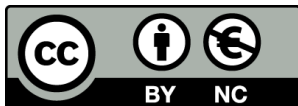


CARACTERIZACIÓN DE POLIMORFISMOS
GENÉTICOS IMPLICADOS CON EL
METABOLISMO DE LA CITARABINA Y
ASOCIACIÓN CON LA RESPUESTA Y TOXICIDAD
A LA QUIMIOTERAPIA EN PACIENTES CON
LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA DE RIESGO
INTERMEDIO

Johana Alejandra Díaz Santa



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.ca>

Aquesta obra està subjecta a una llicència Creative Commons Reconeixement-NoComercial

Esta obra está bajo una licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial licence



TESIS DOCTORAL:

CARACTERIZACIÓN DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS
IMPLICADOS CON EL METABOLISMO DE LA CITARABINA Y
ASOCIACIÓN CON LA RESPUESTA Y TOXICIDAD A LA
QUIMIOTERAPIA EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE
AGUDA DE RIESGO INTERMEDIO

JOHANA ALEJANDRA DIAZ SANTA

2022



TESIS DOCTORAL:

CARACTERIZACIÓN DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS
IMPLICADOS CON EL METABOLISMO DE LA CITARABINA Y
ASOCIACIÓN CON LA RESPUESTA Y TOXICIDAD A LA
QUIMIOTERAPIA EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE
AGUDA DE RIESGO INTERMEDIO

JOHANA ALEJANDRA DIAZ SANTA

2022

Programa de doctorado en Biología molecular, biomedicina y
salud

Dirigida por: David Gallardo Giralt
Tutora: Anna Massaguer Vall-llovera

Memoria presentada para optar al título de doctora por la
Universidad de Girona



Dr. David Gallardo Giralt

Cap del Servei d'Hematologia de l'Institut Català d'Oncologia de Girona, Hospital
Universitari Doctor Josep Trueta de Girona.

Professor agregat vinculat del Departament de Ciències Mèdiques de la
Universitat de Girona.

CERTIFICO:

Que Johana Alejandra Díaz Santa ha dut a terme sota la meva direcció el treball
titulat: CARACTERIZACIÓN DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS IMPLICADOS
CON EL METABOLISMO DE LA CITARABINA Y ASOCIACIÓN CON LA
RESPUESTA Y TOXICIDAD A LA QUIMIOTERAPIA EN PACIENTES CON
LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA DE RIESGO INTERMEDIO, que es presenta en
aquesta memòria, la qual constitueix la seva Tesi per a optar al Grau de Doctora
per la Universitat de Girona (UdG).

I perquè així consti i tingui els efectes oportuns, signo aquest document.

Dr. David Gallardo Giralt

Girona, 10 de juny de 2022

A mis padres, hermanas y Gregorio.

AGRADECIMIENTOS

Reza el dicho que es de bien nacido ser agradecido, y en este apresurado inventario de gratitudes, quiero consignar las que siguen:

Ante todo, y en primer lugar, esta tesis se la dedico a Rosa Isabel y Jaime, mis padres, con quienes me une una deuda de gratitud impagable. Sin ellos nada hubiera sido posible. A ellos que alimentaron mis sueños más allá de sus posibilidades.

A mi familia, en especial a Lina y Natalia mis hermanas, por su comprensión y apoyo en los momentos más aciagos del largo camino recorrido, ellos han sido para mí un premio extraordinario. A Gregorio, por su infinita paciencia, comprensión, dedicación y ayuda, a mis sobrinos y amigos agradecerles por su alegría y complicidad en este proceso. A ellos mis más sinceros agradecimientos por su amor y aliento.

En segundo lugar, quiero expresar -públicamente- mi gratitud y reconocimiento a mi director de tesis el Dr. David Gallardo Giralt, quien a lo largo de estos años siempre creyó en el proyecto y supo brindar su conocimiento y ayuda en la elaboración de esta tesis doctoral. Gracias en especial por su espíritu de docencia, por su visión crítica y sus aportaciones inestimables y siempre oportunas en aras a lograr los mejores resultados.

Mención a parte merece, Rocío Rodríguez y Gemma Osca, compañeras y colaboradoras del Institut d'Investigació Biomèdica de Girona Dr. Josep Trueta

(IDIBGI), cuya ayuda ha sido imprescindible en el curso de este camino. A ellas, por su dedicación y apoyo, gracias por todo lo aprendido.

Finalmente, no quisiera dejar de agradecer a mis compañeros del Hospital Dr. Josep Trueta de Girona y del servicio de Hematología del Institut Català d'Oncologia (ICO-Girona) la ayuda brindada, gracias por su cobertura para culminar esta tesis.

Gracias, en suma, a todos los que me ayudaron y acompañaron a lo largo del camino de esta tesis.

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

ARN: Ácido ribonucleico.

Ara-C: Arabinósido de citosina - citarabina.

CBF: Core-binding factor.

CETLAM: Grupo Cooperativo de Estudio y Tratamiento de las Leucemias Agudas y síndrome Mielodisplásico.

CFM: Citometría de flujo multiparamétrica.

CHIP: del inglés, *clonal hematopoiesis of indeterminate potencial*.

ELN: *European Leukemia Net*.

ECOG: del inglés, *Eastern Cooperative Oncology Group*.

ERM: enfermedad residual medible.

FAB: Franco- americano-Británico.

FISH: del inglés, *fluorescence in situ hybridation*.

ICC-LMA: clasificación del consenso internacional de LMA.

HCT-CI: índice de comorbilidad para Trasplante de células hematopoyéticas.

LMA: Leucemia mieloide aguda.

LMA-RI: LMA de riesgo intermedio.

M.O: Médula ósea.

MRT: Mortalidad relacionada con el tratamiento.

NGS: del inglés, *Next Generation Sequencing*.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

pb: Pares de bases.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

RC: Remisión completa.

RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa inversa.

SG: Supervivencia global.

SLE: Supervivencia libre de enfermedad.

SLR: Supervivencia libre de recaída.

SMD: Síndrome mielodisplásico.

SNP: del inglés, *single nucleotide polymorphism*.

SP: Sangre periférica.

TPH: Trasplante de progenitores hematopoyéticos.

TID: Duplicación interna en tándem.

TKD: Mutaciones puntuales del dominio tirosin-quinasa 2

TRN: Tiempo de recuperación de neutropenia.

TRT: Tiempo de recuperación de trombocitopenia.

VAF: del inglés, *variant allele frequency*.

TABLAS

TABLA 1. Expresión de marcadores de superficie celular y citoplasmáticos para el diagnóstico de LMA según las recomendaciones ELN 2022.....	8
TABLA 2. Clasificación de la LMA según la FAB.....	11
TABLA 3. Clasificación de la LMA según la OMS 2022	13
TABLA 4. Clasificación de la LMA según el ICC-LMA 2022	15
TABLA 5. Clasificación pronóstica de LMA según Características Citogenéticas/moleculares. ELN 2010.....	18
TABLA 6. Clasificación pronóstica de LMA según características genéticas. ELN 2017.....	19
TABLA 7. Clasificación pronóstica de LMA según características genéticas. ELN 2022.....	20
TABLA 8. Tratamiento según protocolo CETLAM.....	57
TABLA 9. Criterios de evaluación de respuesta. Protocolos CETLAM 2003-2012.....	58
TABLA10. Criterios de recaída.....	59
TABLA 11. Definición de variables	59
TABLA 12. Distribución de genotipos NT5C2 rs10883841, CDA rs2072671, CDA rs532545	68
TABLA 13. Características de la cohorte analizada.....	69
TABLA 14. Análisis de homogeneidad entre genotipos.....	70
TABLA 15. Resultado clínico después de la quimioterapia de inducción y consolidación según el genotipo.....	75
TABLA 16. Características de la cohorte analizada	82
TABLA 17. Homogeneidad entre los grupos acorde a genotipo UGT1A1 rs8175347.....	83

TABLA 18. Análisis multivariante para SG según el genotipo UGT1A1.....	87
---	----

FIGURAS

Figura 1. Clases moleculares de LMA y co-ocurrencia de mutaciones genéticas.	21
Figura 2. Vías metabólicas de la citarabina.....	33
Figura 3. Supervivencia global en pacientes menores de 50 años según el genotipo NT5C2 rs10883841 AA	76
Figura 4. Supervivencia libre de enfermedad en pacientes menores de 50 años según el genotipo NT5C2 rs10883841 AA	77
Figura 5. Análisis de subgrupos de la asociación entre el genotipo NT5C2 rs10883841 supervivencia global (A) y supervivencia libre de enfermedad (B) en pacientes < 50 años.....	79
Figura 6. Supervivencia global a 5 años según el genotipo UGT1A1 rs8175347 en 455 pacientes con LMA-RI tratados con quimioterapia basada en citarabina.....	86
Figura 7. Diagrama de bosque considerando el análisis de subgrupos para la supervivencia global según el genotipo de UGT1A1.....	88
Figura 8. Supervivencia global a 5 años según el genotipo UGT1A1 rs8175347 en (A) hombres (n:249); (B) mujeres (n:219); (C) pacientes de 60 años o menos (n: 343); (D) pacientes mayores de 60 años (n:125); (E) pacientes con recuento inicial de glóbulos blancos <math><100 \times 10^9/L</math> (n:379); (F) pacientes con recuento inicial de glóbulos blancos $\geq 100 \times 10^9/L$ (n: 88).....	89
Figura 9. Supervivencia global a 5 años considerando el sexo del paciente y el genotipo UGT1A1 rs8175347.....	90
Figura 10. Supervivencia libre de enfermedad según el genotipo UGT1A1.....	92
Figura 11. Mortalidad sin recaída en pacientes con genotipo UGT1A1.....	93

ANEXOS

ANEXO 1. ECOG Escala funcional.....115

ANEXO 2. Índice de comorbilidad para Trasplante de células
hematopoyéticas. **HCT-CI**.....117

ÍNDICE

1. RESUMEN	
2. INTRODUCCIÓN	1
2.1. GENERALIDADES	3
2.2. DIAGNOSTICO	6
2.2.1. Citomorfología convencional	7
2.2.2. Citometría de flujo multiparamétrica (CFM)	8
2.2.3. Pruebas genéticas.	9
2.3. CLASIFICACIÓN	11
2.4. FACTORES PRONÓSTICOS.....	16
2.5. Descripción de las principales alteraciones genéticas y moleculares de la LMA-RI	22
2.5.1. Mutaciones del gen de la <i>NPM1</i>	22
2.5.2. Mutaciones del gen <i>FLT3</i>	23
2.5.3. Reordenamiento <i>MLLT3/KMT2A</i>	25
2.5.4. Mutaciones del gen <i>DNMT3A</i>	26
2.5.5. Mutaciones de <i>IDH1</i> y <i>IDH2</i>	27
2.6. TRATAMIENTO	28
2.6.1. Citarabina	29
2.6.2. Metabolismo de la citarabina.	31
2.6.2.1 Enzimas clave de la vía de metabolización de la citarabina.	31

2.6.2.2	Polimorfismos que afectan la vía metabólica	
	de la citarabina	36
2.6.2.3	Principales polimorfismos que afectan a	
	enzimas metabolizadoras de citarabina.	37
2.6.3	Toxicidad relacionada con la citarabina	42
3.	HIPOTESIS	45
4.	OBJETIVOS	49
4.1.	Objetivo principal	51
4.2.	Objetivos secundarios	51
5.	PACIENTES Y METODOS	53
5.1.	Pacientes.....	55
5.2.	Criterios de inclusión	55
5.3.	Criterios de exclusión.....	55
5.4.	Descripción del tratamiento.....	56
5.5.	Valoración de resultados clínicos.....	58
5.5.1.	Criterios de evaluación de respuesta.....	58
5.5.2.	Criterios de recaída.....	58
5.5.3.	Definición de variables.....	59
5.5.4.	Evaluación de toxicidad.	60
5.6.	Análisis molecular	60

5.6.1. Genotipado UGT1A1.....	61
5.6.2. Genotipado NT5C2 y CDA	62
5.7. Análisis estadístico	62
6. RESULTADOS	65
6.1. Estudio de los genotipos de enzimas implicadas en la vía clásica del metabolismo de la citarabina.....	67
6.1.1. Distribución de genotipos en la cohorte analizada.....	67
6.1.2. Características de la cohorte analizada.....	68
6.1.3. Homogeneidad entre grupos para los genotipos NT5C2 rs10883841, CDA rs2072671 y CDA rs532545.....	69
6.1.4. Resultado clínico después de la quimioterapia de inducción y consolidación.....	71
6.1.5 Supervivencia global (SG) y supervivencia libre de Enfermedad (SLE).....	76
6.1.6 Recaída.....	80
6.1.7 Mortalidad sin recaída	80
6.1.8 Causas de muerte.....	81
6.2. Estudio de la vía alternativa del metabolismo de la citarabina a través de la glucuronidación	82
6.2.1. Distribución de genotipos.....	82

6.2.2. Homogeneidad entre grupos según el genotipo de UGT1A1.....	83
6.2.3. Resultado clínico después de la quimioterapia de inducción y consolidación	84
6.2.4. Supervivencia global (SG)	86
6.2.5. Supervivencia libre de enfermedad.....	91
6.2.6. Recaída.....	92
6.2.7. Mortalidad sin recaída.....	93
6.2.8. causas de muerte.....	94
7. DISCUSIÓN	97
8. CONCLUSIONES	109
9. ANEXOS	113
10.REFERENCIAS.....	119

1. RESUMEN

La leucemia mieloide aguda (LMA), es la leucemia aguda más común en adultos, los factores pronósticos de respuesta al tratamiento en los pacientes con LMA son diversos, siendo el más importante de ellos, la presencia de alteraciones citogenéticas y moleculares al diagnóstico, que estratifican a los pacientes en 3 grupos pronóstico: favorable, intermedio y desfavorable, lo que permite individualizar la terapia.

El tratamiento quimioterápico intensivo de la LMA está basado en la citarabina, con la cual se obtienen altas tasas de RC, pero destaca una elevada morbimortalidad por la toxicidad y tasas elevadas de recaídas. Estas diferencias son más destacables en el grupo LMA de riesgo intermedio (LMA-RI), dado la heterogeneidad de este grupo.

Estas variaciones en la respuesta, probablemente no se deban solo a las alteraciones citogenéticas y moleculares; ya que las variaciones genéticas de los genes implicados en el metabolismo de la citarabina, podrían influir en las diferentes respuestas y toxicidades.

De los polimorfismos genéticos implicados en la vía metabólica, los más descritos y estudiados están la Citidina deaminasa (CDA) y la 5' nucleotidasas II (NT5C2), más recientemente, se ha sugerido que la glucuronidación puede estar involucrada en el mecanismo de eliminación de Ara-C en pacientes con LMA, específicamente por la subfamilia de enzimas UGT1A (UDP-glucuronosil transferasas).

Este estudio realizado en una cohorte de 477 pacientes adultos diagnosticados de LMA-RI de novo y tratados de forma homogénea con los protocolos del grupo

Cooperativo CETLAM, describe la distribución y la asociación con la respuesta y toxicidad a la quimioterapia de los polimorfismos genéticos NT5C2 rs10883841, CDA rs532545, CDA rs2072671 y UGT1A1 rs8175347, implicados con el metabolismo de la citarabina.

Como resultados encontramos que el genotipo en el SNP NT5C2 rs10883841, se asoció a un incremento de toxicidad, influyendo en la supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad e incidencia de recaída. Así también, el genotipo en los SNPs CDA rs532545 y CDA rs2072671 se asoció a la tasa de remisión completa, pero sin impacto en la supervivencia global o supervivencia libre de enfermedad. En cuanto a los pacientes homocigotos para la variante UGT1A1*28, se observó mayor duración de la neutropenia durante la quimioterapia de inducción y mayor incidencia de muerte relacionada con toxicidad durante la quimioterapia de consolidación. Destacando peor supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad de las mujeres con el genotipo UGT1A1 rs8175347 TA7/TA7 (UGT1A1*28).

En conclusión, nuestro estudio muestra la asociación de los genotipos de NT5C2, CDA, y UGT1A1 con la respuesta y toxicidad a la quimioterapia en pacientes con leucemia mieloide aguda de riesgo intermedio, se requieren más estudios que validen estos resultados en una cohorte con un número de pacientes más amplio dada la heterogeneidad de este grupo.

RESUM

La leucèmia mieloide aguda (LMA), és la leucèmia aguda més comuna en adults, els factors pronòstics de resposta al tractament en els pacients amb LMA són diversos, sent el més important, la presència d'alteracions citogenètiques i moleculars al diagnòstic, que estratifiquen els pacients en 3 grups pronòstics: favorable, intermig i desfavorable, fet que permet individualitzar la teràpia.

El tractament quimioteràpic intensiu de la LMA està basat en la citarabina, amb la qual s'obtenen altes taxes de RC, però destaca una elevada morbimortalitat per la toxicitat i taxes elevades de recaigudes. Aquestes diferències són més destacables al grup LMA de risc intermig (LMA-RI), atès l'heterogeneïtat d'aquest grup.

Aquestes variacions en la resposta probablement no es deuen només a les alteracions citogenètiques i moleculars; ja que les variacions genètiques dels gens implicats en el metabolisme de la citarabina, podrien influir en les diferents respostes i toxicitats.

Dels polimorfismes genètics implicats a la via metabòlica, els més descrits i estudiats són la Citidina deaminasa (CDA) i la 5' nucleotidases II (NT5C2), més recentment, s'ha suggerit que la glucuronidació pot estar involucrada en el mecanisme d'eliminació de Ara-C en pacients amb LMA, específicament per la subfamília d'enzims UGT1A (UDP-glucuronosil transferases).

Aquest estudi realitzat en una cohort de 477 pacients adults diagnosticats de LMA-RI de novo i tractats de forma homogènia amb els protocols del grup Cooperatiu CETLAM, descriu la distribució i l'associació amb la resposta i toxicitat a la quimioteràpia dels polimorfismes genètics NT5C2 rs108838, CDA

rs532545, CDA rs2072671 i UGT1A1 rs8175347, implicats amb el metabolisme de la citarabina.

Com a resultats trobem que el genotip a l'SNP NT5C2 rs10883841, es va associar a un increment de toxicitat, influint en la supervivència global, supervivència lliure de malaltia i incidència de recaiguda. Així mateix, el genotip als SNPs CDA rs532545 i CDA rs2072671 es va associar a la taxa de remissió completa, però sense impacte en la supervivència global o supervivència lliure de malaltia. En quant als pacients homozigots per a la variant UGT1A1*28, es va observar més durada de la neutropènia durant la quimioteràpia d'inducció i més incidència de mortalitat relacionada amb toxicitat durant la quimioteràpia de consolidació. Destacant pitjor supervivència global i la supervivència lliure de malaltia de les dones amb el genotip UGT1A1 rs8175347 TA7/TA7 (UGT1A1*28).

En conclusió, el nostre estudi mostra l'associació dels genotips de NT5C2, CDA, i UGT1A1 amb la resposta i toxicitat a la quimioteràpia en pacients amb leucèmia mieloide aguda de risc intermig, cal més estudis que validin aquests resultats en una cohort amb un nombre de pacients més ampli atesa l'heterogeneïtat d'aquest grup.

SUMMARY

Acute myeloid leukemia (AML) is the most common acute leukemia in adults. Prognostic factors influencing treatment response and patient survival are diverse, the most relevant being those associated with specific cytogenetic and molecular alterations at the time of diagnosis. These prognostic factors allow stratification of patients into three prognostic groups (favorable, intermediate, and unfavorable), making it possible to define an individualized therapy for a given group of patients.

Intensive chemotherapy treatments for AML are based on cytarabine and achieve high rates of complete remission. Nevertheless, the use of cytarabine is also associated with high morbidity and mortality due both to its toxicity and a significant relapse rate depending on the patient's prognostic group. These differences are more pronounced in the intermediate-risk AML group (IR-AML), given the heterogeneity of this group.

Cytogenetic and molecular alterations are probably insufficient to fully explain the clinical differences observed. Genetic variations in genes involved in cytarabine metabolism are likely to influence the patient's response to treatment. Several studies have addressed that issue and essentially focused on cytidine deaminase (CDA) and 5' nucleotidase II (NT5C2) genetic polymorphisms. More recently, it was suggested that glucuronidation could be involved in the mechanism of elimination of Ara-C in patients with AML, through the activity of the UGT1A subfamily of enzymes (UDP-glucuronosyl transferases).

The present study was carried out on a cohort of 477 adult patients diagnosed with de novo IR-AML treated homogeneously with the CETLAM Cooperative group protocols. The study describes the association of several gene polymorphisms involved in the metabolism of cytarabine, respectively NT5C2

rs10883841, CDA rs532545, CDA rs2072671 and UGT1A1 rs8175347, with clinical response and chemotherapy toxicity.

We observed that the genotype of the SNP NT5C2 rs10883841 was associated with an increase in toxicity, influencing not only overall survival, but also disease-free survival time, and time to relapse. CDA's genotypes rs532545 and rs2072671 were associated with the complete remission rate, but no association could be observed with overall survival or disease-free survival. For patients homozygous for the UGT1A1*28 variant, a longer duration of neutropenia was observed during induction chemotherapy and a higher mortality rate during consolidation chemotherapy. We also highlight the worse overall survival and disease-free survival of women with the UGT1A1 rs8175347 TA7/TA7 (UGT1A1*28) genotype.

In conclusion, our study shows the association of NT5C2, CDA, and UGT1A1 genotypes with clinical response and chemotherapy toxicity in patients with intermediate-risk acute myeloid leukemia. Given the heterogeneity of this group further studies are required to validate those results in a larger cohort.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 GENERALIDADES

La leucemia mieloide aguda (LMA) se caracteriza por la expansión clonal y la detención de la diferenciación de las células progenitoras mieloides, que confieren a la célula una ventaja proliferativa y de supervivencia.

Estas células hematopoyéticas neoplásicas pobremente diferenciadas y de linaje mieloide infiltran medula ósea (MO), sangre periférica (SP), así como otros tejidos extramedulares, lo que condiciona un desplazamiento del tejido hematopoyético normal con la consiguiente aparición de citopenias: anemia, trombopenia y neutropenia.

La LMA, es la leucemia aguda más común en adultos, representa hasta un 80% de los casos, tiene una incidencia de 3.5 casos/100.000 habitantes/año, la cual aumenta con la edad; se estima que 6.079 personas serán diagnosticadas en España para este año 2022. ⁽¹⁾ La mediana de edad al momento del diagnóstico es de 68 años, ⁽²⁾ con una ratio hombre: mujer 3:2. ⁽¹⁾

Con los esquemas actuales de tratamiento, conseguimos en términos generales remisiones completas (RC) de la enfermedad cercanas al 60-80% ^(3,4) pero destaca la frecuente toxicidad relacionada con el tratamiento, que favorece el aumento de la morbimortalidad en esta patología; así como las tasas de recaída que pueden llegar al 70%.

Las tasas de resistencia primaria son del 10-40% en pacientes jóvenes y hasta del 60% en pacientes mayores. ⁽²⁾

La supervivencia a largo plazo es del 30-50% en menores de 60 años, y del 10-15%, en los mayores de 60 años. ^(1-2,5-6)

La etiología de la LMA se desconoce en la gran mayoría de los casos, un gran porcentaje aparece de “novo”, aunque se sabe que hay diversos factores predisponentes, entre ellos el antecedente de hemopatía (como por ejemplo el síndrome mielodisplásico, el síndrome mieloproliferativo y la aplasia medular), de tratamiento previo con agentes alquilantes (inhibidores de la topoisomerasa II, entre otros), así como con la exposición a ciertos factores ambientales como el benceno, ⁽⁷⁾ y a radiación ionizante. ⁽⁸⁾ Estudios recientes con técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS) han permitido identificar numerosas alteraciones genéticas línea germinal con susceptibilidad a desarrollar neoplasias hematológicas en los portadores: ya sea como manifestación inicial, o precedida de otras disfunciones. En estos síndromes de predisposición se han identificado variantes germinales asociadas mayoritariamente a neoplasias mieloides (sobre todo LMA y síndromes mielodisplásicos) ⁽⁹⁻¹¹⁾

En la actualidad tenemos una mayor comprensión de la fisiopatología y mecanismos de leucemogénesis de la LMA. ^(9-10,12-13). Este mecanismo es un proceso complejo y no totalmente aclarado, que depende del estado epigenético de las células progenitoras, del microambiente de la médula ósea, entre otras características importantes para la biología de la leucemia. Para un mejor entendimiento de los mecanismos de expansión clonal como mecanismo de leucemogénesis en la LMA, hay que recordar que la hematopoyesis se modifica

fisiológicamente con la edad, se generan cambios que alteran tanto la distribución del ciclo celular, como la respuesta al daño del ADN, con lo que se acumulan mutaciones somáticas, generalmente por encima de ciertos niveles de la frecuencia de la variante alélica (VAF), las cuales han sido relacionadas con patologías hematológicas pero sin desarrollar la misma; término usado, actualmente, como hematopoyesis clonal de potencial indeterminado (*CHIP*).⁽⁹⁻¹⁰⁾ Por tanto, la hematopoyesis clonal puede darse por dos mecanismos: por reducción de las células madre hematopoyéticas, cuando ocurren mutaciones aleatorias fuera de los genes conductores que conllevan a apoptosis; y por la *CHIP*, en el cual existe una selección positiva al menos por una mutación conductora con riesgo de progresión a malignidad.

Los 5 genes más frecuentemente mutados en la *CHIP* son *DNMT3A*, *TET-2*, *ASXL-1*, *JAK2* y *TP53*.⁽¹⁴⁻¹⁹⁾ La presencia de estas mutaciones conductoras es relevante para iniciar la expansión clonal y corresponden a eventos de inicio temprano para la LMA, otras mutaciones asociadas como *NRAS*, *RUNX1*, *NPM1* y *FLT3* son mutaciones que aparecen más tardíamente, probablemente, involucradas en la progresión.

Los estudios de Jaiswal, Genovese y colaboradores,⁽¹⁸⁻¹⁹⁾ demostraron un aumento de riesgo de desarrollar patología hematológica maligna con la presencia de mutaciones en el contexto de *CHIP* en casi un 12%, comparado con personas de la misma edad sin mutaciones, con una tasa de transformación anual de hasta un 0.5-1%.

En el riesgo de transformación a LMA en individuos con *CHIP* pueden influir la presencia de mutaciones en *TP53* y *U2A1*,⁽²⁰⁾ el tamaño del clon mutante,

una frecuencia alélica mayor al 10%,⁽¹⁸⁻²¹⁾ así como el número de mutaciones: los individuos con CHIP y más de un gen mutado tienen un riesgo relativo aproximado de 2.5 de desarrollar LMA, comparado con los que tienen una sola mutación⁽²¹⁾

Por tanto, la LAM es una enfermedad poligénica compleja, donde la combinación de las mutaciones que pueden impulsar la leucemogénesis están influenciadas por la cooperatividad biológica y por la exclusividad mutua entre genes mutados.

2.2. DIAGNÓSTICO

Dada la diversidad de signos y síntomas que pueden presentar los pacientes con LMA, se requiere un diagnóstico integrado teniendo en cuenta en el historial médico los siguientes puntos:

- Datos demográficos, como la raza o etnia.
- Antecedentes familiares de neoplasia previa, con el fin de identificar posibles neoplasias mieloides con predisposición línea germinal.
- Se debe descartar la exposición previa a agentes tóxicos, antecedentes de neoplasias y/o terapia quimioterápica previa. La historia de episodios hemorrágicos puede estar asociado a casos de neoplasias mieloides con predisposición línea germinal y trastornos plaquetarios preexistentes.
- La sintomatología de la LMA suele ser diversa, podemos encontrar pacientes asintomáticos o que presentan síntomas inespecíficos tales como astenia, síndrome febril, sangrado, o síntomas en relación con las

citopenias, hiperleucocitosis y/o secundarias a infiltración de tejidos (mucosas, vísceras entre otros).

- Las alteraciones en el hemograma como citopenias, leucocitosis o la presencia de células inmaduras (blastos) sugieren el diagnóstico de LMA.

Ante la sospecha de LMA se deberá realizar los siguientes estudios:

2.2.1 Citomorfología convencional:

La citomorfología es fundamental para el diagnóstico, la evaluación de la respuesta y la detección de recaídas.

El recuento celular se debe realizar en al menos 200 leucocitos en el extendido de sangre periférica (SP) y en 500 células nucleadas en medula ósea (MO).⁽⁹⁻¹⁰⁾

Si el aspirado de medula ósea no es valorable, deberá realizarse una biopsia de medula ósea.

En algunos casos, puede sospecharse algunas alteraciones genéticas por sus características morfológicas como en la $t(15;17)(q22;q12)$, $t(8;21)(q22;q22)$, $inv(16)(p13.1q22)$ o $t(16;16)(p13.1;q22)$ y *NPM1* mutada.

Para el diagnóstico de LMA se requiere un recuento de blastos en SP y/o MO que vendrán determinados según la presencia o ausencia de alteraciones genéticas recurrentes, como se describirá más adelante⁽⁹⁻¹⁰⁾

2.2.2 Citometría de flujo multiparamétrica (CFM):

La CFM nos permite conocer y/o confirmar la estirpe celular, describir el patrón de expresión aberrante de determinados marcadores celulares. Ver tabla 1. ⁽⁹⁾ Además y de gran relevancia en la actualidad, se utiliza para realizar la evaluación de la enfermedad residual medible (ERM) ⁽⁹⁻²²⁾ cuando carecen de un marcador molecular específico (aproximadamente en el 40% de los pacientes con LMA). Esta técnica, proporciona una metodología cuantitativa para definir el estado de remisión; perfecciona la evaluación del riesgo de recaída posterior a la remisión e identifica recaídas inminentes.

TABLA 1. Expresión de marcadores de superficie celular y citoplasmáticos para el diagnóstico de LMA según las recomendaciones ELN 2022	
Marcador precursor.	CD34, CD117, HLA-DR
Marcador mieloide.	MPO citoplasmático, CD33, CD13
Marcadores maduración mieloide	CD11b, CD15, CD64, CD65
Marcadores monocíticos	CD14, CD36, CD64, CD4, CD38, CD11c
Marcadores megacariocíticos	CD41 (glicoproteína IIb/IIIa), CD61 (glicoproteína IIIa), CD36
Marcadores eritroides	CD235a (glicoforina A), CD71CD36

2.2.3 Pruebas genéticas:

El cariotipo, la hibridación in situ fluorescente (FISH), la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) cualitativa o cuantitativa y NGS, nos permiten realizar el diagnóstico, establecer el pronóstico biológico de la enfermedad y detectar marcadores moleculares para el seguimiento de la ERM en el 60 % de los pacientes. ⁽²²⁾

Las alteraciones cromosómicas en pacientes con LMA se detectan hasta en un 50% de los casos en el momento del diagnóstico.

Las recomendaciones actuales son las siguientes: ⁽⁹⁻¹⁰⁾

- Los resultados de la citogenética deben obtenerse preferiblemente dentro de los primeros 5 a 7 días del diagnóstico.

Se requieren al menos 20 metafases para definir un cariotipo normal, y recomendado para describir un cariotipo anormal.

- Las mutaciones genéticas requeridas para el diagnóstico y tratamiento que deberán tenerse dentro de los primeros 3-5 días son: *FLT3*, *IDH1*, *IDH2* y *NPM1*.

Durante el primer ciclo deberán informarse los resultados de las mutaciones en: *CEBPA*, *DDX41*, *TP53*; *ASXL1*, *BCOR*, *EZH2*, *RUNX1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *STAG2*, *U2AF1*, *ZRSR2*.

- Deberá obtenerse también dentro de estos primeros 3-5 días del diagnóstico el resultado de los genes de fusión: *PML::RARA*, *CBFB::MYH11*, *RUNX1::RUNX1T1*, *BCR::ABL1* y reordenamiento de *KMT2A*, entre otros.
- Los genes adicionales recomendados son: *ANKRD26*, *BCORL1*, *BRAF*, *CBL*, *CSF3R*, *DNMT3A*, *ETV6*, *GATA2*, *JAK2*, *KIT*, *KRAS*, *NRAS*, *NF1*, *PHF6*, *PPM1D*, *PTPN11*, *RAD21*, *SETBP1*, *TET2*, *WT1*.

Debido al advenimiento de terapias dirigidas, se ampliará los marcadores moleculares en función de la diana terapéutica disponible en ese momento. ⁽²³⁻²⁵⁾

Las técnicas de ERM Molecular incluyen: PCR cuantitativa y PCR digital, ⁽²⁶⁻²⁷⁾ pueden realizarse tanto en SP o en MO, aunque la sensibilidad en la sangre es generalmente inferior en comparación con la médula ósea. Las validaciones más sólidas en la actualidad y de práctica clínica habitual son para *NPM1* mutada, *CBFB::MYH11* y *RUNX1::RUNX1T1*. Las estrategias basadas en NGS actualmente carecen de estandarización como técnica independiente para la evaluación de ERM.

2.3. CLASIFICACIÓN

La primera clasificación de la LMA fue realizada en 1976, ⁽²⁸⁾ por el grupo francoamericano-británico (FAB), basada en criterios morfológicos e inmunohistoquímicos, en la cual se requería un recuento de al menos un 30% blastos en M.O para su diagnóstico, dividió la LMA en ocho categorías desde la M0 a la M7⁽²⁹⁻³⁰⁾. Ver tabla 2

TABLA 2. Clasificación de la LMA según la FAB.	
M0	LMA sin diferenciación
M1	LMA con mínima maduración
M2	LMA con maduración
M3	LMA promielocítica
M4	LMA mielomonocítica
M5	LMA monocítica y monoblástica
M6	Leucemia aguda eritroide - Eritroleucemia
M7	Leucemia aguda megacariocítica

En 2001 la Organización Mundial de la Salud (OMS) ⁽³¹⁾, propuso una nueva clasificación, en la cual incorporó alteraciones citogenéticas y moleculares, constituyendo entidades clínico-patológicas, manteniendo la clasificación de la FAB para las entidades sin mutaciones genéticas recurrentes. También se modificó el umbral blástico para el diagnóstico de LMA, pasando de requerir un recuento de 30% a establecer el dintel en 20% de blastos en MO/SP, a excepción de los casos en que presenten alteraciones genéticas recurrentes como

t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13.1q22), t(16;16)(p13.1;q22) y t(15;17)(q22;q12), que serían diagnósticos de LMA sin tener en cuenta el porcentaje de blastos.

Estas entidades han ido modificándose, debido al avance en el conocimiento del valor clínico de las alteraciones genómicas en el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad, desde la anterior publicación de la clasificación de la LMA de la OMS en el 2016 ⁽³²⁾ hasta su actualización más reciente, ⁽¹⁰⁾ así como la realizada por el consenso internacional /*European LeukemiaNet* (ELN) ⁽⁹⁾, las cuales fueron publicadas en paralelo, podemos ver importantes cambios en la clasificación de la LMA, en los algoritmos diagnósticos, en los factores pronósticos y en el tratamiento.

Uno de los principales cambios en ambas clasificaciones es el recuento de blastos necesario para el diagnóstico de la LMA con alteraciones genéticas recurrentes, ya que no es necesario el recuento >20% de blastos, a excepción de LMA con fusión t(9;22)(q34.1;q11.2)/*BCR::ABL1* y de la LMA con mutación *CEBPA* (esta última solo considerada en la clasificación de OMS).

Esta nueva versión de la OMS, continúa enfatizando en la integración de parámetros clínicos, moleculares/genéticos y en la importancia de la ERM. Divide la LMA en 2 grupos: LMA con alteraciones genéticas recurrentes y LMA definida por diferenciación (elimina el uso del término LAM NOS). Ver tabla 3.

A destacar de los principales cambios, en el grupo de LMA con alteraciones genéticas recurrentes, la incorporación de nuevas alteraciones y el nuevo subtipo de LMA con otras alteraciones genéticas definidas, creada para alteraciones nuevas y/o poco comunes que puedan convertirse en tipos definidos en futuras

ediciones. La LMA con cambios relacionados con mielodisplasia fue definida como LMA relacionada con mielodisplasia (LMA-RM), se eliminó los criterios morfológicos y actualizo los criterios citogenéticos para su diagnóstico. En esta edición también se crea la categoría de neoplasias mieloides secundarias, que abarca neoplasias mieloides post terapia citotóxicas y neoplasias mieloides asociadas con predisposición germinal.

TABLA 3. Clasificación de la LMA según la OMS 2022

LMA con alteraciones genéticas definidas	LPA con fusión <i>PML::RARA</i> LMA con fusión <i>RUNX1::RUNX1T1</i> LMA con fusión <i>CBFB::MYH11</i> LMA con fusión <i>DEK-NUP214</i> LMA con fusión <i>RBM15::MRTFA</i> LMA con fusión <i>BCR::ABL1</i> LMA con reordenamiento <i>KMT2A</i> LMA con reordenamiento <i>MECOM</i> LMA con reordenamiento <i>NUP98</i> LMA con <i>NPM1</i> mutado LMA con <i>CEBPA</i> mutado LMA relacionada con mielodisplasia LMA con otras alteraciones genéticas
LAM definida por diferenciación	LMA con mínima diferenciación LMA sin maduración LMA con maduración Leucemia basofílica aguda Leucemia mielomonocítica aguda Leucemia monocítica aguda Leucemia eritroide aguda Leucemia megacarioblástica aguda

En las recomendaciones de la reciente edición ELN del panel de expertos internacional,⁽⁹⁾ también continúan otorgando prioridad a las alteraciones genéticas definitorias de enfermedad, los principales cambios están en el grupo de neoplasia mieloide con predisposición línea germinal, y en el reconocimiento de nuevas alteraciones como recurrentes, así como el nuevo grupo de otras translocaciones recurrentes raras. A destacar, la eliminación de las categorías LMA con cambios relacionados con mielodisplasia y neoplasias mieloides relacionadas con la terapia, las cuales serán usadas como calificadoras, por lo que se clasifican como LMA con mutaciones genéticas relacionadas con mielodisplasia. Los casos restantes de LMA se clasifican como LMA no especificada de otro modo. Ver tabla 4

La Leucemia promielocítica aguda, cuyas características biológicas, clínicas y terapéuticas la convierten es un subtipo distinto de LMA, no será discutida en esta tesis.

TABLA 4. Clasificación de la LMA según el ICC-LMA2022

<p>LMA con alteraciones genéticas recurrentes. Si >10% de blastos en MO o SP.</p>	<p>LAP con t(15;17)(q24.1;q21.2)/<i>PML::RARA</i> LMA con t(8;21)(q22;q22.1)/<i>RUNX1::RUNX1T1</i> LMA con inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22)/<i>CBFB::MYH11</i> LMA con t(9;11)(p21.3;q23.3)/<i>MLLT3::KMT2A</i> LMA con t(6;9)(p22.3;q34.1)/<i>DEK::NUP214</i> LMA con inv(3)(q21.3q26.2) o t(3;3)(q21.3;q26.2)/<i>GATA2, MECOM(EVI1)*</i> LMA con otras traslocaciones recurrentes raras ** LMA con <i>NPM1</i> mutada LMA con in-frame bZIP <i>CEBPA</i> mutada*** LMA con t(9;22)(q34.1;q11.2)/<i>BCR::ABL1</i></p>
<p>LMA si >20% blastos en MO o SP o LMA/SMD, Si 10-19% blastos en MO o SP</p>	<p>LMA con <i>TP53</i> mutado LMA con mutación de genes relacionados con mielodisplasia. Definido por mutación en <i>ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, o ZRSR2</i> LMA con alteraciones citogenéticas relacionadas con mielodisplasia LMA no específica (NOS)</p>

*Otras traslocaciones recurrentes que involucran MECOM
LAM con t(2;3)(p11~23;q26.2)/*MECOM::?*; LAM con t(3;8)(q26.2;q24.2)/*MYC, MECOM*;
LAM con t(3;12)(q26.2;p13.2)/*ETV6::MECOM*;
LAM con t(3;21)(q26.2;q22.1)/*MECOM::RUNX1*

**Otras traslocaciones recurrentes raras:
LAM con t(1;3)(p36.3;q21.3)/*PRDM16::RPN1*; LAM con t(1;22)(p13.3;q13.1)/*RBM15::MRTF1*;
LAM con t(3;5)(q25.3;q35.1)/*NPM1::MLF1*; LAM con t(5;11)(q35.2;p15.4)/*NUP98::NSD1*;
LAM con t(7;12)(q36.3;p13.2)/*ETV6::MNX1*; LAM con t(8;16)(p11.2;p13.3)/*KAT6A::CREBBP*;
LAM con t(10;11)(p12.3;q14.2)/*PICALM::MLLT10*;
LAM con t(11;12)(p15.4;p13.3)/*NUP98::KMD5A*; LAM con *NUP98* y otras fusiones ,
LAM con t(16;21)(p11.2;q22.2)/*FUS::ERG*;
LAM con t(16;21)(q24.3;q22.1)/*RUNX1::CBFA2T3*;
LAM con inv(16)(p13.3q24.3)/*CBFA2T3::GLIS2*

***LMA con in-frame bZIP del gen *CEBPA*, ya sea monoalélica o bialélica.

2.4 FACTORES PRONÓSTICOS

El pronóstico de la LMA depende de múltiples factores:

Previos al tratamiento: la edad, enfermedades coexistentes y el estado funcional del paciente.

Una mayor edad en el momento del diagnóstico se asocia con una alta prevalencia de comorbilidad y un estado funcional inferior, son factores que aumentan el riesgo de toxicidad y muerte relacionada con el tratamiento y pueden limitar el tratamiento intensivo.

Las escalas pronósticas más utilizadas en la práctica clínica habitual son la escala ECOG (realizada por *Eastern Cooperative Oncology Group*) y índice de comorbilidad para Trasplante de células hematopoyéticas (HCT-CI). Ver Anexo 1 y 2. ^(3,33)

Posteriores al tratamiento: la respuesta al tratamiento de inducción, el número de ciclos para conseguir RC (1 ciclo vs 2 ciclos) y la enfermedad residual medible. ⁽²⁶⁻²⁷⁾

Al momento del diagnóstico: la cifra de la cifra de leucocitos alta ($>100 \times 10^9/L$), el antecedente de hemopatía previa y/o uso de tratamiento quimioterápico previo confieren un peor pronóstico.

El factor pronóstico más relevante, es la presencia o ausencia de alteraciones citogenéticas y moleculares, lo cual permite estratificar los pacientes con LMA de acuerdo con las directrices del grupo European LeukemiaNet (ELN) en 3 grupos pronóstico: favorable, intermedio y desfavorable. Esta clasificación

permite individualizar los tratamientos de consolidación según los diferentes grupos pronósticos.

Se observa diferencia en cuanto a las tasas de RC y de supervivencia global (SG) de los 3 grupos de riesgo: alcanzando RC entre un 80-90% y una SG >60% en el grupo de riesgo citogenético favorable, siendo esta RC hasta un 60%, en el grupo de riesgo citogenético desfavorable, con unas tasas de recaídas de hasta 70-90% y una SG < 15%. En el grupo citogenético de riesgo intermedio se observan tasas más variables de RC alrededor de 76-86%, tasas de recidiva hasta del 67% y una SG <40%.

El grupo de riesgo de pronóstico intermedio comprende casi el 50% de las LMA, es un grupo muy heterogéneo de pacientes, con importante variación entre ellos, en cuanto a la supervivencia libre de enfermedad (SLE), SG, resistencia al tratamiento y el riesgo de recidiva como se describió previamente ^(13,15-16,34-36)

Dado el mejor conocimiento de las implicaciones clínicas de las alteraciones genéticas y de la incorporación de dianas terapéuticas, ⁽³⁶⁻⁴⁴⁾ podemos ver la evolución en los cambios desde la clasificación pronóstica realizada en 2010, 2017 y en la más reciente en 2022. Los principales cambios de la clasificación de riesgo de la ELN 2022 fueron la eliminación de la ratio alélica de FLT3, la cual pasa al grupo pronóstico de riesgo intermedio, en cuanto a la mutación *CEPBA* se elimina requisito que sea mutación bialélica; se incluye al grupo de alto riesgo las mutaciones de *NPM1* si presenta alteraciones citogenéticas adversas asociada. Ver tablas 5-6-7

En términos generales el grupo de riesgo intermedio comprende mutaciones en *NPM1*, *FLT3*, t(9;11)(p21.3;q23.3)/ *MLLT3::KMT2A* y alteraciones citogenéticas no clasificadas como favorables o adversas.

La asignación inicial de riesgos puede cambiar durante el curso de tratamiento basado en los resultados clínicos y de los análisis de la ERM.

TABLA 5 Clasificación pronóstica de LMA según características citogenéticas/moleculares ELN 2010	
Grupo pronostico	Alteraciones citogenéticas / moleculares
Favorable	t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> <i>NPM1</i> mutado sin <i>FLT3-ITD</i> (CN) <i>Mutación de CEBPA</i> (CN)
Intermedio I	<i>NPM1</i> mutado y <i>FLT3-ITD</i> (CN) <i>NPM1</i> no mutado y <i>FLT3-ITD</i> (CN) <i>NPM1</i> no mutado y sin <i>FLT3-ITD</i> (CN)
Intermedio II	t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i> Alteraciones citogenéticas no clasificadas como favorables o adversas
Adverso	inv(3)(q21q26.2) o t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EVI1</i> t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i> t(v;11)(v;q23); reordenamiento de <i>MLL</i> 5/del(5q);- 7;abn(17p); Cariotipo Complejo
CN: Cariotipo normal	

TABLA 6 Clasificación pronóstica de LMA según características genéticas.

ELN 2017

Grupo pronóstico	Alteraciones citogenéticas / moleculares
Favorable	t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11 NPM1 mutado sin FLT3-ITD o con FLT3-ITD ratio bajo *(CN) CEBPA mutaciones bialélicas (CN)
Intermedio	NPM1 mutado y FLT3-ITD ratio alto* (CN) NPM1 no mutado y sin FLT3-ITD o con FLT3-ITD ratio bajo* (CN) t(9;11)(p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A Alteraciones citogenéticas no clasificadas como favorables o adversas
Desfavorable	inv(3)(q21q26.2) o t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1 t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214 t(v;11)(v;q23); reordenamientos de KMT2A(MLL) t(9;22) (q34.1;q11.2); BCR-ABL1 -5/del(5q); -7; abn(17p); Cariotipo complejo Cariotipo monosómico NPM1 no mutado y FLT3-ITD ratio alto* RUNX1 mutado ASXL1 mutado TP53 mutado

CN: Cariotipo normal

* Ratio FLT3-ITD con respecto a FLT3 wild-type. Bajo: <0.5. Alto ≥0.5.

TABLA 7 Clasificación pronóstica de LMA según características genéticas.

ELN 2022

Grupo pronóstico	Alteraciones citogenéticas / moleculares
Favorable	<p>t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB::MYH11</i> <i>NPM1</i> mutado sin <i>FLT3-ITD</i> <i>CEBPA</i> mutado <i>in-frame bZIP</i></p>
Intermedio	<p><i>NPM1</i> mutado y <i>FLT3-ITD</i> <i>NPM1</i> no mutado y con <i>FLT3-ITD</i> t(9;11)(p21.3;q23.3)/ <i>MLLT3::KMT2A</i> Alteraciones citogenéticas no clasificadas como favorables o adversas</p>
Desfavorable	<p>t(6;9)(p23;q34.1)/<i>DEK::NUP214</i> t(v;11q23.3)/ reordenamiento <i>KMT2A</i> t(9;22)(q34.1;q11.2)/<i>BCR::ABL1</i> t(8;16)(p11;p13)/<i>KAT6A::CREBBP</i> inv(3)(q21.3q26.2) o t(3;3)(q21.3;q26.2)/<i>GATA2, MECOM(EVI1)</i> t(3q26.2;v)/ reordenamiento <i>MECOM(EVI1)</i> -5 o del(5q); -7; -17/abn(17p) Cariotipo complejo Cariotipo monosómico. Mutaciones en <i>ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, o ZRSR2</i> <i>TP53</i> mutado</p>

Esta clasificación de riesgo continua en constante reevaluación, dado el aprendizaje continuo y amplio en la genómica de la LMA, los subconjuntos con patrones genéticos y moleculares de co-ocurrencia y exclusividad mutua, (Figura 1) que ayudan a redefinir las categorías de riesgo pronósticos.

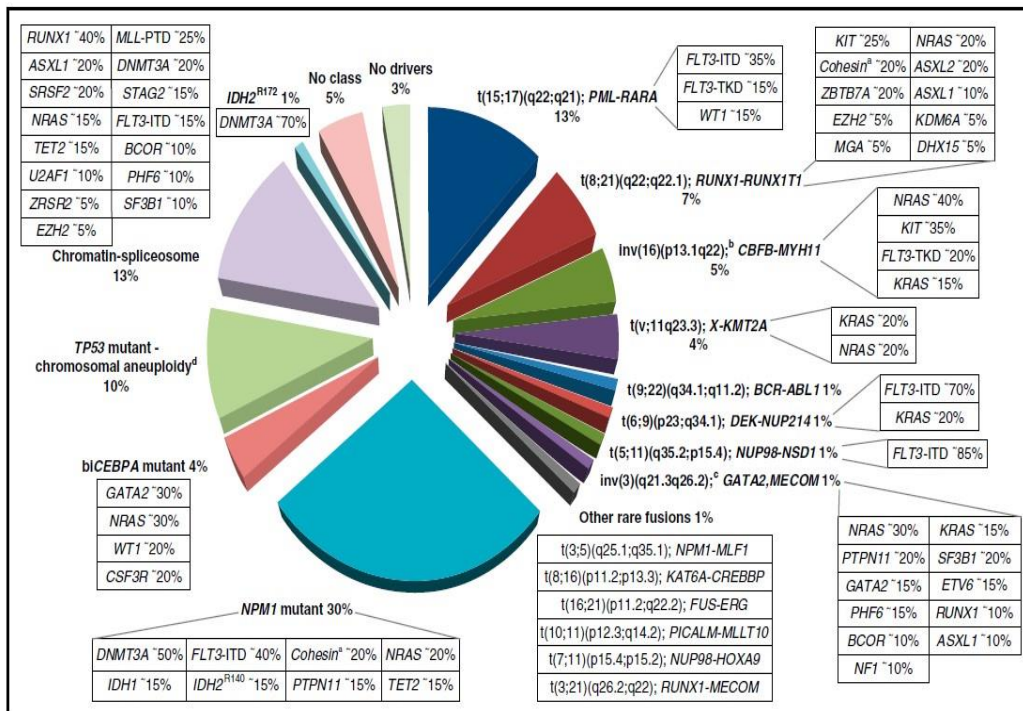


Figura 1. Clases moleculares de LMA y co-ocurrencia de mutaciones genéticas.

Adaptado de Grimwade D, Ivey A, Huntly BJ. Molecular landscape of acute myeloid leukemia in younger adults and its clinical relevance. *Blood*. 2016 (35)

Estas alteraciones se suelen agrupar también en categorías funcionales para abordar mejor el efecto fisiopatológico de los genes mutados: (12,15)

- Factores de transcripción implicados en genes de fusión: *CBFB-MYH11*, *RUNX1-RUNX1T1*.

- Factores de transcripción mieloides: *RUNX1*, *CEBPA*, *GATA2*.
- El gen de la *NPM1*.
- Genes supresores de tumores: *TP53*, *WT1*, *PHF6*.
- Genes modificadores epigenéticos:
 - Relacionados con la metilación del ADN: *DNMT3A*, *TET2*, *IDH1/2*.
 - Modificadores de la cromatina: *KMT2A*, *ASXL1*, *EZH2*.
- Genes de señalización celular: *FLT3*, *KIT*, *RAS*, *PTPN11* y *NF1*.
- Genes del complejo de las cohesinas: *STAG2*, *RAD21*, *SMC1A*, *SMC3*
- Genes del espliceosoma: *SF3B1*, *U2AF1*, *SRSF2*, *ZRSR2*, *U2AF2*,
PRPF8 y *LUC7L2*.

2.5 DESCRIPCIÓN DE LAS PRINCIPALES ALTERACIONES GENÉTICAS Y MOLECULARES DE LA LMA-RI

2.5.1 Mutaciones del gen *NPM1*

Es la alteración genética más común en la LMA, se detecta en un 30% de los pacientes con LMA y en más del 50% de los pacientes con cariotipo normal, además es frecuente su asociación con *DNMT3A* y *FLT3*.

La Nucleofosmina 1 (NPM1) es una proteína transportadora núcleo-citoplasmática multifuncional, que muestra una localización predominante nucleolar, ^(40,42) está ubicada en el cromosoma 5q35 y codifica un polipéptido de 32,6 kDa.

Las mutaciones consisten en la inserción de 4 pares de bases en el exón 12 (1% involucra a otros exones), ^(13,38) la mutación más frecuente es una inserción *frameshift* (TCTG, Tipo A) y altera el extremo C-terminal la pérdida de residuos de triptófano, generando una señal de exportación permanente del núcleo al citoplasma y su acumulación aberrante. ^(38,40)

Se han reportado más de 55 variantes de *NPM1* en LMA, ⁽⁴⁰⁾ siendo el 69 - 80% de las mutaciones de tipo A, seguida de las mutaciones tipo B y D.

La NPM1 participa en funciones celulares críticas, como la síntesis de ribosomas, ⁽⁴⁵⁾ la regulación de la duplicación del centrosoma, ⁽⁴⁶⁾ la reparación/replicación del ADN, ⁽⁴⁷⁻⁴⁸⁾ la regulación de la apoptosis y el control de la actividad de varias proteínas asociadas. ⁽⁴⁹⁾

2.5.2 Mutaciones del gen FLT3

El gen FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3), es otro de los genes más comúnmente mutados en LMA, ⁽⁵⁰⁾ con una frecuencia de alrededor del 30% de los pacientes. Está localizado en el cromosoma 13q12, codifica un receptor tirosina-quinasa tipo III, la cual participa en la regulación de la hematopoyesis, con un papel importante en la proliferación, supervivencia y diferenciación de la célula madre

pluripotencial, expresado en superficies de células progenitoras hematopoyéticas.

En condiciones fisiológicas, cuando el FLT3-ligando se une al dominio extracelular del receptor, este se dimeriza y se activa, lo que genera un cambio conformacional y de autofosforilación; produce así la activación de vías de señalización (STAT5, AKT/mTOR, Ras/MAPK) que conllevan el aumento de la proliferación celular con inhibición de la apoptosis y de la diferenciación. ⁽⁵¹⁾

Las mutaciones de *FLT3* son principalmente de 2 tipos: *FLT3*-ITD (duplicación interna en tándem) y *FLT3*-TKD (mutaciones puntuales del dominio tirosina-quinasa 2)

- Las mutaciones *FLT3*-ITD: presentan duplicaciones en tándem dentro del dominio yuxtamenbrana, son las más frecuentes (25-35%), especialmente en LAM con cariotipo normal, involucrando el exón 14 y a veces, parte del exón 15.
- Las mutaciones *FLT3*-TKD se producen con menor frecuencia, afectando sobre todo los codones 835 ó 836 del dominio tirosina quinasa, en el exón 20. ⁽⁵²⁻⁵³⁾

Los pacientes con LMA con *FLT3*-ITD mutada se caracterizan por presentar leucocitosis y alto recuento de blastos.

El papel pronóstico de las mutaciones *FLT3*-TKD está mucho más cuestionada,⁽⁵⁹⁾ aunque alguna de ellas suponen un mecanismo de resistencia al tratamiento con algunos inhibidores (Ej. N676K: resistencia a midostaurina)⁽⁵⁴⁾

Actualmente, existen varios inhibidores de *FLT3*: midostaurina, sorafenib (de primera generación, tipo I y II respectivamente) y gilteritinib, crenolanib, y quizartinib (segunda generación, tipo I y II quizartinib).

2.5.3 Reordenamiento *KMT2A-MLLT3*:

Los reordenamientos recurrentes balanceados que involucran la lisina metiltransferasa 2^a (*KMT2A*), también conocido como el gen *MLL*, se encuentra en el cromosoma 11 (11q23) y codifica una histona H3 lisina 4 metiltransferasa, la cual regula la transcripción de genes mediante unión a regiones promotoras y metilación de histonas, controlando así la expresión de genes, como el gen *HOXA*, implicados en proliferación y diferenciación celular.⁽⁵⁵⁾

Presentes entre el 3% y el 7% de los pacientes adultos con LMA de “novo”⁽⁵⁶⁾ y en 15 % de los pacientes con LMA relacionada con el tratamiento.⁽⁵⁷⁾

El pronóstico del paciente está dado por el compañero de fusión.

La LMA con reordenamiento *KMT2A* es el nuevo término que reemplaza la LMA con t(9;11)(p22;q23); *KMT2A-MLLT3*. Más de 80 fusiones *KMT2A* se han descrito con *MLLT3*, *AFDN*, *ELL* y *MLLT10*. Suele debutar con un alto recuento de blastos, con diferenciación monocítica.

Siguiendo las recomendaciones de la ELN, deben informarse otras translocaciones recurrentes que involucren a *KMT2A* como:

- LMA con t(4;11)(q21.3;q23.3)/*AFF1::KMT2A*
- LMA con t(6;11)(q27;q23.3)/*AFDN::KMT2A*
- LMA con t(10;11)(p12.3;q23.3)/*MLLT10::KMT2A*
- LMA con t(10;11)(q21.3;q23.3)/*TET1::KMT2A*
- LMA con t(11;19)(q23.3;p13.1)/*KMT2A::ELL*
- LMA con t(11;19)(q23.3;p13.3)/*KMT2A::MLLT1*

2.5.4 Mutaciones en *DNMT3A*

El gen *DNMT3A* (*DNA metiltransferasa 3 A*) es un miembro de la familia de la ADN metiltransferasa, que incluye *DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B* y *DNMT3L*, que cataliza la metilación del ADN de novo de grupos metilo en residuos citosina dentro de islas CpG del ADN. Está localizado en el cromosoma 2 (2p23). Las mutaciones dan lugar a una pérdida de función de la proteína.

Se han descrito mutaciones a lo largo de toda la secuencia codificante del gen, sobre todo en el exón 23 de *DNMT3A*. La mutación en el codón R882 es la más frecuente en pacientes con LMA, ^(12,58-59) y está relacionada con la resistencia a tratamiento con antraciclinas. ⁽⁶⁰⁾

Está presente en el 20- 30% de los casos de LMA, siendo más frecuente en pacientes de edad avanzada y con cariotipo normal. ^(12,61)

Las mutaciones en *DNMT3A* con frecuencia coexisten con mutaciones en *NPM1* y *FLT3-ITD*.⁽⁶²⁾

Normalmente persiste durante la RC de la enfermedad por lo que pierde su interés como marcador de supervivencia o de EMR.

2.5.5 Mutaciones de *IDH1* y *IDH2*:

Los genes Isocitrato deshidrogenasa 1 y 2 (*IDH 1 /2*) se localizan en los cromosomas 2 (2q33.3) y 15 (15q26.1) respectivamente, codifican para las proteínas isocitrato deshidrogenasa 1 y 2. Son enzimas del ciclo de Krebs, encargadas de la conversión de isocitrato a α -cetoglutarato.⁽⁶³⁻⁶⁵⁾

IDH1 se localiza en el citoplasma y en peroxisomas y *IDH2* se localiza en la mitocondria.

Las mutaciones en *IDH1* están presentes entre el 5%–10% y las de *IDH2* en un 5%– 20% de los pacientes con LMA de reciente diagnóstico. Las mutaciones de *IDH2* son más frecuentes en pacientes de edad avanzada, sobre todo la mutación R172.

Las mutaciones en estos genes se describieron inicialmente en gliomas y posteriormente en LA *de novo* y son infrecuentes en otros tumores.

Estas mutaciones son mutuamente excluyentes, así como son excluyentes de las mutaciones en *TET2*.⁽¹³⁾

Están asociados frecuentemente a trisomía 8 y LMA de cariotipo normal⁽⁶⁶⁾

Aunque numerosos informes han estudiado las mutaciones en los genes IDH1/IDH2 o DNMT3A, la evidencia actual aún no justifica su asignación a un grupo pronóstico específico, pero dada la incorporación de inhibidores específicos en el tratamiento de la LMA como son enasidenib e ivosidenib, con acción anti-IDH2 y anti-IDH1, respectivamente ⁽⁶⁷⁻⁶⁸⁾ y la frecuente asociación con las alteraciones genéticas/moleculares de los pacientes con riesgo intermedio las comento brevemente.

2.6 TRATAMIENTO

El tratamiento de inducción a la remisión con intención curativa en los pacientes con LMA consiste en la combinación de 2 agentes quimioterápicos: una antraciclina administrada durante 3 días (daunorrubicina o idarrubicina) y citarabina administrada durante 7 días, comúnmente denominado esquema 3+7⁽³⁾

Después de obtener la remisión completa durante esta primera fase, se pasa a la fase de consolidación, que pretende mantener esta respuesta y evitar la recaída. Se administra un primer ciclo de tratamiento con citarabina y posteriormente según el perfil de riesgo citogenético y molecular continuarán el tratamiento; así los pacientes del grupo de riesgo favorable continuarán con ciclos de quimioterapia basada en citarabina a dosis altas, ⁽⁶⁹⁻⁷¹⁾ los pacientes del grupo de riesgo desfavorable deberán recibir trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH).

En cuanto a los pacientes del grupo de riesgo intermedio, normalmente el tratamiento suele ser el mismo al grupo de riesgo desfavorable con la necesidad

de recibir TPH, pero cada vez es más controvertido el papel del TPH en algunos subgrupos. ⁽³⁾

Debido a los avances en los últimos años, e intentando mejorar las tasas de RC de la enfermedad y disminuir las recaídas, al esquema 3+7, se pueden adicionar fármacos de terapia dirigida según las alteraciones moleculares presentes en el paciente, ejemplos de estas dianas terapéuticas están la midostaurina, (inhibidor de la tirosina quinasa 3 FLT3); ivosidenib o enasidenib, o gemtuzumab ozogamicina (un anticuerpo monoclonal dirigido contra CD33).

Otras dianas terapéuticas están en estudio, así como diferentes combinaciones terapéuticas que incluyen en la mayoría de los casos citarabina en diferentes presentaciones, con o sin idarrubicina. ⁽⁷²⁻⁷³⁾

Durante décadas y a pesar de la heterogeneidad de la LMA y de los grandes avances en el conocimiento biológico de la LMA en los últimos años, la citarabina sigue siendo el Gold estándar del tratamiento tanto en inducción como en la consolidación en esta patología, por lo que esta tesis centrará el estudio en este fármaco.

2.6.1 CITARABINA

La citarabina o Ara-C pertenece a los análogos de pirimidina, llamados antimetabolitos. Aunque se desconoce el mecanismo de acción específico, se cree que el metabolito activo ara-CTP compite con el sustrato fisiológico de esta enzima la desoxicitidina 5'-trifosfato (dCTP), se incorpora así al ADN, como un falso precursor e inhibe la síntesis de ADN, con el consiguiente bloqueo del ciclo

celular de G1 a la fase S y posterior muerte celular, también disminuye la velocidad de elongación de la cadena de ADN y puede inhibir a la transcriptasa inversa: ⁽⁷⁴⁻⁷⁵⁾

La citarabina se metaboliza principalmente en el hígado, pero también en los riñones, en la mucosa del tracto gastrointestinal, en los granulocitos y, en menor medida, en otros tejidos; se distribuye rápida y ampliamente a los tejidos y fluidos, incluyendo hígado, plasma y granulocitos periféricos.

Dada la corta semivida y la rápida inactivación plasmática de la citarabina, diferentes estudios se han realizado para validar los diferentes esquemas de infusión y dosis en la práctica clínica: dosis baja como las usadas en la inducción (200 mg/m²), dosis estándar (100 a 200 mg/m² diarios, administración de manera intermitente o infusión continua durante 5 a 10 días, donde alcanza concentraciones plasmáticas en el rango de 0,1 a 0,5 M) dosis intermedia (1000 mg/m² para cada dosis) y dosis altas usadas en la consolidación (1-3 g/m², consiguiendo concentraciones máximas de 100 M). ^(69, 76-84)

2.6.2 METABOLISMO DE LA CITARABINA.

2.6.2.1 ENZIMAS CLAVE DE LA VÍA DE METABOLIZACIÓN DE LA CITARABINA.

El 80% del flujo de entrada de citarabina a dosis bajas, esta mediado por los transportadores de nucleósidos de equilibrio humano 1 (hENT1) codificados por el gen SLC29A1, así como por hENT2 codificado por el gen SCL29A2, ⁽⁸⁵⁻⁹¹⁾ y por el transportador humano concentrativo de nucleósidos hCNT3 codificado por el gen SLC28A3. ^(84,92-94)

Los mecanismos de salida de la citarabina están regulados por proteínas transportadoras transmembrana de la familia ABC, también llamada familia de proteínas humana asociadas a la resistencia a múltiples fármacos (MRP), a nombrar, ABCC10 (MRP7) y ABCC11 (MRP8).

Además, la citarabina ingresa por difusión libre cuando se usa a dosis altas. ^(3,85)

Una vez la citarabina está dentro de la célula, requiere activación para su acción citotóxica, dado que es un profármaco, esta activación se realiza por medio de tres fosforilaciones, la primera por medio de la enzima desoxicitidina quinasa (DCK), que metaboliza Ara-C a monofosfato de citarabina (ara-CMP), encargada así de limitar la velocidad en la activación.

Posteriormente, se convierte en difosfato de citarabina (ara-CDP) por la enzima citidina monofosfato quinasa 1 (CMPK, codificada por el gen *CMPK1*) y finalmente, se transforma en su metabolito activo, el trifosfato citarabina (AraCTP) por la enzima nucleósido difosfato quinasa 1 (NDPK, codificada por el gen *NME1*) ^(84,95)

El catabolismo o inactivación de la citarabina se realiza a través de procesos de desaminación y de desfosforilación. El proceso de desaminación involucra 2 enzimas: la citidina deaminasa (CDA) y la desoxicitidilato desaminasa (dCMP), y el de desfosforilación es realizado por enzimas de la familia 5' nucleotidasas citosólicas (NT5C).

La principal enzima inactivadora de la citarabina es la CDA, involucrada en el mantenimiento de la reserva de nucleótidos de pirimidina dentro de la célula, responsable de la desaminación irreversible a metabolito inactivo uracilo arabinósido (Ara-U), por lo tanto, limita la cantidad de Ara-C para ser convertido en su forma activa. ⁽⁹⁶⁻⁹⁷⁾

La dCMP codificada por el gen *DCTD*, realiza la desaminación de ara-CMP a monofosfato de arabinósido de uracilo (Ara-UMP). ⁽⁹⁸⁾

Las enzimas 5' nucleotidasas II y III citosólicas (NT5C2 y NT5C3), son enzimas que catalizan la desfosforilación de los fosfatos ribonucleósidos y desoxirribonucleósidos. La función de NT5C2 se opone a la función de DCK, ya que desfosforila el ara-CMP, evitando así la producción de ara-CTP. ⁽⁹⁹⁻¹⁰¹⁾

La enzima ribonucleótido reductasa (RR), codificada por los genes *RRM1* y *RRM2*, controla la cantidad de trifosfato de desoxicitidina disponible.

En la figura 2, podemos observar las vías metabólicas de la citarabina

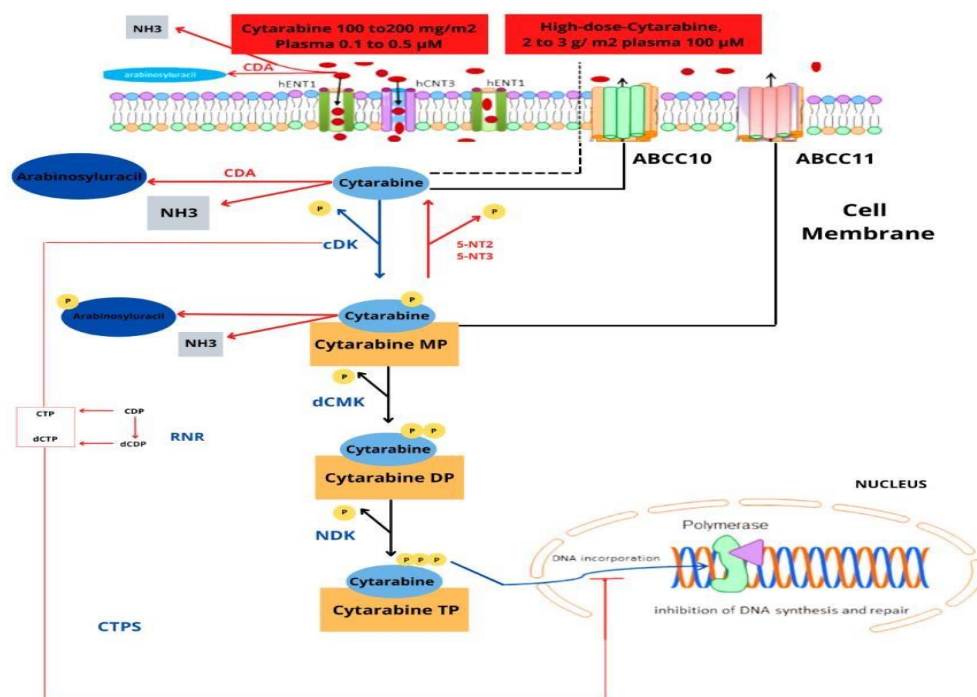


Figura 2. Vías metabólicas de la citarabina. Adaptado *Di Francia R, y colaboradores.. Response and Toxicity to Cytarabine Therapy in Leukemia and Lymphoma: From Dose Puzzle to Pharmacogenomic Biomarkers. Cancers (Basel). 2021* ⁽¹⁰²⁾

Más recientemente, se ha sugerido que la glucuronidación puede estar involucrada en el mecanismo de eliminación de Ara-C en pacientes con LMA, específicamente por la subfamilia de enzimas UGT1A (UDP-glucuronosil transferasas) ⁽¹⁰³⁻¹⁰⁴⁾

Si recordamos las enzimas que catalizan la oxidación, reducción e hidrólisis de fármacos se clasifican como enzimas metabolizadoras de fármacos de fase I, las enzimas que catalizan reacciones de conjugación como la glucuronidación, la sulfatación y el glutatión se clasifican como de fase II.

La glucuronidación mediada por enzimas UGT, tiene lugar principalmente en el hígado y cataliza la transferencia de ácido glucurónico al átomo de oxígeno, nitrógeno o azufre de sus sustratos, es decir transferencia de ácido glucurónico desde un cosustrato de ácido UDP-glucurónico a sustratos, ⁽¹⁰⁵⁾ modificando su actividad en diversos tejidos, transformando compuestos lipofílicos en derivados hidrosolubles para su posterior eliminación.

La familia de enzimas UGT están presentes en muchos tejidos, al catalizar la glucuronidación, juegan un papel clave en la eliminación de compuestos endógenos, como hormonas esteroideas, ácidos biliares, hormonas tiroideas y de sustancias químicas exógenas, como toxinas y fármacos, entre ellas la citarabina, estas enzimas han sido reconocidas como las principales enzimas metabolizadoras de fármacos, ⁽¹⁰⁶⁾ ya que más del 20% de los fármacos de uso clínico están glucuronizados por UGT.

Hay nueve enzimas funcionales: UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A5, UGT1A6, UGT1A7, UGT1A8, UGT1A9 y UGT1A10, codificadas por el gen *UGT1*, ubicado en el cromosoma 2 (2q37). Las enzimas de la familia UGT1 y UGT2 están involucradas principalmente en la glucuronidación de fármacos.

La enzima UGT1A1 es la más estudiada. Se han informado 2 polimorfismos funcionales de un solo SNP en *UGT1A1* (*UGT1A1*28* rs8175347) y *UGT1A1*6* (rs4148323) que conducen a una disminución en la actividad de glucuronidación.

*UGT1A1*6* es una variante sin sentido (Gly71Arg) en el exón 1 que conduce a la disminución de la función de la enzima UGT1A1, frecuente principalmente en población asiática, siendo poco prevalente en la población caucásica.

La isoforma 1A1 de UGT (*UGT1A1*), es el miembro más abundante de la familia UGT1A, y se expresa principalmente en el hígado. Es la principal isoforma que media la glucuronidación de la bilirrubina, el cual se ha asociado con el síndrome de Gilbert ⁽¹⁰⁷⁾ y con el metabolismo lento del metabolito activo del irinotecán el SN-38, ⁽¹⁰⁸⁻¹¹¹⁾ deferasirox, ⁽¹¹²⁾ telmisartán, ⁽¹¹³⁻¹¹⁴⁾ idasanutlin (medicamento usado en ensayo clínico para LMA refractaria/recidivante) entre otros. ⁽¹¹⁵⁾

Los polimorfismos del gen *UGT1A1*, en particular, el alelo *UGT1A1*28/*28*, está asociado con una expresión del gen disminuida y menor eficacia de su capacidad de glucuronidación, lo que resulta en la acumulación de fármaco tras exposición a irinotecán y riesgo alto de toxicidad, especialmente neutropenia grave. ⁽¹¹⁶⁻¹¹⁹⁾

Lo que ha hecho que guías como la holandesa, italiana y francesa, ⁽¹²⁰⁻¹²²⁾ recomienden el cribado pretratamiento, así como reducir la dosis de irinotecán para los portadores *UGT1A1*28* homocigóticos dado el riesgo de toxicidad ⁽¹²³⁻¹²⁴⁾

Zahreddine y colaboradores en 2014 ⁽¹⁰³⁾ informó por primera vez que Ara-C podría ser inactivada a través de la glucuronidación. Describiendo cómo el factor

de transcripción sonic hedgehog Glioma asociado a la proteína 1 (Gli1), puede impulsar la glucuronidación de Ara-C dependiente de UGT1A, por lo tanto, la resistencia a los medicamentos.

Posteriormente Chen y colaboradores en 2019, valoraron la asociación de polimorfismos *UGT1A1* con la respuesta clínica a Ara-C y el pronóstico de pacientes con LMA de “novo” en paciente asiáticos, donde se observó que los alelos *UGT1A1**28 tenían disminución del riesgo de no RC después de uno y dos cursos de quimioterapia de inducción basada en Ara-C, sin diferencias en cuanto a RC y mejor SG en portadores de *UGT1A1**28, o portadores de al menos uno de los alelos *UGT1A1**28. Aunque los resultados fueron no concluyentes por la menor frecuencia alélica del polimorfismo *UGT1A1**28. ⁽¹⁰⁴⁾

2.6.2.2 Polimorfismos que afectan la vía metabólica de la citarabina.

La gran variabilidad interindividual en las tasas de RC, recaída y toxicidad, durante el tratamiento con citarabina, no podría explicarse sólo por alteraciones citogenéticas y moleculares, ⁽³⁾ por lo que en los últimos años y gracias a la incorporación de la farmacogenómica en el estudio de la LMA, ha cobrado importancia el efecto de la variabilidad en genes que codifican los transportadores y las enzimas responsables de la biotransformación de Ara-C con la respuesta y toxicidad a la citarabina. ⁽¹²⁵⁻¹²⁶⁾

Las variables genéticas más frecuentes en la población general son los polimorfismos genéticos, presentes en al menos 1%. Los polimorfismos de un solo nucleótido (*single nucleotide polymorphism* SNPs), generan cambios en la

secuencia de aminoácidos de la proteína que modifican la actividad enzimática y la estabilidad de esta, lo que se traduce en alteraciones funcionales y/o en la expresión del gen, que podría impactar en el metabolismo de medicamentos.

La información sobre la frecuencia y principales SNPs involucrados en el metabolismo de Ara-C, están mejor descritos a raíz de los avances en el proyecto Genoma Humano, el Proyecto Internacional HapMap, ^(12,101,127) estudios de asociación del genoma completo y por diferentes grupos interesados en la farmacogenómica, lo que nos ha permitido intuir determinados fenotipos en relación a la metabolización de este fármaco, fenotipos de pacientes metabolizadores rápidos o lentos según la presencia o ausencia del SNPs, estas variantes genéticas asociadas con un fenotipo de respuesta o toxicidad a la citarabina han aparecido como prometedores predictores de pronóstico o toxicidad de este fármaco, pero hasta el momento no se ha llegado a un consenso sobre su utilidad en pacientes con LMA. ^(95-98,129-131)

2.6.2.3 Principales polimorfismos que afectan a enzimas metabolizadoras de citarabina.

Las variaciones genéticas de SLC29A1, ⁽¹³²⁻¹³³⁾ y hENT1, ^(91,134-136) han sido estudiados principalmente en población asiática, como un marcador potencial de la respuesta de pacientes con LMA tratados con Ara-C, con poca relevancia en

población caucásica dada la baja frecuencia de variabilidad alélica de estos polimorfismos.

Varios polimorfismos en ABCB1 han sido descritos en población no caucásica,⁽¹³²⁾ Gréen y colaboradores en 2012 ⁽¹³⁷⁾ realizaron un estudio prospectivo en población europea, donde describió como el SNP rs1128503 estaba implicado con la mejoría de la respuesta.

Diferentes polimorfismos DCK se han identificado en relación a la sensibilidad de la citarabina en pacientes con LMA, ^(93,138-139) pero con grandes limitaciones dadas las diferencias poblacionales y las frecuencias alélicas, ⁽¹⁴⁰⁻¹⁴²⁾ además de la importante variabilidad en la actividad y la expresión de DCK descrita entre células normales, células malignas así como en diferentes tejidos, ⁽¹⁴³⁾ lo cual limita la valoración de los resultados y la reproducibilidad en los diferentes estudios en población caucásica. ^(133,136,141,144-145)

Mejias Vericat y colaboradores ⁽⁹⁸⁾ describen como pacientes con el alelo variante de *DCK* rs2306744 obtuvieron mayor tasa de RC, y los alelos menores de *DCK* rs2306744 y rs4694362 se asociaron con mucositis y trombocitopenia, en un estudio realizado en 225 pacientes adultos diagnosticados de LMA que recibieron Ara-C

No se ha descrito ningún polimorfismo con correlación clínica significativa en los genes *CMPK* y *NDK*.

Algunos estudios relacionados con los niveles elevados de expresión de *NME1*, están asociados con la resistencia a la citarabina y una reducción de la SG en pacientes con LAM, ⁽¹⁴⁶⁾ así como mayor riesgo de neurotoxicidad. ⁽¹⁴⁷⁾

Diversos SNP dentro de los genes *RRM1* y *RRM2* se han evaluado en pacientes con LAM, los cuales mostraron tasas más bajas de RC y menor SG, ⁽¹⁴⁸⁾ así como menor SLE en el subgrupo caucásico. ⁽⁹³⁾ Otros polimorfismos en *RRM1*, no fueron relacionados con los resultados de LMA. ⁽¹³⁶⁾

Los polimorfismos de la enzima CDA se han relacionado con toxicidad y respuesta clínica a la citarabina en pacientes con LMA. ^(98,106,133-136,145,149-154)

Su sobreexpresión se asocia comúnmente con la resistencia al tratamiento y la recaída, ⁽¹⁵⁵⁻¹⁵⁶⁾ mientras que la baja actividad de la enzima CDA puede estar relacionada con diversas toxicidades ⁽⁶⁵⁾ y con remisión. ^(95,151, 155)

Cabe destacar los siguientes polimorfismos en el gen CDA: 79A>C rs2072671, 208G>A rs60369023, 435T>C rs1048977, haplotipo A-C-C definido por 92A>G rs602950, 451C>T rs532545) y 897C>A rs10916823, relacionados con actividad enzimática, con resultados diversos en cuanto a tasas de RC, SG y toxicidad.

^(95,152-153,157-159)

La enzima NT5C2 se expresa en todos los tejidos humanos y actúa opuesta al DCK al desfosforilar ara-CMP, por lo que limita la producción de ara-CTP. ^(91,101, 160-161) Su sobreexpresión está relacionada con resistencia a la citarabina y SG en pacientes con LMA. ^(91,100, 161-162)

La relevancia clínica de NT5C2 también se ha descrito en otras neoplasias malignas, asociado con recaída de leucemia linfoblástica aguda (LLA) ⁽¹⁶³⁻¹⁶⁵⁾ y con recaída de leucemia promielocítica aguda (LPA) después del tratamiento con 6-mercaptopurina (6-MP).

Dieck y colaboradores, ⁽¹⁶⁵⁾ han sugerido el aumento de la actividad de la nucleotidasa como resultado de la alteración de los mecanismos de activación y autorregulación, lo que da como resultado la desfosforilación e inactivación de los metabolitos citotóxicos de los análogos de nucleósidos de purina 6-MP y 6tioguanina, que confiere resistencia a 6-MP y conduce a la progresión durante el tratamiento. El estudio describe polimorfismos en hasta el 20 % de los casos de LLA-T recidivantes y en el 3-10 % de los casos de LLA-B recidivantes. ⁽¹⁶⁶⁾

Posteriores estudios de asociación genética de supervivencia libre de enfermedad en 154 pacientes con LMA de ascendencia europea, mostraron que los alelos variantes de NT5C2 7A>C rs10883841, 6211C>T rs11191547, 9860C>T rs11191549, 104851396G>T rs11191553, 113+4808A>G rs10883836 y 3269C>T rs7095304, se asociaron con SLE en caucásicos, ⁽⁹³⁾ y para 103261506G>A rs1163075, el alelo ancestral demostró niveles más altos de expresión de NT5C2 y se asoció con la citotoxicidad de Ara-C⁽¹⁰¹⁾ Sin embargo,

otros estudios no obtuvieron resultados significativos en la LMA ^(136,151) Algunos estudios analizaron los SNPs de *NT5C3* en pacientes con LMA, ^(100,167) sin resultados significativos para la mayoría de los polimorfismos analizados ^(95,133)

Solo un estudio analizó los polimorfismos de *CTPS* en pacientes con LMA (rs4132440 y rs12144160), sin ninguna asociación significativa ⁽¹³⁶⁾

El polimorfismo UGT1A1*28 (rs8175347) se caracteriza por una inserción (TA) de 2 pb en la región promotora (caja TATA) del gen *UGT1A1* y se ha correlacionado con una actividad de la enzima UGT1A1 significativamente menor. El alelo dominante (UGT1A1*1) contiene seis repeticiones [A(TA)6TAA], mientras que el alelo variante (UGT1A1*28) tiene siete [A(TA)7TAA]. Los individuos homocigotos para UGT1A1*28 [genotipo variante (TA7/TA7)] presentan un metabolismo pobre de metabolitos intermedios ya que presentan una reducción del 80% de la actividad enzimática de UGT1A1, mientras que los heterocigotos (TA6/TA7) muestran actividad enzimática intermedia.

Además, la asociación de género y glucuronidación ya ha sido descrita ^(109,111) se sabe que los fármacos metabolizados por enzimas de fase II (glucuronil transferasas, metiltransferasas y deshidrogenasas) suelen ser depurados más rápido en hombres que en mujeres. ⁽¹⁶⁸⁾ Se ha descrito anteriormente que los hombres tienen una eliminación de Ara-C significativamente más rápida que las mujeres. ⁽¹⁶⁹⁾

La relevancia del ambiente hormonal se ha explorado para justificar estas diferencias entre hombres y mujeres, Jeong y colaboradores describieron cómo los niveles de progesterona, pero no los de estrógeno, se asocian con una mayor expresión y actividad de las UDP glucuronosiltransferasas, lo que sugiere que la regulación hormonal influye en la eliminación de enzimas de fase II de varias drogas, particularmente en el embarazo. ⁽¹⁷⁰⁾

2.6.3 TOXICIDAD RELACIONADA CON LA CITARABINA

El perfil de toxicidad de la citarabina es amplio:

1. **Toxicidad hematológica:** la leucopenia y la trombocitopenia ocurren entre los días 7 y 14 después de la administración del fármaco.
2. **Toxicidad gastrointestinal:** por lo general se manifiesta como una mucositis leve a moderada y diarrea. Ocasionalmente se ha notificado pancreatitis aguda en pacientes que reciben perfusión continua. ⁽¹⁷¹⁾
3. **Toxicidad cutánea:** caracterizada por eritema, exantema, prurito, erupción acneiforme o erupción maculopapular. Las erupciones cutáneas suelen ir seguidas de fiebre.
4. **Síndrome de citarabina:** puede ocurrir dentro de las 12 h posteriores al inicio de la infusión de la citarabina, se caracteriza por aparición de fiebre, erupción maculopapular, queratoconjuntivitis, mialgia, artralgias, dolor óseo, y dolor torácico ocasional ⁽¹⁷²⁾
5. **Toxicidad hepática:** hiperbilirrubinemia presente en más del 10% de los pacientes.

6. **Toxicidad ocular:** lagrimeo excesivo, fotofobia, ardor ocular, dolor, visión borrosa, conjuntivitis, hemorragia conjuntival, queratitis, ojo seco, entre otros.
7. **Infecciones:** puede afectar a dos tercios de los pacientes que contribuyen a una tasa de mortalidad relacionada con el tratamiento de aproximadamente 5%
8. **Toxicidad cerebelosa aguda:** se manifiesta como disartria con ataxia troncal y de la marcha o, con menos frecuencia, como síndrome cerebral manifestándose como encefalopatía, psicosis, convulsiones y coma. Presente en 12% del total de pacientes, pero se eleva aproximadamente al 30% en pacientes mayores de 60 años, 40% de los cuales pueden quedar con una discapacidad permanente. ⁽¹⁷³⁾

3. HIPÓTESIS

El tratamiento intensivo de la LMA está basado en la citarabina, con el cual se obtienen altas tasas de RC, pero destaca una elevada morbimortalidad por la toxicidad y tasas elevadas de recaídas. Estas diferencias son más destacables en el grupo LMA-RI dada la heterogeneidad de este grupo, por lo cual hace necesario intentar determinar otros marcadores y lograr redefinir este grupo.

La determinación de fenotipos en relación con el metabolismo de la citarabina en pacientes con LMA, podría definir pacientes metabolizadores rápidos o lentos de este fármaco, según la presencia de polimorfismos genéticos de las enzimas responsables de la biotransformación de la citarabina, lo cual podría predecir la toxicidad y eficacia del tratamiento, con impacto en la supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad.

Si esto se confirma podríamos individualizar la dosis de la citarabina, administrando dosis más altas a las personas con patrón de metabolización rápida para evitar la recaída y dosis más bajas a pacientes con metabolismo lento evitando toxicidad, avanzando así hacia un tratamiento personalizado y ajustado al riesgo.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo principal:

Determinar retrospectivamente si las variaciones genéticas de los genes implicados en el metabolismo de la citarabina impactan sobre la supervivencia global de los pacientes con LMA-RI tratados con quimioterapia estándar que contiene citarabina.

4.2 Objetivos secundarios:

- a. Describir la distribución de los polimorfismos de Citidina deaminasa (CDA) 79A>C (rs2072671) y -451C>T (rs532545), 5'-nucleotidasa (NT5C2) 7A>G (rs10883841) y UGT1A1 (rs8175347) en una cohorte homogénea de pacientes con leucemia mieloide aguda de riesgo intermedio.

- b. Determinar la asociación entre los polimorfismos de los genes mencionados y la tasa de respuesta, recaídas o de muerte por toxicidad relacionada con el tratamiento.

5. PACIENTES Y METODOS

5.1 PACIENTES

Estudio retrospectivo de muestras de médula ósea de pacientes diagnosticados de LMA-RI de novo y tratados de forma homogénea con los protocolos del grupo Cooperativo CETLAM.

Todos los pacientes fueron considerados LMA de riesgo intermedio (LMA-RI) según la clasificación citogenética del ELN 2010.

Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito de acuerdo con la Declaración de Helsinki. El Comité Ético del Hospital Dr. Josep Trueta, Girona, aprobó el estudio.

5.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Pacientes con edad inferior o igual a los 70 años, con LMA-RI de nuevo diagnóstico, clasificada según los criterios de la OMS, que recibieron tratamiento según protocolo CETLAM LAM03 o LAM12.

5.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- a. Pacientes LMA riesgo citogenético favorable y desfavorable.
- b. Pacientes LMA-RI tratados con otros esquemas de tratamiento distintos a los protocolos CETLAM LMA03 y LMA12.
- c. Leucemia promielocítica aguda con t(15;17), crisis blástica de la leucemia mieloide crónica, leucemias que aparecen después de síndromes mieloproliferativos crónicos, de SMD de más de 6 meses de evolución o

LMA secundarias aparecidas después de enfermedades malignas curadas (p. ej. enfermedad de Hodgkin) y aquéllas que sigan a la exposición a agentes alquilantes o a radiaciones.

- d. Presencia de otras enfermedades neoplásicas en actividad.
- e. Pacientes con fracción de eyección muy disminuida (inferior al 40%), insuficiencia cardíaca sintomática, o ambas. Función renal y hepática anormales, con cifra de creatinina y/o bilirrubina 2 veces superior al valor límite normal, excepto cuando las alteraciones sean atribuibles a la leucemia, enfermedad neurológica o psiquiátrica grave concomitante y positividad para el VIH.

5.4 DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO

El tratamiento esta descrito en la tabla 8. Los pacientes deberán realizar las siguientes revaloraciones:

Evaluación de la respuesta post 1er ciclo de inducción:

En el caso de respuesta parcial, el paciente recibirá un segundo ciclo de inducción. En pacientes que obtuvieron RC se administró un ciclo de consolidación. En los casos con resistencia a la quimioterapia de inducción se administró quimioterapia de rescate fuera de protocolo.

Revaloración post 1ra consolidación:

Si no se alcanza la RC el paciente sale de protocolo y se administra quimioterapia de rescate.

En caso de mantener la RC se administra la terapia de intensificación según la estratificación pronostica.

TABLA 8. Tratamiento según protocolo CETLAM		
	2003	2012
INDUCCIÓN A LA REMISIÓN.	Esquema IDICE:	Esquema IC
	Idarrubicina 12 mg/m ² días 1,3,5 Ara-C, 500 mg/m ² / c/12 horas días 1, 3, 5 y 7 Etopósido, 100 mg/m ² días 1 a 3	Idarrubicina 12mg/m ² /día días 1-3 Ara-C, 200 mg/m ² /día en infusión continua días 1-7
CONSOLIDACIÓN	Esquema MIT-DIC: Dosis intermedia de Ara-C y mitoxantrone	Esquema: ADAC Dosis altas de Ara-C
	Ara-C: 500 mg/m ² c/12 horas, días 1 a 6 Mitoxantrone: 12 mg/m ² , días 4 a 6	Edad igual o inferior a 60 años Ara-C: 3 g/m ² /c/12 horas, días 1, 3, 5 Edad superior a 60 años Ara-C: 1,5 g/m ² /c/12 horas días 1, 3, 5
POST 1RA CONSOLIDACIÓN EN 1ra RC	Auto-TPH: pacientes con cariotipo normal sin factores de riesgo adicionales. Alo-TPH: si <i>FLT-3</i> ITD +. Si requirió 2 inducciones para adquirir RC. si EMR detectable después de consolidación	2 ciclos más de consolidación en pacientes con cariotipo normal, con <i>NPM1</i> Mutada/ <i>FLT3</i> wild type o ratio baja. Alo- TPH: si <i>FLT3</i> -ITD +, con ratio alta. Si requirió 2 inducciones para adquirir RC si EMR detectable después de consolidación

5.5 VALORACIÓN DE RESULTADOS CLÍNICOS

5.5.1 CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE RESPUESTA.

Los criterios de evaluación de respuesta según protocolos CETLAM 2003 - 2012, se describen en la tabla 9.

TABLA 9. Criterios de evaluación de respuesta Protocolos CETLAM 2003- 2012	
Remisión completa.	Deben cumplir todas las siguientes condiciones: MO normo-celular o ligeramente hipocelular con proporción de blastos <5% (incluidos promonocitos en caso de M5), ausencia de bastones de Auer, ausencia de leucemia extramedular, cifra de neutrófilos y de plaquetas en ascenso.
Remisión parcial.	Persistencia de un 5 a un 25% de blastos en MO. también se considerará RP la situación de RC que dure menos de 1 mes.
Resistencia absoluta.	Se definirá como una proporción de blastos superior al 50% de la existente al diagnóstico, después de un ciclo de quimioterapia.
Resistencia relativa.	Proporción de blastos inferior al 50% de la inicial, sin alcanzar criterios de RP. También se considerará que existe resistencia relativa cuando exista remisión medular, pero presencia de leucemia extramedular.

5.5.2 CRITERIOS DE RECAÍDA.

Los diferentes criterios de recaída se especifican en la Tabla 10

TABLA 10. Criterios de recaída	
Recaída medular	Proporción de blastos igual o superior al 5% en MO, en dos ocasiones consecutivas separadas por lo menos 7 días. La evidencia de un número creciente de metafases con una alteración citogenética presente al diagnóstico justificará el inicio de quimioterapia o la realización de un TPH en recidiva precoz.
Recaída en sangre periférica	Aparición de blastos en SP en dos ocasiones consecutivas, a distancia del período de recuperación de una aplasia post quimioterapia.
Recaída extramedular	Presencia de infiltración extramedular demostrada por biopsia o punción.

5.5.3 DEFINICIÓN DE VARIABLES

Las 2 principales variables evaluadas están relacionadas en la tabla 11.

TABLA 11. Definición de variables	
Supervivencia global	Tiempo desde la fecha de diagnóstico hasta la fecha de muerte debido a cualquier causa o último seguimiento.
Supervivencia libre de enfermedad	Se calculó a partir de la fecha de RC hasta la fecha de la recaída de la LMA, censurando las muertes ocurridas antes de la recaída.

5.5.4 EVALUACIÓN TOXICIDAD.

Se valoró la toxicidad renal, hepática, pulmonar, gastrointestinal – mucositis, así como la toxicidad hematológica, en pacientes que alcanzaron RC.

Para la toxicidad hematológica se calculó el tiempo de recuperación de neutropenia (TRN) y el tiempo de recuperación de trombocitopenia (TRT) desde el primer día de quimioterapia.

Las toxicidades se agruparon según grado 0-1 versus grado 2-4, de acuerdo a los criterios establecidos por la OMS.

5.6 ANÁLISIS MOLECULAR

Los análisis citogenéticos se realizaron utilizando técnicas estándar para la formación de bandas cromosómicas y FISH.

Las mutaciones de *NPM1* y *FLT3*-ITD se evaluaron en ADN genómico, con cebadores marcados y se analizaron mediante análisis de fragmentos (3130XL Genetic Analyzer, Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU ⁽¹⁷⁴⁻¹⁷⁵⁾)

La selección de los polimorfismos a estudiar se realizó mediante un análisis exhaustivo de la bibliografía existente ^(95,98,102-104,129,150-152,154-155,176) y de las principales bases de datos de polimorfismos para determinar los SNPs con mayor grado de evidencia en relación al metabolismo de la citarabina en individuos caucásicos, asociado a la eficacia y toxicidad.

5.6.1 Genotipado *UGT1A1*

El primer exón y la región flanqueante del gen *UGT1A1* se amplificaron mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando los siguientes

cebadores: 5'-GAGTATGAAATTCCAGCCAGTTC-3' directo y 5'CAGGCCCCAGGACAAGTGG-3' inverso. La mezcla de reacción de 30 µl contenía 1 x tampón, 0,2 mmol de dNTP, 50–100 ng de ADN genómico, 0,5 µmol de cebadores y 1 unidad de ADN Taq polimerasa. Las condiciones del ciclo térmico fueron las siguientes: precalentamiento a 95 °C por 5 minutos, seguido de 30 ciclos de 95 °C por 1 minuto, 57,5 °C por 30 segundos y 72 °C por 30 segundos.

El producto de ADN amplificado se purificó utilizando kits disponibles comercialmente Illustra ExoProStar 1-Step (GE Healthcare Europe, Friburgo, Alemania) y se secuenció mediante los kits BigDye Terminator v1.1 y v3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU.) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

Las secuencias de nucleótidos de los productos de PCR se determinaron mediante un secuenciador automático (ABI3130XL, Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU.) utilizando el cebador de secuencia 5'-ACTCCCTGCTACCTTTGTGG-3'.

5.6.2 Genotipado NT5C2 Y CDA

De acuerdo con la frecuencia de alelos en la población caucásica y el impacto previamente informado en la actividad enzimática, seleccionamos el polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) rs10883841 (7A>G) dentro del gen NT5C2 y los SNP rs2072671 (79A>C) y rs532545 (-451G> A) en el gen CDA.

El genotipado se determinó mediante discriminación alélica en el sistema de PCR en tiempo real Quant Studio 7 Flex, utilizando sondas y cebadores de PCR en tiempo real TaqMan, obtenidos como reactivos AB "Assay on demand" comercialmente disponibles (Applied Biosystems) El ensayo solicitado incluye cebadores y fluoróforos etiquetados como VIC/FAM (sondas TaqMan).

Las condiciones del ciclo de PCR fueron las siguientes: 10 minutos a 95°C para la activación de la polimerasa, 15 segundos a 95°C para la desnaturalización y 1 minuto a 60°C para la hibridación/extensión, durante 40 ciclos.

5.7 Análisis estadístico

Las asociaciones entre las variables cualitativas y los genotipos de polimorfismos se evaluaron mediante la prueba de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher. Se usó la prueba t de Student para variables continuas y el análisis ANOVA de una vía para detectar diferencias entre los genotipos.

Se aplicó el análisis de Kaplan-Meier junto con la prueba de rango logarítmico (log-rank test) para determinar la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad.

Se utilizaron estimaciones de incidencia acumulada considerando riesgos competitivos para determinar la probabilidad de recidiva y de mortalidad en remisión completa según el genotipo.

El análisis multivariante se realizó mediante el modelo de regresión de Cox para variables dependientes del tiempo. Se utilizó un modelo de regresión logística para realizar un análisis multivariado para variables no dependientes del tiempo. Todas las variables con un valor de p igual o inferior a 0,2 en el análisis univariante se incluyeron en el análisis multivariante.

6. RESULTADOS

Analizamos 477 pacientes adultos con leucemia mieloide aguda de riesgo intermedio tratados con quimioterapia intensiva según protocolo CETLAM LMA-03 o LMA-12 en 19 hospitales del grupo español CETLAM desde el año 2004 hasta el año 2017.

Presentamos en primer lugar los resultados obtenidos al analizar el impacto del genotipo de las enzimas implicadas en la vía clásica de metabolización de la citarabina, seguidos de los resultados al analizar el impacto del genotipo de UGT1A1 como enzima implicada en el proceso de glucuronidación de la citarabina.

6.1 ESTUDIO DE LOS GENOTIPOS DE ENZIMAS IMPLICADAS EN LA VIA CLÁSICA DEL METABOLISMO DE LA CITARABINA

Tal y como se ha explicado en el apartado “Pacientes y métodos”, se analizaron los polimorfismos rs10883841 (gen NT5C2), rs2072671 y rs532545 (gen citidin deaminasa – CDA).

6.1.1 Distribución de genotipos en la cohorte analizada

La distribución de genotipos en estos SNPs se puede observar en la Tabla 12

Tabla 12. Distribución de genotipos NT5C2 rs10883841, CDA rs2072671, CDA rs532545				
GENOTIPO	n	Homocigotos alelo ancestral	Heterocigotos	Homocigotos alelo variante
CDA rs532545	474	174 homocigotos CC	207	93 homocigotos TT.
CDA rs2072671	471	194 homocigotos AA	211	66 homocigotos CC.
NT5C2 rs10883841	463	339 homocigotos AA	116	8 homocigotos GG.

Algunos pacientes no pudieron ser genotipados debido a la mala calidad del ADN disponible.

La distribución de los genotipos fue similar con lo descrito previamente en la literatura en población caucásica.

6.1.2 Características de la cohorte analizada

Las características clínico-biológicas de la cohorte analizada se pueden ver en la tabla 13.

Tabla 13. características de la cohorte analizada (n: 477)	
Protocolo LMA 03 – LMA 12	314 - 163 (65.8% - 34.2%)
Sexo (hombre - mujer)	251 - 226 (52.6% - 47.4%)
edad: mediana (rango)	53 (15 - 71)
Leucocitos al diagnóstico: mediana (rango)	20.1 x 10 ⁹ /L (0.2 - 325)
Cariotipo Normal	351 (73.6%)
<i>NPM1</i> mutada y <i>FLT3</i> wild type (o ratio <0.5)	142 (32.9%)
<i>NPM1</i> y <i>FLT3</i> wild type (o <i>FLT3</i> ratio <0.5)	196 (45.4%)
<i>FLT3</i> ITD (ratio alta)	94 (21.8%)
Trasplante de medula ósea en primera RC	254 (83%)

6.1.3 Homogeneidad entre grupos para los genotipos NT5C2 rs10883841, CDA rs2072671 y CDA rs532545

La comparación de los factores pronósticos clínicos al diagnóstico entre estos polimorfismos genéticos mostró una distribución equilibrada para la edad, el recuento de glóbulos blancos (WBC) al diagnóstico, la incidencia de cariotipo normal y la presencia de mutación en *NPM1* o en *FLT3*-ITD. La única diferencia detectada fue una mayor proporción de pacientes incluidos en el protocolo LAM12 con el genotipo NT5C2 rs10883841 AA (37,8 % frente a 25 % con el genotipo AG/GG; p: 0,011). Dado que en nuestra cohorte la supervivencia global fue comparable entre los dos protocolos, no se consideró relevante esta diferencia en el análisis de homogeneidad entre grupos genéticos.

La Tabla 14 muestra el análisis de homogeneidad entre genotipos:

Tabla 14. Análisis de homogeneidad entre genotipos			
	NT5C2 rs10883841 AG/GG (n:124)	NT5C2 rs10883841 AA (n: 339)	p
Protocolo (LMA03 – LMA12) (%)	75 - 25	62.2 - 37.8	0.011
Sexo (hombre - mujer) (%)	53.2 – 46.8	51.9 – 48.1	0.803
Edad: mediana (rango)	53 (20 – 70)	53 (15 – 71)	0.781
Leucocitos al diagnóstico: mediana (rango)	23.1 (0.7 – 325)	18.5 (0.2 – 400)	0.632
Cariotipo Normal (%)	78.2	71.7	0.158
Perfil molecular (%) NPM1 y FLT-3 WT (o ratio <0.5)	47	44.7	0.896
NPM1 mutada y FLT-3 WT (o ratio <0.5)	31.3	33.6	
FLT-3 ITD (ratio > 0.5)	21.7	21.7	
	CDA rs2072671 AA/AC (n:405)	CDA rs2072671 CC (n:66)	p
Protocolo (LMA03 – LMA12) (%)	65.9 – 34.1	62.1 – 37.9	0.547
Sexo (hombre - mujer) (%)	51.1 – 48.9	63.6 – 36.4	0.059
Edad: mediana (rango)	53 (15 – 71)	52 (18 – 71)	0.049
Leucocitos al diagnóstico: mediana (rango)	18.3 (0.2 – 400)	24.5 (0.6 – 208)	0.402
Cariotipo Normal (%)	73.6	74.2	0.910
Perfil molecular (%) NPM1 y FLT3 WT (o ratio <0.5)	45.4	44.6	0.700
NPM1 mutada y FLT3 WT (o ratio <0.5)	32.7	37.5	
FLT3 ITD (ratio > 0.5)	21.9	17.9	
	CDA rs532545 CC/CT (n:381)	CDA rs532545 TT (n:93)	p
Protocolo (LMA03 – LMA12) (%)	63.5 – 36.5	74.2 – 25.8	0.052
Sexo (hombre - mujer) (%)	52.5 – 47.5	53.8 – 46.2	0.826
Edad: mediana (rango)	53 (17 – 71)	53 (15 – 70)	0.398
Leucocitos al diagnóstico: mediana (rango)	18.4 (0.2 – 400)	24.4 (0.6 – 396)	0.888
Cariotipo Normal (%)	73.8	72	0.738
Perfil molecular (%) NPM1 y FLT3 WT (o ratio <0.5)	44.9	46.5	0.956
NPM1 mutada y FLT-3 WT (o ratio <0.5)	32.9	32.6	
FLT3 ITD (ratio > 0.5)	22.2	20.9	
Leucocitos al diagnóstico expresados en x 10⁹/l			

6.1.4 Resultado clínico después de la quimioterapia de inducción y consolidación

La remisión completa se logró en el 70,2 % de los pacientes después de la primera quimioterapia de inducción. El 12,5% de los pacientes logró remisión parcial y recibieron un segundo ciclo de quimioterapia de inducción.

Se observó refractariedad a la quimioterapia en el 8,4 % de los pacientes, mientras que el 8,9 % de los pacientes fallecieron durante la aplasia relacionada con la quimioterapia de inducción inicial.

No se detectaron diferencias significativas entre los genotipos del polimorfismo NT5C2 rs10883841 tras la quimioterapia de inducción en cuanto a la respuesta alcanzada: el 69,4% de los genotipos AG/GG vs. el 70,2% de los pacientes con genotipo homocigoto AA alcanzaron la remisión completa (p: 0,859).

Del mismo modo, no observamos diferencias entre estos polimorfismos, ni en la proporción de pacientes con respuesta parcial que necesitaron una segunda quimioterapia de inducción, ni en el porcentaje de pacientes con quimiorresistencia primaria.

El porcentaje de pacientes fallecidos durante la aplasia relacionada con la quimioterapia de inducción también fue comparable (6,5% de pacientes con genotipo NT5C2 rs10883841 AG/GG vs. 8,6% de homocigotos para el alelo A; p: 0,460).

Por el contrario, los pacientes con genotipo CDA rs2072671 AA/AC mostraron una tasa de remisión completa menor que los pacientes homocigotos para el alelo C (67,4 vs. 80,3% respectivamente; p: 0,035). Se obtuvieron resultados similares al comparar pacientes con CDA rs532545 CC /CT genotipo con los homocigotos para el alelo T (67,7% vs. 78,5%; p: 0,042).

El análisis de subgrupos mostró que esta asociación era aún más fuerte cuando se consideraban solo pacientes con cariotipo normal, tanto para los genotipos CDA rs2072671 (AA/AC: 69,5 % vs CC: 87,8 %; p: 0,008) como para los genotipos CDA rs532545 (CC/CT: 69,8% vs TT: 85,1%; p: 0,011). Este efecto también se detectó al considerar pacientes con *NPM1* mutada sin *FLT3*-ITD o con ratio baja considerando el genotipo CDA rs2072671 (AA/AC: 75,2% vs CC: 95,2%; p:0,040) y según el genotipo CDA rs532545 (CC/CT: 74,3% vs TT: 92,9%; p: 0,034), mientras que no se observaron diferencias significativas en la tasa de remisión completa ni en los pacientes *NPM1* – *FLT3* doble negativo, ni en aquellos con *FLT3*-ITD con ratio superior a 0,5.

En cuanto a la duración de la neutropenia tras la quimioterapia de inducción, no observamos diferencias estadísticamente significativas entre los distintos polimorfismos analizados.

Los días de trombocitopenia después de la quimioterapia de inducción no fueron estadísticamente distintos al comparar los grupos genéticos en base a *NT5C2* rs10883841 y CDA rs532545, mientras que los pacientes con el genotipo CDA rs2072671 AA/AC (mediana de 18 días; rango de 0 a 54) tuvieron una mayor

duración de la trombocitopenia que los homocigotos para el alelo C (mediana de 17 días; rango 6 – 28; p: 0,021).

Los eventos adversos no hematológicos de grado 3-4, asociados al tratamiento con citarabina (sin considerar los eventos infecciosos) se informaron con mayor frecuencia en pacientes con el genotipo NT5C2 rs10883841 AA (17,2% frente a 9,2% en pacientes con otros genotipos; p: 0,036). Esta asociación fue confirmada en el análisis multivariado (p: 0,036). El análisis de subgrupos mostró que este aumento en la incidencia de toxicidad relacionada con el tratamiento se observó en mujeres (20,6% vs 5,4%; p: 0,008), pero no en hombres 14 % vs 12,5%; p: 0,760).

No se detectaron diferencias en los eventos adversos no hematológicos al considerar los genotipos CDA rs2072671 o rs532545.

También exploramos si la admisión a cuidados intensivos, el shock séptico o la infección fúngica invasiva eran más frecuentes en base a los genotipos NT5C2 o CDA, pero la incidencia de estas situaciones potencialmente mortales no fue diferente entre los grupos.

No encontramos diferencias en cuanto a la mortalidad durante el primer ciclo de quimioterapia de inducción en base a ninguno de los grupos genéticos analizados.

En cuanto a los pacientes que recibieron quimioterapia de consolidación, la duración de la neutropenia después de esta consolidación fue mayor para los

pacientes con genotipo NT5C2 rs10883841 AG/GG (mediana de 21 días; rango de 6 a 106 días) en comparación con los pacientes homocigotos AA (mediana de 18,5 días; rango de 2 a 59 días) (p: 0,016).

De manera similar, la duración de la trombocitopenia después de la quimioterapia de consolidación también fue mayor para los pacientes con genotipo NT5C2 rs10883841 AG o GG (mediana de 19 días; rango de 3 a 162 días) en comparación con los pacientes homocigotos AA (mediana de 16 días; rango de 0 a 76 días) (p: 0,015).

No encontramos diferencias estadísticamente significativas en la duración de la neutropenia o trombocitopenia tras la quimioterapia de consolidación respecto al genotipo de CDA del paciente.

La mortalidad asociada con la terapia de consolidación también fue comparable entre todos los grupos genéticos analizados

La tabla 15 muestra en detalle la relación entre los genotipos estudiados y los diferentes eventos clínicos.

TABLA 15: Resultado clínico después de la quimioterapia de inducción y consolidación según el genotipo

	NT5C2 rs10883841 AG/GG (n:124)	NT5C2 rs10883841 AA (n: 339)	p	CDA rs2072671 AA/AC (n:405)	CDA rs2072671 CC (n:66)	p	CDA rs532545 CC/CT (n:381)	CDA rs532545 TT (n:93)	p
Remisión completa	69.4%	70.2%	0.859	67.4%	80.3%	0.035	67.7%	78.5%	0.042
Respuesta parcial	12.9%	12.4%	0.882	13.1 %	9.1 %	0.363	12.3%	10.8%	0.674
Quimiorresistencia primaria	6.5%	8.6%	0.460	8.9%	6.1%	0.445	9.4%	4.3%	0.109
Muerte durante la quimioterapia de inducción	10.5%	8.0%	0.393	9.6%	4.5%	0.179	9.4%	6.5%	0.362
Días de neutropenia tras la quimioterapia de inducción: mediana (rango)	22 (10 – 42)	22 (12 – 78)	0.179	22 (10 – 74)	22 (11 – 78)	0.902	22 (10 – 78)	22 (11 – 60)	0.385
Días de trombocitopenia tras la quimioterapia de inducción: mediana (rango)	19 (5 – 30)	18 (0 – 54)	0.330	18 (0 -54)	17 (6 – 28)	0.021	18 (0 – 54)	17 (0 – 50)	0.123
Eventos tóxicos grados 3-4 (extrahematológicos)	9.2%	17.2%	0.036	14.6%	18.8%	0.393	14.4%	16.7%	0.595
Mortalidad tras la primera quimioterapia de inducción	10.6%	8.9%	0.587	10.2%	6.2%	0.291	10.1%	7.5%	0.458
Días de neutropenia tras la quimioterapia de consolidación: mediana (rango)	21 (6 – 106)	18.5 (2 – 59)	0.016	20 (2 – 106)	18 (4 – 65)	0.594	19 (2 – 106)	20 (4 – 65)	0.332
Días de trombocitopenia tras la quimioterapia de consolidación: mediana (rango)	19 (3 – 162)	16 (0 – 76)	0.015	17.5 (0 – 162)	17 (3 – 64)	0.536	17 (0 – 162)	19 (0 – 64)	0.789
Mortalidad tras la quimioterapia de consolidación	3.3%	3.1%	1	4%	0%	0.134	3.5%	2.8%	0.748

6.1.5 Supervivencia global (SG) y supervivencia libre de enfermedad (SLE).

La SG a los cinco años fue similar al estratificar a los pacientes según el genotipo NT5C2 rs10883841 (AG/GG 37,5% vs AA 36,8%; p: 0,385). Sin embargo, al realizar el análisis de subgrupos, detectamos que para los pacientes menores de 50 años el genotipo NT5C2 rs10883841 AA mostró una peor SG casi estadísticamente significativa en el análisis univariante (AG/GG 56,9% vs AA 42,6%; p: 0,051) (Figura 3). El análisis multivariante en este subgrupo de pacientes más jóvenes identificó el genotipo rs10883841 como un factor de riesgo independiente para una peor SG (p: 0,003; HR 2,16, intervalo de confianza (IC) del 95 % 1,29 – 3,61).

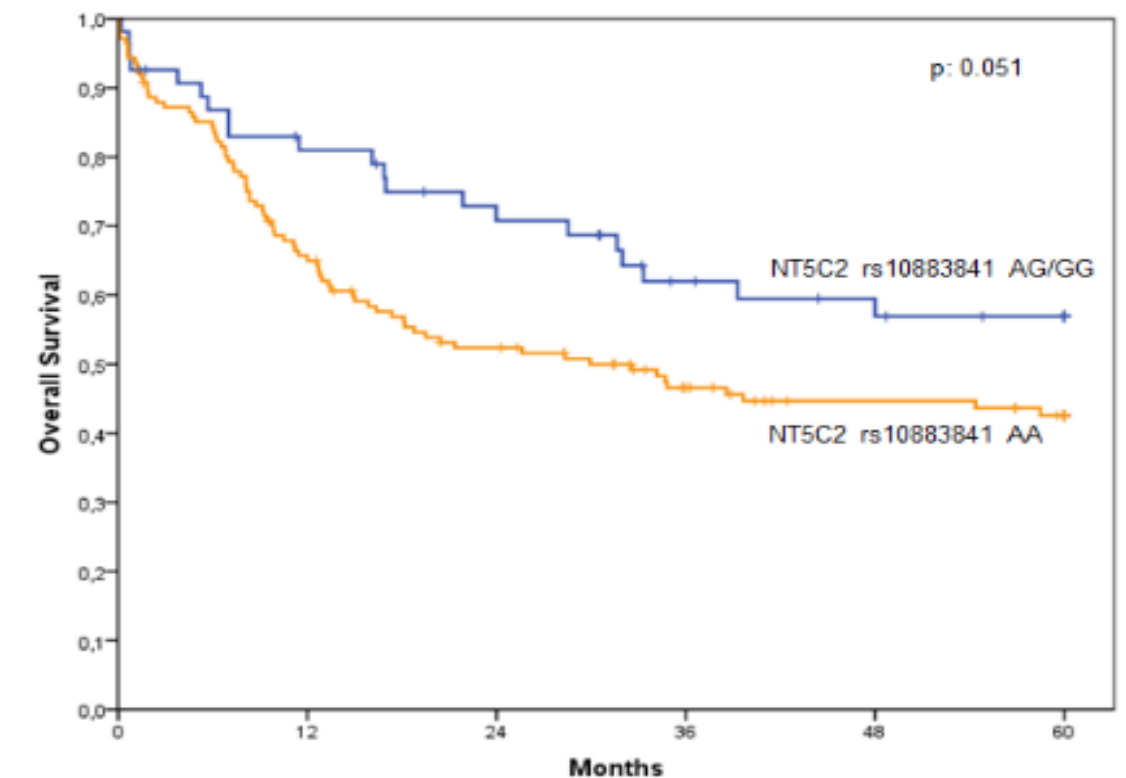


FIGURA 3. Supervivencia global en pacientes menores de 50 años según el genotipo NT5C2 rs10883841 AA

No observamos diferencias estadísticamente significativas en SG según CDA rs2072671 (AA/AC 35,6% vs CC 44,6%; p: 0,144) o genotipo rs532545 (CC/CT 36,9% vs TT 37,7%; p: 0,344).

La SLE a los cinco años fue del 38,6% para los pacientes con genotipo NT5C2 rs10883841 AG/GG y del 32,4% para los homocigotos para el alelo A (p: 0,144). Nuevamente, en el análisis de subgrupos mostró una peor SLE estadísticamente significativa para los pacientes menores de 50 años con el genotipo NT5C2 rs10883841 AA (AG/GG 54 % frente a AA 36,5 %; p: 0,010) (Figura 4). El análisis multivariante en este subgrupo de pacientes confirmó el genotipo rs10883841 como un factor de riesgo independiente para peor DFS (p: 0,002; HR 2,45, IC 95% 1,41 - 4,27).

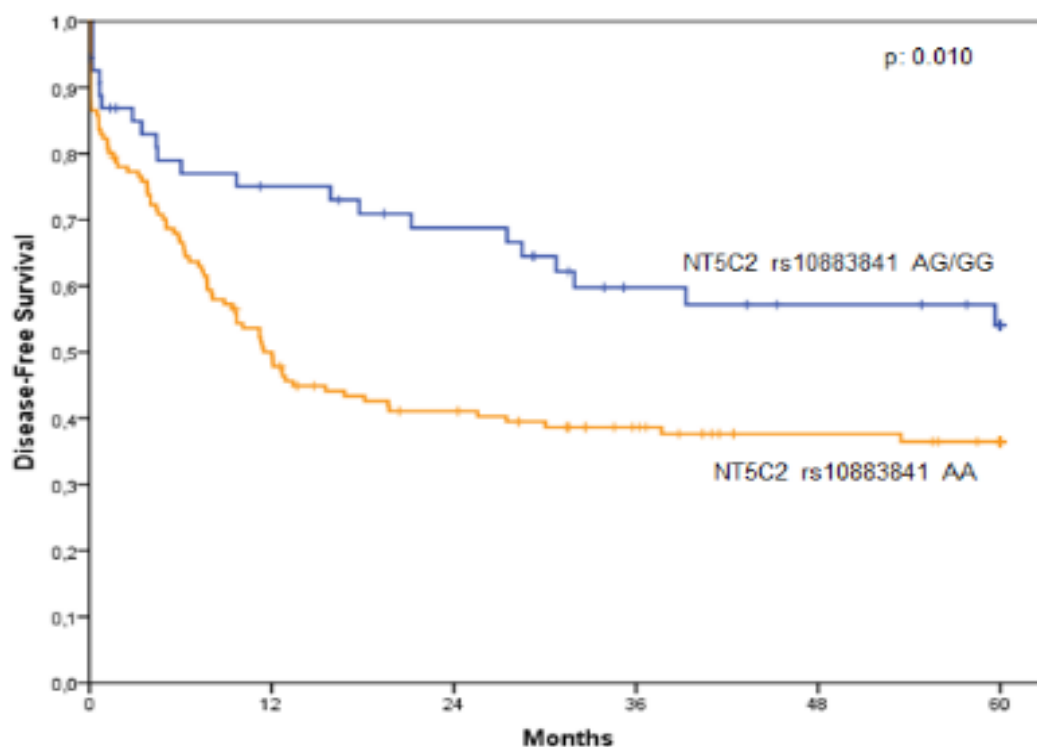


FIGURA 4. Supervivencia libre de enfermedad en pacientes menores de 50 años según el genotipo NT5C2 rs10883841

Realizamos un análisis de subgrupos para explorar mejor la asociación entre el genotipo NT5C2 rs10883841 y la SG o SLE en esta cohorte de pacientes menores de 50 años, identificando que el genotipo NT5C2 rs10883841 AA se asoció en el análisis multivariante con peor SG y SLE en todos los subgrupos excepto para pacientes con *NPM1* mutada sin *FLT3*-ITD (o con una ratio < 0,5). Esta influencia en la SG fue especialmente llamativa en pacientes con *FLT3*-ITD con ratio > 0.5. La figura 5 muestra el análisis de subgrupos considerando exclusivamente los pacientes con edad < 50 años (n: 195).

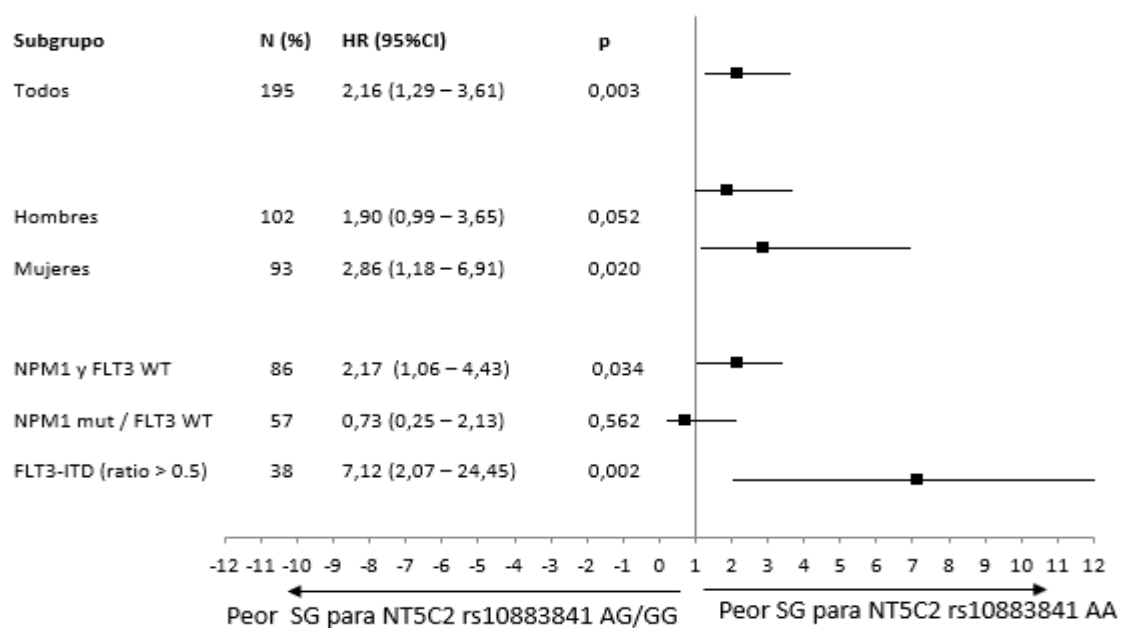
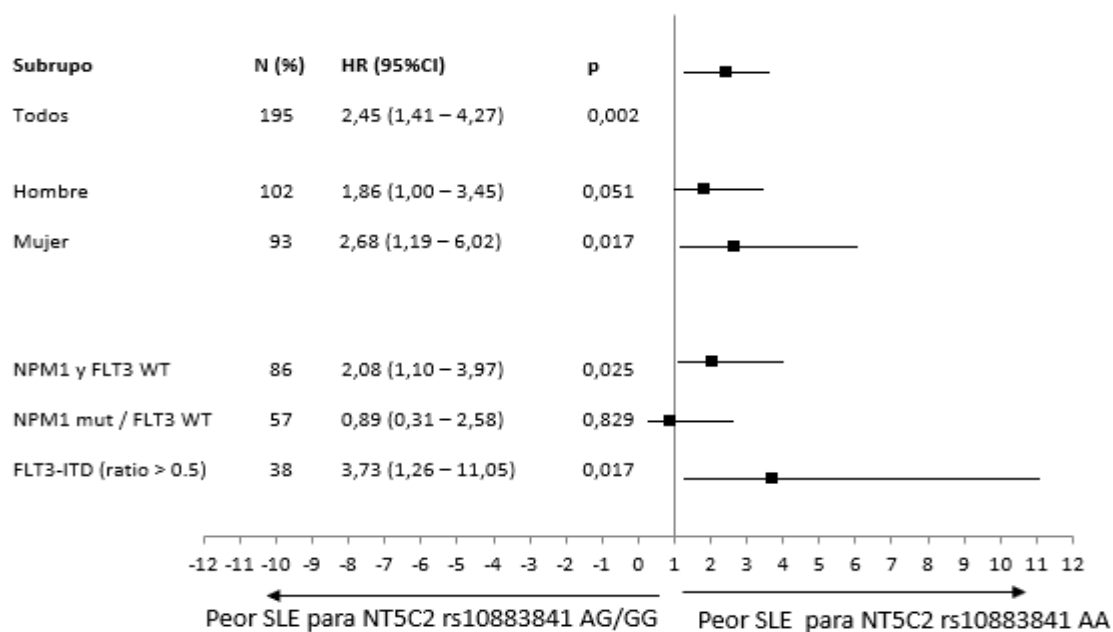
A**B**

FIGURA 5. Análisis de subgrupos de la asociación entre el genotipo NT5C2 rs10883841 y supervivencia global (A) y supervivencia libre de enfermedad (B) en pacientes < 50 años.

6.1.6 Recaída

La incidencia de recaída fue mayor en pacientes con el genotipo NT5C2 rs10883841 AA (AG/GG 43,7% vs AA 53,1%), pero esta diferencia no alcanzó significación estadística en el análisis multivariante ajustado por edad, sexo, raza blanca, recuento de leucocitos al momento del diagnóstico, citogenética, estado mutacional de *NPM1* y *FLT3* ni protocolo empleado (p: 0,056).

Al realizar el análisis de subgrupos, los pacientes menores de 50 años con el genotipo NT5C2 rs10883841 AA mostraron mayor incidencia de recidivas, estadísticamente significativa tanto en el análisis univariante (AG/GG 33,8% vs AA 48,9%; p: 0,040) como en el multivariante (p:0,010; HR 2,23; IC95% 1,21 – 4,12).

No observamos diferencias estadísticamente significativas en la incidencia de recaídas según el genotipo en CDA rs2072671 (AA/AC 50,2% vs CC 50,7%; p: 0,817) o rs532545 (CC/CT 50,1% vs TT 49,6%; p: 0,361). El análisis de subgrupos tampoco logró detectar ninguna correlación entre estos polimorfismos CDA y la incidencia de recaídas.

6.1.7 Mortalidad sin recaída

No hubo diferencias en la incidencia de mortalidad sin recaída previa según el genotipo en NT5C2 rs10883841 (AG/GG 26,6% vs AA 23,7%; p: 0,744), CDA rs2072671 (AA/AC 25,6% vs CC 22,2%; p: 0,411) o CDA rs532545 (CC/CT 24% vs TT 28,1%; p: 0,750).

El análisis de subgrupos tampoco logró detectar ninguna correlación entre estos polimorfismos y la incidencia de mortalidad sin recaída previa.

6.1.8 Causas de muerte

Las causas de muerte se clasificaron en cinco grupos:

- a) Muerte relacionada con la leucemia.
- b) Muerte por infección durante la quimioterapia.
- c) Evento hemorrágico fatal.
- d) Mortalidad relacionada con el trasplante.
- e) Otras causas.

La distribución fue comparable entre los genotipos NT5C2 rs10883841: la muerte relacionada con la leucemia fue el 53,2 % del total de muertes en pacientes con genotipo AG/GG frente al 55,1 % en aquellos con genotipo AA, y también hubo una incidencia similar de muerte por infección durante la quimioterapia (17,7% vs 15,7%), evento hemorrágico fatal (6,5% vs 6,5), mortalidad relacionada con el trasplante (21% vs 19,5%) u otras causas (1,6% vs 3,2% respectivamente). (p: 0,958).

Tampoco encontramos diferencias en las causas de muerte al considerar los genotipos CDA rs2072671 (p: 0,326) o CDA rs532545 (p: 0,352).

6.2 ESTUDIO DE LA VIA ALTERNATIVA DEL METABOLISMO DE LA CITARABINA A TRAVÉS DE LA GLUCURONIDACIÓN

Para explorar el papel de la glucuronidación como vía alternativa en la metabolización de la citarabina, analizamos el genotipo de la enzima UGT1A1 en una cohorte de 455 pacientes con LMA-RI.

Las características de la cohorte están descritas en la tabla 16.

Tabla 16. Características de la cohorte analizada	
Variable	n (%)
PROTOCOLO LAM03 – LAM 12	301 - 154 (66.2% - 33.8%)
Sexo (hombre - mujer)	242 - 213 (53.2% - 46.8%)
Edad: mediana (rango)	53 (15 - 71)
Leucocitos al diagnóstico: mediana (rango)	19.7 x 10 ⁹ /L (0.2 - 400)
Cariotipo Normal	330 (72.5%)
<i>NPM1</i> mutada *	187 (41.1%)
<i>FLT3</i> ITD (ratio alta) †	75 (16.5%)
Trasplante de medula ósea en primera RC	254 (84%)
* valorable en 410 casos † valorable en 430 casos.	

6.2.1 Distribución de genotipos

Detectamos 148 pacientes (32.5%) homocigotos para el alelo UGT1A1, caracterizado por la repetición (TA₆) (UGT1A1*1). 258 pacientes (56.7%) fueron heterocigotos (TA₆/TA₇) y 43 (9.5%) fueron homocigotos para la variante (TA₇), también conocida como variante UGT1A1*28, asociada con una menor actividad enzimática. Esta distribución de genotipos es comparable a la descrita previamente en población caucásica.

6.2.2 Homogeneidad entre grupos según el genotipo de UGT1A1

Al comparar las variables clínicas no observamos diferencias estadísticamente significativas en edad, sexo, detección de anomalías citogenéticas o presencia de mutaciones en *FLT3* o *NPM1* entre pacientes con variante homocigota UGT1A1*28 y homocigotos para UGT1A1*1 o heterocigotos UGT1A1*1/*28. La mediana del recuento de leucocitos al momento del diagnóstico fue mayor en pacientes con variante homocigota UGT1A1*28 (mediana 44,9 x 10⁹/l frente a 20.8 x 10⁹/l para pacientes heterocigotos y 15.6 x 10⁹/l para pacientes homocigotos para el alelo wild type), pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa (p: 0,111). La tabla 17 muestra la comparación entre estos grupos.

Tabla 17 Homogeneidad entre los grupos acorde al genotipo en UGT1A1 rs8175347				
Variable	UGT1A1*1/*1	UGT1A1*1/*28	UGT1A1*28/*28	P
PROTOCOLO LAM03 – LAM12	82-66 (55.4%-44.6%)	186 -72 (72.1%-27.9%)	30 – 13 (69.8% - 30.2%)	0.003
Sexo (hombre -mujer)	79-69 (53.4%-46.6%)	142-116 (55%-45%)	18 – 25 (41.9% -58.1%)	0.276
edad: mediana(rango)	53(15-71)	55(18-71)	52 (17-70)	0.614
Leucocitos al diagnóstico: mediana (rango)	15.6 x10 ⁹ /l (0.6-400)	20.8 x10 ⁹ /l (0.2-371)	44.9 x 10 ⁹ /L (0.18-298)	0.111
Cariotipo Normal	115(77.7%)	180(69.8%)	29 (67.4%)	0.176
<i>NPM1</i> mutada	65(47.8%)	108(46.4%)	14 (38.9%)	0.633
<i>FLT3</i> ITD ratio alta	23(16.1%)	43(17.8%)	9 (22%)	0.681

Los pacientes incluidos en los ensayos LAM-03 y LAM-12 mostraron resultados comparables con respecto a la tasa de remisión completa y la supervivencia global.

6.2.3 Resultado clínico des pues de la quimioterapia de inducción y consolidación

La tasa general de remisión completa (RC) después de la terapia de inducción fue del 79,5 % (362 de 455 pacientes). Cuarenta y seis pacientes fueron refractarios a la terapia inicial (10,1 %) y 45 pacientes fallecieron durante la quimioterapia de inducción (9,9 %). Dos pacientes no tenían datos de seguimiento disponibles.

Al considerar la relación entre el genotipo UGT1A1 rs8175347 y el resultado clínico después de la quimioterapia de inducción, no encontramos diferencias estadísticamente significativas en la tasa de RC: 80,4% de pacientes con genotipo homocigoto UGT1A1*1, 79,4% de pacientes heterocigotos y 79,1% de UGT1A1 *28 pacientes homocigotos obtuvieron remisión completa. El porcentaje de pacientes refractarios tras la quimioterapia de inducción también fue similar en todos los grupos: 10,8%, 9,7% y 11,6% respectivamente, así como la incidencia de muerte durante la quimioterapia de inducción: 8,8%, 10,9% y 9,3% respectivamente (p: 0,904).

La aparición de eventos tóxicos grados 3-4 asociados a la quimioterapia de inducción también fue comparable entre los diferentes genotipos: 27.5% de pacientes homocigotos para el genotipo UGT1A1*1, 29,6% de pacientes heterocigotos y 26.2% de pacientes con homocigotos variante UGT1A1*28 (p:0,846). La toxicidad específica del tracto digestivo de grados 3-4 también fue similar entre estos grupos de genotipos (15,5 %, 13,2 % y 7,1 % respectivamente; p: 0,374).

La duración de la neutropenia después de la quimioterapia de inducción solo se vio ligeramente afectada por el genotipo UGT1A1: la mediana de neutropenia fue de 21 días para pacientes homocigotos UGT1A1*1 (rango: 12 - 45 días), 22 días para pacientes heterocigotos (rango: 9 - 60 días) y 23 días para pacientes con variante homocigota UGT1A1*28 (rango 13 -45 días) (p: 0,514). Se obtuvieron resultados similares con respecto a la trombocitopenia después de la quimioterapia de inducción: 17 días para pacientes homocigotos UGT1A1*1 (rango: 5 - 54 días), 18 días para pacientes heterocigotos (rango: 5 - 33 días) y 19 días para pacientes con homocigotos UGT1A1*28 variante (rango 3 - 40 días) (p: 0,207).

Sin embargo, la duración de la neutropenia después de la quimioterapia de intensificación con altas dosis de Ara-C fue mayor para los pacientes homocigotos para la variante UGT1A1*28 (mediana de 25 días; rango de 5 a 54 días) en comparación con los pacientes heterocigotos (mediana de 20 días; rango de 2 a 106 días) y con homocigotos UGT1A1*1 (mediana 18 días; rango: 4 - 59 días) (p: 0,040).

No encontramos diferencias estadísticamente significativas en la duración de la trombocitopenia tras la quimioterapia de consolidación respecto al genotipo de UGT1A1 del paciente.

6.2.4 Supervivencia global (SG)

La mediana de SG fue de 31.7 meses para toda la cohorte. La supervivencia global a los 5 años fue mejor para los pacientes con el genotipo homocigoto UGT1A1*1 (42.3 %) o heterocigoto UGT1A1*1/*28 (46.5 %) que para los pacientes homocigotos para la variante UGT1A1*28 (25,8 %) (p: 0,010). Al considerar juntos a los pacientes con al menos un alelo UGT1A1*1, encontramos una supervivencia global significativamente mejor que la de los pacientes homocigotos para la variante alélica UGT1A1*28 (45,5 % frente a 25,8 %; p: 0,006) (Figura 6).

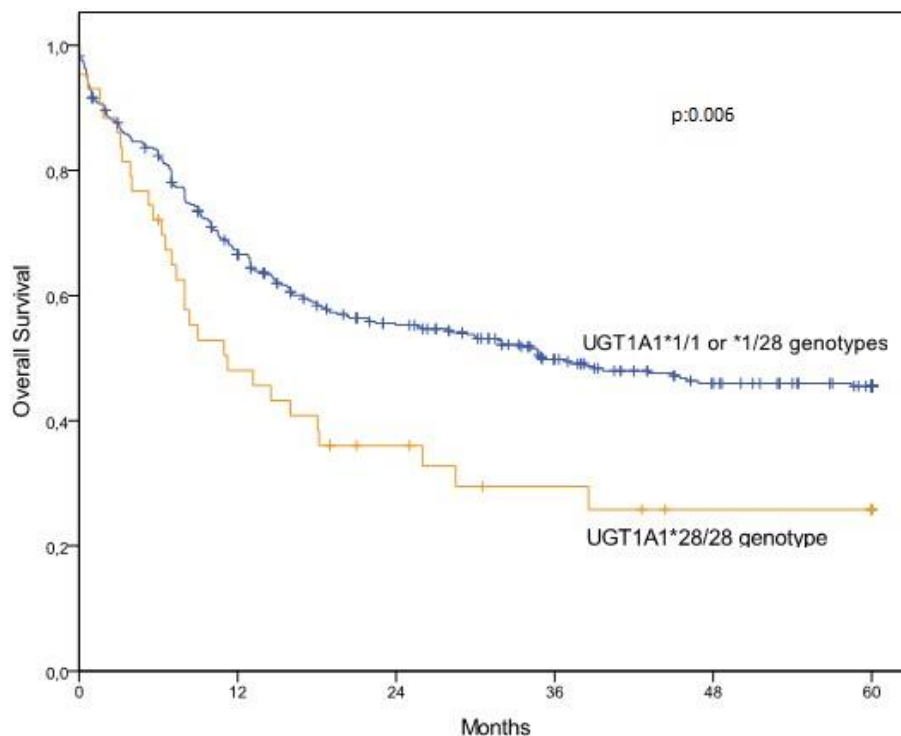


Figura 6. Supervivencia global a 5 años según el genotipo UGT1A1 rs8175347 en 455 pacientes con LMA-RI tratados con quimioterapia basada en citarabina.

El análisis multivariante ajustando por edad, sexo, recuento de leucocitos, citogenética y estado mutacional de *NPM1* y *FLT3* identificó el genotipo homocigoto UGT1A1*28 como un factor de riesgo independiente para una peor supervivencia global (p: 0,008; HR: 1,79; 95 % IC: 1,16 – 2,76). En la tabla 18 se muestran los resultados obtenidos en el análisis multivariante.

Tabla 18. Análisis multivariante para SG según el genotipo UGT1A1		
Variable	p	HR (95%CI)
Edad > 60 años	0.007	1.52 (1.12 - 2.06)
Paciente hombre	0.053	1.33 (1.00 - 1.78)
Leucocitos $\geq 100 \times 10^9/L$	<0.001	1.86 (1.33 – 2.61)
Cariotipo anormal	0.335	1.17 (0.85 - 1.61)
<i>NPM1</i> mutada	0.024	0.72 (0.54 - 0.96)
<i>FLT3</i> -ITD (ratio alta)	0.168	1.31 (0.89 – 1.91)
Genotipo homocigoto UGT1A1*28	0.008	1.79 (1.16 - 2.76)

También realizamos análisis de subgrupos para determinar el impacto real del genotipo UGT1A1 en grupos seleccionados considerando las variables incluidas en el análisis multivariado. La figura 7. muestra el diagrama de bosque obtenido.

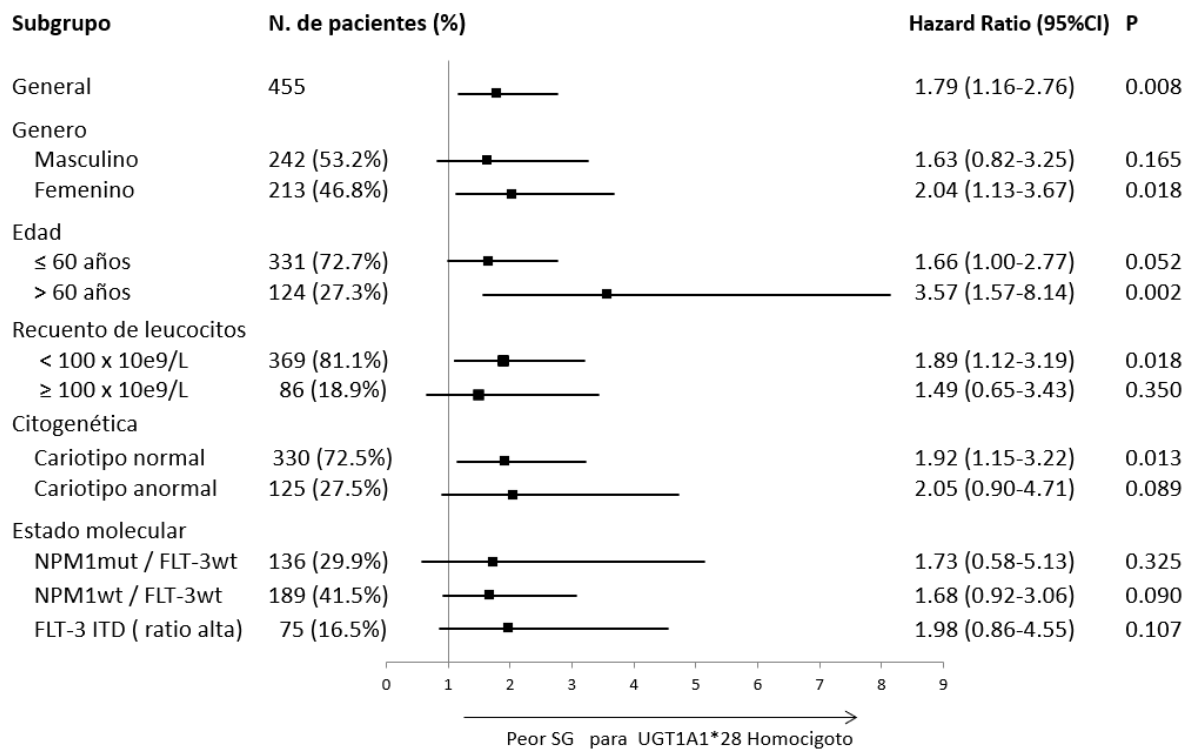


Figura 7. Diagrama de bosque considerando el análisis de subgrupos para la supervivencia global según el genotipo de UGT1A1.

Las mujeres con la variante homocigota UGT1A1*28 tuvieron una SG a 5 años estadísticamente peor que aquellas con el resto de genotipos rs8175347 (14,8 % frente a 52,7 %; p: 0,001). El genotipo homocigoto UGT1A1*28 se confirmó como factor de riesgo independiente de peor SG en mujeres en análisis multivariante (p: 0,018, HR: 2,04; IC95%: 1,13 - 3,67). En cambio, esta asociación no se observó en los hombres: la SG a los 5 años fue del 37 % para los hombres homocigotos UGT1A1*28 y del 39,5 % para el resto de los genotipos rs8175347 (p: 0,165, HR: 1,63; IC del 95 %: 0,82 - 3,25). (Figuras 8A y 8B).

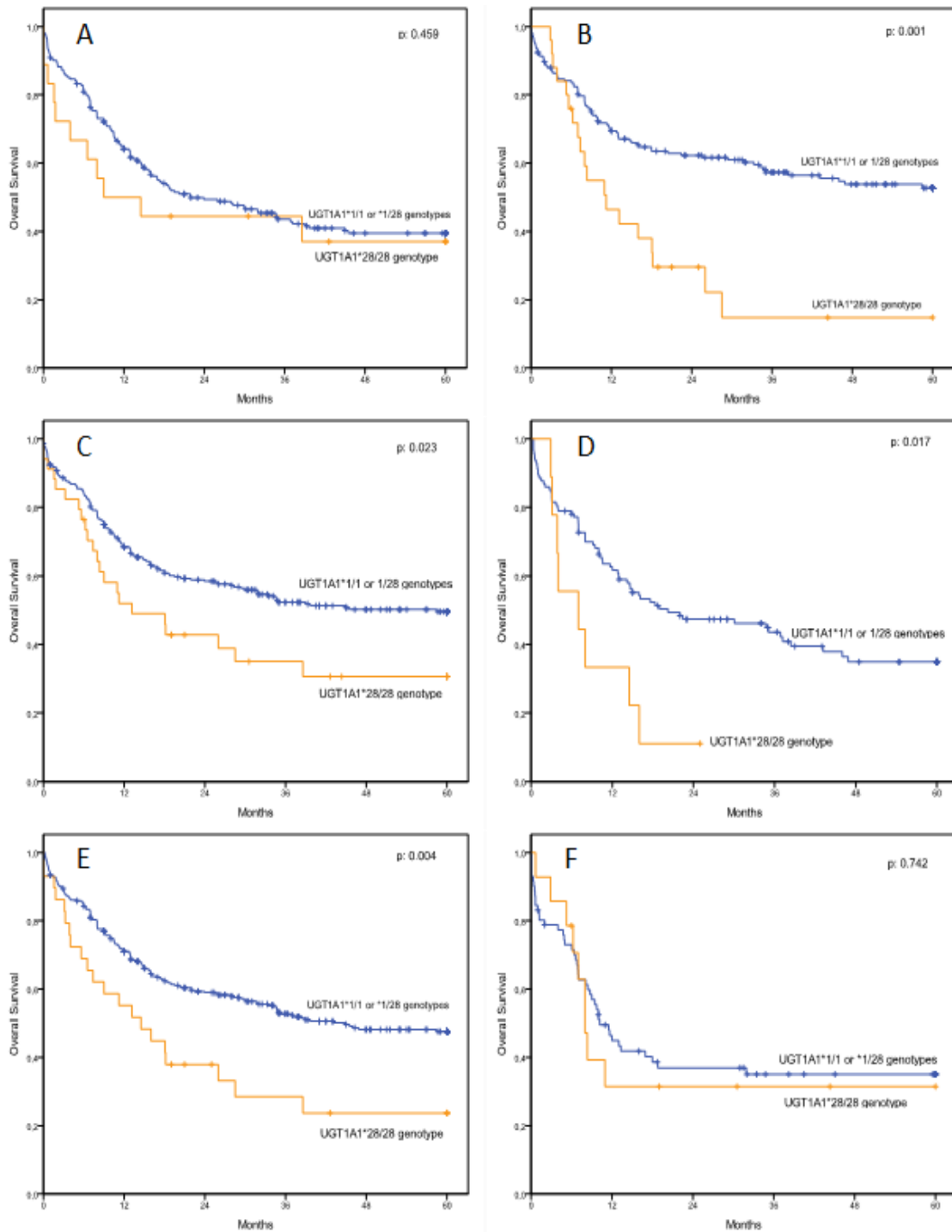


Figura 8: Supervivencia global a 5 años según el genotipo UGT1A1 rs8175347 en (A) hombres (n: 249); (B) mujeres (n: 219); (C) pacientes de 60 años o menos (n: 343); (D) pacientes mayores de 60 años (n: 125); (E) pacientes con recuento inicial de leucocitos $<100 \times 10^9/L$ (n: 379); (F) pacientes con recuento inicial de leucocitos $\geq 100 \times 10^9/L$ (n: 88).

Por tanto, las mujeres homocigotas para la variante UGT1A1*28 presentan una peor supervivencia a los 5 años que los hombres, independientemente del genotipo UGT1A1 que presenten estos (14,8 % frente a 39,3 %), mientras que las mujeres portadoras de al menos un alelo UGT1A1*1 tienen una mejor supervivencia que los hombres (52,7 %) ($p: 0,002$). La Figura 9 muestra las curvas de Kaplan-Meier obtenidas para la supervivencia global al comparar hombres con mujeres según el genotipo rs8175347 UGT1A1 de las mujeres.

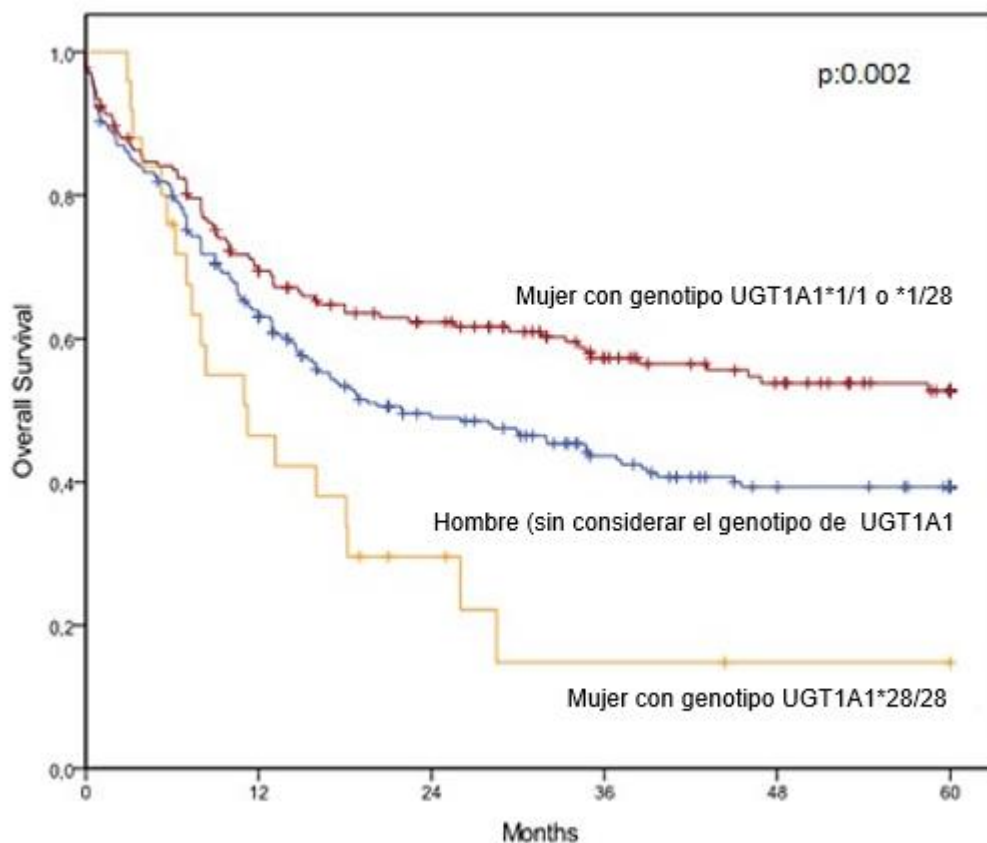


Figura 9: Supervivencia global a 5 años considerando el sexo del paciente y el genotipo UGT1A1 rs8175347.

El efecto negativo del genotipo homocigoto UGT1A1*28 también se detectó al analizar por separado a pacientes menores de 60 años (30,7% a los 5 años

frente a 49,6%; p: 0,023) y pacientes mayores de 60 años (11,1% frente a 34,9%; p: 0,017). El genotipo rs8175347 también se asoció con una pobre SG a 5 años en pacientes con un recuento inicial de leucocitos inferior a $100 \times 10^9/l$ (23,7 % vs 47,6 %; p: 0,004), diferencia que se mantuvo en el modelo multivariante (p: 0,018, HR: 1,89; IC 95%: 1,12 - 3,19), mientras que este efecto no se observó en pacientes con un recuento inicial de leucocitos superior a $100 \times 10^9/L$ (31,4% vs. 35,1%; p: 0,742) (Figuras 8C a 8F).

6.2.5 Supervivencia libre de enfermedad

La SLE también fue peor para pacientes con la variante homocigota UGT1A1*28 (16,4% vs. 36,8 % a los 5 años; p: 0,031). Figura 10. El análisis de subgrupos mostró cómo la SLE entre los genotipos UGT1A1 fue similar cuando se consideró solo a los hombres (21,2% vs. 30,7% a los 5 años; p: 0,580) mientras que las mujeres homocigotas UGT1A1*28 mostraron peor SLE que el resto de los genotipos (11,9% vs. 44,9% a los 5 años, p: 0,011). El análisis multivariante identificó el genotipo UGT1A1 rs8175347 como factor de riesgo independiente de peor SLE (p: 0,033; HR 1,60; IC 95 %: 1,04 - 2,46). Otros factores de riesgo detectados en el análisis multivariado fueron la edad mayor de 60 años, el género masculino, el recuento de leucocitos $\geq 100 \times 10^9/l$ y la ausencia de la mutación *NPM1*.

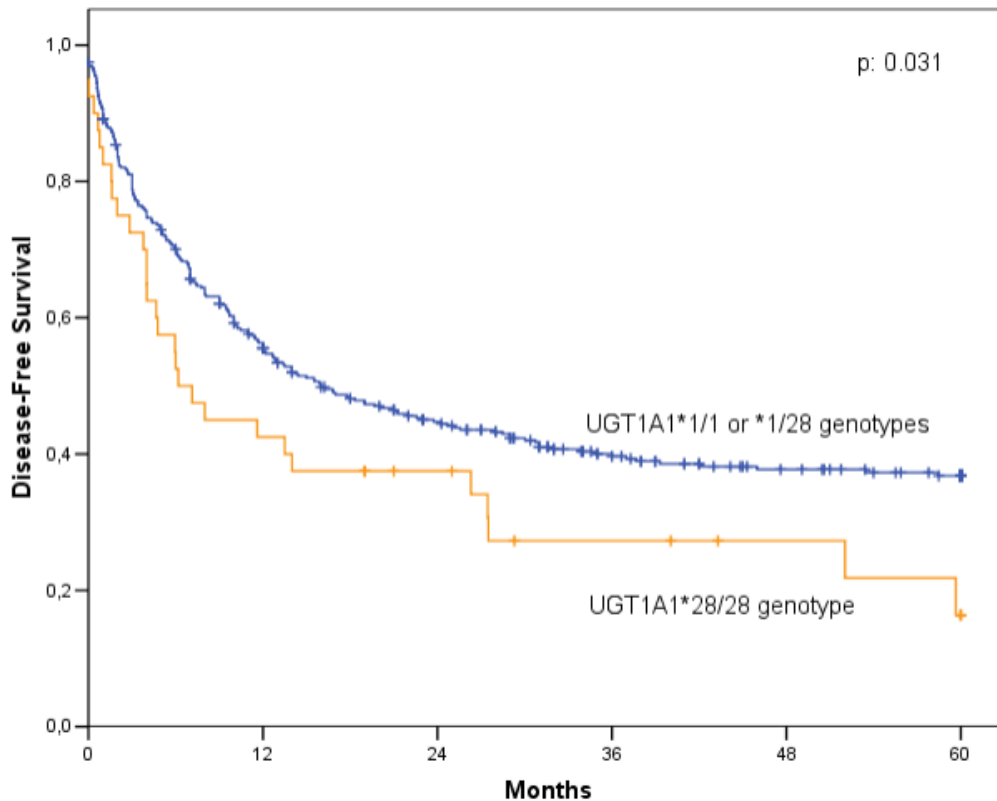


Figura 10. Supervivencia libre de enfermedad según el genotipo UGT1A1

6.2.6 Recaída

La incidencia de recaída fue del 63,7 % para pacientes homocigotos para la variante UGT1A1*28 y del 46,5 % para pacientes con genotipos UGT1A1*1/*1 o UGT1A1*1/*28. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p: 0,261$). El análisis de subgrupos no detectó diferencias significativas en la incidencia de recaídas en función del genotipo UGT1A1 ni en hombres (66,3% vs 52,1%; $p: 0,717$) ni en mujeres (51,1% vs 40,4%; $p: 0,197$).

6.2.7 Mortalidad sin recaída

Detectamos una tendencia estadística hacia una mayor incidencia de mortalidad sin recaída, en pacientes con la variante homocigota UGT1A1*28 (42.9% vs. 29,5% a los 5 años: $p: 0,094$). Al analizar solo a las mujeres, aquellas pacientes homocigotas para la variante UGT1A1*28 presentaron una incidencia de mortalidad significativamente mayor sin recaída. (30% vs. 9,5%; $p: 0,090$) (Figura 11). A pesar de este hallazgo, el análisis multivariante no logró detectar una asociación entre el genotipo UGT1A1 y la mortalidad sin recaída.

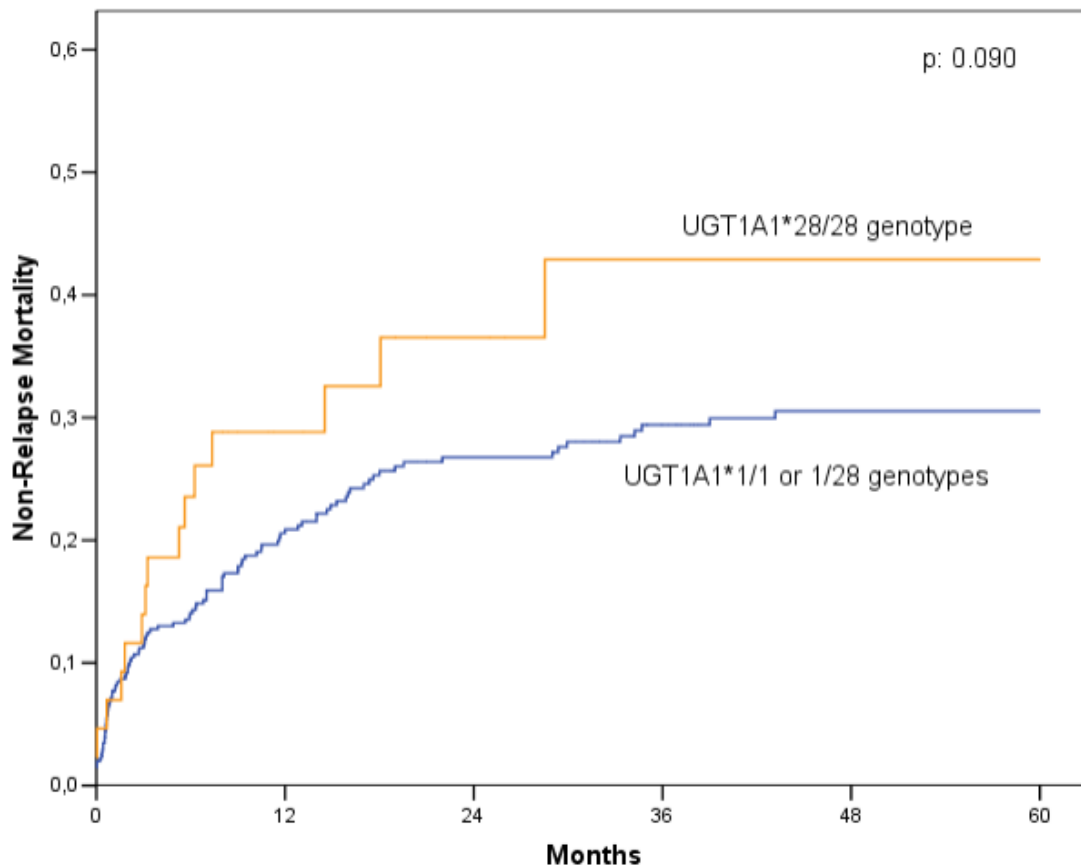


Figura 11. Mortalidad sin recaída en pacientes con genotipo UGT1A1

6.2.8 Causas de muerte

En este grupo de pacientes categorizamos la causa de muerte en 4 grupos:

- a. Muerte durante la quimioterapia de inducción
- b. Muerte en RC durante la quimioterapia de consolidación,
- c. Muerte en RC debido a causa relacionadas con el trasplante y
- d. Muerte con enfermedad activa (recaída o refractaria)

La incidencia de muerte durante la quimioterapia de inducción fue similar en todos los genotipos UGT1A1: 9.3% en pacientes homocigotos para la variante UGT1A1*28, 12,8% para heterocigotos y 9.6% para homocigotos UGT1A1 (p:0.553) En contraste la incidencia de muerte relacionada con toxicidad durante la quimioterapia de consolidación fue 14% en paciente homocigotos para UGT1A1*28, mientras que la incidencia fue más baja en heterocigotos o wild type (1.9% y 0.7% respectivamente) (p<0.001)

La enfermedad refractaria o recidiva fue la causa de muerte en el 34.9% de los homocigotos UGT1A1*28 frente al 27.3% del resto de pacientes. (p:0.295)

La mortalidad relacionada con el trasplante fue comparable entre ambos grupos genéticos UGT1A1 (9,3% vs. 10.7% respectivamente). (p: 0.781)

Cuando analizamos solo los pacientes incluidos en el protocolo LAM-03, nosotros detectamos los mismos resultados. El bajo número de pacientes homocigotos para UGT1A1*28 incluidos en el protocolo LAM 2012 (n:13) puede dificultar la obtención de resultados concluyentes en esta cohorte

7. DISCUSIÓN

El estudio de genes clave en la vía del metabolismo de la citarabina puede definir grupos de pacientes con leucemia aguda mieloblástica con mejor respuesta al tratamiento quimioterápico, así como otros más propensos a experimentar eventos adversos, con lo que podríamos llegar al uso de dosis individualizada de la citarabina en función del genotipo del paciente para determinados SNPs.

Hipotéticamente, un aclaramiento rápido de los metabolitos activos de este fármaco puede condicionar una menor tasa de remisión completa o una mayor incidencia de recaídas debido a que favorecería la persistencia de la enfermedad residual medible. Por el contrario, una cinética de eliminación lenta puede estar asociada con una mayor incidencia de efectos tóxicos.

Hemos explorado el papel de los polimorfismos rs2072671 y rs532545 en el gen que codifica para CDA. En nuestro estudio, encontramos diferencias estadísticamente significativas en la tasa de remisión completa tras el primer ciclo de inducción en base al genotipo del paciente para estos dos polimorfismos. Así, hemos encontrado una tasa de RC menor cuando el paciente era portador de al menos un alelo A en el SNP rs2072671 o un alelo C en el SNP rs532545, siendo esta asociación más evidente en pacientes con cariotipo normal, así como en aquellos pacientes que presentaban mutación en *NPM1* sin detección de *FLT3-ITD* (o bien con ratio baja), pero no en el resto de los grupos moleculares.

El hecho de que nuestro estudio encuentre asociación de la obtención de la RC con ambos polimorfismos puede explicarse debido al desequilibrio de ligamiento que presentan estos dos SNPs.

Este hallazgo se diferencia del trabajo publicado por Falk y colaboradores (2013), en el cual analizaban 205 pacientes caucásicos diagnosticados de LMA “de novo” con cariotipo normal, sin detectar diferencias en la tasa de remisión completa en base a estos mismos polimorfismos del gen CDA. Curiosamente, estos autores exploraron el efecto de estos polimorfismos tras exposición a fármacos “in vitro”, reportando que los genotipos rs2072671 CC y rs532545 TT se asociaban a una menor tasa de metilación global del ADN y a una sensibilidad alterada a inhibidores de topoisomerasa, pero no a los análogos de nucleósidos.

El hecho de que en nuestro estudio detectemos una menor tasa de RC cuando el paciente presentaba el genotipo AA/AC en rs2072671 o CC/CT en el SNP rs532545 especialmente en pacientes con cariotipo normal y con mutación *NPM1* sugeriría que probablemente estos genotipos estén condicionando un aclaramiento más rápido de los niveles intracelulares del metabolito activo, y que este efecto sea más evidente precisamente en aquellos pacientes con mutación de *NPM1*, que serían los más sensibles a la quimioterapia.

Sin embargo, en contra de esta hipótesis, no hemos observado asociación de los genotipos rs2072671 CC y/o rs532545 TT con una mayor toxicidad hematológica o extrahematológica, lo cual implica que probablemente los niveles intracelulares del metabolito activo de la citarabina no diferirán mucho entre genotipos. Del mismo modo, no hemos detectado que los polimorfismos estudiados en el gen de CDA tengan ningún impacto en supervivencia global, SLE, recidiva o mortalidad sin recidiva previa, por lo que no parece que disponer de este genotipo sea relevante en los pacientes con leucemia aguda mieloide de riesgo citogenético intermedio.

Hasta ahora disponemos de información contradictoria en la literatura científica sobre el efecto de los polimorfismos de CDA en pacientes con leucemia aguda. Así, Falk y colaboradores describieron una menor supervivencia global en pacientes con *FLT3*-ITD y genotipo rs2072671 CC o rs532545 TT. Hyo y colaboradores también describieron una menor supervivencia global en pacientes con genotipo rs2072671 CC/AC. Mahlknecht y colaboradores en cambio observaron que el polimorfismo rs2072671 no tenía influencia en supervivencia global, SLE, ni toxicidad, mientras que el genotipo rs532545 TT si que se asociaba a peor supervivencia global, sin encontrar asociación con toxicidad derivada del tratamiento. Por otra parte, Bhatla y colaboradores describieron que el genotipo rs2072671 CC se asociaba a mayor incidencia de toxicidad en forma de mucositis y aumento de la mortalidad sin recaída previa, pero no detectaron asociación con la SG ni con SLE.

En nuestro estudio, encontramos asociación entre el genotipo CDA rs2072671 AA/AC con trombocitopenia más prolongada después de la quimioterapia de inducción, en línea con estudios que sugieren mayor toxicidad con este genotipo.

(65,129,158,176)

No se encontró relación de toxicidad cutánea con el genotipo CDA rs532545 como se ha descrito en otras series.⁽⁹⁵⁾

También hemos explorado la correlación entre el genotipo de *NT5C2* con los eventos clínicos relacionados con el tratamiento de la leucemia aguda mieloblástica.

Jordheim y colaboradores describieron en 2008 que el genotipo en el SNP rs10883841 (7A>G) del gen NT5C2 (que supone un cambio de aminoácido de treonina a alanina) condiciona el nivel de expresión de este gen detectado mediante RT-PCR, asociándose el genotipo GG a una mayor expresión que el genotipo AA, lo cual supondría que los pacientes homocigotos para el alelo G tendrían una mayor capacidad de detoxificación de la citarabina que aquellos homocigotos para el alelo A.

En nuestro estudio no hemos encontrado diferente tasa de remisión completa tras la quimioterapia de inducción en función del genotipo rs10883841 del paciente, y tampoco hemos evidenciado que dicho genotipo condicione los días de neutropenia o de trombocitopenia tras la quimioterapia de inducción. En cambio, sí que hemos detectado una mayor incidencia de toxicidades extrahematológicas grados 3-4 en paciente homocigotos para el alelo A, del mismo modo que otros grupos habían descrito ⁽¹⁰²⁾ En nuestra serie este efecto tóxico parece estar delimitado a las mujeres con el genotipo rs10883841 AA. Este incremento de toxicidad en pacientes homocigotas para el alelo A estaría en correlación con la menor actividad enzimática asociada a este genotipo, lo que conllevaría un mayor acúmulo del metabolito activo de la citarabina. Paradójicamente hemos detectado un mayor tiempo de neutropenia y de trombocitopenia tras quimioterapia de consolidación en los pacientes con genotipo AG/GG.

Nuestros resultados también muestran una menor SG y SLE en el grupo de pacientes menores de 50 años con genotipo rs10883841 AA. En este sentido,

Falk y colaboradores describieron también una menor SG ante este genotipo, si bien en su estudio este efecto parecía circunscribirse a los pacientes sin *FLT3* ITD, sin explorar el efecto de la edad. En este sentido, como se comentó previamente, la SG disminuye con la edad en pacientes con LMA, tanto por la presencia de comorbilidades como por un mayor efecto tóxico de los esquemas de poliquimioterapia intensiva, y es por ello que decidimos estratificar en grupos de edad el estudio del impacto de los genotipos estudiados, eliminando así el sesgo que podría suponer incluir pacientes que “a priori” ya tendrían una peor supervivencia independientemente de su capacidad de metabolismo de la citarabina.

Otros grupos en cambio han descrito una peor SLE en los pacientes con niveles elevados de NT5C2 ⁽⁹⁸⁾. A pesar de que no estudiaron relación con genotipo, cabría pensar que niveles altos de expresión se asociarían con el genotipo rs10883841 GG (al revés de lo que nuestro estudio muestra), pero estos resultados no han sido corroborados por otros grupos.

Respecto a nuestros resultados explorando el papel del genotipo de UGT1A1 en los eventos clínicos y la supervivencia de pacientes con LMA de riesgo citogenético intermedio tratados con quimioterapia intensiva, cabe destacar que no hay estudios previos en población caucásica que explore esta relación.

Nuestros resultados mostraron una peor supervivencia global de los pacientes con el genotipo UGT1A1 rs8175347 TA7/TA7 (UGT1A1*28). Curiosamente, este efecto también parece detectarse especialmente en mujeres, siendo esta

asociación más evidente cuando el conteo de leucocitos inicial era inferior a $100 \times 10^9/L$.

Solamente un estudio previo, realizado en pacientes de origen chino, había detectado una relación entre el resultado del tratamiento con quimioterapia intensiva y el genotipo UGT1A1, si bien en este estudio se detectaba un mejor pronóstico en pacientes con el genotipo de glucuronidación lenta. ⁽¹⁰⁴⁾.

Nuestros resultados son opuestos a los descritos por Chen y colaboradores, pero hay que considerar las grandes diferencias en el background genético entre las cohortes analizadas: en primer lugar, la población asiática tiene una alta incidencia del polimorfismo UGT1A1*6, que también se asocia a una baja actividad enzimática pero que es casi inexistente en la población caucásica. Una segunda diferencia relevante es que nuestra cohorte se centra en pacientes con LMA-RI, mientras que la cohorte china incluía todas las categorías citogenéticas.

La tasa de remisión completa después de la quimioterapia de inducción no mostró una asociación con el genotipo UGT1A1, por lo que podemos especular que los niveles terapéuticos de Ara-C se alcanzan en los genotipos de glucuronidación rápida y lenta. Sin embargo, la mayor incidencia de muertes sin recaída leucémica previa observada en pacientes homocigotos para la variante UGT1A1*28 sugiere que este patrón de glucuronidación bajo podría estar asociado con una exposición más prolongada a niveles altos del fármaco, lo que conlleva a eventos tóxicos. Según los datos extrapolados de la experiencia de genotipar UGT1A1 en pacientes tratados con irinotecán, esperábamos encontrar neutropenia y trombocitopenia más prolongadas después de la quimioterapia de

inducción en pacientes homocigotos para la variante UGT1A1*28, pero la mediana fue similar entre los grupos de genotipo UGT1A1.

La toxicidad grado III-IV y la ratio de RC después de la quimioterapia de inducción no mostró asociación con el genotipo de UGT1A1, por lo que podemos especular que los niveles terapéuticos de Ara-C son alcanzados tanto en genotipos de glucuronizadores rápidos como lentos después de la quimioterapia de inducción sin incrementar la toxicidad, no hay diferencias a corto plazo en respuesta basados en el genotipo UGT1A1.

Por el contrario, la neutropenia más prolongada observada después de la quimioterapia de consolidación se asoció con una mayor mortalidad en pacientes homocigotos para la variante UGT1A1*28, sugiriendo que los pacientes glucuronizadores lentos pueden tener una exposición más prolongada a niveles altos de medicamento que puede generar los eventos tóxicos.

Además, la variante UGT1A1*28 fue asociada con un alto recuento de leucocitos al diagnóstico, a pesar de que estas diferencias no fueron estadísticamente significativas en nuestro estudio, sería relevante valorar esta observación en otras cohortes ya que este efecto podría no estar relacionado con el metabolismo de la citarabina, sino con otros factores de proliferación de la enfermedad. Si se confirman nuestros resultados, se puede considerar la reducción de la dosis de citarabina en la quimioterapia de intensificación en mujeres homocigotas para la variante UGT1A1*28 y ajuste de dosis para pacientes menores de 50 años con genotipo NT5C2 rs10883841 AA.

Encontramos importantes diferencias en cuanto a la respuesta clínica con estos polimorfismos, que justifican estudios de confirmación de resultados, para determinar la relevancia de estos genotipos, sobre la toxicidad y la supervivencia global en pacientes con LMA-RI, así como un análisis con las combinaciones de varios SNPs, y validar en una cohorte independiente con un número de pacientes más amplio dada la heterogeneidad de este grupo.

Es importante nombrar las limitaciones que existen en estos estudios retrospectivos, en este caso la limitación por el escaso y superficial registro de las toxicidades y el hecho de no usar un único quimioterápico y de usarse dosis diferentes puede hacer que se solapen las toxicidades o añada factores de confusión a la interpretación de resultados.

8. CONCLUSIONES

Como conclusión general, nuestro estudio muestra la asociación del genotipo NT5C2, CDA y UGT1A1 con la respuesta y toxicidad a la quimioterapia en pacientes con leucemia mieloide aguda de riesgo intermedio.

1. Hemos descrito la frecuencia de genotipos relacionados con los polimorfismos NT5C2 rs10883841, CDA rs532545, CDA rs2072671 y UGT1A1 rs8175347 en una cohorte de pacientes con leucemia aguda mieloblástica “de novo” con citogenética de riesgo intermedio. La distribución de genotipos no difiere de la previamente reportada en población caucásica.

2. Respecto la relevancia clínica de los polimorfismos de los genes que codifican enzimas implicadas en la vía clásica de metabolización de la citarabina en pacientes con leucemia aguda mieloblástica “de novo” con citogenética de riesgo intermedio, nuestros resultados muestran que:

- El genotipo en el SNP NT5C2 rs10883841 se asoció a un incremento de toxicidad hematológica y no hematológica, influyendo en la supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad e incidencia de recaída, detectándose esta asociación en pacientes menores de 50 años.

- El genotipo en los SNPs CDA rs532545 y CDA rs2072671 se asoció a la tasa de remisión completa, muy especialmente en pacientes con

cariotipo normal y mutación aislada de *NPM1*. Sin embargo, esto no supuso ningún impacto sobre la supervivencia global o supervivencia libre de enfermedad. Tampoco detectamos asociación entre los polimorfismos de citidín deaminasa con toxicidad de la quimioterapia.

3. Hemos descrito asociación del polimorfismo UGT1A1 rs8175347 con la respuesta y toxicidad a la quimioterapia en pacientes con leucemia mieloide aguda de riesgo citogenético intermedio

- Durante la quimioterapia de inducción se observó mayor duración de la neutropenia en pacientes homocigotos para la variante UGT1A1*28
- La supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad de las mujeres con el genotipo UGT1A1 rs8175347 TA7/TA7 (UGT1A1*28) fue peor, siendo esta asociación más evidente cuando el WBC inicial era inferior a $100 \times 10^9/L$.
- Se observó mayor incidencia de muerte relacionada con toxicidad durante la quimioterapia de consolidación en pacientes homocigotos para UGT1A1*28 ($p < 0.001$).

9. ANEXOS

ANEXO 1. ECOG Escala funcional.	
ECOG 0	El paciente se encuentra totalmente asintomático y es capaz de realizar un trabajo y actividades normales de la vida diaria.
ECOG 1	El paciente presenta síntomas que le impiden realizar trabajos arduos, aunque se desempeña normalmente en sus actividades cotidianas y en trabajos ligeros. El paciente sólo permanece en la cama durante las horas de sueño nocturno.
ECOG 2	El paciente no es capaz de desempeñar ningún trabajo, se encuentra con síntomas que le obligan a permanecer en la cama durante varias horas al día, además de las de la noche, pero que no superan el 50% del día. El individuo satisface la mayoría de sus necesidades personales solo.
ECOG 3	El paciente necesita estar encamado más de la mitad del día por la presencia de síntomas. Necesita ayuda para la mayoría de las actividades de la vida diaria como por ejemplo el vestirse.
ECOG 4	El paciente permanece encamado el 100% del día y necesita ayuda para todas las actividades de la vida diaria, como por ejemplo la higiene corporal, la movilización en la cama e incluso la alimentación.
ECOG 5	Fallecido.

ANEXO 2. HCT-CI: índice de comorbilidad para Trasplante de células hematopoyéticas.		
Arritmia	Fibrilación auricular* o <i>flutter</i> * o enfermedad del seno* o arritmia ventricular*.	1
Cardiovascular	Enfermedad coronaria* o infarto de miocardio* o insuficiencia cardiaca congestiva* o fracción de eyección ≤50%.	1
Valvulopatía	Excepto prolapso de válvula mitral asintomático.	3
Cerebrovascular	Accidente isquémico transitorio y/o accidente cerebrovascular isquémico o hemorrágico.	1
Pulmonar leve o moderada	DLCO y/o FEV1 66%-80% o disnea con actividad ligera o moderada.	2
Pulmonar severa	DLCO y/o FEV1 ≤65% o disnea de reposo o requiere oxígeno.	3
Hepática leve	Hepatitis crónica o bilirrubina persistente entre VSN hasta 1,5 x VSN o AST/ALT entre VSN hasta 2,5 x VSN.	1
Hepática moderada a grave	Cirrosis, fibrosis, bilirrubina >1,5 x VSN o AST/ALT >2,5 x VSN.	3
Renal	Creatinina persistente >2 mg/Dl o diálisis o trasplante renal.	2
Tumor sólido	Tumores malignos en cualquier momento de la historia del paciente, excluyendo neoplasias cutáneas diferentes del melanoma.	3
Reumatológica	Enfermedad reumatológica que requiera tratamiento.	2
Enfermedad inflamatoria intestinal	Enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa.	1
Úlcera péptica	Úlcera péptica que requiera tratamiento.	2
Diabetes	Diabetes que requiera tratamiento con insulina o hipoglucemiantes orales.	1
Depresión / Ansiedad	Depresión o ansiedad que requiera tratamiento o consulta profesional.	1
Obesidad	Índice de masa corporal >35 en adultos.	1
Infección	Infección que requiera tratamiento (específico de trasplante)	1
Detectada en cualquier momento de la historia del paciente.		
DLCO: capacidad de difusión de CO pulmonar; FEV1: volumen espiratorio forzado en un segundo; VSN: valor superior de la normalidad; AST: aspartato aminotransferasa; ALT alanina aminotransferasa.		

10. REFERENCIAS

1. Cancer Statistics in Spain 2022. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM).
2. Montesinos P, Gil A, Sierra J. Current status of acute myeloid leukaemia in Spain: Results from a Delphi study on its epidemiology, disease management and un met clinical needs. *Med Clin.* 2021; 156: 573-574.
3. Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an International expert panel. *Blood* 2017; 129: 424–447.
4. Kishtagari A, Levine RL, Viny AD. Driver mutations in acute myeloid leukemia. *Curr Opin Hematol.* 2020;27(2):49-57
5. Martínez-Cuadrón D, Serrano J, Gil C, Tormo M, Martínez-Sánchez P, Pérez-Simón J.A, et al. Evolving Treatment Patterns and Outcomes in older Patients (60 Years) with AML: Changing Everything to Change Nothing. *Leukemia* 2021; 35, 1571–1585.
6. Short N.J, Rytting M.E, Cortes J.E, Acute Myeloid Leukaemia. *Lancet* 2018, 392, 593–606.
7. Savitz DA, Andrews KW. Review of epidemiologic evidence on benzene and lymphatic and hematopoietic cancers. *Am J Ind Med.* 1997;31(3):287-295.
8. Deschler B, Lübbert M. Acute myeloid leukemia: Epidemiology and etiology. *Cancer.* 2006;107(9):2099-2107.
9. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, Craddock C, DiNardo CD, Dombret H, Ebert BL, et al. Diagnosis and Management of AML in Adults: 2022 ELN Recommendations from an International Expert Panel. *Blood.* 2022 Jul 7: blood.2022016867.

10. Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, ET AL. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022 Jul;36(7):1703-1719.
11. Weinberg OK, Kuo F, Calvo KR. et al. Germline predisposition to hematolymphoid neoplasia. *Am J Clin Pathol*.2019;152(3):258-276
12. Cancer Genome Atlas Research Network; Ley TJ, Miller C, Ding L, Raphael BJ, Mungall AJ, Robertson A, et al. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia, *New Engl J Med* 2013; 368: 2059–2074.
13. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, Gaidzik VI, Paschka P, Roberts ND. et al. Genomic classification and prognosis in acute myeloid leukemia. *New Engl J Med* 2016; 374: 2209– 2221.
14. Tyner JW, Tognon CE, Bottomly D, Wilmot B, Kurtz SE, Savage SL. et al. Functional genomic landscape of acute myeloid leukaemia. *Nature* 2018; 562: 526–531.
15. Bullinger L, Dohner K, Dohner H. Genomics of Acute Myeloid Leukemia Diagnosis and Pathways. *J Clin Oncol*. 2017;35(9):934-946.
16. Metzeler KH, Herold T, Rothenberg-Thurley M, Amler S, Sauerland MC, Gorlich D, et al. Spectrum and prognostic relevance of driver gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2016;128(5):686-698.
17. Xie M, Lu C, Wang J, McLellan MD, Johnson KJ, Wendl MC, et al. Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nat Med*. 2014;20(12):1472-8. doi: 10.1038/nm.3733

18. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, Manning A, Grauman PV, Mar BG, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med*. 2014 25;371(26):2488-98.
19. Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, Lindberg J, Rose SA, Bakhoum SF, et al. Clonal hematopoiesis and blood cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Eng Med*. 2014;371(26):2477-87.
20. Desai P, Mencia-Trinchant N, Savenkov O, Simon MS, Cheang G, Lee S, et al. Somatic mutations precede acute myeloid leukemia years before diagnosis. *Nat Med*. 2018;24(7):1015-1023.
21. Abelson S, Collord G, Ng SWK, Weissbrod O, Mendelson Cohen N, Niemeyer E, et al. Prediction of acute myeloid leukaemia risk in healthy individuals. *Nature*. 2018;559(7714):400-404.
22. Short NJ, Zhou S, Fu C, Berry DA, Walter RB, Freeman SD, et al. Association of Measurable Residual Disease With Survival Outcomes in Patients With Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review and Metaanalysis. *JAMA Oncol*. 2020 1;6(12):1890-1899.
23. Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2015;373(12): 1136-1152
24. He J, Abdel-Wahab O, Nahas MK, Wang K, Rampal RK, Intlekofer AM, et al. Integrated genomic DNA/RNA profiling of hematologic malignancies in the clinical setting. *Blood*. 2016;127(24):3004-3014
25. McKerrell T, Moreno T, Ponstingl H, Bolli N, Dias JM, Tischler G, et al. Development and validation of a comprehensive genomic diagnostic tool for myeloid malignancies. *Blood*. 2016;128(1):e1-e9.

26. Heuser M, Freeman SD, Ossenkoppele GJ, et al. 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. 2021;138(26):2753-2767.
27. Dillon R, Potter N, Freeman S, Russell N. et al How we use molecular minimal residual disease (MRD) testing in acute myeloid leukaemia (AML). *Br J Haematol*. 2021;193(2):231-244.
28. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French American-British (FAB) cooperative group. *Br J Haematol*. 1976;33(4):451-458
29. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French- American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med*. 1985;103(4):620-625.
30. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AMLMO). *Br J Haematol*. 1991;78(3):325-329.
31. Hossfeld. E.S. Jaffe, N.L. Harris, H. Stein, J.W. Vardiman (eds). World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. *Annals of Oncology*, (2002).;13(3):490-491.
32. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. "The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia". *Blood* 2016; 127 (20): 2391-2405.

33. Sorror ML, Maris MB, Storb R, Baron F, Sandmaier BM, Maloney DG, et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)- specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood*. 2005;106:2912-2919.
34. Meyer SC, Levine RL. Translational implications of somatic genomics in acute myeloid leukaemia. *Lancet Oncol*. 2014;15(9):e382-e394
35. Grimwade D, Ivey A, Huntly BJ. Molecular landscape of acute myeloid leukemia in younger adults and its clinical relevance. *Blood*. 2016;127(1):29-41.
36. Döhner K, Thiede C, Jahn N, Panina E, et al. Impact of NPM1/FLT3-ITD genotypes defined by the 2017 European LeukemiaNet in patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 2020;135(5):371-380.
37. Angenendt L, Röllig C, Montesinos P, et al. Chromosomal abnormalities and prognosis in NPM1-mutated acute myeloid leukemia: a pooled analysis of individual patient data from nine international cohorts. *J Clin Oncol*. 2019;37(29):2632-2642.
38. Alpermann T, Schnittger S, Eder C, Dicker F, Meggendorfer M, Kern W. et al. Molecular subtypes of NPM1 mutations have different clinical profiles, specific patterns of accompanying molecular mutations and varying outcomes in intermediate risk acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2016; 101(2):e55-58.
39. Stone RM, Mandrekar SJ, Sanford BL, et al. Midostaurin plus chemotherapy for acute myeloid leukemia with a FLT3 mutation. *N Engl J Med*. 2017;377(5):454-464.

40. Falini B, Mecucci C, Tiacci E, Alcalay M, Rosati R, Pasqualucci L. *et al.* Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *N. Engl. J. Med.* 2005. 352, 254–266
41. Döhner H, Weber D, Krzykalla J, *et al.* Midostaurin plus intensive chemotherapy for younger and older patients with AML and FLT3 internal tandem duplications. *Blood Adv.* 2022 Apr 29;blood advances.2022007223.
42. Heath EM, Chan SM, Minden MD, Murphy T, Shlush LI, Schimmer AD. Biological and clinical consequences of NPM1 mutations in AML. *Leukemia.* 2017;31(4):798-807.
43. Falini B, Brunetti L, Sportoletti P, Martelli MP. NPM1-mutated acute myeloid leukemia: from bench to bedside. *Blood.* 2020; 8;136(15):1707-1721,
44. Sportoletti P, Varasano E, Rossi R, Mupo A, Tiacci E, Vassiliou G, *et al.* Mouse models of *NPM1*-mutated acute myeloid leukemia: biological and clinical implications. *Leukemia* 2015; 29, 269–278.
45. Herrera JE, Savkur R, Olson MO. The ribonuclease activity of nucleolar protein B23. *Nucleic Acids Res.* 1995 11;23(19):3974-3979
46. Okuda M, Horn HF, Tarapore P, Tokuyama Y, Smulian AG, Chan PK. *Et al.* Nucleophosmin/B23 is a target of CDK2/cyclin E in centrosome duplication. *Cell.* 2000;103(1):127-140
47. Poletto M, Lirussi L, Wilson DM 3rd, Tell G. Nucleophosmin modulates stability, activity, and nucleolar accumulation of base excision repair proteins. *Mol Biol Cell.* 2014 ;25(10):1641-1652.

48. Okuwaki M, Matsumoto K, Tsujimoto M, Nagata K. Function of nucleophosmin/B23, a nucleolar acidic protein, as a histone chaperone. *FEBS Lett.* 2001 Oct 12;506(3):272-276.
49. Box JK, Paquet N, Adams MN, Boucher D, Bolderson E, O'Byrne KJ, Richard DJ. Nucleophosmin: from structure and function to disease development. *BMC Mol Biol.* 2016;17(1):19
50. Pratz KW, Levis M. How I treat FLT3-mutated AML. *Blood.* 2017;129(5):565-571
51. Meshinchi S, Appelbaum FR. Structural and functional alterations of FLT3 in acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res.* 2009; 1;15(13):4263-4269.
52. Thiede C, Steudel C, Mohr B, Schaich M, Scha U, Platzbecker U, et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood.* 2002;99(12):4326-4336.
53. Fröhling S, Schlenk RF, Breitruck J, Benner A, Kreitmeier S, Tobis K, et al. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. *Blood.* 2002;100(13):4372-4380.
54. Heidel F, Solem FK, Breitenbuecher F, et al. Clinical resistance to the kinase inhibitor PKC412 in acute myeloid leukemia by mutation of Asn-676 in the FLT3 tyrosine kinase domain. *Blood.* 2006 Jan;107(1):293-300.
55. Armstrong SA, Staunton JE, Silverman LB, Pieters R, den Boer ML, Minden MD, et al.. MLL translocations specify a distinct gene expression profile that distinguishes a unique leukemia. *Nat Genet* 2002;30: 41–47.

56. Byrd J. C, Mrózek K, Dodge RK, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC. et al., Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: Results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood* 2002;100, 4325– 4336.
57. Meyer C, Burmeister T, Gröger D, Tsaur G, Fechina L, Renneville A, et al. The MLL recombinome of acute leukemias in 2017. *Leukemia* 2018; 32: 273–284
58. Holz-Schietinger C, Matje DM, Reich NO. Mutations in DNA methyltransferase (DNMT3A) observed in acute myeloid leukemia patients disrupt processive methylation. *J Biol Chem* 2012 287: 30941– 30951.
59. Russler-Germain DA, Spencer DH, Young MA, Lamprecht TL, Miller CA, Fulton R. et al. The R882H DNMT3A mutation associated with AML dominantly inhibits wild-type DNMT3A by blocking its ability to form active tetramers. *Cancer Cell* 2014;25: 442–454.
60. Guryanova OA, Shank K, Spitzer B, Luciani L, Koche RP, Garrett Bakelman FE, et al. DNMT3A mutations promote anthracycline resistance in acute myeloid leukemia via impaired nucleosome remodeling. *Nat Med* 2016; 22: 1488– 1498.
61. Thol F, Damm F, Ludeking A, Winschel C, Wagner K, Morgan M, et al. Incidence and prognostic influence of DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2011;29:2889-2896.

62. Marcucci G, Metzeler KH, Schwind S, Becker H, Maharry K, Mrózek K. et al. Age-related prognostic impact of different types of DNMT3A mutations in adults with primary cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2012; 30: 742–750.
63. Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, Larson DE, McLellan MD, Chen K, et al.. Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *New Engl J Med* 2009 361: 1058–1066.
64. Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C, Ward PS, Patel J, Shih A. et al. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer Cell* 2010;18: 553–567.
65. Xu W, Yang H, Liu Y, Yang Y, Wang P, Kim SH. et al.. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell* 2011;19: 17–30.
66. Medeiros BC, Fathi AT, DiNardo CD, Pollyea DA, Chan SM, Swords R. Isocitrate dehydrogenase mutations in myeloid malignancies. *Leukemia* 2017; 31: 272–281.
67. Stein EM, DiNardo CD, Pollyea DA, Fathi AT, Roboz GJ, Altman JK, et al. Enasidenib in mutant IDH2 relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood* 2017 ;130: 722–731.
68. DiNardo CD, Stein EM, de Botton S, Roboz GJ, Altman JK, Mims AS, et al. Durable remissions with ivosidenib in IDH1- mutated relapsed or refractory AML. *New Engl J Med* 2018; 378: 2386–2398.
69. Byrd J.C, Ruppert A.S, Mrozek K, Carroll A.J, Edwards C.G, Arthur D.C, et al. Repetitive cycles of high-dose cytarabine benefit patients with acute

- myeloid leukemia and inv(16)(p13q22) ort(16;16)(p13;q22): Results from CALGB 8461. *J. Clin. Oncol.* 2004, 22, 1087–1094.
70. Schlenk, R.F. Post-remission therapy for acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2014, 99, 1663–1670.
71. Rowe, J.M. Optimal induction and post-remission therapy for AML in first remission. *Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* 2009, 2009, 396–405.
72. Borthakur G, Cortes JE, Estey EE, Jabbour E, Faderl S, O'Brien S et al. Gemtuzumab ozogamicin with fludarabine, cytarabine, and granulocyte colony stimulating factor (FLAG-GO) as front-line regimen in patients with core binding factor acute myelogenous leukemia. *Am. J. Hematol.* 2014;89, 964–968
73. Borthakur G, Cortes J, Ravandi F. Fludarabine, cytarabine, G-CSF and gemtuzumab ozogamicin (FLAG-GO) regimen results in better molecular response and relapse-free survival in core binding factor acute myeloid leukemia than FLAG and idarubicin (FLAG-Ida). *Blood* 2019;134, 290.
74. Graham F.L, Whitmore G.F. Studies in mouse L-cells on the incorporation of 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine into DNA and on inhibition of DNA polymerase by 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine 50-triphosphate. *Cancer Res.* 1970;30, 2636–2644.
75. Ross DD, Cuddy DP, Cohen N, Hensley DR. Mechanistic implications of alterations in HL-60 cell nascent DNA after exposure to 1-beta-Darabinofuranosylcytosine. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1992, 31, 61–70.

76. Herzig R.H, Lazarus H.M, Wolff S.N, Phillips G.L, Herzig G.P. High-dose cytosine arabinoside therapy with and without anthracycline antibiotics for remission reinduction of acute nonlymphoblastic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 1985, 3, 992–997.
77. Mayer R.J, David R.B, Schiffer C.A, Berg D.T, Powell B.L, Schulman, P, et al. 3rd. Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. Cancer and Leukemia Group B. *N. Engl. J. Med.* 1994, 331, 896–903.
78. Schlenk, R.F. Post-remission therapy for acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2014, 99, 1663–1670.
79. Lowenberg, B. Sense and nonsense of high-dose cytarabine for acute myeloid leukemia. *Blood* 2013, 121, 26–28.
80. Lowenber B, Pabst T, Vellenga E, van Putten W, Schouten H.C, Graux C. et al. Cytarabine dose for acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364, 1027–1036.
81. McClune B, Buadi F.K, Aslam N, Przepiorka D. Intrathecal liposomal cytarabine for prevention of meningeal disease in patients with acute lymphocytic leukemia and high-grade lymphoma. *Leuk. Lymphoma* 2007;48, 1849–1851.
82. Olmos-Jimenez R, Diaz-Carrasco M.S, Galera-Minarro A, PascualGazquez J.F, Espuny-Miro A. Evaluation of standardized triple intrathecal therapy toxicity in oncohematological pediatric patients. *Int. J. Clin. Pharm.* 2017, 39, 126–132.
83. Weick JK, Kopecky KJ, Appelbaum FR, Head DR, Kingsbury LL, Balcerzak SP et al. A randomized investigation of high-dose versus

- standard dose cytosine arabinoside with daunorubicin in patients with previously untreated acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group study. *Blood* 1996;88, 2841–2851
84. Bishop JF, Matthews JP, Young GA, Szer J, Gillett A, Joshua D, F. et al. A randomized study of high-dose cytarabine in induction in acute myeloid leukemia. *Blood* 1996; 87, 1710–1717
85. Sundaram M, Yao SY, Ingram JC, Berry ZA, Abidi F, Cass CE. et al. Topology of a human equilibrative, nitrobenzylthioinosine (NBMPR) sensitive nucleoside transporter (hENT1) implicated in the cellular uptake of adenosine and anti-cancer drugs. *J Biol Chem.* 2001;276(48):45270– 45275.
86. Megías-Vericat J.E Montesinos P, Herrero M.J, Bosó V, Martínez-Cuadró D, Poveda J.L. et al. Pharmacogenomics and the Treatment of Acute Myeloid Leukemia. *Pharmacogenomics* 2016, 17, 1245–1272.
87. Pastor-Anglada M, Pérez-Torras S. Nucleoside Transporter Proteins as Biomarkers of Drug Responsiveness and Drug Targets. *Front. Pharmacol.* 2015; 10;6:13
88. Clarke M.L Mackey J.R, Baldwin S.A, Young J.D, Cas C.E. The role of membrane transporters in cellular resistance to anticancer nucleoside drugs. *Cancer Treat. Res.* 2002;112, 27–47.
89. Clarke M.L, Damaraju V.L, Zhang J, Mowles D, Tackaberry T, Lang T. Et al. The role of human nucleoside transporters in cellular uptake of 40-thio-beta-D-arabinofuranosyl cytosine and beta-D-arabinosylcytosine. *Mol. Pharmacol.* 2006; 70, 303–310.

90. Endo Y, Obata T, Murata D, Ito M, Sakamoto K, Fukushima M. Et al. Cellular localization and functional characterization of the equilibrative nucleoside transporters of antitumor nucleosides. *Cancer Sci.* 2007, 98, 1633–1637.
91. Galmarini C.M, Thomas X, Calvo F, Rousselot P, Rabilloud M, El Jaffari A. Et al. In vivo mechanisms of resistance to cytarabine in acute myeloid leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2002, 117, 860–868.
92. Sarkar M, Han T, Damaraju V, Carpenter P, Cass C.E, Agarwal R.P. Cytosine arabinoside affects multiple cellular factors and induces drug resistance in human lymphoid cells. *Biochem. Pharmacol.* 2005, 70, 426–432.
93. Yee S.W, Mefford J.A, Singh N, Percival M.E, Stecula A, Yang K. et al. Impact of polymorphisms in drug pathway genes on disease-free survival in adults with acute myeloid leukemia. *J. Hum. Genet.* 2013; 58, 353–361.
94. Errasti-Murugarren E, Pastor-Anglada M, Casado F.J. Role of CNT3 in the transepithelial flux of nucleosides and nucleoside-derived drugs. *J. Physiol* 2007; 582 Pt 3, 1249–1260.
95. Megías-Vericat J.E, Martínez-Cuadrón D, Solana-Altabella A, Montesinos P. Precision Medicine in Acute Myeloid Leukemia: Where Are We Now and What Does the Future Hold. *Expert Rev. Hematol.* 2020, 13, 1057–1065.
96. Chou T.C, Arlin Z, Clarkson B.D, Phillip F.S. Metabolism of 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine in human leukemic cells. *Cancer Res.* 1977, 37, 3561–3570.

97. Cacciamani T, Vita A, Cristalli G, Vincenzetti S, Natalini P, Ruggieri S. Purification of human cytidinedeaminase: Molecular and enzymatic characterization and inhibition by synthetic pyrimidine analogs. *Arch. Biochem. Biophys.* 1991, 290, 285–292.
98. Megías-Vericat J.E, Montesinos P, Herrero M.J, Moscard F, Bosó V, Martínez-Cuadrón D, et al. Influence of Cytarabine Metabolic Pathway Polymorphisms in Acute Myeloid Leukemia Induction Treatment. *Leuk. Lymphoma* 2017; 58, 2880–2894.
99. Hunsucker SA, Mitchell BS, Spychala J. The 5'-nucleotidases as regulators of nucleotide and drug metabolism. *Pharmacol Ther.* 2005;107(1):1–30.
100. Galmarini CM, Cros E, Thomas X, Jordheim L, Dumontet C. The prognostic value of cN-II and cN-III enzymes in adult acute myeloid leukemia. *Haematologica.* 2005;90(12):1699–1701.
101. Mitra AK, Crews KR, Pounds S, Cao X, Feldberg T, Ghodke Y, et al. Genetic variants in cytosolic 5'-nucleotidase II are associated with its expression and cytarabine sensitivity in HapMap cell lines and in patients with acute myeloid leukemia. *J Pharmacol Exp Ther.* 2011;339(1):9–23.
102. Di Francia R, Crisci S, De Monaco A, Cafiero C, Re A, Iaccarino G, et al. Response and Toxicity to Cytarabine Therapy in Leukemia and Lymphoma: From Dose Puzzle to Pharmacogenomic Biomarkers. *Cancers (Basel).* 2021;13(5):966.
103. Zahreddine HA, Culjkovic-Kraljacic B, Assouline S, Gendron P, Romeo AA, Morris SJ, et al. The sonic hedgehog factor GLI1 imparts drug resistance through inducible glucuronidation. *Nature.* 2014;511:90–3.

104. Chen P, Zhu KW, Zhang DY, Yan H, Liu H, Liu YL, et al. Influence of UGT1A1 polymorphisms on the outcome of acute myeloid leukemia patients treated with cytarabine-based regimens. *J Transl Med.* 2018; 16(1): 197.
105. Tukey RH, Strassburg CP. Human UDP-glucuronosyltransferases: metabolism, expression, and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2000; 40:581–616.
106. Williams JA, Hyland R, Jones BC, Smith DA, Hurst S, Goosen TC, et al. Drug-drug interactions for UDP-glucuronosyltransferase substrates: a pharmacokinetic explanation for typically observed low exposure (AUC_i/AUC) ratios. *Drug Metab Dispos.* 2004; 32:1201–1208.
107. Beutler E, Gelbart T, Demina A. Racial variability in the UDPglucuronosyltransferase 1 (UGT1A1) promoter: a balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 8170–8174.
108. Ando Y, Saka H, Ando M, Sawa T, Muro K, Ueoka H, et al. Polymorphisms of UDP-glucuronosyltransferase gene and irinotecan toxicity: a pharmacogenetic analysis. *Cancer Res* 2000; 60: 6921-6926.
109. Innocenti F, Undevia SD, Iyer L, Chen PX, Das S, Kocherginsky M, et al. Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1382-1388.
110. de Jong FA, Kehrer DF, Mathijssen RH, Creemers GJ, de Bruijn P, van Schaik RH, et al. Prophylaxis of irinotecan-induced diarrhea with neomycin and potential role for UGT1A1*28 genotype screening: a

- double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Oncologist* 2006; 11: 944-954.
111. Bosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C, Gantla S, de Boer A, Oostra BA, et al. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDPglucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Engl J Med* 1995; 333:1171–1175
112. Cusato J, Allegra S, De Francia S, Massano D, Piga A, D'Avolio A. Role of pharmacogenetics on deferasirox AUC and efficacy. *Pharmacogenomics*. 2016 Apr;17(6):561-72
113. Yamada A, Maeda K, Ishiguro N, Tsuda Y, Igarashi T, Ebner T. Et al The impact of pharmacogenetics of metabolic enzymes and transporters on the pharmacokinetics of telmisartan in healthy volunteers, *Pharmacogenetics and Genomics*: 2011;21(9):523-30
114. Huang L, Yang L, Huang J, Tan HY, Liu SK, Guo CX. Et al. Effects of UGT1A1 Polymorphism, Gender and Triglyceride on the Pharmacokinetics of Telmisartan in Chinese Patients with Hypertension: A Population Pharmacokinetic Analysis. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2019;44(6):797-806.
115. Pápai Z, Chen LC, Da Costa D, Blotner S, Vazvaei F, Gleave M. Et al. A single-center, open-label study investigating the excretion balance, pharmacokinetics, metabolism, and absolute bioavailability of a single oral dose of [¹⁴C]-labeled idasanutlin and an intravenous tracer dose of [¹³C] labeled idasanutlin in a single cohort of patients with solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2019 Jul;84(1):93-103.

116. Marcuello E, AltésA, Menoyo A, Del Rio E, Gómez-Pardo M, Baiget M. UGT1A1 gene variations and irinotecan treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *Br. J. Cancer* 2004; 91, 678–682.
117. Palomaki G.E, Bradley L.A, Douglas M.P, Kolor K, Dotso W.D. Can UGT1A1 genotyping reduce morbidity and mortality in patients with metastatic colorectal cancer treated with irinotecan. An evidence-based review. *Genet. Med.* 2009, 11, 21–34.
118. Yong W.P, Innocenti F, Ratain M.J. The role of pharmacogenetics in cancer therapeutics. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2006, 62, 35–46.
119. O'Dwyer P.J, Catalano R.B. Uridine diphosphate glucuronosyltransferase (UGT) 1A1 and irinotecan: Practical pharmacogenomics arrives in cancer therapy. *J. Clin. Oncol.* 2006, 24, 4534–4538.
120. KNMP-DPWG. UGT1A1: Irinotecan. 2018. Available online: <https://www.g-standaard.nl/risicoanalyse/B0001694.PDF>.
121. Raccomandazioni Per Analisi Farmacogenetiche. Available online: <https://www.aiom.it/wp-content/uploads/2019/10/2019>
122. Etienne-Grimaldi M.C, Boyer J.C, Thomas F, Quaranta S, Picard N, Loriot M.A. et al. UGT1A1 genotype and irinotecan therapy: General review and implementation in routine practice. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2015, 29, 219–237.
123. Lankisch T.O, Schulz C, Zwingers T, Erichsen T.J, Mann M.P, Heinemann V. Et al. Gilbert's Syndrome and irinotecan toxicity: Combination with UDP-glucuronosyltransferase 1A7 variants increases risk. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2008, 17, 695–701.

124. Cecchin E, Innocenti F, D'Andrea M, Corona G, De Mattia E, Bion P. Et al. Predictive role of the UGT1A1, UGT1A7, and UGT1A9 genetic variants and their haplotypes on the outcome of metastatic colorectal cancer patients treated with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan. *J. Clin. Oncol.* 2009, 27, 2457–2465.
125. Li B, Whirl-Carrillo M, Wright M.W, Babb L, Rehm H.L, Klein T.E. An Investigation of the Knowledge Overlap between Pharmacogenomics and Disease Genetics. *Pac. Symp. Biocomput.* 2022, 27, 385–396.
126. Paugh S.W, Stocco G, McCorkle J.R, Diouf B, Crews K.R, Evans, W.E. Cancer pharmacogenomics. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2011, 90, 461–466.
127. McPherson J.D, Marra M, Hillier L, Waterston R.H, Chinwalla A, Wallis, J. et al. A physical map of the human genome. *Nature* 2001, 409, 934–941.
128. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature* 2008, 455, 1061–1068.
129. Jordheim LP, Durantel D, Zoulim F, Dumontet C. Advances in the development of nucleoside and nucleotide analogues for cancer and viral diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2013, 12, 447–464.
130. Huang R.S, Dolan M.E. Approaches to the discovery of pharmacogenomic markers in oncology: 2000-2010-2020. *Pharmacogenomics* 2010, 11, 471–474.

131. Wheeler H.E, Maitland M.L, Dolan M.E, Cox N.J, Ratain M.J. Cancer pharmacogenomics: Strategies and challenges. *Nat. Rev. Genet.* 2013, 14, 23–34.
132. Kim S.R, Saito Y, Maekawa K, Sugiyama E, Kaniwa N, Ueno H. et al. Thirty novel genetic variations in the SLC29A1 gene encoding human equilibrative nucleoside transporter 1 (hENT1). *Drug Metab. Pharm.* 2006, 21, 248–256.
133. Kim KI, Huh IS, Kim IW, Park T, Ahn KS, Yoon SS. Et al Combined Interaction of Multi-Locus Genetic Polymorphisms in Cytarabine Arabinoside Metabolic Pathway on Clinical Outcomes in Adult Acute Myeloid Leukaemia (AML) Patients. *Eur. J. Cancer* 2013, 49, 403–410.
134. Wan H, Zhu J, Chen F, Xiao F, Huang H, Han X. et al. SLC29A1 single nucleotide polymorphisms as independent prognostic predictors for survival of patients with acute myeloid leukemia: an in vitro study. *J Exp Clin Cancer Res.* 2014;33(1):90.
135. Zhang J, Visser F, King KM, Baldwin SA, Young JD, Cass CE. The role of nucleoside transporters in cancer chemotherapy with nucleoside drugs. *Cancer Metastasis Rev.* 2007, 26, 85–110.
136. Amaki J, Onizuka M, Ohmachi K, et al. Single nucleotide polymorphisms of cytarabine metabolic genes influence clinical outcome in acute myeloid leukemia patients receiving high-dose cytarabine therapy. *Int J Hematol.* 2015;101(6):543–553.
137. Gréen H, Falk IJ, Lotfi K, Paul E, Hermansson M, Rosenquist R. et al. Association of ABCB1 Polymorphisms with Survival and in Vitro

- Cytotoxicity in de Novo Acute Myeloid Leukemia with Normal Karyotype. Pharm. J. 2012, 12, 111–118.
138. Galmarini CM, Thomas X, Graham K, El Jafaari A, Cros E, Jordheim L, Mackey JR, Dumontet C. Deoxycytidine kinase and cN-II nucleotidase expression in blast cells predict survival in acute myeloid leukaemia patients treated with cytarabine. Br. J. Haematol. 2003, 122, 53–60.
139. Shi J.Y, Shi Z.Z, Zhang S.J, Zhu Y.M, Gu B.W, Li G. et al. Association between single nucleotide polymorphisms in deoxycytidine kinase and treatment response among acute myeloid leukaemia patients. Pharmacogenetics 2004, 14, 759–768.
140. Joerger M, Bosch T.M, Doodeman V.D, Beijnen J.H, Smits P.H, Schellens J.H. Novel deoxycytidine kinase gene polymorphisms: A population screening study in Caucasian healthy volunteers. Eur. J. Clin. Pharmacol. 2006, 62, 681–684.
141. Lamba J.K, Crews K, Pounds S, Schuetz E.G, Gresham J, Gandhi V. Et al Pharmacogenetics of deoxycytidine kinase: Identification and characterization of novel genetic variants. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2007, 323, 935–945.
142. Cai J, Damaraju V.L, Groulx N, Mowles D, Peng Y, Robins M.J. et al. Two distinct molecular mechanisms underlying cytarabine resistance in human leukemic cells. Cancer Res. 2008, 68, 2349–2357.
143. Van derWilt C.L, Kroep J.R, Loves W.J, Rots M.G, Van Groeningen C.J, Kaspers G.J. et al. Expression of deoxycytidine kinase in leukaemic cells compared with solid tumour cell lines, liver metastases and normal liver. Eur. J. Cancer 2003, 39, 691–697.

144. Hartford C.M, Duan S, Delaney S.M, Mi S, Kistner E.O, Lamba J.K. et al. Population-specific genetic variants important in susceptibility to cytarabine arabinoside cytotoxicity. *Blood* 2009, 113, 2145–2153.
145. Xu PP, Chen BA, Feng JF, et al. Association of polymorphisms of cytosine arabinoside-metabolizing enzyme gene with therapeutic efficacy for acute myeloid leukemia. *Chin Med J (Engl)*. 2012;125(12):2137–2143.
146. Yokoyama A, Okabe-Kado J, Wakimoto N, et al. Evaluation by multivariate analysis of the differentiation inhibitory factor nm23 as a prognostic factor in acute myelogenous leukemia and application to other hematologic malignancies. *Blood*. 1998;91(6):1845–1851.
147. Braunagel D, Schaich M, Kramer M, Dransfeld CL, Ehninger G, Mahlkecht U. The TT genotype within the NME1 promoter single nucleotide polymorphism -835 C/T is associated with an increased risk of cytarabine induced neurotoxicity in patients with acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2012;53(5):952–957.
148. Cao X, Mitra A, Kounds S, Crews K.R, Gandhi V, Plunkett W. et al. RRM1 and RRM2 pharmacogenetics: Association with phenotypes in HapMap cell lines and acute myeloid leukemia patients. *Pharmacogenomics* 2013, 14, 1449–1466.
149. Medina-Sanson A, Ramírez-Pacheco A, Moreno-Guerrero SS, Dorantes-Acosta EM, Sánchez-Preza M, Reyes-López A. Role of Genetic Polymorphisms of Deoxycytidine Kinase and Cytidine Deaminase to Predict Risk of Death in Children with Acute Myeloid Leukemia. *Biomed Res Int*.;2015:309491

150. Mahlknecht U, Dransfeld CL, Bulut N, et al. SNP analyses in cytarabine metabolizing enzymes in AML patients and their impact on treatment response and patient survival: identification of CDA SNP C451T as an independent prognostic parameter for survival. *Leukemia*. 2009;23(10):1929–1932
151. Falk IJ, Fyrberg A, Paul E, Nahi H, Hermanson M, Rosenquist R. et al. Decreased survival in normal karyotype AML with single-nucleotide polymorphisms in genes encoding the AraC metabolizing enzymes cytidine deaminase and 5'-nucleotidase. *Am J Hematol*. 2013;88(12):1001–1006.
152. Bhatla D, Gerbing RB, Alonzo TA, Conner H, Ross JA, Meshinchi S. et al. Cytidine deaminase genotype and toxicity of cytosine arabinoside therapy in children with acute myeloid leukemia. *Br J Haematol*. 2009;144(3):388–394.
153. He H, Liu ZQ, Li X, Yin JY, Zhai M, Zhou HH. The influence of cytidine deaminase -33delC polymorphism on treatment outcome with high-dose cytarabine in Chinese patients with relapsed acute myeloid leukaemia. *J Clin Pharm Ther*. 2015;40(5):555–560.
154. Hyo Kim L, Sub Cheong H, Koh Y, Ahn KS, Lee C, Kim HL. et al. Cytidine deaminase polymorphisms and worse treatment response in normal karyotype AML. *J Hum Genet*. 2015;60(12):749–754
155. Jahns-Streubel G, Reuter C, Auf der Landwehr U, Unterhalt M, Schleyer E, Wörmann B. et al. Activity of thymidine kinase and of polymerase alpha as well as activity and gene expression of deoxycytidine deaminase in leukemic blasts are correlated with clinical response in the

- setting of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-base depriming before and during TAD-9 induction therapy in acute myeloid leukemia. *Blood* 1997, 90, 1968–1976.
156. Cacciamani T, Vita A, Cristalli G, Vincenzetti S, Natalini P, Ruggieri S. et al. Purification of human cytidine deaminase: Molecular and enzymatic characterization and inhibition by synthetic pyrimidine analogs. *Arch. Biochem. Biophys.* 1991, 290, 285–292.
157. Fitzgerald SM, Goyal RK, Osborne WR, Roy JD, Wilson JW, Ferrell RE. Identification of functional single nucleotide polymorphism haplotypes in the cytidine deaminase promoter. *Hum. Genet.* 2006, 119, 276–283.
158. Abraham A, Varatharajan S, Abbas S, Zhang W, Shaji RV, Ahmed R. et al. Cytidine deaminase genetic variants influence RNA expression and cytarabine cytotoxicity in acute myeloid leukemia. *Pharmacogenomics.* 2012;13(3):269–282.
159. Yue L, Saikawa Y, Ota K, Tanaka M, Nishimura R, Uehara T. et al. A Functional Single-Nucleotide Polymorphism in the Human Cytidine Deaminase Gene Contributing to Ara-C Sensitivity. *Pharmacogenetics* 2003, 13, 29–38.
160. Li L, Fridley B, Kalari K, Jenkins G, Batzler A, Safgren S. et al. Gemcitabine and cytosine arabinoside cytotoxicity: Association with lymphoblastoid cell expression. *Cancer Res.* 2008, 68, 7050–7058.
161. Hunsucker SA, Mitchell BS, Spychala J. The 5'-nucleotidases as regulators of nucleotide and drug metabolism. *Pharmacol Ther.* 2005;107(1):1–30

162. Galmarini CM, Graham K, Thomas X, Calvo F, Rousselot P, El Jafaari A. et al Expression of high Km 50-nucleotidase in leukemic blasts is an independent prognostic factor in adults with acute myeloid leukemia. *Blood* 2001, 98, 1922–1926.
163. Meyer JA, Wang J, Hogan LE, Yang JJ, Dandekar S, Patel JP. et al. Relapse-specific mutations in *NT5C2* in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nat. Genet.* 2013; 45(3):290–294
164. Tzoneva G, Dieck CL, Oshima K, Ambesi-Impiombato A, SánchezMartín M, Madubata CJ. et al. Clonal evolution mechanisms in *NT5C2* mutant-relapsed acute lymphoblastic leukaemia. *Nature.* 2018;553(7689):511-514.
165. Chelsea L. Dieck, Gannie Tzoneva, Farhad Forouhar, Zachary Carpenter, Alberto Ambesi-Impiombato, Marta Sánchez-Martín. Et al. Structure and Mechanisms of *NT5C2* Mutations Driving Thiopurine Resistance in Relapsed Lymphoblastic Leukemia, *Cancer Cell*, Volume 34, 2018.1,2018 136-147.e6.
166. Oshima K, Khiabani H, da Silva-Almeida AC, Tzoneva G, Abate F, Ambesi-Impiombato A, et al. Mutational landscape, clonal evolution patterns, and role of RAS mutations in relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2016; 113:11306–11311
167. Aksoy P, Zhu MJ, Kalari KR, Moon I, Pelleymounter LL, Eckloff BW. Et al. Cytosolic 50-nucleotidase III (*NT5C3*): Gene sequence variation and functional genomics. *Pharm. Genom.* 2009, 19,567–576.

168. Schwartz JB. The influence of sex on pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 2003; 42: 107–121.
169. Fleming RA, Capizzi RL, Rosner GL, Oliver LK, Smith SJ, Schiffer CA, et al. Clinical pharmacology of cytarabine in patients with acute myeloid leukemia: a cancer and leukemia group B study. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1995; 36(5): 425-430.
170. Jeong H, Choi S, Song JW, Chen H, Fischer JH. Regulation of UDP glucuronosyltransferase (UGT) 1A1 by progesterone and its impact on labetalol elimination. *Xenobiotica*. 2008; 38(1): 62-75
171. McGrail L.H, Sehn L.H, Weiss R.B, Robson M.R, Antin J.H, Byrd J.C. Pancreatitis during therapy of acute myeloid leukemia: Cytarabine related *Ann. Oncol*. 1999, 10, 1373–1376.
172. Powell, B.L.; Zekan, P.J.; Muss, H.B.; Richards, F., 2nd; Lyerly, E.S.; Capizzi, R.L. Ara-C syndrome during low-dose continuous infusion therapy. *Med. Pediatr. Oncol*. 1986, 14, 310–312.
173. Herzig RH, Hines JD, Herzig GP, Wolff SN, Cassileth PA, Lazarus HM, et al. Cerebellar toxicity with high-dose cytosine arabinoside. *J. Clin. Oncol*. 1987, 5, 927–932.
174. Thiede C, Steudel C, Mohr B, Schaich M, Schäkel U, Platzbecker U et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood*. 2002; 99(12): 4326-4335.
175. Boissel N, Renneville A, Biggio V, Philippe N, Thomas X, Cayuela JM et al. Prevalence, clinical profile, and prognosis of NPM mutations in AML with normal karyotype. *Blood*. 2005; 106(10): 3618-3620.

176. Carpi FM, Vincenzetti S, Ubaldi J, Pucciarelli S, Polzonetti V, Micozzi D. et al. CDA gene polymorphisms and enzyme activity: genotype-phenotype relationship in an Italian-Caucasian population. *Pharmacogenomics*. 2013;14(7):769-781.

