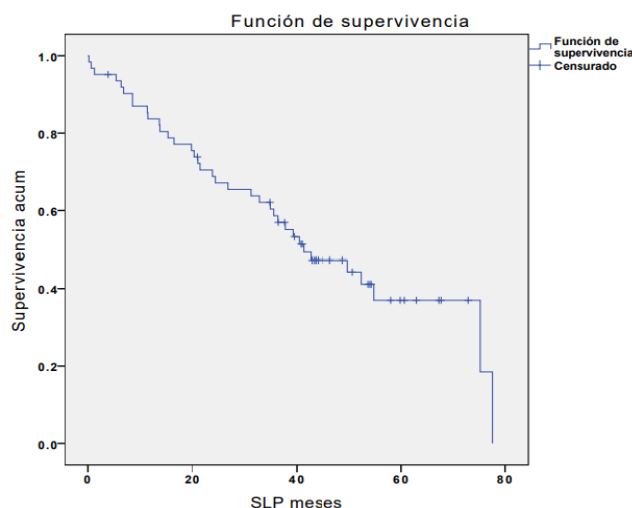
A continuación, se describen los resultados de la supervivencia libre de progresión y de la supervivencia global, con respecto al comportamiento de aquellos parámetros cuyos resultados se consideraron relevantes en el momento del diagnóstico del MM.

### 8.5.1. Supervivencia Libre de progresión (SLP)

Durante una mediana de tiempo de 41,3 meses (26,9 - 55,6 meses, IC95%), se observó progresión de la enfermedad en el 58% (n= 36) del grupo de pacientes con MM.

	n	N.º progresión	No progresión	
			N.º	%
Total	62	36	26	41,9

**Tabla 29.** SLP en pacientes con MM.



**Figura 19.** SLP en pacientes con MM.

#### 8.5.1.1. Supervivencia libre de progresión según el sexo

Al considerar el sexo en el desarrollo del MM se encontró que la progresión en las mujeres fue mayor que en los hombres. Sin embargo, en ellas la mediana de SLP fue de 52,4 meses (35,9-68,8 meses, IC95%) y en ellos fue de 31,2 meses (12,3-50,2 meses, IC95%); siendo una diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0,042$ ).

Sexo	Total	N.º progresión	No progresión	
			N.º	%
Mujer	32	17	15	46,9
Varón	30	19	11	36,7
Total	62	36	26	41,9

**Tabla 30.** SLP en mujeres y hombres.

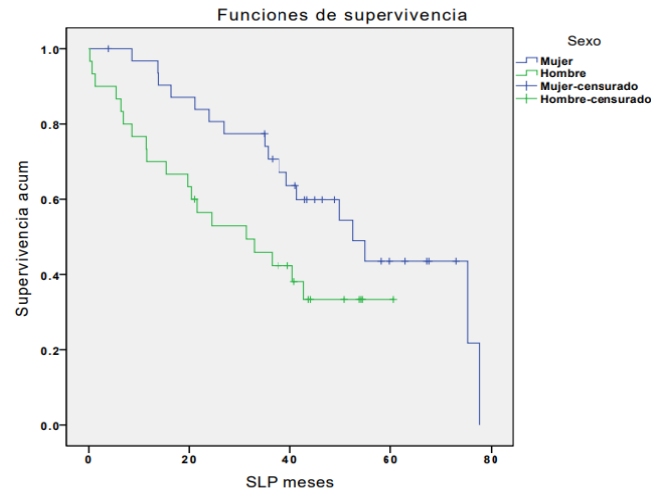


Figura 20. SLP según el tipo de sexo.

8.5.1.2. Supervivencia libre de progresión según la edad

El análisis de la SLP según la edad se realizó tomando como punto de corte los 70 años, según el enfoque terapéutico protocolizado en el HUAV de Lleida.

En los pacientes con MM la mediana de la SLP estuvo en 75,2 meses (29,3-121,3 meses, IC95%) para los menores de 70 años, y en 23,9 meses (10,3-37,5 meses, IC95%) para los mayores de 70 años. Estos valores destacan como la SLP de los menores de 70 años superó a la de los mayores de 70 años ( $p = 0,001$ ).

Edad (años)	Total	N.º progresión	No progresión	
			N.º	%
< 70	32	12	20	62,5
> 70	30	24	6	20
Total	62	36	26	41,9

Tabla 31. SLP según la edad.

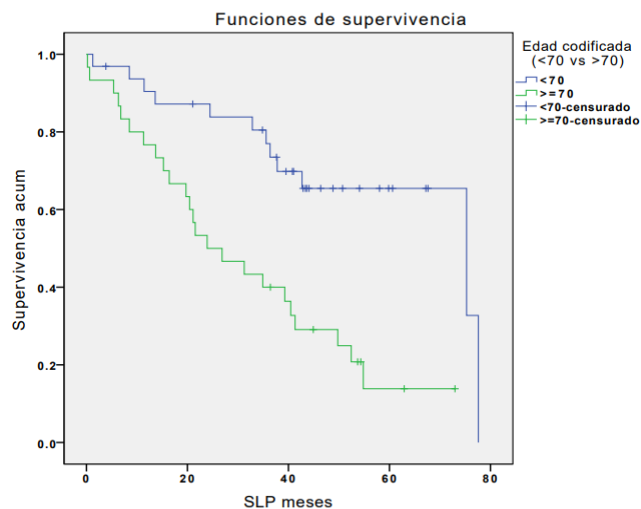


Figura 21. SLP según la edad (< 70 vs > 70 años).

8.5.1.3. Supervivencia libre de progresión según la Lactato deshidrogenasa (LDH)

El 82,2% de los pacientes tenían una LDH < 450 U/L y de estos el 52,9% presentaron progresión de la enfermedad. En el caso de los que tenían una LDH > 450 U/L, el 81,8% progresaron durante el periodo de observación.

La mediana de SLP de los pacientes con una LDH < 450 U/L fue de 49,7 meses (34,9-64,5 meses, IC95%), y para el grupo que con una LDH > 450 U/L fue de 21,5 meses (1,7-41,3 meses, IC95%). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p = 0,011$ ).

LDH	Total	N.º progresión	No progresión	
			N.º	%
< 450 U/L	51	27	24	47,1
≥450 U/L	11	9	2	18,2
Total	62	36	26	41,9

Tabla 32. SLP según los valores de LDH (< 450U/L vs > 450U/L).

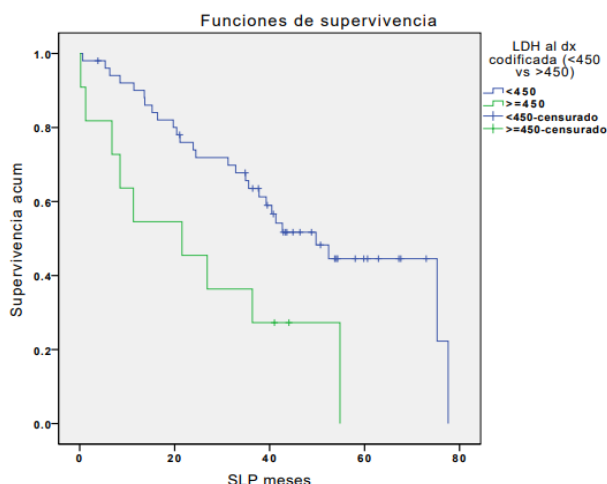


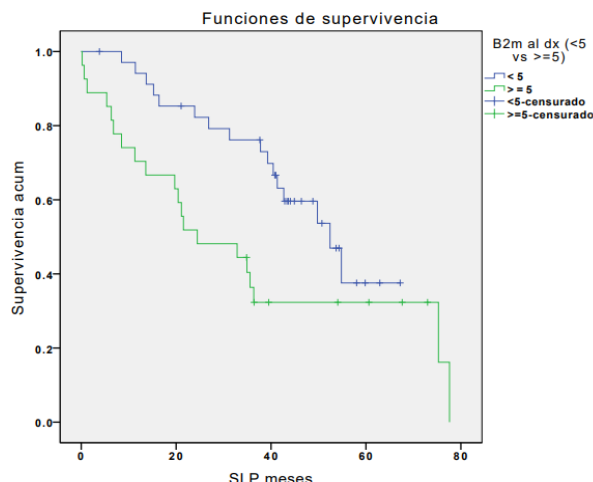
Figura 22. SLP según valores de LDH (< 450 vs > 450 U/L) en pacientes con MM.

8.5.1.4. Supervivencia libre de progresión según la B2microglobulina

Los casos con una B2microglobulina ≥ 5mg/dL tenían una mediana de SLP de 24,5 meses (4,5-44,3 meses, IC95%), a diferencia de los que presentaron valores < 5mg/dL cuya mediana de supervivencia fue de 52,4 meses (41- 63,7 meses, IC95%). La diferencia entre ambos valores fue estadísticamente significativa,  $p = 0,028$ .

B2 microglobulina	Total	N.º progresión	No progresión	
			N.º	%
< 5 mg/dL	35	16	19	54,3
≥ 5 mg/dL	27	20	7	25,9
Total	62	36	26	41,9

Tabla 33. SLP según los resultados de B2 microglobulina.



**Figura 23.** SLP según valores de B2 microglobulina, > 5mg/dL o < 5mg/dL.

8.5.1.5. Supervivencia libre de progresión según la clasificación ISS

A continuación, se describe la SLP presentada en cada categoría de ISS según los grupos de edad, cuyos valores describen una mayor supervivencia en los menores de 70 años en comparación con los mayores de este límite de edad.

No se observó significancia estadística ( $p = >0,050$ ) entre la SLP y el ISS, probablemente debido al número reducido de los casos dispuestos en cada categoría.

ISS < 70 años	Total	N.º progresión	No progresión N.º	%	Media de SLP en meses
I	8	1	7	87,5	56,6 (43,2-70,1, IC95%)
II	15	2	13	86,7	49,7 (42,6-56,8, IC95%)
III	9	3	6	66,7	53,6 (29,8-77,3, IC95%)
Total	32	6	26	81,2	58.8 (49,1-68,5, IC95%)

**Tabla 34.** Número de pacientes <70 años con progresión según ISS.

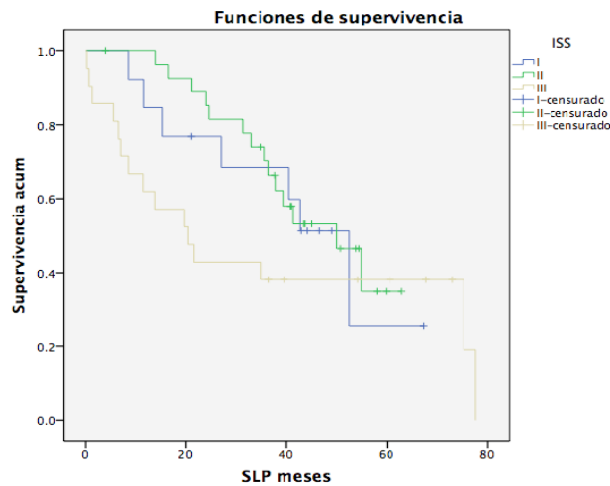
ISS ≥ 70 años	Total	N.º progresión	No progresión N.º	%	Media de SLP en meses
I	5	2	3	60	28,7 (12,9-44,5, IC95%)
II	13	6	7	53,8	40,7 (31,2-50,2, IC95%)
III	12	8	4	33,3	22,8 (8,9-36,6, IC95%)
Total	30	16	14	46,7	32,0 (23,7-40,3, IC95%)

**Tabla 35.** Número de pacientes ≥70 años con progresión según ISS.

A pesar de no obtenerse significancia estadística al comparar la totalidad de pacientes con las etapas del ISS, pudo observarse una mayor supervivencia en aquellos casos con ISS I y II, a diferencia de los pacientes con ISS III. Es decir, los pacientes con ISS III (n=21) mostraron una media de SLP inferior respecto a los pacientes con estadios ISS I y II (n=41), es decir, 20,4 meses (8,6 – 32,3 meses, IC 95%) vs 49,8 meses (36,0 - 63,5 meses, IC95%), con un valor de  $p = 0,137$ .

ISS	I (n=13)	II (n=28)	III (n=21)
Mediana (meses)	52,4	49,8	20,4
IC 95% (meses)	39 - 65,8	35,5 - 63,9	8,5 - 32,3

**Tabla 36.** SLP según la clasificación ISS en el número total de pacientes (n=62).

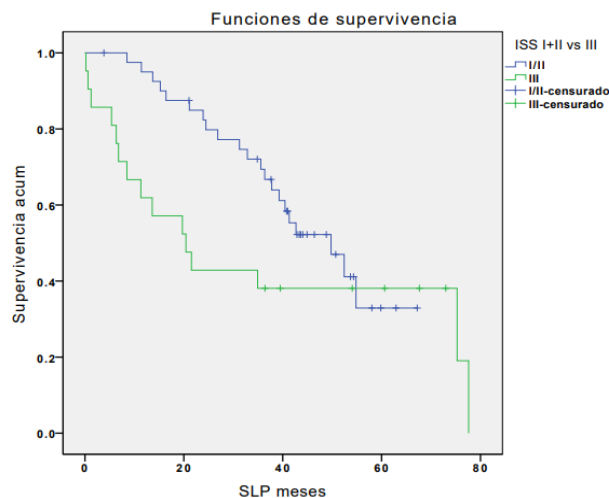


**Figura 24.** SLP según la clasificación ISS.

Comparación entre los estadios de ISS I/II e ISS III:

ISS	Total	N.º progresión	No progresión N.º	%
I/II	41	21	20	48,8
III	21	15	6	28,6
Total	62	36	26	41,9

**Tabla 37.** SLP según la comparación entre los estadios ISS I/II e ISS III.



**Figura 25.** SLP según la comparación entre los estadios ISS I/II e ISS III.

8.5.1.6. Supervivencia libre de progresión según el componente monoclonal

El tipo de CM encontrado en los sujetos del estudio fue similar al descrito en otros trabajos sobre MM. En el caso de la IgG la mediana de la SLP fue de 49,7 meses (29,5-69,9 meses, IC95%), y con la IgA fue de 39,3 meses (31,9-46,6 meses, IC95%). Con el Bence Jones se calculó la media de la SLP que fue de 39,3 meses (8,3-70,3 meses, IC95%); lo mismo ocurrió con relación al MM no secretor, cuya media de SLP fue de 37,9 meses (30,9-44,8 meses, IC95%).

No se observó significancia estadística ( $p = 0,889$ ) entre el tipo de CM y la SLP.

Tipo de CM predominante	Total	N.º progresión	No progresión N.º	%
IgG	35	19	16	45,7
IgA	20	12	8	40
Bence Jones	5	4	1	20
No secretor	2	1	1	50
Total	62	36	26	41,9

Tabla 38. SLP según el CM.

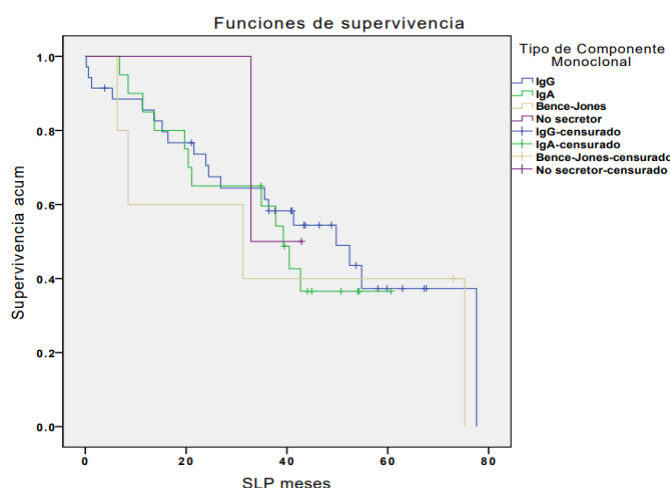


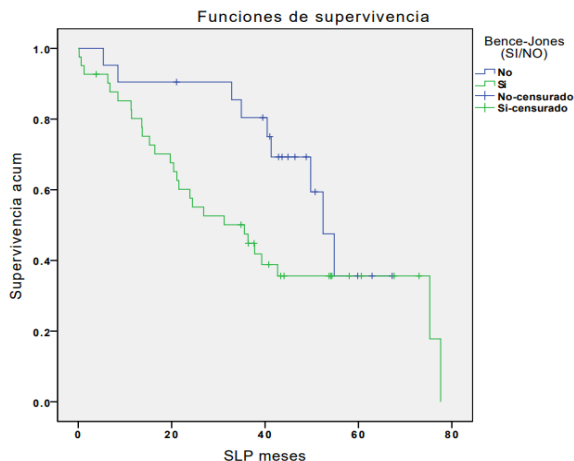
Figura 26. SLP según el valor de CM

8.5.1.7. Supervivencia libre de progresión según la presencia de Bence Jones (BJ)

La mediana de SLP para aquellos pacientes en los que no se cuantificó la proteína de BJ, estuvo en 52,4 meses (46,3 - 58,5 meses, IC95%); y en aquellos en los que si se detectó esta proteína mostraron una mediana de SLP de 35,6 meses (17,6 - 53,5 meses, IC95%). En relación al BJ y a la SLP, no se encontró significancia estadística ( $p = 0,069$ ); sin embargo, en los casos que no se cuantificó la proteína la SLP tendía a ser superior.

Bence Jones (SI/NO)	N.º total	N.º progresión	No progresión N.º	%
No	21	9	12	57,1
Si	41	27	14	34,1
Total	62	36	26	41,9

Tabla 39. SLP según los resultados de la proteína de Bence Jones.



**Figura 27.** SLP según la presencia o no de la proteína de Bence Jones.

8.5.1.8. Supervivencia libre de progresión según la ratio de cadena ligera libre (CLL)

En el análisis de la ratio de CLL ( $\kappa/\lambda$ ) los casos en los que se encontró una ratio  $<100$  tuvieron una media de SLP de 52,4 meses (37,4 – 67,5 meses, IC95%), y el grupo que presentó una ratio  $>100$  mostró una media de SLP de 31,2 meses (9,8-52,7 meses, IC95%). Con los anteriores resultados se obtuvo una  $p = 0,129$ .

Ratio ( $\kappa/\lambda$ )	Total	N.º progresión		No progresión	
		N.º	%	N.º	%
$< 100$	42	23	45,2	19	45,2
$>100$	20	13	35,0	7	35,0
Total	62	36	41,9	26	41,9

**Tabla 40.** SLP según la ratio de CLL ( $<100$  vs  $>100$ ).

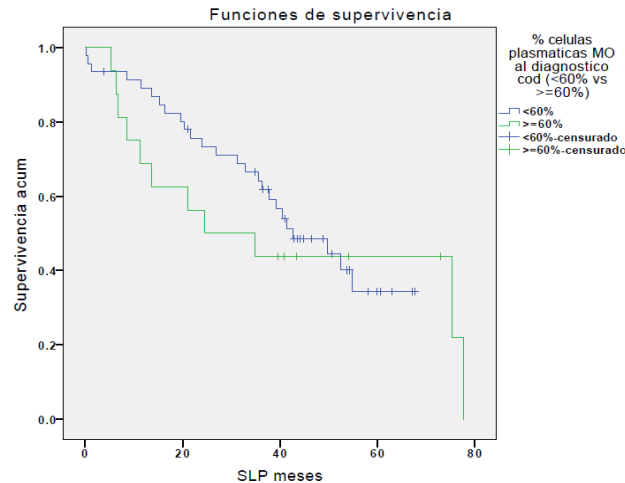
8.5.1.9. Supervivencia libre de progresión según el grado de infiltración medular por células plasmáticas (CP)

Con relación a la SLP y a la infiltración medular por CP cuantificadas al diagnóstico, se observó un periodo de SLP moderadamente superior en los pacientes que tenían  $< 60\%$  de CP en médula ósea, es decir, de alrededor de una media de 43,2 meses (36,5-49,9 meses, IC95%), en comparación con aquellos con una infiltración  $> 60\%$  cuya media de SLP fue de 41,71 meses (25,5-57,9 meses, IC95%). A pesar de la anterior diferencia entre ambos grupos, no se observó significancia estadística ( $p = 0,616$ ).

CP	Total	N.º progresión		No progresión	
		N.º	%	N.º	%
$< 60\%$	46	25	45,7	21	45,7
$>60\%$	16	11	31,2	5	31,2
Total	62	36	41,9	26	41,9

**Tabla 41.** SLP según la cantidad de CP en médula ósea.





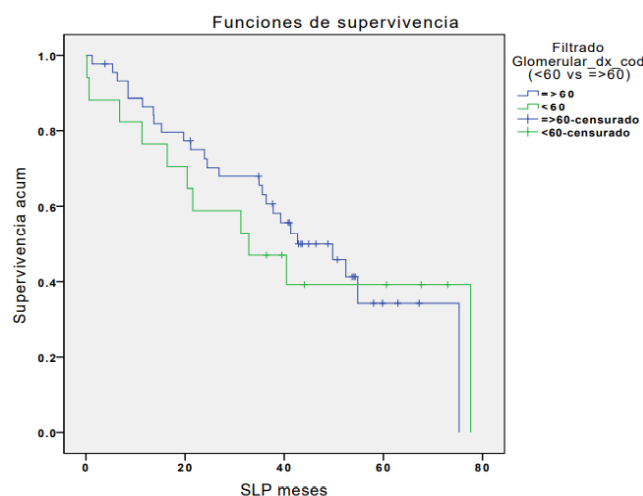
**Figura 28.** SLP según la infiltración por CP en médula ósea.

8.5.1.10. Supervivencia libre de progresión e insuficiencia renal

En relación con la función renal encontramos un tiempo de supervivencia mayor en aquellos con una función renal conservada, es decir, con una ratio de FG >60 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, cuya mediana de SLP fue de 49,8 meses (34,9 a 64,5 meses, IC95%); en comparación con aquellos que presentaron insuficiencia renal o < 60 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, cuya mediana de SLP fue de 32,8 meses (9,9 a 55,7 meses, IC95%). A pesar de los anterior, no hubo significancia estadística ( $p = 0,727$ ) al calcular estos valores.

FG mL/min/1,73m <sup>2</sup>	Total	N.º progresión	No progresión	
			N.º	%
< 60	17	11	6	35,3
≥ 60	45	25	20	44,4
Total	62	36	26	41,9

**Tabla 42.** SLP según la ratio de FG.



**Figura 29.** SLP según la ratio de filtración glomerular.

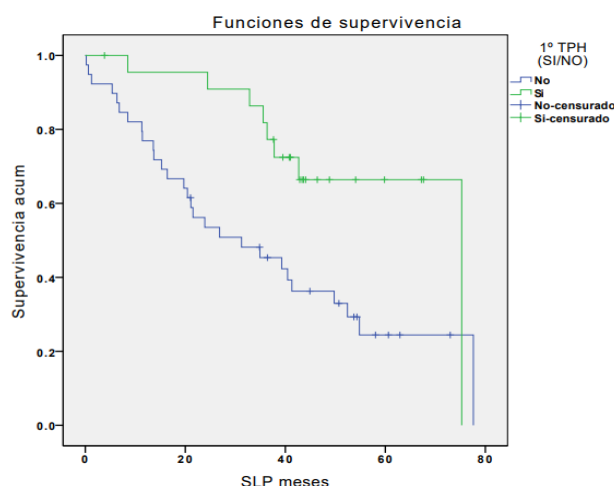
8.5.1.11. Supervivencia libre de progresión en pacientes trasplantados y no trasplantados

Del grupo de los pacientes trasplantados el 34,7% (n=8) presentó recaída de la enfermedad, independientemente de la respuesta presentada tras el procedimiento. A diferencia de los pacientes no trasplantados, en los que el 71,7% (n=28) presentaron progresión de la enfermedad.

La media de SLP en aquellos pacientes no trasplantados fue de 37,0 meses (28,0-46,0 meses, IC95%), en comparación con los trasplantados cuya media fue de 60,7 meses (50,8-70,5 meses, IC95%). Dicha diferencia fue estadísticamente significativa ( $p = 0,009$ ).

1º TPH (SI/NO)	Total	N.º progresión	No progresión N.º	%
No	39	28	11	28,2
Si	23	8	15	65,2
Total	62	36	26	41,9

**Tabla 43.** SLP en pacientes trasplantados y no trasplantados.



**Figura 30.** SLP en pacientes trasplantados y no trasplantados.

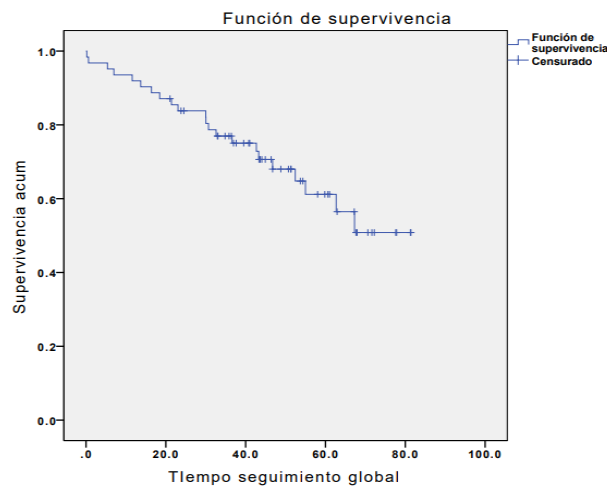
8.5.2. Supervivencia Global (SG)

Al valorar la SG se utilizó la prueba de Kaplan-Meier y se cuantificó un número de fallecimientos de alrededor del 35,48% (22 muertes), con una media de tiempo de supervivencia global 59,6 meses (52,4-66,8 meses, IC95%).

Total	N.º exitus	No exitus N.º	%
62	22	40	64,5%

**Tabla 44.** Resultados generales de supervivencia global.

En la siguiente figura se representa la SG de todos los pacientes seleccionados para el estudio, según los datos descritos anteriormente:



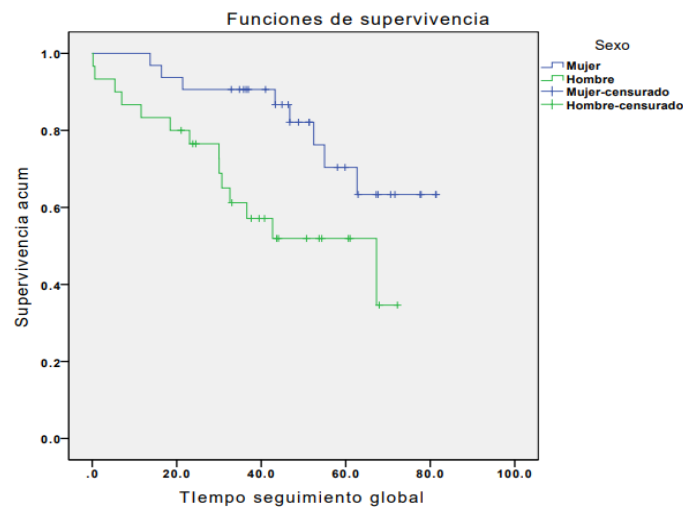
**Figura 31.** Tiempo de supervivencia global.

### 8.5.2.1. Supervivencia global según sexo

Del total de pacientes (n=62) se presentaron 22 éxitos. De estos, 8 fallecimientos se presentaron en mujeres y 14 en hombres. El periodo de SG para las mujeres fue de 67,7 meses de media (59,7-75,8 meses, IC95%) y para los hombres de 47,3 meses de media (37,5-57,1 meses, IC95%). Esta diferencia fue estadísticamente significativa ( $p = 0,016$ ).

Sexo	Total	N.º éxitos	No éxitos	
			N.º	%
Mujer	32	8	24	75
Varón	30	14	16	53,3
Total	62	22	40	64,5

**Tabla 45.** Supervivencia global según sexo.



**Figura 32.** Supervivencia global en relación con el Sexo.

8.5.2.2. Supervivencia global según la edad

En nuestro grupo de estudio se observó un 81,2% de pacientes < 70 años que no fueron exitus durante el estudio, y un 46,7% > 70 años que tampoco fallecieron. La media de la SG en los pacientes < 70 años fue de 70,04 meses (61,9 - 78,1 meses, IC95%), a diferencia de los > 70 años cuya media de SG fue de 49,3 meses (38,6 - 59,9 meses, IC95%). La anterior diferencia fue estadísticamente significativa ( $p = 0,007$ ).

Edad (años)	Total	N.º exitus	No exitus	
			N.º	%
< 70	32	6	26	81,2
>70	30	16	14	46,7
Total	62	22	40	64,5

Tabla 46. SG según la edad.

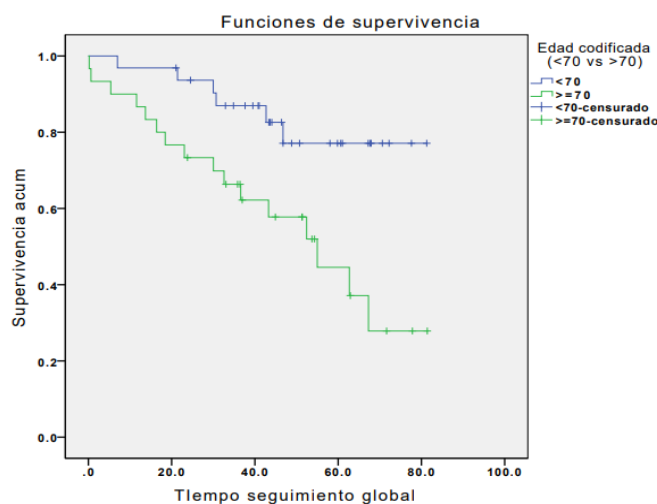


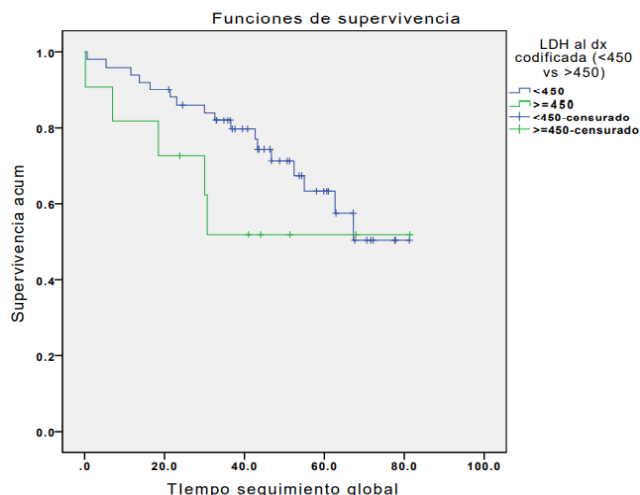
Figura 33. SG según la edad (< 70 y > 70 años).

8.5.2.3. Supervivencia global según la Lactato deshidrogenasa (LDH)

El 82,2% de los pacientes tenían una LDH < 450 U/L y de estos el 33,3% fallecieron, mientras que los que tenían una LDH > 450 U/L, el 81,8% murieron durante el periodo de observación. En aquellos pacientes que tuvieron una LDH < 450 U/L se observó una media de SG de 61,4 meses (53,8-68,9 meses, IC95%), y en el grupo que presentó una LDH > 450 U/L la media de supervivencia fue de 50,9 meses (31,0 – 70,8 meses, IC95%). Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $p = 0,269$ ).

LDH	Total	N.º progresión	No progresión	
			N.º	%
< 450 U/L	51	17	34	66,7
≥450 U/L	11	5	6	54,5
Total	62	22	40	64,5

Tabla 47. SG según los valores de LDH (< 450U/L vs > 450U/L).



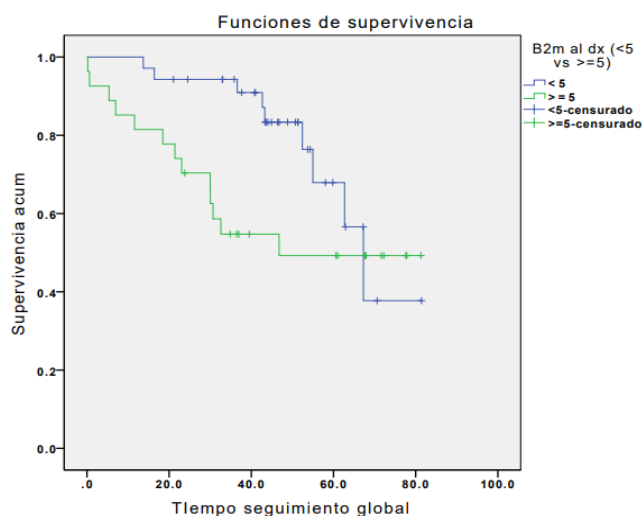
**Figura 34.** SG según valores de LDH (< 450 vs > 450 U/L) en pacientes con MM.

8.5.2.4. Supervivencia global según la B2-microglobulina

Los casos que presentaron una B2-microglobulina  $\geq 5$ mg/dL obtuvieron una media de SG de 50,7 meses (38,7-62,9 meses, IC95%), a diferencia de los que presentaron valores < 5mg/dL cuya media de SG fue de 64,2 meses (55,7-72,5 meses, IC95%). A pesar de que la SG en los pacientes con B2m <5mg/dl fue superior, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ( $p = 0,068$ ).

B2 microglobulina	Total	N.º exitus	No exitus N.º	%
< 5 mg/dL	35	9	26	74,3
$\geq 5$ mg/dL	27	13	14	51,9
Total	62	22	40	64,5

**Tabla 48.** SG según los resultados de B2 microglobulina.



**Figura 35.** SG según valores de B2 microglobulina (> 5mg/dL o < 5mg/dL).

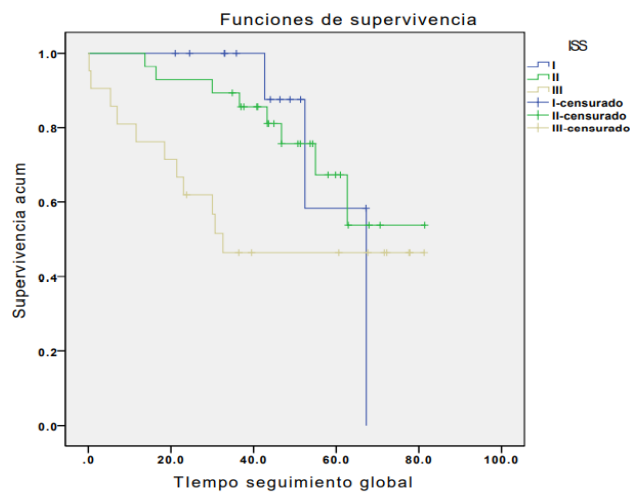
8.5.2.5. Supervivencia global según la clasificación ISS

La media de la SG evidenciada según la clasificación de ISS para los pacientes con un ISS I fue de 59,8 meses (49,7-69,9 meses, IC95%); para aquellos sujetos con ISS de II fue de 64,8 meses (55,5-74,1 meses, IC95%); y para los que tenían un ISS de III, la media de la SG fue de 46,7 meses (32,3-61,1 meses, IC95%). Las anteriores diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $p = 0,112$ ).

Sin embargo, los pacientes con ISS de III ( $n=21$ ) mostraron una SG significativamente inferior respecto al resto de pacientes pertenecientes a los estadios ISS I y II ( $n=41$ ), es decir 32,3 – 61,1 meses (IC 95%) vs 56,7- 72,1 meses (IC95%),  $p = 0,037$ .

ISS	Total	N.º exitus	No exitus	
			N.º	%
I	13	3	10	76,9
II	28	8	20	71,4
III	21	11	10	47,6
Total	62	22	40	64,5

**Tabla 49.** SG según los estadios del ISS.

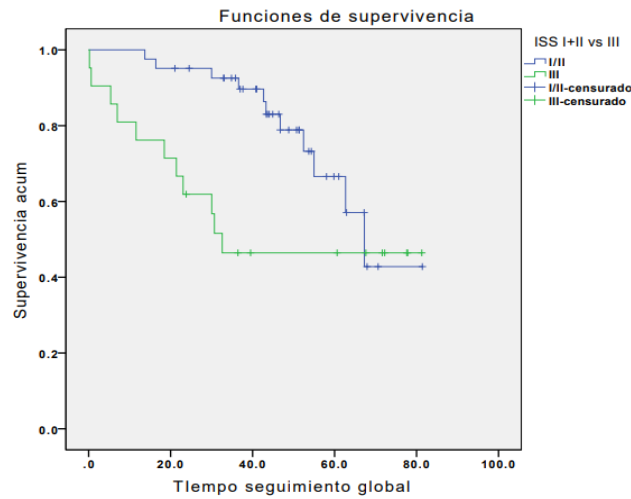


**Figura 36.** SG según los estadios del ISS.

Comparación entre los estadios de ISS I/II e ISS III:

ISS	Total	N.º exitus	No exitus	
			N.º	%
I/II	41	11	30	73,2
III	21	11	10	47,6
Total	62	22	40	64,5

**Tabla 50.** SG según la comparación entre los estadios ISS I/II e ISS III.



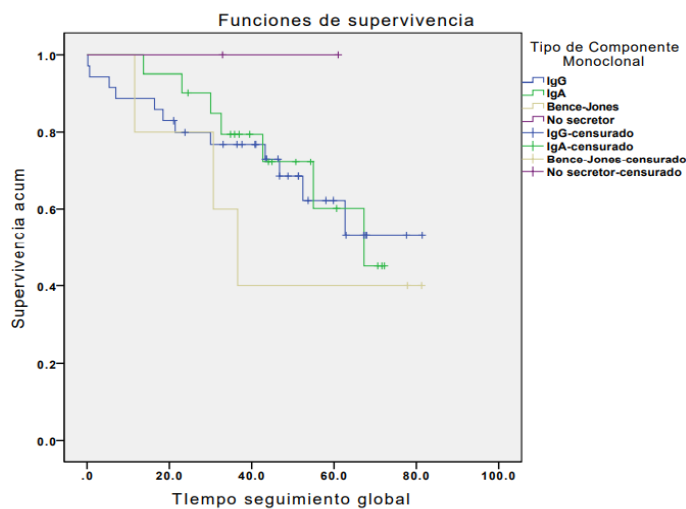
**Figura 37.** SG según la comparación entre los estadios ISS I/II e ISS III.

8.5.2.6. Supervivencia global según componente monoclonal

Con respecto al CM se observó un número de exitus proporcionalmente similar entre aquellos pacientes que presentaban predominio de IgG vs IgA. En el resto de los casos no se obtuvo una muestra representativa de pacientes afectados para realizar el análisis. Tras analizar la media de la SG según el CM, no observamos significancia estadística en relación a esta variable ( $p = 0,710$ ).

Tipo de CM	Total	N.º exitus	No exitus	
			N.º	%
IgG	35	12	23	65,7
IgA	20	7	13	65
Bence Jones	5	3	2	40
No secretor	2	0	2	100
Total	62	22	40	64,5

**Tabla 51.** SG según los resultados del CM.



**Figura 38.** SG según el componente monoclonal.

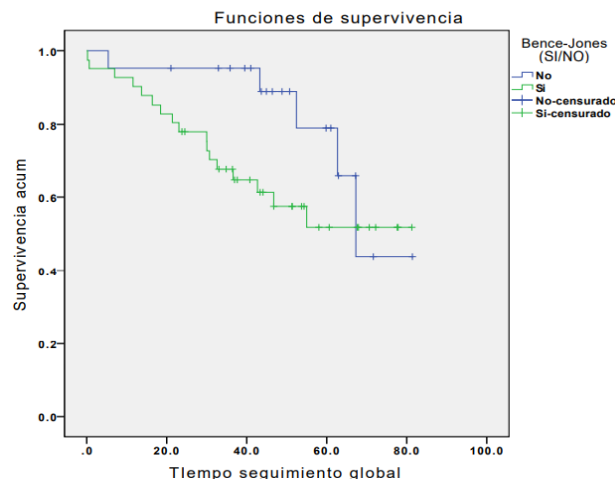
8.5.2.7. Supervivencia global según la presencia de Bence Jones (BJ)

En cuanto a la proteína de Bence Jones, se observó un mayor periodo de supervivencia en aquellos pacientes en los que no se cuantificó la proteína, es decir, 66,9 meses de media (57,0-76,8 meses, IC95%), en comparación con los casos que si presentaron la proteína, cuya media de supervivencia fue de 55,5 meses (52,4-66,9 meses, IC95%). A pesar de los anteriores hallazgos, el valor estadístico fue  $p = 0,126$ .

A continuación, se describen los grupos según la presencia o no de BJ:

Bence Jones (SI/NO)	N.º total	N.º exitos	No exitos	
			N.º	%
No	21	5	16	76,2
Si	41	17	24	58,5
Total	62	22	40	64,5

**Tabla 52.** SG según los resultados de la proteína de Bence Jones.



**Figura 39.** SG según la presencia o no de la proteína de BJ.

8.5.2.8. Supervivencia global según la ratio de cadenas ligeras libres (CLL)

En el análisis de la ratio de CLL ( $\kappa/\lambda$ ) los casos en los que se encontró una ratio  $<100$  tuvieron una media de SG de 63,6 meses (55,0 – 72,2 meses, IC95%), y el grupo que presentó una ratio  $>100$  tuvo una media de SG de 46,8 meses (37,5 – 56,1 meses, IC95%). Con los anteriores resultados se obtuvo una  $p = 0,082$ .

Ratio ( $\kappa/\lambda$ )	Total	N.º exitos	No exitos	
			N.º	%
$< 100$	42	12	30	71,4
$>100$	20	10	10	50
Total	62	22	40	64,5

**Tabla 53.** SG según la ratio de CLL ( $<100$  vs  $>100$ ).



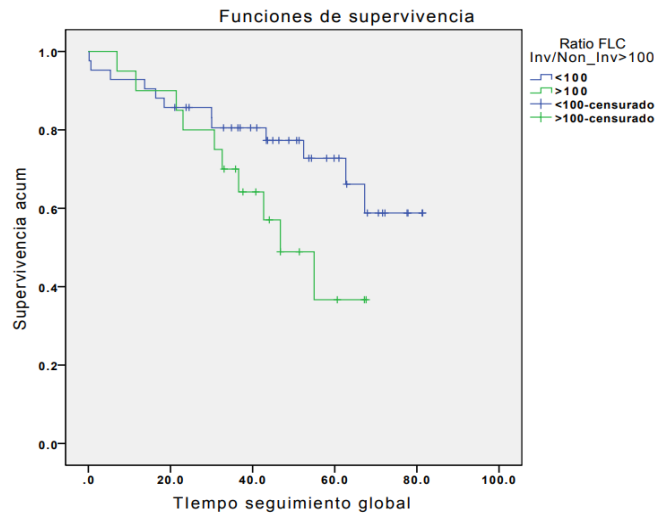


Figura 40. SG según el ratio de cadena ligera.

8.5.2.9. Supervivencia global según la infiltración medular por células plasmáticas

En relación a la media de SG y a la cantidad de CP cuantificadas al diagnóstico, se observó un mayor periodo de supervivencia en aquellos que tenían una infiltración <60% de CP, 60,5 meses (52,3-68,7 meses, IC95%); en comparación con los que presentaban >60%, es decir, 54,9 meses (40-69,8 meses, IC95%). A pesar de lo anterior, no se encontró significancia estadística ( $p = 0,480$ ).

CP	Total	N.º exitos	No exitos	
			N.º	%
< 60%	46	15	31	67,4
>60%	16	7	9	56,2
Total	62	22	40	64,5

Tabla 54. SG según la cantidad de CP en médula ósea.

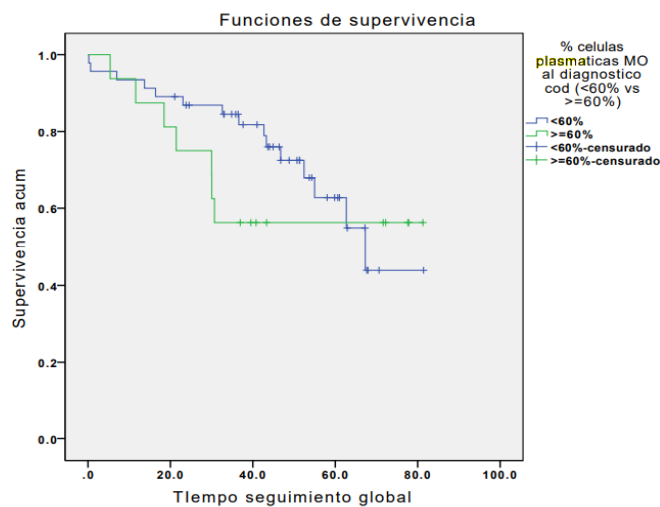


Figura 41. SG según la infiltración de CP en médula ósea.

8.5.2.10. Supervivencia global según el grado de insuficiencia renal

La media de SG en relación con la función renal fue mayor en los casos con una ratio de  $FG \geq 60$  mL/min/1,73m<sup>2</sup>, es decir, 62,2 meses (54-70,3 meses, IC95%); en comparación con los 51,3 meses (37-65,4 meses, IC95%) de aquellos con una  $FG < 60$  mL/min/1,73m<sup>2</sup>. El valor estadístico que se obtuvo con esta variable fue,  $p = 0,270$ .

FG mL/min/1,73m <sup>2</sup>	Total	N.º exitus	No exitus N.º	%
< 60	45	14	31	68,9
$\geq 60$	17	8	9	52,9
Total	62	22	40	64,5

Tabla 55. SG según la ratio de FG.

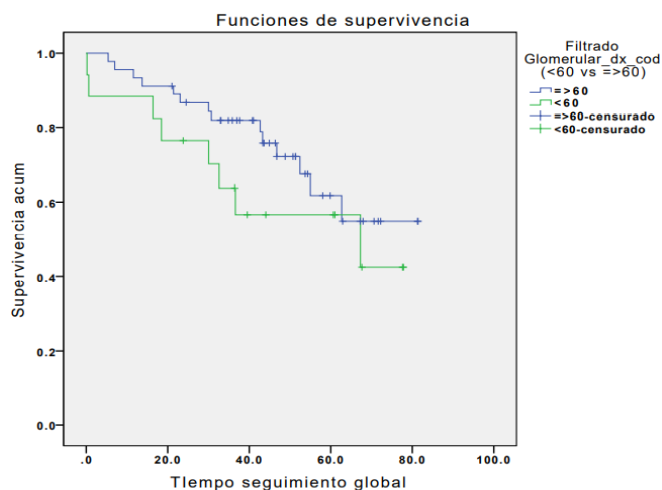


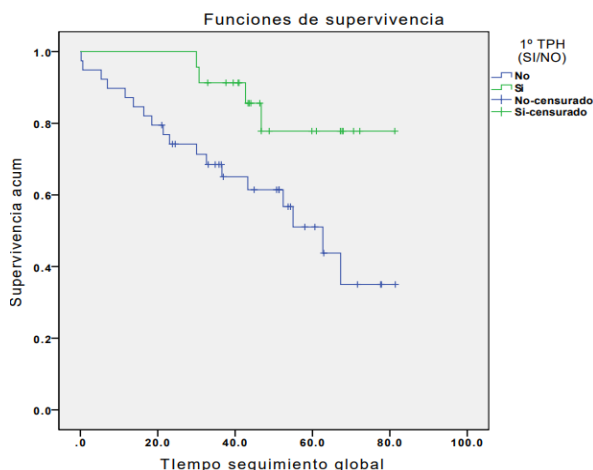
Figura 42. SG según la ratio de FG.

8.5.2.11. Supervivencia global en pacientes trasplantados y no trasplantados

Cabe destacar que las cifras de mortalidad que se obtuvieron en los pacientes trasplantados (17,4%) fueron notablemente inferiores en relación con los que no lo fueron (46,2%),  $p = 0,018$ . La media de SG de los pacientes trasplantados fue de 71,9 meses (63,7-80,2 meses, IC95%), y en los no trasplantados de 52,2 meses (42,5-61,8 meses, IC95%). Los primeros tuvieron una supervivencia del 82,6% y los otros de un 53,8%.

1º TPH (SI/NO)	Total	N.º exitus	No exitus N.º	%
No	39	18	21	53.8
Si	23	4	19	82,6
Total	62	22	40	64,5

Tabla 56. SG de pacientes trasplantados y no trasplantados



**Figura 43.** SG en pacientes trasplantados y no trasplantados.

### 8.5.3. Resultados de supervivencia de los biomarcadores angiogénicos

#### 8.5.3.1. Supervivencia libre de progresión

Al analizar los resultados de los biomarcadores angiogénicos observamos lo siguiente con respecto a los 36 (58%) sujetos que progresaron durante el estudio:

- Unos 23 (37,09%) individuos presentaron valores de Ang1 inferiores a la media.
- En el caso de la Ang2, 21 (33,8%) pacientes tuvieron resultados superiores a la media.
- En cuanto a la IL6, 18 (29,03%) sujetos mostraron valores superiores a la media de este biomarcador.
- Tras realizar la prueba de chi-cuadrado en relación con la SLP la Ang1, la Ang2 y la IL6 presentaron un valor estadístico de:  $p = 0,002$ ,  $p = 0,856$  y  $p = 0,623$ , respectivamente.

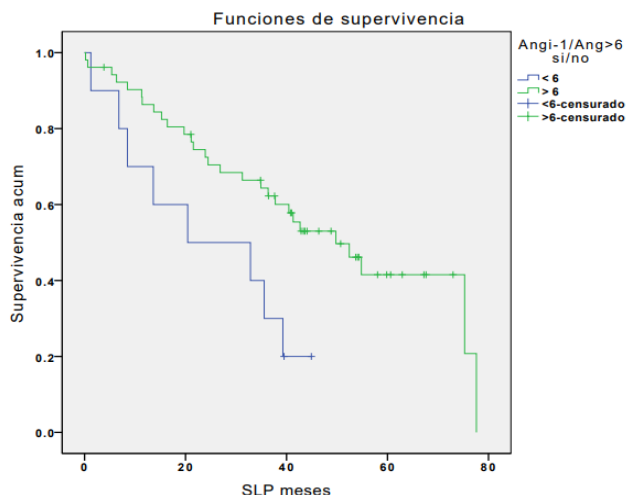
En el caso de las angiopoyetinas, los hallazgos anteriores conservan la misma tendencia ya descrita de estas variables durante el estudio, es decir, que una Ang1 disminuida y una Ang2 elevada, se asociaron a una mayor progresión de la enfermedad. Por esta razón, se consideró importante calcular la SLP relacionada con estos biomarcadores, basándonos en la ratio de Ang1/Ang2.

De modo, que tras analizar el grupo total de pacientes (n=62), encontramos que el 80% de estos individuos que tenían una ratio < 6 presentaron progresión de la enfermedad, con una media de SLP de 24,8 meses (15,0-34,5 meses, IC95%). En aquellos que presentaron una ratio > 6, se observó progresión en un 53,8% de los casos, y se calculó una media de SLP de 48,2 meses (40,2-56,1 meses, IC95%).

Las anteriores diferencias de SLP fueron estadísticamente significativas,  $p = 0,019$ .

Ang1/Ang2		Total	N.º progresión	No progresión	
				N.º	%
6	<	10	8	2	20,0
	>	52	28	24	46,2
Total		62	36	26	41,9

**Tabla 57.** SLP según los resultados de la ratio Ang1/Ang2.



**Figura 44.** SLP según la ratio Ang1/Ang2 (> 6 o < 6).

### 8.5.3.2. Supervivencia global

Con respecto a los resultados de los biomarcadores observamos lo siguiente en relación a los 22 (35,48%) fallecimientos ocurridos durante el estudio:

- 15 (68,18%) de los exitus presentaron valores de Ang1 inferiores a la media.
- En el caso de la Ang2, 13 (59,09%) de los pacientes fallecidos tuvieron valores superiores a la media.
- En cuanto a la IL6, 11 (50%) sujetos tuvieron valores superiores a la media de esta variable antes de fallecer.
- Tras realizar la prueba de chi-cuadrado en relación con la SG la Ang1, la Ang2 y la IL6 presentaron un valor estadístico de:  $p = 0,005$ ,  $p = 0,779$  y  $p = 0,548$ , respectivamente.

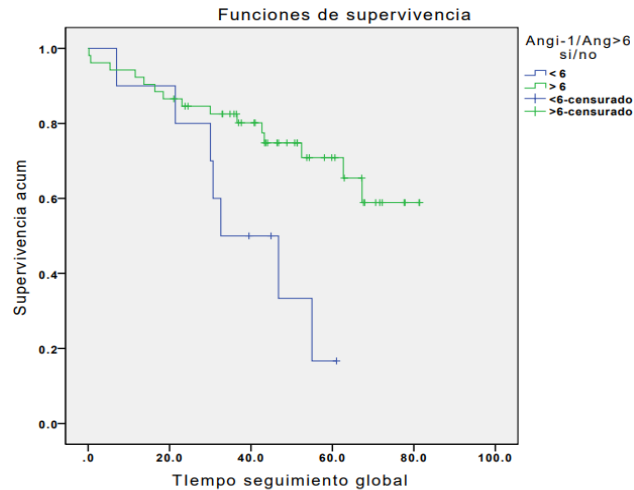
Los hallazgos anteriores se relacionaron con el comportamiento observado de estas variables durante el estudio, es decir, una Ang1 disminuida y una Ang2 elevada, se asociaron a una mayor incidencia de exitus. Por esta razón, se consideró importante calcular la SG relacionada con estos biomarcadores basándonos, principalmente, en la ratio de Ang1/Ang2.

Como ya se describió en el caso de la SLP, también se observó una relación estadísticamente significativa en la SG con respecto a la ratio de Ang1/Ang2 ( $p = 0,009$ ).

La media de la SG de los pacientes con una ratio Ang1/Ang2 > 6 fue de 63,3 meses (55,6-71,0 meses, IC95%), y la de aquellos con una ratio < 6 fue de 39,3 meses (28,6-49,9 meses, IC95%). Los primeros presentaron una supervivencia del 71,2%, en comparación con los sujetos que tuvieron una ratio < 6, cuya supervivencia fue del 30%.

Ratio Ang1/Ang2		Total	N.º exitus	No exitus	
				N.º	%
6	<	10	7	3	30
	>	52	15	37	71,2
Total		62	22	40	64,5

**Tabla 58.** SG según los resultados de la ratio Ang1/Ang2.



**Figura 45.** SG con relación a la ratio Ang1/Ang2 (< 6 o > 6).

8.5.3.3. Análisis multivariado

Análisis multivariado de la SLP con respecto a la ratio de Ang1/Ang2 y otras variables:

	Variable	Loss Chi-square	df	$p$
Paso 1	Edad	5,795	1	0,016
	TPH	,057	1	0,812
	LDH	3,734	1	0,053
	B2microglobulina	4,357	1	0,037
	Durie Salmon	,008	1	0,931
	Ratio Ang1/Ang2	2,611	1	0,106
	Sexo	3,767	1	0,052
Paso 2	Edad	6,203	1	0,013
	TPH	,060	1	0,807
	LDH	3,870	1	0,049
	B2microglobulina	4,782	1	0,029
	Ratio Ang1/Ang2	3,372	1	0,066
Paso 3	Edad	17,390	1	0,001
	LDH	3,808	1	0,051
	B2microglobulina	4,872	1	0,027
	Ratio Ang1/Ang2	3,312	1	0,069
	Sexo	4,195	1	0,041

**Tabla 59.** Análisis multivariante de la SLP.

La ratio de Ang1/Ang2 no llegó a tener un valor estadístico ( $p = 0,069$ ) que resaltar su papel como variable pronóstica independiente para la SLP. En cambio, si se observó este comportamiento con respecto a la SG, al destacar como un factor pronóstico independiente de la misma forma que la edad y el sexo en los pacientes con MM,  $p = 0,032$ .

Análisis multivariante de la SG con respecto a la ratio de Ang1/Ang2 y otras variables:

	Variable	Loss Chi-square	df	p
Paso 1	Edad	2,035	1	0,154
	ISS	1,684	1	0,194
	TPH	0,417	1	0,519
	Sexo	5,098	1	0,024
	Durie Salmon	0,030	1	0,862
	Ratio Ang1/Ang2	2,559	1	0,110
Paso 2	Edad	2,100	1	0,147
	ISS	1,855	1	0,173
	TPH	0,407	1	0,524
	Sexo	5,605	1	0,018
	Ratio Ang1/Ang2	3,186	1	0,074
Paso 3	Edad	9,670	1	0,002
	ISS	2,161	1	0,142
	Sexo	5,437	1	0,020
	Ratio Ang1/Ang2	2,942	1	0,086
Paso 4	Edad	9,583	1	0,002
	Sexo	6,810	1	0,009
	Ratio Ang1/Ang2	4,575	1	0,032

**Tabla 60.** Análisis multivariante de la SG.

## 9. DISCUSIÓN

El mieloma múltiple ha sido objeto de varios estudios que no sólo intentan encontrar nuevas alternativas para tratar la enfermedad, sino también determinar el efecto que tienen ciertas moléculas sobre la médula ósea, particularmente, en su microambiente y su vasculatura.

El MM fue la primera neoplasia hematológica maligna en la que la angiogénesis se definió como un factor pronóstico a tener en cuenta en la evolución de la enfermedad <sup>145,146</sup>.

En esta patología, como en la mayoría de las neoplasias malignas, el crecimiento tumoral depende en gran parte de la presencia de un medio circundante favorable con suficientes vasos sanguíneos que cubran las necesidades de nutrientes y de oxígeno de las células neoplásicas <sup>89</sup>. Este tipo de células tiene la facultad de inducir la formación de nuevos vasos, gracias a su capacidad para actuar a favor (o en contra, según las circunstancias) de la angiogénesis <sup>3,105</sup>.

La acción de las células tumorales sobre la vasculogénesis, se basa en la estimulación de las células endoteliales, fibroblastos, u otras células del microambiente medular para que produzcan moléculas proangiogénicas que favorezcan la formación de nuevos vasos sanguíneos (como: las angiopoyetinas, el VEGF, la IL6, la endoglina, el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), la IL8, etc. <sup>84,90,147</sup>).

A este respecto, algunos autores han considerado necesario estudiar el efecto de estas moléculas con actividad angiogénica en los pacientes afectados por diversos tipos de neoplasias (como ha sido el caso de: el hepatocarcinoma, el linfoma de Hodgkin, el cáncer de pulmón, el cáncer de ovario, etc.)<sup>147</sup>, y han podido observar que los cambios relacionados con el aumento en la densidad de los vasos sanguíneos, favorecido por la acción de estas moléculas, potencia el crecimiento y la extensión del tumor <sup>148,149</sup>.

Basándonos en los antecedentes y aspectos que acabamos de comentar, hemos dirigido nuestro trabajo a evaluar la posible relación existente entre los niveles de: la Ang1, la Ang2 y de la IL6 al momento del diagnóstico del MM, con respecto a el comportamiento de las variables diagnósticas más habituales de la enfermedad y su efecto sobre la evolución de los pacientes.

Realizamos el análisis en 82 sujetos, de este total de individuos 62 eran pacientes que cumplían con los criterios diagnósticos habituales del MM (tabla 5), y 20 eran sujetos sanos que conformaron el grupo control.

A el grupo de los 62 pacientes se le realizó seguimiento durante un periodo de 2 a 6 años y estuvo conformado por 30 varones y 32 mujeres, con una mediana de edad de 69 años. En cuanto al grupo control, se analizaron las muestras de 13 mujeres y de 7 hombres con una mediana de edad de 42 años, que no padecían de patologías relevantes ni enfermedades hematológicas conocidas.

Como ya se ha hecho anteriormente en trabajos sobre el MM, hemos registrado los parámetros analíticos más utilizados para el diagnóstico de esta enfermedad. Estos incluyen:

- Una cantidad de  $\geq 10\%$  de CP clonales en la médula ósea o un plasmocitoma comprobado por biopsia.
- Síntomas “CRAB”: hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia o lesiones óseas líticas.
- Determinación de otros biomarcadores como:  $\geq 60\%$  de CP clonales en médula ósea, una ratio de CLL  $\kappa/\lambda$  en suero  $\geq 100$ , y tener más de una lesión ósea focal en la RM.

Los anteriores variables analíticas nos han servido para valorar de forma objetiva el nivel de afectación de los pacientes al inicio de la enfermedad, y tener la posibilidad de comparar los resultados obtenidos de los marcadores angiogénicos seleccionados con respecto a la evolución de los sujetos que participaron en esta investigación.

Se analizaron los diferentes parámetros diagnósticos para determinar si el grupo de pacientes seleccionados lo conformaba una población representativa de sujetos con mieloma múltiple sintomático, que se ajustara a lo observado en otros estudios relacionados con esta patología<sup>150,151</sup>. Lo anterior favoreció la continuación del análisis de estas variables y de los marcadores angiogénicos incluidos en este trabajo.

Los hallazgos más relevantes en el momento del diagnóstico, tras el análisis de las variables diagnósticas (clínicas o analíticas), fueron los siguientes:

- Se observó insuficiencia renal en un 27,4% (17) de los pacientes, lo cual fue similar a los resultados descritos en algunas guías de diagnóstico, en donde puede encontrarse una incidencia del 25 al 30%<sup>152</sup>.
- Se cuantificó también hipercalcemia en un 16,1% (10) de los pacientes. Estos resultados fueron parecidos a los descritos en algunas guías en las que pueden encontrarse incidencias del 25% o menos (*Grupo de estudio de Gammopatías Monoclonales de Castilla y León. Hematología del Mieloma Múltiple, 2020*)<sup>152</sup>.
- En la cuantificación del componente monoclonal en suero, se observó predominio en la expresión de la IgG (56,5%), en comparación con el resto del componente monoclonal descrito (IgA en un 32,3%, Bence Jones en un 8% y no secretor en un 3,2%), que fue de un 43,5%.

Los resultados anteriores son comparables con los descritos en la guía ICO-Praxis del 2021, en donde se indica una incidencia para el CM: IgG, IgA o cadenas ligeras aisladas (MM Bence Jones) de un: 52%, 21% y 16% de los casos, respectivamente<sup>46</sup>.

- Por su parte, la presencia de las cadenas ligeras kappa en suero, también fue predominante (58,1%) con respecto a las cadenas ligeras lambda (35,4%); sólo en un 6,5% de los pacientes no se cuantificaron las CLL.

La ratio de las cadenas ligeras estuvo alterada en el 93,5% de las muestras y fue  $\geq 100$  en un 32,3% de los pacientes. Estos hallazgos con respecto al CM y las CLL, son similares a los descritos por *Drayson et al. 2001*<sup>38</sup> y *Katzel JA. Et al, 2007*<sup>37</sup>, en cuanto a su presentación e incidencia en la población estudiada.



- Los hallazgos relacionados a la proteína de Bence Jones también mostraron un predominio de las CLL kappa (38,7%) con respecto a las CLL lambda (27,4%), lo cual coincide con lo descrito en algunas guías diagnósticas consultadas (*ICO-ICS Praxis para el tratamiento médico y con irradiación del mieloma múltiple, 2021*)<sup>46</sup>. El 33,9%, de los pacientes no presentaron proteinuria de cadenas ligeras.
- En el caso de la Beta2 microglobulina encontramos que un 69,4% de los pacientes tenían un resultado elevado,  $\geq 3,5$  mg/dL (un 43,5% del total de las muestras fueron  $\geq 5$  mg/dL); mientras que un 30,6% obtuvo valores normales  $< 3,5$  mg/dL.
- En relación con la albúmina, esta estuvo alterada en un 48,4% de los sujetos,  $< 3,5$  mg/dL. El 51,6 % restante de los resultados fueron normales,  $> 3,5$  mg/dL<sup>46</sup>.
- Con respecto a la clasificación ISS, los estadios ISS I e ISS II se presentaron en un 20,9% y en un 45,2%, respectivamente. Mientras que el estadio ISS III se presentó en un 33,9% de los casos. Estas cifras fueron aproximadas a las descritas por *Greipp et al, 2005* (ISS I, 28.9%; ISS II, 37.5%; e ISS III, 33.6%)<sup>61</sup>.
- Otros de los resultados obtenidos al momento del diagnóstico de MM y que se asociaron a un mayor compromiso clínico de los pacientes, fueron: cifras de Hb  $< 10$  g/dL en un 37,1%, niveles de LDH  $> 450$  U/L en un 17,7%, y un 25,8% de pacientes con una infiltración tumoral en médula ósea mayor al 60%. Cifras similares a estos resultados se han descrito en algunas guías diagnósticas y terapéuticas<sup>21,150</sup>.
- La presentación de la GMSI (8,1%) y del MM quiescente (14,5%), previamente al diagnóstico de MM, coinciden con lo descrito en algunos textos sobre la evolución de la enfermedad, como en un estudio de 1996 donde el 6,8% de 335 personas con GMSI progresaron durante una mediana de seguimiento de 70 meses a MM (Baldini L. et al, 1996)<sup>153</sup>. O en el caso del MM quiescente, se ha descrito una incidencia del 10-15% en pacientes que posteriormente son diagnosticados de MM, tal como se describe en el “*2021 European Myeloma Network review and consensus statement on smoldering multiple myeloma: how to distinguish (and manage) Dr. Jekyll and Mr. Hyde*”<sup>154</sup>.

A diferencia de las dos últimas entidades mencionadas anteriormente, los plasmocitomas se encontraron en un número un poco más elevado de pacientes durante el principio de la enfermedad, un 20,9%. Este hallazgo también se ha descrito en otros trabajos, como el realizado por *Caers J. et al, 2018*, donde se presentó aproximadamente, en un 30% de los casos seguidos durante el estudio<sup>155</sup>.

Continuando con la caracterización de los resultados, tras finalizar la descripción de las variables diagnósticas y clínicas habitualmente utilizadas para MM, proseguimos con la descripción de los biomarcadores con actividad angiogénica seleccionados para el estudio, es decir, las angiopoyetinas (Ang1 y Ang2) y la IL6.

En el análisis de los marcadores angiogénicos se establecieron como valores de referencia, los recomendados por la casa comercial (R&D Systems) con los que se realizó su cuantificación. Los valores utilizados fueron: para la Ang1 de 62,5–4000 pg/ml; para la Ang2 fue de 46,9–3000 pg/ml; y para la IL6 fue de 3,1–300 pg/ml.

Al calcular la ratio de Ang1/Ang2 para los pacientes se generaba una mediana de 9,7 (n= 62); y en el grupo control (n= 20) de 28,09 (apartado 8.3.1.1). Teniendo en cuenta las anteriores diferencias, y debido a que aún no existe un consenso sobre el valor de esta variable, se decidió definir en el presente trabajo como mediana de la ratio el valor de “6”, tomando como base otros estudios con un número mayor de pacientes y, por tanto, un valor más representativo a nivel poblacional. Tal es el caso de un estudio realizado en 2012 (*Terpos Et al, 2012*)<sup>99</sup>, en el que se observó que los pacientes (n=174) con una ratio de Ang1/Ang2 inferior o igual al valor medio de los individuos estudiados (ratio 6,03), tuvieron una SG de 26,3 meses en comparación con los 53 meses de aquellos sujetos con una ratio superior a este valor ( $p = 0,002$ ).

Tras definir los valores de referencia de los biomarcadores angiogénicos se prosiguió con el análisis, sobre la existencia o no, de asociación entre los biomarcadores y los diferentes parámetros clínicos o analíticos de los pacientes con MM; y se observaron algunas asociaciones estadísticamente significativas (apartado 8.4), como se describe a continuación:

- En el caso de la edad (menores y mayores de 70 años) se observó una asociación directa (o positiva) y estadísticamente significativa con la Ang2, es decir, a mayor edad mayor Ang2 ( $r = 0,256$ ,  $p = 0,045$ ). Sin embargo, esto no ocurrió en el caso de la Ang1 ( $r = -0,047$ ,  $p = 0,715$ ) ni con la ratio Ang1/Ang2 una ( $r = -0,118$ ,  $p = 0,150$ ). En el caso de la IL6, al igual que con los dos últimos biomarcadores, tampoco se obtuvo significancia estadística ( $r = -0,182$ ,  $p = 0,157$ ).
- Con respecto al sexo, se observó una asociación indirecta y significativa en relación con la Ang1 ( $r = -0,270$ ,  $p = 0,034$ ). Sin embargo, en el caso de la Ang2 ( $r = -0,130$ ,  $p = 0,313$ ), la ratio Ang1/Ang2 ( $r = -0,185$ ,  $p = 0,150$ ), y la IL6 ( $r = -0,023$ ,  $p = 0,856$ ) no se obtuvo significancia estadística.
- La hemoglobina mostró una relación directa (o positiva) y estadísticamente significativa con: la Ang1 ( $r = 0,266$ ,  $p = 0,036$ ) y la ratio Ang1/Ang2 ( $r = 0,286$ ,  $p = 0,024$ ), es decir, a mayor hemoglobina, mayor Ang1 y ratio Ang1/Ang2. En el caso de la Ang2 ( $r = -0,177$ ,  $p = 0,169$ ) y de la IL6 ( $r = -0,131$ ,  $p = 0,311$ ), no se observó significancia estadística.
- La B2microglobulina tuvo una relación indirecta (o negativa) y significativa con la Ang1 ( $r = -0,296$ ,  $p = 0,019$ ), en otras palabras, mientras mayor era la cantidad de B2microglobulina, menor era la Ang1. Sin embargo, no se observó una asociación significativa con: la Ang2 ( $p = 0,172$ ), la ratio Ang1/Ang2 ( $p = 0,085$ ), ni la IL6 ( $p = 0,912$ ).
- En cuanto a la ratio de CLL  $\kappa/\lambda$  se observó una relación directa y estadísticamente significativa con la IL6 ( $r = 0,464$ ,  $p = 0,010$ ). No se observó significancia estadística de la ratio de CLL al analizar su asociación con: la Ang1 ( $r = -0,175$ ,  $p = 0,173$ ), la Ang2 ( $r = -0,175$ ,  $p = 0,173$ ) y la ratio de Ang1/Ang2 ( $r = -0,066$ ,  $p = 0,613$ ).

- En relación con la estadificación del ISS y su asociación con los resultados de los biomarcadores cuantificados en el grupo de pacientes y sujetos control, se observó que:
  1. Con respecto a la Ang1 los resultados fueron estadísticamente significativos,  $p = 0,001$ . Se observó que a medida que el estadio del ISS aumentaba, los resultados de la Ang1 disminuían (media de: ISS I = 28653,85 pg/ml, ISS II = 26350 pg/ml e ISS III = 22390,48 pg/ml).
  2. Con la Ang2 no se observó significancia estadística al analizar esta variable con respecto al ISS ( $p = 0,161$ ). A pesar de lo anterior, pudo evidenciarse que la media de este marcador fue mayor en los estadios de ISS superiores (media de ISS I = 2244,65 pg/ml, ISS II = 2767,86 pg/ml e ISS III = 2669,76 pg/ml)
  3. En el caso de la ratio Ang1/Ang2 esta mostró significancia estadística al analizarlo junto con el ISS ( $p = 0,001$ ). Pudo observarse que a medida que el estadio de ISS aumentaba, el valor de la ratio disminuía (media de ISS I =18,54, ISS II =12,24 e ISS III =9,41).
  4. En el caso de la IL6 no se observó significancia estadística en ninguno de los estadios del ISS,  $p = 0,367$ . Sin embargo, destacó el hecho de que mientras mayor era el ISS, mayor era el nivel de la IL6 (tabla 28).

Resultados similares a los anteriores, fueron descritos por Terpos Et al, 2012<sup>99</sup> (ya mencionado anteriormente) con respecto al ISS. En este estudio la ratio Ang1/Ang2 < 6 se asoció con características avanzadas de la enfermedad, como: el estadio ISS III, la insuficiencia renal y la enfermedad ósea extensa. Los pacientes con un ISS III tenían una ratio Ang1/Ang2 más baja ( $p = 0,0001$ ) en comparación con aquellos con un ISS II ( $p = 0,031$ ) o un ISS I ( $p = 0,032$ ).

- Además de los parámetros anteriormente descritos, también cabe mencionar la distribución de las líneas de tratamiento administradas a los pacientes según sus características.

En el caso de los pacientes menores de 70 años (n=30) que no presentaron comorbilidades asociadas que lo contraindicaran, se administraron esquemas como: VTD, VRD y VCD (tabla 20). Y en el caso de los pacientes mayores de 70 años (n=32) se utilizaron esquemas como: MPV, VD y lenalidomida (tabla 21).

En el primer grupo se observó una respuesta completa (RC) en un 43,3% (n=13) de los pacientes, una muy buena respuesta parcial (MBRP) en un 10% (n= 3), una respuesta parcial (RP) en un 26,6% (n= 8), enfermedad estable en un 3,3% (n=1), enfermedad progresiva en un 13,3% (n= 4), y uno de los casos fue exitus antes de finalizar el tratamiento.

En el caso de los pacientes mayores de 70 años se observó una respuesta completa (RC) en un 28,1% (n=9), una respuesta parcial (RP) en un 15,6% (n= 5), enfermedad estable en un 18,7% (n= 6), y enfermedad progresiva en un 12,5% (n= 4).

No pudieron ser evaluados 7 de los sujetos de este grupo debido a su fallecimiento (en su mayoría por causas infecciosas y/o descompensación de enfermedades crónicas) antes de finalizar el tratamiento y, en uno de los casos, se interrumpió por parte del paciente el seguimiento en consulta externa.

En general, en el grupo de los pacientes < 70 años se obtuvo una respuesta parcial o mejor al tratamiento en el 80% (24/30), y una enfermedad estable o progresiva en el 16,6% (5/30). En el caso de los pacientes > 70 años se observó una respuesta (parcial o mejor) en el 43,75 % (14/32), y enfermedad estable o progresiva en el 31,25% (10/32).

Los anteriores resultados fueron proporcionalmente similares (principalmente en la población < 70 años) a los observados en el estudio SWOG de 2017, realizado entre abril de 2008 y febrero de 2012, con 525 pacientes asignados aleatoriamente al azar en 139 instituciones participantes (264 a VRd y 261 a Rd). La mediana de SLP fue significativamente mejor en el grupo VRd (43 meses frente a 30 meses en el grupo Rd; cociente de riesgos [HR] 0,712, IC del 95%: 0,56–0,906; valor de  $p = 0,0018$ ). La mediana de SG también fue significativamente mejor en el grupo VRd (75 meses Vs 64 meses en el grupo Rd, HR 0,709, IC 95% 0,524–0,959; valor de  $p$  bilateral 0,025). Las tasas de respuesta global (respuesta completa o parcial) fueron del 82% (176/216) en el grupo VRd y del 72 % (153/214) en el grupo Rd. En el 16 % (34/216) y el 8% (18/214) de los pacientes, respectivamente, la respuesta fue completa o mejor<sup>156</sup>.

En el caso de aquellos pacientes con MM que presentan una respuesta poco favorable al tratamiento, ya fuera por: resistencia a los medicamentos administrados<sup>157</sup>, por complicaciones derivadas de la enfermedad o por efectos secundarios al mismo, se han propuesto varias opciones para sortear estas dificultades, como es el uso de tratamientos en modalidad combinada y/o la asociación de agentes dirigidos contra inhibidores angiogénicos o inmunológicos, para maximizar el efecto terapéutico.

Las terapias combinadas han demostrado mejores tasas de respuesta al tratamiento y de supervivencia global que sus antecesores<sup>63,158</sup>. Sin embargo, la mayoría de los pacientes con MM aún recaen y requieren un cambio de tratamiento<sup>87,157</sup>.

Con la intención de dar respuesta a la necesidad de nuevas líneas de tratamiento para esta patología, algunos estudios han abarcado nuevas estrategias como las terapias antiangiogénicas para normalizar el crecimiento y la diferenciación de la vasculatura tumoral, y mejorar la eficacia del tratamiento.

En nuestro caso, los fármacos utilizados en los esquemas de tratamiento<sup>138</sup> que poseen actividad antiangiogénica, incluyeron: la talidomida, la lenalidomida y el bortezomib. Estos medicamentos pueden administrarse en combinación con: el melfalán, la prednisona u otros fármacos, como terapias de primera línea o en tratamientos por recaída<sup>150</sup>.

Posiblemente la identificación de subgrupos de pacientes que obtendrían un mayor beneficio en la utilización de un biomarcador angiogénico con valor pronóstico, podría ser un soporte importante a la hora de definir el uso de uno o varios fármacos antiangiogénicos.

También aportaría información relevante sobre las mejores tasas de respuesta, seguridad y supervivencia. Un ejemplo de ello, es la investigación realizada por *De Luisi y colaboradores*<sup>159</sup>, quienes demostraron que la lenalidomida inhibe la angiogénesis y la migración de las células endoteliales en el MM, pues, las células endoteliales tratadas con este medicamento presentan cambios en: la vía de señalización del VEGF/VEGFR2, en las proteínas que controlan la motilidad de las células endoteliales, la remodelación del citoesqueleto y las vías del metabolismo energético, por ejemplo, tanto la talidomida como la lenalidomida regulan negativamente el VEGF.

Otro de los grupos que ha investigado sobre la posible eficiencia de estos tratamientos, son los investigadores de la Universidad de Parma (Italia) que en 2011 publicaron un estudio realizado con 124 muestras (sangre periférica y médula ósea) de pacientes diagnosticados con MM y pertenecientes a un grupo de 511 individuos seleccionados en 61 centros en Italia, desde mayo de 2006 a enero de 2009<sup>5</sup>.

Estos sujetos fueron asignados aleatoriamente para recibir tratamiento con VMPT (bortezomib/melfalán/prednisona/talidomida), seguido de mantenimiento con VT (bortezomib/talidomida) en 53 de los individuos; o con VMP (bortezomib-melfalán-prednisona) en el caso de 71 de ellos. Estas muestras se compararon con 54 muestras de sujetos control.

Los resultados mostraron que los niveles plasmáticos de: FGF-2, HGF, VEGF y PDGF- $\beta$  (factor de crecimiento derivado de plaquetas subunidad  $\beta$ ) en pacientes con MM, fueron significativamente más altos que los obtenidos en los sujetos sanos ( $p = < 0,001$ )<sup>5</sup>.

- Un aspecto relevante del tratamiento administrado en nuestro estudio a algunos de los pacientes que cumplían los criterios necesarios, fue la realización de un trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TASPE).  
En el grupo de pacientes <70 años ( $n = 30$ ), 23 individuos cumplían los requisitos necesarios para ser trasplantados, sin embargo, 7 (23.3%) de ellos tuvieron que ser excluidos de este procedimiento y recibir quimioterapia como principal línea de tratamiento (se especifican las causas en la tabla 22).

Tras la valoración del resto de las variables analíticas utilizadas en el diagnóstico y el seguimiento de rutina del MM; encontramos que no todas eran estadísticamente significativas al asociarlas con el comportamiento de los marcadores angiogénicos seleccionados, como fue el caso de: el componente monoclonal, el porcentaje de CP en médula, la FG, la creatinina, la LDH, la albumina y el calcio (tabla 27).

- En la correlación realizada entre los propios biomarcadores angiogénicos (tabla 26), se observó que los resultados de las angiopoyetinas, coincidían con lo descrito en otros estudios ya publicados<sup>160,99</sup>. Es decir, en el grupo de pacientes con MM observamos un nivel menor de Ang1 y una cantidad mayor de Ang2, en otras palabras, una relación inversa con significancia estadística ( $r = -0,256$ ,  $p = 0,020$ ) entre ambos.
- En el caso de los resultados obtenidos con la ratio Ang1/Ang2, los sujetos sanos presentaron una ratio más elevada ( $p = 0,001$ ) que los pacientes, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0,002$ ). En otras palabras, la producción de Ang2 aumenta en aquellos casos en los que hay presencia de enfermedad; a diferencia de la Ang1 que se encuentra elevada predominantemente en pacientes sanos.

- En cuanto a la IL6, no se obtuvo significancia estadística al analizarla en el conjunto de pacientes ( $p = 0,158$ ) y sujetos sanos ( $p = 0,363$ ).

Luego de haber descrito la relación entre los parámetros evaluados y los biomarcadores angiogénicos estudiados, continuaremos con el análisis de supervivencia obtenido en relación con la supervivencia libre de progresión (SLP) y la supervivencia global (SG) del grupo de pacientes seleccionados ( $n = 62$ ).

En términos generales, el 58% ( $n = 36$ ) de los pacientes presentaron progresión de la enfermedad durante el seguimiento, y se observó un periodo de SLP de 41,3 meses de mediana (26,9-55,6 meses, IC95%) en el total de la población estudiada.

Con respecto a la supervivencia global se registró un 35,48% ( $n = 22$ ) de fallecimientos, y un periodo de SG de 59,4 meses de media (52,4-66,8 meses, IC95%). Los fallecimientos mencionados estuvieron asociados a complicaciones durante el tratamiento de la enfermedad y a la progresión de la misma.

Pudimos corroborar que la SLP y la SG fueron menores en aquellos casos que se asociaron a variables, como: la edad  $\geq 70$  años, una estadificación de ISS alta, el sexo masculino, la primera línea de tratamiento (principalmente, MPV/LenaDexa/VD) y la no realización de trasplante. Lo anterior, se correspondió con varios de los eventos o características ligadas a aquellos casos que presentaron una respuesta poco favorable.

A continuación, se describen las cifras de supervivencia libre de progresión y la supervivencia global en relación con las variables diagnósticas utilizadas y a los biomarcadores angiogénicos:

- En los pacientes con MM la mediana de SLP estuvo en 75,2 meses (29,3-121,3 meses, IC95%) para los  $< 70$  años, y en 23,9 meses (10,3-37,5 meses, IC95%) para los  $> 70$  años, ( $p = 0,001$ ). En el caso de la SG en los pacientes  $< 70$  años la media fue de 70,04 meses (61,9-78,1 meses, IC95%), a diferencia de los  $> 70$  años cuya supervivencia fue de 49,3 meses de media (38,6-59,9 meses, IC95%). La anterior diferencia en la SG fue estadísticamente significativa ( $p = 0,007$ ).
- En el caso de la media de SLP calculada para la clasificación de ISS ( $p = > 0,050$ ), esta fue de 52,4 meses (39-65,8 meses, IC95%) para los pacientes en el estadio ISS I; aquellos sujetos con ISS de II tuvieron un SLP de 49,8 meses (35,5-63,9 meses, IC95%); y para los que tenían un ISS de III fue de 20,4 meses (8,5-32,3 meses, IC95%).
- La media de SG mostrada para esta misma clasificación fue de 59,8 meses (49,7-69,9 meses, IC95%) para el ISS I; para el ISS II la SG fue de 64,8 meses (55,5-74,1 meses, IC95%); y para los que tenían un ISS de III, la SG fue de 46,7 meses (32,3-61,1 meses, IC95%).

Las anteriores diferencias para SLP y SG, no fueron estadísticamente significativas (probablemente debido al número reducido de los casos dispuestos en cada categoría), sin embargo, como ya hemos descrito, los tiempos de supervivencia fueron mayores en los estadios I y II del ISS, a diferencia del estadio III.

Los pacientes que recibieron un autotrasplante presentaron un aumento de la ratio Ang1/Ang2 (>6) que coincidió con una evolución favorable, por ejemplo: se obtuvo una media de SLP de 60,6 meses (50,8-70,5 meses, IC95%), con una  $p = 0,009$ . Igualmente, se calculó una SG de 71,9 meses (63,7-80,2 meses, IC 95%), con una  $p = 0,018$ , que superó los valores de supervivencia del grupo que no fue trasplantado. Este último grupo de pacientes presentó una SLP de 37,0 meses (28,0-46,1 meses, IC95%), con una  $p = 0,009$ , y una SG de 52,2 meses (42,6-61,9 meses, IC95%), con una  $p = 0,018$ .

Estos hallazgos fueron muy similares a los obtenidos en otros trabajos, por ejemplo: el estudio EMN02/HO95 (2011-2014), en el que se mostró una SLP en los pacientes tratados con TASPE de 56,7 meses, en comparación con los tratados con bortezomib-melfalán-prednisolona (VMP) que obtuvieron una SLP de 41,9 meses ( $p = 0,001$ )<sup>161</sup>. De forma similar, las cifras de supervivencia obtenidas coinciden con lo descrito en otros trabajos como el de *Terpos y colaboradores* (2012)<sup>99</sup>, quienes tras realizar un análisis multivariado encontraron que una ratio Ang1/Ang2 baja (ratio < 6,03) podría predecir, de forma independiente, una supervivencia global más baja (SG de 26,3 meses vs 53 meses de aquellos con una ratio > 6.03,  $p = <0,002$ ).

Otro ejemplo sobre estudios que han analizado la actividad angiogénica de este tipo de biomarcadores, fue el estudio realizado por el grupo de *Mateusz Nowicki et al, 2017*, en el que se evaluaron 43 pacientes con neoplasias hematológicas (33 con mieloma múltiple y 10 de ellos con linfoma no Hodgkin), cuyos niveles (cuantificados por ELISA) de: VEGF, metaloproteinasa de matriz 9 (MMP-9), Ang1 y Ang2, fueron más reducidos en el período del postrasplante temprano, en comparación con los niveles basales al momento del diagnóstico. En este estudio se obtuvo una correlación indirecta (negativa) entre el nivel de la Ang2 y la Ang1, pues esta primera molécula disminuyó a partir del día +7 después del TPH y durante el tiempo transcurrido hasta la recuperación hematológica, a diferencia de la Ang1. La conclusión obtenida señaló que las citocinas investigadas representaban una parte importante del entorno de la médula ósea e influyen significativamente en el tiempo de injerto del tejido trasplantado<sup>102</sup>.

En cuanto a la IL6 cuantificada en nuestros pacientes, no se obtuvo significancia estadística al analizarla en el conjunto de pacientes (media 8,38 pg/ml;  $p = 0,363$ ) y sujetos sanos (media 4,83 pg/ml;  $p = 0,158$ ). Sin embargo, se observó una evolución poco favorable de la entidad, asociada a niveles más elevados de esta citoquina (al diagnóstico), tal como se ha descrito en otras investigaciones previas<sup>99,111,162,163</sup>, como el de *Rosean TR. y colaboradores, 2014*<sup>123</sup>.

En la anterior investigación, se valoró in vitro (en ratones) el efecto de la transferencia de células B IL6+ (productoras de IL6) a huéspedes IL6- (no productores de IL6), obteniendo como resultado una situación en la que las células plasmáticas patológicas (provenientes de un plasmocitoma) dependían de la actividad autocrina de la IL6 para el desarrollo del tumor. Por el contrario, la transferencia de células B IL6- a huéspedes IL6+, activaba un sistema en el que la oncogénesis dependía del suministro paracrino de IL6 para el crecimiento del tumor, en caso de no tener este influjo, el desarrollo del tumor se afectaba negativamente. Los resultados preliminares indicaron que la actividad paracrina de la IL6 era más importante para el desarrollo de tumores, que la IL6 derivada de células B locales, es decir, a mayor producción de IL6 mayor era el crecimiento del tejido neoplásico.

Este resultado tiene implicaciones relevantes para las terapias dirigidas a la IL6 en el mieloma humano, pues el bloqueo de su actividad afectaría al crecimiento del tejido neoplásico negativamente<sup>123</sup>.

La aparición de nuevas opciones de tratamiento para el MM ha ampliado la supervivencia de los pacientes y la necesidad de identificar, prospectivamente, a aquellos individuos que probablemente se beneficiarán de un tratamiento específico; además de refrendar la necesidad de comprender mejor los mecanismos subyacentes a la resistencia terapéutica.

La actividad dual de los nuevos fármacos activos tanto en las CP de MM como en las células del estroma de la médula ósea y, en particular, en la angiogénesis, indica que no puede ignorarse el uso de este factor como un importante indicador pronóstico.

De momento, hay pocos informes publicados sobre los niveles séricos de Ang1 y Ang2 en discrasias de CP, por lo que se requieren más estudios para optimizar los regímenes de tratamiento actuales y aumentar nuestra comprensión de la angiogénesis tumoral y los mecanismos relacionados con el desarrollo de resistencia a los medicamentos utilizados.

En los datos anteriormente descritos, hemos observado que aquellos casos con: una Ang1 baja, una Ang2 alta y una ratio Ang1/Ang2 menor de 6, presentaron una evolución menos favorable.

En el caso de la ratio Ang1/Ang2, su uso podría llegar a ser una potencial herramienta pronóstica durante el seguimiento de los pacientes con MM. Esto se debe, a que pudimos observar en nuestro estudio que, de los 62 pacientes incluidos, aquellos que tenían una ratio < 6 tuvieron una SLP menor (24,8 meses, (15,0-34,5 meses, IC95%); en comparación con aquellos con una ratio > 6 (48,2 meses (40,2-56,1 meses, IC95%),  $p = 0,019$ ).

En lo relacionado a la SG ocurría algo muy parecido, pues los pacientes con una ratio Ang1/Ang2 > 6 tuvieron un tiempo de supervivencia mayor (63,3 meses (55,6-71,0 meses, IC95%); a diferencia de aquellos con una ratio < 6 (39,3 meses (28,6-49,9 meses, IC95%),  $p = 0,009$ ).

En el estudio multivariado de la SG observamos que el valor de  $p$  obtenido con la ratio de Ang1/Ang2 fue estadísticamente significativo indicando que dicho valor podría considerarse como un factor pronostico independiente en estos pacientes ( $p = 0,032$ ). En cambio, en el caso de la SLP, la ratio Ang1/Ang2 no mantuvo su significancia estadística ( $p = 0,069$ ).

Hallazgos muy similares a los anteriores, fueron descritos por *Terpos Et al, 2012*. En cuyo estudio se evaluaron los niveles circulantes de varias citocinas angiogénicas [angiopoyetina-1 (Ang-1), angiopoyetina-2 (Ang-2), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), angiogenina y factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF)] en 174 pacientes con mieloma múltiple (MM) sintomático recién diagnosticado. Los niveles circulantes de la ratio Ang1/Ang2 se redujeron en pacientes con MM en comparación con los controles, mientras que los niveles de VEGF y angiogenina aumentaron.

Una ratio baja de Ang1/Ang2 se correlacionó con características avanzadas de la enfermedad: incluida la clasificación del sistema internacional de estadificación (ISS) III, la insuficiencia renal y la enfermedad ósea extensa. Además, los pacientes con Ang-1/Ang-2



circulante inferior o igual al valor medio (6,03) tuvieron una media de SG de 26,3 meses en comparación con los 53 meses de los que presentaron valores  $>6,03$  ( $p = 0,002$ ).

El análisis multivariante de este estudio demostró que una proporción baja de Ang-1/Ang-2 podría predecir de forma independiente una SG inferior (riesgo relativo (RR) 2,07, IC del 95 %: 1,50–2,42;  $p < 0,001$ )<sup>99</sup>.

Probablemente, un objetivo importante a plantear para futuras investigaciones sea el de establecer biomarcadores pronósticos válidos para angiogénesis que permitan realizar un seguimiento más estrecho de estos pacientes, y poder identificar a aquellos individuos que pueden llegar a tener una peor evolución de su patología de forma temprana y podrían beneficiarse de una pronta modificación en su tratamiento.

En el caso del MM, estos resultados destacan el papel de la vía de las angiopoyetinas en la biología de la enfermedad, y su potencial utilidad en las fases de diagnóstico y control de esta patología.

## 10. CONCLUSIONES

1. La IL6 y la ratio de CLL  $\kappa/\lambda$  presentaron una correlación directa y positiva ( $r = 0,464$ ,  $p = 0,001$ ), es decir, que al aumentar el número de CLL también aumentó la cantidad de la IL6. La correlación entre estos dos parámetros concordaba con la tendencia de la IL6 a aumentar en los estadios avanzados de la enfermedad.
2. La Ang1 en relación con la Hb ( $r = 0,266$ ,  $p = 0,036$ ), tuvieron una correlación directa y positiva. A diferencia de lo observado entre la Ang1 y la B2microglobulina ( $r = -0,296$ ,  $p = 0,019$ ), cuya correlación fue negativa e inversa. Lo anterior, coincidió con el aumento observado de esta angiopoyetina en personas sanas o en fases tempranas de la enfermedad, es decir, con niveles de Hb  $> 10\text{g/dL}$  y de B2 microglobulina  $< 5\text{mg/dL}$ .
3. La Ang2 mostró una asociación directa y estadísticamente significativa con la edad, es decir, a mayor edad mayor Ang2 ( $r = 0,256$ ,  $p = 0,045$ ).
4. Se observó una asociación inversa y estadísticamente significativa entre la Ang1 y la Ang2 ( $p = 0,02$ ). Es decir, la producción de Ang2 aumenta cuando la enfermedad está presente; a diferencia de los niveles de Ang1 que se ven disminuidos.
5. La ratio de Ang1/Ang2 y la Hb ( $r = 0,286$ ,  $p = 0,024$ ) mostraron una asociación positiva y directa, posiblemente a consecuencia del predominio de la Ang1 relacionada directamente con una mayor cantidad de Hb.
6. En el caso de la clasificación pronóstica ISS, se evidenció significancia estadística al asociar esta variable con la Ang1 ( $p = 0,001$ ) y la ratio de Ang1/Ang2 ( $p = 0,001$ ). En el caso de los estadios de ISS avanzados, ambas variables presentaron valores más bajos que en los estadios tempranos de la patología y en los sujetos control.
7. En cuanto a la IL6 y la Ang2 no se obtuvo significancia estadística, pero pudo objetivarse que ambas variables aumentaban con un mayor estadiaje del ISS.
8. Se observó una media de SLP de 24,8 meses (15,0-34,5 meses, IC95%) en aquellos con una ratio  $< 6$ . A diferencia de aquellos con una ratio  $> 6$ , en los que se calculó una media de SLP de 48,2 meses (40,2-56,1 meses, IC95%). Las anteriores diferencias de SLP fueron estadísticamente significativas,  $p = 0,019$ .
9. La SG observada con una ratio de Ang1/Ang2  $< 6$ , fue menor (39,3 meses (28,6-49,9 meses, IC95%)), en comparación con los periodos resultantes de ratios de Ang1/Ang2  $> 6$  (63,3 meses (55,6-71,0 meses, IC95%). Esta relación fue estadísticamente significativa ( $p = 0,009$ ), y destaca el papel de la vía de las angiopoyetinas en la biología de esta patología y su potencial uso en el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad.

10. En el estudio multivariante encontramos que la ratio de Ang1/Ang2 cuantificada al momento del diagnóstico de un MM, es un factor pronóstico independiente relacionado con la SG, principalmente al asociarla con variables como la edad y el sexo ( $p = 0,032$ ).
11. En el MM la recaída de la enfermedad es un hecho frecuente y, hoy en día, continúa siendo una patología incurable, a pesar de los nuevos avances alcanzados en su tratamiento. Es por ello, que la identificación de subgrupos de pacientes con el uso de biomarcadores específicos para la actividad angiogénica (como es el caso de la Ang1 y la Ang2), podría ofrecer información relevante sobre la posible evolución de estos pacientes.

### 10.1 Posibles Investigaciones a futuro

Avanzar en la investigación de los biomarcadores angiogénicos, como es el caso de las angiopoyetinas 1 y 2, proporcionaría más información de la que disponemos actualmente sobre el conocimiento biológico de la progresión de la enfermedad y su relación con el microambiente medular. Lo anterior, también podría llegar a ampliar la información que aportan los marcadores pronósticos que actualmente se utilizan en el seguimiento del Mieloma múltiple.

## 11. GLOSARIO

1. **Aféresis:** procedimiento en el que se extrae sangre, se separa parte de la sangre como las plaquetas o los glóbulos blancos, y el resto de la sangre se devuelve al donante<sup>164</sup>.
2. **Albúmina:** tipo de proteína que se encuentra en la sangre, la clara de huevo, la leche y otras sustancias<sup>80</sup>.
3. **Alquilante:** tipo de medicamento que se usa para el tratamiento de cáncer. Interfiere con el ADN e inhibe el crecimiento celular<sup>50</sup>.
4. **Amiloidosis:** grupo de enfermedades por las que se acumula proteína en ciertos órganos (amiloidosis localizada) o en todo el cuerpo (amiloidosis sistémica). La amiloidosis puede ser primaria (de origen desconocido), secundaria (causada por otra enfermedad, incluso algunos tipos de cáncer como el MM o hereditaria (transmitida de padres a hijos)<sup>80</sup>.
5. **Amiloide sérico A (AAS):** la familia de la AAS contiene un número de diferentes apolipoproteínas expresadas, las cuales son sintetizadas principalmente por el hígado. Es considerado un marcador sistémico de enfermedades inflamatorias agudas y enfermedades crónicas que afecta la composición y función de lipoproteínas de alta densidad (HDL)<sup>165</sup>.
6. **Analito:** componente (elemento, compuesto o ion) de interés analítico de una muestra que se separa de la matriz. Es una especie química cuya presencia o contenido se desea conocer, identificable y cuantificable, mediante un proceso de medición química. Disponible en:  
<https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Analito&oldid=119250553>).
7. **Angiogénesis:** de la palabra griega *Angêion*, que significa vaso, la formación de vasos sanguíneos a partir de la vasculatura existente<sup>58</sup>.
8. **Beta2 microglobulina:** proteína pequeña que se encuentra normalmente en la superficie de muchas células, como los linfocitos y, en cantidades pequeñas, en la sangre y la orina. Una cantidad elevada puede ser un signo de ciertas enfermedades, como el MM o el linfoma<sup>80</sup>.
9. **Biomarcador:** es aquella molécula con características biológicas, bioquímicas, antropométricas, fisiológicas, etc. Objetivamente mensurables, capaces de identificar procesos fisiológicos o patológicos, o bien una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica<sup>166</sup>.

10. **Bortezomib:** interrumpe varios conductos moleculares en la célula y ocasiona la muerte celular. Es un tipo de inhibidor del proteasoma, ya que impide la acción de unas enzimas que se llaman proteasomas, lo cual podría evitar la multiplicación de células cancerosas y destruirlas<sup>80</sup>.
11. **Carfilzomib:** fármaco que se usa solo o con otros medicamentos, para tratar el MM que ha empeorado o ha vuelto después recibir el tratamiento inicial. El Carfilzomib impide la acción de los proteasomas para evitar la multiplicación de células cancerosas y destruirlas<sup>58</sup>.
12. **Células endoteliales:** cubren y se alinean en las superficies lumbales del sistema cardiovascular desde el corazón hasta los capilares, proporcionando una interfaz entre la sangre y la pared vascular. Se derivan embriológicamente de los angioblastos<sup>80</sup>.
13. **Células madre mesodérmicas:** células que forman parte del tejido conjuntivo, el hueso, el cartílago, los sistemas circulatorio y linfático<sup>58</sup>.
14. **Célula plasmática:** también se llaman células B del plasma, plasmocitos o plasmocitos, son glóbulos blancos que secretan grandes cantidades de anticuerpos. Son transportadas por el plasma sanguíneo y el sistema linfático. Una vez liberadas en la sangre y la linfa, estas moléculas de anticuerpos se unen al antígeno objetivo (sustancia extraña) e inician su neutralización o destrucción<sup>58</sup>.
15. **Células progenitoras endoteliales:** célula progenitora que circula en sangre periférica, y posee la capacidad de diferenciarse en células endoteliales<sup>78</sup>.
16. **Célula progenitora:** da lugar a células que continúan diferenciándose hasta convertirse en células maduras especializadas. A diferencia de las células madre, no pueden reproducirse indefinidamente<sup>58</sup>.
17. **Ciclofosfamida:** medicamento de tipo alquilante, que se usa para tratar muchos tipos de cáncer y que está en estudio para el tratamiento de otros tipos de cáncer. La ciclofosfamida se une al ADN de las células y puede destruir células cancerosas<sup>58</sup>.
18. **Citometría de flujo:** esta técnica valora la expresión de moléculas celulares por medio del paso de una suspensión celular marcada con anticuerpos monoclonales, conjugados con fluorocromos, a través de una cámara sobre la que incide un láser que excita los fluorocromos. Esto puede ayudar a determinar si esas células son anormales, como en el caso del mieloma, células de linfoma, algún otro cáncer o una enfermedad no cancerosa<sup>167</sup>.
19. **Citogenética:** estudio de los cromosomas, que son cadenas largas de ADN y proteínas que contienen la mayor parte de la información genética en una célula. Mediante la citogenética se realizan análisis de laboratorio de muestras de tejido, sangre o médula ósea con el fin de identificar cambios en los cromosomas, como cromosomas rotos, faltantes o adicionales.

Es posible que los cambios en ciertos cromosomas sean un signo de una enfermedad o afección genética, o de algunos tipos de cáncer. La citogenética sirve para ayudar a diagnosticar enfermedades, planificar el tratamiento o determinar si el tratamiento es eficaz<sup>80</sup>.

- 20. Comorbilidad:** situación de padecer dos o más enfermedades al mismo tiempo<sup>80</sup>.
- 21. Creatinina:** compuesto que el cuerpo elimina en la orina. Las concentraciones de creatinina se miden para vigilar el funcionamiento de los riñones<sup>80</sup>.
- 22. Daratumumab:** es un tipo de anticuerpo monoclonal usado para tratar el MM. El daratumumab se une a una proteína que se llama CD38, que se encuentra en algunos tipos de células inmunitarias y en células cancerosas, incluidas las células de MM. El daratumumab puede bloquear la CD38 y ayudar al sistema inmunitario a destruir células cancerosas<sup>168</sup>.
- 23. Dexametasona:** esteroide sintético (similar a las hormonas esteroides producidas naturalmente en la glándula suprarrenal). La dexametasona también se usa para tratar la leucemia y el linfoma, y puede usarse para tratar algunos de los trastornos causados por otros tipos de cáncer y su tratamiento<sup>80</sup>.
- 24. Doxorrubicina:** medicamento que se usa para tratar muchos tipos de cáncer y también está en estudio para el tratamiento de otros tipos de cáncer. La doxorrubicina se elabora con la bacteria *Streptomyces peucetius*. Daña el ADN y puede destruir células cancerosas. Es un tipo de antibiótico antitumoral de antraciclina<sup>58</sup>.
- 25. Electroforesis:** técnica de laboratorio en la que se usa corriente eléctrica para separar sustancias, como las proteínas y los ácidos nucleicos. El tamaño y la carga eléctrica (positiva o negativa) de una sustancia determina cuán lejos se desplaza con la corriente. La electroforesis se puede usar para ayudar a diagnosticar ciertas enfermedades. Hay muchos tipos diferentes de electroforesis<sup>80</sup>.
- 26. Eritropoyetina:** sustancia fabricada naturalmente por las células peritubulares de los riñones y que estimula la médula ósea para que produzca glóbulos rojos<sup>80</sup>.
- 27. Examen Radiológico:** prueba que usa tecnología de obtención de imágenes (como radiografías, ecografía, tomografía computarizada y medicina nuclear) para visualizar los órganos, tejidos y estructuras del interior del cuerpo para diagnosticar y tratar enfermedades. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>
- 28. Factor de crecimiento transformante-beta (TGFβ):** existe en tres subtipos en humanos (TGFβ1, TGFβ2, TGFβ3), puede inducir la transformación de algunos tipos de células y desempeñar funciones cruciales en la diferenciación celular, el desarrollo embrionario, la regulación del sistema inmunitario y la regeneración de tejidos<sup>58</sup>.

- 29. Filtración glomerular (FG):** es el proceso por el cual los riñones filtran la sangre, eliminando el exceso de desechos y líquidos. La FG también se usa para determinar la etapa de una enfermedad renal crónica. La filtración glomerular se calcula usando una fórmula matemática que compara la talla, la edad, el sexo y la raza de una persona con sus niveles de creatinina sérica. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>
- 30. Hemoglobina:** proteína que está en el interior de los glóbulos rojos y que transporta oxígeno desde los pulmones hasta los tejidos y órganos del cuerpo, y que transporta el dióxido de carbono de nuevo hasta los pulmones. Esta prueba se usa para verificar si hay afecciones como la anemia, la deshidratación o la desnutrición. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>
- 31. Hibridación fluorescente in situ (FISH):** técnica citogenética que usa sondas fluorescentes para detectar y localizar la presencia o ausencia de secuencias específicas de ADN en los cromosomas. La microscopía fluorescente puede usarse para averiguar dónde se enlaza la sonda fluorescente a los cromosomas. Puede ayudar a definir los patrones de expresión de los genes dentro de los tejidos<sup>169</sup>.
- 32. Hibridoma:** célula híbrida cultivable in vitro, de forma indefinida, obtenida por la fusión in vitro de CP tumorales de MM, con células normales productoras de anticuerpos (linfocitos B), obtenidas de animales, previamente inmunizados, contra un determinado antígeno. Posee la capacidad de multiplicarse in vitro de manera indefinida y de producir grandes cantidades de anticuerpos monoclonales, que pueden ser empleados con fines diagnósticos o terapéuticos<sup>170</sup>.
- 33. Inmunofijación:** técnica que permite la detección y tipificación de los anticuerpos monoclonales o de las inmunoglobulinas en el suero o la orina. Un anticuerpo típico se compone de dos cadenas pesadas y dos ligeras de inmunoglobulinas. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>
- 34. Inmunoglobulina:** proteína elaborada por los linfocitos B y las CP. Ayuda al cuerpo a combatir infecciones. Algunas clases de inmunoglobulina se pueden encontrar en cantidades más altas de lo normal en pacientes con ciertas afecciones o ciertos tipos de cáncer, como: el MM, la macroglobulinemia de Waldenström, etc.<sup>171</sup>
- 35. Inmunoparésis:** disminución de las inmunoglobulinas policlonales<sup>171</sup>.
- 36. Interleuquinas** (del griego λευκός, -leukós, blanco y κινή, -kiné, movimiento): son un conjunto de citocinas (proteínas que actúan como mensajeros químicos a corta distancia) sintetizadas principalmente por los leucocitos, aunque también pueden intervenir células endoteliales o del estroma del timo o de la médula ósea.

Su principal función es regular las funciones de las células del sistema inmunitario, como la activación, diferenciación, proliferación, la secreción de anticuerpos, la quimiotaxis, la regulación de otras citocinas y factores, entre otras<sup>172</sup>.

- 37. Lenalidomida:** es el principio activo del Lenalidomida, un agente inmunomodulador. Lo que significa que afecta a la actividad del sistema inmunitario. La lenalidomida actúa de diversas formas: bloquea el desarrollo de células neoplásicas, impide la formación de vasos sanguíneos en los tumores y estimula ciertas células especializadas del sistema inmunitario para que ataquen a las células cancerígenas<sup>173</sup>.
- 38. Matriz extracelular (MEC):** está compuesta de proteínas fibrosas (por ejemplo, colágeno, elastina) y glucosaminoglicanos. Proporciona soporte y anclaje para las células, sirve como medio para el intercambio y difusión de nutrientes y metabolitos, y secuestra y libera varios factores de crecimiento<sup>58</sup>.
- 39. Melfalán:** medicamento que se usa para tratar el MM. El melfalán puede destruir células cancerosas dañando su ADN y deteniendo su multiplicación. Es un tipo de agente alquilante. Disponible en: <https://cima.aemps.es/>
- 40. Nefelometría:** procedimiento de análisis químico y bacteriológico que se vale del nefelómetro para medir la turbidez de un fluido o para determinar la concentración y tamaño de las partículas en suspensión por medio de la luz que difunden en un tubo Disponible en: <https://dle.rae.es/nefelometría>
- 41. Pomalidomida:** medicamento similar a la talidomida, que se usa para tratar el MM que no mejoró con otros medicamentos contra el cáncer. Ayuda que el sistema inmunitario destruya a las células cancerosas. Asimismo, puede prevenir la formación de nuevos vasos sanguíneos que los tumores necesitan para crecer. Es un tipo de inmunorregulador y un tipo de antiangiogénico. Disponible en: <https://cima.aemps.es/>
- 42. Prednisona:** medicamento que disminuye la inflamación y suprime las respuestas inmunitarias. Se usa en combinación con otros fármacos para tratar la leucemia, el linfoma o para tratar muchas otras afecciones como: la artritis, ciertas enfermedades de la piel, alergias, los niveles bajos de algunas hormonas suprarrenales, la pérdida de apetito y la anemia. Disponible en: <https://cima.aemps.es/>
- 43. Quimiocinesis:** un aumento o disminución en la respuesta móvil de las células en direcciones aleatorias<sup>58</sup>.
- 44. Ratio de cadenas ligeras libres en suero:** la comparación del coeficiente de cadenas ligeras libres kappa ( $\kappa$ ) con las cadenas ligeras libres lambda ( $\lambda$ ) en la sangre contra unos rangos de referencia indica si una persona puede tener un tumor de CP como el MM o la amiloidosis<sup>171</sup>.



- 45. Recaída:** reaparición de las manifestaciones de una enfermedad después de un período de mejoría. En el caso del cáncer, es el regreso del cáncer después de una remisión. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>
- 46. Remisión:** disminución o desaparición de los signos y síntomas de cáncer. En el caso de la remisión parcial, algunos signos y síntomas de cáncer desaparecen, pero no todos. En el caso de la remisión completa, todos los signos y síntomas de cáncer desaparecen, pero el cáncer todavía puede estar en el cuerpo. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>
- 47. Resonancia magnética nuclear (RMN):** técnica de imagen que se usa en medicina y utiliza la resonancia magnética (magnetismo y ondas de radio) para crear una imagen de los órganos y tejidos del cuerpo. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>
- 48. Talidomida:** medicamento que se usa para tratar el MM. Está en estudio para el tratamiento de otros tipos de cáncer. Puede ayudar al sistema inmunitario a eliminar las células cancerosas. También ayuda a prevenir la formación de nuevos vasos que los tumores necesitan para crecer. Es un tipo de inhibidor de la angiogénesis e inmunomodulador. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>
- 49. Terapia de consolidación:** tratamiento que se administra cuando el cáncer desapareció después del tratamiento inicial. La terapia de consolidación se usa para eliminar cualquier célula cancerosa que haya quedado en el cuerpo después de la terapia de inducción o inicial. Esto puede incluir radioterapia, un trasplante de células madre o tratamiento con medicamentos que eliminan las células cancerosas. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>
- 50. Terapia de inducción o inicial:** primer tratamiento que se administra para una enfermedad. Con frecuencia, forma parte de un conjunto estándar de tratamientos, como cirugía seguida de quimioterapia o radiación. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>
- 51. Terapia sistémica:** se usan sustancias que viajan por la corriente sanguínea y llegan hasta las células de todo el cuerpo. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>
- 52. Tomografía computarizada (TC):** método de radiografía en la que los órganos del cuerpo son escaneados con rayos X y los resultados se sintetizan por ordenador para generar imágenes detalladas de las partes del cuerpo. Puede ingerirse o inyectarse un tinte en una vena con el fin de que los órganos y tejidos se vean más claramente. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>

- 53. Tomografía por emisión de positrones-tomografía computarizada (PET-TC):** combina las imágenes de una tomografía por emisión de positrones (PET) y de una tomografía computarizada (TC). La PET y la TC se realizan al mismo tiempo en la misma máquina. Las exploraciones combinadas proporcionan imágenes más detalladas de las áreas internas del cuerpo que las que cada uno de los dos procedimientos proporciona por separado. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>
- 54. Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TASPE):** es un procedimiento en el cual las células madre (células a partir de las cuales se desarrollan todas las células de la sangre) se extraen de sangre periférica, se almacenan y posteriormente se devuelve a la persona después de un tratamiento intensivo. Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>
- 55. Vasculogénesis** (del *vasculum* latino, que significa vaso): es la formación de novo de los vasos sanguíneos a partir de células endoteliales en sangre periférica, y/o los angioblastos en el caso de los embriones<sup>58</sup>.
- 56. VEGF:** el factor de crecimiento endotelial vascular (también llamado VPF, factor de permeabilidad vascular) es un factor de crecimiento angiogénico de gran importancia en la formación de vasos sanguíneos<sup>58</sup>.

## 12. ANEXOS

## 12.1. Anexo 1. Consentimiento informado

<b>Consentimiento informado</b>	
Yo, .....	..... (Nombre y apellidos del paciente)
manifiesto lo siguiente:	
He leído la hoja de información sobre el estudio titulado " <b><i>Papel de las Células Endoteliales Progenitoras y Circulantes en los pacientes diagnosticados de Mieloma Múltiple</i></b> ".	
He recibido suficiente información sobre el estudio y he podido hacer preguntas sobre el mismo recibiendo las respuestas y aclaraciones necesarias por parte del médico.....	
Comprendo que la decisión sobre mi participación en el estudio es voluntaria y que puedo dejar de participar: 1) cuando quiera, 2) sin tener que dar explicaciones, 3) notificando oportunamente a mi médico y 4) sin que la negativa a participar incida negativamente en mi atención médica.	
Entiendo que accediendo a participar en este estudio/investigación estoy autorizando que las muestras biológicas y los datos que se deriven del diagnóstico, tratamiento y seguimiento de mi enfermedad sean recolectados, almacenados, conservados, procesados, analizados y utilizados en el desarrollo del presente estudio, así como en futuros proyectos de investigación, publicaciones, informes, estadísticas y obras de divulgación científica.	
Consiento la recogida, tratamiento, cesión y transferencia (si procede) de mis datos personales, con respeto absoluto del anonimato para fines de atención sanitaria y/o investigación médica.	
De esta forma manifiesto que presto libremente mi conformidad para participar en este estudio y autorizo la utilización de mis datos, en los términos expuestos y a efectos de la investigación científica.	
Manifiesto también que recibí una copia de la hoja de información sobre el estudio y del consentimiento informado.	
.....	.....
Nombre y apellidos del paciente.	
.....	.....
Firma del paciente	
.....	.....
Nombre y apellidos del investigador	
.....	.....
Firma del investigador	
Fecha: .....	

## 12.2. Anexo 2. Hoja informativa

### Hoja de información para los pacientes

#### **Título del estudio: Papel de las células endoteliales progenitoras y circulantes en los pacientes diagnosticados de Mieloma Múltiple**

El Servicio de Hematología del Hospital Arnau de Vilanova está realizando un proyecto de investigación del que usted podrá formar parte en caso de aceptar nuestra invitación a participar del mismo en la forma que a continuación se explicará.

Los médicos tratantes estarán a su disposición para despejar cualquier duda o inquietud que tenga sobre el alcance del proyecto y acerca de su participación en él, con el fin de que en todo momento pueda decidir libremente si quiere participar o no.

#### **Objetivo del proyecto**

Usted padece una enfermedad conocida como Mieloma Múltiple que afecta generalmente a personas adultas y especialmente mayores de 60 años. Su principal característica es un aumento del número de células plasmáticas y de la cantidad de inmunoglobulina monoclonal detectable en suero y/o orina. La anterior alteración no sólo puede deberse a defectos dentro de la propia célula plasmática, sino también a alteraciones del microambiente que la rodea, conformado por varios tipos de células dentro de las cuales se encuentran las *endoteliales*.

Hay evidencia de una relación importante entre la progresión de varios tipos de patologías hematológicas y no hematológicas con respecto al número de células endoteliales; sin embargo, aún no tenemos la suficiente información sobre la participación de las mismas en lo concerniente a la evolución del Mieloma Múltiple, de allí nuestro interés por realizar este proyecto.

#### **Procedimientos**

Cuantificaremos la cantidad de células endoteliales presentes en sangre periférica valiéndonos de la Citometría de flujo y de los datos que se recolecten durante el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad durante un período de dos años aproximadamente.

Todas las visitas y analíticas que se realicen en el curso de este estudio coincidirán con el seguimiento y tratamiento de la enfermedad que habitualmente realiza su médico, lo que significa que usted no tendrá que hacer ningún esfuerzo adicional.

#### **Beneficios y riesgos al participar**

Como el estudio se limita a la recolección de datos y a su análisis, usted será tratado según la práctica clínica habitual, es decir, no habrá riesgos ni se requerirán procedimientos o intervenciones adicionales a las que decida su médico durante el tratamiento de la enfermedad.

Usted no obtendrá beneficios económicos por su participación en el estudio. Éste será útil para obtener datos que permitan conocer mejor la enfermedad que padece y así poder desarrollar otras investigaciones que permitan en un futuro mejorar el diagnóstico y el tratamiento del Mieloma Múltiple. Así mismo, el hecho de no participar en el estudio no acarreará ninguna consecuencia perjudicial para usted en lo concerniente a su atención médica ni gasto alguno.

## Continuación Hoja informativa

**Carácter voluntario de la participación**

Si decide participar en el proyecto se le pedirá que firme un **formulario de consentimiento informado** en el cual concede su autorización para que las muestras biológicas y los datos que se deriven del diagnóstico, tratamiento y seguimiento de su enfermedad sean recolectados, almacenados, conservados, procesados, analizados y utilizados en el presente estudio y futuros proyectos de investigación relacionados con el Mieloma Múltiple.

Si decide no participar en el estudio luego de haber aceptado hacerlo, deberá notificar a su médico su decisión para que a partir de dicho momento no se procesen muestras ni se sigan recolectando datos relativos a su enfermedad para este estudio. No obstante lo anterior, su decisión de no participar, no impedirá que los datos obtenidos hasta el momento en que informe sobre dicha voluntad, sean utilizados y tratados a favor de la investigación en curso.

Usted tomará libremente la decisión de participar o no en el estudio sin que su atención médico-asistencial se vea afectada negativamente por no hacerlo, su médico no lo juzgará y usted no tendrá que explicar los motivos de su decisión.

De igual forma, los investigadores podrán finalizar el estudio anticipadamente si así lo consideran necesario.

**Confidencialidad de los datos personales**

Toda su información será tratada de forma estrictamente confidencial. Su identificación se realizará solamente por un código numérico.

El manejo de los datos de carácter personal requeridos en este estudio se rige por la Ley orgánica 15/1999, teniendo usted los derechos que la citada ley le reconoce. La información obtenida en este estudio no podrá ser revelada a ninguna persona sin su consentimiento por escrito, exceptuando a su médico, los investigadores, el personal médico y técnico del laboratorio hematológico y el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital y, si fuese necesario, a las autoridades competentes de la Comunidad Autónoma.

Los resultados obtenidos en este estudio se usarán para presentaciones o publicaciones científicas. En el caso de que los resultados se publicasen, su nombre no será nunca mencionado y se mantendrá la confidencialidad de los datos de carácter personal de acuerdo a la Ley orgánica 15/1999 del 13 de diciembre, antes mencionada.

Este estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital y se realizará cumpliendo las legislaciones europea y española vigentes.

**Persona de contacto**

Durante el tiempo de realización del estudio podrá formular cualquier pregunta o inquietud que tenga acerca del mismo al siguiente contacto:

- Dr. Antonio García

## 13. BIBLIOGRAFÍA

1. Laubach J, Richardson P, Anderson K. Multiple myeloma. *Annu Rev Med.* 2011;62:249-264. doi:10.1146/annurev-med-070209-175325
2. Hose D, Me Moreaux J, Meissner T, et al. Induction of angiogenesis by normal and malignant plasma cells. 2009. doi:10.1182/blood-2008
3. Ribatti D, Moschetta M, Vacca A. Microenvironment and multiple myeloma spread. *Thromb Res.* 2014;133(SUPPL.2):S102-S106. doi:10.1016/S0049-3848(14)50017-5
4. Ribatti D, Nico B, Vacca A. Importance of the bone marrow microenvironment in inducing the angiogenic response in multiple myeloma. *Oncogene.* 2006;25(31):4257-4266. doi:10.1038/sj.onc.1209456
5. Giuliani N, Storti P, Bolzoni M, Palma BD, Bonomini S. Angiogenesis and multiple myeloma. *Cancer Microenviron.* 2011;4(3):325-337. doi:10.1007/s12307-011-0072-9
6. Testa U, Saulle E, Castelli G, Pelosi E. Endothelial progenitor cells in hematologic malignancies. *Stem Cell Investig.* 2016;2016(JUL):1-12. doi:10.21037/sci.2016.06.07
7. Anargyrou K, Dimopoulos MA, Sezer O, Terpos E. Novel anti-myeloma agents and angiogenesis. In: *Leukemia and Lymphoma.* Vol 49. ; 2008:677-689. doi:10.1080/10428190701861686
8. Search the website \_ European Medicines Agency. European Medicines Agency. [https://www.ema.europa.eu/en/search/search/field\\_ema\\_web\\_categories%253Aname\\_field/Human?search\\_api\\_views\\_fulltext=antiangiogenic](https://www.ema.europa.eu/en/search/search/field_ema_web_categories%253Aname_field/Human?search_api_views_fulltext=antiangiogenic). Published 2019.
9. Federal RePORTER - Project Search Results. National health institut. <https://federalreporter.nih.gov/projects/search/?searchId=a2d4377547164ea6a56419ccfb0c8702&searchMode=Smart&resultType=projects&filters=>. Published 2019.
10. Saltarella I, Morabito F, Giuliani N, et al. Prognostic or predictive value of circulating cytokines and angiogenic factors for initial treatment of multiple myeloma. *J Hematol Oncol.* 2019;12(1):1-10. doi:10.1186/s13045-018-0691-4
11. Khan SS, Solomon MA, McCoy JP. Detection of circulating endothelial cells and endothelial progenitor cells by flow cytometry. *Cytom Part B - Clin Cytom.* 2005;64(1):1-8. doi:10.1002/cyto.b.20040
12. Flores-Nascimento MC, Alessio AM, de Andrade Orsi FL, Annichino-Bizzacchi JM. CD144, CD146 and VEGFR-2 properly identify circulating endothelial cell. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2015;37(2):98-102. doi:10.1016/j.bjhh.2014.11.014
13. Tongers J, Roncalli JG, Losordo DW. Role of endothelial progenitor cells during ischemia-induced vasculogenesis and collateral formation. *Microvasc Res.* 2010;79(3):200-206. doi:10.1016/j.mvr.2010.01.012
14. Gkatzamanidou M, Christoulas D, Souliotis VL, Papatheodorou A, Dimopoulos MA, Terpos E. Angiogenic cytokines profile in smoldering multiple myeloma: No difference compared to MGUS but altered compared to symptomatic myeloma. *Med Sci Monit.* 2013;19:1188-1194. doi:10.12659/MSM.889752

15. C Díaz-Maqueo J. Historia del mieloma múltiple. *Rev Biomédica*. 2006;17(3):225-229. doi:10.32776/revbiomed.v17i3.459
16. Congreso nacional de la SEHH y la SETH. Programa educacional y ponencias\_ LXIII Congreso nacional SEHH\_ SETH. 2021. <https://www.sehhseth.es/images/stories/recursos/pdf/publicaciones/educacional/pdf/2021/Ponencias-LXIII-SEHH.pdf>.
17. Anderson KC, Multiple JL. Progress and Paradigms in Multiple Myeloma. *Physiol Behav*. 2016;15(1):5419-5427. doi:10.1016/j.physbeh.2017.03.040
18. Terese Winslow. Mieloma múltiple. <https://www.cancer.gov/images/cdr/live/CDR766670.jpg>. Published 2014.
19. Hannaford A, Del Bello D, Leng S, et al. Management of Patients With Hepatitis C Virus, Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance, and Multiple Myeloma. *J Investig Med High Impact Case Reports*. 2017;5(2). doi:10.1177/2324709617696854
20. Cunha Júnior AD da, Zanette DL, Pericole FV, Olalla Saad ST, Barreto Campello Carvalheira J. Obesity as a Possible Risk Factor for Progression from Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance Progression into Multiple Myeloma: Could Myeloma Be Prevented with Metformin Treatment? *Adv Hematol*. 2021;2021:1-7. doi:10.1155/2021/6615684
21. Moreau P, San Miguel J, Sonneveld P, et al. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2017;28(April):iv52-iv61. doi:10.1093/annonc/mdx096
22. Fairfield H, Falank C, Avery L, Reagan MR. Multiple myeloma in the marrow: Pathogenesis and treatments. *Ann N Y Acad Sci*. 2016;1364(1):32-51. doi:10.1111/nyas.13038
23. Kyle et al. A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med*. 2002;346(8):564-569.
24. Chng WJ, Chung TH, Kumar S, et al. Gene signature combinations improve prognostic stratification of multiple myeloma patients. *Leukemia*. 2016;30(5):1071-1078. doi:10.1038/leu.2015.341
25. Kollet O, Dar A, Lapidot T. The Multiple Roles of Osteoclasts in Host Defense : Bone Remodeling and Hematopoietic Stem Cell Mobilization. 2007:51-69. doi:10.1146/annurev.immunol.25.022106.141631
26. Padala SA, Barsouk A, Barsouk A, et al. Epidemiology , Staging , and Management of Multiple Myeloma. *Med Sci*. 2021;9 (1)(3):1-14. doi:doi.org/10.3390/medsci9010003
27. International Agency for Research on Cancer. Organization WH. Global Multiple Myeloma Statistics. *Globocan 2020*. 2020:1-2. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/35-Multiple-myeloma-fact-sheet.pdf>.
28. Bird JM, Owen RG, D'Sa S, et al. Guidelines for the diagnosis and management of multiple myeloma 2011. *Br J Haematol*. 2011;154(1):32-75. doi:10.1111/j.1365-2141.2011.08573.x



29. Sociedad Española de Oncología Médica. Las cifras del cáncer en España 2020 Hombres. *Soc Española Oncol Médica*. 2020:36.
30. ECIS - European Cancer Information System. Estimated mortality by country. <https://ecis.jrc.ec.europa.eu/>. Published 2021. Accessed January 29, 2021.
31. ECIS - European Cancer Information System. Estimated incidence by country - Comparison by sex. <https://ecis.jrc.ec.europa.eu/>. Accessed January 29, 2021.
32. International Agency for Research on Cancer. WHO cancer mortality database (IARC). <http://www-dep.iarc.fr/WHODb/WHODb.htm>. Published 2019.
33. Sociedad Americana de Cáncer. Tasas de supervivencia para el mieloma múltiple según la etapa. *Am Cncer Soc*. 2017:20-21. <https://www.cancer.org/es/cancer/mieloma-multiple/deteccion-diagnostico-clasificacion-por-etapas/tasas-de-supervivencia.html>.
34. Idescat. El càncer a Catalunya. <http://canalsalut.gencat.cat/ca/salut-a-z/c/cancer>. Published 2018.
35. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2014;15(12):e538-e548. doi:10.1016/S1470-2045(14)70442-5
36. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2018 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2018;93(8):1091-1110. doi:10.1002/ajh.25117
37. Katznel JA, Hari P, Vesole DH. Multiple Myeloma: Charging Toward a Bright Future. *CA Cancer J Clin*. 2007;57(5):301-318. doi:10.3322/ca.57.5.301
38. Drayson M, Tang LX, Drew R, Mead GP, Carr-Smith H, Bradwell AR. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood*. 2001;97(9):2900-2902. doi:10.1182/blood.V97.9.2900
39. Morris C, Drake M, Apperley J, et al. Efficacy and outcome of autologous transplantation in rare myelomas. *Haematologica*. 2010;95(12):2126-2133. doi:10.3324/haematol.2010.022848
40. Charliński G, Jurczyszyn A. Non-secretory multiple myeloma: Diagnosis and management. *Adv Clin Exp Med*. 2021;31(1). doi:10.17219/ACEM/141455
41. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. *Blood*. 2022;140(11):1229-1253. doi:10.1182/blood.2022015851
42. Go RS, Vincent Rajkumar S. How i manage monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*. 2018;131(2):163-173. doi:10.1182/blood-2017-09-807560
43. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. 2020;95(5):548-567. doi:10.1002/ajh.25791
44. Romano A, Cerchione C, Conticello C, Martinelli G, Raimondo F Di. How we manage smoldering multiple myeloma. *Hematol Rep*. 2020;12(S1):1-18. doi:10.4081/hr.2020.8951



45. Tuazon SA, Holmberg LA, Nadeem O, Richardson PG. A clinical perspective on plasma cell leukemia; current status and future directions. *Blood Cancer J.* 2021;11(2). doi:10.1038/s41408-021-00414-6
46. ICO-ICS. *ICO-ICS Praxis Para El Tratamiento Médico y Con Irradiación Del Mieloma Múltiple.*; 2021. [https://scientiasalut.gencat.cat/bitstream/handle/11351/5829/ICO\\_ICS\\_praxis\\_tratamiento\\_medico\\_irradiacion\\_mieloma\\_multiple\\_2021\\_cas.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://scientiasalut.gencat.cat/bitstream/handle/11351/5829/ICO_ICS_praxis_tratamiento_medico_irradiacion_mieloma_multiple_2021_cas.pdf?sequence=2&isAllowed=y).
47. Papadimitriou SI, Terpos E, Liapis K, et al. The Cytogenetic Profile of Primary and Secondary Plasma Cell Leukemia: Etiopathogenetic Perspectives, Prognostic Impact and Clinical Relevance to Newly Diagnosed Multiple Myeloma with Differential Circulating Clonal Plasma Cells. *Biomedicines.* 2022;10(2). doi:10.3390/biomedicines10020209
48. Rajkumar SV, Kumar S. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin Proc.* 2016;91(1):101-119. doi:10.1016/j.mayocp.2015.11.007
49. Fend F, Dogan A, Cook JR. Plasma cell neoplasms and related entities—evolution in diagnosis and classification. *Virchows Arch.* 2022;(0123456789). doi:10.1007/s00428-022-03431-3
50. USA IN del cáncer en. Tratamiento de las neoplasias de células plasmáticas (incluso mieloma múltiple) (PDQ®)—Versión para profesionales de salud - Instituto Nacional del Cáncer. [https://www.cancer.gov/espanol/tipos/mieloma-multiple/pro/tratamiento-mieloma-pdq#\\_107](https://www.cancer.gov/espanol/tipos/mieloma-multiple/pro/tratamiento-mieloma-pdq#_107). Published 2020.
51. Kuwabara S, Dispenzieri A, Arimura K, Misawa NC. Tratamiento del síndrome POEMS. 2012\_Cochrane. doi:10.1002/14651858.CD006828.pub3.
52. Lado Lado FL, Ferreiro Regueiro MJ, Cabana González B, Díez Díez V, Maceda Vilariño S, Antúnez López JR. Amiloidosis. *Med Integr.* 2000;36(4):137-141. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-amiloidosis-10022203>.
53. Kosmala A, Bley T, Petritsch B. Imaging of Multiple Myeloma Bildgebende Diagnostik des Multiplen Myeloms. *Fortschr Rontgenstr.* 2019;191(9):805-816.
54. Landgren O, Rajkumar SV. New developments in diagnosis, prognosis, and assessment of response in multiple myeloma. *Clin Cancer Res.* 2016;22(22):5428-5433. doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-0866
55. Kumar S, Paiva B, Anderson KC, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2016;17(8):e328-e346. doi:10.1016/S1470-2045(16)30206-6
56. PDQ Adult Treatment Editorial Board. Plasma Cell Neoplasms (Including Multiple Myeloma) Treatment (PDQ®) - PDQ Cancer Information Summaries - NCBI Bookshelf. July 22. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK66001/>.
57. Cardona-benavides IJ, de Ramón C, Gutiérrez NC. Genetic abnormalities in multiple myeloma: Prognostic and therapeutic implications. *Cells.* 2021;10(2):1-28. doi:10.3390/cells10020336

58. Filonzi G, Zamagni E, Nanni C, et al. Myeloma: Can the MRI Pattern Play a Prognostic Role? 2017;(July):152-158. doi:10.2214/AJR.16.17219
59. Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S, et al. Revised international staging system for multiple myeloma: A report from international myeloma working group. *J Clin Oncol*. 2015;33(26):2863-2869. doi:10.1200/JCO.2015.61.2267
60. Conté L G, Figueroa M G, Lois V V, et al. Valor pronóstico del nuevo sistema de etapificación internacional en mieloma múltiple: Comparación con el sistema de Durie-Salmon. *Rev Med Chil*. 2008;136(1):7-12. doi:10.4067/s0034-98872008000100001
61. Greipp PR, Miguel JS, Dune BGM, et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2005;23(15):3412-3420. doi:10.1200/JCO.2005.04.242
62. Mikhael J, Ismaila N, Cheung MC, et al. Treatment of multiple myeloma: ASCO and CCO joint clinical practice guideline. *J Clin Oncol*. 2019;37(14):1228-1263. doi:10.1200/JCO.18.02096
63. E. T. First line therapy for multiple myeloma. *Leuk Res*. 2017;61:S2–S3. <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L619673138>.
64. Gagelmann N, Riecken K, Wolschke C, et al. Development of CAR-T cell therapies for multiple myeloma. *Leukemia*. 2020;34(9):2317-2332. doi:10.1038/s41375-020-0930-x
65. Id NM, Kishore B, Bhatti Z, et al. Panobinostat in combination with bortezomib and dexamethasone in multiply relapsed and refractory myeloma; UK routine care cohort. 2022:1-13. doi:10.1371/journal.pone.0270854
66. Kawano Y, Moschetta M, Manier S, et al. Targeting the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. *Immunol Rev*. 2015;263(1):160-172. doi:10.1111/imr.12233
67. Mary Steinbach\* , Kelley Julian\* BM and DWS. Toxicity management strategies for next-generation novel therapeutics in multiple myeloma. *Ther Adv Hematol*. 2022;13:1–22. doi:DOI: 10.1177/ 20406207221100659
68. Al Hamed R, Bazarbachi AH, Malard F, Harousseau JL, Mohty M. Current status of autologous stem cell transplantation for multiple myeloma. *Blood Cancer J*. 2019;9(4). doi:10.1038/s41408-019-0205-9
69. Orłowski RZ, Lonial S. Integration of Novel Agents into the Care of Patients with Multiple Myeloma. *Clin Cancer Res*. 2016;22(22):5443-5452. doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-0861
70. Piechotta V, Jakob T, Langer P, Monsef I, Scheid C, Estcourt LJ, Ocheni S, Theurich S, Kuhr K, Scheckel B, Adams A SN. Multiple drug combinations of bortezomib, lenalidomide, and thalidomide for first-line treatment in adults with transplant-ineligible multiple myeloma: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;(11):1465-1858. doi:https://doi.org/10.1002/14651858.CD013487
71. Hermiston ML, Xu Z, Weiss A. CD45: A critical regulator of signaling thresholds in immune cells. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:107-137. doi:10.1146/annurev.immunol.21.120601.140946

72. Ribatti D, Nico B, Crivellato E, Roccaro AM, Vacca A. The history of the angiogenic switch concept. *Leukemia*. 2007;21(1):44-52. doi:10.1038/sj.leu.2404402
73. As A, Preneoplastic MOF, Breast THEH. Lesions of the Human Breast.
74. Ria R, Melaccio A, Racanelli V, Vacca A. Anti-VEGF Drugs in the Treatment of Multiple Myeloma Patients. *J Clin Med*. 2020;9(6):1765. doi:10.3390/jcm9061765
75. Krüger-Genge A, Blocki A, Franke RP, Jung F. Vascular endothelial cell biology: An update. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18). doi:10.3390/ijms20184411
76. Adams RH, Alitalo K. Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(6):464-478. doi:10.1038/nrm2183
77. Critser PJ, Yoder MC. Endothelial colony-forming cell role in neoangiogenesis and tissue repair. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010;15(1):68-72. doi:10.1097/MOT.0b013e32833454b5
78. Vacca A, Ribatti D, Roncali L, et al. Bone marrow angiogenesis and progression in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 1994;87(3):503-508. doi:10.1111/j.1365-2141.1994.tb08304.x
79. Sabatier F, Camoin-Jau L, Anfosso F, Sampol J, Dignat-George F. Circulating endothelial cells, microparticles and progenitors: Key players towards the definition of vascular competence. *J Cell Mol Med*. 2009;13(3):454-471. doi:10.1111/j.1582-4934.2008.00639.x
80. Varner JA, Schmid MC. Myeloid cells in the tumor microenvironment: Modulation of tumor angiogenesis and tumor inflammation. *J Oncol*. 2010;2010. doi:10.1155/2010/201026
81. Yoder MC. Human endothelial progenitor cells. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(7):1-14. doi:10.1101/cshperspect.a006692
82. Hu K, Olsen BR. Vascular endothelial growth factor control mechanisms in skeletal growth and repair. *Dev Dyn*. 2017;246(4):227-234. doi:10.1002/dvdy.24463
83. Sliwiska PN, Alitalo K, Allen E, et al. Consensus guidelines for the use and interpretation of angiogenesis assays. *Angiogenesis*. 2018.
84. Duboscq C. Endotelio vascular. *Hematología*. 2017;21(Extraordinario):19-30.
85. Ceballos G, Gutiérrez-Salmeán G, Meaney E. The vascular endothelium: A review series I. Basic aspects of the vascular endothelium. *Rev Mex Cardiol*. 2015;26(2):95-100.
86. Veikkola T, Karkkainen M, Claesson-Welsh L, Alitalo K. Regulation of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors. *Cancer Res*. 2000;60(2):203-212.
87. Haibe Y, Kreidieh M, El Hajj H, et al. Resistance Mechanisms to Anti-angiogenic Therapies in Cancer. *Front Oncol*. 2020;10(February). doi:10.3389/fonc.2020.00221
88. Wang Z, Dabrosin C, Yin X, et al. Broad targeting of angiogenesis for cancer prevention and therapy. *Semin Cancer Biol*. 2015;35:S224-S243. doi:10.1016/j.semcancer.2015.01.001

89. Jakob C, Sterz J, Zavrski I, et al. Angiogenesis in multiple myeloma. *Eur J Cancer*. 2006;42(11):1581-1590. doi:10.1016/j.ejca.2006.02.017
90. Zurita AJ, Jonasch E, Wang X, et al. A cytokine and angiogenic factor (CAF) analysis in plasma for selection of sorafenib therapy in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Ann Oncol*. 2012;23(1):46-52. doi:10.1093/annonc/mdr047
91. Plasma Cell Neoplasms (Including Multiple Myeloma) Treatment (PDQ®)–Health Professional Version - National Cancer Institute. National cancer institut. [https://www.cancer.gov/types/myeloma/hp/myeloma-treatment-pdq#\\_107](https://www.cancer.gov/types/myeloma/hp/myeloma-treatment-pdq#_107). Published 2020.
92. Judah folkman md. Tumor angiogenesis, therapeutic implications. *N Engl J Med*. 1971;285(21):1182-1186.
93. Martínez J. Angiogénesis tumoral. *Haematologica*. 2005;90(1):85-94. [https://www.sehh.es/images/stories/recursos/2013/comunicaciones\\_cientificas/2005/3\\_leccion\\_ricardo\\_castillo.pdf](https://www.sehh.es/images/stories/recursos/2013/comunicaciones_cientificas/2005/3_leccion_ricardo_castillo.pdf).
94. Hanahan D. Signaling vascular morphogenesis and maintenance. *Science (80- )*. 1997;277(5322):48-50. doi:10.1126/science.277.5322.48
95. Brunckhorst MK, Xu Y, Lu R, Yu Q. Angiopoietins promote ovarian cancer progression by establishing a procancer microenvironment. *Am J Pathol*. 2014;184(8):2285-2296. doi:10.1016/j.ajpath.2014.05.006
96. Xuan ZX, Zhang S, Yuan SJ, Wang W, Yu J. Prognostic value of angiopoietin-2 in non-small cell lung cancer patients: A meta-analysis. *World J Surg Oncol*. 2016;14(1):1-9. doi:10.1186/s12957-016-0992-4
97. Danza K, Pilato B, Lacalamita R, et al. Angiogenetic axis angiopoietins/Tie2 and VEGF in familial breast cancer. *Eur J Hum Genet*. 2013;21(8):824-830. doi:10.1038/ejhg.2012.273
98. Andrulis M, Lehnert N, Capper D, et al. Targeting the BRAF V600E mutation in multiple myeloma. *Cancer Discov*. 2013;3(8):862-869. doi:10.1158/2159-8290.CD-13-0014
99. Terpos E, Anargyrou K, Katodritou E, et al. Circulating angiopoietin-1 to angiopoietin-2 ratio is an independent prognostic factor for survival in newly diagnosed patients with multiple myeloma who received therapy with novel antimyeloma agents. *Int J Cancer*. 2012;130(3):735-742. doi:10.1002/ijc.26062
100. Thurston G, Daly C. The complex role of angiopoietin-2 in the angiopoietin-Tie signaling pathway. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(9):1-13. doi:10.1101/cshperspect.a006650
101. Lin MI, Price EN, Boatman S, et al. Angiopoietin-like proteins stimulate HSPC development through interaction with Notch receptor signaling. *Elife*. 2015;2015(4):1-25. doi:10.7554/eLife.05544
102. Nowicki M, Wierzbowska A, Małachowski R, et al. VEGF, ANGPT1, ANGPT2, and MMP-9 expression in the autologous hematopoietic stem cell transplantation and its impact on the time to engraftment. *Ann Hematol*. 2017;96(12):2103-2112. doi:10.1007/s00277-017-3133-4

103. Jongman RM, Zwiers PJ, Van De Sluis B, et al. Partial Deletion of Tie2 Affects Microvascular Endothelial Responses to Critical Illness in A Vascular Bed and Organ-Specific Way. *Shock*. 2019;51(6):757-769. doi:10.1097/SHK.0000000000001226
104. Leppänen VM, Saharinen P, Alitalo K. Structural basis of Tie2 activation and Tie2/Tie1 heterodimerization. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(17):4376-4381. doi:10.1073/pnas.1616166114
105. Giuliani N, Colla S, Lazzaretti M, et al. Proangiogenic properties of human myeloma cells: Production of angiopoietin-1 and its potential relationship to myeloma-induced angiogenesis. *Blood*. 2003;102(2):638-645. doi:10.1182/blood-2002-10-3257
106. Mandriota SJ, Pepper MS. Regulation of angiopoietin-2 mRNA levels in bovine microvascular endothelial cells by cytokines and hypoxia. *Circ Res*. 1998;83(8):852-859. doi:10.1161/01.RES.83.8.852
107. Kim I, Kim HG, So JN, Kim JH, Kwak HJ, Koh GY. Angiopoietin-1 regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signal transduction pathway. *Circ Res*. 2000;86(1):24-29. doi:10.1161/01.RES.86.1.24
108. Parikh SM. The Angiopoietins and Tie2 in Vascular Inflammation. *Curr Opin Hematol*. 2017;24(5):432-438. doi:10.1097/MOH.000000000000036
109. Parikh SM. The angiopoietin-Tie2 signaling axis in systemic inflammation. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(7):1973-1982. doi:10.1681/ASN.2017010069
110. Becker RC. COVID-19-associated vasculitis and vasculopathy. *J Thromb Thrombolysis*. 2020;50(3):499-511. doi:10.1007/s11239-020-02230-4
111. Anargyrou K, Terpos E, Vassilakopoulos TP, et al. Normalization of the serum angiopoietin-1 to angiopoietin-2 ratio reflects response in refractory/resistant multiple myeloma patients treated with bortezomib. *Haematologica*. 2008;93(3):451-454. doi:10.3324/haematol.11852
112. Salcedo Mora X, Sanz-Cameno P, Medina J, et al. Asociación entre factores angiogénicos solubles y marcadores de progresión de la enfermedad en pacientes con hepatitis crónica C. *Rev Esp Enfermedades Dig*. 2005;97(10):699-706. doi:10.4321/S1130-01082005001000003
113. Fang Y, Li C, Shao R, Yu H, Zhang Q, Zhao L. Prognostic significance of the angiopoietin-2/angiopoietin-1 and angiopoietin-1/Tie-2 ratios for early sepsis in an emergency department. *Crit Care*. 2015;19(1):1-11. doi:10.1186/s13054-015-1075-6
114. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. 2014;6(Kishimoto 1989):1-16. doi:10.1101/cshperspect.a016295
115. Rose-John S. Interleukin-6 family cytokines. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018;10(2):1-17. doi:10.1101/cshperspect.a028415
116. Kang S, Narazaki M, Metwally H, et al. Historical overview of the interleukin-6 family cytokine. *J Exp Med*. 2020;217(5):1-10. doi:10.1084/jem.20190347
117. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*. 1986;324(6092):73-76. doi:10.1038/324073a0

118. Dienz O, Rincon M. The effects of IL-6 on CD4 T cell responses. *Clin Immunol*. 2009;130(1):27-33. doi:10.1016/j.clim.2008.08.018
119. Tanaka T, Kishimoto T. The Biology and Medical Implications of Interleukin-6. *Cancer Immunol Res*. 2014;2(4):288 LP - 294. doi:10.1158/2326-6066.CIR-14-0022
120. Rose-John S. Interleukin-6 signalling in health and disease [ version 1 ; peer review : 3 approved ]. *F1000Research*. 2020;9((Faculty Review)):1013 (11 pages).
121. Xu J, Ye Y, Zhang H, et al. Diagnostic and prognostic value of serum interleukin-6 in colorectal cancer. *Med (United States)*. 2016; 95(2):1-10. doi:10.1097/MD.0000000000002502
122. Uz U, Eskiizmir G. Association between interleukin-6 and head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review. *Clin Exp Otorhinolaryngol*. 2021;14(1):50-60. doi:10.21053/ceo.2019.00906
123. Rosean TR, Tompkins VS, Tricot G, et al. Preclinical validation of interleukin 6 as a therapeutic target in multiple myeloma. *Immunol Res*. 2014;59(1-3):188-202. doi:10.1007/s12026-014-8528-x
124. Fedele G, Di Girolamo M, Recine U, et al. CD38 ligation in peripheral blood mononuclear cells of myeloma patients induces release of protumorigenic IL-6 and impaired secretion of IFN  $\gamma$  cytokines and proliferation. *Mediators Inflamm*. 2013;2013(Dc). doi:10.1155/2013/564687
125. Chatterjee M, Hönemann D, Lentzsch S, et al. In the presence of bone marrow stromal cells human MM cells become independent of the IL6/gp130/STAT3 pathway. *Blood*. 2002;100(9):3311-3318. doi:10.1182/blood-2002-01-0102
126. Comunanza V, Bussolino F. Therapy for cancer: Strategy of combining anti-angiogenic and target therapies. *Front Cell Dev Biol*. 2017;5(DEC):1-18. doi:10.3389/fcell.2017.00101
127. Ribatti D, Vacca A. New insights in anti-angiogenesis in multiple myeloma. *Int J Mol Sci*. 2018;19(7). doi:10.3390/ijms19072031
128. Committee for Orphan Medicinal Products, Public of the European Medicines Agency. *Public Summary of Opinion on Orphan Designation Trebananib for the Treatment of Ovarian Cancer*. Agency, European Medicines; 2013. doi:10.1080/14737140.2018.1490180
129. Le RQ, Li L, Yuan W, et al. FDA Approval Summary: Tocilizumab for Treatment of Chimeric Antigen Receptor T Cell-Induced Severe or Life-Threatening Cytokine Release Syndrome. *Oncologist*. 2018;23(8):943-947. doi:10.1634/theoncologist.2018-0028
130. Lleida ITicGT. Hospital Universitari Arnau de Vilanova - Qui Som. ICS. [http://www.icslleida.cat/hospital/qui\\_som](http://www.icslleida.cat/hospital/qui_som). Published 2016.
131. Red Nacional de Biobancos de España. Miembros de la RNBB | Red Nacional de Biobancos. <https://redbiobancos.es/quienes-somos/miembros-de-la-rnbb/>. Published 2009.

132. Asociación Médica Mundial. 3ª Ed. 2015. 3era ed. (Ball/CORBIS R, ed.). Asociación Médica Mundial; 2015. [https://www.wma.net/wp-content/uploads/2016/11/Ethics\\_manual\\_3rd\\_Nov2015\\_es.pdf](https://www.wma.net/wp-content/uploads/2016/11/Ethics_manual_3rd_Nov2015_es.pdf).
133. Rennie D. Trial registration: A great idea switches from ignored to irresistible. *J Am Med Assoc*. 2004;292(11):1359-1362. doi:10.1001/jama.292.11.1359
134. Samper MB. Ley Orgánica 3/2018, De 5 De Diciembre, De Protección De Datos Personales Y Garantía De Los Derechos Digitales. *Protección datos Pers*. 2020:145-252. doi:10.2307/j.ctv17hm980.5
135. Contents K, Reagent BA, Reagent S, Solution S, Sealer AP. Human Angiopoietin-1 ELISA Kit. 2015:1-8.
136. Systems R. Human Angiopoietin-2 Immunoassay. 2015.
137. R&D Systems. Human IL-6 Immunoassay. 2018;6.
138. Guiñon Garcia A. *Protocol Asistencial Pel Tractament Del Mieloma Múltiple.*; 2014.
139. Špička I, Klánová M. Multiple myeloma. *Vnitr Lek*. 2013;59(7):627-630.
140. Shizuru JA, Negrin RS, Weissman IL. Hematopoietic stem and progenitor cells: Clinical and Preclinical Regeneration of the Hematolymphoid System. 2005. doi:10.1146/annurev.med.54.101601.152334
141. 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
142. Anagnostopoulos A, Eleftherakis-Papaiakovou V, Zervas K, et al. Serum concentrations of angiogenic cytokines in Waldenstrom macroglobulinaemia: The ratio of angiopoietin-1 to angiopoietin-2 and angiogenin correlate with disease severity. *Br J Haematol*. 2007;137(6):560-568. doi:10.1111/j.1365-2141.2007.06609.x
143. Weisstein EW. Correlation Coefficient. Math World. Accessed August 28, 2022. <http://mathworld.wolfram.com/CorrelationCoefficient.html>.
144. Statistics Knowledge Portal. Correlation \_ Introduction to Statistics \_ JMP. Statistics Knowledge Portal. [https://www.jmp.com/en\\_us/statistics-knowledge-portal/what-is-correlation.html](https://www.jmp.com/en_us/statistics-knowledge-portal/what-is-correlation.html). Published 2023.
145. Kumar S, Gertz MA, Dispenzieri A, et al. Prognostic value of bone marrow angiogenesis in patients with multiple myeloma undergoing high-dose therapy. *Bone Marrow Transplant*. 2004;34(3):235-239. doi:10.1038/sj.bmt.1704555
146. Lee N, Lee H, Moon SY, et al. Adverse prognostic impact of bone marrow microvessel density in multiple myeloma. *Ann Lab Med*. 2015;35(6):563-569. doi:10.3343/alm.2015.35.6.563
147. Solimando AG, De Summa S, Vacca A, Ribatti D. Cancer-associated angiogenesis: The endothelial cell as a checkpoint for immunological patrolling. *Cancers (Basel)*. 2020;12(11):1-24. doi:10.3390/cancers12113380

148. Eleutherakis-Papaiakovou V, Karali M, Kokkonouzis I, Tiliakos I, Dimopoulos MA. Bone marrow angiogenesis and progression in multiple myeloma: Clinical significance and therapeutic approach. *Leuk Lymphoma*. 2003;44(6):937-948. doi:10.1080/1042819031000067639
149. Rajkumar SV, Mesa RA, Fonseca R, et al. Bone marrow angiogenesis in 400 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance, multiple myeloma, and primary amyloidosis. *Clin Cancer Res*. 2002;8(7):2210-2216.
150. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2022 update on diagnosis, risk stratification, and management. 2022. doi:10.1002/ajh.26590
151. Mosebach J, Thierjung H, Schlemmer HP, Delorme S. Multiple Myeloma Guidelines and Their Recent Updates: Implications for Imaging. *RoFo Fortschritte auf dem Gebiet der Rontgenstrahlen und der Bildgeb Verfahren*. 2019;191(11):998-1009. doi:10.1055/a-0897-3966
152. Grupo de Estudio de Gammopatías Monoclonales de Castilla y León. Hematoguía del Mieloma Múltiple. 2020:162. <https://www.sehh.es/images/stories/recursos/2020/09/27/hematoguia-MM-2020-V4-1.pdf>.
153. Baldini L, Guffanti A, Cesana BM, et al. Role of different hematologic variables in defining the risk of malignant transformation in monoclonal gammopathy. *Blood*. 1996;87(3):912-918. doi:10.1182/blood.v87.3.912.bloodjournal873912
154. Musto P, Engelhardt M, Caers J, et al. 2021 European myeloma network review and consensus statement on smoldering multiple myeloma: How to distinguish (and manage) Dr. Jekyll and Mr. Hyde. *Haematologica*. 2021;106(11):2799-2812. doi:10.3324/haematol.2021.278519
155. Caers J, Paiva B, Zamagni E, et al. Diagnosis, treatment, and response assessment in solitary plasmacytoma: Updated recommendations from a European Expert Panel. *J Hematol Oncol*. 2018;11(1):1-10. doi:10.1186/s13045-017-0549-1
156. Durie PBGM, Oschin CS, Angeles L, 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. *Lancet*. 2018;389(10068):519-527. doi:10.1016/S0140-6736(16)31594-X.Bortezomib
157. Pinto V, Bergantim R, Caires HR, Seca H, Guimarães JE, Vasconcelos MH. Multiple myeloma: Available therapies and causes of drug resistance. *Cancers (Basel)*. 2020;12(2):1-32. doi:10.3390/cancers12020407
158. Lei M, Kim EB, Branagan A, Lou U, Zemel M, Raje N. Current management and emerging treatment strategies for multiple myeloma. *Rinsho Ketsueki*. 2019;60(9):1243-1256. doi:10.11406/rinketsu.60.1243
159. De Luisi A, Ferrucci A, Coluccia AML, et al. Lenalidomide restrains motility and overangiogenic potential of bone marrow endothelial cells in patients with active MM. *Clin Cancer Res*. 2011;17(7):1935-1946. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-2381
160. Talarico TL, Casas IA, Chung TC, Dobrogosz WJ. Angiogenesis and Antiangiogenesis in Multiple Myeloma. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018:1854-1858. doi:10.1128/AAC.32.12.1854



161. Cavo M, Gay F, Beksac M, et al. Autologous haematopoietic stem-cell transplantation vs bortezomib–melphalan–prednisone, with or without bortezomib – lenalidomide–dexamethasone consolidation therapy and lenalidomide maintenance for newly diagnosed multiple myeloma (EMN02/HO95): a mult. *Lancet Haematol.* 2020;7(6):e456-e468. doi:[https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(20\)30099-5](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(20)30099-5)
162. Pappa CA, Alexandrakis MG, Boula A, et al. Prognostic impact of angiopoietin-2 in multiple myeloma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2014;140(10):1801-1805. doi:10.1007/s00432-014-1731-2
163. Tsirkinidis P, Terpos E, Boutsikas G, et al. Bone metabolism markers and angiogenic cytokines as regulators of human hematopoietic stem cell mobilization. *J Bone Miner Metab.* 2018;36(4):399-409. doi:10.1007/s00774-017-0853-4
164. ESMO. Mieloma múltiple: guía para pacientes - Basada en las Directrices de Práctica Clínica de la ESMO. *Esmo.* 2017:1-1.
165. Im V, Gi L. Proteína amiloide A sérica como marcador de inflamación sistémica en pacientes con enfermedad. 2013:49-57.
166. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS.* 2010;5(6):463-466. doi:10.1097/COH.0b013e32833ed177
167. Diccionario médico. Clínica Universidad de Navarra. <https://www.cun.es/diccionario-medico>. Accessed July 6, 2021.
168. Kumar SK, Anderson KC. Immune therapies in multiple myeloma. *Clin Cancer Res.* 2016;22(22):5453-5460. doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-0868
169. American Cancer Society. Detección temprana , diagnóstico y clasificación por etapas ¿ Se puede encontrar temprano el mieloma múltiple? :1-24. <https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/9096.00.pdf>.
170. Diccionario Sensagent. hibridoma : definición de hibridoma y sinónimos de hibridoma (español). <http://diccionario.sensagent.com/hibridoma/es-es/>. Published 2013. Accessed August 20, 2022.
171. Moraleda Jiménez JM. *Hematopoyesis. Hematíes: Estructura y Función.* V.356; 2017.
172. Diccionario Sensagent. Interleucina : definición de Interleucina y sinónimos de Interleucina (español). <http://diccionario.sensagent.com/Interleucina/es-es/>. Published 2013. Accessed August 20, 2022.
173. European Medicines Agency. Human medicine European public assessment report (EPAR): Lenalidomide Accord Published 2021. Accessed March 1, 2021. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/lenalidomide-accord..>

### 13.1. Bases de datos consultadas

1. Pubmed central@ (1996). Pubmed Database [base de datos]. U.S. National Institutes of health's national library of medicine (NIH/NLM). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
2. Cochrane Library (1974). *Cochrane Database of Systemic Reviews (CDSR)* (La Base de Datos Cochrane de Revisiones Sistemáticas). Disponible en: <http://www.cochrane.org/>
3. Medline plus (1966). U.S. National Library of Medicine. Disponible en: <https://www.nih.gov/health-information/>
4. Scopus (2004). Scopus global research [base de datos]. Disponible en: <https://www.elsevier.com/solutions/scopus/>
5. Publons (2012). Clarivate Analytics. Disponible en: [https://publons.com/journal/26734/medicine/Wikipedia contributors](https://publons.com/journal/26734/medicine/Wikipedia%20contributors).
6. Wikipedia (2001), The Free Encyclopedia [base de datos]. Disponible en: <https://www.wikipedia.org>
7. Research gate (2008). Researchgate [base de datos]. Disponible en: <https://www.researchgate.net>
8. Frontiersin (2007). Frontiers in research metrics and analytics [base de datos]. Disponible en: <https://www.frontiersin.org>
9. Semantic scholar (2015). Allen Institute for Artificial Intelligence. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org>
10. Consorci de Serveis Universitaris de Catalunya (2014). Disponible en: <https://www.csuc.cat/es>
11. Fundación Española para la Ciencia y Tecnología, F.S.P. (FECYT). Disponible en: <https://www.recursoscientificos.fecyt.es/servicios/acceso-bases-datos>
12. Diccionario del Instituto nacional del cáncer (NCI), EE.UU. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/>