



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

Programa de Doctorado en Medicina Interna

Departamento de Medicina

Facultad de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

TESIS DOCTORAL

**LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA TRAS UN TRASPLANTE DE
PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN PACIENTES CON LEUCEMIA
AGUDA MIELOBLÁSTICA: CARACTERÍSTICAS CITOGENÉTICAS Y
MOLECULARES**

Javier Grau Cat

Tesis realizada bajo la dirección de

Dr.Evarist Feliu Frasnado y Dr. Josep Maria Ribera Santasusana

Badalona, noviembre 2015

El Dr. Evarist Feliu Frasnado, Catedrático de Medicina-Hematología, Universitat Autònoma de Barcelona, Jefe de Servicio de Hematología-Laboratorio, Institut Català d'Oncologia, Hospital Germans Trias i Pujol, Vicepresidente de la Fundación Josep Carreras contra la Leucemia,

El Dr. Josep Maria Ribera Santasusana, Profesor Titular de Medicina-Hematología, Universitat Autònoma de Barcelona, Jefe de Servicio de Hematología- Clínica, Institut Català d'Oncologia, Hospital Germans Trias i Pujol

CERTIFICAN

Que Javier Grau Cat ha realizado, bajo su dirección, el trabajo **Leucemia mieloblástica aguda tras un trasplante de progenitores hematopoyéticos en pacientes con leucemia aguda mieloblástica: características citogenéticas y moleculares** para obtener el título de Doctor por la Universitat Autònoma de Barcelona en el programa de doctorado de Medicina Interna.

Este trabajo ha sido realizado en el Servicio de Hematología-Laboratorio del Institut Català d'Oncologia (Badalona), Hospital Germans Trias i Pujol, Universitat Autònoma de Barcelona.

Dr. Evarist Feliu Frasnado

Dr. Josep Maria Ribera Santasusana

MOTIVACIÓN PERSONAL

Desde que recuerdo, siempre quise ser médico y, muy probablemente, en eso tiene algo que ver mi padre. Su dedicación y entrega a los pacientes, su esfuerzo constante por mantenerse al día (siempre con una revista médica y un rotulador fluorescente), el sonido del timbre o del teléfono por las noches o el acompañarle en alguna ocasión, durante los meses del verano, a algún domicilio con la moto.

Ya en la Facultad de Medicina, la Hematología fue una de las asignaturas que más me gustó y de hecho, fue la especialidad médica optativa que escogí en el rotatorio. Durante el tiempo que estuve en el Servicio de Hematología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, con las Dras. Salud Brunet y Anna Sureda comprendí que se trataba de una especialidad emocionalmente dura (recuerdo que me llamó mucho la atención, un despacho lleno de historias clínicas marcadas con la palabra éxitus) y, al mismo tiempo, muy humana.

Una vez realizado el examen MIR, tuve claro que quería hacer la residencia en el Servicio de Hematología del Hospital Germans Trias i Pujol. Por aquel entonces, se trataba de un Servicio pequeño y familiar del que sentí que formaba parte desde el primer momento, gracias a la cálida acogida de la Dra. Millá y del Dr. Ribera, la amistad con José Tomás Navarro, Isabel Granada, Juan Manuel Sancho y Blanca Xicoy y la colaboración del resto de compañeros de trabajo con los que tuve el placer de compartir muchas horas de trabajo, aperitivos, comidas y cenas.

Una vez finalizada la residencia, tuve la suerte de poder seguir trabajando y colaborando en el Servicio hasta la llegada del Institut Català d'Oncologia (ICO) al Hospital. A partir de ese momento, se inició otra etapa como facultativo especialista en la Unidad de Citogenética, un mundo apasionante que he ido descubriendo de la mano de Isabel Granada.

Para finalizar la historia, la guinda del pastel: la tesis. Esa palabra que al mismo tiempo aterroriza y atrae. El tema, tuve claro ya hace muchos años que estaría relacionado con las alteraciones citogenéticas en el post-TPH, pero el gran problema ha sido encontrar el tiempo y el momento para realizarla.

Gracias al Dr. Feliu, Dr. Ribera, Dra. Millá, Dra. Granada Dr. Navarro, Dr. Sancho y Dr. Solé por estimularme y ayudarme a llevar a cabo este proyecto.

MOTIVACIÓN CIENTÍFICA

Una vez finalizada la residencia, la Dra Fuensanta Millá me ofreció la posibilidad de quedarme en la sección de citología y posteriormente de formarme en citogenética. Poco a poco, tras muchas horas de microscopio y gracias a la ayuda y al apoyo incondicional de la Dra Isabel Granada, me fui introduciendo en el mundo del cromosoma.

Las alteraciones cromosómicas después de un TPH, me cautivaron muy pronto. El gran número de factores implicados en su patogénesis: la terapia previa recibida (agentes alquilantes, inhibidores de la topoisomerasa-II...), los factores relacionados con el propio TPH (origen de los progenitores hematopoyéticos, tipo de TPH, tipo de acondicionamiento, EICH, el acortamiento telomérico que tiene lugar durante el primer año post-TPH...), la predisposición hereditaria del paciente debido a polimorfismos en genes que afectan tanto al metabolismo y transporte del fármaco como a los mecanismos de reparación del DNA y de la apoptosis, el desconocimiento del papel que juega cada uno de estos factores y el hecho de que, en algunos casos, sean transitorias y no se acompañen de progresión, signos mielodisplásicos o transformación a LAM, contribuyeron a que a partir del año 2003 empezase a recogerlas y presentase los resultados en diferentes congresos nacionales (2004 y 2011) e internacionales (European Cytogenetics Conference 2005 y ASH 2008).

Por otro lado, en las últimas décadas, se han descrito en la bibliografía múltiples casos de LAM y SMD después de un TPH efectuado a pacientes con mieloma múltiple, linfoma de Hodgkin o no hodgkiniano, entre otros. Estos casos están bien caracterizados y, de acuerdo con la última clasificación de la WHO del 2008, se consideran neoplasias mieloides relacionadas con el tratamiento. Sin embargo, las LAM que ocurren después del TPH realizado a pacientes con LAM siempre son consideradas una progresión de la LAM inicial.

De todo ello, surgió el preguntarme si puede haber algún factor citogenético o molecular que nos permita diferenciar las LAM *de novo* de las LAM post-TPH efectuado a pacientes con LAM y ello ha sido el motivo principal de la presente tesis doctoral.

AGRADECIMIENTOS

A Evarist Feliu y a Josep Maria Ribera, los directores de esta tesis, por saber escuchar, por su accesibilidad, su enorme capacidad de trabajo y sus consejos.

A Fuensanta Millá, por descubrirme el apasionante mundo de la citología, ofrecerme la posibilidad de formarme en citogenética y por defender el Laboratorio de Hematología y a todos los que formamos parte de él.

A Isabel Granada, por enseñarme todo lo que sé sobre los cromosomas y por su amistad.

A Jordi Juncà, Alonso Flores, Javier Roncalés, José Tomás Navarro y Montse Batlle, por transmitirme sus conocimientos y por las horas de trabajo compartidas, que han sido muchas y llenas de anécdotas.

A Juan Manuel Sancho por su enorme capacidad de trabajo, sus consejos, su ayuda y su amistad.

A Elisa Orna, por ser más que una amiga una más de la familia. Gracias.

A Kiko Solé por animarme a empezar a escribir la tesis, sus consejos y estar siempre dispuesto a echar una mano.

A Neus Ruíz-Xivillé, Adela Cisneros, Marisol Xandri, Nani Santafé, Carmen Villena y Diana Campos, por vuestra paciencia y hacer posible que el ir a trabajar sea un motivo de alegría.

A Blanca Xicoy, Christelle Ferrà, Albert Oriol, Susana Vives, Miriam Moreno, Inés Rodríguez, Lurdes Zamora, Marta Cabezón, Silvia Marcè y Diana Domínguez, por ser un placer trabajar con todos vosotros.

A Mireia Morgades por su enorme paciencia y su minuciosidad en el análisis estadístico.

A todos los residentes por vuestro trabajo, preguntas, inquietud y alegría.

A todas las enfermeras, técnicos, auxiliares, administrativas y técnicos de calidad del Servicio de Hematología-Laboratorio, Hematología-Clínica y Hospital de Día del ICO-Badalona, por hacer el trabajo más fácil.

A todo el equipo del *Institut Josep Carreras*, campus Can Ruti, por contagiarnos su inquietud por aprender e investigar.

A la Fundación Josep Carreras para la lucha contra la leucemia e Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras, por su inestimable ayuda y soporte en la dotación estructural del laboratorio de citogenética hematológica.

A Laura Pomar, Julia Linio, Helena Pallarés y Silvia Sánchez por vuestra amistad.

A mis tíos y primos, porque a pesar de la distancia siempre estamos ahí. No podría haber soñado una familia mejor.

A mis sobrinos, Natalia, Carlota, Paula, Laia y Marc, por vuestras risas, alegría...

A mis hermanos, M^a José, Ana y Santi, Salvador y Mar, una piña a pesar de las adversidades. Os quiero un montón.

A mis padres, a los que les debo TODO, por su apoyo incondicional, sus consejos, su dedicación y esfuerzo en darnos siempre lo mejor y en respetar nuestras decisiones, por enseñarme a valorar las cosas...

A Maxim y Nico por ser un regalo lleno de sorpresas y la razón por la que luchar cada día. No dejéis nunca de sorprenderme. Os quiero.

ÍNDICE

1. Introducción.....	19
1.1. Leucemia aguda mieloblástica.....	21
1.1.1. Definición.....	21
1.1.2. Incidencia.....	21
1.1.3. Etiología.....	21
1.1.4. Fisiopatología.....	23
1.1.5. Manifestaciones clínicas y hallazgos de laboratorio.....	27
1.1.6. Clasificación.....	29
1.2. LAM <i>de novo</i>	32
1.2.1. Alteraciones citogenéticas.....	32
1.2.1.1. Categorías de riesgo citogenético según el <i>United Kingdom Medical Research Council trials (MRC)</i>	32
1.2.1.2. Categorías de riesgo citogenético según el <i>Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study (SWOG/ECOG)</i>	34
1.2.1.3. Categorías de riesgo citogenético según el <i>Cancer and Leukemia Group B (CALGB)</i>	35
1.2.1.4. Categorías citogenéticas según la <i>European LeukemiaNet (ELN)</i>	37
1.2.1.5. Cariotipo monosómico.....	40
1.2.2. Alteraciones moleculares.....	43
1.2.2.1. Mutaciones en el gen del receptor FLT3 (<i>FMS-like tyrosine kinase 3</i>).....	45
1.2.2.2. Mutaciones en <i>CEBPA (CCAAT enhancer binding protein alpha)</i>	47
1.2.2.3. Mutaciones en el gen de la nucleofosmina (<i>NPM1</i>).....	49
1.2.2.4. Mutaciones en el gen <i>c-KIT</i>	50
1.2.2.5. Mutaciones en el gen <i>TET2</i>	51
1.2.2.6. Mutaciones en <i>IDH1</i> e <i>IDH2</i>	51
1.2.2.7. Mutaciones en <i>DNMT3A</i>	52
1.2.2.8. Mutaciones en <i>ASXL1</i>	52

1.2.2.9.	Duplicación parcial en tandem del gen <i>MLL</i>	54
1.2.2.10.	Mutaciones en el gen <i>RAS</i>	55
1.2.2.11.	Mutaciones en <i>JAK2</i>	55
1.2.2.12.	Sobreexpresión de <i>BAALC</i>	56
1.2.2.13.	Sobreexpresión de <i>WT1</i>	57
1.2.2.14.	Sobreexpresión de <i>MN1</i>	58
1.2.2.15.	Sobreexpresión de <i>EVI1</i>	58
1.2.2.16.	Sobreexpresión de <i>ERG</i>	59
1.2.2.17.	<i>Integrative prognostic risk score</i>	61
1.2.3.	Algoritmo diagnóstico.....	65
1.2.4.	Tratamiento.....	66
1.3.	LAM relacionadas con el tratamiento (t-LAM).....	69
1.3.1.	Introducción.....	69
1.3.2.	Alteraciones citogenéticas.....	73
1.3.3.	Alteraciones moleculares.....	76
1.3.3.1.	Mutaciones puntuales en <i>TP53</i>	77
1.3.3.2.	Mutaciones puntuales en <i>AML1</i>	78
1.3.3.3.	Mutaciones de genes que codifican para el dominio tirosínica.....	78
1.3.3.4.	Mutaciones en la vía <i>RAS/BRAF</i>	79
1.3.3.5.	Mutaciones en genes que codifican para factores de transcripción.....	79
1.3.3.6.	Neoplasias relacionadas con la terapia (t-NM) después de un trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH).....	79
1.3.3.7.	Tratamiento.....	83
2.	Hipótesis.....	87
3.	Objetivos.....	91
4.	Pacientes, material y métodos.....	95
4.1.	Pacientes.....	97
4.2.	Material.....	98
4.3.	Métodos.....	98
4.3.1.	Estudios citogenéticos.....	98
4.3.1.1.	Técnica de cultivo de médula ósea.....	98
4.3.1.2.	Análisis de resultados.....	99

4.3.2. Técnica de hibridación <i>in situ</i> fluorescente (FISH).....	100
4.3.3. Estudios moleculares.....	102
4.3.3.1. Procesamiento de la muestra.....	101
4.3.3.1.1. Sangre periférica.....	101
4.3.3.1.2. Médula ósea.....	102
4.3.3.2. Extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN) mediante QIACube (QIAGEN, Izasa).....	102
4.3.3.3. Extracción de ácido ribonucleico (ARN) mediante QIACube Trizol.....	104
4.3.3.4. Técnica de Retrotranscripción (RT).....	107
4.3.3.5. Técnica de PCR para detectar las duplicaciones internas en tándem del gen <i>FLT3</i> y establecer la ratio duplicado/germinal (wt) mediante el análisis de fragmentos (GeneScan) a partir del aparato ABIprism 3130.....	108
4.3.3.6. Técnica de PCR para detectar mutaciones en el gen de la <i>NPM1</i>	110
4.3.3.7. Técnica de PCR para detectar la mutación puntual D835 del gen <i>FLT3</i>	111
4.3.3.8. Técnica de PCR para detectar las mutaciones del gen <i>CEBPA</i>	112
4.3.4. Análisis estadístico.....	114
5. Resultados.....	117
5.1. Características clínicas.....	119
5.1.1. Comparación de las características clínicas entre los pacientes que presentan una LAM <i>de novo</i> y una s-LAM/t-LAM.....	121
5.1.2. Comparación de las características clínicas, al diagnóstico, entre los pacientes que presentan una LAM post-TPH y los que no la presentan.....	123
5.2. Características citogenéticas y moleculares.....	125
5.2.1. Características citogenéticas y moleculares en el momento de la LAM inicial (serie global).....	125
5.2.2. Comparación de las características citogenéticas y moleculares entre las LAM <i>de novo</i> y las s-LAM/t-LAM, en el momento del diagnóstico.....	133
5.2.3. Comparación de las características citogenéticas y moleculares al diagnóstico entre las LAM que presentan una LAM post-TPH y las que no la presentan.....	134

5.2.4. Características citogenéticas y moleculares de las LAM post-TPH.....	135
5.2.4.1. Características citogenéticas de las LAM post-TPH en función del tipo de LAM inicial (LAM <i>de novo</i> vs s-LAM).....	141
5.2.4.2. Características citogenéticas de las LAM post-TPH en función del tipo de TPH recibido (auto-TPH vs alo-TPH).....	142
5.2.5. Comparación de las características citogenéticas y moleculares entre las LAM <i>de novo</i> y las LAM post-TPH.....	143
5.2.6. Comparación de las características citogenéticas y moleculares entre las s-LAM/t-LAM y las LAM post-TPH.....	144
5.2.7. Comparación de las características citogenéticas y moleculares, al diagnóstico y en el momento de aparición de la LAM post-TPH.....	145
5.3. Alteraciones cromosómicas.....	147
5.3.1. Alteraciones cromosómicas en el momento del diagnóstico de la LAM inicial (111 LAM <i>de novo</i> y 40 s-LAM/t-LAM).....	157
5.3.2. Alteraciones cromosómicas en las LAM <i>de novo</i>	158
5.3.3. Alteraciones cromosómicas en las s-LAM/t-LAM.....	159
5.3.4. Alteraciones cromosómicas en las LAM post-TPH.....	160
5.4. Estudio de la delección de <i>TP53</i> detectada por FISH.....	162
5.5. Supervivencia global.....	164
5.5.1. Supervivencia global de la serie.....	164
5.5.2. Supervivencia global de las LAM post-TPH.....	167
5.6. Incidencia de LAM post-TPH y mortalidad no debida a recaída.....	169
6. Discusión.....	171
6.1. Características citogenéticas y moleculares.....	173
6.1.1. Características morfológicas y citogenéticas en el momento del diagnóstico.....	173
6.1.2. Características citogenéticas de las LAM post-TPH.....	174
6.1.3. Estado mutacional del gen de la <i>NPM1</i> y <i>FLT3</i> al diagnóstico y en el momento de la LAM post-TPH.....	177
6.2. Factores implicados en la etiopatogenia de las LAM post-TPH.....	178
6.2.1. s-LAM y LAM post-TPH.....	178
6.2.2. auto-TPH y LAM post-TPH.....	179
6.2.3. Otros factores descritos en la bibliografía implicados en el desarrollo de una LAM post-TPH.....	180
6.3. Delección de <i>TP53</i> por FISH.....	181

6.4. Limitaciones del estudio.....	181
7. Conclusiones.....	183
8. Referencias bibliográficas.....	187
9. Anexos.....	215

ABREVIATURAS

ADN: ácido desoxirribonucleico.

alo-TPH: trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.

alo-TPH-DE: alo-TPH a partir de un donante emparentado.

Alo-TPH-DNE: alo-TPH a partir de un donante no emparentado

ARNm: ARN mensajero.

ATO: trióxido de arsénico.

ATRA: ácido holo-trans retinoico.

auto-TPH: trasplante autogénico de progenitores hematopoyéticos.

CALGB: *Cancer and Leukemia Group B*.

CBF: *core binding factor*.

CEBPA: *CCAAT enhancer binding protein alpha*.

CM: cariotipo monosómico.

CPH: células progenitoras hematopoyéticas.

DE: donante emparentado.

dm: doble mutado.

DNE: donante no emparentado.

DNMT3A: *DNA metiltransferasa 3A*.

ELN: *European LeukemiaNet*.

EMR: enfermedad mínima residual.

FAB: clasificación franco-américo-británica.

FISH: hibridación *in situ* fluorescente.

FLT3: *FMS-like tyrosine kinase 3*.

FLT3-ITD: duplicación interna en tándem del FLT3.

ICO: Institut Català d'Oncologia.

IDH1: *Isocitrate deshidrogenase-1*.

IDH2: *Isocitrate deshidrogenase-2*.

IPRS: *Integrative prognostic risk score*.

ISCN: *International System for Human Cytogenetic Nomenclature*.

iv: intravenoso.

LAM: leucemia aguda mieloblástica.

LH: linfoma de Hodgkin.

LMMC: leucemia mielomonocítica crónica.

LNH: linfoma no Hodgkin.

LPA: leucemia promielocítica aguda.

m: mutado.

MA: monosomía autosómica.

MI: mielofibrosis primaria.

min: minutos.

miRNA: microRNA.

MLL-PTD: duplicación parcial en tándem del gen *MLL*.

MRC: *United Kingdom Medical Research Council*

NMP: neoplasia mieloproliferativa.

NPM1: *Nucleophosmin Member 1*.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

PI3K: fosfatidilinositol 3-cinasa.

RC: respuesta completa.

RI: riesgo intermedio.

RDT: radioterapia.

ROS: radicales libres de oxígeno.

RT: retrotranscripción.

sc: subcutáneo.

SG: supervivencia global.

SLP: supervivencia libre de progresión.

SMD: síndrome mielodisplásico.

s-LAM: leucemia mieloblástica aguda secundaria.

SNV: *single nucleotid variations*.

SWOG/ECOG: *Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group*.

TET2: tet methylcytosine dioxygenase 2.

TKI: inhibidores tirosín cinasa.

t-LAM: leucemia mieloblástica aguda relacionada con el tratamiento.

t-NM: neoplasia mieloide relacionada con el tratamiento.

TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos.

t-SMD: síndrome mielodisplásico relacionado con el tratamiento.

vo: vía oral.

wt: *wild type* (germinal).

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Leucemia aguda mieloblástica

1.1.1. Definición.

La leucemia aguda mieloblástica (LAM) es una proliferación neoplásica clonal de células inmaduras de estirpe mieloide, producida por una alteración en la regulación del crecimiento y la diferenciación de las células hematopoyéticas. Esta alteración da lugar a la acumulación de precursores mieloides inmaduros que conservan su capacidad replicativa, pero que han perdido su capacidad de diferenciación a células hematopoyéticas maduras. Consecuentemente, la médula ósea está ocupada por células tumorales que impiden la hematopoyesis normal, lo que da lugar a una hematopoyesis ineficaz y la aparición de citopenias en sangre periférica. La definición de LAM según la Organización Mundial de la Salud (OMS) requiere la presencia de un mínimo de un 20% de blastos en médula ósea y/o sangre periférica. También se puede realizar el diagnóstico de LAM cuando el porcentaje de blastos en médula ósea y/o sangre periférica es inferior al 20%, en aquellos casos que presentan la $t(8;21)(q22;q22)$, $inv(16)(p13.1q22)$, $t(16;16)(p13.1;q22)$, la $t(15;17)(q22;q12)$ o en la leucemia aguda eritroide, cuando los precursores eritroides representan más del 50% de la celularidad total de la médula ósea y el porcentaje de blastos en la población no eritroide supera el 20% (Vardiman et al, 2008).

1.1.2. Incidencia.

La incidencia de la LAM es de 3-5 casos/100.000 habitantes y año, es ligeramente más frecuente en varones (relación hombre:mujer de 5:3) y aumenta progresivamente con la edad, especialmente a partir de la quinta o sexta década de la vida. En los países occidentales las LAM representan el 90% de las leucemias agudas de los adultos y el 15-20% de las leucemias agudas de los niños menores de 15 años, con un pico de incidencia a los 3-4 años.

1.1.3. Etiología.

En la mayoría de los casos la etiología de la LAM es desconocida, si bien determinados factores predisponentes y posibles agentes leucemógenos han sido relacionados con un mayor riesgo de padecer LAM (tabla 1).

Tabla 1. Factores implicados en la etiología de la LAM.

Enfermedades congénitas
<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de Down • Síndrome de Klinefelter • Síndromes de insuficiencia medular congénita <ul style="list-style-type: none"> - Anemia de Fanconi - Neutropenia congénita grave (síndrome de Kostmann) - Síndrome de Shwachman-Diamond - Anemia de Diamond-Blackfan • Síndrome de Bloom • Ataxia-telangiectasia • Neurofibromatosis de tipo 1 (enfermedad de Von Recklinghausen)
Radiaciones ionizantes
<ul style="list-style-type: none"> • Supervivientes a explosiones atómicas • Supervivientes a accidentes nucleares • Exposición ocupacional • Pacientes irradiados
Neoplasias hematológicas
<ul style="list-style-type: none"> • Síndromes mielodisplásicos • Neoplasias mieloproliferativas
Agentes tóxicos
<ul style="list-style-type: none"> • Benceno y otros hidrocarburos aromáticos • Tratamientos quimioterápicos <ul style="list-style-type: none"> - Agentes alquilantes - Inhibidores de laADN topoisomerasa II - Otros (antimetabolitos...)

La observación ocasional de leucemia en varios miembros de una misma familia y la mayor incidencia de leucemias entre hermanos gemelos univitelinos, sugiere un probable papel de la herencia en la aparición de las LAM.

Diferentes alteraciones citogenéticas se asocian a un mayor riesgo de desarrollar LAM, como la trisomía del cromosoma 21 en el síndrome de Down. Se estima que el riesgo de desarrollar una LAM en este grupo de pacientes es 10 a 20 veces superior al de la población normal.

La anemia de Fanconi, enfermedad autosómica recesiva caracterizada por presentar una insuficiencia medular progresiva y alteraciones somáticas constitucionales (cardíacas, atresias o estenosis), también presenta una elevada incidencia de síndromes mielodisplásicos (SMD), LAM y tumores sólidos.

Entre los diferentes tipos de cáncer, la leucemia es la neoplasia más asociada a las radiaciones ionizantes, siendo la línea mieloide la más frecuentemente afectada.

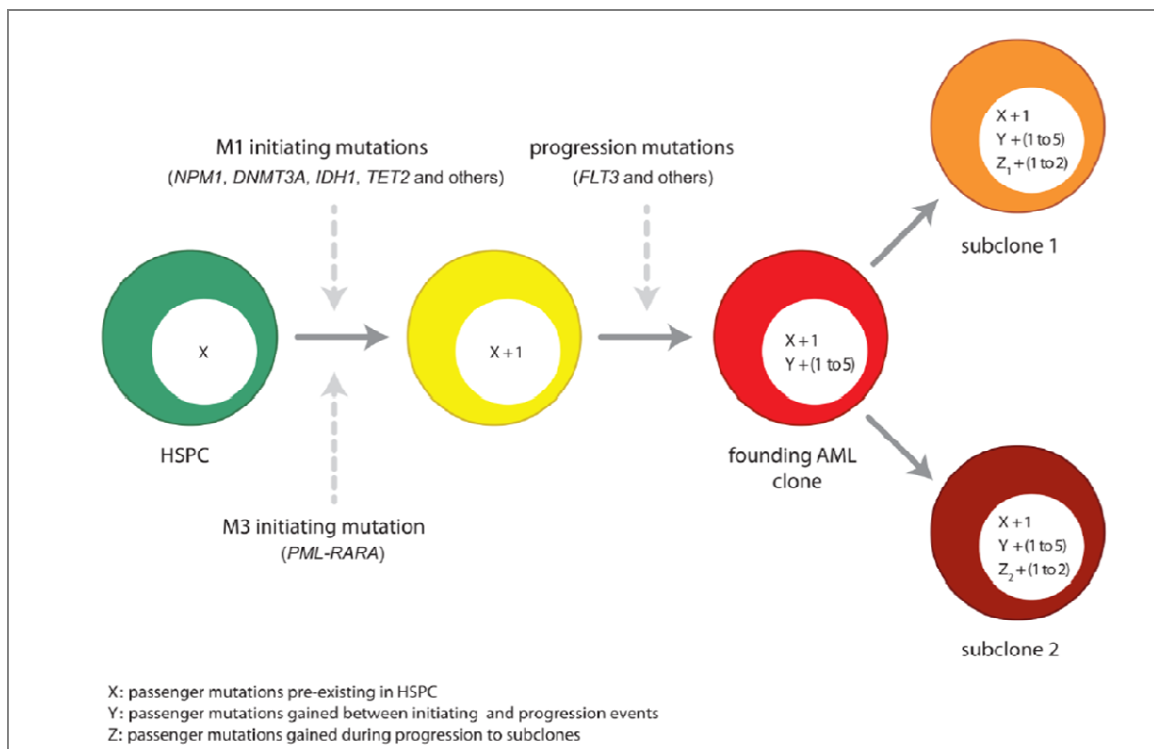
Entre los agentes químicos identificados como probables causantes de LAM está el benceno. Los trabajadores expuestos a este compuesto, como ha sucedido en la industria del calzado o el petróleo, presentan un mayor riesgo de desarrollar LAM.

Las mejoras en el tratamiento de muchos tipos de cáncer, hematopoyéticos o no, se han traducido en muchos casos en un aumento de la supervivencia de estos pacientes y, por tanto, en un incremento del riesgo de desarrollar una LAM secundaria al tratamiento (t-LAM).

1.1.4. Fisiopatología.

La mayoría de las mutaciones encontradas en la LAM son consecuencia de eventos aleatorios previos a la adquisición de la mutación "conductora" inicial. Se ha calculado que las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) normales pueden adquirir alrededor de 0.13 +/- 0.02 mutaciones "pasajeras" por año de vida (Welch et al, 2012). El primer paso en el desarrollo de una LAM requiere la adquisición de una mutación "conductora", por ejemplo *PML-RARA* o el gen de la nucleofosmina (*NMP1*), en el contexto de una CPH que ya contiene cientos de mutaciones "pasajeras" adquiridas al azar, que se han acumulado con el tiempo. Esta mutación "conductora" le confiere una ventaja proliferativa con la consecuente expansión clonal, que acarreará tanto la mutación "conductora" como las mutaciones "pasajeras". Cuando se produce una segunda mutación "conductora", por ejemplo la duplicación interna en tándem del gen *FLT3 (FLT3-ITD)*, todas las mutaciones "pasajeras" adquiridas desde el primer evento también serán capturadas. Estas células darán lugar al clon fundador que se detecta en el momento del diagnóstico y que contiene unas pocas mutaciones "conductoras" y muchas mutaciones "pasajeras" que ha ido capturando desde el primer evento. El número de mutaciones "pasajeras" adquiridas dependerá del tiempo transcurrido desde el evento inicial y de la tasa mutacional de estas células y se calcula que puede oscilar de decenas a cientos de mutaciones (Walter et al, 2012). En muchos casos sólo se necesitan una o dos mutaciones "conductoras" adicionales para el desarrollo de una LAM. Posteriormente, las células del clon fundador pueden adquirir mutaciones cooperantes adicionales, que darán lugar a subclones que pueden contribuir a la progresión de la enfermedad o a la recaída (Welch et al, 2012) (Figura 1).

Figura 1. Origen de las mutaciones "conductoras" y "pasajeras" durante la evolución de la LAM (tomado de Welch et al, 2012).



En el proceso de la leucemogénesis se ha propuesto la cooperación entre dos tipos de mutaciones, las mutaciones de clase I y las de clase II. Las mutaciones de clase I resultan de la activación constitutiva de receptores tirosín quinasa o de genes de la vía de transducción de señales en *RAS-BRAF-MEK-ERK* que confieren una ventaja proliferativa y/o de supervivencia a los progenitores hematopoyéticos, al estimular el ciclo celular y la proliferación. Las mutaciones de clase II, por su parte, inactivan factores de transcripción y dan lugar a una pérdida de la diferenciación hematopoyética y a la adquisición aberrante de propiedades de auto-renovación (Tabla2).

Esta hipótesis se basa en la extrapolación de lo observado en pacientes con cáncer, en los que coexisten mutaciones en genes que participan en diferentes vías, mientras que genes que participan en la misma vía raramente están mutados en la misma muestra (Yeang et al, 2008). La coexistencia de mutaciones en genes de la misma clase en la LAM también es muy poco frecuente y se limita a mutaciones en *N-RAS*, *TP53*, *MLL-PTD* y *NMP1*. Generalmente estas mutaciones se adquieren en el momento de la recaída y en casi todos los casos se presentan conjuntamente con mutaciones de clase I y II, por lo que se ha sugerido que puede tratarse de eventos tardíos, una vez establecidas las mutaciones en ambas subclases (Ishikawa et al, 2009).

Tabla 2. Mutaciones de clase I y clase II.

Mutaciones clase I	Dominio tirosín cinasa	<i>FLT3</i> -ITD + <i>FLT3</i> -TKD
		Mutaciones puntuales <i>cKIT</i>
		Mutaciones puntuales <i>cFMS</i>
	Vía RAS/BRAF	Mutaciones puntuales <i>JAK2</i>
		Mutaciones puntuales en <i>KRAS</i> o <i>NRAS</i>
		Mutaciones puntuales en <i>BRAF</i>
Mutaciones clase II	Factores de transcripción	Mutaciones puntuales en <i>PTPN11</i>
		Reordenamientos <i>AML1/CBFB</i>
		Mutaciones puntuales en <i>AML1</i>
		Reordenamientos del gen <i>MLL</i>
		<i>MLL</i> -ITD
		Reordenamientos del gen <i>RARA</i>
		Reordenamientos del gen <i>EVI1</i>
		Mutaciones puntuales de <i>CEBPA</i>
Mutaciones puntuales de <i>NPM1</i>		

También se ha observado, en modelos murinos, que la combinación de *PML-RARA* con mutaciones en *JAK1* o *FLT3*-ITD, puede acelerar el desarrollo de una LAM (Kelly et al, 2002; Wartman et al, 2011).

El hecho de que se haya descrito la asociación entre mutaciones de clase I y algunas proteínas de fusión, como por ejemplo entre *c-KIT* o *RAS* y las LAM con afectación del complejo *core binding factor* (CBF), la asociación entre mutaciones de clase I y mutaciones en *AML1* y la frecuente asociación entre las mutaciones en *NMP1* y la *FLT3*-ITD, o *MLL* y *RAS* o entre *MLL* y *BRAF* también apoyan esta hipótesis (Pedersen-Bjergaard et al, 2008; Renneville et al, 2008).

Este alto grado de exclusividad mutua dentro de las mutaciones de clase I y II sugiere la ausencia de ventaja proliferativa en las mutaciones adicionales de genes dentro de una misma clase y que las mutaciones de dos genes de la misma clase puede inducir la apoptosis en lugar de la transformación leucémica (Pedersen-Bjergaard et al, 2006).

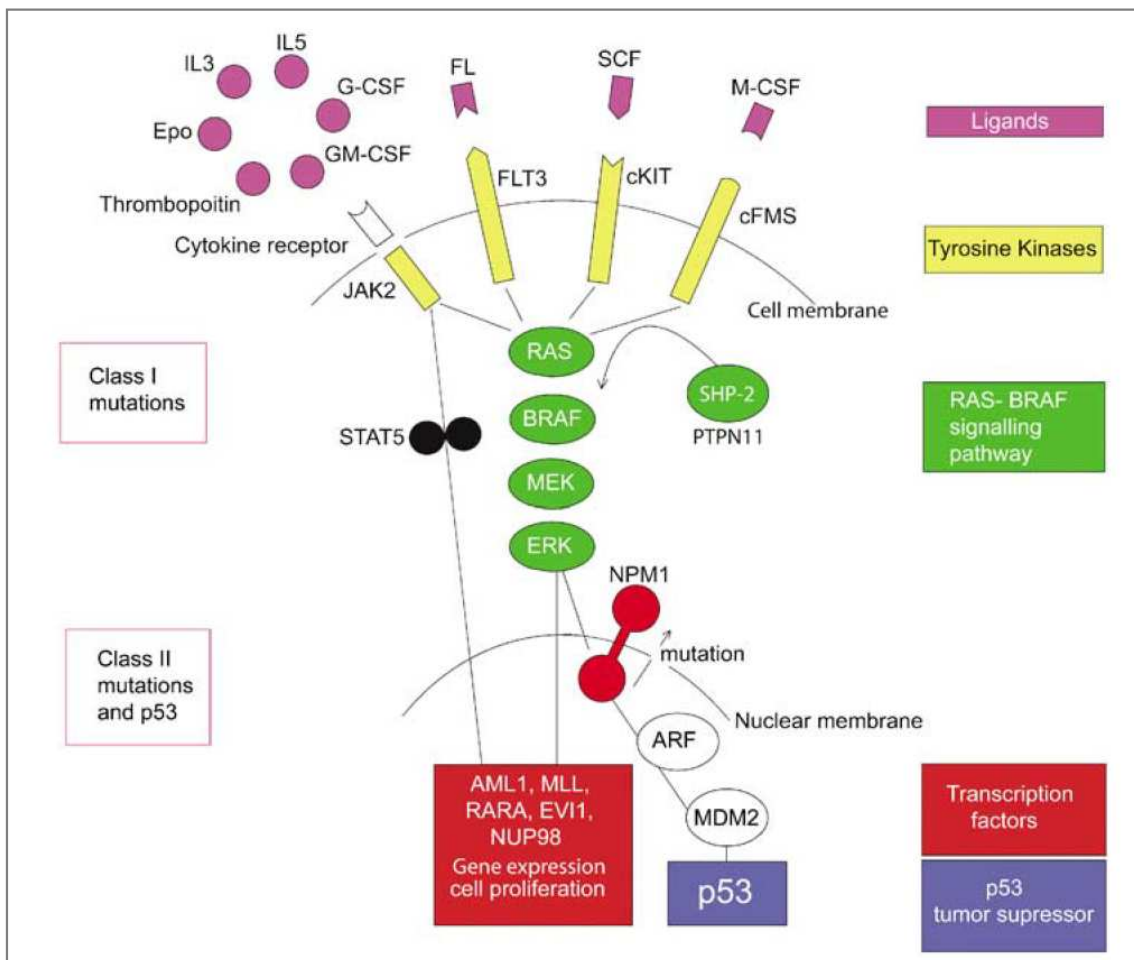
Los reordenamientos en *AML1/CBFB*, *MLL*, *RARA* y *EVI1* se presentan mayoritariamente en el momento del diagnóstico y raramente durante la evolución de la enfermedad o en subclones, lo que sugiere que las mutaciones de clase II a menudo representan eventos primarios de la leucemogénesis. El hecho de que pacientes con *FLT3*-ITD en el momento del diagnóstico recaigan sin esta mutación y que en ocasiones se presenten de forma simultánea dos tipos diferentes de mutaciones clase I, generalmente representando diferentes subclones, también apoya esta hipótesis.

El síndrome plaquetario familiar con predisposición a la leucemia mieloide aguda (FPD/LAM) es una enfermedad autosómica dominante, consecuencia de una mutación heterocigota en el gen de transcripción *RUNX1*, localizado en el cromosoma 21q22. Esta entidad se caracteriza por una trombocitopenia moderada, una disfunción plaquetar y un mayor riesgo de desarrollar

una LAM. La frecuente asociación de este síndrome con 7q-/-7, también sugiere que las mutaciones de clase II preceden a las mutaciones de clase I (Deguchi et al, 2002; Renneville et al, 2008).

TP53 es un gen supresor de tumores, localizado en el cromosoma 17 p13.1, que juega un papel importante en la apoptosis, la estabilidad genética y la inhibición de la angiogénesis. Se ha sugerido que la inhibición de *TP53* puede favorecer la aparición de nuevas alteraciones citogenéticas durante el desarrollo de la LAM (Ishikawa et al, 2009). Este hecho junto con su asociación con el cariotipo complejo (Haferlach et al, 2008) y con mutaciones tanto de clase I como de clase II, han propiciado que las mutaciones en *TP53* sean consideradas una nueva clase de mutaciones de tipo III implicadas en la leucemogénesis (Pedersen-Bjergaard et al, 2008) (Figura 2).

Figura 2. Vías de transducción de señales y clasificación de las mutaciones en SMD y LAM (tomada de Pedersen-Bjergaard et al, 2008).



1.1.5. Manifestaciones clínicas y hallazgos de laboratorio.

Las manifestaciones clínicas en los pacientes con LAM son consecuencia de la insuficiencia medular, secundaria a la infiltración por células blásticas de la médula ósea y al bloqueo de la diferenciación mieloide, y a la infiltración de órganos y tejidos. Su inicio es generalmente agudo, aunque en ocasiones se puede detectar de forma fortuita en una analítica de control (Tabla 3).

Tabla 3. Manifestaciones clínicas en la LAM.

Manifestaciones clínicas secundarias a la insuficiencia medular	
Anemia	Intensidad variable (palidez cutánea, astenia, acúfenos, cefaleas, disnea, taquicardia...).
Neutropenia	Predisposición a infecciones. El 30-50% de los pacientes presentan fiebre al diagnóstico. Focos infecciosos más frecuentes: orofaringe, pulmones, piel y área perirrectal.
Trombocitopenia	Manifestaciones hemorrágicas (púrpura, gingivorragias, epistaxis, hemorragias retininas y conjuntivales, hematuria, hematemesis, melenas, hemoptisis).
Manifestaciones clínicas secundarias a la infiltración extramedular	
Sistema nervioso central	Infiltración meníngea (5-7%), generalmente asintomática (M4 y M5). Signos y síntomas secundarios a la hipertensión endocraneal (vómitos, cefalea, edema de papila, somnolencia). Infiltración de pares craneales (V y VII) Leucostasis: cefalea, confusión, inestabilidad a la marcha, trastornos visuales y coma.
Hepáticas, esplénicas y ganglionares	Esplenomegalia moderada (50% de los pacientes). Adenopatías, poco frecuente (M5)
Cutáneas	Infiltración cutánea < 10% de los pacientes (más frecuente en M4 y M5 de la FAB). Síndrome de Sweet o dermatosis neutrofílica aguda (nódulos o placas de color rojo, dolorosos, habitualmente en extremidades y que en ocasiones pueden preceder al diagnóstico de LAM).
Mucosa oral	Hipertrofia gingival (M4 y M5).
Oculares	Infiltración del nervio óptico (papiledema, dolor ocular, visión borrosa o ceguera unilateral de inicio brusco)
Pulmonares	Neumonía. Hemorragia pulmonar. Leucostasis pulmonar (infiltrados intersticiales).

Gastrointestinales	Disfagia (generalmente secundaria a candidiasis). Infecciones del área rectal y perirrectal. Tiflitis o colitis necrotizante (>10% de los pacientes que reciben quimioterapia intensiva).
Cloromas	Masas o tumores sólidos de células leucémicas en localizaciones diversas: hueso, mama, ovarios, órbita, duramadre, intestino delgado...(pueden preceder en meses al diagnóstico de una LAM)
Manifestaciones por hiper celularidad o liberación de sustancias	
Leucostasis e hiperviscosidad	Manifestaciones neurológicas y pulmonares.
Liberación de sustancias intracelulares trombotoplastínicas	Coagulación intravascular diseminada.
Alteraciones metabólicas	Hiperuricemia, acidosis láctica, alteración del metabolismo del potasio...
Síndrome de lisis tumoral	Hiperuricemia, hiperpotasemia, hiperfosfatemia e hipocalcemia e insuficiencia renal.
Síntomas inespecíficos	
Astenia, anorexia, dolores osteomusculares.	

Respecto a los datos de laboratorio, generalmente se observa una anemia normocítica, normocrómica y arregenerativa, secundaria a la anulación del tejido hematopoyético normal por la proliferación leucémica. A veces presenta un carácter megaloblástico, debido al excesivo consumo de ácido fólico por parte de las células leucémicas y, excepcionalmente, la anemia tiene carácter hemolítico. Las anomalías eritrocitarias cualitativas como la anisopoiquilocitosis son especialmente intensas en la eritroleucemia. Se observa también de forma prácticamente constante una trombocitopenia secundaria a la disminución de precursores medulares y las dismorfias plaquetares son frecuentes. Aproximadamente la mitad de los pacientes presentan una leucocitosis superior a $20 \times 10^9/L$, pero sólo en un 5-25% la hiperleucocitosis es superior a $100 \times 10^9/L$. El resto de los pacientes presentan una cifra normal de leucocitos o una leucopenia (25%). El análisis de las poblaciones leucocitarias generalmente pone de manifiesto una neutropenia, secundaria a la insuficiencia medular y a la presencia de células blásticas. Excepto la coagulación intravascular diseminada que puede observarse en la leucemia promielocítica y cursa con un descenso de la tasa de protrombina, una disminución del fibrinógeno sérico y la presencia de productos de degradación del fibrinógeno, como el dímero D, otras alteraciones de la hemostasia y la coagulación son poco comunes e inespecíficas. Los pacientes con LAM no presentan alteraciones bioquímicas específicas y mayoritariamente son reflejo del elevado recambio celular. Son frecuentes la hiperuricemia, el aumento de la lactatodeshidrogenasa sérica, la hipocalcemia, la hiperpotasemia y la hiperfosfatemia.

En el frotis de médula ósea se observa, en la mayoría de los casos, una celularidad abundante debido a la infiltración por blastos leucémicos. En una pequeña proporción de pacientes se puede observar un frotis medular hipocelular (5-10%) debido a la presencia de cierto grado de fibrosis (especialmente frecuente en la variedad megacarioblástica) o a un excesivo empaquetamiento medular secundario a la infiltración blástica leucémica. La blastosis medular, que debe ser igual o superior al 20%, suele oscilar entre el 50 y el 100% de la celularidad total y su aspecto varía según el tipo morfológico.

1.1.6. Clasificación.

La LAM es una enfermedad heterogénea que se puede clasificar en función de varios criterios. La clasificación franco-americano-británica (FAB), nacida en 1976 a raíz de una serie de reuniones de trabajo de citólogos franceses, americanos y británicos, se basaba exclusivamente en criterios morfológicos y en el comportamiento citoquímico de las células blásticas y estuvo vigente prácticamente hasta el año 2000. Inicialmente se definieron 7 categorías (Bennett et al, 1976) y posteriormente, tras la incorporación de los criterios inmunológicos se añadieron los subtipos de leucemia aguda megacarioblástica (Benet et al 1985) y leucemia aguda indiferenciada (Benet et al 1991) (Tabla 4).

Tabla 4. Clasificación FAB de las leucemias agudas.

TIPO	CARACTERÍSTICAS
LAM0 (no diferenciada)	<3% blastos MPO+; marcadores celulares mieloides o positividad para MPO por ultraestructura
LAM1 (sin maduración)	≥3% blastos MPO+; ausencia o poca granulación en los blastos
LAM2 (con maduración)	≥3% blastos MPO+; granulación en más de un 10% de los blastos
LAM3 (promielocítica)	Granulación intensa, astillas citoplasmáticas; negatividad para HLA-DR. Hay una variante hipogranular
LAM4 (mielomonocítica)	>20% promonocitos, esterasas inespecíficas positivas. Hay una variante con eosinofilia
LAM5 (monocítica)	Dos variantes LAM5a (monoblastos) y LAM5b (promonocitos). Positividad para esterasas y marcadores celulares monocíticos (CD14 y CD11)
LAM6 (eritroblástica)	Eritroblastos >50% y ≥30% blastos mieloides entre las células no eritroides; positividad para glicoforina
LAM7 (megacarioblástica)	Positividad para marcadores plaquetarios por inmunofenotipo (CD41 y CD61) o ultraestructura

FAB: grupo Franco-Americano-Británico; LAM: leucemia aguda mieloblástica; MPO: mieloperoxidasa; CD: *cluster of differentiation*; HLA: antígeno leucocitario humano.

A finales de la década de los 90, un grupo de expertos de múltiples países, impulsado por la OMS, efectuó una nueva clasificación (Harris et al, 1999) que incorporaba los conocimientos inmunofenotípicos y citogenéticos a los clásicos clínicos y morfológicos, lo que resultó en el reconocimiento de nuevas entidades con relevancia clínica, terapéutica y pronóstica, que se han ido incorporando a sucesivas actualizaciones, la última en el año 2008 (tabla 5).

Tabla 5. Clasificación de la OMS (2008) de la LAM.

SUBTIPOS	
LAM con alteraciones genéticas recurrentes	<ul style="list-style-type: none"> ● LAM con t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> ● LAM con inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBF6/MYH11</i> ● LA promielocítica con t(15;17)(q22;q12); <i>PML/RARα</i> ● LAM con t(9;11)(p22;q23); <i>MLLT3-MLL</i> ● LAM con t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i> ● LAM con inv(3)(q21;q26.2) o t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EVI1</i> ● LAM (megacarioblástica) con t(1;22)(p13;q13); <i>RBM15-MKL1</i> ● LAM con mutación de <i>NPM1</i> ● LAM con mutación de <i>CEBPA</i>
LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	
Neoplasias mieloides relacionadas con tratamiento	
LAM no especificadas	<ul style="list-style-type: none"> ● LAM mínimamente diferenciada ● LAM sin maduración ● LAM con maduración ● LA mielomonocítica ● LA monoblástica y monocítica ● LA eritroblástica ● LA megacarioblástica ● LA basofílica ● Panmielosis aguda con mielofibrosis
Sarcoma mieloides	
Proliferaciones mieloides relacionadas con síndrome de Down	<ul style="list-style-type: none"> ● Mielopoyesis anómala transitoria ● Leucemia mieloides asociada con síndrome de Down
Neoplasia blástica de células dendríticas plasmocitoides	

*Tomado de WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 2008.

OMS: Organización Mundial de la Salud; LA: leucemia aguda; LAM: leucemia aguda mieloblástica.

En función de su historia natural, la LAM también se puede clasificar en tres categorías diferentes:

- LAM secundaria (s-LAM) en pacientes con una historia previa de síndrome mielodisplásico (SMD) o neoplasia mieloproliferativa (NMP), LAM con displasia multilínea o LAM con alteraciones citogenéticas relacionadas con SMD (tabla 6).

Tabla 6. Alteraciones citogenéticas relacionadas con SMD (tomado de WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 2008).

Cariotipo complejo
>3 alteraciones citogenéticas no relacionadas. Se excluyen: t(1;22)(p13;q13), inv(3)(q21q26.2) o t(3;3)(q21;q26.2), t(6;9)(p23;q34), t(8;21)(q22;q22), t(9;11)(p22;q23), t(15;17)(q22;q12), inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22).
Alteraciones desequilibradas
-7/del(7q) -5/del(5q) i(17q)/t(17p) -13/del(13q) del(11q) del(12p)/t(12p) del(9q) idic(X)(q13)
Alteraciones equilibradas
t(11;16)(q23;p13.3) t(3;21)(q26.2;q22.1) t(1;3)(p36.3;q21.1) t(2;11)(p21;q23) t(5;12)(q33;q11.2) t(5;7)(q33;q11.2) t(5;17)(q33;p13) t(5;10)(q33;q21) t(3;5)(q25;q34)

- Neoplasias mieloides relacionadas con el tratamiento (t-NM). en individuos previamente expuestos a quimioterapia y/o radioterapia.

- LAM de novo en ausencia de un SMD/NMP previo o a la exposición a quimioterapia y/o radioterapia previa.

1.2. LAM de novo.

1.2.1. Alteraciones citogenéticas.

Las alteraciones citogenéticas y moleculares en el momento del diagnóstico son uno de los factores pronósticos más importantes para la estratificación de los pacientes con LAM en diferentes categorías pronósticas (Smith et al, 2011). Si bien las diferentes clasificaciones existentes (CALGB, SWOG/ECOG, MRC y ELN) están de acuerdo en que los pacientes con afectación del complejo CBF deben ser incluidos en el grupo de riesgo favorable, los pacientes con cariotipo normal en el grupo de riesgo intermedio y los pacientes con cariotipo complejo en la categoría de riesgo adverso, difieren en la clasificación de las restantes alteraciones citogenéticas recurrentes, en la definición de cariotipo complejo (≥ 3 , ≥ 4 ó ≥ 5 alteraciones no relacionadas) y únicamente la clasificación de la *European LeukemiaNet* (ELN) incluye las alteraciones moleculares. Por otro lado, Breems et al (J Clin Oncol 2008) sugirieron la existencia de un nuevo grupo citogenético de riesgo adverso, denominado cariotipo monosómico (CM), caracterizado por la presencia de una monosomía autosómica (MA) acompañada de otra MA o de una alteración estructural.

1.2.1.1. Categorías de riesgo citogenético según el *United Kingdom Medical Research Council trials* (MRC).

En el año 1998, a partir del estudio de 1612 pacientes (364 niños menores de 15 años y 1062 adultos) diagnosticados de LAM *de novo* (337 niños y 1460 adultos) y s-LAM (22 niños y 119 adultos) y tratados entre los años 1998 y 1995 según el protocolo AML 10, Grimwade et al (Blood 1998) analizaron el impacto pronóstico de las alteraciones citogenéticas presentes en el momento del diagnóstico. En la tabla 7 se recogen los diferentes grupos de riesgo con las alteraciones citogenéticas asignadas a cada uno de los grupos.

En este estudio, el valor predictivo de las alteraciones citogenéticas al diagnóstico se mantuvo en todos los grupos de edad analizados, en los pacientes diagnosticados de LAM *de novo* y s-LAM, en los pacientes tratados exclusivamente con quimioterapia y en aquellos en los que se realizó un trasplante de progenitores autogénico (auto-TPH) o alogénico (alo-TPH). Este último hecho confirma la observación, ya reportada por otros autores, que el impacto pronóstico de las alteraciones citogenéticas en el momento del diagnóstico también se mantiene en el

contexto del trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) en primera remisión completa (RC) (Gale et al 1995; Ferrant et al, 1997).

Tabla 7. Categorías de riesgo citogenético según el MRC (tomado de Grimwade et al, 1998)

RIESGO	MRC 1998	
Favorable	t(8;21)(q22;q22)	Independientemente de la presencia de alteraciones adicionales.
	inv(16)/ t(16;16)	
	t(15;17)	
Intermedio	Cariotipo normal	
	+8	
	+21	
	+22	
	del(7q)	
	del (9q)	
	Anomalías 11q23	
	Alteraciones citogenéticas no incluidas en las categorías de pronóstico favorable o adverso.	
Adverso	-5/del(5q)	
	-7	
	Anomalías 3q	
	Cariotipo complejo (≥5 alteraciones)	

Dado que en este primer estudio las alteraciones citogenéticas presentes en menos de 20 pacientes no fueron consideradas individualmente y se asignaron al grupo de riesgo intermedio, en el año 2010 Grimwade et al (Blood 2010) analizaron el impacto pronóstico de las alteraciones citogenéticas en el momento del diagnóstico en una serie de 5876 pacientes diagnosticados de LAM (435 s-LAM) entre los años 1988 y 2009 y tratados con los protocolos vigentes en cada momento (AML 10, AML 12 y AML 15), con el objetivo de determinar el impacto pronóstico de las alteraciones citogenéticas recurrentes poco frecuentes. Como resultado de este análisis se propuso una nueva clasificación que se muestra en la tabla 8.

Ambos estudios confirmaron que en los pacientes con afectación del complejo CBF las alteraciones citogenéticas adicionales, incluidas las de pronóstico desfavorable, no tienen impacto pronóstico sobre la tasa de RC, supervivencia libre de progresión (SLP) ni supervivencia global (SG).

Tabla 8. Categorías de riesgo citogenético según el MRC (tomado de Grimwade et al, 2010).

RIESGO	MRC 2010	
Favorable	t(8;21)(q22;q22)	Independientemente de la presencia de alteraciones adicionales.
	inv(16)/ t(16;16)	
	t(15;17)	
Intermedio	Entidades no incluidas en las categorías de pronóstico favorable o adverso.	
Adverso	Anomalías 3q, excepto t(3;5)(q21~25;q31~35)	
	inv(3)(q21q26)/ t(3;3)(q21;q26)	
	-5/ add(5q)/ del(5q)	
	-7/ add(7q)/ del(7q)	
	t(6;11)(q27;q23)	
	t(10;11)(p11~13;q23)	
	t(11q23), excepto t(9;11)(p21~22;q23) y t(11;19)(q23;p13)	
	t(9;22)(q34;q11)	
	-17/anomalías 17p	
	Cariotipo complejo (≥4 alteraciones)	

1.2.1.2 Categorías de riesgo citogenético según el *Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study (SWOG/ECOG)*.

En el año 2000 Slovak et al (Blood 2000) analizaron el impacto pronóstico de las alteraciones citogenéticas en el momento del diagnóstico en una serie de 609 adultos jóvenes (< 56 años) diagnosticados de LAM, tratados con quimioterapia, auto-TPH o alo-TPH de donante emparentado (DE). A diferencia de la clasificación propuesta por el MRC, considera una cuarta categoría de riesgo indeterminado que incluye las alteraciones citogenéticas que no han sido incluidas en las categorías de pronóstico favorable, intermedio o adverso (Tabla 9).

En este estudio se sugiere que las alteraciones citogenéticas en el momento del diagnóstico tienen un impacto pronóstico en la tasa de respuesta al tratamiento de inducción y que también podría participar en el impacto pronóstico de las diferentes modalidades terapéuticas una vez alcanzada la RC.

Tabla 9. Categorías de riesgo citogenético según el SWOG/ECOG (tomado de Slovak et al, 2000).

RIESGO	SWOG/ECOG
Favorable	t(8;21)(q22;q22) sin del(9q) o cariotipo complejo
	inv(16)/ t(16;16)/ del(16q)
	t(15;17) +/- alteraciones secundarias
Intermedio	Cariotipo normal
	-Y
	+6
	+8
	del(12p)
Adverso	Cariotipo complejo (≥ 3 alteraciones)
	Alteraciones 3q
	-5/del(5q)
	t(6;9)
	-7/del(7q)
	Alteraciones 9q
	t(9;22)
	Alteraciones 11q
	Alteraciones 20q
	Alteraciones 21q
	Alteraciones 17p
	Indeterminado

1.2.1.3. Categorías de riesgo citogenético según el *Cancer and Leukemia Group B* (CALGB).

En el año 2002 Byrd et al (Blood 2002) analizaron de forma prospectiva el impacto pronóstico de las alteraciones citogenéticas al diagnóstico, en la tasa de RC, SLP y SG a los 5 años, en una serie de 1213 pacientes adultos diagnosticados de LAM *de novo* que recibieron una terapia de inducción similar (CALGB 8461). A diferencia de las clasificaciones previas, el valor pronóstico de las diferentes alteraciones citogenéticas recurrentes se evaluó de forma independiente para cada una de las variables analizadas (Tabla 10).

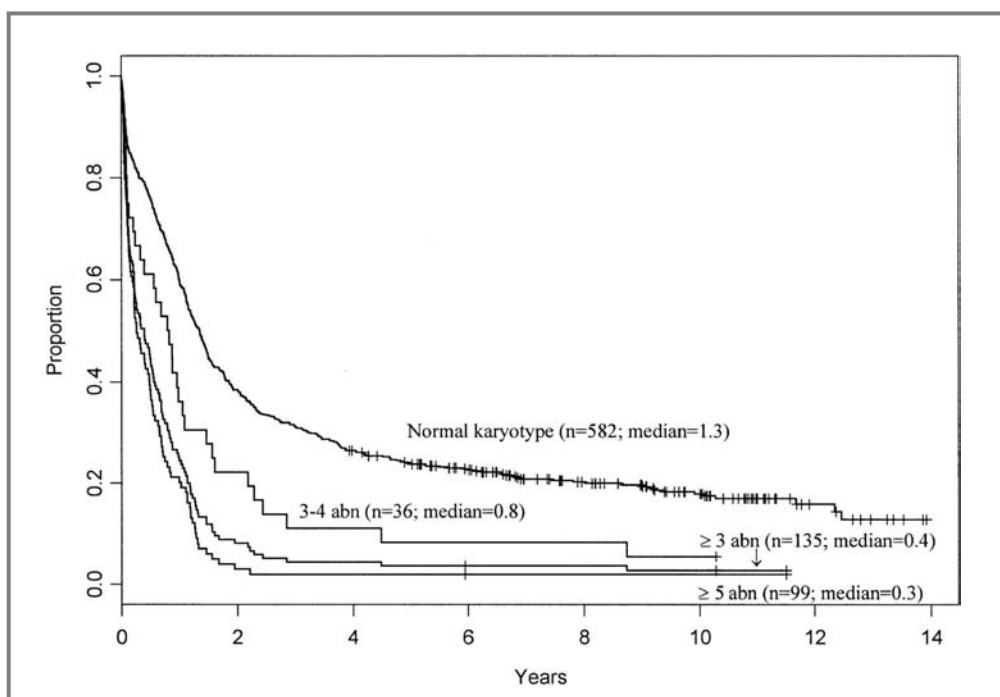
En este estudio también se observó que en los pacientes con t(8;21), inv(16)/t(16;16) y t(9;11) la presencia de alteraciones citogenéticas adicionales e incluso cariotipo complejo no tenían impacto pronóstico sobre la tasa de RC, la SLP ni la SG.

Tabla 10. Categorías de riesgo citogenético según el CALGB (tomado de Byrd et al, 2002).

RIESGO	REMISIÓN COMPLETA	INCIDENCIA ACUMULADA DE RECAÍDA	SUPERVIVENCIA GLOBAL
Favorable	t(8;21)(q22;q22)	t(8;21)(q22;q22)	t(8;21)(q22;q22)
	inv(16)/ t(16;16)	inv(16)/ t(16;16)	inv(16)/ t(16;16)
			del(9)(q)
Intermedio	Cariotipo normal	Cariotipo normal	Cariotipo normal
	-Y	+8 aislada/+8 más otra alteración	-Y
	t(6;9)	del(9q)	del(5)(q)
	-7/ del(7q)	t(9;11)	del(7q)
	+8 aislada/+8 más otra alteración	+11	t(9;11)
	del(9q)	+13	+11
	t(9;11)		del(11q)
	+11		alteraciones 12p
	del(11q)		+13
	t(11;19)(q23;p13.1)		del(20q)
	+13		+21
	del(20q)		
	+21		
Adverso	Cariotipo complejo (≥3 alteraciones)	Cariotipo complejo (≥3 alteraciones)	Cariotipo complejo (≥3 alteraciones)
	inv(3)/t(3;3)	-7	inv(3)/t(3;3)
	alteraciones 12p	+21	t(6;9)
			t(6;11)
			-7
			+8 aislada/+8 más otra alteración
			t(11;19)(q23;p13.1)

Dada la falta de consenso en la definición de cariotipo complejo por las diferentes clasificaciones previas (presencia de \geq de 5 anomalías citogenéticas o \geq de 3 en ausencia de las alteraciones citogenéticas que afectan el complejo CBF), se analizó el impacto de la presencia de 3 ó 4 alteraciones frente a 5 ó más sin observarse diferencias significativas, por lo que en este estudio se definió el cariotipo complejo como la presencia de \geq 3 alteraciones (Figura 3).

Figura 3. Supervivencia global de los pacientes diagnosticados de LAM y cariotipo complejo definido por la presencia de ≥ 3 , 3 ó 4, y ≥ 5 alteraciones (excluidos los pacientes con t(8;21), inv(16)/t(16;16), t(9;11) y cariotipo normal) (tomado de Byrd et al, 2002).



1.2.1.4. Categorías citogenéticas según la *European LeukemiaNet (ELN)*.

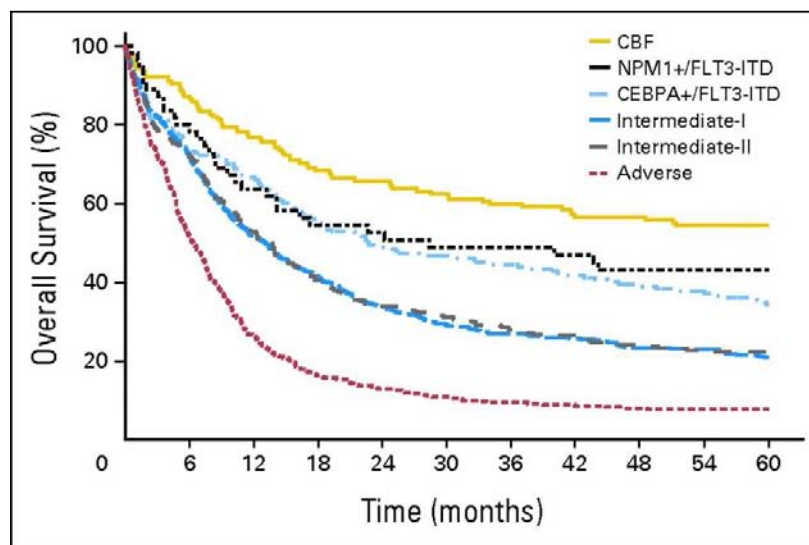
La clasificación propuesta por la ELN en el año 2010 se diferencia de las restantes categorizaciones del riesgo citogenético por incorporar en la estratificación de los pacientes con cariotipo normal, las alteraciones moleculares reconocidas en la clasificación de la OMS 2008 y por la subdivisión del grupo de riesgo intermedio en intermedio-I e intermedio-II (Döhner et al, 2010). Además, los pacientes con cariotipo normal y *NMP1* mutada con *FLT3*-ITD no mutado o *CEBPA* mutado quedan asignados al grupo de pronóstico favorable (Tabla 11).

Posteriormente Rölling et al (J Clin Oncol 2011) evaluaron el impacto pronóstico de dicha clasificación en una cohorte de 1862 pacientes (1557 evaluables) tratados con el mismo esquema terapéutico (AML 96) entre los años 1996 y 2005. En este estudio, al comparar la SG de los pacientes con afectación del complejo CBF, *NPM1*+/*FLT3*-ITD-, *CEBPA*+/*FLT3*-ITD- y riesgo intermedio I y II, se observó una mayor SG en el grupo con afectación del complejo CBF respecto a los grupos *NPM1*+/*FLT3*-ITD- y *CEBPA*+/*FLT3*-ITD- con cariotipo normal. Estos dos últimos subgrupos presentaban a su vez una mayor SG que los pacientes asignados a los grupos de riesgo intermedio I y II, hecho que justificaría la asignación de los pacientes *NPM1*+/*FLT3*-ITD-, *CEBPA*+/*FLT3*-ITD- en el grupo de riesgo favorable (Figura 4).

Tabla 11. Categorías de riesgo citogenético según la ELN (tomado de Döhner et al, 2010).

RIESGO	ELN	
Favorable	t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>	
	inv(16)(p13.1q22)/ t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i>	
	<i>NPM1</i> mutada sin <i>FLT3-ITD</i>	Cariotipo normal
	<i>CEBPA</i> mutada	
Intermedio-I	<i>NPM1</i> mutada y <i>FLT3-ITD</i>	Cariotipo normal
	<i>NPM1</i> no mutada y <i>FLT3-ITD</i>	
	<i>NPM1</i> no mutada sin <i>FLT3-ITD</i>	
Intermedio-II	t(9;11)(p22;q23); <i>MLL3-MLL</i>	
	Entidades no incluidas en las otras categorías.	
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 <i>MLL</i>	
	-5/ del(5q)	
	-7	
	Alteraciones 17p	
	Cariotipo complejo (≥3 alteraciones, sin t(8;21), inv(16) o t(16;16), t(15;17), t(9;11), t(6;9), inv(3) o t(3;3), reordenamiento <i>MLL</i>).	

Figura 4. Supervivencia global (SG) de acuerdo con las categorías de riesgo citogenético de la ELN, incluidos los siguientes subgrupos dentro del riesgo favorable: CBF, *NPM1*+/*FLT3*-ITD- y *CEBPA*+/*FLT3*-ITD- (tomado de Röhlig et al, 2011).



En este estudio también se confirmó el impacto pronóstico de las diferentes categorías de riesgo citogenético (favorable vs. intermedio-I vs. intermedio-II vs. adverso) a pesar que en los pacientes > de 60 años no se observaron diferencias significativas en la SG ni en la SLP entre los grupos intermedio-I y II. Este hecho fue confirmado posteriormente por Mrózek et al (J Clin Oncol 2012) que compararon, en una serie de 1550 pacientes, las tasas de RC, SLP y SG de los pacientes menores y mayores de 60 años de forma independiente. Dada la diferente proporción de las alteraciones citogenéticas entre ambos grupos (Figura 5) y el peor pronóstico de los pacientes mayores de 60 años en todas las categorías (Figura 6), los pacientes jóvenes y ancianos deberían analizarse de forma separada al utilizar esta clasificación.

Figura 5. Distribución de los pacientes < de 60 años (A) y > de 60 años (B) según las categorías citogenéticas pronósticas propuestas por la ELN (tomado de Mrózek et al, 2012).

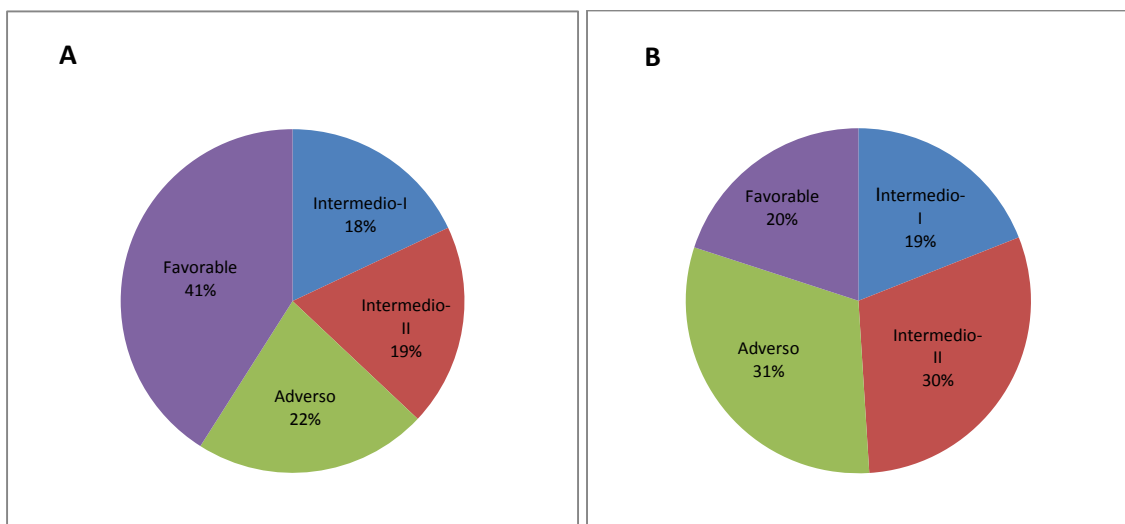
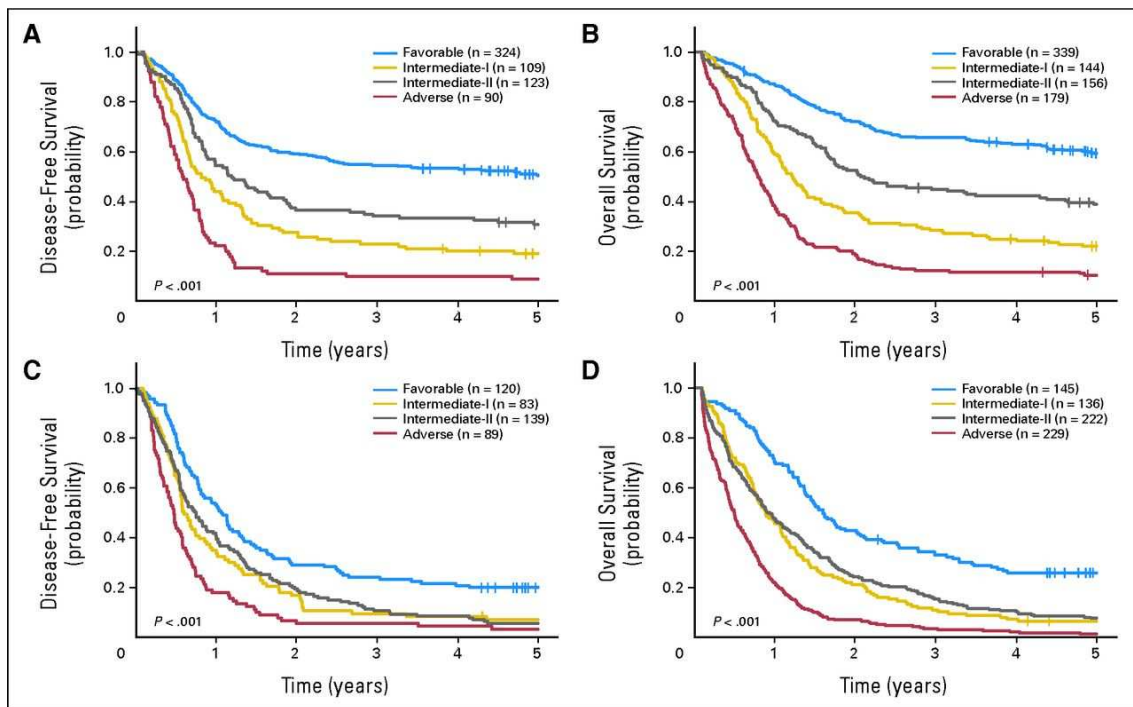


Figura 6. SLP (A) y SG (B) en pacientes < 60 años; SLP (C) y SG (D) en pacientes > 60 años de acuerdo con las categorías de riesgo citogenético de la ELN (tomado de Mròzek et al, 2012).



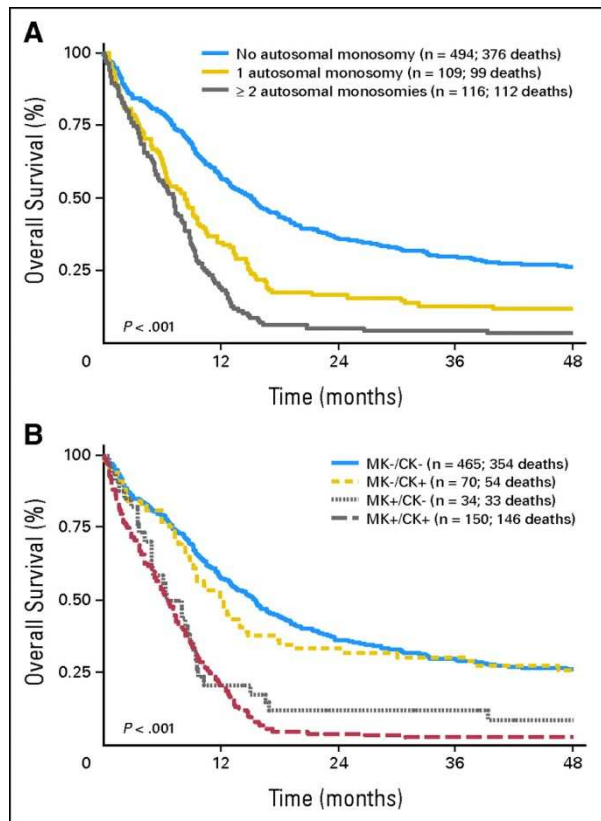
1.2.1.5. Cariotipo monosómico

En el año 2008 Breems et al, dada la falta de consenso en la definición del cariotipo complejo como la presencia de ≥ 3 (Slovak et al 2000; Byrd et al 2002; Döhner et al 2010), ≥ 4 (Grimwade et al 2010) ó ≥ 5 (Grimwade et al, 1998) alteraciones citogenéticas no relacionadas, analizaron el impacto pronóstico de las diferentes anomalías del cariotipo complejo (pérdida de ≥ 1 cromosoma, ganancia de ≥ 1 cromosoma y la presencia de alteraciones estructurales, cromosomas marcadores o anillos) en una serie de 1975 pacientes, entre 15 y 60 años de edad, diagnosticados de LAM (excepto leucemia aguda promielocítica) entre los años 1997 y 2004, y tratados según los protocolos vigentes (AML 4, AML 4a, AML 29 y AML 42) en cada momento (Breems et al, 2008).

En este estudio se observó que los pacientes con una MA o ≥ 2 MA en el momento del diagnóstico, presentaban una < SG que aquellos que no presentaban ninguna MA (SG a los 4 años 12%, 3% y 27% respectivamente; $p < 0.001$) (Figura 7). Del mismo modo, los pacientes que presentaban ≥ 2 alteraciones estructurales presentaban una < SG respecto los pacientes sin alteraciones estructurales o con una alteración estructural (SG a los 4 años 11% vs 24%; $p < 0.001$). El impacto pronóstico peyorativo del CM se mantuvo en los pacientes con cariotipo complejo (figura 7) y en los pacientes con alteraciones citogenéticas de mal pronóstico (-5/-7),

pero la presencia de cromosomas extra, cromosomas marcadores o anillos no tuvo impacto pronóstico en la SG.

Figura 7. SG de los pacientes diagnosticados de LAM, excluidos los pacientes con afectación del complejo CBF. (A) SG en relación al número de MA presentes en el momento del diagnóstico. (B) SG en relación al CM y cariotipo complejo, definido como la presencia de ≥ 3 alteraciones citogenéticas (tomada de Breems et al, 2008).

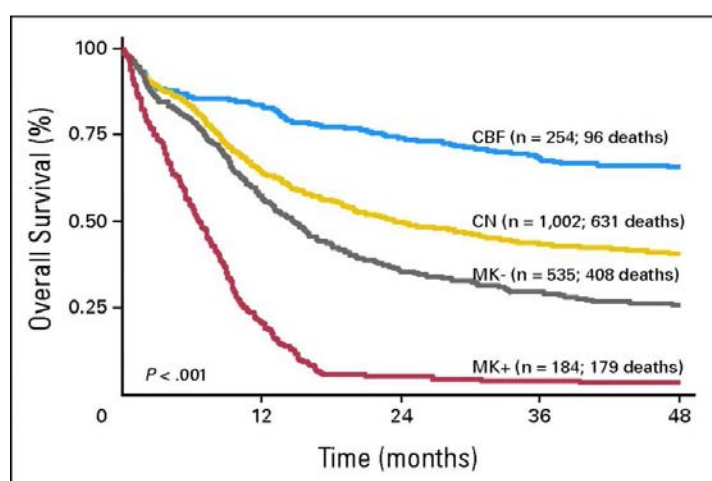


Como resultado de este estudio se definió un subgrupo de pacientes de muy mal pronóstico, denominado CM, caracterizado por la presencia de una MA acompañada de otra MA o de una alteración estructural, y se definieron 4 grupos de riesgo citogenético (Tabla 12) con diferente impacto pronóstico (Figura 8).

Tabla 12. Categorías de riesgo citogenético según Breems et al.

RIESGO	Breems et al
Favorable	inv(16)(p13.1q22)/ t(16;16)(p13.1;q22)
	t(8;21)(q22;q22)
Intermedio	Cariotipo normal
	-X/ -Y
Adverso	Otras alteraciones citogenéticas + CM-
Muy adverso	Otras alteraciones citogenéticas + CM+

Figura 8. Supervivencia global de las cuatro categorías pronósticas propuestas por Breems et al (tomada de Breems et al, 2008).



Posteriormente se ha confirmado en diferentes estudios la asociación del CM con la edad avanzada y su impacto pronóstico peyorativo en pacientes de edad avanzada, en pacientes con cariotipo complejo, con alteraciones citogenéticas relacionadas con mielodisplasia y con anomalías citogenéticas de riesgo adverso (-5/del(5q), -7, anomalías 17p y cariotipo complejo) así como su baja asociación con la *FLT3*-ITD o con mutaciones del gen de la *NMP1* (Medeiros et al, 2010; Haferlach et al, 2012; Kaiser et al, 2012).

Respecto al beneficio del alo-TPH en este subgrupo de pacientes, los resultados son controvertidos (Fang et al, 2011; Oran et al, 2011; Kaiser et al, 2012) y probablemente estos pacientes sean candidatos a recibir nuevas estrategias terapéuticas.

1.2.2. Alteraciones moleculares.

El 45% de los pacientes adultos con LAM presentan un cariotipo normal y se consideran, por los diferentes grupos pronósticos, de riesgo citogenético intermedio. Sin embargo, la respuesta al tratamiento es muy heterogénea por lo que, en un intento de mejorar la clasificación pronóstica y el tratamiento adaptado al riesgo en este grupo de pacientes, el estudio de los marcadores moleculares se han ido incorporando en el diagnóstico de las LAM. Se han descrito mutaciones somáticas en una gran variedad de genes con diferente impacto pronóstico: *CEBPA*, *NPM1*, *FLT3*, *c-KIT*, *TET2*, *ASXL1*, *IDH1* o *IDH2*, *DNMT3A*, *PHF6*, *ETV6*, *JAK2*, *HRAS*, *NRAS*, *KRAS2*, *PTEN*, *PTPN11*, *MLL-PTD*, *HIPK2*, *ASXL1*, *SF3B1*, *GATA2*, *CBL*, *WT1*, *TP53*, *EZH2*, *TERC*, *TERT*... Estas mutaciones se pueden agrupar en 9 categorías (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2013) (Figura 9) (Tabla 13). De todas estas mutaciones, tres ya se estudian de forma sistemática: las mutaciones en el gen de la *NPM1* y *CEBPA* y *FLT3-ITD* (Pfeiffer et al, 2013).

Figura 9. Complejidad mutacional en la LAM (tomado de Patel et al, 2012)

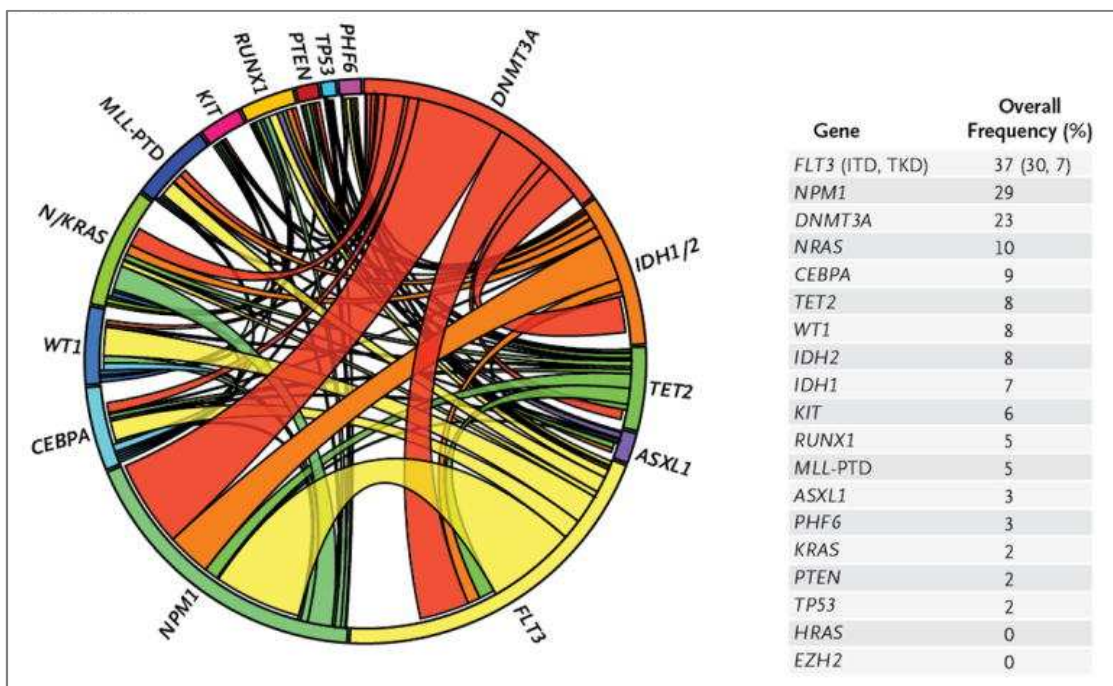


Tabla 13. Clasificación de las mutaciones observadas en la LAM.

Fusión de genes de transcripción	<i>PML-RARA</i>
	<i>MYH11-CBFB</i>
	<i>RUNX1-RUNX1T1</i>
	<i>PICALM-MLLT10</i>
Mutaciones en el gen de la <i>NPM1</i>	
Genes supresores de tumores	<i>TP53</i>
	<i>WT1</i>
	<i>PHF6</i>
Metilación del ADN	<i>DNMT3A/DNMT3B</i>
	<i>TET1/TET2</i>
	<i>IDH1/IDH2</i>
Factores de transcripción	<i>RUNX1</i>
	<i>CEBPA</i>
Vías de señalización	<i>FLT3</i>
	<i>KIT</i>
	<i>KRAS/NRAS</i>
	<i>PTPs</i>
Modificadores de la cromatina	<i>MLL-PTD</i>
	<i>ASXL1</i>
	<i>EZH2</i>
	<i>KDM6A</i>
Genes del complejo cohesina	<i>STAG2</i>
	<i>SMC3</i>
	<i>RAD21</i>
	<i>SMC1A</i>
Genes del complejo Espliceosoma	

Recientemente, diferentes estudios han identificado una serie de genes y microRNA (miRNA) cuya expresión aberrante (sobre o infraexpresión) también parece tener impacto pronóstico en la LAM (Marcucci G et al, 2005; Marcucci G et al, 2007; Schwind S et al, 2011). Los miRNA son secuencias de ARN monocatenario no codificante, formados por 22 nucleótidos. Los miRNA maduros se unen a una ribonucleoproteína que dará lugar a un complejo llamado RISC (*RNA induced silencing complex*). Este complejo se une a la región 3' del ARN mensajero (ARNm) blanco, donde se encuentran secuencias de regulación para la transcripción y traducción. De esta forma se produce el silenciamiento de determinados genes con la resultante inhibición de la traducción proteica. Cada miRNA puede tener varios ARNm blanco. Cuando un miRNA está infraexpresado y su blanco es un oncogen favorece el desarrollo neoplásico, mientras que cuando está sobreexpresado actúa como un supresor tumoral (Jongen-Lavrencic et al, 2008).

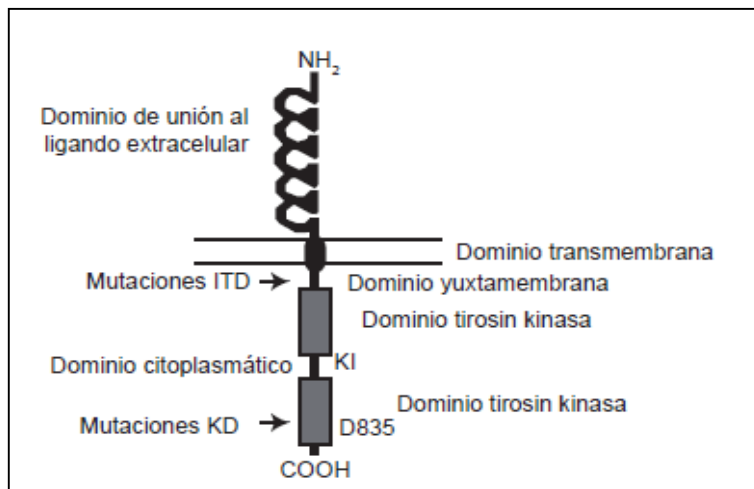
Del mismo modo, la metilación de las regiones promotoras de los genes, con el consecuente silenciamiento en la expresión del gen correspondiente, así como la modificación de histonas mediante metilación, acetilación o fosforilación, también tiene implicaciones pronósticas y terapéuticas (Figuroa et al, 2010).

1.2.2.1. Mutaciones en el gen del receptor FLT3 (*FMS-like tyrosine kinase 3*).

Las mutaciones dentro del gen *FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3)* representan una de las alteraciones genéticas más frecuentes en pacientes con LAM. El gen *FLT3* pertenece a la familia de receptores tirosina cinasa clase III, que incluye *FMS*, *c-KIT*, *PDGFR- α* y *PDGFR- β* . La unión de su ligando *FLT3-ligand* induce un cambio conformacional, homodimerización y activación subsecuente de vías de señalización intracelular.

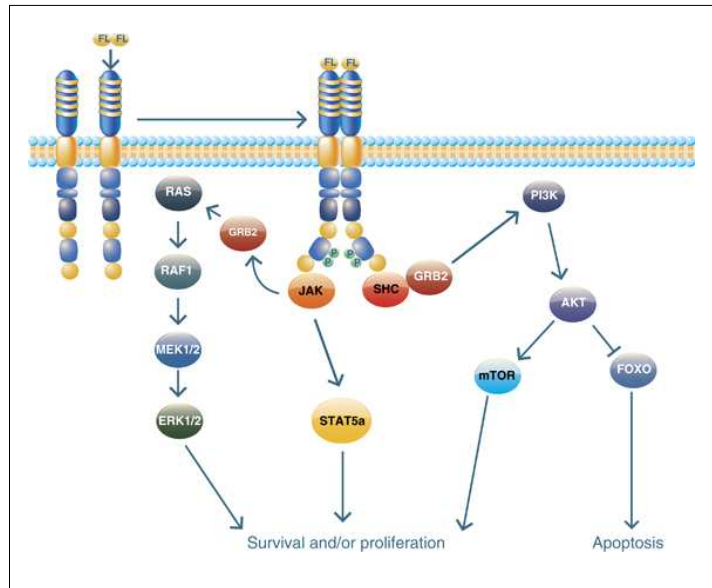
El gen *FLT3* contiene 24 exones, se localiza en el cromosoma 13q12 y en humanos codifica una proteína de 993 aminoácidos que se expresa en las células progenitoras hematopoyéticas e interviene en su proliferación y diferenciación. También se ha encontrado en la placenta, las gónadas, el cerebro y otros órganos linfo-hematopoyéticos, como el hígado, el bazo y el timo. La proteína *FLT3* está compuesta por una región extracelular con cinco dominios, semejantes a las inmunoglobulinas, una secuencia transmembrana y una porción intracelular conformada por un segmento yuxtamembrana (JM) seguido de un dominio tirosina cinasa (TKD) (Figura 10).

Figura 10. Estructura del *FLT3* (tomado de Cuervo-Sierra et al, 2012).



Las mutaciones de *FLT3* provocan una fosforilización constitutiva del receptor en ausencia de ligando, con el consecuente incremento de la proliferación celular e inhibición de la apoptosis, a través de la activación de diferentes vías de transducción y señalización como fosfatidilinositol 3-cinasa (*PI3K*), *STAT5*, *JAK2* y *MAPK* (Figura 11). También producen un bloqueo en la diferenciación mieloide mediante la inhibición de *CEBPA* y *PU.1* (Reindl et al, 2006; Meshinchi et al, 2009).

Figura 11. Vías de señalización de FLT3 (tomada de Swords et al, 2012).



En la LAM se han identificado dos clases mayores de mutaciones activadoras de *FLT3*: las *FLT3*-ITD y las mutaciones puntuales del dominio tirosina cinasa (*FLT3*-TKD). La *FLT3*-ITD fue descrita por primera vez en el año 1996 (Nakao et al, 1996), se detecta en el 20%-30% de los pacientes con LAM y resulta de la duplicación de un fragmento dentro de la región del dominio JM codificado por los exones 14 y 15 de *FLT3*, que puede variar entre 3 y 400 pares de bases y siempre ocurre en múltiplos de tres.

En la actualidad la *FLT3*-ITD se considera un factor pronóstico adverso asociado a una mayor probabilidad de recaída y una menor SG, pero no afecta de forma significativa la tasa de RC (Fröhling et al, 2002; Thiede et al, 2002).

Diferentes estudios han observado que el impacto pronóstico de la *FLT3*-ITD puede variar en función de otros factores como el nivel del alelo mutado, el tamaño de la mutación, el número de mutaciones, así como de su asociación con el estado mutacional del gen de la *NPM1*.

Los pacientes con *FLT3*-ITD y pérdida de la expresión del alelo no mutado presentan un especial mal pronóstico (Gale et al, 2008). Esta pérdida tiene lugar como consecuencia de una disomía uniparental adquirida, que puede ser parcial, secundaria a la recombinación somática entre cromosomas homólogos, o total, con la consecuente duplicación del cromosoma homólogo remanente que presenta la *FLT3*-ITD (Fitzgibbon et al, 2005; Griffiths et al, 2005). El cociente (ratio) entre el alelo mutado y el alelo germinal también parece tener impacto pronóstico y nos permite considerar diferentes subgrupos pronósticos. Así, los pacientes con

LAM de riesgo citogenético intermedio y con una ratio baja (< 0.8) presentan una SG comparable a la de los pacientes con LAM sin *FLT3*-ITD (Renneville et al, 2008).

Si bien en algún estudio se ha sugerido que el tamaño del ADN insertado puede ser de importancia pronóstica, con una menor SG y SLP para aquellos pacientes en los que el tamaño insertado es superior a 40 nucleótidos (Stirewalt et al, 2006), este hecho no ha sido confirmado posteriormente en otros estudios (Gale et al, 2008). También es controvertido el impacto pronóstico del número de *FLT3*-ITD presentes en el mismo paciente. Este hecho se ha observado hasta en un 23% de los pacientes y si bien inicialmente la presencia de más de una mutación se había asociado a una menor SG a los 5 años (Kottaridis et al, 2001), este hecho tampoco ha sido confirmado posteriormente (Gale et al, 2008).

El impacto pronóstico de la *FLT3*-ITD también varía en función del estado mutacional del gen de la *NPM1*. En este sentido, Gale et al (Blood 2008) diferenciaron 3 grupos con diferente impacto pronóstico: favorable (*FLT3*-ITD-/*NPM1m*), intermedio (*FLT3*-ITD-/*NPM1wt* o *FLT3*-ITD+/*NPM1m*) y adverso (*FLT3*-ITD+/*NPM1wt*).

Alrededor de un 5-10% de pacientes con LAM presentan mutaciones puntuales dentro del dominio tirosina cinasa de *FLT3*. En la mayoría de los casos estas mutaciones resultan de la sustitución de tirosina por ácido aspártico en el codón 835 (D835Y) y su significado pronóstico es controvertido (Yamamoto et al, 2001).

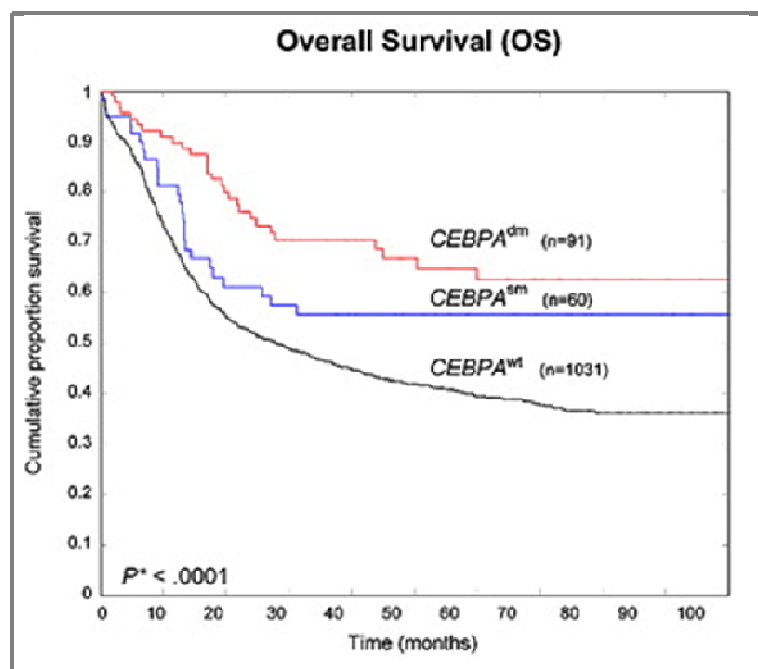
El estado mutacional de *FLT3* puede variar a lo largo de la evolución de la enfermedad. Aproximadamente un 9% (4-27%) de los pacientes pierden la *FLT3*-ITD en el momento de la recaída, mientras que aproximadamente un 6% la adquieren en este momento. Además en un 6% de los pacientes *FLT3*-ITD, el tamaño o el número de mutaciones puede variar en el momento de la recaída (Shih et al, 2002; Cloos et al 2006). Lo mismo ocurre con las mutaciones puntuales del gen *FLT3*, que pueden perderse en el momento de la recaída en el 50% de los pacientes (Shih et al, 2004). Esta inestabilidad limita su utilidad como marcador de enfermedad mínima residual (EMR) y sugiere que las mutaciones en *FLT3* son un evento genético secundario, que pueden ocurrir en un subclon pero que no afectan la *stem-cell* leucémica (Renneville et al, 2008).

1.2.2.2. Mutaciones en *CEBPA* (CCAAT enhancer binding protein alpha).

El gen *CEBPA* está localizado en el cromosoma 19q13.1 y codifica para el factor de transcripción CCAAT enhancer binding protein alpha, perteneciente a la familia de los cierras de leucina. Está implicado en la diferenciación de los granulocitos y su disrupción resulta en un bloqueo selectivo y temprano de la maduración granulocítica. Las mutaciones de *CEBPA* se suelen observar en un 9% de todas las LAM y en un 5-14% de las LAM de cariotipo normal

(Snaddon J et al, 2003; Fröhling et al, 2004; Taskesen et al, 2011). Las mutaciones pueden tener lugar tanto en la parte N-terminal, que comporta la formación de una proteína más corta, o en la parte C-terminal, que afecta a la región de unión del DNA, a la homodimerización y a la heterodimerización. Los pacientes con LAM y mutaciones en *CEBPA* pueden dividirse en dos subgrupos: los que presentan una única mutación (*CEBPAsm*) y los que presentan 2 mutaciones (*CEBPA^{dm}*). En la mayoría de las LAM *CEBPA^{dm}*, ambos alelos están mutados y generalmente presentan una mutación en la parte N-terminal y la otra en la parte C-terminal. En las LAM *CEBPAsm*, las mutaciones pueden ocurrir tanto en la parte N-terminal como en la parte C-terminal. Aunque inicialmente estos dos subgrupos no fueron considerados en la evaluación del impacto pronóstico de esta mutación, estudios recientes sugieren que sólo las LAM con *CEBPA^{dm}* se asocian a un pronóstico favorable (Figura 12) y que en estos casos la asociación con otras mutaciones, como *NPM1* y *FLT3-ITD*, es inferior a la observada en las LAM *CEBPAsm* (Taskesen et al, 2011).

Figura 12. SG en función del estado mutacional de *CEBPA*: mutado, doble mutado o no mutado (tomado de Taskesen et al, 2011).



También se ha descrito que la hipermetilación del promotor de *CEBPA*, en pacientes con LAM de cariotipo normal y con el genotipo *CEBPA* germinal o *wild type (wt)* y *NPM1wt*, es un factor pronóstico independiente para la SLP y para la SG (Lin et al, 2011).

1.2.2.3. Mutaciones en el gen de la nucleofosmina (*NPM1*).

El gen de la *NPM1* (*Nucleophosmin Member 1*) se encuentra en el cromosoma 5q32 y codifica para una fosfoproteína nucleolar de 294 aminoácidos que se traslada constantemente entre el núcleo, el nucléolo y el citoplasma. Se han identificado algunas funciones como promotor de la biogénesis de los ribosomas, control de la duplicación del centrosoma durante el ciclo celular, modulación de la función de factores de transcripción supresores de tumores y regulación de la función y estabilidad de varias proteínas nucleares por su propiedad de molécula chaperona. Su forma germinal se localiza en el núcleo y su forma aberrante en el citoplasma. Este cambio de localización puede deberse a más de 26 mutaciones diferentes, que consisten en inserciones o deleciones cortas (entre 4 y 10 pares de bases), en las posiciones 956 a 971, en el exón 12 del gen. Éstas comportan un cambio en el patrón de lectura, lo que dará lugar a diferentes proteínas variantes que difieren en la porción C terminal. La mutación A es la más común y consiste en una duplicación TCTG en la posición 956 a 959.

Las mutaciones en el gen de la *NPM1* son las mutaciones detectadas con más frecuencia en la LAM *de novo*. Se observan en un 35% de los pacientes con LAM y en un 50-60% de los pacientes con cariotipo normal (Fernández-Mercado et al, 2012; Graubert et al, 2014) y en la última clasificación de la OMS, se consideran una entidad provisional dentro del grupo de LAM con alteraciones citogenéticas recurrentes (Tabla 4).

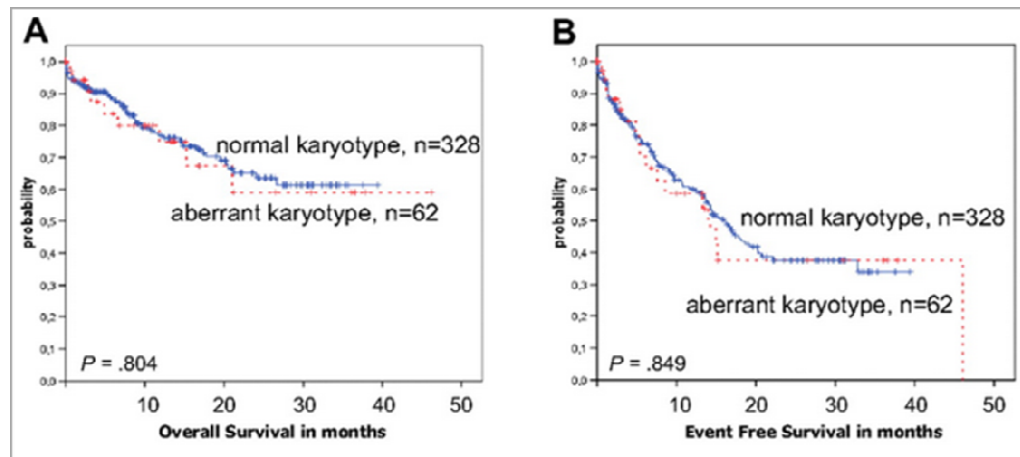
Las mutaciones de *NPM1* no se observan en las LAM con t(8;21), inv(16)/t(16;16) o t(15;17) y tampoco son frecuentes en las LAM de cariotipo complejo (Thiede et al, 2006), pero pueden asociarse a otras alteraciones cromosómicas como la +4, +8, del(9q) o +21 (Haferlach et al, 2009). Las LAM con *NPM1m* y cariotipo normal presentan las mismas características clínico-biológicas, inmunofenotípicas y pronóstico que aquellas que presentan alteraciones cromosómicas (Figura 13).

En un 25% de los casos las mutaciones del gen de la *NPM1* se asocian a mutaciones en *IDH* y en un 40% a *FLT3-ITD* (Marcucci et al, 2011). En ausencia de *FLT3-ITD* o cuando la ratio alélica *FLT3-ITD/FLT3wt* es baja, la mutación de la *NPM1* se asocia a un pronóstico favorable (Döhner et al, 2005; Thiede et al, 2006), por lo que actualmente se incluyen dentro del grupo de riesgo citogenético favorable, junto con las LAM con afectación del complejo CBF (Döhner et al, 2010).

Las mutaciones en el gen de la *NPM1* también se asocian a buen pronóstico en pacientes mayores de 70 años (Becker et al, 2010). Este hecho es importante, ya que va a permitir identificar a un subgrupo de pacientes que se podrán beneficiar de quimioterapia intensiva.

Por otro lado, estas mutaciones suelen ser estables a lo largo de la enfermedad, por lo que son una diana susceptible de ser analizada en los estudios de EMR mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Figura 13. Supervivencia global (A) y supervivencia libre de evento (B) de los pacientes con *NPM1m* y cariotipo normal o alterado (tomada de Haferlach et al, 2009).



1.2.2.4. Mutaciones en el gen *c-KIT*.

El gen *c-KIT* se localiza en el cromosoma 4q11-q12 y codifica para una proteína transmembrana de 145 kD. Esta proteína pertenece a la familia de receptores tirosin cinasa tipo III. Las mutaciones en la familia tirosin cinasa confieren una ventaja proliferativa a las células blásticas y cooperan con las mutaciones en el complejo CBF, *RARA* y *MLL* en el proceso de la leucemogénesis.

El gen *c-KIT* consta de tres dominios: extracelular, transmembrana e intracelular con el dominio tirosin-kinasa. Las mutaciones en *c-KIT* se observan principalmente en las LAM con afectación del complejo CBF, t(8;21) e inv(16)/t(16;16), con una incidencia del 20-30% y en las LAM con trisomía del cromosoma 4, aislada o asociada a la t(8;21). No se han encontrado diferencias significativas entre las LAM *de novo*, las s-LAM o las t-LAM (Cairolì et al, 2006; Paschka et al, 2006; Schnittger et al, 2006). En las LAM con afectación del complejo CBF las mutaciones de *c-KIT* se han asociado a una menor SG y SLP (Cairolì et al, 2006; Paschka et al, 2006). Sin embargo, estudios más recientes sugieren que este efecto peyorativo se observa sólo en los pacientes con t(8;21) pero no en aquellos que presentan inv(16)/t(16;16) (Patel et al, 2012; Qin et al, 2014).

Estas mutaciones son clínicamente relevantes debido a sus implicaciones terapéuticas, dado que los inhibidores tirosín-kinasa pueden bloquear farmacológicamente la actividad de *c-KIT* (Renneville et al, 2008).

1.2.2.5. Mutaciones en el gen *TET2* (tet methylcytosine dioxygenase 2).

Las mutaciones en el gen *TET2* se observan en el 12-32% de los pacientes con LAM y se han asociado específicamente con NMP transformadas a LAM (Graubert et al, 2014).

TET2 se localiza en el cromosoma 4q24, tiene un papel clave en la desmetilación del DNA y en la regulación epigenética, principalmente a través de la conversión de 5-metilcitosina a 5-hidroximetilcitosina, y participa en la diferenciación hematopoyética.

Las mutaciones en *TET2* se asocian con frecuencia a mutaciones en el gen de la *NPM1* y son mutuamente excluyentes con las mutaciones en *IDH1/2* (Gaidzik et al, 2012).

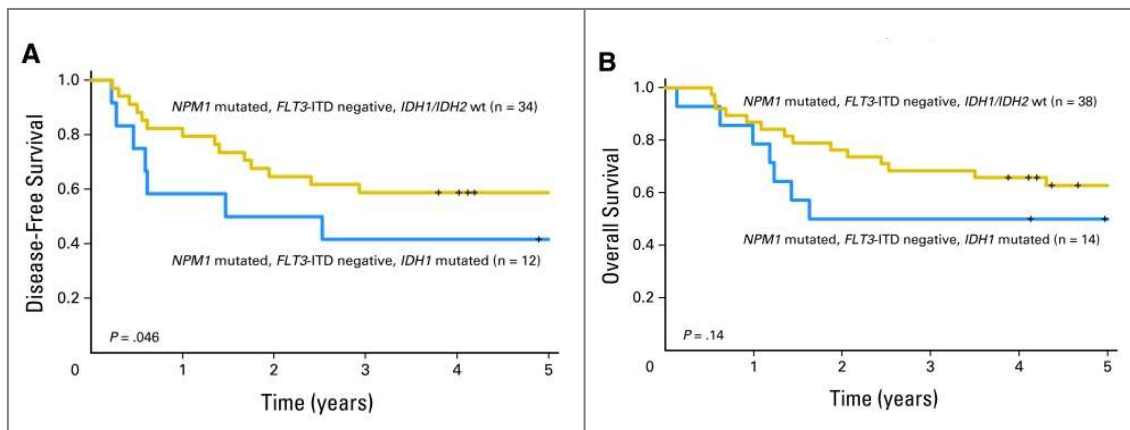
El impacto pronóstico de las mutaciones en *TET2* es controvertido, mientras en algunos estudios se han asociado a un pronóstico adverso, con una menor SG en pacientes con LAM de cariotipo normal que presentan mutaciones en *CEBPA* y/o *NPM1* y *FLT3wt* (Metzeler et al, 2011; Patel et al 2012; Tian et al, 2014), en otros no se observa dicha asociación (Nomdedéu et al, 2012).

1.2.2.6. Mutaciones en *IDH1* e *IDH2* (Isocitrate deshidrogenase 1 y2).

Las mutaciones en R132 *IDH1* y en R140 o R172 *IDH2* se observan, respectivamente, en un 5-10% y en un 15-20% de las LAM (Marcucci et al, 2010). Estas mutaciones son mayoritariamente autoexcluyentes, y se observan preferentemente en las LAM de cariotipo normal y en aquellas con *NPM1m* (Paschka et al, 2010; Nomdedéu et al, 2012).

El impacto pronóstico de las mutaciones en *IDH1* e *IDH2* es controvertido. Mientras que en algunos estudios se han asociado a un pronóstico adverso en los pacientes con cariotipo normal y genotipo favorable, *NPM1m* o *CEBPAm* y *FLT3wt* (Paschka et al, 2010; Marcucci et al, 2010; Nomdedéu et al, 2012) (Figura 14), en el estudio de Patel et al (N Engl J Med 2012) las mutaciones en *IDH1/2* en pacientes con *NPM1m* y *FLT3wt*, se asocian a un pronóstico favorable, con una mejoría en la SG. En este trabajo también se ha observado que las mutaciones en *IDH2* R140Q se asocian a una mayor tasa de SG a los 3 años (66%) en los pacientes con LAM.

Figura 14. (A) Supervivencia libre de progresión y (B) supervivencia global en pacientes jóvenes de bajo riesgo molecular de acuerdo con el estado mutacional de *IDH1* (tomado de Marcucci et al, 2010).



1.2.2.7. Mutaciones en *DNMT3A* (DNA metiltransferasa 3A).

Las mutaciones en *DNMT3A* se presentan en el 25% de las LAM y, al igual que los casos *TET2* y *IDHm*, se observan principalmente en LAM de riesgo citogenético intermedio (Ley et al, 2010). Se han descrito un gran número de mutaciones, incluidas mutaciones *nonsense*, *frameshift* y *missense*, pero la más frecuente consiste en una mutación *missense* en la posición *R882*. En pacientes con SMD las mutaciones en *DNMT3A R882* se han asociado a una menor supervivencia libre de transformación a LAM y a una menor SG. En la LAM, estas mutaciones se han asociado a una menor SG y a la coexistencia de la *FLT3-ITD* (Ley et al, 2010; Patel et al, 2012). Recientemente, en una cohorte de 1770 pacientes diagnosticados de LAM, se ha observado sólo un modesto efecto en la SG del estado mutacional en *DNMT3A*. En este estudio, las mutaciones en *DNMT3A* se han asociado a un pronóstico adverso exclusivamente en el subgrupo de pacientes de alto riesgo, según los criterios de la ELN. Además, sólo las mutaciones en *DNMT3A R882* se han asociado a una menor SLP (Gaidzik et al, 2013). Fernández-Mercado et al, al no encontrar *DNMT3A* como mutación única, han sugerido que estas mutaciones necesitarían de otras alteraciones adicionales en el desarrollo leucemogénico (Fernández-Mercado et al, 2012).

1.2.2.8. Mutaciones en *ASXL1* (Additional sex combs-like 1).

ASXL1 se localiza en el cromosoma 20q11 y se han descrito mutaciones somáticas en el exón 12 de este gen en una gran variedad de neoplasias mieloides, incluidas la leucemia mielomonocítica crónica (LMMC, 45%), los síndromes mielodisplásicos (SMD, 16%), la

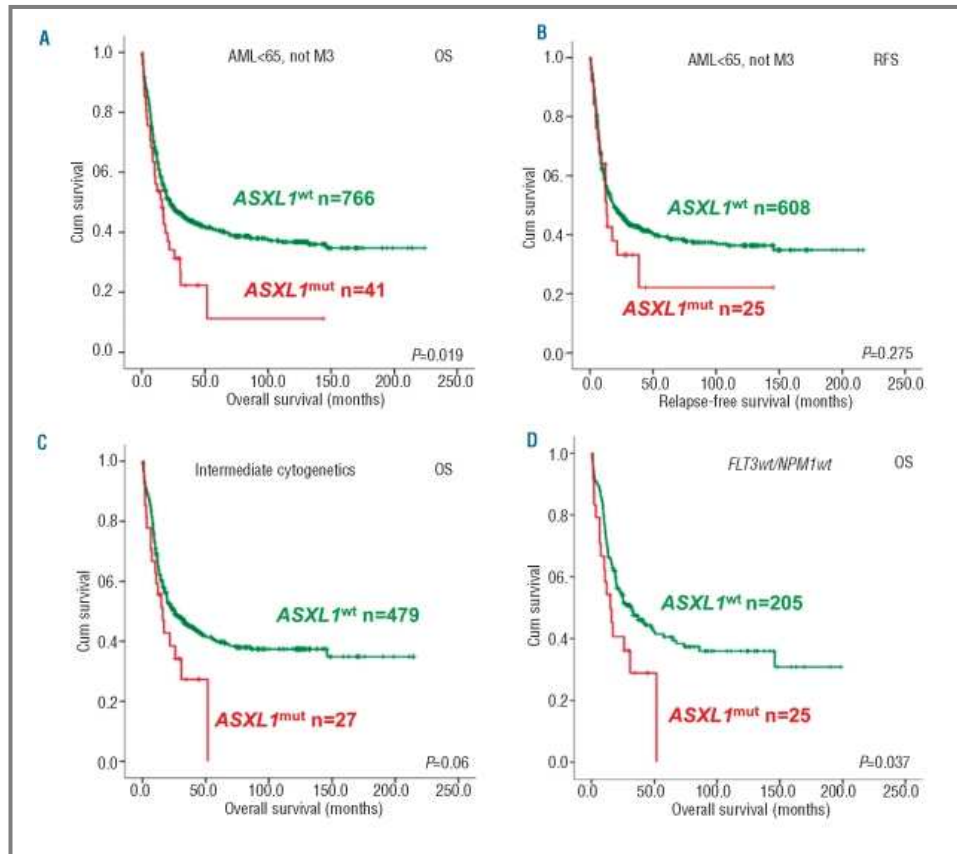
mielofibrosis primaria (MI, 35%) y la LAM (s-LAM 30% y LAM *de novo* 6,5%) (Gelsi-Boyer et al, 2012). A pesar que todavía no está bien establecido el papel exacto de *ASXL1* en la hematopoyesis normal ni la contribución de las mutaciones en *ASXL1* en el desarrollo de las hemopatías malignas, datos recientes sugieren que pueda tratarse de un gen supresor de tumores. La presencia de mutaciones en *ASXL1* en los SMD y en la LMMC, su asociación en ambos procesos con una menor SLP a LAM respecto los pacientes no mutados, así como la asociación de estas mutaciones con la s-LAM, sugieren que estas mutaciones representan un evento temprano en la leucemogénesis (Gelsi-Boyer et al, 2010, Thol et al, 2011, Schnittger et al, 2013).

En la LAM, la incidencia de mutaciones en *ASXL1* aumenta con la edad, en pacientes menores de 60 años su incidencia es inferior al 10% y en adultos mayores de 60 años superior al 10% (Metzeler et al, 2011; Schnittger et al, 2013; Pashka et al, 2015). Las mutaciones en *ASXL1* se asocian con frecuencia a mutaciones en *RUNX1*, *IDH2* y *CEBPA* y se detectan raramente en pacientes *NPM1m*, *DNMT3Am* o con *FLT3-ITD* (Schnittger et al, 2013; Paschka et al, 2015).

El impacto pronóstico de las mutaciones en *ASXL1* en la LAM es controvertido. En algunos estudios se ha asociado a un efecto adverso con una menor SG y SLP comparado con los pacientes *ASXL1wt* (Schnittger et al, 2013). En otros estudios este efecto peyorativo sólo se observa en los pacientes con cariotipo normal y riesgo citogenético de pronóstico favorable, de acuerdo con las categorías de la ELN (Metzeler et al, 2011) o en pacientes de riesgo citogenético intermedio sin mutaciones en *NPM1* ni *FLT3-ITD* (Pratcorona et al, 2012) (Figura 15). También se ha observado una tasa menor de remisiones completas y un mayor riesgo de muerte en los pacientes con el genotipo *ASXL1m/RUNX1m*, presente en más del 30% de las LAM *ASXL1m* (Chou et al, 2010; Paschka et al, 2015). Por contra, en otros estudios no se ha observado que las mutaciones en *ASXL1* tengan impacto pronóstico (El-Sharkawi et al, 2014).

Dado que las mutaciones en *ASXL1* conducen a una pérdida de H3K27me3, en particular en el locus *HOXA*, la inhibición farmacológica de la desmetilación de H3K27 podría ser explorada como enfoque terapéutico potencial en la LAM *ASXL1m* (Paschka et al, 2015).

Figura 15. SG y SLP de los pacientes con LAM en función del estado mutacional de *ASXL1*. (A) SG de todos los pacientes. (B) SLP de todos los pacientes. (C) SG de los pacientes con riesgo citogenético intermedio. (D) SG de los pacientes *FLT3wt/NPM1wt* (tomado de Pratcorona et al 2012)



1.2.2.9. Duplicación parcial en tandem del gen *MLL* (*MLL-PTD*) (*Mixed lineage leukemia gene*).

La *MLL-PTD* se encuentra preferentemente en pacientes con LAM y cariotipo normal o con trisomía del cromosoma 11 como alteración única, con una incidencia del 5-15% según las series (Whitman 2012; Steudel 2003; Shih 2005; Döhner 2002). Su incidencia aumenta con la edad y también puede observarse en las t-LAM (Schnittger et al, 2000). En un 30-40% de los casos se asocia con la *FLT3*-ITD, mientras que es rara su asociación con otras mutaciones (Basecke et al, 2006). Inicialmente, la *MLL-PTD* se asoció a un pronóstico adverso debido a una menor SG y SLP (Schnittger et al, 2000; Döhner et al, 2002), pero posteriormente se ha observado que este pronóstico adverso desaparece tras la implementación de terapias intensivas de consolidación que incluyen el TPH (Whitman et al, 2007; Whitman et al 2012). En un estudio reciente se ha observado que los pacientes que coexpresan la *MLL-PTD* y *FLT3*-ITD o mutaciones en *RUNX1* presentan una menor SLP comparados con aquellos que sólo presentan la *MLL-PTD* (Ommen et al, 2014).

La *MLL-PTD* contribuye a la leucemogénesis a través de la hipermetilación del DNA y la represión de la transcripción del alelo *MLL* germinal. La combinación de un inhibidor de la ADN-metiltransferasa y un inhibidor de las histonas deacetilasas puede reactivar la transcripción del alelo *MLL* germinal dando lugar a un incremento de la muerte celular. Esta observación sugiere que estos pacientes podrían beneficiarse de estos tratamientos (Whitman et al, 2005).

1.2.2.10. Mutaciones en el gen *RAS*.

El oncogen *RAS* codifica para una familia de proteínas transmembrana intercambiadoras de Guanina que regulan la transducción de señales a través de su unión con diferentes receptores de membrana, incluidos *c-KIT* y *FLT3*. *RAS* tiene un papel importante en los procesos de proliferación, diferenciación y apoptosis.

Las mutaciones puntuales en *N-RAS* y en *K-RAS* se han detectado, respectivamente, en un 10-15% y en un 5% de las todas LAM. Se han asociado a la LAM con *inv(16)/t(16;16)* e *inv(3)/t(3;3)*, pudiéndose observar hasta en un 27-35% de los casos y muy raramente se presentan conjuntamente con la *FLT3-ITD* (Bowen et al, 2005).

En los SMD, las mutaciones en *RAS* se han asociado con la progresión a LAM, sin embargo en LAM no se ha observado que estas mutaciones tengan impacto pronóstico en la SG, SLP ni en las tasas de RC (Ritter et al, 2004; Bacher et al, 2006).

Las mutaciones en *RAS* tienen interés desde el punto de vista terapéutico, debido a que nuevos fármacos como los inhibidores de la farnesil-transferasa pueden inhibir la activación de *RAS* (Zhu et al, 2010).

1.2.2.11. Mutaciones en *JAK2*.

Las mutaciones en *JAK2V617F* se detectan en más del 90% de casos de policitemia vera (PV), en aproximadamente el 50% de pacientes con trombocitemia esencial (TE) y mielofibrosis idiopática, y en un 70% de las LAM secundarias a una NMP (Renneville et al, 2008). Por el contrario, en las LAM *de novo* es un evento raro y tan sólo se observa en un 1.6% de los casos. Las mutaciones en *JAK2V617F* suelen presentarse en LAM con alteraciones citogenéticas y en las LAM con afectación del CBF su incidencia puede aumentar hasta un 3.6%. Recientemente, se ha postulado que estas mutaciones podrían cooperar como mutaciones de clase I en las LAM con *t(8;21)/AML1-ETO*, especialmente en aquellos casos de t-LAM con la *t(8;21)/AML1-ETO* (Schnittger et al, 2007).

1.2.2.12. Sobreexpresión de BAALC (*High brain and acute leukemia, cytoplasmic*).

El gen *BAALC* se localiza en el cromosoma 8q22.3 y, aunque hasta el momento se desconoce su función en la hematopoyesis normal y en el proceso de la leucemogénesis, recientemente se ha sugerido que puede bloquear la diferenciación mieloide y que requiere de una segunda mutación para adquirir una ventaja proliferativa e inducir una LAM (Heuser M et al, 2012).

El gen *BAALC* se expresa de forma natural en las células derivadas del tejido neuroectodérmico y en las células progenitoras hematopoyéticas (Tanner et al, 2001). La sobreexpresión del gen *BAALC* es considerada, por diferentes estudios, un factor pronóstico adverso en los pacientes diagnosticados de LAM con cariotipo normal (Baldus et al, 2003; Metzeler et al, 2009; Yahya RS et al, 2013; Weber et al, 2014).

La sobreexpresión del gen *BAALC* se ha asociado a otras mutaciones de pronóstico adverso como *FLT3-ITD*, *MLL-PTD*, *RUNX1m* y *WT1m* (Weber et al, 2014), y con la sobreexpresión *MN1* (Metzeler et al, 2009). También se ha observado una relación inversa entre los niveles de expresión de *BAALC* y *ERG*, de forma que la sobreexpresión de *EGR* sólo tiene un impacto pronóstico adverso en la SG cuando se asocia con niveles bajos de expresión de *BAALC* (Marcucci et al, 2005). Respecto a las mutaciones de buen pronóstico, no se observa asociación con las LAM *NPM1m* pero sí con las *CEBPA^{dm}*, si bien no se ha observado que este subgrupo de pacientes presente un comportamiento diferente a los pacientes *CEBPAsm* o *CEBPAwt* (Weber et al, 2014).

Baldus et al (2006) evaluaron el impacto de la sobreexpresión del gen *BAALC* en pacientes diagnosticados de LAM con cariotipo normal y *FLT3-ITD* e identificaron 4 grupos pronósticos con diferencias significativas en la SG y SLP (Tabla 14).

Tabla 14. Grupos pronósticos de los pacientes con LAM y cariotipo normal en función de la expresión de *BAALC* y la ratio de la *FLT3-ITD*.

Grupos de riesgo		SG a los 3 años (%) (<i>P</i> < 0.001)
Grupo I	<i>BAALC</i> infraexpresado/ratio <i>FLT3-ITD</i> ≤ 0.8	58
Grupo II	<i>BAALC</i> infraexpresado/ratio <i>FLT3-ITD</i> > 0.8	38
Grupo III	<i>BAALC</i> sobreexpresado/ratio <i>FLT3-ITD</i> ≤ 0.8	22
Grupo IV	<i>BAALC</i> sobreexpresado/ratio <i>FLT3-ITD</i> > 0.8	0

Algunos estudios sugieren que la expresión de *BAALC* puede ser útil, en los pacientes con LAM y cariotipo normal, durante la monitorización de la EMR (Najima et al, 2010; Weber et al, 2014).

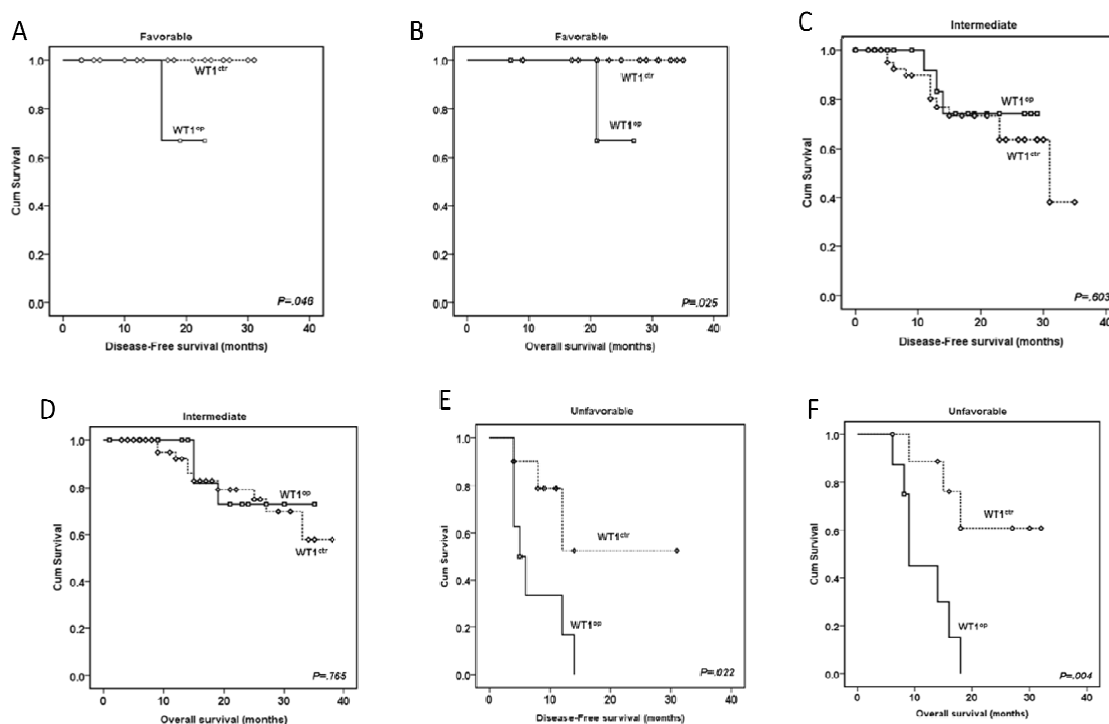
1.2.2.13. Sobreexpresión de *WT1* (*Wilms' tumor 1 gene*)

El gen *WT1* se encuentra en el cromosoma 11p13 y codifica para un factor de transcripción *zinc-finger*, un importante regulador de la hematopoyesis y una de las moléculas implicadas en la regulación de la apoptosis celular.

La incidencia de la sobreexpresión del gen *WT1* oscila, según los estudios, entre un 28-73% (Barragán et al, 2004; Xiaodong et al, 2014) y estas diferencias se deben, principalmente, al gen de referencia utilizado en la determinación de la expresión del gen *WT1* en los diferentes estudios (Xiaodong et al, 2014).

La sobreexpresión en el gen *WT1* es considerada por algunos autores un factor pronóstico adverso en pacientes diagnosticados de LAM de cariotipo normal (Damm et al, 2011), especialmente en los pacientes con el genotipo *NPM1m/FLT3wt* o en los pacientes con *FLT3-ITD* (Barragán et al, 2004; Xiaodong et al, 2014) (Figura 16), mientras que en otros estudios, la sobreexpresión de este gen, no se ha demostrado que tenga impacto pronóstico (Miyawaki et al, 2010; Spassov et al, 2011).

Figura 16. SG y SLP en pacientes diagnosticados de LAM y cariotipo normal, en función de la expresión del gen *WT1*. (A-B) Pacientes con genotipo *NPM1m/FLT3wt*. (C-D) Pacientes sin el genotipo *NPM1m/FLT3wt* ni la *FLT3-ITD*. (E-F) Pacientes con *FLT3-ITD* (tomada de Xiaodong et al, 2014).



(ctr: normoexpresado; op: sobreexpresado)

1.2.2.14. Sobreexpresión de *MN1* (*meningioma 1 gene*)

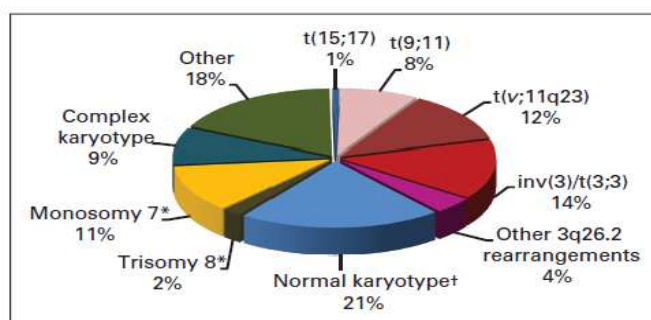
El gen *MN1* se localiza en el cromosoma 22q12 y codifica para una proteína de 150 KDa que participa en un complejo de regulación génica con el receptor nuclear RAR-RXR o el receptor de la vitamina D. En modelos murinos, se ha observado que la sobreexpresión de *MN1* participa en el desarrollo de la LAM en cooperación con el gen de fusión *CBFB-MYH11*, y que la proteína de fusión *MN1-TEL* puede promover el crecimiento de células progenitoras hematopoyéticas y, junto con *HOXA9*, inducir una LAM.

La sobreexpresión de *MN1* se ha asociado a *NMP1wt*, sobreexpresión de *BAALC*, *miR-181a* (Langer et al, 2009; Schwind et al, 2011) y *miR-181b*, e infraexpresión de *miR-22a* (Xiang et al, 2013). Diferentes estudios han demostrado que la sobreexpresión de *MN1* se asocia a un peor pronóstico, con una tasa menor de RC, SLP y SG, en pacientes diagnosticados de LAM, principalmente en aquellos con un cariotipo normal (Heuser et al, 2006; Langer et al 2009; Aref et al, 2013; Xiang et al, 2013).

1.2.2.15. Sobreexpresión de *EVI1* (*ecotropic viral integration site-1*)

El gen *EVI1* se localiza en el cromosoma 3q26 y codifica para una proteína nuclear *zinc finger*, capaz de unirse de forma específica a la secuencia de ADN. La expresión aberrante de *EVI1* se observa en el 8-10% de las LAM (Lugthart et al, 2008; Gröschel et al, 2010) y se ha asociado con diferentes alteraciones citogenéticas, principalmente con la *inv(3;3)/t(3;3)*, la monosomía del cromosoma 7 (aislada o en el contexto de un cariotipo complejo) y con reordenamientos del cromosoma 11q23 (Gröschel et al, 2010; Bindels et al, 2012). Por el contrario, no se suele encontrar en las LAM de riesgo citogenético favorable y, en las LAM de cariotipo normal, se ha asociado con el genotipo triple negativo *NPM1wt/FLT3-ITD* negativa/ *CEBPAwt* (Gröschel et al, 2010) (Figura 17).

Figura 17. Distribución de las diferentes alteraciones cromosómicas en la LAM con sobreexpresión de *EVI1* (tomada de Gröschel et al, 2010).



(*) No asociadas a cariotipo complejo ni con la *inv(3;3)/t(3;3)*

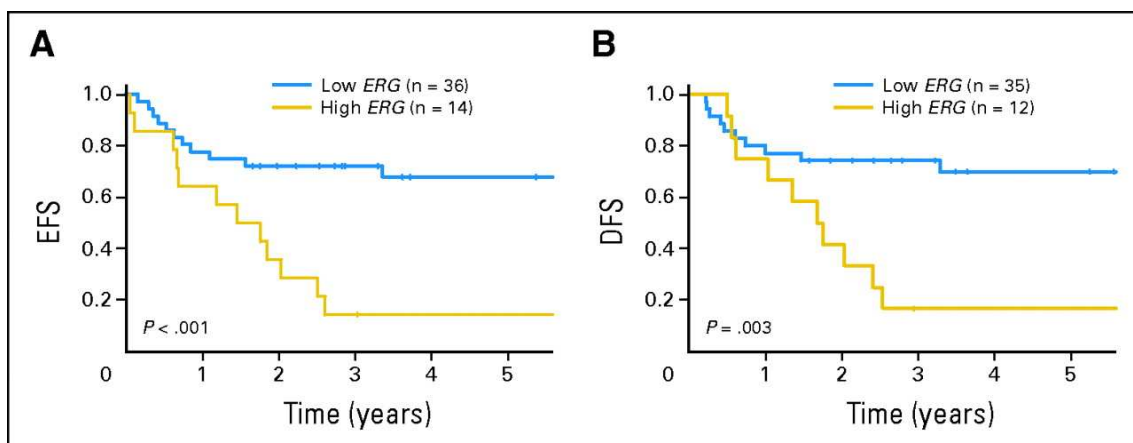
La sobreexpresión de *EVI1* se ha asociado a un impacto pronóstico adverso, especialmente en la LAM de riesgo citogenético intermedio (Haas K et al, 2008; Gröschel et al 2010) y se ha sugerido que estos pacientes podrían beneficiarse de un alo-TPH, de donante emparentado o no emparentado, en primera RC (Gröschel et al 2010).

1.2.2.16. Sobreexpresión de *ERG* (*ETS-related gen*).

El gen *ERG* está localizado en el cromosoma 21q22 y diversos estudios han observado que su sobreexpresión tiene un impacto pronóstico adverso, con una menor SG y SLP, en los pacientes diagnosticados de LAM y cariotipo normal (Marcucci et al, 2005; Metzeler et al, 2009).

En un estudio más reciente Marcucci et al (2007) evaluaron el impacto pronóstico de la expresión de *ERG* en combinación con el estado mutacional de *FLT3* y *NPM1* y observaron que los niveles de expresión de *ERG* sólo modificaban el pronóstico de los pacientes *FLT3*-ITD negativos y de los pacientes que presentaban *NPM1m*, pero no de los pacientes *FLT3*-ITD negativos ni *NPM1wt*. Así, en función de los niveles de expresión de *ERG* definieron, en los pacientes con genotipo *FLT3*-ITD negativos/*NPM1m*, dos subgrupos pronósticos: un grupo de pronóstico favorable que presentaba niveles bajos de expresión de *ERG* y un grupo de mal pronóstico con niveles elevados de *ERG* (Figura 18).

Figura 18. (A) SLP y (B) SG en pacientes *FLT3*-ITD negativos/ *NPM1m*, según los niveles de expresión de *ERG* (tomado de Marcucci et al, 2007).



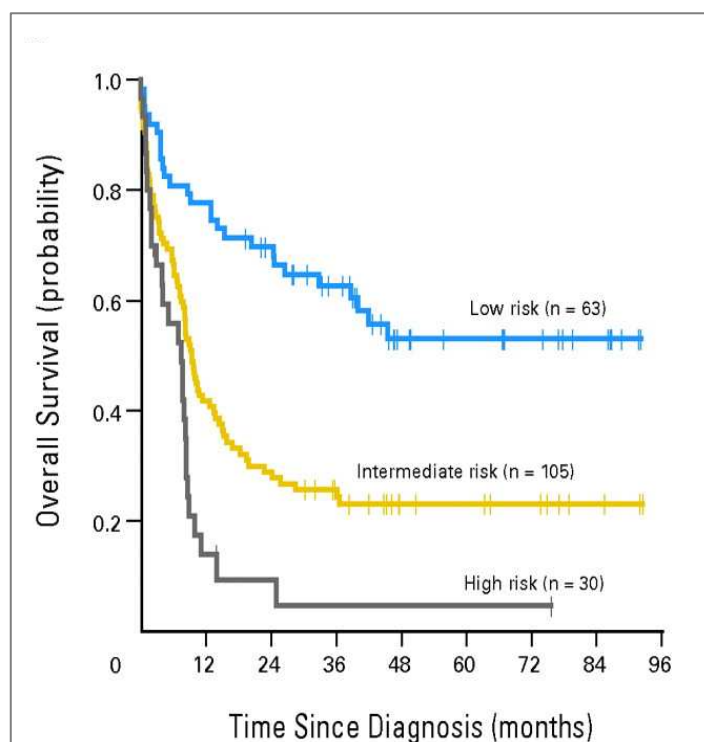
Por otro lado, Metzeler et al (J Clin Oncol 2009), en función de los niveles de expresión de *ERG* y del estado mutacional de *CEBPA*, *FLT3* y *NPM1*, propusieron reclasificar los pacientes diagnosticados de LAM y cariotipo normal en 3 subgrupos (Tabla 15) con diferente impacto

pronóstico en la SG (Figura 19). Según este estudio, los pacientes de bajo riesgo serían candidatos a quimioterapia intensiva, los de alto riesgo a un alo-TPH vs. terapias experimentales, mientras que en los pacientes de riesgo intermedio el tratamiento óptimo todavía estaría por definir (Metzeler et al, 2009).

Tabla 15. Grupos de riesgo en pacientes con cariotipo normal en función de los niveles de expresión de *ERG* y del estado mutacional de *CEBPA*, *FLT3* y *NPM1*.

Grupos de riesgo	
Bajo riesgo	<i>CEBPA</i> m
	<i>CEBPA</i> wt/ <i>FLT3</i> wt/ <i>NPM1</i> m/niveles bajos de <i>ERG</i>
Riesgo intermedio	<i>CEBPA</i> wt/ <i>FLT3</i> wt/ <i>NPM1</i> m/niveles altos de <i>ERG</i>
	<i>CEBPA</i> wt/ <i>FLT3</i> wt/ <i>NPM1</i> wt
	<i>CEBPA</i> wt/ <i>FLT3</i> -ITD/niveles bajos de <i>ERG</i>
Alto riesgo	<i>CEBPA</i> wt/ <i>FLT3</i> -ITD/niveles altos de <i>ERG</i>

Figura 19. SG de los pacientes con LAM y cariotipo normal en función de los grupos de riesgo propuestos por Metzeler et al (J Clin oncol, 2009) (tomado de Metzeler et al, 2009).



1.2.2.17. Integrative prognostic risk score.

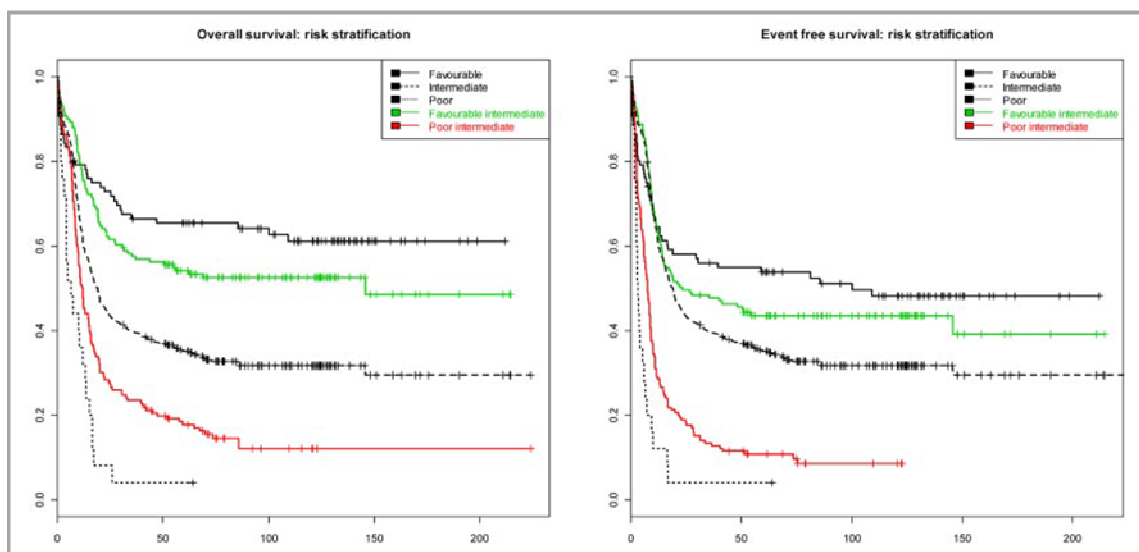
Se han elaborado diferentes escalas de riesgo que incluyen factores moleculares, citogenéticos y clínicos en las LAM con cariotipo normal o de riesgo citogenético intermedio.

Rockova et al (Blood 2011), tras analizar el impacto pronóstico de la expresión de *EVI1*, *WT1*, *BAALC*, *ERG*, *BCL2*, *ABCB1*, *INDO*, *CD34*, *BCL2* y *MN1* y de las mutaciones somáticas en *FLT3*, *N-RAS*, *CEBPAsm*, *CEBPA^{dm}*, *NPM1*, *IDH1* e *IDH2* en 439 pacientes diagnosticados de LAM de riesgo citogenético intermedio, según los criterios de Breems et al (J Clin Oncol 2008), reclasificaron los pacientes en un subgrupo de pronóstico favorable y otro de pronóstico adverso con diferencias significativas en la SG y SLP (Tabla 16)(Figura 20).

Tabla 16. Clasificación de los pacientes de riesgo citogenético intermedio según Rockova et al (2011).

Grupos de Riesgo	
Pronóstico intermedio favorable	expresión de <i>CD34</i> < 0.398
	expresión de <i>CD34</i> > 0.398 y <i>CEBPA^{dm}</i>
	expresión de <i>CD34</i> > 0.398, <i>IDH2m</i> y no <i>CEBPA^{dm}</i>
Pronóstico intermedio adverso	expresión de <i>CD34</i> > 0.398, <i>IDH2wt</i> y no <i>CEBPA^{dm}</i>

Figura 20. Supervivencia global y supervivencia libre de progresión según las categorías de riesgo citogenético propuestas por Breems et al y tras la reclasificación del grupo de riesgo intermedio según los criterios de Rockova et al (tomado de Rockova et al, 2011).

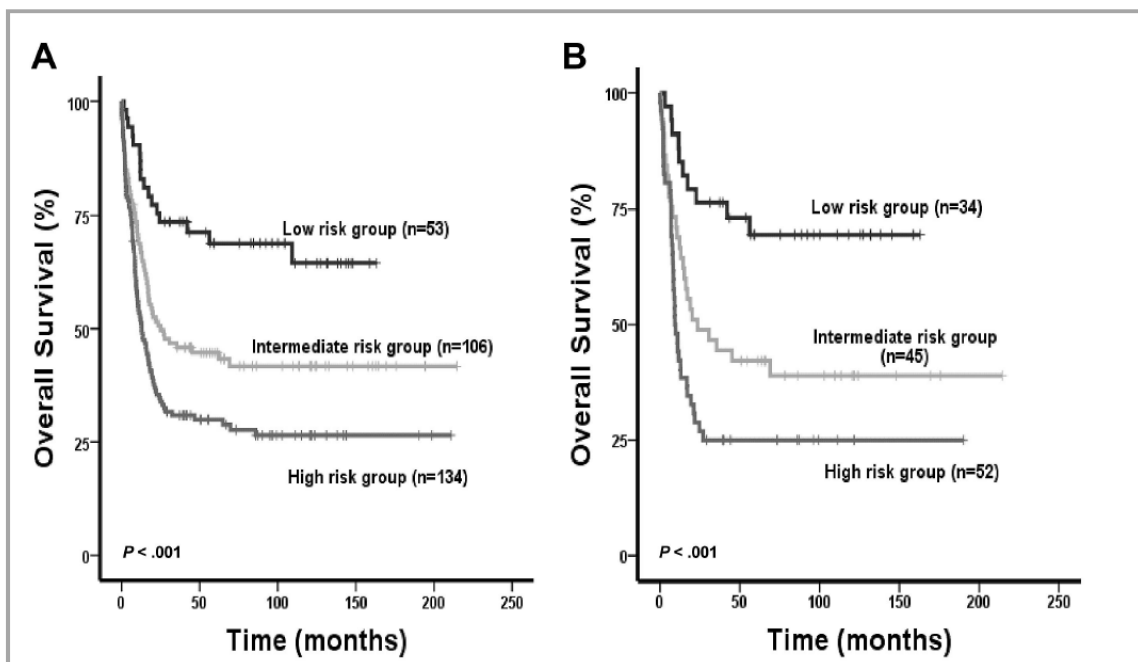


Por otro lado, Damm et al (Blood 2011) elaboraron el *integrative prognostic risk score* (IPRS) que, a partir de 9 criterios (2 clínicos y 7 marcadores moleculares) que incluyen la edad, cifra de leucocitos, estado mutacional de *NPM1/FLT3-ITD*, *CEBPA* y SNP rs16754, y los niveles de expresión de *BAALC*, *ERG*, *MN1* y *WT1* (tabla 17), definieron 3 grupos de riesgo con diferente tasa de RC, SG y SLP (Figura 21).

Tabla 17. *Integrative prognostic risk score* (IPRS) (Bajo riesgo: 1-7 puntos; Riesgo intermedio: 8-10 puntos; Alto riesgo: 11-15 puntos) propuesto por Damm et al (Blood 2011).

IPRS	Puntuación
Edad > 40 años vs. < 40 años	3
Ratio <i>NPM1m/FLT3-ITD</i> : alta vs. baja	2
<i>CEBPAm</i> vs. <i>CEBPA wt</i>	2
<i>WT1</i> SNP rs16754	2
Expresión de <i>BAALC</i> : alta vs. Baja	2
Leucocitos $\geq 25 \times 10^9/L$ vs. $< 25 \times 10^9/L$	1
Expresión de <i>MN1</i> : alta vs. Baja	1
Expresión de <i>ERG</i> : alta vs. Baja	1
Expresión de <i>WT1</i> : alta vs. Baja	1

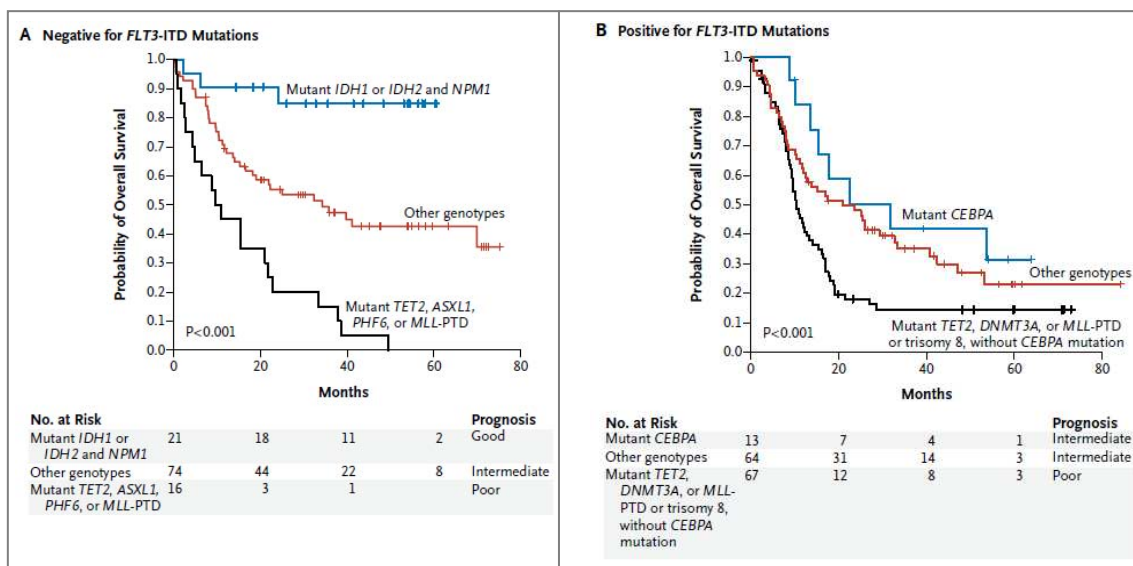
Figura 21. SG de acuerdo con el IPRS en los pacientes con LAM (A) y LAM con cariotipo normal (B) (tomado de Damm et al, 2011)



En este estudio también se evaluó la capacidad del IPRS de predecir la eficacia de realizar un alo-TPH a partir de un donante emparentado (alo-TPH-DE) en primera RC, comparado con una consolidación con altas dosis de citarabina y daunorubicina o un auto-TPH. En el grupo de bajo riesgo no se observaron diferencias significativas en la SG ni en la SLP entre ambos grupos. En el grupo de riesgo intermedio los pacientes que recibieron un alo-TPH-DE presentaron una menor SG y SLP y en el grupo de alto riesgo se observó una mayor SG y SLP en el grupo de pacientes que recibieron un alo-TPH-DE.

Patel et al (N Engl J Med 2012), clasificaron los pacientes de riesgo citogenético intermedio, según las categorías de riesgo citogenético propuestas por el SWOG/ECOG (Slovak et al, 2000) y *FLT3*-ITD wt en 3 grupos con diferencias estadísticamente significativas en la SG a los 3 años: pacientes con *IDH1* o *IDH2* y *NPM1* mutadas (SG 89%), pacientes con *TET2*, *ASXL1*, *PHF6* o *MLL*-PTD wt, sin mutaciones en *IDH1/2* o *NPM1* (SG 46,2%), y pacientes con *TET2*, *ASXL1*, *PHF6* o *MLL*-PTD mutadas (SG 6,3%). Del mismo modo, también clasificaron en 3 categorías pronósticas a los pacientes de riesgo citogenético intermedio y *FLT3*-ITD: pacientes con *CEBPAm* (SG 42%), pacientes con *CEBPA*, *TET2*, *DNMT3A* o *MLL*-PTD wt (SG 35,2%), y pacientes con trisomía 8 o con presencia de mutaciones en *TET2*, *DNMT3A* o *MLL*-PTD (SG 14,5%) (Figura 22).

Figura 22. Supervivencia global de los pacientes con LAM de riesgo citogenético intermedio y *FLT3*-ITDwt (A) y con *FLT3*-ITD (B) (tomado de Patel et al, 2012).



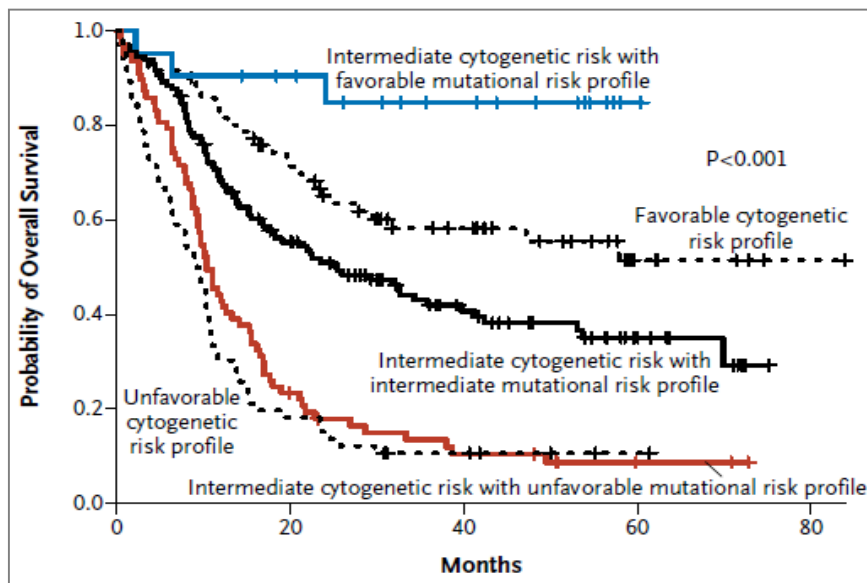
Tras la integración de las categorías de riesgo citogenético con el estado mutacional de *FLT3*-ITD, *NPM1*, *IDH1/2*, *ASXL1*, *MLL*-PTD, *PHF6*, *TET2*, *CEBPA* y *DNMT3A* se obtuvo un esquema

pronóstico que identificaba 3 grupos de riesgo: favorable (SG 64%), intermedio (SG 42%) y adverso (12%) (Figura 23 y 24)

Figura 23. Estratificación del riesgo basado en un análisis citogenético y molecular integral (tomado de Patel et al, 2012)

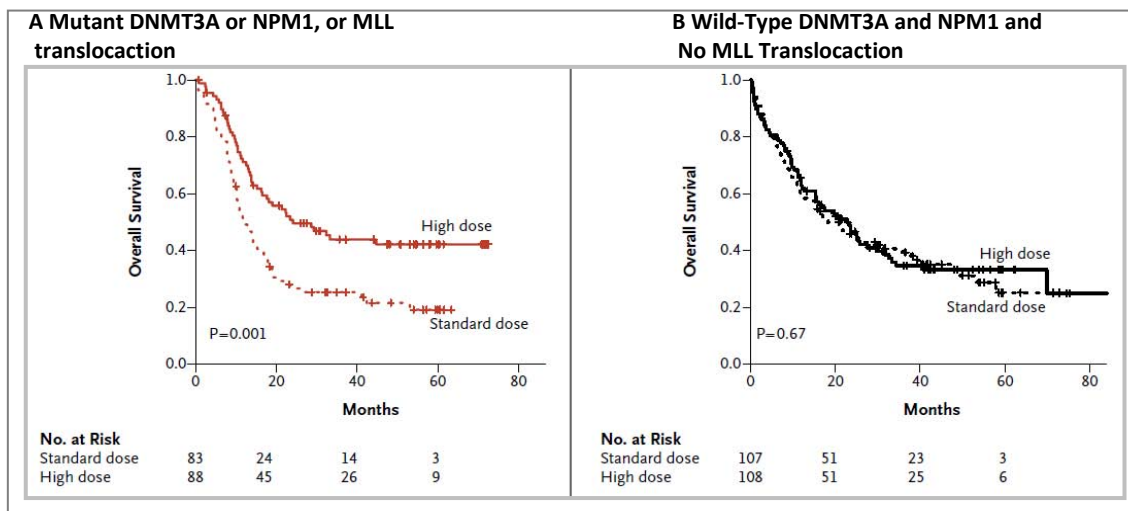
Cytogenetic Classification	Mutations		Overall Risk Profile
Favorable	Any		Favorable
Normal karyotype or intermediate-risk cytogenetic lesions	<i>FLT3</i> -ITD-negative	Mutant <i>NPM1</i> and <i>IDH1</i> or <i>IDH2</i>	Favorable
	<i>FLT3</i> -ITD-negative	Wild-type <i>ASXL1</i> , <i>MLL</i> -PTD, <i>PHF6</i> , and <i>TET2</i>	
	<i>FLT3</i> -ITD-negative or positive	Mutant <i>CEBPA</i>	Intermediate
	<i>FLT3</i> -ITD-positive	Wild-type <i>MLL</i> -PTD, <i>TET2</i> , and <i>DNMT3A</i> and trisomy 8–negative	Intermediate
	<i>FLT3</i> -ITD-negative	Mutant <i>TET2</i> , <i>MLL</i> -PTD, <i>ASXL1</i> , or <i>PHF6</i>	
<i>FLT3</i> -ITD-positive	Mutant <i>TET2</i> , <i>MLL</i> -PTD, <i>DNMT3A</i> , or trisomy 8, without mutant <i>CEBPA</i>	Unfavorable	
Unfavorable	Any		Unfavorable

Figura 24. Supervivencia global de los pacientes diagnosticados de LAM de acuerdo con la estratificación del riesgo propuesta por Patel JP et al (tomado de Patel et al, 2012).



En este estudio, los pacientes fueron aleatorizados a recibir quimioterapia de inducción con daunorubicina (90 mg/m² vs. 45 mg/m²) y citarabina y se observó que los pacientes con mutaciones en *DNMT3A* o *NPM1* y aquellos que presentaban translocaciones que implicaban el gen *MLL*, presentaban una mayor SG cuando eran tratados con altas dosis de daunorubicina respecto los pacientes no mutados y aquellos que no presentaban reordenamientos del gen *MLL* (Figura 25).

Figura 25. Supervivencia global en función de la dosis de daunorubicina, el estado mutacional de *DNMT3A* y *NPM1*, y la presencia de reordenamientos del gen *MLL* (tomado de Patel et al, 2012)



1.2.3. Algoritmo diagnóstico.

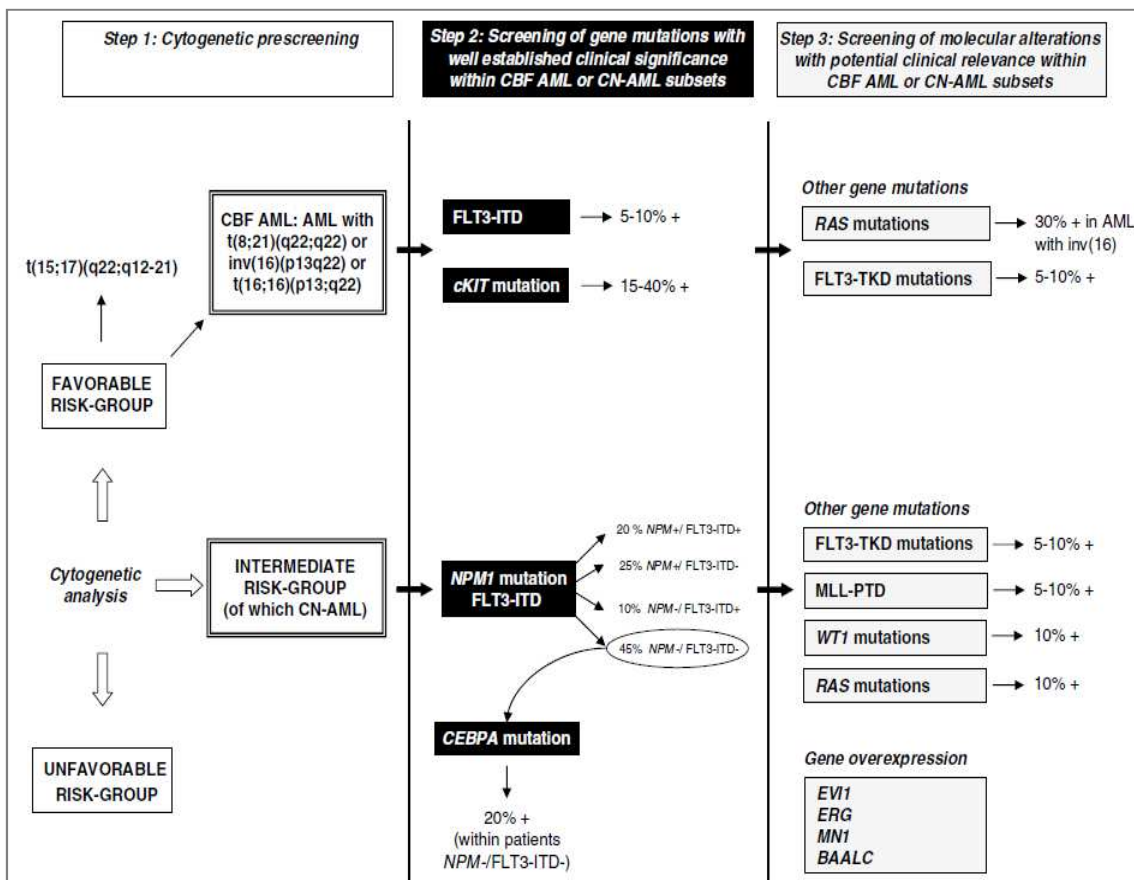
En función de la frecuencia de presentación y del impacto pronóstico de las diferentes mutaciones analizadas en la LAM, Renneville et al han propuesto un algoritmo para el cribado de mutaciones en cada uno de los subgrupos citogenéticos (Renneville et al, 2008).

Así, en las LAM con afectación del complejo CBF, debería realizarse de forma sistemática el estudio de mutaciones en *FLT3*-ITD y *c-KIT* para su estratificación terapéutica y el uso potencial de inhibidores tirosínica (TKI). También puede realizarse el estudio de mutaciones en *RAS* y *FLT3*-TKD, a pesar que el impacto clínico de estas mutaciones todavía no está bien establecido.

En las LAM de riesgo intermedio, particularmente en aquellas con cariotipo normal, debería realizarse el estudio de la *FLT3*-ITD y las mutaciones en el gen de la *NPM1*. En el caso de que ambas sean negativas debería estudiarse las mutaciones en *CEBPA*. El cribado de otras mutaciones como *FLT3*-TKD, *MLL*-PTD, *WT1*, *RAS* también puede ayudar a refinar el pronóstico

en este subgrupo de pacientes. Respecto a la sobreexpresión de *EVI1*, *ERG*, *MN1* y *BAALC*, todavía no está bien establecido si tienen un impacto pronóstico desfavorable independiente. Hoy en día el estudio mutacional en los subgrupos restantes, es decir, los que tienen citogenética de pronóstico adverso o LAM con la *t(15;17)* no estaría recomendado, dado que su impacto pronóstico es irrelevante (Figura 26).

Figura 26. Algoritmo diagnóstico propuesto por Renneville et al (tomado de Renneville et al, 2008).



1.2.4. Tratamiento.

El tratamiento de la LAM se efectúa en función de los factores pronósticos, como la edad, el estado general del paciente, la citogenética y genética molecular y la respuesta al tratamiento inicial. Se consideran factores pronósticos adversos la edad avanzada, las s-LAM o t-LAM, las LAM de estirpe eritroide, megacarioblástica o indiferenciada, la leucocitosis, la necesidad de 2 o más ciclos de quimioterapia para alcanzar la remisión y la presencia de determinadas alteraciones genéticas y moleculares (anomalías en los cromosomas 3q, 5 ó 7, cariotipo complejo, *FLT3*-ITD, entre otros).

El objetivo principal del tratamiento es conseguir la RC de la enfermedad a nivel molecular. Por este motivo, existen 2 fases de tratamiento: de inducción a la remisión y de post-remisión o consolidación. El tratamiento de inducción más empleado en la actualidad se basa en la pauta 3 + 7 que consiste en la combinación de daunorubicina 45 mg/m² por vía intravenosa durante 3 días y citarabina 100 mg/m² por vía intravenosa en infusión continua durante 7 días, con la que se obtiene la RC en el 55-80% de los pacientes (Estey et al, 2014). Se considera que un paciente ha alcanzado la remisión completa cuando la cifra de blastos en la médula ósea es inferior al 5%. La mortalidad durante el proceso de inducción es elevada, hasta un 20% de los casos, y en un 15% de los pacientes puede observarse resistencia a la quimioterapia.

En los últimos años se están llevando a cabo diversos estudios con el fin de determinar cuál es la antraciclina idónea y su dosis, así como para evaluar la inclusión de nuevos fármacos en el tratamiento de las LAM con factores de mal pronóstico.

La curación de los pacientes será consecuencia de la erradicación de la enfermedad a través de la administración del tratamiento post-remisión. Las opciones terapéuticas son muy variadas y vienen determinadas principalmente por los factores pronósticos de la LAM en el momento del diagnóstico. Dichas opciones incluyen la administración de quimioterapia intensiva (quimioterapia de intensificación o consolidación de la remisión), TPH en sus diferentes modalidades (autogénico, alogénico de donante emparentado y no emparentado, haploidéntico, de sangre de cordón umbilical) e incluso los tratamientos de mantenimiento.

La estrategia post-remisión basada en quimioterapia intensiva se utiliza sobre todo en las LAM de pronóstico favorable, como las asociadas a traslocaciones del complejo CBF, donde se describen tasas de supervivencia libre de evento a largo plazo del 60%. Estos esquemas incluyen en la mayoría de casos la asociación de una antraciclina y citarabina a dosis intermedias o elevadas, o bien la administración de citarabina como agente único a dosis elevadas (3 g/m²). Hoy en día, el régimen óptimo a emplear para la consolidación, la dosis y el número de ciclos de quimioterapia a administrar no están bien establecidos. No obstante, cuando se prevé realizar un TPH suele administrarse 1 sólo ciclo de consolidación, mientras que cuando no se realiza TPH se tiende a administrar 2-3 ciclos.

El auto-TPH ha demostrado su eficacia tanto en pacientes con LAM en primera RC como en segunda RC. Además, y a diferencia de los primeros trabajos en los que la mortalidad relacionada con el procedimiento del trasplante era elevada (14%-18%), en la actualidad la realización de un auto-TPH con CPH procedentes de sangre periférica se asocia a tasas de mortalidad inferiores al 5%, similares a las observadas con quimioterapia intensiva, debido en

parte a la mayor efectividad del tratamiento de soporte, en especial de los agentes antibacterianos y antifúngicos.

El alo-TPH-DE es probablemente el tratamiento postremisión más eficaz, especialmente para pacientes en primera RC y factores pronósticos adversos. En pacientes sin disponibilidad de hermano HLA-idéntico debe efectuarse una búsqueda de un donante no emparentado (DNE) o bien recurrir a progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical. Recientemente también se están efectuando TPH a partir de familiares haploidénticos, con resultados prometedores.

El papel del tratamiento de mantenimiento en la LAM, a excepción de la leucemia aguda promielocítica, es controvertido y no ha sido suficientemente investigado, por lo que no forma parte de las pautas habituales de tratamiento.

La leucemia aguda promielocítica dado que dispone de un tratamiento específico, merece una mención especial. La LAP se caracteriza por la presencia de la $t(15;17)$, que da lugar a la yuxtaposición del gen *PML*, localizado en el cromosoma 15q22, al gen *RAR*alfa, de la familia de los receptores de los retinoides, localizado en el cromosoma 17q12. El ácido retinoico y sus derivados, tras unirse al receptor RAR, es capaz de inducir la diferenciación de las células leucémicas. Hoy en día el tratamiento de este subtipo de LAM consiste en la combinación de ácido holo-trans retinoico (ATRA) e idarubicina, con la que se alcanzan tasas de RC superiores al 90%. Las pautas de consolidación incluyen también quimioterapia y ATRA a dosis y duración variable en función del grupo pronóstico, el cual viene determinado por la cifra de plaquetas o de leucocitos en el momento del diagnóstico. Con este tratamiento se alcanza una SLE a largo plazo superior al 70%. El TPH (autogénico o alogénico) queda reservado para casos en recaída, una vez obtenida una nueva remisión, para la cual suele utilizarse el trióxido de arsénico, solo o en combinación con ATRA (Sanz et al, 2011). En la leucemia promielocítica aguda con factores de bajo riesgo se han obtenido resultados excelentes con la combinación de ATRA y trióxido de arsénico, sin necesidad de quimioterapia citotóxica (Lo Coco et al, 2013).

En base al descubrimiento cada vez mayor de nuevos marcadores pronósticos citogenéticos y moleculares, están en desarrollo nuevos fármacos o nuevas formulaciones de agentes quimioterápicos clásicos, mayoritariamente todavía en fase de ensayo clínico, como las formulaciones liposómicas de daunorubicina o de citarabina, el anticuerpo monoclonal gemtuzumab ozogamicina, los análogos de nucleósidos (clofarabina, sapacitabina, elacitarabina), los inhibidores de FLT3 (sorafenib, crenolanib, midostaurina), volasertib, los inhibidores de farnesiltransferasa (tipifarnib), los inhibidores de histona deacetilasa

(vorinostat), la lenalidomida y los inhibidores de la DNA metiltransferasa (decitabina, azacitidina) (Zhu et al, 2010; Estey et al, 2014).

En la tabla 18 se recogen las recomendaciones de tratamiento propuestas por Estey H (Am J Hematol 2014) para los diferentes grupos pronósticos.

Tabla 18. Recomendaciones terapéuticas en función de los grupos pronósticos (tomado de Estey et al, 2014).

Modified ELN prognostic group (Table I)	Subsets	Induction	Postremission	Comments
"Favorable" ^a	Inv (16) or t(16;16);t(8;21); NK and NPM1+/FLT3 ITD-; NK and CEBPA+/+ NK and CEBPA +/+	3 + 7; consider FLAG-ida if age <60-65	ara-C at 1-1.5 g/m ² daily × 6 doses × 2 courses, possibly preceded by 1 course FLAG-ida	Consider HCT if risk NRM <20-25% post HCT and (a) CKIT+ (AR > 25%), (b) age > 65 or (c) MRD after first postremission course; if (a), (b), or (c) and not HCT candidate consider dasatinib
Int-1 ^b	NK and NPM-/FLT3 ITD- or CEBPA+/-	3 + 7; consider (a) FLAG-ida if age <60-65 or (b) clinical trial	HCT from matched sibling donor (MSD) if risk NRM <20-25%. If not HCT candidate FLAG/ida then ara-C as above or clinical trial	Consider HCT from unrelated donor (URD) if CRp, CRi, or CR with MRD and risk NRM <30%; consider no HCT if CR w/o MRD
Int-2 ^c	Cytogenetic abnormalities not in "favorable" or adverse groups; FLT3 ITD+	3 + 7; Consider (a) FLAG-ida if age <60-65 or (b) clinical trial; clinical trial combining chemotherapy with FLT3 inhibitor (e.g. quizartinib, crenolanib)	HCT from MSD or URD if risk NRM < 30%; otherwise as int-1 above. If FLT3+ consider use of FLT3 inhibitor post HCT. If FLTITD+ consider use of FLT3 inhibitor post HCT	Treat like int-1 if CR w/o MRD
Ad-verse ^c	-5,-7,5q,abn 3q,17p,11q (other than 9;11), t(6;9), complex; insufficient. Insufficient metaphases for analysis	Clinical trial	HCT from MSD or URD if risk NRM < 40%; consider post-HCT trial; if not HCT candidate clinical trial	

^a Similar to "good" in MRC age ≥60 classification (Table II, Fig. 1, Ref. 19).
^b Similar to standard in MRC age ≥60 classification (Table II, Fig. 1, Ref. 19).
^c Similar to "poor" in MRC age ≥60 classification (Table II, Fig. 1, Ref. 19).
 NRM = non-relapse mortality after HCT. "Otherwise" = if risk NRM after HCT excessive as indicated in Table IV.

1.3. LAM relacionadas con el tratamiento (t-LAM).

1.3.1. Introducción.

En los últimos años, se han descrito múltiples casos de t-LAM y t-SMD después de tratamientos quimioterápicos con agentes alquilantes y/o inhibidores de la topoisomerasa II en pacientes afectados de linfoma de Hodgkin (LH), linfomas no hodgkinianos (LNH), cáncer de mama, carcinoma de ovario o testicular (Eichenauer et al, 2014). También se han observado casos de t-LAM/t-SMD después de un TPH efectuado a pacientes con mieloma múltiple (Govindarajan et al, 1996), LH o LNH (Chakraborty et al, 2009). Los resultados obtenidos con el tratamiento estándar son pobres, con una supervivencia mediana estimada entre 8 y 16 meses (Smith et al, 2003; De Roos et al, 2007). El alo-TPH se considera la única opción potencialmente curativa en este subgrupo de pacientes, pero la SG observada es inferior a la de las LAM *de novo*,

probablemente debido a la alta incidencia de alteraciones citogenéticas de alto riesgo que presentan las t-LAM.

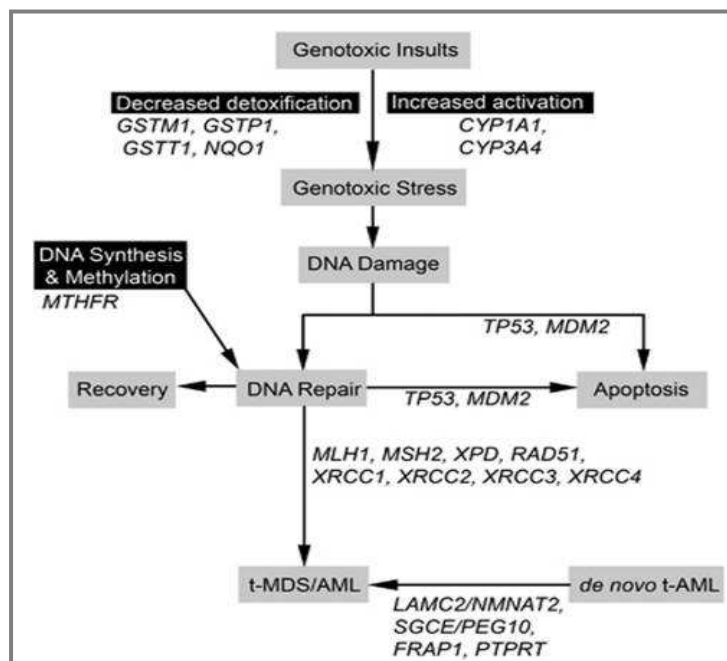
Las t-LAM representan el 10-20% de todas las LAM (Mauritzson et al, 2002), están precedidas por otras enfermedades, neoplásicas y no neoplásicas, tratadas con quimioterapia y/o radioterapia y desde la última clasificación de la OMS constituyen una entidad independiente (Vardiman et al, 2008). La incidencia varía, en función de la enfermedad de base y del tratamiento recibido, entre un 0.8% y un 6.3% a los 20 años, y puede verse afectado cualquier grupo de edad (Bathia, 2013). En el caso de los agentes alquilantes y la radioterapia (RDT) el riesgo aumenta con la edad, mientras que en el caso de los inhibidores de la topoisomerasa II el riesgo es similar en todos los grupos de edad. La mediana de tiempo hasta la aparición de la t-LAM es de 3 a 5 años, con un marcado descenso del riesgo a partir de la primera década, aunque ocasionalmente pueden observarse casos tardíos (Bathia, 2013).

La t-LAM probablemente es consecuencia de diferentes eventos mutacionales, inducidos por la citotoxicidad de la terapia previa recibida (Tabla 19), a los que se puede asociar una predisposición hereditaria, debido a polimorfismos en genes que afectan tanto al metabolismo y transporte del fármaco como a los mecanismos de reparación del ADN (Goode et al, 2002; Ding et al, 2012; Bathia, 2013). En este sentido, Ding et al han observado que los pacientes con LH y LNH que presentan niveles bajos de expresión de *TP53* y *MTHFR*, debido a la presencia de los polimorfismos P72R y C677T, presentan un mayor riesgo de desarrollar posteriormente una t-NM. Esto es consecuencia de la aparición de alteraciones cromosómicas durante el proceso de reparación del DNA, provocado por una menor actividad de *MTHFR*, combinado con una apoptosis insuficiente de las células lesionadas, debido a una baja expresión de *TP53*, que resultará en la acumulación de progenitores hematopoyéticos con el DNA dañado y un incremento en el riesgo de desarrollar una t-NM. En este estudio, también se observó una asociación entre t-NM y la infraexpresión de enzimas detoxificantes como *GSTM1*, *GSTT1* y *GSTP1*, o la sobreexpresión de *CYP3A4* que, como resultado de un menor aclaramiento o una mayor activación de los fármacos, producirán un aumento del estrés genotóxico con la consecuente lesión en el DNA (Ding et al, 2012) (Figura 27).

Tabla 19. Agentes citotóxicos implicados en las t-LAM.

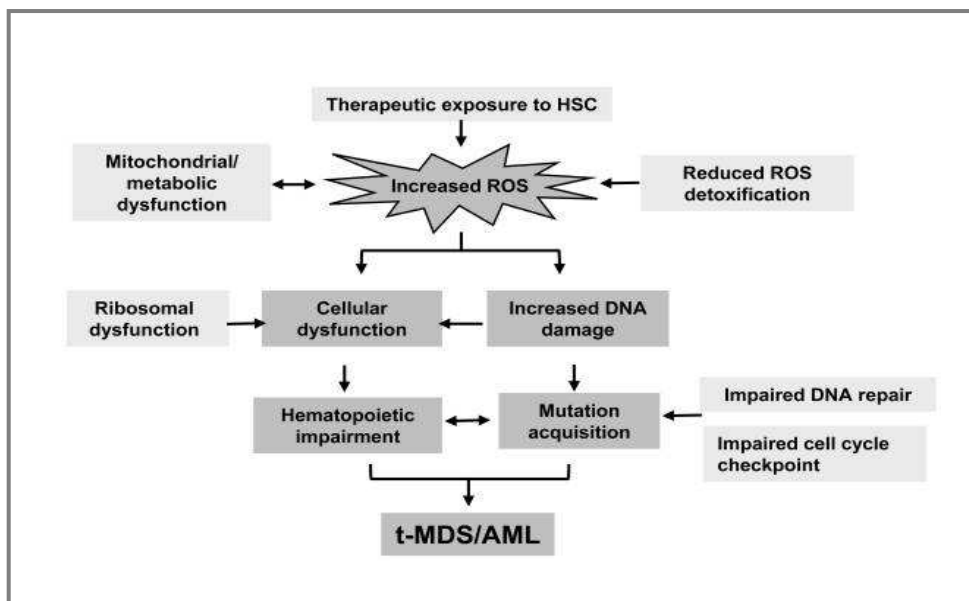
Agentes alquilantes
Melfalán, ciclofosfamida, mostaza nitrogenada, clorambucilo, alquilsulfonatos (busulfán), carboplatino, cisplatino, derivados de tiazinas (dacarbacina, procarbacina), nitrosureas (carmustina, iomustina) mitomicina C, aziridinas (titepa),
Radiaciones ionizantes
Campos amplios, incluida la irradiación corporal total (ICT)
Inhibidores de la topoisomerasa II
Antraciclinas (adriamicina, daunorrubicina, análogos de adriamicina [4-epirubicina, idarubicina], doxorubicinas liposomales, mitoxantrona), epipodofilotoxinas (etopósido, tenipósido), derivados de la camptotecina (irinotecan, topotecan), actinomicina D, amsacranina.
Antimetabolitos
Antifolatos (metotrexato, raltitrexed, pemetrexed), análogos de pirimidinas (5-fluorouracilo, fluoropirimidinas orales, arabinósido de citosina, gemcitabina), análogos de las purinas (6-mercaptopurina, tioguanina), análogos de la adenosina (fludarabina, pentostatina, cladribina).
Agentes que interactúan con los microtúbulos (generalmente en asociación con otros fármacos):
Alcaloides de la vinca (vincristina, vinblastina), taxanos (paclitaxel, docetaxel y los nuevos taxanos), análogos de las epotilonas

Figura 27. Genes candidatos implicados en la patogénesis de las t-NM (tomado de Ding et al, 2012).



También se ha sugerido que la quimioterapia recibida, como consecuencia de una disfunción mitocondrial, puede elevar los niveles de los radicales libres de oxígeno (ROS). Esto provocará un incremento en la lesión del ADN de las CPH y una disfunción celular que a su vez comportará el fracaso de la hematopoyesis y la acumulación de mutaciones que, finalmente, contribuirán al desarrollo de una t-NM (Li et al, 2011)(Figura 28).

Figura 28. Patogenesis de los t-SMD y de la t-LAM (tomado de Li et al, 2011)



Clásicamente se ha postulado que existen dos grupos de t-LAM: t-LAM secundarias a AA y las t-LAM secundarias a inhibidores de la topoisomerasa II (tabla 20).

a- t-LAM secundarias a agentes alquilantes.

Se caracterizan por un período de latencia de 5 a 7 años post-tratamiento, con una morfología habitual de tipo M1 o M2 según el Grupo FAB, generalmente precedidas de una fase previa de mielodisplasia y afectación frecuente de los cromosomas 5 y 7.

b- t-LAM secundarias a inhibidores de la topoisomerasa II.

Su aparición es más precoz y explosiva, sin una fase de mielodisplasia previa, con una morfología habitual de tipo M4 o M5 de la FAB y signos mielodisplásicos mínimos o ausentes. Generalmente se asocian a translocaciones equilibradas que implican a los cromosomas 11q23 (*MLL*) ó 21q22 (*RUNX1*) o a anomalías citogenéticas favorables como la t(15;17), t(8;21) o inv(16).

Tabla 20. Características clínicas y biológicas de las t-LAM asociadas a agentes alquilantes e inhibidores de la topoisomerasa II.

	Inhibidores de la topoisomerasa II	Agentes alquilantes
Período de latencia	< 2 años	2-8 años
Alteraciones cromosómicas	Reordenamientos 11q23 (MLL), t(15;17)(PML-RARA), t(8;21)(RUNX1-RUNX1T1)	del(5q),del(7q)
Cariotipo complejo	Raro	Frecuente
Síndrome mielodisplásico previo	Raro	Frecuente
Edad	Jóvenes	Edad avanzada

1.3.2. Alteraciones citogenéticas.

Las alteraciones citogenéticas observadas en las t-LAM se pueden agrupar en tres grandes grupos. El primer grupo incluye ganancias o pérdidas de material, sin alteraciones estructurales sobreañadidas. Las monosomías o deleciones de los cromosomas 5 y 7 y las trisomías del cromosoma 8 son las alteraciones más frecuentes. El segundo grupo está formado por alteraciones estructurales equilibradas, sin pérdida ni ganancia de material cromosómico. Las alteraciones equilibradas más frecuentes son los reordenamientos que afectan los cromosomas 11q23, 21q22, 17q21 y la inv(16)(p13q22). El tercer grupo comprende las LAM de cariotipo normal.

Las LAM *de novo* y las t-LAM son enfermedades heterogéneas que presentan alteraciones citogenéticas idénticas, aunque difieren en la frecuencia en las que éstas se presentan. Así, en la LAM *de novo* se observa un cariotipo normal en más del 50% de los casos, ganancias o pérdidas de material en un 15-25%, generalmente 5q-/5, 7q-/7 ó +8, y translocaciones equilibradas en el 15-20% de los pacientes. En la t-LAM las pérdidas y ganancias de material, 5q-/5 y 7q-/7, se observan en más del 50% de los casos, las alteraciones estructurales equilibradas, translocaciones e inversiones, en el 15-20%, y el 10-15% de los pacientes presentan un cariotipo normal (Pedersen-Bjergaard et al, 2008).

En la t-LAM la presencia de 5q-/5- y 7q-/7- se ha relacionado con una exposición previa a agentes alquilantes, frecuentemente formando parte de un cariotipo complejo, y las translocaciones equilibradas generalmente se observan después de la exposición a inhibidores de la topoisomerasa II. Finalmente, los pacientes que han sido tratados exclusivamente con radioterapia, con antimetabolitos o con otros agentes citostáticos sin un potencial leucemógeno bien definido, presentan un cariotipo normal.

Hoy en día se considera que las t-LAM, clásicamente divididas en dos grandes grupos, secundarias a agentes alquilantes y secundarias a inhibidores de la topoisomerasa II, pueden subdividirse en 8 vías genéticas con diferente etiología y diferentes características biológicas (Pedersen-Bjergaard et al, 2002; Pedersen-Bjergaard et al, 2006) (Figura 29).

Vía 1. Incluye las t-LAM y t-SMD con 7q-/-7 aislada. Generalmente se presentan como t-SMD, se han relacionado con la exposición previa a AA, son frecuentes las mutaciones en *AML1* y *RUNX1* y no se observan mutaciones en *FLT3*. Las mutaciones en *AML1* se observan en el 38% de los pacientes y su presencia se ha relacionado con la transformación a LAM (Christiansen et al, 2004). Los pacientes con mutaciones en *AML1* también suelen presentar mutaciones en *TP53* o *RAS* lo que sugiere que estas mutaciones pueden participar en el proceso de leucemogénesis (Pedersen-Bjergaard et al, 2006).

Vía 2. Incluye los pacientes con 5q-/-5 sin otras alteraciones estructurales equilibradas. Generalmente se presentan como t-SMD y también se han relacionado con la exposición previa a AA. Las mutaciones en *RAS*, *AML1* y *FLT3* son poco frecuentes, pero en un 77% de los casos se observan mutaciones en *TP53* (Pedersen-Bjergaard et al, 2006). Como consecuencia de ello son frecuentes los cariotipos complejos, con cromosomas marcadores y amplificaciones o duplicaciones de los cromosomas 11q23 y 21q22. Algunos casos también presentan 7q-/-7.

Vía 3. Esta vía incluye las t-LAM con translocaciones equilibradas que implican al cromosoma 11q23 (*MLL*) y se han relacionado con la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II, principalmente a epipodofilotoxinas (etopósido, tenipósido) (Bloomfield et al, 2002). En este grupo las mutaciones en *RAS* y *BRAF* son frecuentes (Christiansen et al, 2005).

Vía 4. Incluye los pacientes con translocaciones equilibradas en el cromosoma 21q22 e inv(16) con el consecuente reordenamiento de los genes del complejo CBF, *AML1* y *CBFB*. Estas alteraciones se han relacionado con la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II, principalmente a antraciclinas (adriamicina, daunorrubicina, doxorrubicina, mitoxantrona). A excepción de los pacientes con la t(3;21)(q26;q22), que generalmente se presentan como t-SMD, la mayoría de los pacientes de esta vía se presentan como t-LAM. La 7q-/-7 es la alteración cromosómica secundaria más frecuente en pacientes con t-LAM y reordenamientos del cromosoma 21q22 (Slovak et al, 2002). En las LAM *de novo* con afectación del complejo CBF, las mutaciones en *c-KIT* son las que se observan con más frecuencia.

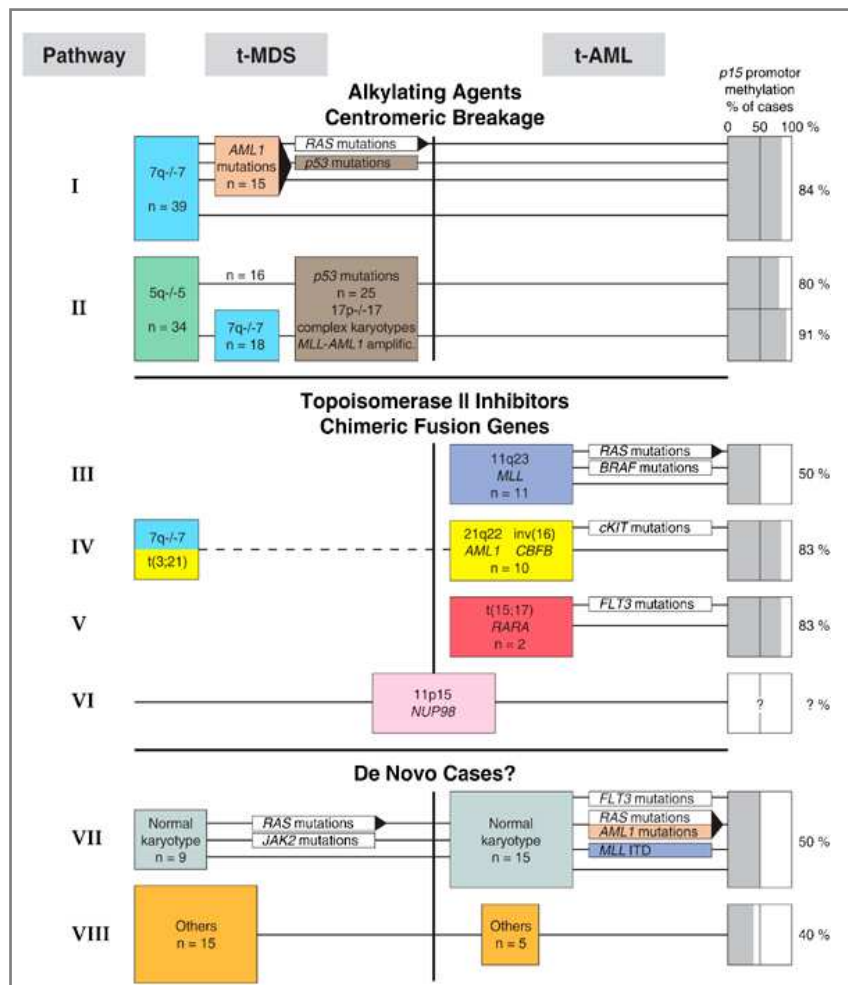
Vía 5. Incluye los pacientes con leucemia aguda promielocítica (LAP) y la t(15;17)(q22;q12-21) con el consecuente reordenamiento de los genes *PML* y *RARA*. Se ha asociado con la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II, principalmente doxorrubicina y mitoxantrona en mujeres afectas de cáncer de mama (Mistry et al, 2005). Al igual que ocurre en la LAP *de novo*, la *FLT3*-ITD se observa con frecuencia (Pedersen-Bjergaard et al, 2007).

Vía 6. Incluye los escasos pacientes con t-SMD o t-LAM y reordenamiento del gen *NUP98*, localizado en el cromosoma 11p15. Estos casos se han relacionado con la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II y hasta el momento no se ha observado ninguna asociación con otras mutaciones.

Vía 7. Incluye los pacientes con cariotipo normal y no se ha asociado con ningún tipo específico de terapia previa. Al igual que en las LAM *de novo* y cariotipo normal, se observan con frecuencia mutaciones en *FLT3*, *RAS* y *MLL-PTD* (Andersen et al, 2001) y con menos frecuencia en *AML1* (Harada et al, 2003).

Vía 8. Incluye los pacientes con una sola alteración cromosómica, representa el 14% de todos los t-SMD y t-LAM (Pedersen-Bjergaard et al, 2006), y no se asocian a ningún tipo específico de terapia previa. En este grupo de pacientes, las mutaciones en los genes de la vía *RTK/RAS-BRAF*, *TP53* y *AML1* son poco frecuentes (Chistiansen et al, 2005).

Figura 29. Vías genéticas de las t-LAM y de los t-SMD (tomada de Pedersen-Bjergaard et al, 2006).



1.3.3. Alteraciones moleculares.

El espectro de mutaciones genéticas observado en las LAM *de novo* y en las t-NM es idéntico, sin embargo sus frecuencias pueden variar en función de las características citogenéticas o de la forma de presentación, t-SMD o t-LAM. Así, la mayor frecuencia de mutaciones puntuales en *TP53* observadas en las t-NM respecto las LAM *de novo*, puede explicarse por el mayor número de pacientes con t-NM que presentan 5q-/5 y cariotipos complejos. No se observan diferencias entre las LAM *de novo* y las t-NM en la frecuencia de mutaciones en *AML1* (10-20%), *RAS* o *PTPN11*. Las mutaciones en *FLT3* y *NPM1* son menos frecuentes en las t-NM que en las LAM *de novo*, y no se observan diferencias entre ambas entidades cuando sólo se consideran los pacientes con cariotipo normal. Finalmente, las mutaciones en *cFMS* y *CEBPA* son poco frecuentes en las LAM *de novo* y no se han observado en las t-NM (Pedersen-Bjergaard et al, 2008).

Recientemente, Shih AH et al (Haematologica 2013) han analizado las mutaciones de *TP53*, *TET2*, *DNMT3A*, *ASXL1*, *IDH1*, *IDH2*, *EZH2*, *EED*, *SUZ12*, *RBBP4*, *SRSF2*, *U2AF35* y *SF3B1* en 38 muestras de pacientes diagnosticados de t-SMD/t-LAM. Todos los pacientes habían recibido previamente tratamiento quimioterápico y/o RDT y 5 de ellos un trasplante autogénico de progenitores hematopoyéticos. Se hallaron mutaciones somáticas en el 42% de los casos (16 pacientes) y las más frecuentes fueron las mutaciones en *TP53* en el 21% (8 pacientes), seguidas de las mutaciones en *TET2* en el 10% (4 pacientes). En este estudio la combinación de agentes alquilantes e inhibidores de la topoisomerasa II se asoció a un incremento en la frecuencia de mutaciones somáticas. La delección del cromosoma 17p se observó en el 15% de los casos (6 pacientes, 2 de ellos concomitantemente con mutación de *TP53*). A diferencia del resto de casos, los 12 pacientes con mutaciones de *TP53* o pérdidas de 17p presentaron una alta incidencia de alteraciones citogenéticas de alto riesgo: cariotipo complejo (91%), del(5q)/-5/ (83%), del(7q)/-7 (50%), y una menor SG (8.8 meses frente 37.4 meses, p=0.0035), que confirma el impacto peyorativo de esta mutación, observado previamente por otros autores (Christiansen et al, 2001).

Por otro lado, Lindsley et al (Blood 2015) secuenciaron 82 genes involucrados en la patogénesis de neoplasias mieloides en un subgrupo de 194 pacientes diagnosticados de s-LAM (n=93) y t-LAM (n=101) incluidos en el ensayo clínico fase 3 ACCEDE, que aleatoriza a los pacientes en dos brazos de tratamiento: amonafide y citarabina frente daunorubicina y citarabina. Posteriormente, los resultados fueron validados en una cohorte de 105 pacientes diagnosticados de LAM *de novo*, tratados en el Dana-Farber Cancer Institute. En este estudio se identificaron tres patrones de mutaciones mutuamente excluyentes:

- Mutaciones secundarias. Incluye 8 genes mutados con > 95% de especificidad en las s-LAM frente las LAM *de novo*: *ISRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1*, *ZRSR2*, *ASXL1*, *EZH2*, *BCOR* y *STAG2*. Estos 8 genes se encuentran frecuentemente mutados en los SMD, lo que sugiere que podrían participar en la diferenciación displásica y la hematopoyesis ineficaz característica de los SMD.
- Mutaciones *de novo*. Incluye 3 mutaciones que se encuentran infra-representadas en las s-LAM respecto las LAM *de novo*: *NMP1*, *MLL*/reordenamientos de 11q23 y reordenamientos de *CBFB*.
- Mutaciones en *TP53*. Asociadas a cariotipo complejo, resistencia a la terapia y a una menor supervivencia.

En el grupo de t-LAM (n=101) se identificaron 296 *single nucleotid variations* (SNV) y pequeñas inserciones o deleciones que afectaban a un total de 43 genes, con al menos una mutación detectada en el 97% (n=98) de los casos. El 33% (n=34) de los pacientes presentaban mutaciones secundarias, un 23% (n=23) mutaciones en *TP53* y un 47% (n=47) mutaciones *de novo*. En este estudio, las t-LAM no presentaron un perfil de mutaciones específico, pero las mutaciones de *TP53* también se asociaron a la presencia de cariotipo complejo, a menudo cariotipo monosómico, con anomalías en los cromosomas 5 y 7.

1.3.3.1 Mutaciones puntuales en *TP53*

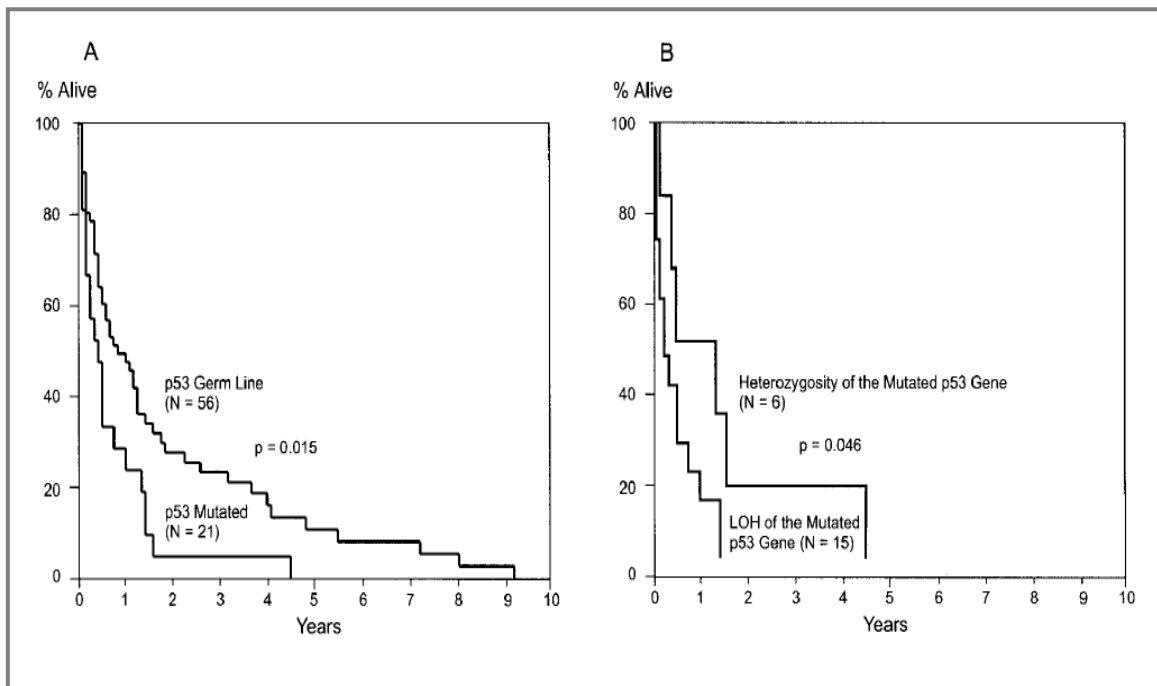
El gen *TP53* está localizado en el cromosoma 17p13.1 y tiene un papel crítico en la regulación del ciclo celular ante un daño del ADN. Una actividad anómala de *TP53* implicará una reducción en la capacidad para reparar los daños en el ADN, lo que dará lugar a una inestabilidad genética y un aumento en el riesgo de leucemogénesis. Las mutaciones en *TP53* se observan en menos del 10% de los pacientes con SMD y LAM *de novo*. Sin embargo, es la alteración genética detectada con más frecuencia en las t-NM, donde la podemos observar en un 20-50% de los casos (Christiansen et al, 2001). El tipo de mutación también es diferente, así en las LAM *de novo* la mutación más frecuente son los cambios en los pares G-C, mientras que en las t-LAM son las transversiones A-T (Christiansen et al, 2001)

Esta mutación, a menudo con pérdida de heterocigosidad, se asocia con 5q-/-5, la exposición previa a agentes alquilantes, cariotipos complejos y reordenamientos de los genes *MLL* y *AML1* (Christiansen et al, 2001; Bowen et al 2009; Rücker et al, 2012).

Los pacientes con mutaciones en *TP53* presentan un pronóstico adverso con una menor SG a los 5 años, respecto a los pacientes *TP53wt*. Cuando se valoran exclusivamente los pacientes con *TP53m*, el efecto adverso parece que queda restringido a los pacientes con pérdida de

heterocigosidad, mientras que los pacientes heterocigotos para *TP53* presentan una SG similar a la de los pacientes no mutados (Christiansen et al, 2001) (Figura 30).

Figura 30. (A) SG de los pacientes con t-NM y *TP53m* comparado con los pacientes no mutados. (B) SG de los pacientes *TP53m* con y sin pérdida de heterocigosidad (tomado de Christiansen et al, 2001).



1.3.3.2. Mutaciones puntuales en *AML1*.

Las mutaciones puntuales en *AML1* son las segundas mutaciones en frecuencia en las t-NM, donde las podemos observar en un 15% de los casos. Suelen presentarse como t-SMD y se han asociado a la exposición previa a agentes alquilantes y a 7q-/-7 (Christiansen et al, 2004). En los casos de transformación a t-LAM, se ha observado la coexpresión con mutaciones en *RAS* (Christiansen et al, 2005). Se han descrito mutaciones *missense*, *nonsense* y *frameshit*, todas ellas heterocigotas. Los pacientes con mutaciones *missense* presentan una menor SG comparados con los que presentan mutaciones *nonsense* o *frameshit* (Christiansen et al, 2004).

1.3.3.3. Mutaciones de genes que codifican para el dominio tirosínasa.

Se trata de mutaciones puntuales o duplicaciones internas, por lo general mutuamente excluyentes. Las mutaciones en *FLT3* se han relacionado con la exposición previa a RDT y con t-LAM de cariotipo normal. Los pacientes con mutaciones en *FLT3* y *ckIT* suelen presentarse

como t-LAM. Las mutaciones en *JAK2* son raras y se presentan como t-SMD con rasgos mieloproliferativos y esplenomegalia (Desta et al, 2006), y no se observan mutaciones en *cFMS* (Pedersen-Bjergaard et al, 2008).

1.3.3.4. Mutaciones en la vía *RAS/BRAF*.

Estas mutaciones generalmente son mutuamente excluyentes y en los escasos casos en que se presentan simultáneamente, se suelen observar en subclones diferentes. Las mutaciones en *RAS* no se asocian de manera específica a ninguna terapia previa, a menudo se observan en pacientes con cariotipo normal y se han relacionado con la transformación de un t-SMD a una t-LAM (Christiansen et al, 2005).

1.3.3.5. Mutaciones en genes que codifican para factores de transcripción.

Los reordenamientos en *AML1*, *CBFB*, *MLL*, *RARA* y *EVI1* se han relacionado con la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II. Las mutaciones en *NPM1* no se relacionan con ningún subtipo específico de terapia previa y frecuentemente se observan en pacientes con cariotipo normal. Los pacientes con reordenamientos en *AML1*, *CBFB*, *MLL* o *RARA* y con mutaciones en *NPM1*, generalmente se presentan como t-LAM, mientras que los pacientes con reordenamientos de *EVI1* y mutaciones puntuales en *AML1* se suelen presentar como t-SMD. No se observan mutaciones en *CEBPA* (Pedersen-Bjergaard et al, 2008).

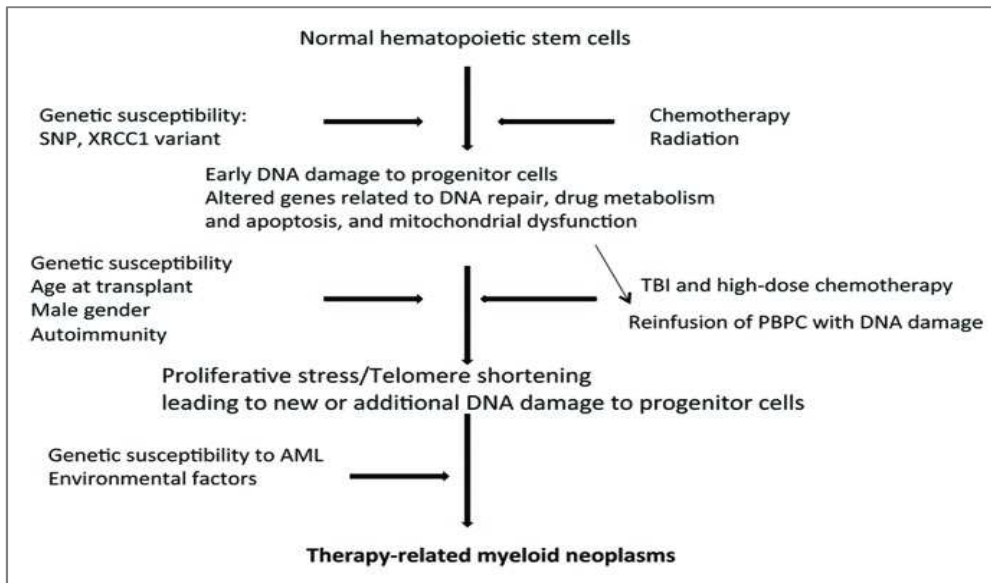
1.3.3.6. Neoplasias relacionadas con la terapia (t-NM) después de un trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH).

La incidencia de t-SMD y t-LAM después de un TPH es superior a la observada en pacientes tratados por las mismas enfermedades con quimioterapia convencional y radioterapia, y es una de las principales causas de mortalidad no relacionada con la recaída de la enfermedad. El riesgo acumulado de t-SMD y t-LAM varía mucho según los diferentes estudios, desde un 1.1% a los 20 meses (Taylor et al, 1997) hasta un 24.3% a los 43 meses del TPH (Pedersen-Bjergaard et al, 1997). La mediana de tiempo hasta la aparición de la t-NM es de 12 a 24 meses después del TPH (Bathia, 2013) y la mediana de supervivencia es de 6 meses, idéntica a la supervivencia de los pacientes con t-NM en general.

El desarrollo de una t-NM después de un TPH es un proceso complejo con múltiples etapas. En primer lugar, la exposición previa a quimioterapia y/o RDT provoca un daño en el ADN, una disfunción mitocondrial, una alteración en el metabolismo celular y una disregulación de las CPH. Posteriormente, el tratamiento de acondicionamiento puede causar nuevos daños en el ADN de las CPH similares a los producidos por la terapia pre-TPH. Finalmente, la reinfusión de

estas CPH (en el caso del auto-TPH) con el DNA dañado, junto al estrés proliferativo que tiene lugar durante la regeneración hematopoyética provoca un mayor acortamiento en la longitud de los telómeros, con la consecuente inestabilidad genética, aparición de alteraciones citogenéticas y transformación a una LAM (Akhtari et al, 2013; Bathia, 2013) (Figura 31).

Figura 31. Patogénesis de las t-NM post-TPH (tomada de Akhtari et al, 2013).



Los telómeros son estructuras especializadas de la cromatina que se encuentran localizadas en los extremos de los cromosomas eucariotas y algunos cromosomas procariotas lineales. La función de esta región del cromosoma no está completamente establecida. Por un lado parece participar en el ciclo celular, senescencia y control de la expresión genética a nivel transcripcional. Por otro lado, el telómero ayuda a mantener la integridad del cromosoma evitando la fusión de sus extremos y la degradación por nucleasas, también participa en el anclaje de los cromosomas a la matriz nuclear y tiene un papel muy importante durante la meiosis, el apareamiento y la recombinación homóloga (Blackburn, 1991). Los telómeros se acortan con cada división celular y el número de divisiones que la célula puede experimentar se correlaciona con la longitud de los telómeros. El acortamiento progresivo de los telómeros funciona como un reloj mitótico que limita el potencial proliferativo de las células al desencadenar una cascada de señalización que induce al envejecimiento celular y coopera para la apoptosis. En cada división celular se pierden entre 50 y 200 nucleótidos del telómero. Cuando los telómeros alcanzan un tamaño crítico tienen dificultades para separarse durante la mitosis, lo que favorece la aparición de asociaciones teloméricas, inestabilidad cromosómica y

consecuentemente un incremento en la frecuencia de alteraciones cromosómicas (Shay, 1998).

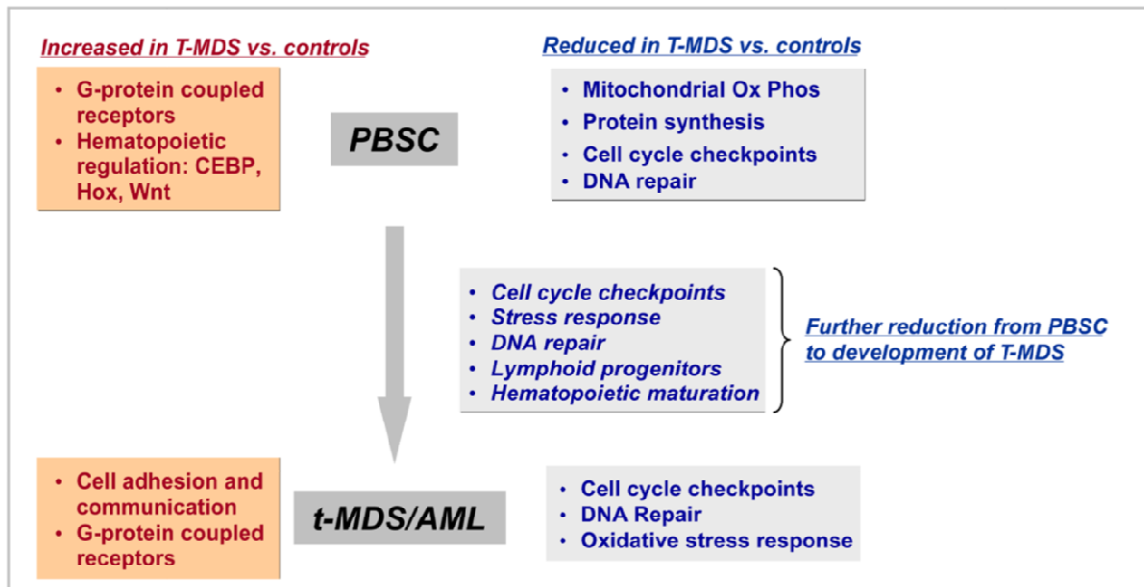
También se ha sugerido un posible papel de la autoinmunidad en la patogénesis de la t-NM después de un TPH, basado en el rol potencial de la autoinmunidad en la patogénesis de los SMD, en la asociación de los SMD con fenómenos autoinmunes y en el papel de la terapia inmunodepresora en el tratamiento de estos síndromes (Akhtari et al, 2013). Por otro lado, en un estudio se demostró que, en los pacientes que reciben un auto-TPH, la aparición del síndrome del injerto era un factor de riesgo independiente para el desarrollo de una t-NM (Keung et al, 2010).

La quimioterapia previa recibida, principalmente la dosis total acumulada de agentes alquilantes, se considera el factor de riesgo más importante para desarrollar una t-NM (Stone et al, 1994; Wheeler et al, 1997; Milligan et al, 1999). Diferentes factores apoyan esta hipótesis. Por un lado, el número de recaídas, reflejo indirecto del número de ciclos de quimioterapia administrados, se asocia a un mayor riesgo de t-NM (Akhtari et al 2013). Por otro lado, la incidencia de t-NM después de un alo-TPH es muy inferior a la observada tras un auto-TPH, debido probablemente a que las células progenitoras del donante no han estado expuestas a quimioterapia (Akhtari et al, 2013). El corto período de latencia entre el TPH y la t-NM, inferior al observado en pacientes con t-NM tratados exclusivamente con quimioterapia, también apoyaría esta hipótesis (Bathia, 2013). Finalmente, en las t-NM son bastante frecuentes las alteraciones que afectan a los cromosomas 5 y 7, relacionadas con la exposición previa a AA y, en diferentes estudios, las alteraciones citogenéticas presentes en el momento de la t-NM se han observado también en el producto de aféresis o previamente al TPH (Abruzzese et al, 1999).

En la misma línea, Li et al observaron que las células CD34+ de los productos de aféresis de pacientes que recibieron un auto-TPH por un LNH o por un LH y posteriormente desarrollaban una t-NM, presentaban una infra-expresión de genes relacionados con la función mitocondrial y la fosforilización oxidativa (*NRF2* y *GABP*), la ubiquitinación de proteínas, la síntesis de aminoacil-RNAt, la regulación del ciclo celular (*E2F1*), el ciclo del citrato, el metabolismo de aminoácidos, la reparación del ADN (*OCT1*) y la diferenciación hematopoyética (*GF11* y *FOXA1*), y una sobreexpresión de genes relacionados con la regulación hematopoyética (*CEBP*, *HOX*), la adhesión y la comunicación celular y con receptores acoplados a proteínas G, respecto los pacientes que no presentaban una t-NM. La posterior progresión a una t-NM se ha relacionado con la adquisición de una infra-expresión en genes relacionados con la regulación

del ciclo celular, la reparación del ADN, la respuesta al estrés oxidativo y la diferenciación hematopoyética (Li et al, 2011) (Figura 32).

Figura 32. Cambios en la expresión génica en las células CD34+ durante el desarrollo de una t-NM (tomado de Li et al, 2011).



Según diferentes estudios, la edad del paciente también constituye un factor de riesgo independiente. Así, los pacientes mayores de 40 años presentan un riesgo superior de desarrollar t-NM después de un TPH (André et al, 1998; Milligan et al, 1999).

El riesgo de t-NM después de RDT, como tratamiento único, es 10 veces inferior al riesgo tras tratamiento con agentes alquilantes (Tucker et al, 1988) e incluso en algunos estudios esta asociación no se ha observado (Pedersen-Bjergaard et al, 1993). Sin embargo, se ha observado que en pacientes trasplantados por un LNH o LH, el uso de irradiación corporal total (ICT) en el régimen de acondicionamiento constituye un factor de riesgo independiente para el desarrollo de una t-NM. En dos estudios del instituto Dana Farber, en pacientes trasplantados por un LNH, el uso de ICT en el régimen de acondicionamiento comportó un riesgo actuarial de t-SMD/t-LAM del 18% a los 6 años y del 19.8% a los 10 años (Stone et al, 1994; Friedberg et al, 1999), mientras que en un estudio paralelo de la misma institución, en pacientes trasplantados por un LNH o por un LH acondicionados sólo con quimioterapia, el riesgo fue de 4.4% a los 5 años (Wheeler et al, 1997). Posteriormente, un estudio cooperativo del EBMT también confirmó que la ICT en el régimen de acondicionamiento se asociaba a mayor riesgo de desarrollar una t-NM (Milligan et al, 1999). También se ha sugerido que el riesgo de desarrollar una t-NM tras un TPH acondicionado con ICT depende de la dosis total administrada; así con

dosis inferiores a 12 Gy no se ha observado un incremento en el riesgo de t-NM, mientras que sí se ha observado con dosis superiores a 13,2 Gy (Metayer et al, 2003).

El número de TPH recibidos, también es un factor de riesgo para desarrollar posteriormente una t-NM. En un estudio en pacientes trasplantados por un mieloma múltiple, el riesgo de desarrollar una t-NM fue del 12% a los 4 años en el subgrupo de pacientes trasplantados en fases tardías de la enfermedad, y el 73% de estos pacientes recibió un trasplante en tándem (Govindarajan et al, 1996). Este efecto ha sido confirmado posteriormente por un estudio cooperativo del grupo EBMT (Milligan et al, 1999).

Diferentes estudios han observado también un aumento en el riesgo de desarrollar una t-NM cuando se utilizan CPH procedentes de sangre periférica, especialmente en aquellos casos movilizados con etopósido, en lugar de progenitores procedentes de médula ósea (Krishnan et al, 2000; Beauchamp-Nicoud et al, 2003). Se ha sugerido que este incremento de t-NM puede deberse a la contaminación del producto de aféresis por células preleucémicas con el DNA dañado (Pedersen-Bjergaard et al, 2000).

También se ha observado un mayor riesgo de t-NM en función del número de células mononucleadas infundidas (Sevilla et al, 2002), y en aquellos pacientes que han requerido más de una movilización con factores estimuladores de colonias granulo-monocíticas (Waterman et al, 2012) o con plerixafor (Deol et al, 2013). También se ha sugerido que una segunda movilización daría lugar a un mayor acortamiento telomérico de los progenitores hematopoyéticos, con la consecuente inestabilidad genética (Ricca et al, 2005).

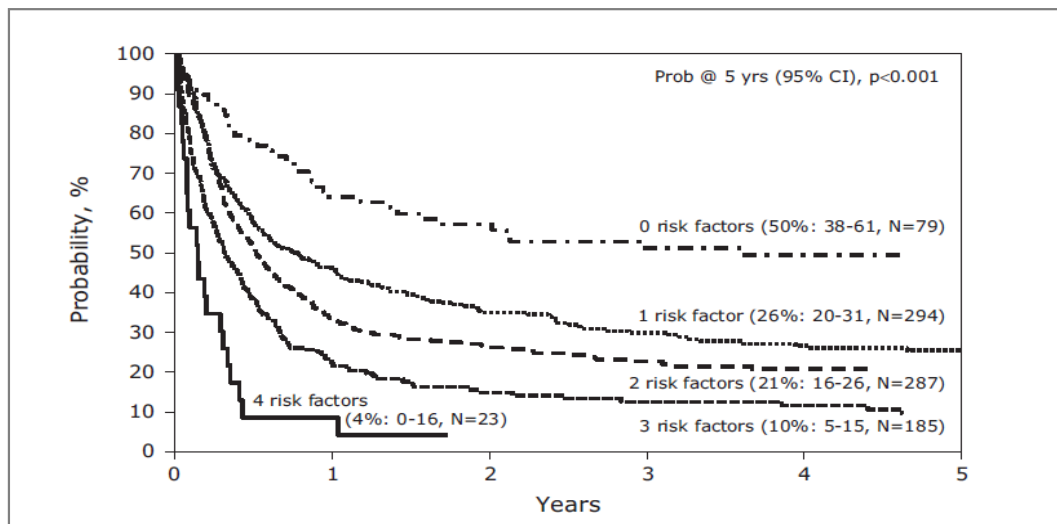
1.3.3.7. Tratamiento.

Las opciones terapéuticas para los pacientes con t-NM incluyen los regímenes de quimioterapia intensiva, dosis bajas de citarabina, retinoides, 5-azacitidina o decitabina y el alo-TPH. Los resultados obtenidos con el tratamiento estándar son pobres, con una supervivencia mediana estimada entre 8 y 16 meses (Smith et al, 2003; De Roos AJ, 2007). Este resultado probablemente está relacionado con varios factores como la edad avanzada de los pacientes, la presencia de comorbilidades, la resistencia a la terapia, la insuficiencia medular y a la alta incidencia de alteraciones citogenéticas de alto riesgo que presentan las t-NM.

El alo-TPH se considera la única opción potencialmente curativa en este subgrupo de pacientes pero, dada la alta tasa de mortalidad relacionada con el tratamiento, es una estrategia terapéutica limitada a los pacientes más jóvenes y sin comorbilidades. En un intento de identificar aquellos pacientes que se pueden beneficiar de un alo-TPH han surgido diferentes escalas de riesgo como la propuesta por Litzow et al (Blood 2010) que, a partir del seguimiento durante un período de 15 años de 868 pacientes trasplantados por una t-NM en 33 países

diferentes, observaron que la edad > 35 años, la citogenética de mal pronóstico definida por el SWOG/ECOG (Slovak et al, 2000), el estado de la enfermedad en el momento del alo-TPH (LAM sin RC o t-SMD avanzado) y el tipo de donante utilizado (DNE) se asociaban a un pronóstico adverso. Con la combinación de estos factores de riesgo, elaboraron un sencillo sistema de puntuación que permite clasificar a los pacientes en 4 grupos de riesgo con diferente impacto pronóstico. Así, la SG a los 5 años para los pacientes con ninguno, 1, 2, 3 ó 4 de estos factores fue respectivamente del 50%, 26%, 21%, 10% y 4% (Figura 33).

Figura 33. Probabilidad de SG después de un alo-TPH por una t-NM en función de los factores de riesgo propuestos por Litzow et al (tomado de Litzow et al, 2010).



Los pacientes sin ninguno de los factores de riesgo presentaron un pronóstico comparable al de los pacientes trasplantados por un SMD o LAM *de novo*, pero representaban menos del 10% de los pacientes estudiados.

Entre las estrategias dirigidas a disminuir el riesgo de las t-NM después de un TPH pueden tenerse en cuenta:

- Indicación del TPH en primera remisión completa en aquellos pacientes con pronóstico adverso.
- Modificaciones en el régimen de acondicionamiento, como el uso restrictivo de la ICT, la combinación de busulfán y ciclofosfamida, que se ha asociado a una menor SLP a los 5 años (45%) y a una menor mortalidad no relacionada con la recaída (28%) (Bathia et al, 2013), o el esquema BEAM (BCNU, citarabina, etopósido y melfalán) asociado a un menor potencial leucemógeno (Harrison et al, 1999).

- Modificaciones en los esquemas de movilización. El uso de etopósido se ha relacionado con un mayor riesgo de desarrollar una t-NM con anomalías en los cromosomas 11q23 y 21q22 (Krishnan et al, 2000).
- Análisis citogenético convencional o mediante técnicas de hibridación *in situ* fluorescente del producto de aféresis para descartar la presencia de alteraciones citogenéticas en los progenitores hematopoyéticos que se van a infundir.

2. HIPÓTESIS

1. Los pacientes diagnosticados de LAM reciben tratamientos adaptados al riesgo con quimioterapias que incluyen inhibidores de la topoisomerasa II (antraciclinas) y citarabina. Una vez alcanzada la RC, en función de la citogenética y de la biología molecular, algunos se consolidarán con un TPH, previo acondicionamiento con agentes alquilantes (ciclofosfamida, melfalán, busulfán, thiotepa), antimetabolitos (fludarabina) e irradiación corporal total (ICT). Los agentes alquilantes, inhibidores de la topoisomerasa II, antimetabolitos y las radiaciones ionizantes están implicados en la patogenia de las LAM relacionadas con la terapia (t-LAM) y de los síndromes mielodisplásicos relacionados con la terapia (t-SMD). Por otro lado, se han descrito t-LAM y t-SMD después de un TPH en pacientes afectados de LH, LNH o MM con una incidencia acumulada del 6-7% a los 5 años. Dados los tratamientos previos recibidos, las LAM post-TPH podrían corresponder a una t-LAM o bien a una recaída de la LAM inicial.
2. El efecto citotóxico de los tratamientos previos, junto con el acortamiento en la longitud de los telómeros que tiene lugar durante el primer año del TPH, debido a los numerosos ciclos replicativos de las células progenitoras hematopoyéticas, podrían condicionar una inestabilidad genética que favorecería la aparición de nuevas alteraciones citogenéticas. En consecuencia, las LAM post-TPH podrían presentar una mayor complejidad citogenética que las LAM en el momento del diagnóstico.
3. La incidencia de t-NM después de un alo-TPH es muy inferior a la observada tras un auto-TPH, debido probablemente a que las células progenitoras del donante no han estado expuestas a quimioterapia. Así, suponiendo que las LAM post-TPH puedan corresponder a t-LAM, su incidencia debería ser superior después de un auto-TPH. Además, dada la reinfusión de CPH con el ADN lesionado, deberían presentar una mayor complejidad citogenética.
4. *TP53* es el gen mutado con mayor frecuencia en las t-LAM. Dicha mutación, así como las pérdidas de *TP53* se han asociado a una mayor complejidad citogenética y a una menor supervivencia global (SG). Las LAM post-TPH podrían presentar pérdidas de *TP53* con más frecuencia que las LAM al diagnóstico y ello relacionarse con la complejidad citogenética.

3. OBJETIVOS

Los objetivos de la presente Tesis Doctoral son los siguientes:

1. Caracterizar las alteraciones citogenéticas de las LAM post-TPH y compararlas con las características citogenéticas de las LAM antes del TPH.
2. Analizar los factores implicados en la etiopatogenia de las LAM post-TPH.
3. Analizar la incidencia de las deleciones de *TP53* en las LAM al diagnóstico y post-TPH (mediante hibridación *in situ* fluorescente) y su relación con el cariotipo complejo, el cariotipo monosómico y la deleción del cromosoma 5q.

4. PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Pacientes

Estudio retrospectivo de los 151 pacientes diagnosticados de LAM que recibieron un TPH entre febrero de 2000 y junio de 2014 en la Unidad de Transplante Josep Carreras del Servicio de Hematología Clínica del Institut Català d'Oncologia (ICO)-Hospital Germans Trias i Pujol. Los pacientes procedían de los Servicios de Hematología del ICO-Hospital Germans Trias i Pujol (Badalona) y del ICO-Hospital Josep Trueta (Girona).

En la presente estudio se ha definido la LAM post-TPH como toda LAM que aparece tras la realización de un TPH.

En el momento del diagnóstico de la LAM y de la LAM post-TPH se realizaron los siguientes estudios:

4. Diagnóstico citológico de acuerdo con los criterios de clasificación de la OMS del 2008 (Swerdlow et al, 2008).
5. Estudio citogenético convencional mediante cultivos de 24 horas de células procedentes de médula ósea. Los cariotipos se formularon de acuerdo con la normativa del *International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (ISCN) 2013 (Shaffer et al, 2013).
6. Hibridación *in situ* fluorescente (FISH) para descartar el reordenamiento del gen *MLL* en todos los casos de cariotipo normal. En algunos casos se han aplicado sondas de FISH para confirmar la presencia de determinadas alteraciones, de acuerdo con las instrucciones del manual de la casa comercial.
7. Estudio del estado mutacional de *FLT3*, *NMP1*, *D835* y *CEBPA*.

Se han recogido las siguientes variables clínico-biológicas: edad, sexo, fecha del diagnóstico, diagnóstico citológico según la clasificación de la OMS del 2008, fórmula cromosómica según la normativa ISCN 2013, reordenamiento del gen *MLL* (FISH) y estado mutacional de *FLT3*, *NMP1*, *D835* y *CEBPA* en el momento del diagnóstico y de la LA

M post-TPH, tratamiento previo recibido, estado de la enfermedad en el momento del TPH, fecha del TPH, tipo de TPH, acondicionamiento recibido, profilaxis de la enfermedad injerto contra huésped (EICH), presencia de EICH, fecha de la LAM post-TPH, fecha y estado del último seguimiento.

Las alteraciones citogenéticas se categorizaron en normal, alterada, sin crecimiento y no realizada y según el grupo de riesgo pronóstico citogenético propuesto por el MRC (Grimwade et al, 2010) y la presencia o no de cariotipo monosómico (Breems et al, 2008). Los cariotipos alterados se clasificaron en función de la ploidía, del número de alteraciones observadas (<3-≥4), del tipo de alteración (equilibrada vs desequilibrada o numérica [trisomías y monosomías] vs estructural, en función del brazo cromosómico afecto).

El estado mutacional de *FLT3*, *NMP1*, *D835* y *CEBPA* se ha categorizado en germinal, mutado y no realizado.

Se ha realizado, en las muestras del diagnóstico y de la LAM post-TPH de 20 pacientes, el estudio, por FISH, de la delección del gen *TP53*.

4.2. Material

La médula ósea ha sido el tejido utilizado para realizar el estudio citogenético y molecular en la mayoría de los casos. En su defecto, en aquellos casos con una cifra de leucocitos $> 30 \times 10^9/L$ y/o más de un 10% de blastos, se ha utilizado muestra procedente de sangre periférica.

La muestra de médula ósea se ha obtenido por punción aspiración con un trócar, a nivel esternal o en cresta ilíaca posterosuperior. Para realizar el estudio citogenético la muestra se ha recogido en un tubo de centrifuga que contenía 5 mL de medio RPMI-1640 y heparina sódica al 1%, y para realizar el estudio molecular en un tubo EDTA.

La muestra de sangre periférica se ha obtenido mediante punción venosa. Se han extraído 2-5 mL de sangre periférica que se han recogido en un tubo de Heparina Litio para el estudio citogenético y en un tubo EDTA para el estudio molecular.

Las muestras han sido procesadas en la mayoría de los casos el mismo día de su extracción, aunque pueden conservarse en nevera (2^o-8^o) y procesarse a las 24 horas, con el riesgo de una mayor muerte celular.

4.3. Métodos

4.3.1. Estudios citogenéticos

4.3.1.1. Técnica de cultivo de médula ósea

En una campana de flujo laminar, en condiciones de esterilidad, se preparan dos frascos con medio de cultivo (75% RPMI-160, 2% penicilina-estreptomicina, 2% L-glutamina y 1% heparina sódica) y se enumeran con el número de la muestra que se va a sembrar. Se suplementan con con 1 mL de suero bovino fetal (20% restante) y se añade 1 gota de de tampón HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid).

La muestra se centrifuga a 1700 rpm durante 7-10 minutos (min). Se extrae el sobrenadante con una pipeta Pasteur y se homogeneiza el botón celular. Posteriormente se realizan dos cultivos de 0,1 mL y de 0,3 mL de botón celular y se introducen en una estufa de CO₂ al 5% durante 24 horas.

Veinte minutos antes de extraer el cultivo de la estufa se añaden 50 μ L de Colcemid, un antimitótico que detiene la división celular.

La muestra se decanta en un tubo de centrifuga, se centrifuga a 1700 rpm durante 7-10 min y se aspira el sobrenadante. Se añaden a la muestra 3 pipetas Pasteur de choque hipotónico KCL, previamente calentado a 37°C, se resuspende el botón celular después de cada pipeta y se deja actuar 25 min a 37°C.

Se añaden 10 gotas de fijador o solución Carnoy (metanol – ácido acético 3:1), se resuspende y se deja actuar durante 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se centrifuga a 1700 rpm durante 7 min y se aspira el sobrenadante. Se añaden 3 pipetas Pasteur de fijador, se centrifuga a 1700 rpm durante 7 min y se aspira el sobrenadante. Esta última operación se repite un mínimo de dos veces para eliminar los restos celulares.

Después de la última centrifugación se resuspende el botón celular, se realizan las extensiones a mano alzada (3-4 por cultivo), se secan en una placa calefactora a 37°C y posteriormente, en un microscopio invertido se controla la calidad de las extensiones.

Las preparaciones se envejecen durante 1 hora a 100°C. Una preparación de cada caso se sumerge en solución 2xSSC a 65°C y se lavan con agua del grifo. Se tiñe con una parte de colorante Wright y tres partes de solución Sörensen (1 mL + 3 mL por portaobjetos) durante 2 min y medio. Si los cromosomas han quedado bien bandeados, se tiñen las extensiones restantes de la misma forma, de lo contrario se realiza otra prueba (menos tiempo de tinción si los cromosomas están muy teñidos, más tiempo en solución 2xSSC si no se ven bandas o no sumergirlos en solución 2xSSC si los cromosomas se han deshecho). Con este tipo de tinción se obtiene el patrón de bandas G.

4.3.1.2. Análisis de resultados

El estudio de los cromosomas se ha realizado en el microscopio óptico, según el patrón de bandas G. Siempre que ha sido posible, se ha analizado un mínimo de 20 metafases. El cariotipo se ha descrito según las recomendaciones del ISCN 2013 (Shaffer et al, 2013). Se ha considerado un cariotipo normal, cuando se han analizado un mínimo de 20 metafases normales. Las alteraciones estructurales y las trisomías se han considerado clonales cuando se han observado en un mínimo de dos metafases, y las monosomías en un mínimo de tres. El cariotipo complejo se ha definido como la presencia de cuatro o más alteraciones cromosómicas, según el *United Kingdom Medical Research Council trials* (MRC) (Grimwade et al, 2010). Las alteraciones citogenéticas se han clasificado en 3 grupos pronósticos (favorable, intermedio y adverso), de acuerdo con los grupos de riesgo citogenético propuestos por el MRC (Grimwade et al, 2010). El cariotipo monosómico se ha definido como la presencia de una

monosomía autosómica acompañada de otra monosomía autosómica o de una alteración estructural (Breems et al, 2008).

4.3.2. Técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH)

- Preparación de la muestra y extensión: a partir de las células fijadas con solución Carnoy se tira una gota a mano alzada en un portaobjetos (unas horas antes de la hibridación) y se marca el área de hibridación con un lápiz de diamante. En el caso de portaobjetos teñidos para el estudio citogenético de bandas G, se destiñen previamente en solución Canoy hasta que desaparezca completamente la tinción.

- Preparación de la sonda: se descongela la sonda a temperatura ambiente y protegida de la luz. Para cada área de hibridación se prepara un tubo eppendorf con 3,5 µL de tampón de hibridación, 0,5 µL de sonda i 1 µL de agua destilada.

- Hibridación: se prepara la cámara húmeda (estufa o *Thermobryte*) a 37°C y la placa de hibridación a la temperatura adecuada según la sonda o el tipo de extensión. Se aplican 5 µL de sonda sobre el área a hibridar, se cubre con un cubreobjetos y se sella con cola. Se desnaturaliza en la placa de hibridación durante 3 min a 74°C en el caso de núcleos en interfase o 4 min a 75°C cuando se trate de extensiones desteñidas. Posteriormente, se introduce el portaobjetos en la cámara húmeda a 37°C y se incuba, a oscuras, durante toda la noche.

- Lavados post-hibridación: una vez retirado el cubreobjetos, el portaobjetos se introduce en una solución 0.4xSSC / 0.3% NP40 a 73°C durante 2 min. Las extensiones se lavan, a temperatura ambiente, en solución 2xSSC / 0.1% NP40 durante 5-60 segundos y, posteriormente, se dejan secar en vertical, al aire y a oscuras.

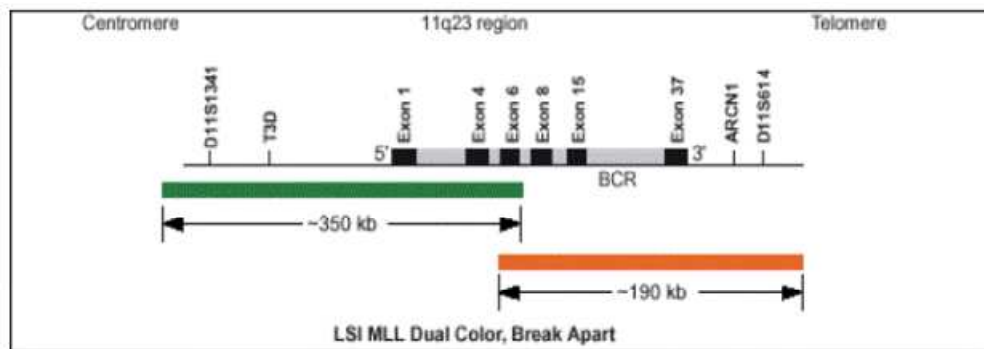
- Contratinción: se aplican 10 µL de DAPI II sobre el área de hibridación, se cubre con un cubreobjetos y se guarda en el congelador y a oscuras a -20°C.

- Análisis de resultados: el análisis de las señales de hibridación se ha realizado en el microscopio de fluorescencia. Se han contado 200 núcleos y los resultados se han descrito según las recomendaciones del ISCN 2013 (Shaffer et al, 2013).

- Sondas utilizadas:

- LSI MLL (reord. 11q23) Dual Color Break Apart (Vysis): consiste en una mezcla de 2 sondas: una sonda de 350 Kb que hibrida la porción centromérica del punto de ruptura del gen *MLL* (*bcr*) marcada con SpectrumGreen y una sonda de 190 Kb que hibrida la región telomérica de *MLL*, marcada con SpectrumOrange. Interpretación de resultados: las células normales muestran un patrón con dos señales de fusión,

mientras que las células con translocaciones típicas presentan una señal roja, una señal verde y una señal de fusión.



- LSI 7q31 (D7S522) SpectrumOrange / CEP 7 SpectrumGreen (Vysis): consiste en una mezcla de sondas que incluye la sonda locus específica LSI D7S522 SpectrumOrange, de 200 Kb aproximadamente, y la sonda centromérica CEP 7 SpectrumGreen, utilizada como control interno del cromosoma 7. Interpretación de resultados: las células normales muestran dos señales verdes y dos rojas, las células delecionadas una señal roja y dos verdes, y las células con monosomía una señal roja y una verde.
- CEP 8 SpectrumOrange (Vysis): se trata de una sonda específica para la región alfa-satélite (centromérica) 8p11.1-q11.1, mezclada con tampón de hibridación y predesnaturada. Interpretación de resultados: en una célula normal, el patrón esperado es de dos señales rojas y en una célula con trisomía, se observan tres señales rojas.
- LSI TP53 SpectrumOrange/ CEP 17 SpectrumGreen (MetaSystems): consiste en una mezcla de dos sondas que incluye una sonda LSI TP53 marcada con SpectrumOrange, con un tamaño aproximado de 172 Kb, que hibrida en la región 17p13.1 y que cubre por completo el gen TP53 y una sonda centromérica CEP 17, que hibrida la región 17p11.1-q11.1 del cromosoma 17. Interpretación de resultados: las células normales presentan un patrón de fluorescencia de dos señales rojas y dos verdes. Las células con deleción presentan un patrón de hibridación de 1 señal roja y dos verdes y las células con monosomía una señal roja y una señal verde.

4.3.3. Estudios moleculares

4.3.3.1. Procesamiento de la muestra

4.3.3.1.1. Sangre periférica (10 mL EDTA)

- Centrifugar el tubo 10 min a 2200 rpm.
- Recoger el plasma en un tubo nuevo de 10 mL y centrifugar durante 10 min a 220 rpm.
- Guardar el plasma en un criotubo y guardar en el congelador de -20/-80°C.
- Añadir 10 mL de tampón de lisis de eritrocitos (TLE) al precipitado celular e incubar en rotación durante 10 min.
- Centrifugar el tubo durante 10 min a 2000 rpm.
- Resuspender el precipitado celular (leucocitos) en un volumen de TLE que ocupe, como máximo, una cuarta parte del cono del eppendorf de 2 mL. En caso de que el pellet esté muy sonrosado, resuspender en un volumen de TLE que ocupe la totalidad del eppendorf.
- Centrifugar 10 min a 2000 rpm.
- Retirar el sobrenadante y resuspender el pellet en 1 mL de TRIZOL y/o en 150 µL de RA.
- Guardar los leucocitos resuspendidos a -20°C.

4.3.3.1.2. Médula ósea (EDTA)

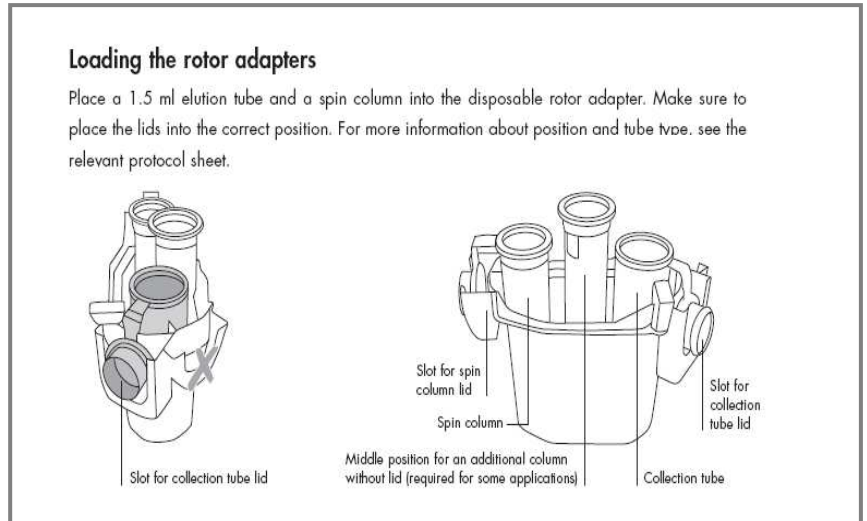
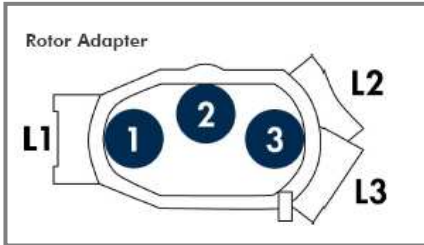
- Poner todo el volumen de médula ósea en un tubo de 20 mL con TLE (9 mL de TLE por 3 mL de médula ósea).
- Dejar en rotación durante 10 min.
- Centrifugar el tubo 10 min a 2000 rpm. Repetir el paso anterior hasta conseguir un precipitado celular blanco, libre de eritrocitos.
- Retirar el sobrenadante, lavar el pellet, resuspenderlo en TLE y repartirlo en diferentes eppendorfs de 2 mL.
- Centrifugar los eppendorfs 10 min a 2000 rpm.
- Retirar el sobrenadante y resuspender los pellets en 1 mL de TRIZOL y/o 150 µL de RA.
- Guardar los leucocitos resuspendidos a -20°C.

4.3.3.2. Extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN) mediante QIACube (QIAGEN, Izasa)

- Poner en marcha el QIACube.
- Abrir la puerta.
- Poner en un tubo de 2 mL, 150 µL de solución RA como control negativo.
- Homogeneizar los pellets celulares eluidos en 150 µL de RA, en un tubo de 2 mL, con una

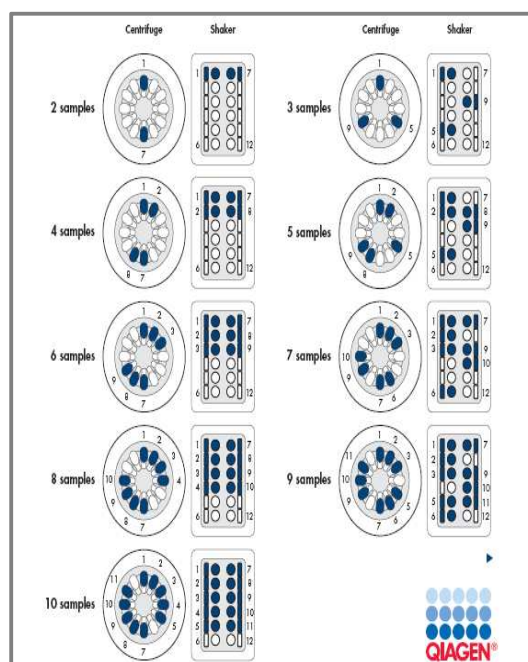
pipeta de 200 μ L.

- Poner en los cubiletes las columnas de silicagel y los eppendorf de 1,5 mL (donde finalmente obtendremos la muestra), rotulados con el número de la muestra, siguiendo el esquema siguiente:



Posición	Columna/Eppendorf	Posición tapa
1	Rneasy spin columna	L1
2	-	-
3	Eppendorf final 1.5 mL	L3

- Colocar los cubiletes en la centrífuga y los tubos de 2 mL con las muestras en el bloque agitador siguiendo el siguiente esquema:

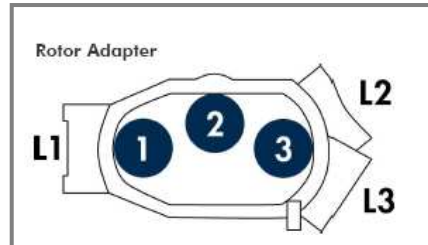


- Colocar un tubo de microcentrífuga Eppendorf con la proteasa (proteasa liofilizada + 5.5 mL del solvente de proteasa en alícuotas de 400 µL) en la posición A de la bandeja de accesorios, situada al lado de las puntas.
 - Verificar que haya puntas suficientes (1000 y 200 µL).
 - Colocar las botellas de los reactivos necesarios, sin tapa, en el soporte de reactivos, en el siguiente orden:
 - 1. Nada
 - 2. Tampón AL
 - 3. Etanol absoluto
 - 4. Tampón AW1 (95 mL AW1 concentrado + 125 mL etanol absoluto)
 - 5. Tampón AW2 (66 mL AW2 concentrado + 160 mL etanol absoluto)
 - 6. Agua libre de RNAsas y Dnasas
 - Cerrar la puerta.
 - Poner en marcha el QIAcube.
 - Seleccionar el programa “QIAamp DNA blood”.
 - Esperar que el QIAcube finalice todo el procedimiento.
 - Retirar los cubiletes y las muestras, siguiendo el orden anterior.
 - Conservar los eppendorf de 1,5 mL con el ADN.
 - Tirar todo el fungible (cubiletes, columnas de silicagel y tubos de 2 mL).
 - Leer las concentraciones de las muestras en el nanodrop. Si la segunda ratio 260/230 es < a 1, la muestra se volverá a pasar por el QIAcube, para sacar las impurezas que hayan quedado.
- Documentación de referencia: instrucciones proporcionadas por la casa comercial QIAGEN, Izaa (Protocol Sheet, QIAcube quick-star guide y QIAcube installation guide).

4.3.3.3. Extracción de ácido ribonucleico (ARN) mediante QIAcube Trizol

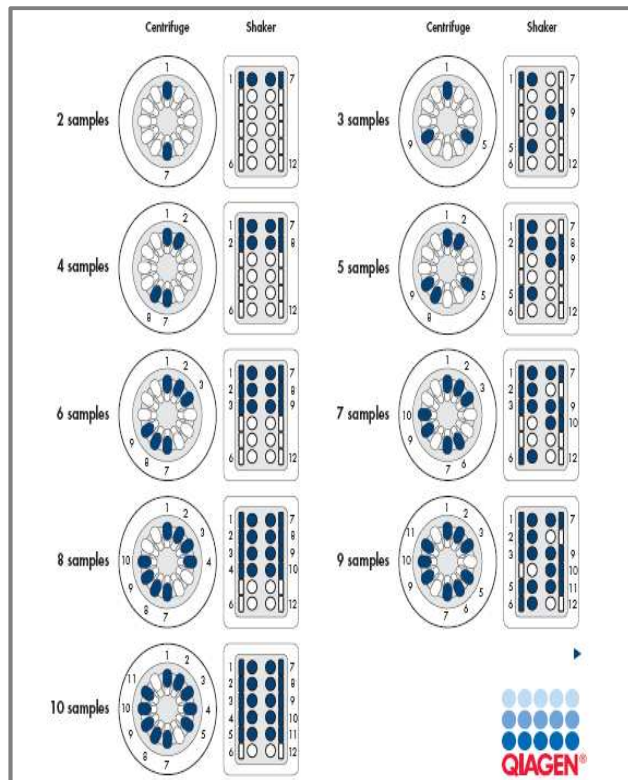
- Encender la centrífuga para que baje a 4°C.
- Clavar en hielo las muestras de células resuspendidas en una solución estabilizadora de ácidos nucleicos (Trizol) conservadas en un tubo de 2 mL a -20°C (almacenamiento corto) y a -80°C (almacenamiento a largo plazo) y esperar que se descongelen. Seguidamente, homogeneizar con la pipeta de 1000 µL.
- Preparar un tubo de 1,5 y de 2 mL para cada muestra (rotulados con el número de la muestra correspondiente). Añadir un control negativo con 500 µL de agua libre de RNAsas.
- Poner, en la campana de gases, 200 µL de cloroformo en cada tubo de microcentrífuga y agitar vigorosamente (aproximadamente 15 seg).
- Volver a clavar en hielo e incubar durante 5 min.

- Centrifugar a 11400 rpm a 4°C durante 10 min.
- Transferir la fase acuosa (aproximadamente 500 µL) al tubo de 2 mL.
- Poner en los cubiletes, las columnas de silicagel y los tubos de microcentrífuga de 1,5 mL, rotulados con el número de la muestra, según el siguiente esquema:



Posición	Columna/Eppendorf	Posición tapa
1	Rneasy spin column	L1
2	-	-
3	Eppendorf final 1.5 mL	L3

- Poner en marcha el QIACube.
- Seleccionar el protocolo “ RNA Lipid”.
- Abrir la puerta.
- Colocar los cubiletes en la centrífuga y los tubos de 2 mL con la fase acuosa en el bloque agitador, según el siguiente esquema:



- Verificar que hay pipetas suficientes (1000 μ L).
- Colocar las botellas de los reactivos necesarios (sin tapa) en el soporte de reactivos, según el siguiente orden:

- 1. Nada
- 2. Etanol 70% (70 mL Etanol absolut + 30 mL agua destilada)
- 3. Nada
- 4. Tampón RW1
- 5. Tampón RPE
- 6. Agua libre de RNasas



- Cerrar la puerta.
- Poner en marcha el QIAcube y esperar a que finalice todo el procedimiento.
- Retirar los cubiletes y las muestras en el mismo orden en que se han introducido en la máquina.
- Conservar los eppendorf de 1,5 mL con el ARN.
- Tirar todo el fungible (cubiletes, columnas de silicagel y tubos de 2 mL).
- Control interno: la integridad del ARN se puede analizar en un gel de agarosa al 1%, después de ser sometido a una electroforesis. Se cargan 2 μ L de muestra y 2 μ L del tampón de carga en el gel de agarosa y se somete a un campo de electrones de 80-100 V durante 15 min, en un medio salino (por ejemplo TBE 1x). La imagen óptima del ARN son dos bandas que

corresponden al ARN ribosómico 28S y 18S, que se podrán ver después de una tinción con SYBR Safe (intercalante de ácidos nucleicos) bajo la luz ultravioleta. La imagen se imprime y se adjunta a la hoja de trabajo.

- Concentración de ARN: se colocan 2 μL de ARN en el nanoespectrofotómetro y, una vez finalizado el proceso, se obtiene una tabla con la concentración ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$), ratio y lectura a 260 y 280.

Documentación de referencia: instrucciones proporcionadas por la casa comercial QIAGEN, Izasa (Protocol Sheet, QIAcube quick-star guide y QIAcube installation guide).

4.3.3.4. Técnica de Retrotranscripción (RT)

- Añadir en un tubo de microcentrífuga (0,2 mL) los siguientes reactivos:

- Random Primers 50-250 ng: 2 μL
- dNTP Mix 10 mM: 2 μL
- [RNA]: 1 μg (PCR cualitativa) o 4 μg (PCR cuantitativa)
- Agua destilada hasta 12 μL .

- Calentar a 65°C durante 5 min y clavar rápidamente en hielo.

- Centrifugar y añadir:

- Tampón 5X: 4 μL
- DTT 0,1 M: 2 μL
- Rnasa OUT (40 unidades/ μL): 1 μL

- Incubar a 37°C durante 2 min.

- Añadir 1 μL de MMLV-RT (200 U) e incubar a 25°C durante 10 min.

- Incubar a 37°C durante 50 min.

- Inactivar la reacción por calor a 70°C durante 15 min.

- Control interno: se añade a las muestras a estudio, un control negativo, es decir, se añaden todos los reactivos necesarios para realizar la RT excepto el RNA, para descartar la presencia de algún reactivo contaminado.

- Control del proceso: para comprobar si la RT ha salido correctamente y hemos obtenido un ADNc de calidad, se amplifica un gen endógeno mediante PCR. El gen endógeno utilizado es el gen *ABL*, por tratarse de un gen que se expresa tanto en muestras patológicas como normales.

Para esta PCR añadiremos en un microtubo de 0,2 mL:

- ADNc: 3 μL
- Tampón PCR 10X 5 μL

- MgCl₂ 50 mM: 1,5 µL
- dNTPs 10 mM: 1 µL
- Primer Forward PH1: 1,25 µL
- Primer Reverse PH7: 1,25 µL
- Taq Polimerasa 5 U/µL: 0,4 µL
- Agua destilada; 36,6 µL

Las condiciones de la reacción de PCR, en el termociclador, son las siguientes:

- 94°C, 5 min
- 40 ciclos: 94°C, 30 seg
60°C, 30 seg
72°C, 30 seg
- 72°C, 7 min
- 8°C, indefinidamente

El producto de la PCR se visualiza en un gel de agarosa al 2%.

Documentación de referencia: instrucciones proporcionadas por la casa comercial Invitrogen.

4.3.3.5 Técnica de PCR para detectar las duplicaciones internas en tándem del gen *FLT3* y establecer la ratio duplicado/germinal (wt) mediante el análisis de fragmentos (GeneScan) a partir del aparato ABIprism 3130

- Se parte del ADN obtenido a partir de la técnica de extracción del ADN mediante QIACube, o bien del ADNc obtenido a partir de la técnica de RT, conservados a -20°C o -80°C.

- Se añade a cada microtubo de PCR de 0,2mL:

- ADN (100-300ng) o ADNc (1 µg): 1 µL
- Tampón PCR 10X: 5 µL
- MgCl₂ 50mM: 1,5 µL
- dNTPs 10mM: 1 µL
- Primer Forward FLT1-FAM (12,5 µM): 1,25 µL
5'-FAM-CAATTTAGGTATGAAAGCC-3'
- Primer Reverse FLT4 (12,5 µM): 1,25 µL
5'-GTACCTTTCAGCATTTTGAC-3'
- Taq Polimerasa 5U/ µL: 0,4 µL
- Agua destilada: 38,6 µL

- Las condiciones de la reacción de PCR, en el termociclador, son las siguientes:

- 94°C, 5 min

- 35 ciclos: 94°C, 45 seg
56°C, 45 seg
72°C, 45 seg
- 72°C, 7 min
- 8°C, indefinidamente

- Junto a las muestras a estudio, se analiza siempre una muestra mutada y un control negativo para asegurar que la PCR ha ido bien y no han habido contaminaciones.

- Expresión de resultados: para poder visualizar la amplificación llevada a cabo por la PCR, hay que preparar las muestras para poderlas estudiar mediante un secuenciador ABIPrism 3130:

- Diluir el producto de la PCR (normalmente 1/200).
- Añadir 1 µL del producto diluido en otro tubo, diferente para cada muestra.
- Preparar una MasterMix para todas las muestras (10 µL de formamida desionizada y 0,1 µL del marcador LIZ para cada muestra).
- Añadir 10 µL de la MasterMix en cada uno de los tubos con 1 µL de muestra.
- Mezclar bien la muestra con el vórtex.
- Poner los tubos a 95°C, durante 2 min (desnaturalización).
- Colocar las muestras en la placa de 96 pozos.
- Correr las muestras en el secuenciador.

La medida de las bandas esperadas son:

- *FLT3* germinal: una banda de 333pb para ADN y de 241pb para ADNc.
- *FLT3* duplicado: la banda anterior, de 333pb ó 241pb, más una segunda banda de mayor tamaño. En algunos casos puede verse más de una duplicación. En estos casos, se suma el área bajo la curva de todos los fragmentos portadores de la duplicación y, el resultado de esta suma, será el área bajo la curva del alelo mutado. Ocasionalmente, nos podemos encontrar algún caso en que estén duplicados los dos alelos y por tanto no podamos ver la banda de 333/241pb.

Las muestras en las que se detecte la duplicación, se volverán a analizar mediante una nueva PCR para poder establecer con mayor exactitud la ratio entre el alelo mutado y el germinal.

Esta ratio se calcula de acuerdo con la fórmula:

$$\text{Área bajo la curva (alelo mutado)} / \text{Área bajo la curva (alelo germinal)}$$

Se considerará no mutado, cuando el resultado sea inferior a 0,05.

Documentación de referencia: Nakao et al (Leukemia 1996), Thiede et al (Blood 2002).

4.3.3.6. Técnica de PCR para detectar mutaciones en el gen de la *NPM1*

- Se parte del ADN obtenido a partir de la técnica de extracción del ADN mediante QIAcube, o bien del ADNc obtenido a partir de la técnica de retrotranscripción, conservados a -20°C o -80°C.

- Se añade a cada microtubo de PCR de 0,2 mL:

- ADN (100-300 ng) o ADNc (1 µg): 0,5 µL
- Tampón PCR 10X: 5 µL
- MgCl₂ 50 mM: 1,5 µL
- dNTPs 10 mM: 1 µL
- Primer Forward NPM-FAM (10 µM): 1,25 µL
5'-FAM-CTTAACCACATTTCTTTTTTTTTTTTCCAG-3'
- Primer Reverse NPM (10 µM): 1,25 µL
5'-GGACAACATTTATCAAACACGGTAG-3'
- Taq Polimerasa 5U/µL: 0,4µL
- Agua destilada: 39,1 µL

- Las condiciones de la reacción de PCR, en el termociclador, son las siguientes:

- 94°C, 5 min
- 28 ciclos: 95°C, 45 seg
62°C, 45 seg
72°C, 45 seg
- 72°C, 15 min
- 8°C, indefinidamente

- Junto a las muestras a estudio, se analiza siempre una muestra mutada y un control negativo para asegurar que la PCR ha ido bien y no han habido contaminaciones.

- Expresión de resultados: para poder visualizar la amplificación llevada a cabo por la PCR, hay que preparar las muestras para poderlas estudiar mediante un secuenciador ABIPrism 3130:

- Diluir el producto de la PCR (normalmente 1/50).
- Añadir 1 µL del producto diluido en otro tubo, diferente para cada muestra.
- Preparar una MasterMix para todas las muestras (10 µL de formamida desionizada y 0,1 µL del marcador LIZ por cada muestra).
- Añadir 10 µL de la MasterMix en cada uno de los tubos con 1 µL de muestra.
- Mezclar bien la muestra con el vórtex.
- Poner los tubos a 95°C, durante 2 min (desnaturalización).
- Colocar las muestras en la placa de 96 pozos.

- Correr las muestras en el secuenciador.

La medida de las bandas son:

- *NPM1* germinal: pico de 199 pb.
- *NPM1* mutada: pico de 199 pb más un segundo pico de 203 pb (la inserción de 4 pb es la mutación más frecuente del gen *NPM1*).

Documentación de referencia: Gale et al (Blood 2008).

4.3.3.7. Técnica de PCR para detectar la mutación puntual D835 del gen *FLT3*

- Se parte del ADN obtenido a partir de la técnica de extracción del ADN mediante QIAcube, conservado a -20°C o -80°C.

- En cada microtubo de PCR de 0,2 mL se añade:

- ADN (100-300 ng): 0,5 µL
- Tampón PCR 10X: 5 µL
- MgCl₂ 50 mM: 1,5 µL
- dNTPs 10 mM: 1 µL
- Primer Forward D835-FAM (10 µM): 1,25 µL
5'-FAM-CCGCCAGGAACGTGCTTG-3'
- Taq Primer Reverse D835 (10 µM): 1,25 µL
5'-GCAGCCTCACATTGCCCC-3'
- Polimerasa 5U/µL: 0,4 µL
- Agua destilada: 39,1 µL

- Las condiciones de la reacción de PCR, en el termociclador, son las siguientes:

- 94°C, 5 min
- 35 ciclos: 95°C, 45 seg
63°C, 45 seg
72°C, 45 seg
- 72°C, 15 min
- 8°C, indefinidamente

- Junto a las muestras a estudio, se analiza siempre una muestra mutada y un control negativo para asegurar que la PCR ha ido bien y no han habido contaminaciones.

- El tamaño esperado de esta PCR es de 114 pb. Después de la PCR se procede a la digestión del producto de la PCR con el enzima de restricción EcoRV, durante una hora a 37°C. EcoRV es una enzima de restricción que sólo cortará el producto de PCR si el ADN está en estado germinal (secuencia diana presente). Para cada muestra añadiremos:

- Buffer 10X del enzima de restricción: 2µL
 - Enzima de restricción EcoRV (15U/µL): 0,7µL
 - Agua destilada: 14,8µL
 - ADN: 2,5µL
- Expresión de resultados: para poder visualizar la amplificación llevada a cabo por la PCR y su posterior digestión, hay que preparar las muestras para poderlas estudiar mediante un secuenciador ABIPrism 3130:
- Diluir el producto de la PCR digerido (normalmente 1/20).
 - Añadir 1 µL del producto diluido en otro tubo, diferente para cada muestra.
 - Preparar una MasterMix para todas las muestras (10 µL de formamida desionizada y 0,1 µL del marcador LIZ por cada muestra).
 - Añadir 10 µL de la MasterMix en cada uno de los tubos con 1 µL de muestra.
 - Mezclar bien la muestra con el vórtex.
 - Poner los tubos a 95°C, durante 2 min (desnaturalización).
 - Colocar las muestras en la placa de 96 pozos.
 - Correr las muestras en el secuenciador.

La medida de las bandas son:

- *FLT3* germinal: fragmento de 68 y 46 pb (en realidad sólo se ve el pico de 68 pb, por ser el extremo unido al cebador marcado).
- *FLT3* mutado: fragmento de 114 pb (no actúa el enzima de restricción) + 68 pb (correspondiente al alelo no mutado).

Documentación de referencia: Yamamoto et al (Blood 2001).

4.3.3.8. Técnica de PCR para detectar las mutaciones del gen *CEBPA*

- Se parte del ADNc obtenido a partir de la técnica de retrotranscripción, conservado a -20°C o -80°C.
- Para cada una de las regiones a estudiar, se añade a cada microtubo de PCR de 0,2 mL:

1. Región 1:

- ADNc: 1 µL
- Taq PCR MM: 12,5 µL
- 5X Q-Solution: 1,25 µL
- Primer Forward 1F-FAM (10 µM): 0,5 µL
5'-FAM-GGCGAGCAGGGTCTCCGGGT-3'
- Primer Reverse 1R(10 µM): 0,5 µL
5'-TGTGCTGGAACAGGTCGGCCA-3'

- Agua destilada: 9,25 µL

2. Región 2:

- ADNc: 1 µL
- Taq PCR MM: 12,5 µL
- 5X Q-Solution: 1,25 µL
- Primer Forward 2F-HEX (10 µM): 2 µL
5'-HEX-GCTGGGCGGCATCTGCGA-3'
- Primer Reverse 2R(10 µM): 2 µL
5'-CCCCGACGCGCTCGTACAGG-3'
- Agua destilada: 6,25 µL

3. Región 3:

- ADNc: 1 µL
- Taq PCR MM: 12,5 µL
- 5X Q-Solution: 1,25 µL
- Primer Forward 3F-FAM (10 µM): 0,8 µL
5'-FAM-CCGGCTACCTGGACGGCAGG-3'
- Primer Reverse 3R(10 µM): 0,8 µL
5'-CGTTGCTGTTCTTGTCCACCGACTTCTT-3'
- Agua destilada: 8,65 µL

4. Región 4:

- ADNc: 1 µL
- Taq PCR MM: 12,5 µL
- 5X Q-Solution: 1,25 µL
- Primer Forward 4F-HEX (10 µM): 0,2 µL
5'-HEX-CTCGGTGCCCGCCGCCT-3'
- Primer Reverse 4R(10 µM): 0,2 µL
5'-AACCACTCCCTGGGTCCCCGC-3'
- Agua destilada: 9,85 µL

- Las condiciones de la reacción de PCR en el termociclador, para todas las regiones, son las siguientes:

- 95°C, 15 min
- 36 ciclos: 95°C, 60 seg
70°C, 120 seg
70°C, 180 seg

- 72°C, 20 min
- 8°C, indefinidamente

- Junto a las muestras a estudio, se analiza siempre una muestra mutada y un control negativo para asegurar que la PCR ha ido bien y no han habido contaminaciones.

- Expresión de resultados: para poder visualizar la amplificación llevada a cabo por la PCR, hay que preparar las muestras para poderlas estudiar mediante un secuenciador ABIPrism 3130:

- Diluir el producto de la PCR (normalmente 1/100).
- Añadir 1 µL del producto diluido en otro tubo, diferente para cada muestra.
- Preparar una MasterMix para todas las muestras (10 µL de formamida desionizada y 0,1 µL del marcador LIZ por cada muestra).
- Añadir 10 µL de la MasterMix en cada uno de los tubos con 1 µL de muestra.
- Mezclar bien la muestra con el vórtex.
- Poner los tubos a 95°C, durante 2 min (desnaturalización).
- Colocar las muestras en la placa de 96 pozos.
- Correr las muestras en el secuenciador.

La medida de las bandas esperadas en estado germinal son:

- Región 1: 331pb
- Región 2: 290pb
- Región 3: 432pb
- Región 4: 401pb

En estado mutado se espera cualquier otro tamaño (inserción/delección) más/menos la banda del alelo germinal.

Documentación de referencia: Benthous et al (Br J Hematol 2008), Fuster et al (Ann Hematol 2011).

4.3.4. Análisis estadístico

Se ha realizado un análisis descriptivo de las variables demográficas y clínicas de la serie global, en el momento del diagnóstico de la LAM, así como de las características citogenéticas en el momento del diagnóstico de la LAM inicial y de la LAM post-TPH.

La comparación de las características clínicas y citogenéticas de la LAM inicial, entre los pacientes que presentan una LAM post-TPH y los que no la presentan, se ha realizado mediante la **prueba Chi-cuadrado** o el **test exacto de Fisher**, para las variables categóricas, y mediante las pruebas **T-Student** o **H de Kruskal-Wallis**, para las variables cuantitativas.

La comparación de las características citogenéticas, entre las LAM *de novo* y las s-LAM/t-LAM al diagnóstico, y entre las LAM post-TPH y las LAM *de novo* y las s-LAM/t-LAM al diagnóstico, se ha realizado mediante las pruebas **T-Student** o **H de Kruskal-Wallis**.

La comparación de las características citogenéticas de los pacientes que presentan una LAM post-TPH, en el momento de la LAM inicial y en el momento de la aparición de la LAM post-TPH, se ha realizado mediante la **prueba de McNemar** para datos apareados.

El tiempo de supervivencia global (SG) se calculó como el tiempo transcurrido desde la fecha del trasplante hasta la fecha de último control o muerte. La incidencia de LAM post-TPH (IR) se definió como el tiempo transcurrido entre la fecha del trasplante y la de la aparición de la LAM post-TPH. La mortalidad no debida a recaída (MNDR) se calculó desde la fecha del trasplante hasta la fecha de la muerte sin previa evidencia de enfermedad. Para el análisis de la IR y la MNDR los pacientes vivos libres de LAM post-TPH se consideraron censurados en la fecha del último seguimiento y los eventos de recaída y muerte no debida a LAM post-TPH, se consideraron competitivos. Las curvas para la supervivencia global se generaron mediante el **método de Kaplan-Meier** y se realizaron las comparaciones pertinentes con la **prueba de log-rank**. En el caso de la IR y de la MNDR se llevó a cabo un **análisis de riesgos competitivos** y las comparaciones se realizaron mediante el **test de Gray**.

Se consideró significación estadística una $p < 0,05$.

El análisis estadístico se llevó a cabo con el software SPSS v.15.0. (SPSS Inc, Chicago, IL) y R Commander v.1.29.

5. RESULTADOS

5.1. Características clínicas

Entre febrero del año 2000 y junio del 2014 se han transplantado en la Unidad de Transplante Josep Carreras del Servicio de Hematología Clínica del Institut Català d'Oncologia-Hospital Germans Trias i Pujol, 151 pacientes diagnosticados de LAM. Ochenta pacientes eran mujeres (53%) y 71 hombres (47%), con una mediana de edad en el momento del diagnóstico de 48 años (extremos 15-69). Ciento once casos (73%) presentaban una LAM *de novo*, 34 (23%) una LAM secundaria y 6 (4%) una LAM relacionada con el tratamiento. En la tabla 21, se recogen los diagnósticos de los 151 pacientes incluidos en el estudio, según la clasificación de la OMS del 2008.

Ciento veinticinco pacientes (83%) se transplantaron en primera remisión completa, 19 (13%) en segunda o ulterior remisión completa y 7 (4%) con enfermedad activa. Cincuenta y siete pacientes (37%) recibieron un auto-TPH, 53 (36%) un alo-TPH-DE, 22 (15%) un alo-TPH-DNE, 17 (11%) un TPH-SCU y 2 (1%) un TPH-singénico. La sangre periférica fue la fuente de los progenitores hematopoyéticos en 130 pacientes (86%), la sangre de cordón umbilical en 17 (11%) y la médula ósea en 4 (3%). Ochenta y nueve pacientes (59%) recibieron como tratamiento de acondicionamiento ciclofosfamida e ICT, 31 (21%) busulfán y fludarabina, 10 (6%) timoglobulina, tiotepa, fludarabina y busulfán, 10 (6%) busulfán y ciclofosfamida, 6 (4%) tiotepa, fludarabina y busulfán y 5 (3%) melfalán. En la tabla 21 se recogen las profilaxis para la EICH realizadas por los 92 pacientes que recibieron un alo-TPH. Cuarenta y cuatro pacientes (48%) presentaron una EICH. Cincuenta y ocho pacientes (38%) desarrollaron una LAM post-TPH con una mediana de tiempo desde el diagnóstico de 1,11 años [extremos 0,39-7,79] y una mediana de tiempo desde el TPH de 0,59 años [extremos 0,05-7,48].

Tabla 21. Descriptiva global de todos los pacientes trasplantados por una LAM (n=151).

Edad (mediana [extremos])	48 [15-69]
Sexo (hombre/mujer)	71/80
Tipo de LAM	
LAM de novo	111 (73%)
LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	35 (23%)
Neoplasia mieloide relacionada con el tratamiento	6 (4%)
Clasificación WHO	
LAM con t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>	4 (3%)
LAM con inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBF6/MYH11</i>	8 (5%)
LA promielocítica con t(15;17)(q22;q12); <i>PML/RARα</i>	2 (1%)
LAM con t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i>	2 (1%)
LAM con mutación de <i>NPM1</i>	16 (11%)
LAM con mutación de <i>CEBPA</i>	1 (1%)

LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	35 (23%)	
Neoplasias mieloides relacionadas con tratamiento	5 (%)	
LAM mínimamente diferenciada	10 (7%)	
LAM sin maduración	10 (7%)	
LAM con maduración	19 (12%)	
LA mielomonocítica	21 (13%)	
LA monoblástica y monocítica	13 (9%)	
LA eritroblástica	3 (2%)	
LA megacarioblástica	1 (1%)	
Panmielosis aguda con mielofibrosis	1 (1%)	
Fase de la enfermedad en el momento del TPH		
Primera remisión completa	125 (83%)	
Segunda o ulterior remisión completa	19 (13%)	
Enfermedad activa	7 (4%)	
Fuente de progenitores hematopoyéticos		
Sangre periférica	130 (86%)	
Médula ósea	4 (3%)	
Sangre de cordón umbilical	17 (11%)	
Tipo de TPH		
Autogénico	57 (37%)	
Alogénico de donante emparentado	Mieloablativo	25 (17%)
	No mieloablativo	28 (19%)
Alogénico de donante no emparentado	Mieloablativo	16 (11%)
	No mieloablativo	6 (4%)
Sangre de cordón umbilical	17 (11%)	
Singénico	2 (1%)	
Acondicionamiento		
Busulfán + Ciclofosfamida	10 (6%)	
Busulfán + Fludarabina	31 (21%)	
Melfalán	5 (3%)	
Ciclofosfamida + Irradiación Corporal Total	89 (60%)	
Timoglobulina + Tiotepa + Fludarabina + Busulfán	10 (6%)	
Tiotepa + Fludarabina + Busulfan	6 (4%)	
Profilaxis EICH		
Ciclosporina + Metotrexato	44 (49%)	
Ciclosporina + Prednisona	22 (24%)	
Ciclosporina + Alemtuzumab	4 (4%)	
Ciclosporina + Metotrexato + Timoglobulina	11 (12%)	
Ciclosporina + Micofenolato	4 (4%)	
Ciclosporina + Metotrexato + Micofenolato	1 (1%)	
Ciclosporina + Prednisona + Timoglobulina	2 (2%)	
Ciclosporina + Micofenolato + Timoglobulina	4 (4%)	
EICH		
Sí	44/92 (48%)	
No	48/92 (52%)	

5.1.1. Comparación de las características clínicas entre los pacientes que presentaron una LAM *de novo* y una s-LAM/t-LAM.

Cuando comparamos las características clínicas entre los pacientes que presentan una LAM *de novo* y los que presentan una s-LAM/t-LAM, observamos que los pacientes con s-LAM/t-LAM presentaron de forma estadísticamente significativa una edad mediana superior (57 vs 47 años, $p=0,018$). También se observaron diferencias estadísticamente significativas en función del tipo de TPH realizado, de forma que en los pacientes con LAM *de novo* se realizaron un mayor número de auto-TPH (42% vs 25%, $p=0,015$) y en las s-LAM/t-LAM un mayor número de alo-TPH (73% vs 57%, $p=0,015$). Respecto al tratamiento de acondicionamiento, los pacientes con s-LAM/t-LAM se acondicionaron, de forma estadísticamente significativa, con más regímenes que incluyen agentes alquilantes (melfalán y busulfán) sin ICT (62% vs 33%, $p=0,004$), mientras que los pacientes con LAM *de novo* se acondicionaron más frecuentemente con cicofosfamida e ICT (67% vs 38%, $p=0,004$). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en función de la fase de la enfermedad en el momento del TPH, del número de ciclos de quimioterapia recibidos previamente al TPH, de la profilaxis de la EICH recibida (tratamiento inmunodepresor vs agentes alquilantes y tratamiento inmunodepresor), de la presencia de EICH, del desarrollo a lo largo de la evolución de la enfermedad de una LAM post-TPH, del tiempo desde el diagnóstico hasta el desarrollo de la LAM post-TPH ni del tiempo desde el TPH hasta el desarrollo de la LAM post-TPH (Tabla22).

Tabla 22. Características clínicas de las LAM *de novo* y las s-LAM/t-LAM.

	LAM <i>de novo</i> (n=111)	s-LAM/t-LAM (n=40)	P	
Edad (mediana [extremos])	47 [16-69]	57 [14-50]	0,018	
Sexo (hombre/mujer)	49/62	22/18	0,238	
Fase de la enfermedad en el momento del TPH				
Primera remisión completa	93 (84%)	32 (80%)	0,602	
Segunda o ulterior remisión completa	14 (13%)	5 (13%)		
Enfermedad activa	4 (3%)	3 (7%)		
Nº de ciclos de quimioterapia previos al TPH				
≤2 ciclos de quimioterapia	81 (73%)	30 (75%)	0,803	
≥3 ciclos de quimioterapia	30 (27%)	10 (25%)		
Tipo de TPH				
Autogénico	47 (42%)	10 (25%)	0,015	
Alogénico de donante emparentado	Mieloablativo	19 (17%)		6 (15%)
	No mieloablativo	17 (15%)		11 (28%)
Alogénico de donante no emparentado	Mieloablativo	12 (11%)		4 (10%)
	No mieloablativo	1 (1%)		5 (13%)
Sangre de cordón umbilical	14 (13%)	3 (7%)		
Singénico	1 (1%)	1 (2%)		
Acondicionamiento				
Busulfán + Ciclofosfamida	6 (5%)	4 (10%)	*0,004	
Busulfán + Fludarabina	15 (14%)	16 (40%)		
Melfalán	3 (3%)	2 (5%)		
Ciclofosfamida + Irradiación Corporal Total	74 (67%)	15 (38%)		
Timoglobulina + Tiotepa + Fludarabina + Busulfán	8 (7%)	2 (5%)		
Tiotepa + Fludarabina + Busulfan	5 (4%)	1 (2%)		
Profilaxis EICH				
Ciclosporina + Metotrexato	29/63 (47%)	14/29 (49%)	**0,535	
Ciclosporina + Prednisona	17/63 (27%)	5/29 (18%)		
Ciclosporina + Alemtuzumab	1/63 (1%)	3/29 (10%)		
Ciclosporina + Metotrexato + Timoglobulina	8/63 (13%)	4/29 (14%)		
Ciclosporina + Micofenolato	4/63 (6%)	1/29 (3%)		
Ciclosporina + Metotrexato + Micofenolato	0/63 (0%)	1/29 (3%)		
Ciclosporina + Prednisona + Timoglobulina	2/63 (3%)	0/29 (0%)		
Ciclosporina + Micofenolato + Timoglobulina	2/63 (3%)	1/29 (3%)		
EICH				
Sí	28/63 (44%)	16/29 (55%)	0,339	
No	35/63(56%)	13/29 (45%)		
LAM post-TPH				
Si	41/111 (37%)	17/40 (42%)	0,535	
No	70/111 (63%)	23/40 (58%)		
Tiempo desde el diagnóstico hasta la LAM post-TPH (años), mediana [extremos]	1,42 [0,45-7,79]	1,05 [0,39-6,78]	0,699	
Tiempo desde el TPH hasta la LAM post-TPH (años), mediana [extremos]	0,49 [0,08-7,48]	0,65 [0,05-5,05]	0,570	

* Terapias que incluyen agentes alquilantes vs ciclofosfamida + ICT

** Tratamiento inmunodepresor vs agentes alquilantes + tratamiento inmunodepresor

5.1.2. Comparación de las características clínicas, al diagnóstico, entre los pacientes que no presentaron una LAM post-TPH y los que sí la presentaron.

Cuando comparamos las características clínicas entre los pacientes que presentaron una LAM post-TPH y los que no, observamos que los pacientes que desarrollaron una LAM post-TPH presentan, de forma estadísticamente significativa, más LAM con cambios relacionados con mielodisplasia (32% vs 18%, p=0,024). También se observaron diferencias estadísticamente significativas en función del tipo de TPH recibido, de forma que en los pacientes que posteriormente presentaron una LAM post-TPH se han realizado un mayor número de auto-TPH (57% vs 26%, p=0,02). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en función de la edad, del sexo, de la fase de la enfermedad en el momento del TPH, del número de ciclos de quimioterapia recibidos previamente al TPH, del acondicionamiento recibido, de la profilaxis de la EICH recibida, ni en función de la presencia de EICH (Tabla 23).

Tabla 23. Características clínicas al diagnóstico de los pacientes que no presentaron una LAM post-TPH y los que sí la presentaron.

	Sin LAM post-TPH (n=93)	LAM post-TPH (n=58)	P
Edad (mediana [extremos])	47 [15-69]	53 [18-69]	0,109
Sexo (hombre/mujer)	41/52	30/28	0,062
Tipo de LAM			
LAM <i>de novo</i>	71 (76%)	40 (68%)	0,024
LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	16 (17%)	18 (32%)	
Neoplasia mielode relacionada con el tratamiento	6 (6%)	0 (0%)	
Clasificación OMS			
LAM con t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>	4 (4%)	0 (0%)	NA
LAM con inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBF6/MYH11</i>	3 (3%)	5 (9%)	
LA promielocítica con t(15;17)(q22;q12); <i>PML/RARα</i>	1 (1%)	1 (2%)	
LAM con t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i>	2 (2%)	0 (0%)	
LAM con mutación de <i>NPM1</i>	14 (15%)	2 (3%)	
LAM con mutación de <i>CEBPA</i>	1 (1%)	0 (0%)	
LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	17 (18%)	18 (32%)	
Neoplasias mieloides relacionadas con el tratamiento	5 (5%)	0 (0%)	
LAM mínimamente diferenciada	4 (4%)	6 (10%)	
LAM sin maduración	8 (9%)	2 (3%)	
LAM con maduración	8 (9%)	11 (19%)	
LA mielomonocítica	15 (16%)	6 (10%)	
LA monoblástica y monocítica	9 (10%)	4 (7%)	
LA eritroblástica	1 (1%)	2 (3%)	
LA megacarioblástica	0 (0%)	1 (2%)	
Panmielosis aguda con mielofibrosis	1 (1%)	0 (0%)	

	Sin LAM post-TPH (n=93)	LAM post-TPH (n=58)	P	
Fase de la enfermedad en el momento del TPH				
Primera remisión completa	78 (84%)	47 (81%)	0,609	
Segunda o ulterior remisión completa	12 (13%)	7 (12%)		
Enfermedad activa	3 (3%)	4 (7%)		
Nº de ciclos de quimioterapia previos al TPH				
≤2 ciclos de quimioterapia	70/93 (75%)	41/58 (71%)	0,535	
≥3 ciclos de quimioterapia	23/93 (25%)	17/58 (29%)		
Tipo de TPH				
Autogénico	24 (26%)	33 (57%)	0,002	
Alogénico de donante emparentado	Mieloablatoivo	21 (23%)		4 (7%)
	No mieloablatoivo	17 (18%)		11 (19%)
Alogénico de donante no emparentado	Mieloablatoivo	13 (14%)		3 (5%)
	No mieloablatoivo	4 (4%)		2 (3%)
Sangre de cordón umbilical	13 (14%)	4 (7%)		
Singénico	1 (1%)	1 (2%)		
Acondicionamiento				
Busulfán + Ciclofosfamida	4 (4%)	6 (10%)	*0,782	
Busulfán + Fludarabina	20 (22%)	11 (19%)		
Melfalán	3 (3%)	2 (3%)		
Ciclofosfamida + Irradiación Corporal Total	54 (58%)	35 (61%)		
Timoglobulina + Tiotepa + Fludarabina + Busulfán	7 (8%)	3 (5%)		
Tiotepa + Fludarabina + Busulfan	5 (5%)	1 (2%)		
Profilaxis EICH				
Ciclosporina + Metotrexato	33/68 (49%)	10/24 (42%)	**0,514	
Ciclosporina + Prednisona	16/68 (24%)	6/24 (25%)		
Ciclosporina + Alemtuzumab	3/68 (4%)	1/24 (4%)		
Ciclosporina + Metotrexato + Timoglobulina	8/68 (12%)	3/24 (12,5%)		
Ciclosporina + Micofenolato	2/68 (3%)	3/24 (12,5%)		
Ciclosporina + Metotrexato + Micofenolato	1/68 (1%)	0/24 (0%)		
Ciclosporina + Prednisona + Timoglobulina	1/68 (1%)	1/24 (4%)		
Ciclosporina + Micofenolato + Timoglobulina	4/68 (6%)	0/24 (0%)		
EICH				
Sí	35/68 (51%)	9/24 (38%)	0,239	
No	33/68 (49%)	15/24 (62%)		

* Terapias que incluyen agentes alquilantes vs ciclofosfamida + ICT

** Tratamiento inmunodepresor vs agentes alquilantes + tratamiento inmunodepresor

5.2. Características citogenéticas y moleculares

5.2.1. Características citogenéticas y moleculares en el momento del diagnóstico de la LAM inicial (serie global).

En el momento del diagnóstico de la LAM, se realizó el estudio citogenético convencional a todos los pacientes. Setenta y ocho pacientes (52%) presentaron un cariotipo normal, 67 (44%) un cariotipo alterado y en 6 pacientes (4%) no se obtuvo crecimiento suficiente para realizar el estudio citogenético completo. En la tabla 24 se recogen las características clínicas, morfológicas y el cariotipo de las LAM *de novo*, LAM secundarias y de las neoplasias mieloides (LAM y SND) relacionadas con el tratamiento en el momento del diagnóstico.

Según los grupos de riesgo citogenético propuestos por el MRC (Grimwade et al, 2010), 15 pacientes (10%) presentaban un pronóstico favorable, 99 (69%) un pronóstico intermedio y 31 (21%) un pronóstico adverso. Diecinueve pacientes (13%) presentaban un cariotipo monosómico y 14 (10%) un cariotipo complejo. La única LAM *de novo* con cariotipo complejo de la serie, presentaba 4 alteraciones no relacionadas, entre ellas un der(6)t(6;9)(p23;q34). Se han observado un total de 190 alteraciones citogenéticas, 36 (19%) alteraciones citogenéticas equilibradas y 154 (81%) desequilibradas. Respecto a la ploidía, 118 pacientes (81%) presentaban una pseudodiploidía, 14 (10%) una hipodiploidía, 12 (8%) una hiperdiploidía y 1 (1%) una tetraploidía. Se realizó el estudio del reordenamiento del gen *MLL*, por FISH, en 52 de las 84 LAM con cariotipo normal o sin crecimiento; en ninguna de ellas se observó el reordenamiento del gen *MLL*. Respecto a los estudios moleculares, se detectaron mutaciones en el gen de la *NPM1* en el 30% de los casos, la *FLT3*-ITD en el 29% y mutaciones puntuales del gen *FLT3* en el 15%. Las mutaciones en el gen *CEBPA* sólo se estudiaron en 7 LAM, de las 37 que presentaban un cariotipo normal, *NMP1wt* y ausencia de la *FLT3*-ITD; y se detectó la mutación en un único caso (14%) (Tabla 25).

Tabla 24. Características clínicas, morfológicas y cariotipo en el momento del diagnóstico de las LAM *de novo*, s-LAM y t-LAM.

Edad/Sexo	Clasificación WHO	Tratamiento previo al TPH	Estado previo TPH	Tipo TPH	Acondicionamiento	Cariotipo al diagnóstico
63/H	LAM con maduración	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[30]
29/M	LAM monocítica/monoblástica	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,t(9;11)(p22;q23)[16]/46,XX[3]
25/M	LAM con maduración	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[25]
35/M	LAM sin maduración	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[25]
50/H	LAM monocítica/monoblástica	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[25]
58/H	LAM mielomonocítica	CETLAM-99 (2 inducciones)	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XY[40]
59/H	LAM mínimamente diferenciada	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[20]
60/H	LAM mielomonocítica	CETLAM-99 (2 inducciones)	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	Sin crecimiento
36/M	LAM sin maduración	CETLAM-99	1ªRC	Alo-TPH-DE- selección	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,t(10;11)(q22;q23)[13]/46,XX[7]
52/M	LA eritroblástica	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[20]
63/M	LAM con inv(16)(p13.1q22)	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	48,XX,+8,inv(16)(p13q22),+22[20]
36/H	LAM monocítica/monoblástica	CETLAM-99 (2 inducciones)	1ªRP	Alo-TPH-DE	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[30]
51/H	LAM mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[30]
39/H	LAM con inv(16)(p13.1q22)	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	45,X,-Y,inv(16)(p13q22)[20]
62/M	LAM mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
29/H	LAM mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-selección	Ciclofosfamida+ICT	46,XY,t(6;9)(p21;q34)[16]/46,XY[4]
48/M	LAM sin maduración	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE	Ciclofosfamida+ICT	47,XX,+11[15]/46,XY[5]
27/M	LAM con maduración	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,add(3)(q)[3]/46,XX[17]
21/M	LAM sin maduración	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-selección	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[20]
35/H	LAM con t(8;21)(q22;q22)	CETLAM-03/ CETLAM LAMR03	2ªRC	SCU-TPH	Timoglobulina+Tiotepa+ Fludarabina+Busulfán	46,XY,t(8;21)(q22;q22)[20]
50/M	LAM con maduración	CETLAM-03	1ªRC	Singénico	Ciclofosfamida+ICT	45,X,-X,t(3;21)(q13;q22),del(8)(q22)[8]/46,XX[4]
44/H	LAM sin maduración	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-selección	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[20]
27/M	LAM con maduración	CETLAM-03 (2 inducciones)	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,del(9)(q21q34)[6]/46,XX[14]
41/H	LAM con maduración	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE selección	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[20]
16/M	LAM con t(8;21)(q22;q22)	LAM2002 (Citarabina+Idarubicina+Tenipósido) (2 inducciones)	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	45,X,-X,t(1;21;8)(p34.1;q22;q22)[16]/46,XX[6]
30/H	LAM mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE- selección	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[25]
47/M	LAM mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	SCU-TPH	Timoglobulina+Tiotepa+ Fludarabina+Busulfán	46,XX[20]
55/H	LAM mínimamente diferenciada	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[20]

H : hombre ; M : mujer ; RC:respuesta completa ; RP : respuesta parcial ; auto-TPH : trasplante autogénico ; alo-TPH-DE : trasplante alogénico de donante emparentado ; alo-TPH-DE-IR : trasplante alogénico de donante emparentado de intensidad reducida ; alo-TPH-DNE : trasplante alogénico de donante no emparentado ; alo-TPH-DNE-IR : trasplante alogénico de donante no emparentado de intensidad reducida ; SCU-TPH trasplante de células de cordón umbilical ; RDT : radioterapia ; ICT : irradiación corporal total ; Casos que posteriormente presentan una LAM post-TPH. Ver anexos.

Tabla 24. Características clínicas, morfológicas y cariotipo en el momento del diagnóstico de las LAM *de novo*, s-LAM y t-LAM.

Edad/Sexo	Clasificación WHO	Tratamiento previo al TPH	Estado previo TPH	Tipo TPH	Acondicionamiento	Cariotipo al diagnóstico
62/H	LAM sin maduración	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XY[30]
19/M	LAM mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DNE	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
43/H	LAM mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	SCU-TPH	Timoglobulina+Tiotepa+ Fludarabina+Busulfán	46,XY[30]
53/M	LAM con maduración	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,-2,+mar[5]/46,XX[15]
47/M	Panmielosis aguda con mielofibrosis	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-selección	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,inv(3)(q21q26),-7[8]/46,XX[12]
23/H	LAM monocítica/monoblástica	CETLAM-03	1ªRC	SCU-TPH	Tiotepa+Fludarabina+Busulfán	46,XY,t(9;11)(p22;q23)[20]
47/M	LAM mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	SCU-TPH	Tiotepa+Fludarabina+Busulfán	46,XX[20]
35/H	LAM mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DNE	Ciclofosfamida+ICT	47,XY,+8[20]
53/M	LAM monocítica/monoblástica	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
20/H	LAM sin maduración	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DNE	Ciclofosfamida+ICT	46,XY,add(19)(p13)[6]/46,XY[14]
46/M	LAM con maduración	CETLAM-03/ Mitoxantrona+citarabina	1ªRP	SCU-TPH	Timoglobulina+Tiotepa+ Fludarabina+Busulfán	Sin crecimiento
68/H	LAM mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XY[30]
59/M	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XX[30]
67/M	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XX[30]
60/H	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[30]
65/M	LAM monocítica/monoblástica	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XX[30]
33/M	LAM con t(6;9)(p23;q34)	CETLAM-03	1ªRC	SCU-TPH	Busulfán+Fludarabina	46,XX,t(6;9)(p23;q34),t(15;17)(p13;q11.2)?[8]/46,XX[2]
50/H	LAM monocítica/monoblástica	ICOG-07/ FLAG-IDA	Recaída	Alo-TPH-DE-IR- secuencial	Melfalán	46,XY[30]
37/M	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	ICOG-07	1ªRC	Alo-TPH-DNE	Ciclofosfamida+ICT	Sin crecimiento
35/M	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	ICOG-07	1ªRC	Alo-TPH-DE	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
56/M	LAM mielomonocítica	CETLAM-03/ Mitoxantrona+citarabina(x2)	2ªRC	Alo-TPH-DNE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XX[20]
46/H	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	ICOG-07	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[25]
51/M	LAM mínimamente diferenciada	CETLAM-03/ FLAG-IDA	2ªRC	Alo-TPH-DE	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
34/M	LAM con t(8;21)(q22;q22)	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	45,-X,-X,t(8;21)(q22;q22)[19]/46,XX[1]
35/H	LAM con inv(16)(p13.1q22)	CETLAM-03/ FLAG-IDA	2ªRC	SCU-TPH	Timoglobulina+Tiotepa+ Fludarabina+Busulfán	46,XY,inv(16)(p13q22)[20]
60/M	LAM mínimamente diferenciada	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]

H : hombre ; M : mujer ; RC:respuesta completa ; RP : respuesta parcial ; auto-TPH : trasplante autogénico ; alo-TPH-DE : trasplante alogénico de donante emparentado ; alo-TPH-DE-IR : trasplante alogénico de donante emparentado de intensidad reducida ; alo-TPH-DNE : trasplante alogénico de donante no emparentado ; alo-TPH-DNE-IR : trasplante alogénico de donante no emparentado de intensidad reducida ; SCU-TPH trasplante de células de cordón umbilical ; RDT : radioterapia ; ICT : irradiación corporal total ; Casos que posteriormente presentan una LAM post-TPH. Ver anexos.

Tabla 24. Características clínicas, morfológicas y cariotipo en el momento del diagnóstico de las LAM *de novo*, s-LAM y t-LAM.

Edad/Sexo	Clasificación WHO	Tratamiento previo al TPH	Estado previo TPH	Tipo TPH	Acondicionamiento	Cariotipo al diagnóstico
31/H	LAM t(15;17)(q22;q12)	PETHEMA LAP2005/ LPA-R2007	2ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY,t(15;17)(q22;q21)[6]
37/H	LAM sin maduración	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[30]
46/M	LAM mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DNE	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[20]
44/M	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	CETLAM-03	1ªRC	SCU-TPH	Tiotepa+Fludarabina+Busulfán	46,XX[25]
35/M	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE	Ciclofosfamida+ICT	47,XX,+8,add(9)(q34)[20]
21/M	LAM monocítica/monoblástica	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,der(5)t(1;5)(q21;q22)[20]
43/M	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[20]
55/M	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
24/M	LAM monocítica/monoblástica	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DNE	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
54/M	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DNE	Ciclofosfamida+ICT	Sin crecimiento
47/M	LAM mielomonocítica	CETLAM-12 (2 inducciones)	1ªRC	Alo-TPH-DNE	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,add(2)(p21)[3],add(14)(q22)[cp20]
48/M	LAM con t(6;9)(p23;q34)	CETLAM-12	1ªRC	Alo-TPH-DE	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,+2,add(2)(p11.2),add(2)(q11.2), der(6)t(6;9)(p23;q34),-9[6]/46,XX[6]
31/H	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	CETLAM-03/ Mitoxantrona+Citarabina	2ªRC	Alo-TPH-DNE	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[20]
54/H	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	CETLAM-12/ PLERIFLAG	2ªRC	SCU-TPH	Tiotepa+Fludarabina+Busulfán	46,XY,add(9)(p22)[2]/46,XY[18]
41/H	LAM con mutación de <i>CEBPA</i>	CETLAM-12	1ªRC	Alo-TPH-DE	Busulfán+Ciclofosfamida	46,XY[20]
63/M	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	CETLAM-12	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XX[30]
38/H	LAM con t(8;21)(q22;q22)	CETLAM-12/ Mitoxantrona+Citarabina	2ªRC	Alo-TPH-DNE	Busulfán+Ciclofosfamida	46,XY,t(8;21)(q22;q22),del(9)(p22)[20]
34/M	LAM con maduración	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[20]
61/M	LAM con maduración	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[33]
53/M	LAM mielomonocítica	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[15]
29/H	LAM mínimamente diferenciada	CETLAM-99 + DAUNOXOME®	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	Sin crecimiento
47/M	LAM monocítica/monoblástica	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[20]
53/H	LAM con inv(16)(p13.1q22)	CETLAM-99/ DAUNOXOME®	2ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY,inv(16)(p13q22)[15]/46,XY[7]
34/H	LAM con maduración	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[20]
39/H	LA eritroblástica	CETLAM-99 + DAUNOXOME®	1ªRC	Alo-TPH-DE- selección	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[30]
62/M	LAM monocítica/monoblástica	CETLAM-99 (2 inducciones) + DAUNOXOME®	2ªRC	Auto-TPH	Busulfán+Ciclofosfamida	46,XX[30]
42/M	LAM con inv(16)(p13.1q22)	CETLAM-99/ DAUNOXOME®	2ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,inv(16)(p13q22)[6]/46,XX,add(7)(p22), inv(16)(p13q22)[7]

H : hombre ; M : mujer ; RC:respuesta completa ; RP : respuesta parcial ; auto-TPH : trasplante autogénico ; alo-TPH-DE : trasplante alogénico de donante emparentado ; alo-TPH-DE-IR : trasplante alogénico de donante emparentado de intensidad reducida ; alo-TPH-DNE : trasplante alogénico de donante no emparentado ; alo-TPH-DNE-IR : trasplante alogénico de donante no emparentado de intensidad reducida ; SCU-TPH trasplante de células de cordón umbilical ; RDT : radioterapia ; ICT : irradiación corporal total ; ☐ Casos que posteriormente presentan una LAM post-TPH. Ver anexos.

Tabla 24. Características clínicas, morfológicas y cariotipo en el momento del diagnóstico de las LAM *de novo*, s-LAM y t-LAM.

Edad/Sexo	Clasificación WHO	Tratamiento previo al TPH	Estado previo TPH	Tipo TPH	Acondicionamiento	Cariotipo al diagnóstico
54/H	LAM mínimamente diferenciada	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[30]
26/M	LAM mielomonocítica	CETLAM-99 (2 inducciones)/ CETLAM LAMR03/ Mitoxantrona+Citarabina+Vincristina	1ªRP	Alo-TPH- DNE	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
41/H	LAM sin maduración	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[30]
69/M	LA megacarioblástica	CETLAM-03 (2 inducciones)	1ªRP	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XX,add(3)(q24)[14]/46,XX[6]
31/H	LA eritroblástica	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[20]
51/M	LA mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
52/H	LA mielomonocítica	CETLAM03/ CETLAM LAMR03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[30]
35/M	LAM sin maduración	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-selección	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[20]
54/H	LAM con maduración	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY,t(10;11)(p13;q21)[17]/46,XY[3]
57/M	LAM con maduración	CETLAM-03 (2 inducciones)+ CETLAM LAMR03	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XX[20]
46/M	LAM con maduración	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE	Busulfán+Ciclofosfamida	46,XX[20]
53/H	LAM mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XY[20]
63/M	LAM con maduración	ICE/ FLAT/ FLAG-IDA	Refractaria	Alo-TPH-DE-IR- secuencial	Melfalán	46,XX[20]
43/H	LAM con maduración	CETLAM-03/ FLAG-IDA	2ªRC	SCU-TPH	Timoglobulina+Tiotepa+ Fludarabina+Busulfán	46,XY[20]
52/H	LAM con maduración	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XY,t(1;11)(q21;q23)[9]/92,XXYY,t(1;11)(q21;q23), t(1;11)(q21;q23)[9]
58/H	LAM con maduración	CETLAM-03 (2 inducciones)/ FLAG-IDA	Recaída	Alo-TPH-DE-IR	Melfalán	46,XY[30]
28/M	LAM monocítica/monoblástica	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
58/M	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	ICOG-07	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XX[30]
62/H	LAM con inv(16)(p13.1q22)	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY,inv(16)(p13q22)[10]/46,XY[10]
46/H	LAM con inv(16)(p13.1q22)	CETLAM-03/ IIS-VEL-EU-0070126866138CAN2015/ Mitoxantrona+Citarabina	2ªRC	SCU-TPH	Timoglobulina+Tiotepa+ Fludarabina+Busulfán	46,XY,inv(16)(p13q22)[12]/46,XY[8]
69/M	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
68/H	LAM mínimamente diferenciada	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	47,XY,+13[7]/46,XY[16]
30/H	LAM con mutación de <i>NMP1</i>	CETLAM-12	1ªRC	SCU-TPH	Timoglobulina+Tiotepa+ Fludarabina+Busulfán	46,XY[20]
21/M	LAM mínimamente diferenciada	CETLAM-12	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
65/M	LAM mínimamente diferenciada	CETLAM-12	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]

H : hombre ; M : mujer ; RC:respuesta completa ; RP : respuesta parcial ; auto-TPH : trasplante autogénico ; alo-TPH-DE : trasplante alogénico de donante emparentado ; alo-TPH-DE-IR : trasplante alogénico de donante emparentado de intensidad reducida ; alo-TPH-DNE : trasplante alogénico de donante no emparentado ; alo-TPH-DNE-IR : trasplante alogénico de donante no emparentado de intensidad reducida ; SCU-TPH trasplante de células de cordón umbilical ; RDT : radioterapia ; ICT : irradiación corporal total ; ☐ Casos que posteriormente presentan una LAM post-TPH. Ver anexos.

Tabla 24. Características clínicas, morfológicas y cariotipo en el momento del diagnóstico de las LAM *de novo*, s-LAM y t-LAM.

Edad/Sexo	Clasificación WHO	Tratamiento previo al TPH	Estado previo TPH	Tipo TPH	Acondicionamiento	Cariotipo al diagnóstico
48/H	LAM monocítica/monoblástica	CETLAM IDR-12	1ªRC	Alo-TPH-DNE	Ciclofosfamida+ICT	46,XY,der(6)t(6;11)(q25;q13)t(6;11)(q27;q23),der(11)t(6;11)(q25;q13)t(6;11)(q27;q23)[20]
19/M	LAM t(15;17)(q22;q12)	PETHEMA LPA2012/ LPA-R2007	2ªRC	Auto-TPH	Busulfán+Ciclofosfamida	48,XX,+8,+8,t(15;17)(q22;q21)[20]
54/M	LAM con maduración	CETLAM-12	1ªRC	Auto-TPH	Busulfán+Ciclofosfamida	46,XX,t(11;19)(q21;p13)[20]
37/H	LAM mínimamente diferenciada	CETLAM-12/ PERIFLAG/ FLAG-IDA	Refractaria	SCU-TPH-secuencial	Tiotepa+Fludarabina+Busulfán	46,XY[20]
55/M	LA mielomonocítica	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
42/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-99	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[40]
65/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XX[20]
24/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	SCU-TPH	Timoglobulina+Tiotepa+Fludarabina+Busulfán	46,XXY,del(6)(q15q24),-7,add(11)(q25),del(20)(q12q13.3),-22,+mar[20]
34/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-selección	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,t(6;11)(q27;q23)[1]/52,XX,+3[14],+4[14],t(6;11)(q27;q23),+der(6)t(6;11)(q27;q23),+13[15],+18,+19,+19[15],+21[14],+mar[15][cp29]
67/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	45,XY,-7[20]
45/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	SCU-TPH	Tiotepa+Fludarabina+Busulfán	46,XY,del(7)(q21q34)[13]
64/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03/ FLAG-IDA	Recaída	Alo-TPH-DE-IR-secuencial	Melfalán	47,XX,+mar[3]/46,XX[17]
63/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DNE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XY,t(2;5)(p11;q11),-5,add(6)(p25),-7,+8,add(11)(q25)[2],-13,add(17)(p13),+mar1,+mar2[cp15]/ 46,XY[5]
42/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[20]
62/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	Lenalidomida/ CETLAM SMDAR-LAMs	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XX,del(5)(q13q33)[20]
50/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DNE	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,del(5)(q15q33)[19]/46,XX[1]
15/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM SMDAR-LAMs (2 inducciones)	1ªRC	Alo-TPH-DNE	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[20]
57/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XY,del(5)(q12q33)[9]/46,XY[11]

H : hombre ; M : mujer ; RC:respuesta completa ; RP : respuesta parcial ; auto-TPH : trasplante autogénico ; alo-TPH-DE : trasplante alogénico de donante emparentado ; alo-TPH-DE-IR : trasplante alogénico de donante emparentado de intensidad reducida ; alo-TPH-DNE : trasplante alogénico de donante no emparentado ; alo-TPH-DNE-IR : trasplante alogénico de donante no emparentado de intensidad reducida ; SCU-TPH trasplante de células de cordón umbilical ; RDT : radioterapia ; ICT : irradiación corporal total ; ☐ Casos que posteriormente presentan una LAM post-TPH. Ver anexos.

Tabla 24. Características clínicas, morfológicas y cariotipo en el momento del diagnóstico de las LAM *de novo*, s-LAM y t-LAM.

Edad/Sexo	Clasificación WHO	Tratamiento previo al TPH	Estado previo TPH	Tipo TPH	Acondicionamiento	Cariotipo al diagnóstico
45/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM SMD (2 inducciones)	1ªRP	SCU-TPH	Timoglobulina+Tiotepa+ Fludarabina+Busulfán	46,XX[20]
60/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM SMDAR-LAMs	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	Sin crecimiento
69/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	Azacitidina + CETLAM SMD	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XX[30]
31/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03 (2 inducciones)	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,add(13)(q34)[11]/46,XX,del(9)(q13q34), add(13)(q34)[7]/46,XX[4]
57/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	44,XY,-5,del(7)(q31.1q32),-12,-14,del(20)(q13), +mar[6]/45,XY, del(3)(q21q29),-5,del(7)(q31.1q32),-12, add(13)(q34),add(14)(p11),del(20)(q13),+mar1, +mar2[2]/46,XY[12]
44/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-selección	Ciclofosfamida+ICT	46,XY,del(7)(q22)[5]/46,XY[7]
59/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	47,XY,+11,i(11)(q10)[18]/46,XY[2]
58/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM SMDAR-LAMs	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XY[30]
66/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX,del(7)(q22q36)[18]/46,XX[2]
62/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM SMDAR-LAMs	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY[20]
56/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XX[30]
61/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Singénico	Ciclofosfamida+ICT	42-44,XY,del(5)(q13),-12,-15,add(16)(q13),-18,-19[4], -21[4],+mar1,+mar2[4][cp8]
62/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM SMDAR-LAMs	1ªRC	Auto-TPH	Busulfán + Ciclofosfamida	41-45,XX,-2,-2,add(3)(p21),-5,add(11)(p15),-12,-13, -17,+mar1,+mar2,+mar3,+mar4,+mar5[17]/46,XX[3]
63/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03 (2 inducciones)	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	44-46,X,-Y,t(4;17)(p16;q21), t(4;15)(p14;q13), del(5)(q13q33),del(6)(q23),del(7)(q22q32), del(12)(q13),-13,-15,-20,+mar1,+mar2,+mar3[15]/ 46,XY[2]
62/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	ICOG-07	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	43,XY,del(3)(q12q25),-5,del(12)(q22q24.3), add(16)(q24),-18,-21[17]

H : hombre ; M : mujer ; RC:respuesta completa ; RP : respuesta parcial ; auto-TPH : trasplante autogénico ; alo-TPH-DE : trasplante alogénico de donante emparentado ; alo-TPH-DE-IR : trasplante alogénico de donante emparentado de intensidad reducida ; alo-TPH-DNE : trasplante alogénico de donante no emparentado ; alo-TPH-DNE-IR : trasplante alogénico de donante no emparentado de intensidad reducida ; SCU-TPH trasplante de células de cordón umbilical ; RDT : radioterapia ; ICT : irradiación corporal total ; ☐ Casos que posteriormente presentan una LAM post-TPH. Ver anexos.

Tabla 24. Características clínicas, morfológicas y cariotipo en el momento del diagnóstico de las LAM *de novo*, s-LAM y t-LAM.

Edad/Sexo	Clasificación WHO	Tratamiento previo al TPH	Estado previo TPH	Tipo TPH	Acondicionamiento	Cariotipo al diagnóstico
24/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DNE	Busulfán + Ciclofosfamida	46,XX,add(2)(q37),add(4)(q35),t(7;11)(p15.3;q23),del(8)(q22?),add(9)(p22?),del(10)(q22q24),add(13)(q22),add(16)(q24)[cp18]
62/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	ICOG-07	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	46,XY,t(3;17;12)(p21;q21;q13)[20]
59/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DNE-IR	Busulfán+Fludarabina	45,XX,del(5)(q13q33),dup(11)(q13q25),add(14)(p11),-17[17]/46,XX[3]
18/H	LAM con alteraciones relacionadas con Mielodisplasia	CETLAM-03	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	53,XY,+Y,t(1;13)(p36.1;q14),t(4;13)(q21;q14),t(6;11)(q27;q23),+der(6)t(6;11)(q27;q23),+8,+9,+15,+19,+21[20]
59/M	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM IDR-12	1ªRC	Alo-TPH-DNE-IR	Busulfán+Fludarabina	45,XX,add(2)(p13),del(7)(q22q32),-11,-18,del(20)(q11),+mar[18]/46,XX[2]
33/H	LAM con alteraciones relacionadas con mielodisplasia	CETLAM SMDAR-LAMs	1ªRC	Auto-TPH	Ciclofosfamida+ICT	42-46,XY,del(6)(q15),add(9)(q22),del(11)(p11),-13,add(19)(q13),+mar1,+mar2[cp14]
53/H	Neoplasia mieloide relacionada con el tratamiento	MM: VBCMP/VBAD (x6) + RDT + auto-TPH (Melfalan 200)/auto-TPH (CBV). t-LAM: ICE	1ªRC	Alo-TPH-DE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XY,t(7;10)(q22;q22),del(16)(q22)[15]/46,XY[5]
52/M	Neoplasia mieloide relacionada con el tratamiento	Carcinoma ductal infiltrante de mama: cirugía conservadora+CMF(x6)+RDT/Adriamicina+Taxol +Examentano/mastectomía+Docetaxel+ Gemcitabina+Tamoxifeno/ RDT+Tamoxifeno. t-LAM: ICE+Mitoxantrone+Citarabina	1ªRC	Alo-TPH-DE-selección	Busulfán+Fludarabina	46,XX,t(9;11)(p22;q23)[9]/46,sl,t(3;17)(p21;q25)[6]
47/H	Neoplasia mieloide relacionada con el tratamiento	LNH folicular: R-COPx12/R-ESHAPx1/R-FCMx2 t-LAM: CETLAM SMDAR-LAMs/ FLAG-IDA	Recaída	Alo-TPH-DNE-secuencial	Melfalán	47,XY,-7,+21,+mar[20]
32/M	Neoplasia mieloide relacionada con el tratamiento	Linfoma de Hodgkin: Oppas-COP+RDT/ABVDx6/ BEACOPPx2/ESHAPx3+auto-TPH(BEAM)/RDT/ Doxorubicina liposomal semanalx2 años. t-LAM: CETLAM SMDAR-LAMs	1ªRC	Alo-TPH-DNE	Busulfán + Ciclofosfamida	45,XX,inv(3)(q21q26),-7[16]/46,XX[4]
55/M	Neoplasia mieloide relacionada con el tratamiento	Neoplasia de mama: mastectomía+ quimioterapia+RDT+tamoxifeno. t-LAM: CETLAM SMDAR-LAMs	1ªRC	Alo-TPH-DE	Busulfán + Ciclofosfamida	46,XX,inv(16)(p13q22)[10]
60/H	Neoplasia mieloide relacionada con el tratamiento	LNH T angioinmunoblástico: CHOPx6 t-LAM: CETLAM SMDAR-LAMs (2 inducciones)	1ªRC	Alo-TPH-DNE-IR	Busulfán+Fludarabina	46,XY,del(7)(q22)[18]/46,XY[2]

H : hombre ; M : mujer ; RC:respuesta completa ; RP : respuesta parcial ; auto-TPH : trasplante autogénico ; alo-TPH-DE : trasplante alogénico de donante emparentado ; alo-TPH-DE-IR : trasplante alogénico de donante emparentado de intensidad reducida ; alo-TPH-DNE : trasplante alogénico de donante no emparentado ; alo-TPH-DNE-IR : trasplante alogénico de donante no emparentado de intensidad reducida ; SCU-TPH trasplante de células de cordón umbilical ; RDT : radioterapia ; ICT : irradiación corporal total ; Casos que posteriormente presentan una LAM post-TPH. Ver anexos.

Tabla 25. Características citogenéticas y moleculares de las LAM al diagnóstico.

Citogenética		LAM diagnóstico (n=151)
Cariotipo	Normal	78 (52%)
	Alterado	67 (44%)
	Sin crecimiento	6 (4%)
Clasificación según el MRC	Favorable	15/145 (10%)
	Intermedio	99/145 (69%)
	Adverso	31/145 (21%)
Cariotipo monosómico		19/145 (13%)
Cariotipo complejo		14/145 (10%)
Tipo de alteración citogenética	Equilibrada	36/190 (19%)
	Desequilibrada	154/190 (81%)
Ploidía	Hipodiploidía	14/145 (10%)
	Pseudodiploidía	118/145 (81%)
	Hiperdiploidía	12/145 (8%)
	Tri/tetraploida	1/145 (1%)
Estado mutacional		
<i>NMP1</i> +		17/57 (30%)
<i>FLT3</i> -ITD+		28/96 (29%)
<i>FLT3</i> -D835+		8/55 (15%)
<i>CEBPA</i> ^{DM} +		1/7 (14%)

5.2.2. Comparación de las características citogenéticas y moleculares entre las LAM *de novo* y las s-LAM/t-LAM, en el momento del diagnóstico.

Cuando comparamos las características citogenéticas y moleculares de las LAM *de novo* y las s-LAM/t-LAM, observamos que las s-LAM/t-LAM presentaban de forma estadísticamente significativa más cariotipos alterados (74% vs 33%, $p < 0,001$), más cariotipos de pronóstico adverso en función de la clasificación del riesgo citogenético según el MRC (57% vs 10% $p < 0,001$), mayor número de alteraciones citogenéticas ($p = 0,005$), más cariotipos monosómicos (31% vs 7%, $p < 0,001$), más cariotipos complejos (33% vs 1%, $p < 0,001$) y más alteraciones citogenéticas desequilibradas (90% vs 56%, $p < 0,001$). También se observaron diferencias estadísticamente significativas en función de la ploidía ($p < 0,001$), de manera que las LAM *de novo* presentaban más cariotipos pseudodiploides (90% vs 64%) y menos cariotipos hipodiploides (4% vs 26%) e hiperdiploides (5% vs 10%). Por otro lado, las LAM *de novo* presentaban de forma estadísticamente significativa más mutaciones del gen de la *NMP1* (42% vs 0%, $p = 0,001$) y más *FLT3*-ITD (37% vs 10%, $p = 0,008$) (Tabla 26).

Tabla 26. Características citogenéticas y moleculares de las LAM *de novo* y de las s-LAM/t-LAM

		LAM <i>de novo</i> (n=111)	s-LAM /t-LAM (n=40)	P
Citogenética				
Cariotipo	Normal	69 (62%)	9 (23%)	<0,001
	Alterado	37 (33%)	30 (74%)	
	Sin crecimiento	5 (5%)	1 (3%)	
Clasificación según el MRC	Favorable	13/106 (12%)	2/39 (5%)	<0,001
	Intermedio	83/106 (78%)	15/39 (38%)	
	Adverso	10/106 (10%)	22/39 (57%)	
Cariotipo monosómico		7/106 (7%)	12/39 (31%)	<0,001
Cariotipo complejo		1/106 (1%)	13/39 (33%)	<0,001
Nº alteraciones citogenéticas, media (DE)		1,59 (0,87)	4,47 (4,02)	0,005
Tipo de alteración citogenética	Equilibrada	24/55 (44%)	14/136 (10%)	<0,001
	Desequilibrada	31/55 (56%)	122/136 (90%)	
Ploidía	Hipodiploidía	4/106 (4%)	10/39 (26%)	<0,001
	Pseudodiploidía	95/106 (90%)	25/39 (64%)	
	Hiperdiploidía	6/106 (5%)	4/39 (10%)	
	Tri/tetraploidía	1/106 (1%)	0/39 (0%)	
Estado mutacional				
NMP1+		17/40 (42%)	0/17 (0%)	0,001
FLT3-ITD+		25/67 (37%)	3/29 (10%)	0,008
FLT3-D835+		7/38 (18%)	1/17 (6%)	0,216

5.2.3. Comparación de las características citogenéticas y moleculares al diagnóstico entre las LAM que presentan una LAM post-TPH y las que no la presentan.

Cuando comparamos las características citogenéticas y moleculares de las LAM que presentan una LAM post-TPH y las que no, las LAM que posteriormente desarrollaron una LAM post-TPH presentaban, de forma estadísticamente significativa, un mayor número de alteraciones citogenéticas ($p=0,036$) más cariotipos complejos (18% vs 5%, $p=0,010$) y más alteraciones desequilibradas (87% vs 74%, $p=0,023$). No se observan diferencias estadísticamente significativas, entre ambos grupos, en función del cariotipo (normal vs alterado), de la clasificación del riesgo citogenético según el MRC, de la presencia o no de cariotipo monosómico, ni de la ploidía. Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas en función del estado mutacional del gen de la *NMP1*, de *FLT3-ITD*, ni de *FLT3-D835* (Tabla 27).

Tabla 27. Características citogenéticas y moleculares de los pacientes que no presentaron una LAM post-TPH y los que sí la presentaron.

		Sin LAM post-TPH (n=93)	LAM post-TPH (n=58)	P
Citogenética				
Cariotipo	Normal	47	31	0,639
	Alterado	41	26	
	Sin crecimiento	5	1	
Clasificación según el MRC	Favorable	10/88 (12%)	5/57 (9%)	0,500
	Intermedio	62/88 (70%)	37/57 (65%)	
	Adverso	16/88 (18%)	15/57 (26%)	
Cariotipo monosómico		11/88 (13%)	8/57 (14%)	0,809
Cariotipo complejo		4/88 (5%)	10/57 (18%)	0,010
Nº alteraciones citogenéticas, media (DE)		1,98 (1,75)	4,31 (4,11)	0,036
Tipo de alteración citogenética	Equilibrada	22/84 (26%)	14/106 (13%)	0,023
	Desequilibrada	62/84 (74%)	92/106 (87%)	
Ploidía	Hipodiploidía	6/88 (7%)	8/57 (14%)	0,248
	Pseudodiploidía	75/88 (85%)	43/57 (75%)	
	Hiperdiploidía	7/88 (8%)	5/57 (9%)	
	Tri/tetraploida	0/88 (0%)	1/57 (2%)	
Estado mutacional				
<i>NMP1</i> +		14/42 (33%)	3/15 (20%)	0,266
<i>FLT3</i> -ITD+		20/67 (30%)	8/29 (28%)	0,823
<i>FLT3</i> -D835+		5/40 (12%)	3/15 (20%)	0,376
<i>CEBPA^{DM}</i> +		1/3 (33%)	0/4 (0%)	NA

5.2.4. Características citogenéticas y moleculares de las LAM post-TPH

En el momento de la LAM post-TPH se realizó el estudio citogenético convencional en 49 pacientes (84%). En la tabla 28 se muestra el cariotipo de las LAM que posteriormente presentaron una LAM post-TPH, en el momento del diagnóstico de la LAM inicial y de la LAM post-TPH.

Tabla 28. Cariotipo de las LAM que posteriormente desarrollaron una LAM post-TPH, al diagnóstico y en el momento de la LAM post-TPH.

LAM que posteriormente desarrollaron una LAM post-TPH, resultado citogenético al diagnóstico	Resultado citogenético LAM post-TPH
46,XX[20]	46,XX[20]
46,XX[33]	46,XX,t(1;4)(q44;q28)[20]
46,XX[15]	46,XX,i(17)(q10)[18]/46,XX[2]
46,XY[5]	Cariotipo complejo con monosomía 5[9]/46,XY[11]
46,XX[20]	49,XX,+1,del(1)(p13),t(1;4)(p34;q31),t(2;11)(p23;q13),+5,del(5)(q12q33),t(6;6)(p25;q15),+8[16]/46,XX[4]
46,XY,inv(16)(p13q22)[15]/46,XY[7]	No realizado
46,XY[20]	46,XY,t(7;9)(q32;q22)[3]/45,XY,-5,t(7;9)(q32;q22)[3]/46,XY[15]
46,XY[30]	46,XY,t(2;3)(p23;p21),del(6)(p21)[7]/46,XY,t(3;6)(p25;p21),del(15)(q22)[5]/46,XY[10]
46,XX[30]	46,XX,del(12)(p12)[3]/46,XX[22]
46,XX,inv(16)(p13q22)[6]/46,XX,add(7)(p22),inv(16)(p13q22)[7]	46,XX,inv(16)(p13q22)[10]/46,XX[10]
46,XY[30]	46,XY[25]
46,XX[30]	No realizado
46,XY[30]	45,X,-Y[5]/46,XY[15]
46,XX,add(3)(q24)[14]/46,XX[6]	44,XX,del(5)(q13q33),-12,-21[5]//46,XY [25]
46,XY[20]	46,XX[30]
46,XX,add(13)(q34)[11]/46,XX,del(9)(q13q34),add(13)(q34)[7]/46,XX[4]	46,XX,add(13)(q34)[3]/46,XX[27]
46,XX[30]	46,XX[10]
44,XY,-5,del(7)(q31.1q32),-12,-14,del(20)(q13),+mar[6]/45,XY, del(3)(q21q29),-5,del(7)(q31.1q32),-12,add(13)(q34),add(14)(p11),del(20)(q13),+mar1,+mar2[2]/46,XY[12]	42,XY,del(3)(q21q29),-5,i(6)(p10),del(7)(p15p22),del(7)(q31.1q32),del(11)(p11.2p15),-14,-16,-17(x2),-18,+19,del(20)(q13),-21,+mar1,+mar2[2]//46,XX[18]
46,XY[30]	46,XY[20]
46,XY,del(7)(q22)[5]/46,XY[7]	45,XY,t(1;2)(p34;p11),del(3)(p21p26),-12,-13,add(18)(q23),-19,-22,+mar1,+mar2,+mar3[cp9]/46,XY[16] === nuc ish(D7Z1,D7S352)x2[200]
46,XX[20]	46,XX[5]//46,XY[15]
46,XY,t(10;11)(p13;q21)[17]/46,XY[3]	46,XY,t(10;11)(p13;q21)[13]/46,XY[12]
46,XX[20]	85-91,XXXX,-3,-6x2,-8x2,-9,add(11)(p15)x2,-12x2,+15,+17,add(17)(p13),-18,+20,-21,+mar1,+mar2,+mar3,+mar4,+mar5,+mar6[cp13]
46,XX[20]	46,XX[20]
47,XY,+11,i(11)(q10)[18]/46,XY[2]	No realizado
46,XY[20]	No realizado
46,XY[30]	46,XY[20]
46,XX[20]	46,XX[17]//46,XY[3]

LAM que posteriormente desarrollaron una LAM post-TPH, resultado citogenético al diagnóstico	Resultado citogenético LAM post-TPH
46,XY[20]	46,XY,add(16)(q24)[14]/46,XY[6]
46,XY,t(1;11)(q21;q23)[9]/92,XXYY,t(1;11)(q21;q23), t(1;11)(q21;q23)[9]	46,XY,t(1;11)(q21;q23)[12]/46,XY[8]
46,XX,del(7)(q22q36)[18]/46,XX[2]	46,XX[20] === nuc ish(D7Z1x2,D7S522x1)[55/100]
46,XY[20]	47,XY,+21[5]/46,XY[15]
46,XX[30]	47,XX,+11[2]/46,XX[18]
42-44,XY,del(5)(q13),-12,-15,add(16)(q13),-18,-19[4],-21[4], +mar1,+mar2[4][cp8]	44,XY,del(3)(q21q29),del(5)(q13q31),-7,add(11)(q23),-12,add(16)(q24),-18, +mar[cp9]/46,XY[11]
46,XY[30]	No realizado
41-45,XX,-2,-2,add(3)(p21),-5,add(11)(p15),-12,-13,-17,+mar1, +mar2,+mar3,+mar4,+mar5[17]/46,XX[3]	No realizado
46,XX[30]	46,XX[20]
46,XX[30]	46,XX[16]//46,XY[4]
46,XY,inv(16)(p13q22)[10]/46,XY[10]	46,XY,inv(16)(p13q22)[8]
46,XY,inv(16)(p13q22)[12]/46,XY[8]	No realizado
46,XX[30] === nuc ish(D7Z1,D7S522)x2[200]	45,XX,-7[20]
44-46,X,-Y,t(4;17)(p16;q21),t(4;15)(p14;q13),del(5)(q13q33), del(6)(q23),del(7)(q22q32),del(12)(q13),-13,-15,-20,+mar1, +mar2,+mar3[15]/46,XY[2]	44-46,X,-Y,t(4;17)(p16;q21),t(4;15)(p14;q13),del(5)(q13q33), del(6)(q23),del(7)(q22q32),del(12)(q13),-13,-15,-20,+mar1,+mar2,+mar3[20]
46,XX,add(2)(q37),add(4)(q35),t(7;11)(p15.3;q23),del(8)(q22?), add(9)(p22?),del(10)(q22q24),add(13)(q22),add(16)(q24)[cp18]	Sin crecimiento === nuc ish(MLLx2)(5'MLL sep 3'MLLx1)[19/200]
43,XY,del(3)(q12q25),-5,del(12)(q22q24.3),add(16)(q24),-18, -21[17]	43,XY,del(3)(q12q25),-5,del(12)(q22q24.3),add(16)(q24),-18,-21[17]/ 46,XY[3]
46,XY,t(3;17;12)(p21;q21;q13)[20]	46,XY,t(3;17;12)(p21;q21;q13)[20]
47,XY,+13[7]/46,XY[16]	46,XY[20]
45,XX,del(5)(q13q33),dup(11)(q13q25),add(14)(p11),-17[17]/ 46,XX[3]	45,XX,del(5)(q13q33),dup(11)(q13q25),add(14)(p11),-17, der(19)t(17;19)(q21;p13.3)[20]
53,XY,+Y,t(1;13)(p36.1;q14),t(4;13)(q21;q14),t(6;11)(q27;q23), +der(6)t(6;11)(q27;q23),+8,+9,+15,+19,+21[20]	46,XY,t(1;13)(p36.1;q14),t(4;13)(q21;q14),t(6;11)(q27;q23)[20]
46,XY[20]	No realizado
46,XX[30]	46,XX[25]
46,XX[30]	46,XX[24]
45,XX,add(2)(p13),del(7)(q22q32),-11,-18,del(20)(q11), +mar[18]/46,XX[2]	46,XX,add(2)(p13),del(7)(q22q32),+11,-18,del(20)(q11),+21[cp3]/ 46,XX[17]
46,XY,der(6)t(6;11)(q25;q13)t(6;11)(q27;q23), der(11)t(6;11)(q25;q13)t(6;11)(q27;q23)[20]	46,XY,t(5;15)(q13;q13),der(6)t(6;11)(q25;q13)t(6;11)(q27;q23), der(11)t(6;11)(q25;q13)t(6;11)(q27;q23)add(11)(q13),del(14)(q11.2)[20]
48,XX,+8,+8,t(15;17)(q22;q21)[20]	No realizado
46,XX,t(11;19)(q21;p13)[20]	46,XX[20] === nuc ish(MLLx2)(5'MLL sep 3'MLLx1)[11/100]

LAM que posteriormente desarrollaron una LAM post-TPH, resultado citogenético al diagnóstico	Resultado citogenético LAM post-TPH
46,XY[20]	46,XY,t(12;17)(p11;q11)[14]/46,XY[5]//46,XX[1]
42-46,XY,del(6)(q15),add(9)(q22),del(11)(p11),-13,add(19)(q13),+mar1,+mar2[cp14]	42-46,XY,del(6)(q15),add(9)(q22),del(11)(p11),-13,add(19)(q13),+mar1,+mar2[cp10]
46,XX[30] === nuc ish(D8Z2x2)[200]	47,XX,+8[1]/46,XX[19] === nuc ish(D8Z2x3)[45/100]

LAM secundarias

Dieciséis (33%) pacientes presentaron un cariotipo normal, 32 (65%) un cariotipo alterado y no se obtuvo crecimiento en 1 caso (2%). En el caso sin crecimiento se detectó, por FISH, un reordenamiento del gen *MLL* y en dos casos con cariotipo normal se identificó una delección del cromosoma 7q y un reordenamiento del gen *MLL*, respectivamente; en los tres casos la alteración ya estaba presente en el momento del diagnóstico. Según los grupos de riesgo citogenético propuestos por el MRC, 2 pacientes (4%) presentaron un pronóstico favorable, 26 (53%) un pronóstico intermedio y 21 (43%) un pronóstico adverso. Doce pacientes (25%) presentaban un cariotipo monosómico y 13 (27%) un cariotipo complejo. Se observaron un total de 137 alteraciones citogenéticas, 22 (16%) equilibradas y 115 (84%) desequilibradas. Respecto a la ploidía, 10 pacientes (21%) presentaron una hipodiploidía, 32 (68%) una pseudodiploidía, 4 (9%) una hiperdiploidía y 1 (2%) una tetraploidía. Se realizó el estudio del reordenamiento del gen *MLL*, por FISH, en 6 de las 17 LAM con cariotipo normal (5) o sin crecimiento (1), y en dos de ellas, una con cariotipo normal y otra sin crecimiento, se observó el reordenamiento del gen *MLL*. Ambos casos presentaron, en el momento del diagnóstico de la LAM, un cariotipo alterado con el reordenamiento del gen *MLL*; en el caso del cariotipo normal una t(11;19)(q21;p13) y en el caso sin crecimiento un cariotipo complejo con una t(7;11)(p15.3;q23). Se detectaron mutaciones en el gen de la *NPM1* en el 18% de los casos y *FLT3*-ITD en el 21% (Tabla 29).

Tabla 29. Características citogenéticas y moleculares de las LAM post-TPH.

Citogenética		
Cariotipo	Normal	16/49 (33%)
	Alterado	32/49 (65%)
	Sin crecimiento	1/49 (2%)
Clasificación según el MRC	Favorable	2/49 (4%)
	Intermedio	26/49 (53%)
	Adverso	21/49 (43%)
Cariotipo monosómico		12/48 (25%)
Cariotipo complejo (≥4 alteraciones)		13/48 (27%)
Tipo de alteración	Equilibrada	22/137 (16%)
	Desequilibrada	115/137 (84%)
Ploidía	Hipodiploidía	10/47 (21%)
	Pseudodiploidía	32/47 (68%)
	Hiperdiploidía	4/47 (9%)
	Tri/tetraploida	1/47 (2%)
Comparación con citogenética inicial	Alteración citogenética inicial asociada o no a alteraciones citogenéticas secundarias	18/49 (37%)
	Alteración <i>de novo</i>	17/49 (35%)
	Cariotipo normal	14/49 (28%)
Alteraciones citogenéticas relacionadas con SMD		12/31 (39%)
Alteraciones citogenéticas relacionadas con agentes citotóxicos		6/31 (19%)
FISH <i>MLL</i> en las LAM de cariotipo normal o sin crecimiento (n=17)		
Normal		4/6 (67%)
Reordenado		2/6 (33%)
Estado mutacional		
<i>NMP1</i> +		2/11 (18%)
<i>FLT3-ITD</i> +		6/29 (21%)
<i>FLT3-D835</i> +		-
<i>CEBPA^{DM}</i> +		-

Si consideramos exclusivamente las LAM post-TPH con cariotipo normal y con alteraciones citogenéticas *de novo* (n=31), se observó un cariotipo alterado en el 55% de los casos (n=17). Al clasificar estas 31 LAM post-TPH de acuerdo con las 8 vías genéticas propuestas por Pedersen-Bjergaard et al para las t-LAM (Pedersen-Bjergaard et al, 2002; Pedersen-Bjergaard et al, 2006), quedaron distribuidas de la siguiente manera (Tabla 30).

En este subgrupo de LAM post-TPH, se observaron alteraciones cromosómicas asociadas a la exposición previa a agentes citotóxicos en el 19% de los casos y en el 35% de las LAM que presentaron un cariotipo alterado. Sólo una LAM post-TPH (3%), con afectación del cromosoma 11p15, presentó una alteración citogenética asociada a la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II y no se observó ningún caso con translocaciones equilibradas que impliquen los cromosomas 11q23 ó 21q22, la *inv(16)(p13q22)* o la

t(15;17)(q22;q12-q21). Cinco pacientes (16%) presentaron alteraciones cromosómicas relacionadas con la exposición previa a agentes alquilantes (un paciente con -7 y 4 pacientes con 5q-/5), 9 (29%) presentaron una sola alteración cromosómica, 14 (46%) un cariotipo normal y dos pacientes (6%) presentaron un cariotipo complejo sin implicación del cromosoma 5, por lo que no se pudieron incluir en ninguna de las 8 vías genéticas descritas.

Tabla 30. Distribución de las LAM post-TPH de cariotipo normal y con alteraciones citogenéticas *de novo*, según las 8 vías genéticas propuestas por Pedersen-Bjergaard et al.

Vía	n (%)
Vía 1. Se ha asociado a la exposición previa a AA e incluye las t-LAM y t-SMD con 7q-/7 aislada.	1 (3%)
Vía 2. Se ha relacionado con la exposición previa a AA e incluye las t-LAM y t-SMD con 5q-/5.	4 (13%)
Vía 3. Incluye las t-LAM con translocaciones equilibradas que implican al cromosoma 11q23 (<i>MLL</i>) y se han relacionado con la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II.	0 (0%)
Vía 4. Incluye los pacientes con translocaciones equilibradas en el cromosoma 21q22 e inv(16) y se ha relacionado con la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II, principalmente a antraciclinas.	0 (0%)
Vía 5. Incluye los pacientes con LAP y la t(15;17)(q22;q12-21) y se ha asociado con la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II, principalmente doxorubicina y mitoxantrona.	0 (0%)
Vía 6. Incluye las t-LAM/t-SMD con reordenamiento del gen <i>NUP98</i> , localizado en el cromosoma 11p15 y se ha relacionado con la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II.	1 (3%)
Vía 7. No se ha asociado con ningún tipo específico de terapia previa e incluye los pacientes con cariotipo normal.	14 (45%)
Vía 8. No se ha asociado a ningún tipo específico de terapia previa e incluye los pacientes con una sola alteración cromosómica.	9 (29%)

Además, en este subgrupo de LAM post-TPH con cariotipo normal y alteraciones citogenéticas *de novo* se observaron alteraciones citogenéticas relacionadas con SMD en el 39% de los casos y en el 71% de las LAM post-TPH con un cariotipo alterado.

En función de las anomalías cromosómicas observadas podemos clasificar las LAM post-TPH de la siguiente manera: 18 recaídas de la LAM inicial (37%), 4 s-LAM (8%), 6 s-LAM/t-LAM (12%) y 21 no clasificables (43%).

5.2.4.1. Características citogenéticas de las LAM post-TPH en función del tipo de LAM inicial (LAM *de novo* vs s-LAM).

Al comparar las características citogenéticas y moleculares de las LAM post-TPH en función del tipo de LAM en el momento del diagnóstico, observamos que las LAM post-TPH precedidas de una s-LAM/t-LAM presentaron, de forma estadísticamente significativa, un mayor número de cariotipos alterados (70% vs 46%, $p=0,046$), un mayor número de alteraciones citogenéticas ($p=0,020$), más cariotipos de pronóstico adverso en función de la clasificación del riesgo citogenético según el MRC (73% vs 29%, $p=0,014$), más cariotipos complejos (43% vs 15%, $p=0,045$), más cariotipos monosómicos (57% vs 12%, $p=0,002$), más alteraciones desequilibradas (90% vs 75%, $p=0,022$) y menos cariotipos pseudodiploides (36% vs 82%, $p=0,003$). En las LAM post-TPH precedidas de una LAM *de novo*, se observaron, de forma estadísticamente significativa, más alteraciones citogenéticas *de novo* (41% vs 20%, $p=0,002$), mientras que en el 73% de las LAM post-TPH precedidas de una s-LAM/t-LAM, se detectó la alteración citogenética inicial, asociada o no a otras alteraciones citogenéticas adquiridas (Tabla 31).

Tabla 31. Características citogenéticas de las LAM post-TPH en función del tipo de LAM inicial (LAM *de novo* vs s-LAM).

		LAM <i>de novo</i> (n=41)	s-LAM (n=17)	P
Citogenética				
Cariotipo	Normal	15/34 (37%)	2/15 (12%)	0,046
	Alterado	19/34 (46%)	12/15 (70%)	
	Sin crecimiento	0/34 (0%)	1/15 (6%)	
Clasificación según el MRC	Favorable	2/34 (6%)	0/15 (0%)	0,014
	Intermedio	22/34 (65%)	4/15 (27%)	
	Adverso	10/34 (29%)	11/15 (73%)	
Cariotipo monosómico		4/34 (12%)	8/14 (57%)	0,002
Cariotipo complejo		5/34 (15%)	6/14 (43%)	0,045
Nº alteraciones citogenéticas, mediana (DE)		3,00 (4,84)	6,23 (4,90)	0,020
Tipo de alteración	Equilibrada	14/57 (25%)	8/80 (10%)	0,022
	Desequilibrada	43/57 (75%)	72/80 (90%)	
Ploidía	Hipodiploidía	3/33 (9%)	7/14 (50%)	0,003
	Pseudodiploidía	27/33 (82%)	5/14 (36%)	
	Hiperdiploidía	2/33 (6%)	2/14 (14%)	
	Tri/tetraploida	1/33 (3%)	0/14 (0%)	

		LAM de novo (n=41)	s-LAM (n=17)	P
Comparación con citogenética inicial	Alteración citogenética inicial asociada o no a alteraciones citogenéticas secundarias	7/34 (21%)	11/15(73%)	0,002
	Alteración <i>de novo</i>	14/34 (41%)	3/15 (20%)	
	Cariotipo normal	13/34 (38%)	1/15 (7%)	
Estado mutacional				
<i>NMP1+</i>		2/10 (20%)	0/1 (0%)	NA
<i>FLT3-ITD+</i>		4/18 (22%)	2/11 (18%)	0,592

5.2.4.2. Características citogenéticas de las LAM post-TPH en función del tipo de TPH recibido (auto-TPH vs alo-TPH).

Al comparar las características citogenéticas y moleculares de las LAM post-TPH en función del tipo de TPH recibido, observamos que las LAM post-aloTPH presentaron, de forma estadísticamente significativa, un mayor número de alteraciones citogenéticas ($p=0,006$), más cariotipos de pronóstico adverso en función de la clasificación del riesgo citogenético según el MRC (65% vs 28%, $p=0,020$), más cariotipos complejos (47% vs 14%, $p=0,010$), más cariotipos monosómicos (42% vs 14%, $p=0,031$) y más alteraciones desequilibradas (89% vs 74%, $p=0,023$). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en función del cariotipo (normal vs alterado), de la ploidía, ni cuando comparamos el cariotipo de la LAM post-TPH con las alteraciones citogenéticas observadas en la LAM inicial (Tabla 32). Si consideramos exclusivamente las LAM con cariotipo normal y alteraciones citogenéticas de novo, tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de casos con alteraciones citogenéticas relacionadas con la exposición previa a agentes citotóxicos.

Tabla 32. Características citogenéticas de las LAM post-TPH en función del tipo de TPH recibido (auto-TPH vs alo-TPH).

		auto-TPH (n=33)	alo-TPH (n=25)	P
Citogenética				
Cariotipo	Normal	11/29 (33%)	5/20(20%)	0,346
	Alterado	18/29 (55%)	14/20 (56%)	
	Sin crecimiento	0/29 (0%)	1/20 (4%)	
Clasificación según el MRC	Favorable	2/29 (7%)	0/20 (0%)	0,020
	Intermedio	19/29 (65%)	7/20 (35%)	
	Adverso	8/29 (28%)	13/20 (65%)	
Cariotipo monosómico		4/29 (14%)	8/19 (42%)	0,031
Cariotipo complejo		4/29 (14%)	9/19 (47%)	0,010
Nº alteraciones citogenéticas, mediana (DE)		2,50 (3,20)	6,64 (6,08)	0,006
Tipo de alteración	Equilibrada	12/46 (26%)	10/91 (11%)	0,023
	Desequilibrada	34/46 (74%)	81/91 (89%)	
Ploidía	Hipodiploidía	4/28 (14%)	6/19 (32%)	0,094
	Pseudodiploidía	21/28 (72%)	12/19 (63%)	
	Hiperdiploidía	4/28 (14%)	0/19 (0%)	
	Tri/tetraploida	0/28 (0%)	1/19 (5%)	
Comparación con citogenética inicial	Alteración citogenética inicial asociada o no a alteraciones citogenéticas secundarias	9/29 (31%)	9/20 (45%)	0,608
	Alteración <i>de novo</i>	11/29 (38%)	6/20 (30%)	
	Cariotipo normal	9/29(31%)	5/20 (25%)	
Alteraciones citogenéticas relacionadas con la exposición previa a agentes citotóxicos		4/20 (20%)	2/11 (18%)	0,644
Estado mutacional				
NMP1+		0/2 (0%)	2/2 (100%)	NA
FLT3-ITD+		1/6 (17%)	5/6 (83%)	NA

5.2.5. Comparación de las características citogenéticas y moleculares entre las LAM *de novo* y las LAM post-TPH.

Cuando comparamos las características citogenéticas y moleculares de las LAM *de novo* y las LAM post-TPH, observamos que las LAM post-TPH presentaron de forma estadísticamente significativa más cariotipos alterados (62% vs 33%, $p=0,001$), más cariotipos de pronóstico adverso en función de la clasificación del riesgo citogenético según el MRC (43% vs 10% $p<0,001$), más cariotipos monosómicos (25% vs 7%, $p=0,001$), más cariotipos complejos (27% vs 1%, $p<0,001$), mayor número de alteraciones citogenéticas ($p=0,014$) y más alteraciones citogenéticas desequilibradas (85% vs 56%, $p<0,001$). También se observaron diferencias estadísticamente significativas en función de la ploidía, de manera que las LAM *de novo*

presentaron más cariotipos pseudodiploides (90% vs 68%, $p=0,002$) y menos cariotipos hipodiploides (4% vs 21%, $p<0,001$). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en función del estado mutacional del gen de la *NMP1*, de la *FLT3*-ITD ni de la *FLT3*-D835 (Tabla 33).

Tabla 33. Características citogenéticas y moleculares de las LAM *de novo* y de las LAM post-TPH.

		LAM <i>de novo</i> (n=111)	LAM post-TPH (n=58)	P
Citogenética				
Cariotipo	Normal	69 (62%)	16/49 (33%)	0,001
	Alterado	37 (33%)	32/49 (65%)	
	Sin crecimiento	5 (5%)	1/49 (2%)	
Clasificación según el MRC	Favorable	13/106 (12%)	2/49 (4%)	<0,001
	Intermedio	83/106 (78%)	26/49 (53%)	
	Adverso	10/106 (10%)	21/49 (43%)	
Cariotipo monosómico		7/106 (7%)	12/48 (25%)	0,001
Cariotipo complejo		1/106 (1%)	13/48 (27%)	<0,001
Nº alteraciones citogenéticas, media (DE)		1,59 (0,87)	4,31 (4,11)	0,014
Tipo de alteración	Equilibrada	24/55 (44%)	20/133 (15%)	<0,001
	Desequilibrada	31/55 (56%)	113/133 (85%)	
Ploidía	Hipodiploidía	4/106 (4%)	10/47 (21%)	0,002
	Pseudodiploidía	95/106 (90%)	32/47 (68%)	
	Hiperdiploidía	6/106 (5%)	4/47 (9%)	
	Tri/tetraploida	1/106 (1%)	1/47 (2%)	
Estado mutacional				
<i>NMP1</i> +		17/40 (42%)	2/11 (18%)	0,129
<i>FLT3</i> -ITD+		25/67 (37%)	6/29 (21%)	0,110
<i>FLT3</i> -D835+		7/38 (18%)	0/4 (0%)	0,468

5.2.6. Comparación de las características citogenéticas y moleculares entre las s-LAM/t-LAM y las LAM post-TPH.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las s-LAM/t-LAM y las LAM post-TPH en función del cariotipo, de la clasificación del riesgo citogenético según el MRC, de la presencia o no de cariotipo monosómico o de cariotipo complejo, del número de alteraciones citogenéticas observadas, del tipo de alteración citogenética, de la ploidía, del estado mutacional del gen de la *NMP1*, ni de la *FLT3*-ITD (Tabla 34).

Tabla 34. Características citogenéticas y moleculares de las LAM post-TPH y las s-LAM/t-LAM.

		s-LAM/t-LAM (n=40)	LAM post-TPH (n=58)	P
Citogenética				
Cariotipo	Normal	9 (23%)	16/49 (33%)	0,673
	Alterado	30 (74%)	32/49 (65%)	
	Sin crecimiento	1 (3%)	1/49 (2%)	
Clasificación según el MRC	Favorable	2/39 (5%)	2/49 (4%)	0,356
	Intermedio	15/39 (38%)	26/49 (53%)	
	Adverso	22/39 (57%)	21/49 (43%)	
Cariotipo monosómico		12/39 (31%)	12/48 (25%)	0,549
Cariotipo complejo		13/39 (33%)	13/48 (27%)	0,527
Nº alteraciones citogenéticas, media (DE)		4,47 (4,02)	4,31 (4,11)	0,859
Tipo de alteración	Equilibrada	14/136 (10%)	20/133 (15%)	0,242
	Desequilibrada	122/136 (90%)	113/133 (85%)	
Ploidía	Hipodiploidía	10/39 (26%)	10/47 (21%)	0,940
	Pseudodiploidía	25/39 (64%)	32/47 (68%)	
	Hiperdiploidía	4/39 (10%)	4/47 (9%)	
	Tri/tetraploida	0/39 (0%)	1/47 (2%)	
Estado mutacional				
NMP1+		0/17 (0%)	2/11 (18%)	0,146
FLT3-ITD+		3/29 (10%)	6/29 (21%)	0,235
FLT3-D835+		1/17 (6%)	0/4 (0%)	NA

5.2.7. Comparación de las características citogenéticas y moleculares, al diagnóstico y en el momento de aparición de la LAM post-TPH.

Quando se compararon las características citogenéticas, en el momento del diagnóstico y en el momento de la LAM post-TPH, se observó que las LAM post-TPH presentaban de forma estadísticamente significativa más cariotipos de pronóstico adverso ($p=0,008$) (Tabla 35). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la presencia o no de cariotipo complejo (Tabla 36), ni en la presencia de cariotipo monosómico (Tabla 37). Sin embargo, las LAM post-TPH tendieron a presentar más cariotipos monosómicos.

Tabla 35. Clasificación del riesgo citogenético según el MRC (LAM diagnóstico vs LAM post-TPH) ($p=0,008$).

Clasificación según el MRC		LAM post-TPH			Total
		Favorable	Intermedio	Adverso	
LAM diagnóstico	Favorable	2	0	0	2
	Intermedio	0	26	7	33
	Adverso	0	0	14	14
Total		2	26	21	49

Tabla 36. Cariotipo monosómico (LAM diagnóstico vs LAM post-TPH) ($p=0,063$).

Cariotipo monosómico		LAM post-TPH		Total
		Sí	No	
LAM diagnóstico	Sí	7	0	7
	No	5	36	41
Total		12	36	48

Tabla 37. Cariotipo complejo (LAM diagnóstico vs LAM post-TPH) ($p=0,219$).

Cariotipo complejo (≥ 4 alteraciones)		LAM post-TPH		Total
		Sí	No	
LAM diagnóstico	Sí	8	1	9
	No	5	34	39
Total		13	35	48

Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en función del tipo del número de alteraciones citogenéticas, de la alteración citogenética (equilibrada vs desequilibrada) (Tabla 38) ni en función de la ploidía (hipodiploidía vs pseudodiploidía vs hiperdiploidía) (Tabla 39).

Tabla 38. Alteraciones citogenéticas (LAM diagnóstico vs LAM post-TPH).

		LAM post-TPH (n=58)	LAM diagnóstico que presentan LAM post-TPH (n=58)	P
Citogenética				
Nº alteraciones citogenéticas, media (DE)		4,31 (4,11)	4,31 (5,05)	0,082
Tipo de alteración citogenética	Equilibrada	22/137 (16%)	14/106 (13%)	0,535
	Desequilibrada	115/137 (84%)	92/106 (87%)	

Tabla 39. Ploidía (LAM diagnóstico vs LAM post-TPH).

Ploidía		LAM post-TPH				Total
		Hipodiploidía	Pseudodiploidía	Hiperdiploidía	Tri/tetraploidía	
LAM diagnóstico	Hipodiploidía	5	1	0	0	6
	Pseudodiploidía	5	29	4	1	39
	Hiperdiploidía	0	2	0	0	2
	Tri/tetraploidía	0	0	0	0	0
Total		10	32	4	1	47

5.3. Alteraciones cromosómicas

Se detectaron un total de 340 alteraciones en 209 LAM (111 LAM *de novo*, 40 s-LAM/t-LAM y 58 LAM post-TPH). Los cromosomas afectados, por orden de frecuencia, fueron: 11q (24), 16q (17), mar (17), 7q (14), 5q (14), 6q (12), 3q (10), 9q (10), 16p (10), 17q (10), 2p (8), -5 (8), +8 (8), -18 (8), -12 (7), -13 (7), 13q (7), -7 (8), 3p (6), 6p (6), 8q (6), 9p (6), 12q (6), 15q (6), 20q (6), -21 (6), 1p (5), 4q (5), 11p (5), +21 (5), 21q (5), 1q (4), 7p (4), +11 (4), -17 (4), 19p (4), -X (3), -Y (3), 10q (3), 14p (3), -15 (3), +19 (3), -2 (2), 2q (2), 4p (2), -9 (2), 10p (2), 12p (2), +13 (2), -14 (2), 14q (2), +15 (2), 17p (2), -19 (2), 19q (2), -20 (2) y -22 (2) (Figura 34 y 35) (Tabla 40).

Las alteraciones cromosómicas en 2p, 3q, 6q, +8, 11q, 16q y 17q fueron comunes a las LAM *de novo*, a las s-LAM/t-LAM y a las LAM post-TPH, mientras que las alteraciones en 3p, 4q, -5, 7q, 11p, -12, 12q, -13, -17, -18, 20q, +21 y -21 se observaron exclusivamente en las s-LAM/t-LAM y en las LAM post-TPH. En la tabla 41 se muestran los diferentes cromosomas afectados y sus frecuencias (nº de pacientes), en función del subtipo de LAM (LAM *de novo*, s-LAM/t-LAM y LAM post-TPH).

Figura 34. Tipo y frecuencia de los cromosomas afectados en las 209 LAM.

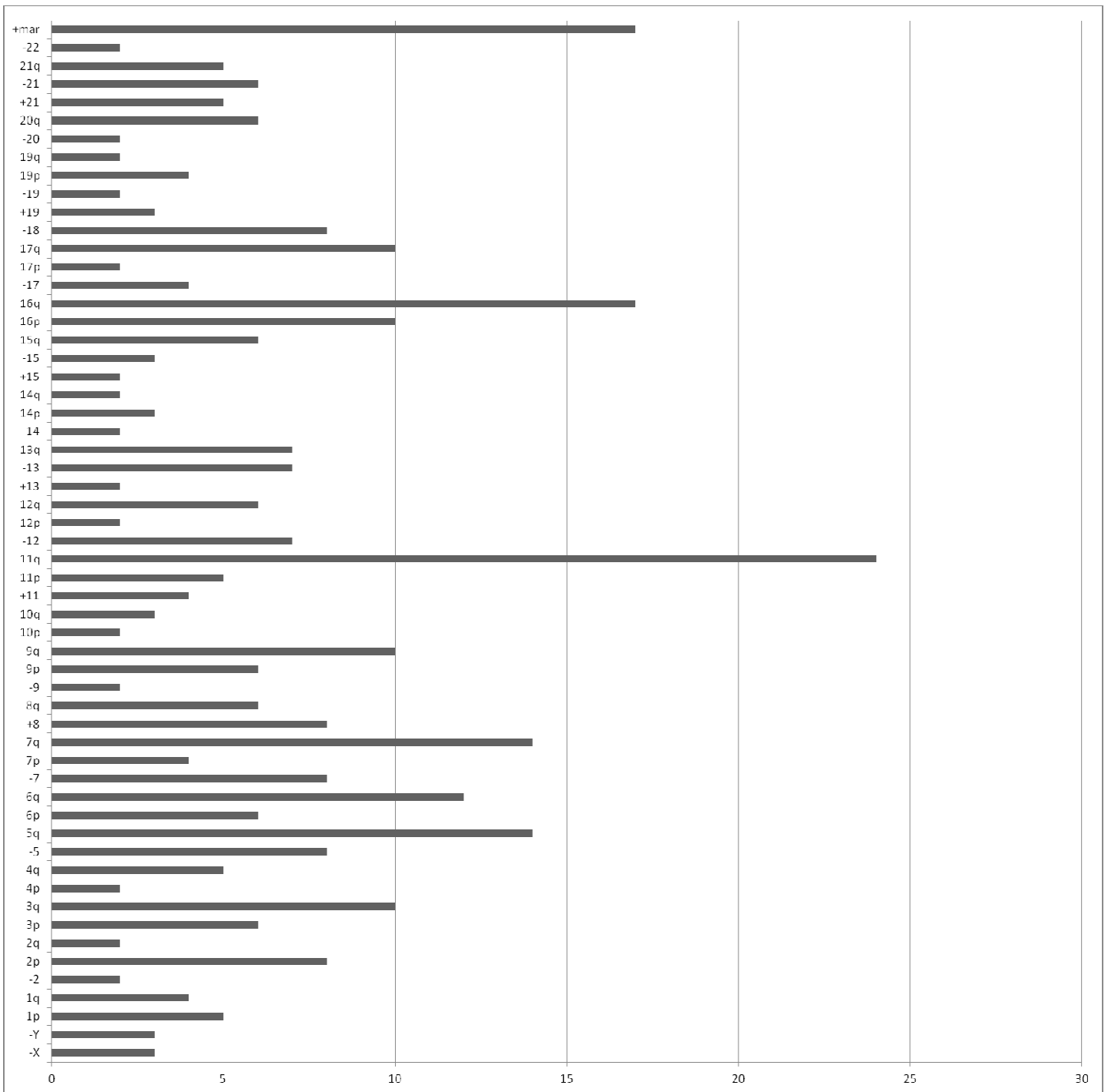


Figura 35. Tipo y frecuencia de los cromosomas afectados en función del tipo de LAM: LAM *de novo*, s-LAM/t-LAM y LAM post-TPH.

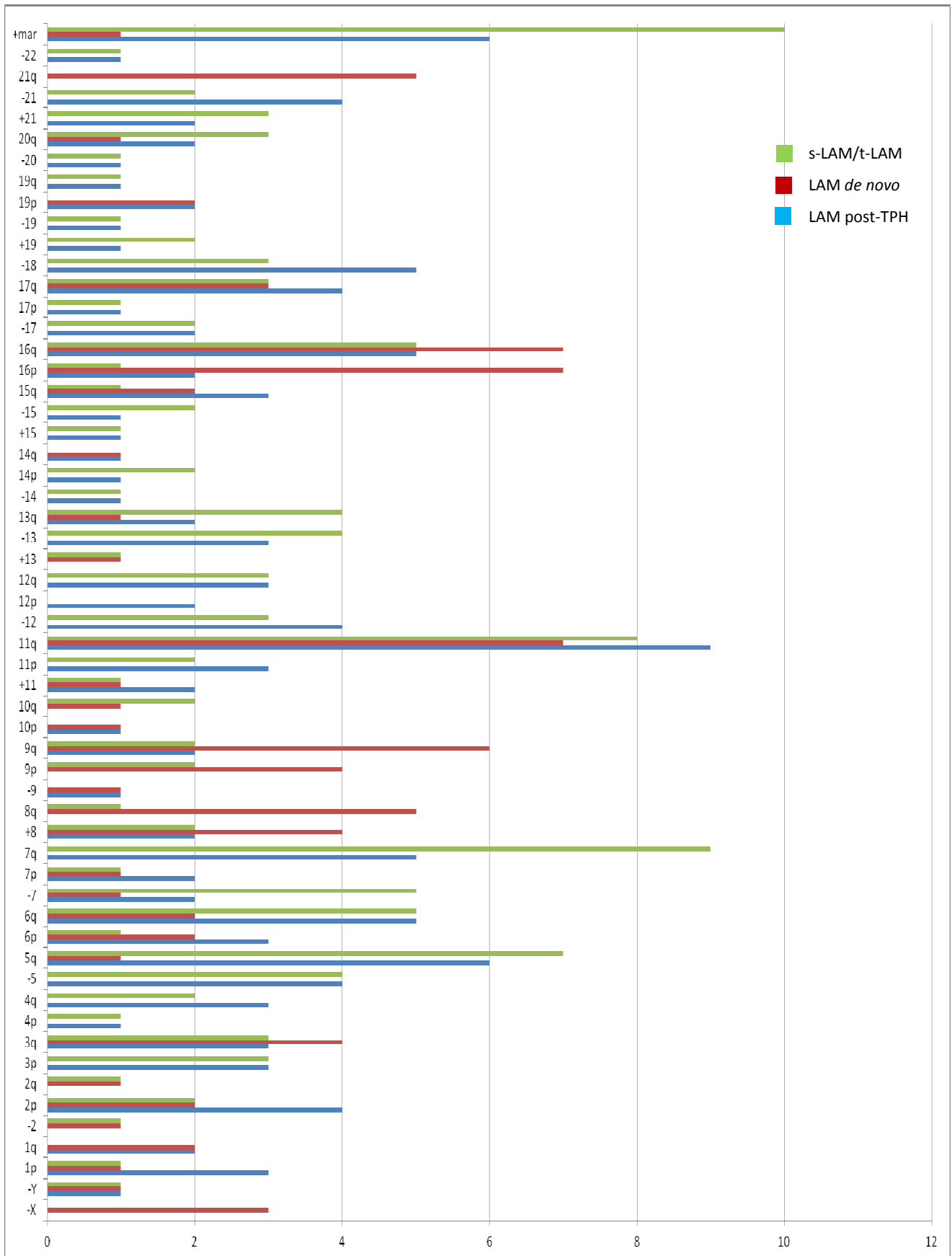
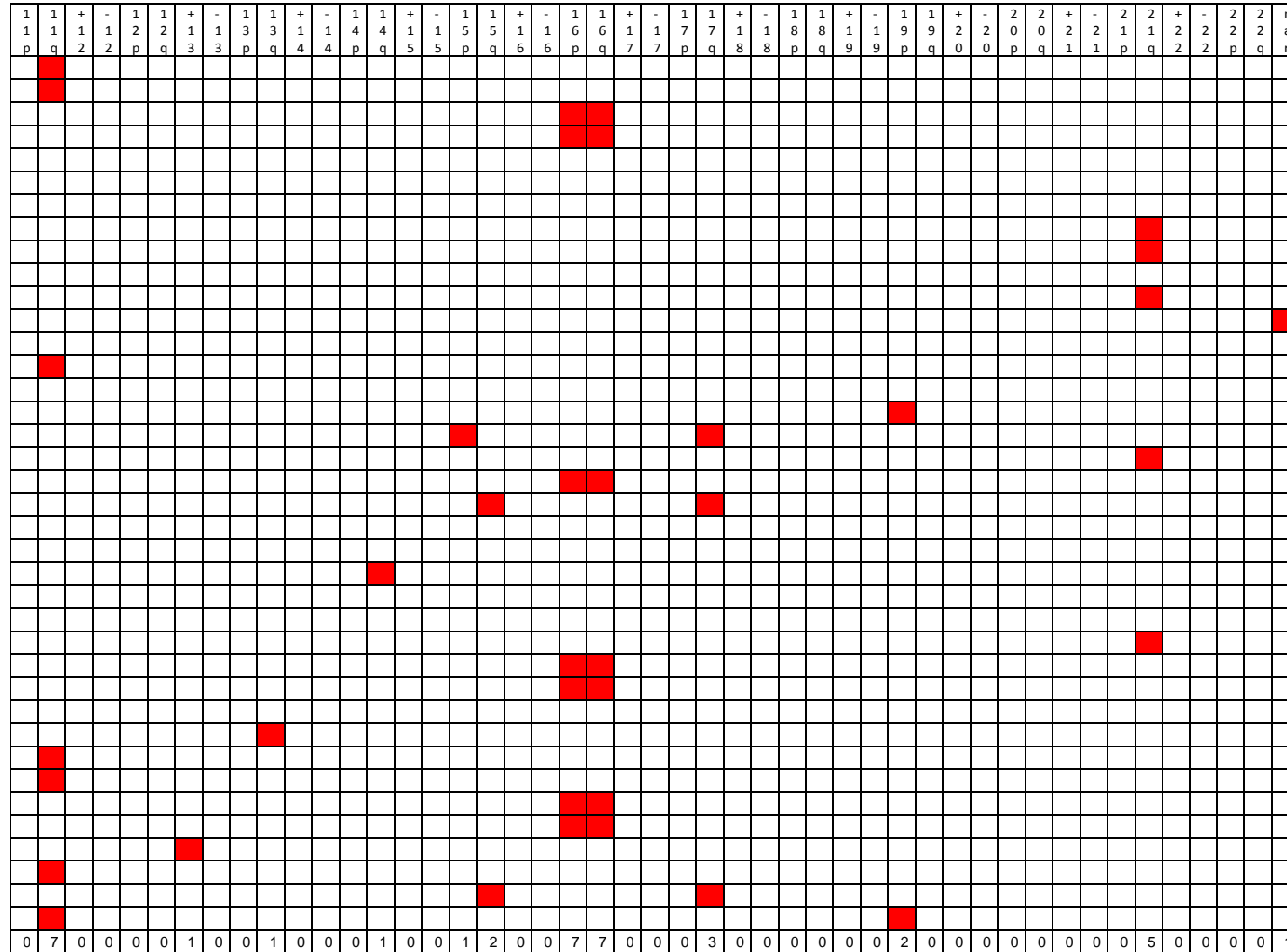


Tabla 40. Tipo y frecuencia de las regiones cromosómicas implicadas en las LAM *de novo*, s-LAM/t-LAM y en las LAM post-TPH.

Alteración cromosómica	LAM <i>de novo</i> (n=111), n (%)	LAM secundaria o relacionada con el tratamiento (n=40), n (%)	LAM post-TPH (n=58), n (%)
-X	3 (3)	0 (0)	0 (0)
+Y	0 (0)	1 (3)	0 (0)
-Y	1 (1)	1 (3)	1 (2)
+1	0 (0)	0 (0)	1 (2)
1p	1 (1)	1 (3)	3 (5)
1q	2 (2)	0 (0)	2 (3)
+2	1 (1)	0 (0)	0 (0)
-2	1 (1)	1 (3)	0 (0)
2p	2 (2)	2 (5)	4 (7)
2q	1 (1)	1 (3)	0 (0)
+3	0 (0)	1 (3)	0 (0)
-3	0 (0)	0 (0)	1 (2)
3p	0 (0)	3 (8)	3 (5)
3q	4 (4)	3 (8)	3 (5)
+4	0 (0)	1 (3)	0 (0)
4p	0 (0)	1 (3)	1 (2)
4q	0 (0)	2 (5)	3 (5)
+5	0 (0)	0 (0)	1 (2)
-5	0 (0)	4 (10)	4 (7)
5q	1 (1)	7(18)	6 (10)
-6	0 (0)	0 (0)	1 (2)
6p	2 (2)	1 (3)	3 (5)
6q	2 (2)	5 (13)	5 (9)
-7	1 (1)	5 (13)	2 (3)
7p	1 (1)	1 (3)	2 (3)
7q	0 (0)	9 (23)	5 (9)
+8	4 (4)	2 (5)	2 (3)
-8	0 (0)	0 (0)	1 (2)
8q	5 (5)	1 (3)	0 (0)
+9	0 (0)	1 (3)	0 (0)
-9	1 (1)	0 (0)	1 (2)
9p	4 (4)	2 (5)	0 (0)
9q	6 (5)	2 (5)	2 (3)
10p	1 (1)	0 (0)	1 (2)
10q	1 (1)	2 (5)	0 (0)
+11	1 (1)	1 (3)	2 (3)
-11	0 (0)	1 (3)	0 (0)

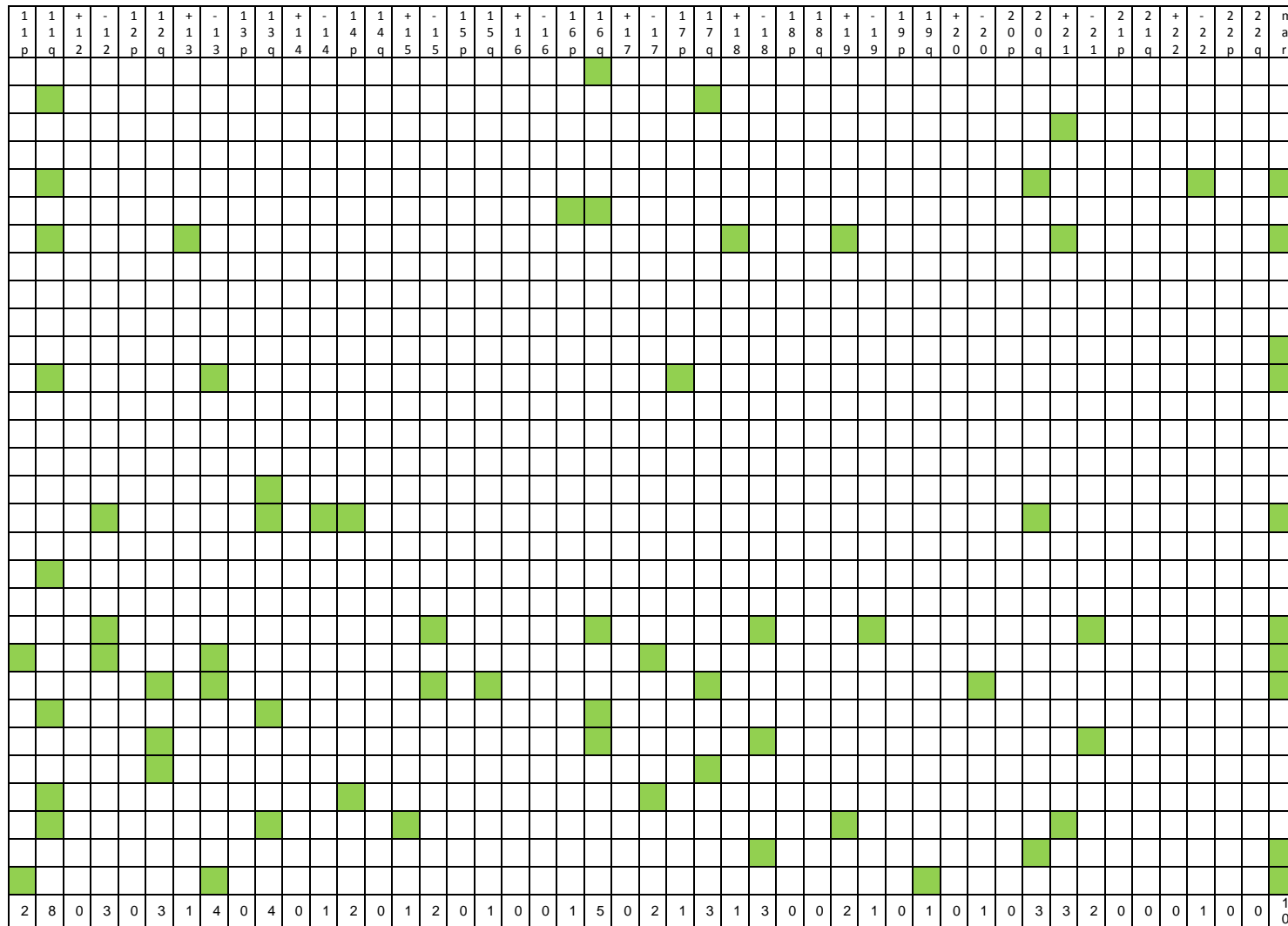
Alteración cromosómica	LAM <i>de novo</i> (n=113), n (%)	LAM secundaria o relacionada con el tratamiento (n=38), n (%)	LAM post-TPH (n=58), n (%)
11p	0 (0)	2 (5)	3 (5)
11q	7 (6)	8 (20)	9 (16)
-12	0 (0)	3 (8)	4 (7)
12p	0 (0)	0 (0)	2 (3)
12q	0 (0)	3 (8)	3 (5)
+13	1 (1)	1 (3)	0 (0)
-13	0 (0)	4 (10)	3 (5)
13q	1 (1)	4 (10)	2 (3)
-14	0 (0)	1 (3)	1 (2)
14p	0 (0)	2 (5)	1 (2)
14q	1 (1)	0 (0)	1 (2)
+15	0 (0)	1 (3)	1 (2)
-15	0 (0)	2 (5)	1 (2)
15p	1 (1)	0 (0)	0 (0)
15q	2 (2)	1 (3)	3 (5)
-16	0 (0)	0 (0)	1 (2)
16p	7 (6)	1 (3)	2 (3)
16q	7 (6)	5 (13)	5 (9)
+17	0 (0)	0 (0)	1 (2)
-17	0 (0)	2 (5)	2 (3)
17p	0 (0)	1 (3)	1 (1)
17q	3 (3)	3 (8)	4 (7)
+18	0 (0)	1 (3)	0 (0)
-18	0 (0)	3 (8)	5 (9)
18q	0 (0)	0 (0)	1 (2)
+19	0 (0)	2 (5)	1 (2)
-19	0 (0)	1 (3)	1 (2)
19p	2 (2)	0 (0)	2 (3)
19q	0 (0)	1 (3)	1 (2)
+20	0 (0)	0 (0)	1 (2)
-20	0 (0)	1 (3)	1 (2)
20q	1 (1)	3 (8)	2 (3)
+21	0 (0)	3 (8)	2 (3)
-21	0 (0)	2 (5)	4 (7)
21q	5 (5)	0 (0)	0 (0)
-22	0 (0)	1 (3)	1 (2)
+mar	1 (1)	10 (25)	6 (10)

Tabla 41. Alteraciones cromosómicas observadas en las LAM *de novo*, sLAM/t-LAM y en las LAM post-TPH.



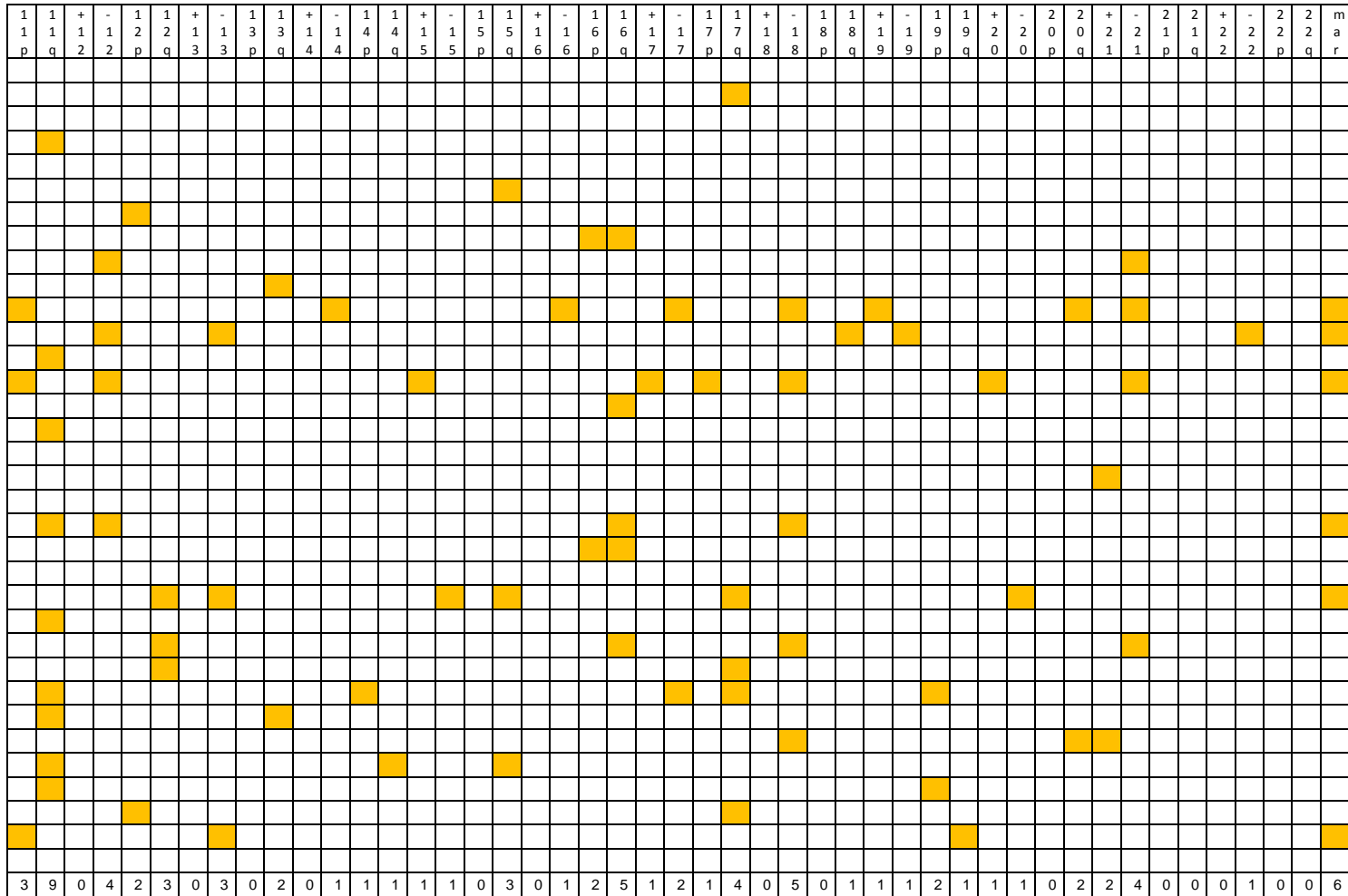
■ LAM *de novo*
 ■ s-LAM/t-LAM
 ■ LAM post-TPH

Tabla 41. Alteraciones cromosómicas observadas en las LAM *de novo*, sLAM/t-LAM y en las LAM post-TPH.



■ LAM *de novo*
■ s-LAM/t-LAM
 ■ LAM post-TPH

Tabla 41. Alteraciones cromosómicas observadas en las LAM *de novo*, sLAM/t-LAM y en las LAM post-TPH.

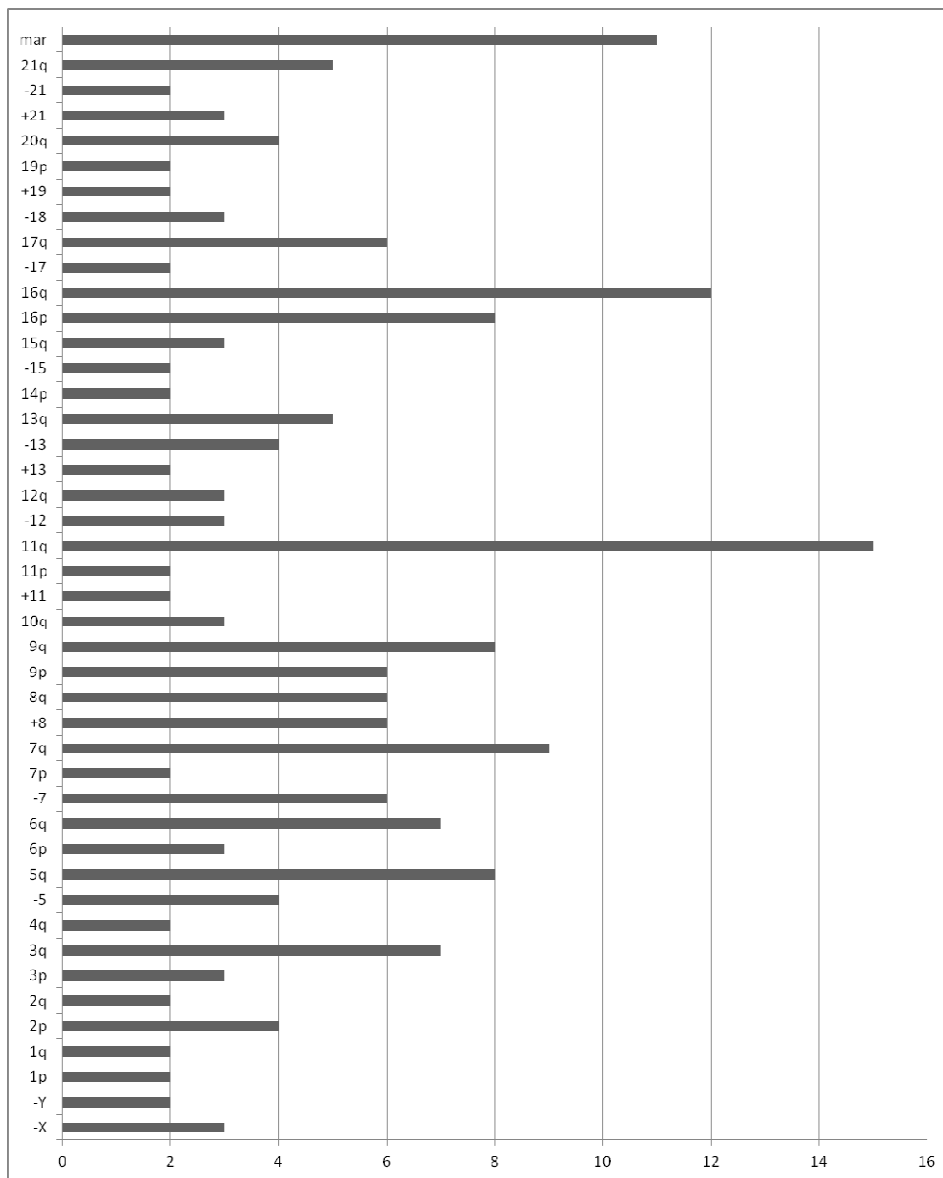


■ LAM *de novo*
 ■ s-LAM/t-LAM
 ■ LAM post-TPH

5.3.1. Alteraciones cromosómicas en el momento del diagnóstico de la LAM inicial (111 LAM *de novo* y 40 s-LAM/t-LAM).

En el momento del diagnóstico inicial de la LAM se hallaron implicados 211 cromosomas, en un total de 191 alteraciones citogenéticas. Los cromosomas afectados, por orden de frecuencia fueron: 11q (15), 16q(12), mar (11), 7q (9), 9q (8), 16p (8), 5q (8), 3q (7), 6q (7), -7 (6), +8 (6), 8q (6), 9p (6), 17q (6), 13q (5), 21q (5), 2p (4), -5 (4), -13 (4), 20q (4), -X (3), 3p (3), 6p (3), 10q (3), -12 (3), 12q (3), 15q (3), -18 (3), +21(3), -Y (2), 1p (2), 1q (2), -2 (2), 2q (2), 4q (2), 7p (2), +11 (2), 11p (2), +13 (2), 14p (2), -15 (2), -17 (2), +19 (2), 19p (2), -21 (2), 4p (1), -9 (1), 10p (1), -14 (1), 14q (1), +15 (1), 17p (1), -19 (1), 19q (1), -20 (1), -22 (1) (Figura 36).

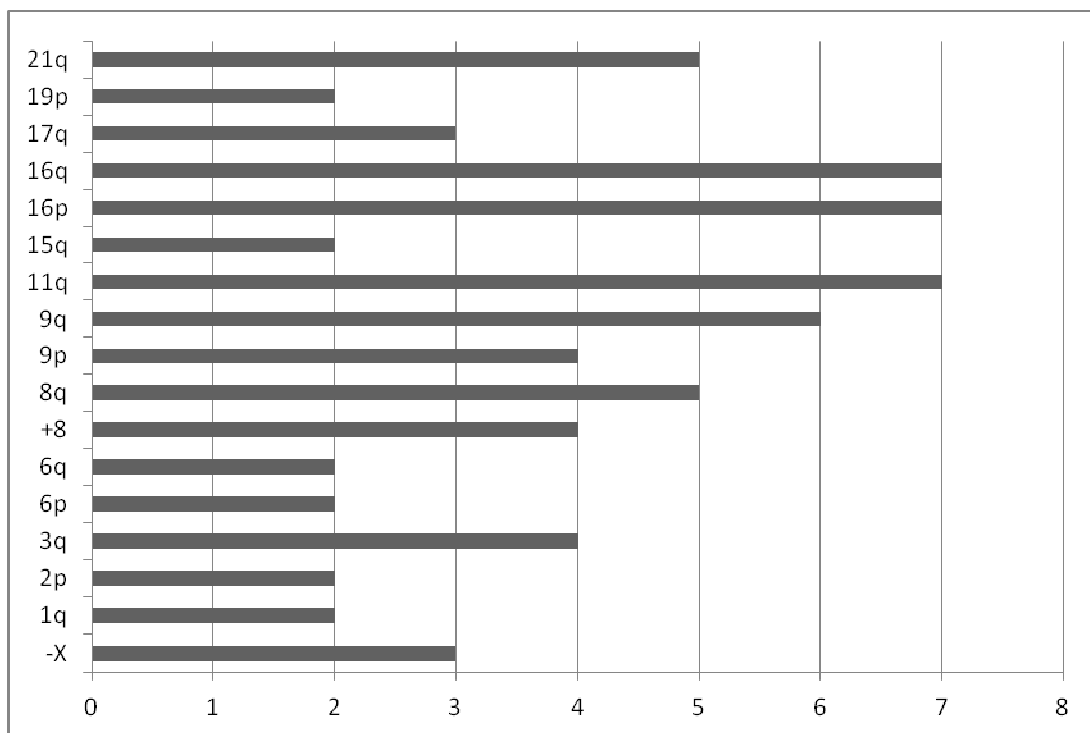
Figura 36. Tipo y frecuencia de los cromosomas afectados en el momento del diagnóstico de la LAM inicial (111 LAM *de novo* y 40 s-LAM/t-LAM).



5.3.2. Alteraciones cromosómicas en las LAM *de novo*.

Hubo 83 cromosomas implicados en un total de 55 alteraciones citogenéticas. Los cromosomas afectados, por orden de frecuencia fueron: 11q (7), 16p (7), 16q (7), 9q (6), 8q (5), 21q (5), 3q (4), +8 (4), 9p (4), -X (3), 17q (3), 1q (2), 2p (2), 6p (2), 6q (2), 15q (2) y 19p (2), -Y (1), 1p (1), -2 (1), 2q (1), 5q (1), -7 (1), 7p (1), -9 (1), 10 p(1), 10 q (1), +11 (1), +13 (1), 13q (1), 14q (1), 20q (1), mar (1) (Figura 37). Aproximadamente, una cuarta parte de los cromosomas afectados fueron consecuencia de alteraciones citogenéticas recurrentes incluidas en el grupo de pronóstico favorable, de acuerdo con la estratificación del riesgo citogenético según el MRC: inv(16)(p13q22) en 7 casos, t(8;21)(q22;q22) en 5 casos y t(15;17)(q22;q21) en 2 casos. La t(8;21) y la t(15;17) se observaron exclusivamente en las LAM *de novo*, mientras que la inv(16) también se detectó en un caso de t-LAM. Las alteraciones en el cromosoma 11q fueron secundarias en dos casos a una t(9;11) y en otro caso a una t(11;19), ambas incluidas en el grupo de riesgo intermedio, mientras que en los otros 4 casos fueron consecuencia de otras translocaciones que implicaron al cromosoma 11q23, incluidas en el grupo de riesgo citogenético adverso. En esta serie, la monosomía del cromosoma X y la afectación del cromosoma 21q se observaron de forma exclusiva en este subgrupo de pacientes.

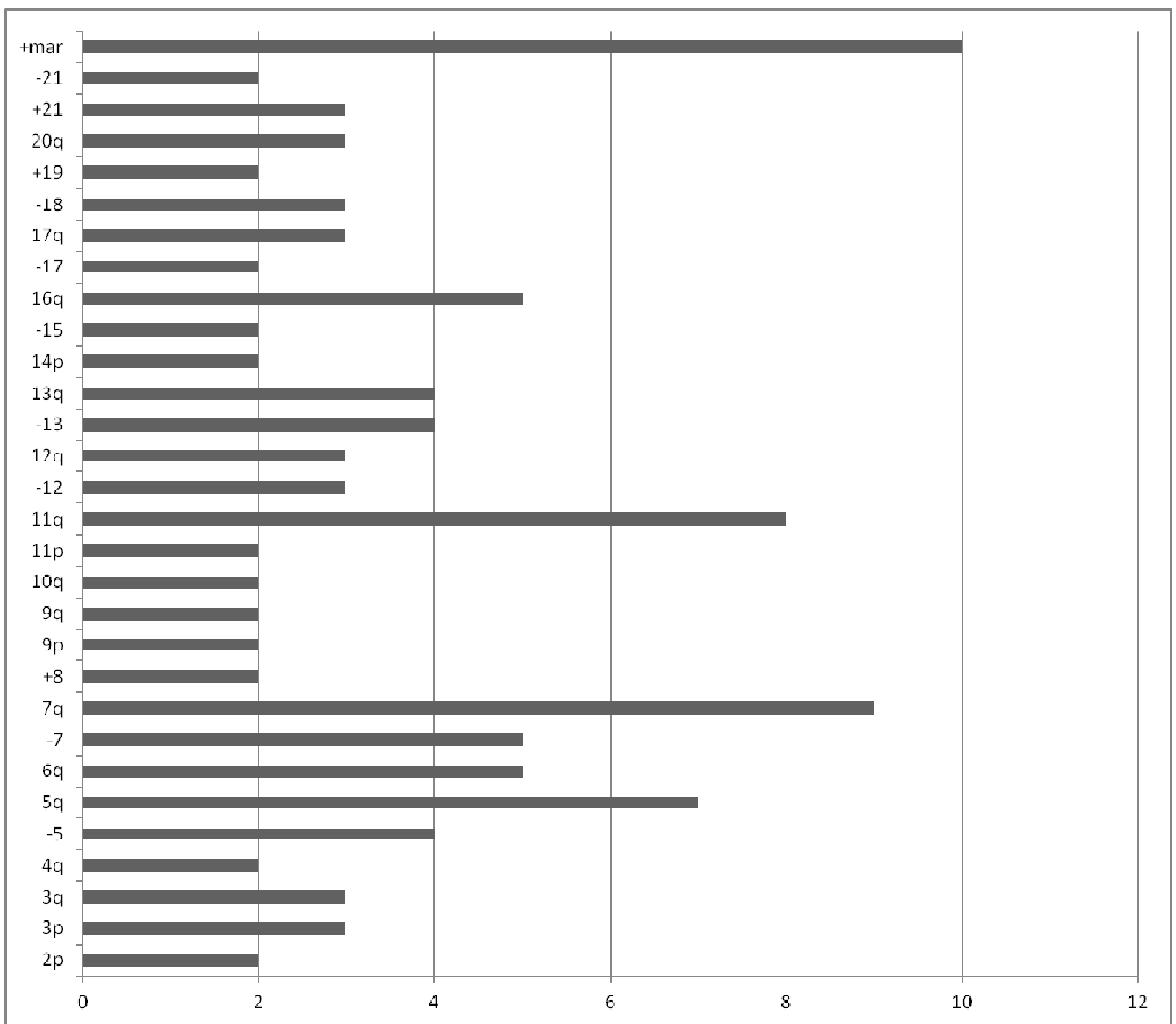
Figura 37. Tipo y frecuencia de los cromosomas afectados en las LAM *de novo*.



5.3.3. Alteraciones cromosómicas en las s-LAM/t-LAM.

Hubo 128 cromosomas implicados en un total de 136 alteraciones citogenéticas. Los cromosomas afectados, por orden de frecuencia, fueron: mar (10), 7q (9), 11q (8), 5q (7), 6q (5), -7 (5), 16q (5), -5 (4), -13 (4), 13q (4), 3p (3), 3q (3), -12 (3), 12q (3), 17q (3), -18 (3), 20q (3), +21 (3), 2p (2), 4q (2), +8 (2), 9p (2), 9q (2), 10q (2), 11p (2), 14p (2), -15 (2), -17 (2), +19 (2), -21 (2), -Y (1), 1p (1), -2 (1), 2q (1), 4p (1), 6p (1), 7p (1), 8q (1), +11 (1), +13 (1), -14 (1), +15 (1), 15q (1), 16p (1), 17p (1), -19 (1), 19q (1), -20 (1), -22 (1) (Figura 38). En esta serie, las alteraciones en los cromosomas 9q y 10q se observaron de forma exclusiva en las s-LAM/t-LAM.

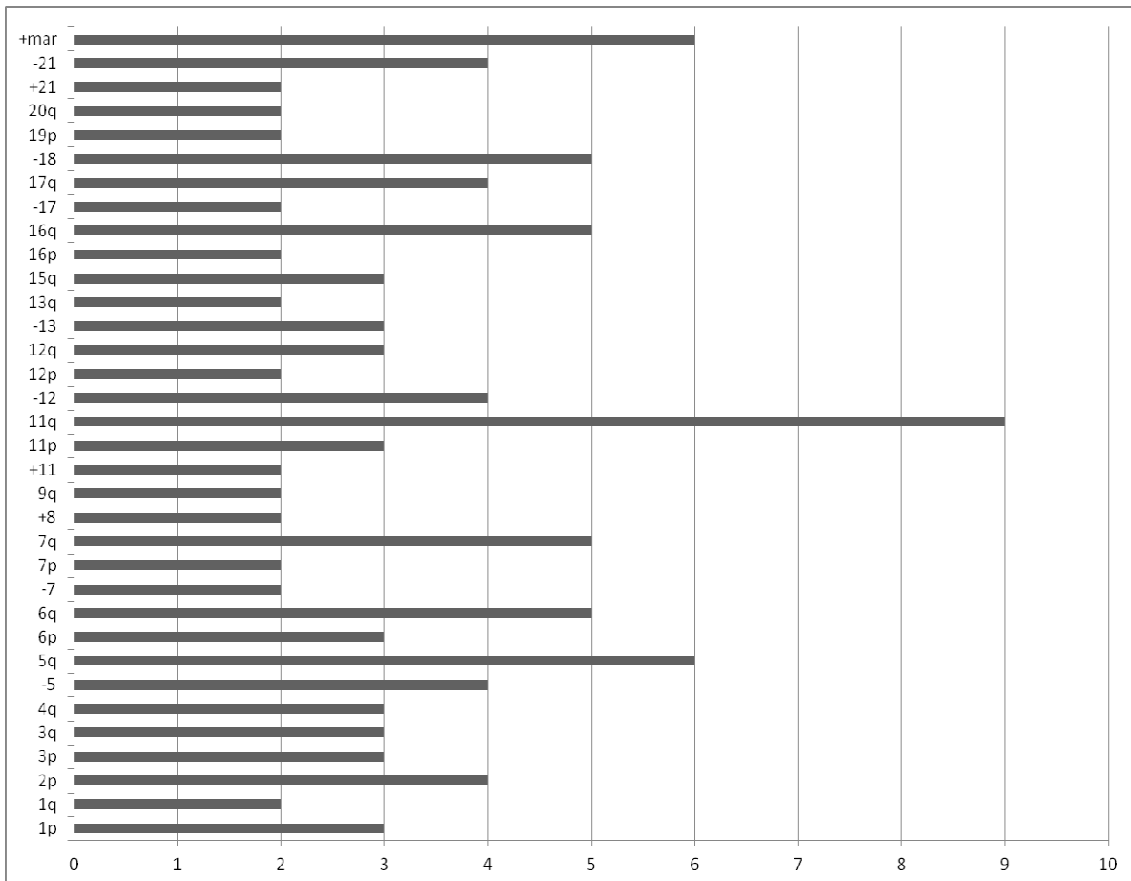
Figura 38. Tipo y frecuencia de los cromosomas afectados en las s-LAM/t-LAM.



5.3.4. Alteraciones cromosómicas en las LAM post-TPH.

Se detectaron 129 cromosomas implicados en un total de 137 alteraciones citogenéticas. Los cromosomas afectados, por orden de frecuencia, fueron: 11q (9), 5q (6), mar (6), 6q (5), 7q (5), 16q (5), -18 (5), 2p (4), -5 (4), -12 (4), 17q (4), -21 (4), 1p (3), 3p (3), 3q (3), 4q (3), 6p (3), 11p (3), 12q (3), -13 (3), 15q (3), 1q (2), -7 (2), 7p (2), +8 (2), 9q (2), +11 (2), 12p (2), 13q (2), 16p (2), -17 (2), 19p (2), 20q (2), +21 (2), -Y (1), 4p (1), -9 (1), 10p (1), -14 (1), 14p (1), 14q (1), +15 (1), -15 (1), 17p (1), +19 (1), -19 (1), 19q (1), -20 (1), -22 (1) (Figura 39). En esta serie, las alteraciones en el cromosoma 12p se observaron de forma exclusiva en las LAM post-TPH.

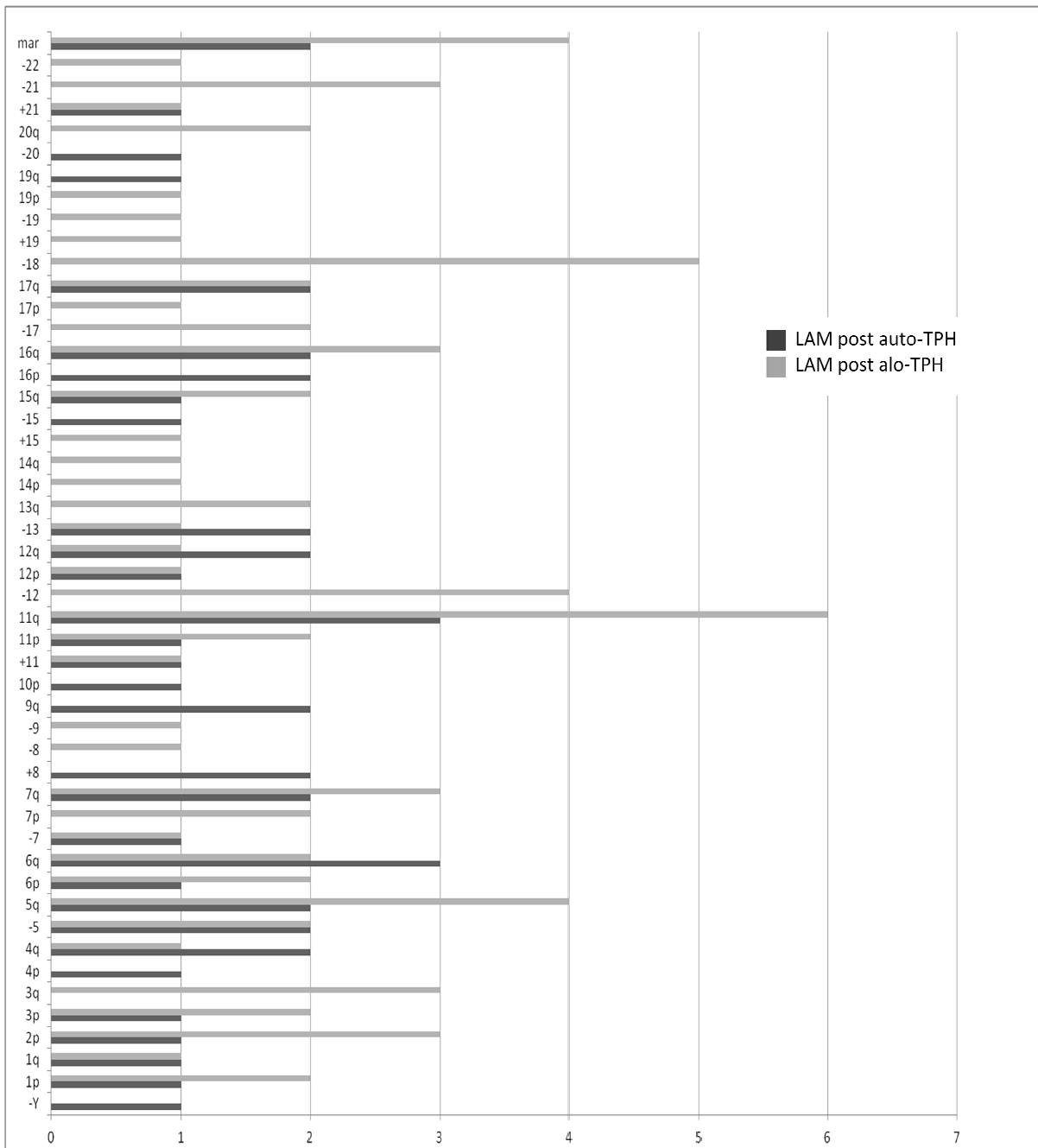
Figura 39. Tipo y frecuencia de los cromosomas afectados en las LAM post-TPH.



Los cromosomas afectados por orden de frecuencia en las LAM post auto-TPH fueron: 6q (3), 11q (3), 4q (2), -5 (2), 5q (2), 7q (2), +8 (2), 9q (2), 12q (2), -13 (2), 16p (2), 16q (2), 17q (2), mar (2), -Y (1), 1p (1), 1q (1), 2p (1), 3p (1), 4p (1), 6p (1), -7 (1), 10p (1), +11 (1), 11p (1), 12p (1), -15 (1), 15q (1), 19q (1), -20 (1) y +21 (1) (Figura 40).

Los cromosomas afectados por orden de frecuencia en las LAM post alo-TPH fueron: 11q (6), -18 (5), 5q (4), -12 (4), mar (4), 2p (3), 3q (3), 7q (3), 16q (3), -21 (3), 1p (2), 3p (2), -5 (2), 6p (2), 6q (2), 7p (2), 11p (2), 13q (2), 15q (2), -17 (2), 17q (2), 20q (2), 1q (1), 4q (1), -7 (1), -8 (1), -9 (1), +11 (1), 12 p (1), 12q (1), -13 (1), 14p (1), 14q (1), +15 (1), 17p (1), +19 (1), -19 (1), 19 p (1), +21 (1) y -22 (1) (Figura 40).

Figura 40. Tipo y frecuencia de los cromosomas afectados en las LAM post auto-TPH y post alo-TPH.



5.4. Estudio de la delección de *TP53* detectada por FISH

Retrospectivamente, se ha realizado el estudio de la delección del gen *TP53* en 20 pacientes de los que se disponía muestra en el momento del diagnóstico de la LAM inicial y de la LAM post-TPH. En un caso se observó una delección de *TP53* y en otro una monosomía del cromosoma 17, tanto en el momento del diagnóstico de la LAM inicial como en el de la LAM post-TPH. Ambos casos presentaban un cariotipo complejo en los dos momentos del estudio, uno de ellos con monosomía del cromosoma 17. En la tabla 42 se recoge la relación de la delección de *TP53* con el cariotipo complejo, el cariotipo monosómico y con 5q- en el momento del diagnóstico y de la LAM post-TPH. En la tabla 43 se recoge el cariotipo y el resultado de la FISH en ambos momentos

Tabla 42. Delección de *TP53* en el momento del diagnóstico y de la LAM post-TPH.

	LAM diagnóstico (n=20)	LAM post-TPH (n=20)
Cariotipo complejo	2/4 (50%)	2/6 (33%)(
Cariotipo monosómico	2/4 (50%)	2/5 (40%)
5q-	2/3 (67%)	2/3 (67%)

Tabla 43. Delección de *TP53* detectada por FISH

Subtipo LAM diagnóstico	Cariotipo LAM diagnóstico	TP53 LAM diagnóstico			Cariotipo LAM post-TPH	TP53 LAM post-TPH		
		2R/2G	1R/2G	1R/1G		2R/2G	1R/2G	1R/1G
LAM sin maduración	46,XX[20]	192	8	0	46,XX[5]//46,XY[15]	199	1	0
LAM con maduración	46,XY,t(10;11)(p13;q21)[17]/46,XY[3]	194	6	0	46,XY,t(10;11)(p13;q21)[13]/46,XY[12]	195	5	0
LAM con maduración	46,XX[20]	191	9	0	85-91,XXXX,-3,-6x2,-8x2,-9,add(11)(p15)x2,-12x2,+15,+17,add(17)(p13),-18,+20,-21,+mar1,+mar2,+mar3,+mar4,+mar5,+mar6[cp13]	195	5	0
LAM con cambios relacionados con displasia	46,XY[30]	196	4	0	46,XY[20]	195	5	0
LAM con maduración	46,XY[20]	198	2	0	46,XY,add(16)(q24)[14]/46,XY[6]	194	6	0
LAM con cambios relacionados con displasia	46,XX,del(7)(q22q36)[18]/46,XX[2]	197	3	0	46,XX[20]	191	9	0
LAM con cambios relacionados con displasia	46,XX[30]	197	3	0	47,XX,+11[2]/46,XX[18]	196	4	0
LAM con cambios relacionados con displasia	42-44,XY,del(5)(q13),-12,-15,add(16)(q13),-18,-19[4],-21[4],+mar1,+mar2[4][cp8]	194	6	0	44,XY,del(3)(q21q29),del(5)(q13q31),-7,add(11)(q23),-12,add(16)(q24),-18,+mar[cp9]/46,XY[11]	192	8	0
LAM monocítica/monoblástica	46,XX[30]	196	4	0	46,XX[20]	200	0	0
LAM NPM1 mutada	46,XX[30]	194	6	0	46,XX[16]//46,XY[4]	195	5	0
LAM con inv(16)	46,XY,inv(16)(p13q22)[10]/46,XY[10]	193	7	0	46,XY,inv(16)(p13q22)[8]	196	4	0
LAM NPM1 mutada	46,XX[30]	196	4	0	45,XX,-7[20]	198	2	0
LAM con cambios relacionados con displasia	44-46,X,-Y,t(4;17)(p16;q21), ÷t(4;15)(p14;q13),del(5)(q13q33),del(6)(q23),del(7)(q22q32),del(12)(q13),-13,-15,-20,+mar1,+mar2,+mar3[15]/46,XY[2]	28	72	0	44-46,X,-Y,t(4;17)(p16;q21), ÷t(4;15)(p14;q13),del(5)(q13q33),del(6)(q23),del(7)(q22q32),del(12)(q13),-13,-15,-20,+mar1,+mar2,+mar3[20]	22	78	0
LAM mínimamente diferenciada	47,XY,+13[7]/46,XY[16]	192	8	0	46,XY[20]	195	5	0
LAM con cambios relacionados con displasia	45,XX,del(5)(q13q33),dup(11)(q13q25),add(14)(p11),-17[17]/46,XX[3]	35	0	65	45,XX,del(5)(q13q33),dup(11)(q13q25),add(14)(p11),-17,der(19)t(17;19)(q21;p13.3)[20]	17	0	83
LAM mínimamente diferenciada	46,XX[30]	195	5	0	46,XX[24]	197	3	0
LAM con cambios relacionados con displasia	45,XX,add(2)(p13),del(7)(q22q32),-11,-18,del(20)(q11),+mar[18]/46,XX[2]	191	9	0	46,XX,add(2)(p13),del(7)(q22q32),+11,-18,del(20)(q11),+21[cp3]/46,XX[17]	194	6	0
LAM mínimamente diferenciada	46,XY,der(6)t(6;11)(q25;q13)t(6;11)(q27;q23),der(11)t(6;11)(q25;q13)t(6;11)(q27;q23)[20]	197	3	0	46,XY,t(5;15)(q13;q13),der(6)t(6;11)(q25;q13)t(6;11)(q27;q23),der(11)t(6;11)(q25;q13)t(6;11)(q27;q23)add(11)(q13),del(14)(q11.2)[20]	198	2	0
LAM mínimamente diferenciada	46,XY[20]	198	2	0	46,XY,t(12;17)(p11;q11)[14]/46,XY[5]//46,XX[1]	195	5	0
LAM con maduración	46,XX,t(11;19)(q21;p13)[20]	195	5	0	46,XX[20]	194	6	0

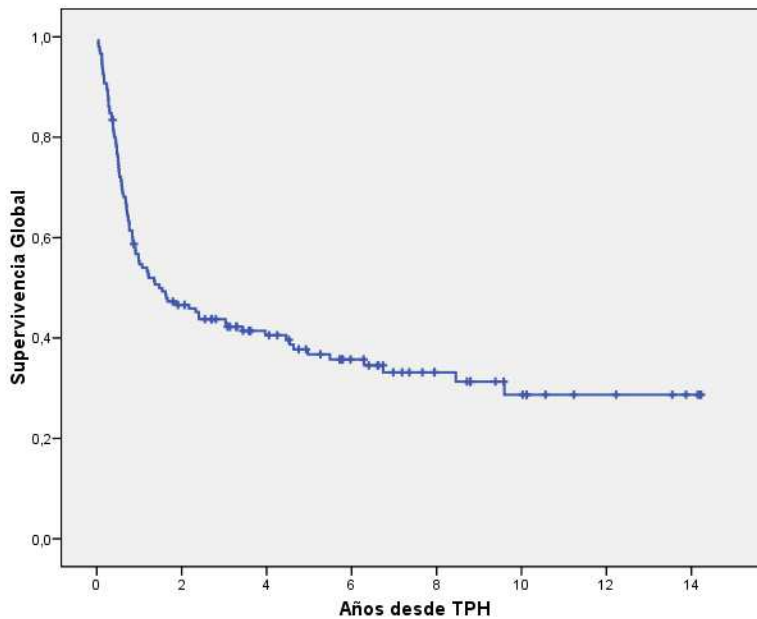
2R/2G normal; 1R/2G delección *TP53* ; 1R/1G monosomía 17.

5.5. Supervivencia global

5.5.1. Supervivencia global de la serie

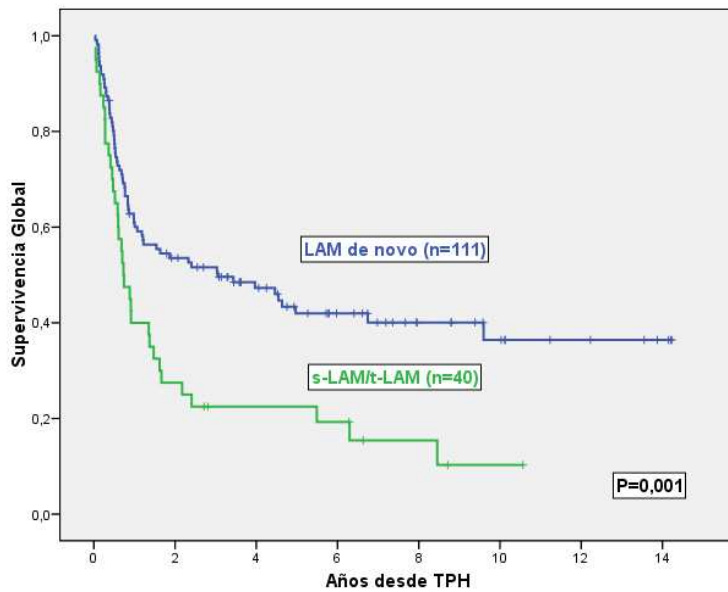
En el momento del análisis 97 pacientes (64%) habían fallecido. La mediana de SG de la serie global, desde el momento del TPH, fue de 1,47 años (IC 95%, 0,43-2,51) con una probabilidad de SG a los 5 años del 37% (IC 95%, 29%-45%) y a los 10 años del 29% (IC 95%, 20%-38%) (Figura 41).

Figura 41. SG de la serie desde el TPH.



Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la SG, en función del tipo de leucemia al diagnóstico ($p=0,001$) con una SG mediana de 3,033 años (IC 95%, 0,592-5,474) y de 0,699 años (IC 95%, 0,496-0,901) para las LAM *de novo* y para las s-LAM/t-LAM, respectivamente, y una probabilidad de SG a los 5 años del 41% (IC 95%, 31%-51%) y del 24% (IC 95%, 10%-38%), respectivamente (Figura 42).

Figura 42. SG de las LAM *de novo* y de las s-LAM/t-LAM.



También se observaron diferencias estadísticamente significativas en función de la presencia o no de cariotipo complejo ($p=0,011$) en el momento del diagnóstico, con una SG mediana de 0,742 años (IC 95%, 0,401-1,084) y una probabilidad de SG a los 5 años del 11% (IC 95%, 0%-29%) para los pacientes que presentaron cariotipo complejo, y una SG mediana de 2,326 años (IC 95%, 0,114-4,538) y una SG a los 5 años del 40% (IC 95%, 31%-49%) para los pacientes que no lo presentaron (Figura 43).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en función de la estratificación del riesgo citogenético según el MRC, con una SG mediana de 2,403 años (IC 95%, 0,209-4,597) y 0,885 años (IC 95%, 0,628-1,142) para los pacientes de los grupos intermedio y adverso, respectivamente, y con una probabilidad de SG a los 5 años para los grupos de riesgo favorable, intermedio y adverso del 53% (IC 95%, 27%-79%), 39% (IC 95%, 29%-49%) y del 29% (IC 95%, 13%-45%), respectivamente (Figura 44).

Figura 43. SG en función de la presencia de cariotipo complejo al diagnóstico.

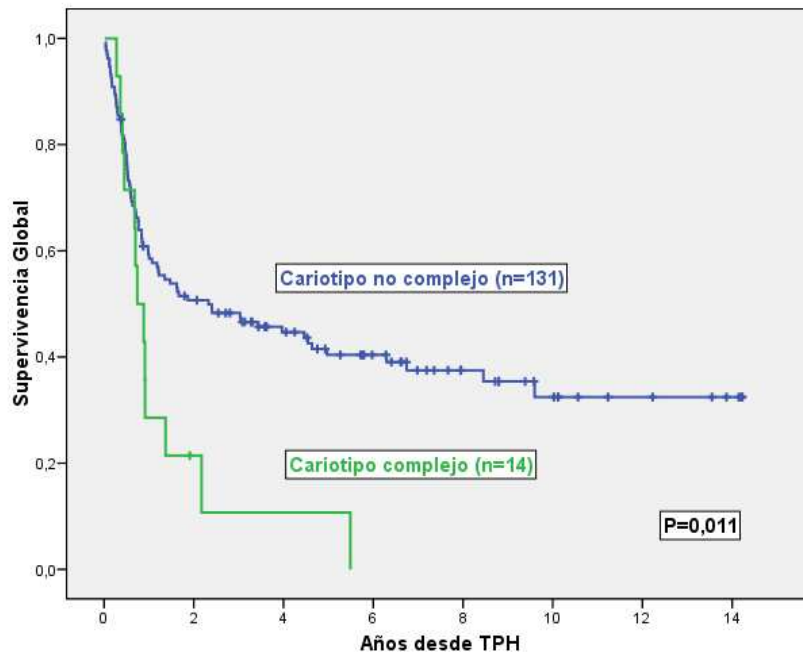
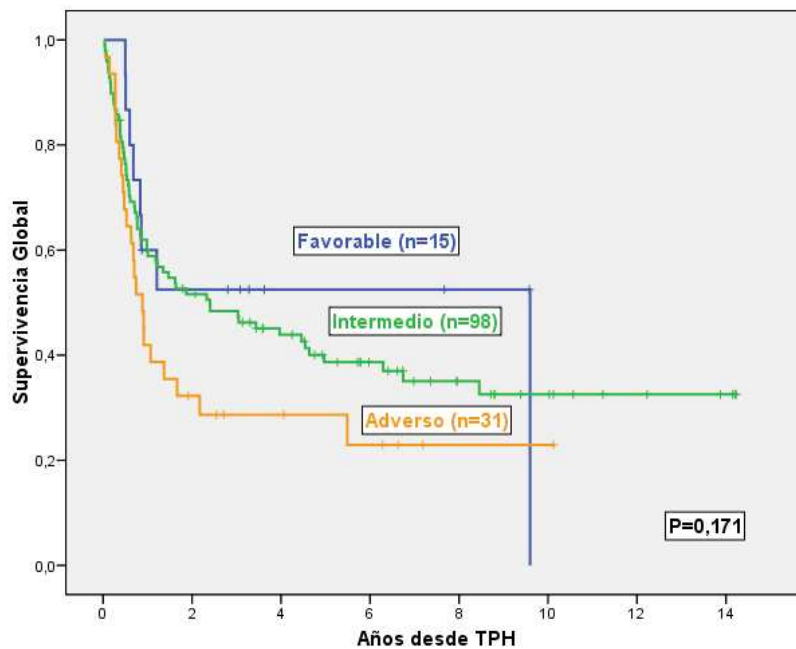


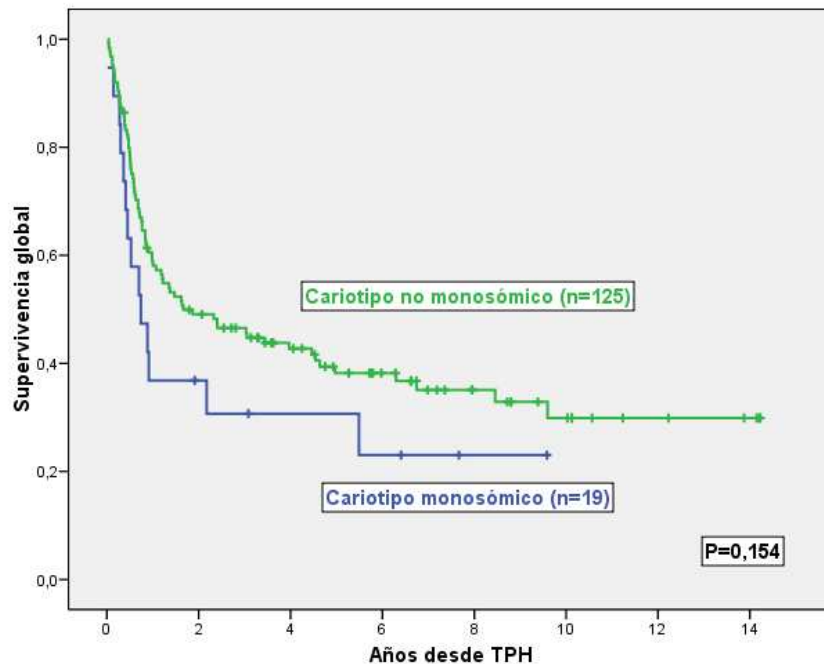
Figura 44. SG en función de la estratificación del riesgo citogenético según el MRC.



Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas en función de la presencia o no de cariotipo monosómico al diagnóstico, con una SG mediana de 0,74 años (IC 95%, 0,232-1,253) para los pacientes que presentaban cariotipo monosómico y de 1,663 años (IC 95%,

0,174-3,152) para los que no lo presentaban, y una probabilidad de SG a los 5 años del 31% (IC 95%, 10%-52%) y del 38% (IC 95%, 29%-47%), respectivamente (Figura 45).

Figura 45. SG en función de la presencia o no de cariotipo monosómico en el momento del diagnóstico.



5.5.2. Supervivencia global de las LAM post-TPH.

En el momento del análisis 53 pacientes habían fallecido (91%). La SG mediana de los pacientes con una LAM post-TPH, desde el momento de su aparición, fue de 0,263 años (IC 95%, 0,166-0,360) con una probabilidad de SG a los 5 años del 15% (IC 95%, 5%-25%) (Figura 46).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en función de la estratificación del riesgo citogenético según el MRC, con una SG mediana de 0,447 años (IC 95%, 0,035-0,859) y de 0,225 años (IC 95%, 0,055-0,394) para los grupos pronósticos intermedio y adverso, respectivamente, y una probabilidad de SG al año del 30% (IC 95%, 12%-48%) y del 6% (IC 95%, 0%-17%), respectivamente ($p=0,006$) (Figura 47).

Figura 46. SG de las LAM post-TPH.

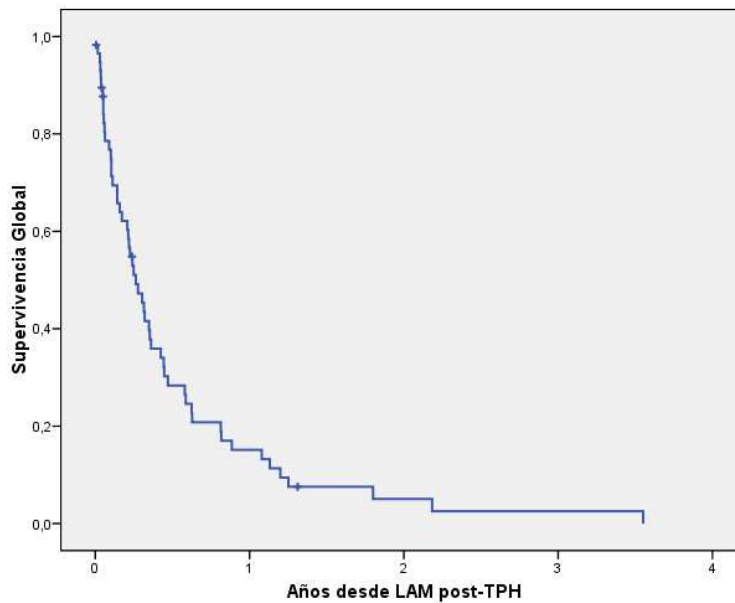
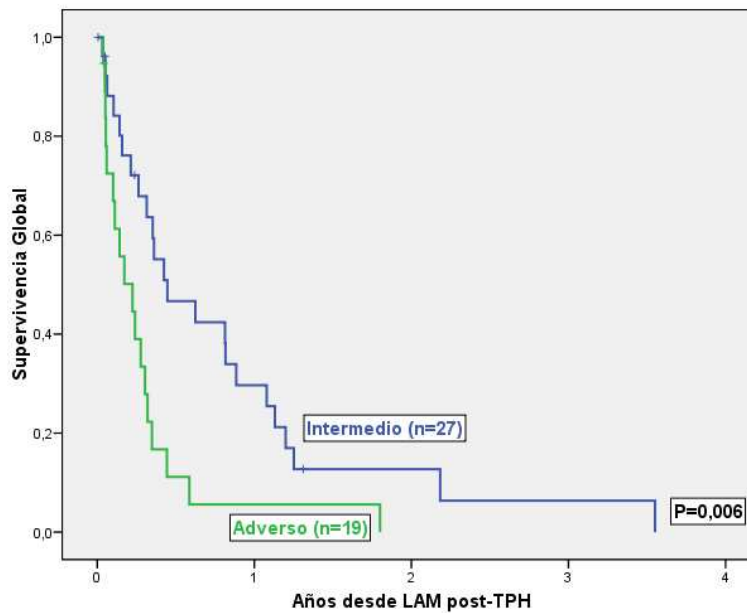
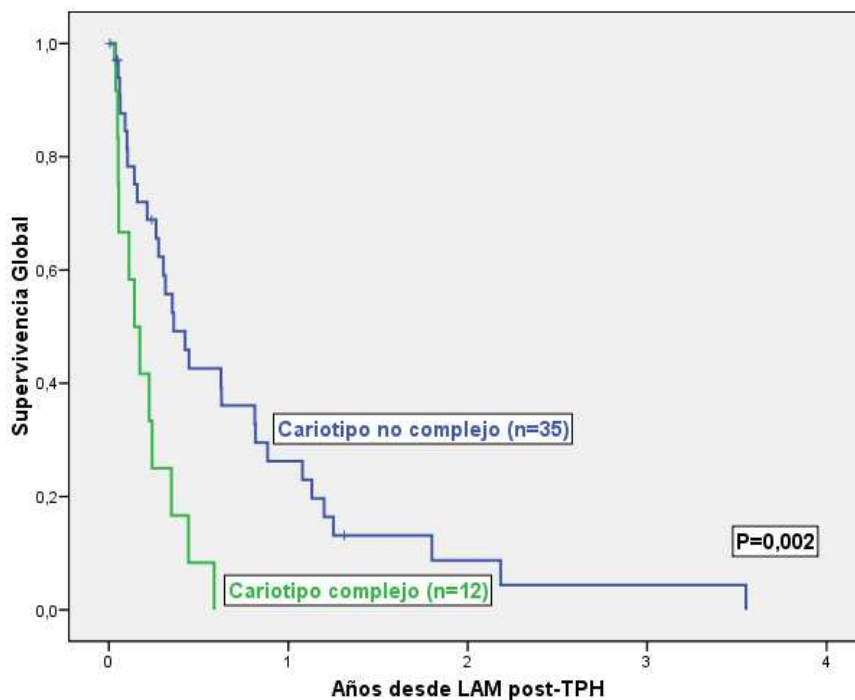


Figura 47. SG de las LAM post-TPH en función de la estratificación del riesgo citogenético según el MRC (intermedio vs adverso).



También se observaron diferencias estadísticamente significativas en función de la presencia o no de cariotipo complejo, en el momento de la aparición de la LAM post-TPH, con una SG mediana de 0,142 años (IC 95%, 0,040-0,245) y de 0,362 años (IC 95%, 0,186-0,538), respectivamente, y una probabilidad de SG a los 6 meses del 8% (IC 95%, 0%-24%) para los pacientes que presentaron cariotipo complejo y del 43% (IC 95%, 26%-60%) para los que no lo presentaron ($p=0,002$) (Figura 48).

Figura 48. SG de las LAM post-TPH en función de la presencia de cariotipo complejo.



No se observaron diferencias estadísticamente significativas en función de la presencia o no de cariotipo monosómico, en el momento del diagnóstico de la LAM post-TPH, con una SG mediana de 0,173 años (IC 95%, 0-0,353) y una SG a los 5 años del 9% (IC 95%, 0%-26%) para los pacientes con cariotipo monosómico y una SG mediana de 0,353 años (IC 95%, 0,275-0,432) y una SG a los 5 años del 22% (IC 95%, 7%-37%) para los pacientes que no presentaron cariotipo monosómico ($p=0,099$).

5.6. Incidencia de LAM post-TPH y mortalidad no debida a recaída.

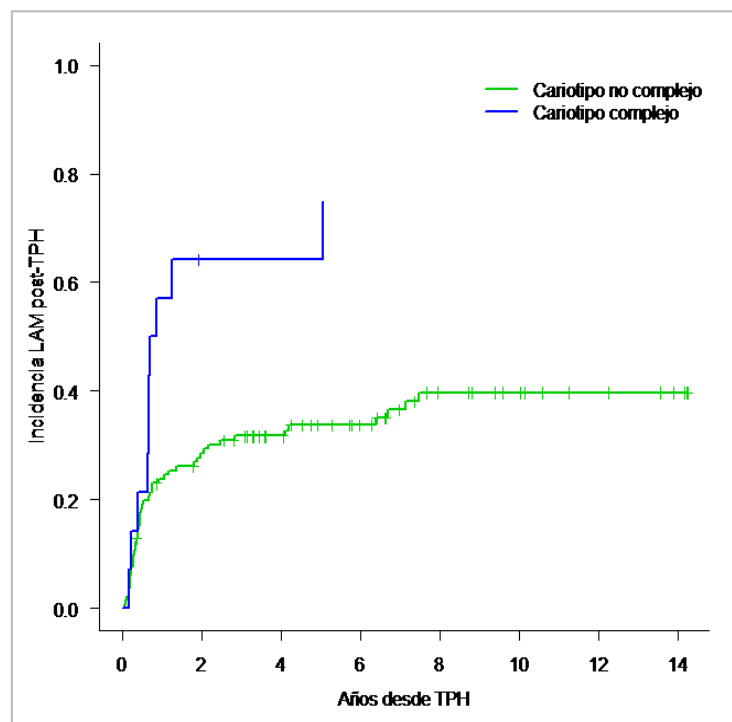
La incidencia de LAM post-TPH de esta serie a los 5 años fue del 36% (IC 95%, 28%-44%) y la mortalidad no debida a recaída a los 5 años del 29% (IC 95%, 22%-36%). Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la incidencia de LAM post-TPH en función de la presencia o no de cariotipo complejo, en el momento del diagnóstico de la LAM inicial, con una incidencia de LAM post-TPH a los 5 años del 64% (IC 95%, 37%-95%) para los pacientes que presentaron cariotipo complejo y del 34% (IC 95%, 26%-42%) para los pacientes restantes ($p=0,004$) (Figura 49).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la incidencia de LAM post-TPH en función del tipo de leucemia al diagnóstico, con una incidencia de LAM post-TPH a los 5 años del 34% (IC 95%, 25%-43%) para las LAM *de novo* y del 42% (IC 95%, 26%-58%) para las s-

LAM/t-LAM ($p=0,417$); de la estratificación del riesgo citogenético según el MRC, con una incidencia de LAM post-TPH del 33% (IC 95%, 8%-58%), del 35% (IC 95%, 25%-45%) y del 42% (IC 95%, 24%-60%) para los pacientes de riesgo citogenético favorable, intermedio y adverso, respectivamente ($p=0,536$); ni de la presencia de cariotipo monosómico al diagnóstico, con una incidencia de LAM post-TPH del 37% (IC 95%, 14%-60%) para los pacientes con cariotipo monosómico y del 37% (IC 95%, 28%-76%) para los que no presentaron cariotipo monosómico ($p=0,776$).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la mortalidad no debida a recaída para ninguna de las variables analizadas, pero las LAM secundarias tendieron a presentar una mortalidad no debida a recaída a los 5 años superior a las LAM *de novo*, 39% vs 25% (IC 95%, 23%-55% vs 17%-33%) ($p=0,051$).

Figura 49. Incidencia de LAM post-TPH en función de la presencia o no de cariotipo complejo en el momento del diagnóstico.



6. DISCUSIÓN

Las LAM que acontecen tras un TPH efectuado a pacientes con LAM siempre han sido consideradas recaídas de la LAM inicial. Sin embargo, estos pacientes han recibido tratamientos con regímenes que incluyen antraciclinas (inhibidores de la topoisomerasa II) y citarabina y, posteriormente, se han consolidado con un TPH, previo acondicionamiento con agentes alquilantes (ciclofosfamida, melfalán, busulfán, tiotepa), antimetabolitos (fludarabina) combinados o no con ICT. Dado que la quimioterapia previa recibida, principalmente la dosis total acumulada de agentes alquilantes, se considera el factor de riesgo más importante para desarrollar una t-NM, alguna de estas LAM post-TPH podrían tratarse en realidad de una t-LAM.

En la presente Tesis Doctoral, con el objetivo de analizar las características genéticas de las LAM post-TPH, se han estudiado los datos citogenéticos y moleculares, en el momento del diagnóstico, de 151 pacientes trasplantados por una LAM y se han comparado con las características citogenéticas y moleculares de las LAM post-TPH que presentaron 58 pacientes de la serie. Al mismo tiempo se han analizado en estos pacientes las variables descritas en la bibliografía que pueden tener una posible influencia en el desarrollo de una LAM post-TPH.

6.1. Características citogenéticas y moleculares

6.1.1. Características morfológicas y citogenéticas en el momento del diagnóstico.

En el presente estudio se han analizado las características morfológicas, citogenéticas y moleculares de 151 pacientes trasplantados por una LAM entre los años 2000 y 2014. Las características observadas en esta serie, en el momento del diagnóstico, no difieren de las descritas previamente por otros grupos. El 73% de los pacientes presentaron una LAM *de novo*, el 23% una s-LAM y el 4% una t-LAM, similar a la distribución observada en otros estudios (Kayser et al, 2011; Granfeldt Ostgard et al 2015). De acuerdo con la estratificación del riesgo citogenético según el MRC (Grimwade et al, 2010), el 10% de las LAM presentaron un cariotipo de pronóstico favorable, el 69% un cariotipo de pronóstico intermedio y el 21% un cariotipo de pronóstico adverso. Esta distribución es similar a la observada en la serie de Granfeldt Ostgard et al (J Clin Oncol 2015). En dicho estudio, que incluye 2249 pacientes diagnosticados de LAM *de novo* (74%), 603 de s-LAM (20%) y 203 de t-LAM (6%), el 6% de los pacientes presentaron un cariotipo de pronóstico favorable, el 73% un cariotipo de pronóstico intermedio y el 21% restante un cariotipo de pronóstico adverso.

En el presente trabajo, en el 13% de todas las LAM y en el 28% de las que presentaron un cariotipo alterado, se observó un cariotipo monosómico, la misma incidencia observada por Medeiros et al (Blood 2010), en una serie de 1344 pacientes diagnosticados de LAM y tratados

con protocolos del SWOG y por Kayser et al (Blood 2012) en un grupo de 1058 LAM con cariotipo alterado (excluidas las LAM con inv(16), con t(15;17) o con pérdidas aisladas de cromosomas sexuales) y tratados entre los años 1993 y 2008 con protocolos del German-Austrian AML Study Group.

El porcentaje de cariotipos complejos de la presente serie (≥ 4 alteraciones citogenéticas no relacionadas), es también similar al 9% observado por Grimwade et al (Blood 2010) en una serie de 5876 pacientes, que incluyó 435 pacientes con s-LAM, tratados con diferentes protocolos del MRC entre los años 1988 y 2009, pero superior al 4,3% observado por Lo Coco et al (Haematologica 2008) en una serie de 397 pacientes tratados de forma uniforme con el protocolo LAM99P del grupo italiano GIMEMA, si bien en este último trabajo no se especifica el número de alteraciones que definen el cariotipo complejo (≥ 3 , ≥ 4 ó ≥ 5 alteraciones no relacionadas).

En el presente estudio, al igual que lo observado en el trabajo de Mauritzson et al (Leukemia 2002), aproximadamente el 25% de las anomalías cromosómicas observadas en las LAM *de novo* son alteraciones equilibradas e incluidas en el grupo de pronóstico favorable, inv(16)(p13q22), t(8;21)(q22;q22) y t(15;17)(q22;q21). La incidencia descrita en la bibliografía de LAM con afectación del complejo CBF es de un 12-17%, según los diferentes grupos (Slovak et al, 2000; Byrd et al, 2002; Grimwade et al 2010), igual al 12% observado en el presente trabajo. La incidencia de t(15;17)(q22;q21) se ha detectado en estudios previos en el 4%-13% de las LAM *de novo* (Slovak et al, 2000; Grimwade et al 2010) y la trisomía del cromosoma 8 en aproximadamente un 10% (Slovak et al, 2000; Byrd et al, 2002; Grimwade et al 2010), incidencias algo superiores a las observadas en esta serie (2% y 4%, respectivamente). Además, se ha descrito en la bibliografía que la trisomía 8 en las LAM *de novo*, a diferencia de lo que se observa en las t-LAM, generalmente se presenta como alteración única (Kayser et al, 2011). Sin embargo, en las LAM *de novo* del presente estudio, la trisomía 8 se presentó como alteración única en un solo caso. También la incidencia de t(11q23) de la presente serie (7%) ha sido algo superior al 3% observado en otros estudios (Mauritzson et al, 2002; Kayser et al, 2011). Estas diferencias probablemente se deben a que este trabajo sólo se incluyeron las LAM que recibieron un TPH.

6.1.2. Características citogenéticas de las LAM post-TPH.

El 38% de los pacientes de la serie (n=58) desarrollaron una LAM post-TPH. En el presente trabajo, el 72% de las LAM post-TPH presentaron un cariotipo alterado (en el 37% de los casos se observaron las mismas alteraciones presentes en la LAM inicial, asociadas o no a otras alteraciones cromosómicas adicionales y en el 35% restante se trató de una alteración

cromosómica *de novo*) y el 28% un cariotipo normal. La incidencia de cariotipos alterados descrita en la bibliografía en las t-LAM oscila entre un 64% y un 92% según los diferentes estudios (Smith et al, 2003; Kayser et al, 2011; Itzhar et al, 2011; Granfeldt Ostgard et al, 2015), similar a la observada en este trabajo. De acuerdo con la estratificación del riesgo citogenético según el MRC, el 5%-15% de las t-LAM descritas en otras series presentan un cariotipo de pronóstico favorable, el 46%-56% un cariotipo de pronóstico intermedio y el 39% un cariotipo de pronóstico adverso (Kayser et al, 2011; Granfeldt Ostgard et al, 2015), distribución muy parecida a la observada en las LAM post-TPH de la presente tesis (cariotipo de pronóstico favorable en el 4%, de pronóstico intermedio en el 53% y de pronóstico adverso en el 43%). El porcentaje de cariotipos complejos observados en este trabajo (27%) ha sido inferior al 40% observado por Mauritzson et al (Leukemia 2002). Esta diferencia puede deberse al hecho de que en el citado estudio el cariotipo complejo se definió como la presencia de ≥ 3 alteraciones citogenéticas no relacionadas y en el presente trabajo como la presencia de ≥ 4 alteraciones. Por otra parte, la incidencia de cariotipo monosómico observada en esta serie está en concordancia con el 25% descrito en las t-LAM (Kayser et al, 2011).

En este estudio, las LAM post-TPH presentaron, de forma estadísticamente significativa, respecto las LAM *de novo*, más cariotipos alterados, así como una mayor frecuencia de cariotipos de riesgo citogenético adverso, cariotipos monosómicos, cariotipos complejos, alteraciones estructurales desequilibradas y cariotipos hipodiploides. Estos resultados son coherentes con lo observado previamente por Mauritzson et al (Leukemia 2002) en un análisis en el que estudiaron las características clínicas y citogenéticas de un serie de 761 pacientes diagnosticados de t-LAM (n=47), t-SMD, LAM *de novo* (n=325) y SMD entre los años 1976-1993 y de 5098 casos reportados previamente en la bibliografía entre los años 1974-2001 (534 t-LAM y 3324 LAM *de novo*). En dicho estudio las t-LAM presentaron más cariotipos alterados (68% vs 50%, $p < 0,05$), mayor número de anomalías cromosómicas (≥ 3 anomalías cromosómicas) (40% vs 23%, $p < 0,001$) y cariotipos hipodiploides (39% vs 22%, $p < 0,001$) que las LAM *de novo*.

Si consideramos exclusivamente las LAM post-TPH con cariotipo normal y con alteraciones citogenéticas *de novo*, el número de pacientes con alteraciones citogenéticas relacionadas con la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II o a agentes alquilantes es escaso. Este hecho contrasta con las alteraciones citogenéticas observadas en 5 de las 6 t-LAM incluidas en esta misma serie: una $inv(16)(p13q22)$ y una $t(9;11)(p22;q23)$ en 1 caso, y una $7q-/-7$ en 3 pacientes. Este bajo porcentaje de alteraciones citogenéticas relacionadas con agentes citotóxicos, también difiere de lo observado en otros estudios en las t-LAM. Así, Granfeldt Ostgard et al (J Clin Oncol 2015) detectaron alteraciones cromosómicas relacionadas con

inhibidores de la topoisomerasa II y con agentes alquilantes en el 57% de las t-LAM con cariotipo alterado, porcentaje superior al 35% observado en la presente serie. En las series reportadas por Mauritzson et al (Leukemia 2002), Smith et al (Blood 2003) y Kayser et al (Blood 2011) la incidencia de -5/5q-/-7/7q- oscila entre el 35% y el 70% de las t-LAM, muy superior al 16% observado en el presente estudio. Así mismo, la incidencia de alteraciones cromosómicas relacionadas con la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II, t(v;11q23), t(v;21q22), t(15;17) e inv(16) observada en los estudios referidos es del 10-30%, también superior al 3% observado en este trabajo. El porcentaje de cariotipos complejos observados en este subgrupo de pacientes (16%), también ha sido inferior al 25% observado en t-LAM en otros estudios (Kayser et al, 2011; Granfeldt Ostgard et al, 2015). En el trabajo de Kayser et al (Blood 2011) la incidencia observada de cariotipo monosómico fue del 24%, mientras que en el presente estudio fue del 13%. La trisomía del cromosoma 8 se ha observado en el 10-17% de las t-LAM (Mauritzson et al, 2002; Granfeldt Ostgard et al, 2015), la misma incidencia observada en este estudio (16%). En la serie de Granfeldt Ostgard et al (J Clin Oncol 2015), a diferencia de lo descrito en la bibliografía, la trisomía del cromosoma 8 se asoció a un cariotipo complejo en sólo el 30% de los casos, mientras que en los trabajos de Mauritzson et al (Leukemia 2002) y Kayser et al (Blood 2011) la trisomía del cromosoma 8 se presentó como alteración única en el 18% y 2%, respectivamente. En la presente serie, un caso presentó la trisomía del cromosoma 8 como alteración única y el otro en el contexto de un cariotipo complejo. En este trabajo, se observó una monosomía del cromosoma 12 en el 10% de los pacientes (n=3). Esta alteración no ha sido reportada en otros estudios, por lo que su incidencia en las t-LAM debe de ser muy baja (Mauritzson et al, 2002; Smith et al, 2003; Kayser et al, 2001; Granfeldt Ostgard et al, 2015). La monosomía del cromosoma 21 se ha observado al igual que en la serie de Mauritzson et al (Leukemia 2002) en un 6% de los pacientes. Las demás alteraciones cromosómicas detectadas en este subgrupo de LAM post-TPH, sólo se observaron en un paciente, generalmente en el contexto de un cariotipo complejo.

Por otro lado, las características citogenéticas de las LAM post-TPH de los pacientes incluidos en el presente estudio, fueron muy similares a las que se observaron, en esta misma serie, en los pacientes con s-LAM/t-LAM en el momento del diagnóstico. Así, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de cariotipos alterados, de cariotipos monosómicos, de cariotipos complejos, de cariotipos pseudodiploides, en el número de alteraciones citogenéticas, y tampoco en la estratificación del riesgo citogenético según el MRC. Además, en el subgrupo de LAM post-TPH con cariotipo normal y alteraciones citogenéticas *de novo* se observaron alteraciones citogenéticas relacionadas con SMD en el 39% de los casos y en el 71% de las LAM post-TPH con un cariotipo alterado, un porcentaje

superior al 53% observado en las t-LAM con cariotipo alterado de la serie de Granfeldt Ostgard et al (J Clin Oncol 2015).

La baja incidencia de alteraciones cromosómicas relacionadas con la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II o a agentes alquilantes, el alto porcentaje de cariotipos normales y con alteraciones relacionadas con SMD, así como el hecho de que el 37% de las LAM post-TPH presentaron las mismas alteraciones cromosómicas observadas en el momento del diagnóstico, asociadas o no a otras alteraciones citogenéticas adicionales, apoyarían el hecho de que el cariotipo inicial tiene más influencia en la aparición de una LAM post-TPH que la terapia previa recibida.

6.1.3. Estado mutacional del gen de la *NPM1* y *FLT3* al diagnóstico y en el momento de la LAM post-TPH.

En esta serie, la incidencia de LAM con *NPM1* mutada y con *FLT3*-ITD fue del 30% y del 29%, respectivamente, similar a la descrita en la bibliografía (Fröhling 2002; Thiede 2002; Fernández-Mercado et al, 2012). La incidencia de LAM con *FLT3*-D835 fue del 15%, algo superior al 7% descrito por otros autores (Lo Coco et al, 2008). Tal y como se ha observado en estudios previos como el de Fernández-Mercado et al (PLoS One 2012) la incidencia de *NPM1* mutada fue superior en las LAM *de novo* que en las s-LAM/t-LAM (42% vs 0%, $p=0,001$) y lo mismo se observó con *FLT3*-ITD (37% vs 10%, $p=0,008$). En este estudio, el estado mutacional del gen de la *NPM1*, *FLT3*-ITD y *FLT3*-D835 al diagnóstico, no tuvieron impacto en el desarrollo posterior de una LAM post-TPH. Sin embargo, este hecho podría ser consecuencia del escaso número de pacientes en los que se evaluaron estas mutaciones (38%, 64% y 36%, respectivamente).

En el momento del diagnóstico de la LAM post-TPH, se estudió el estado mutacional del gen de la *NPM1* en 11 casos (22%) y la *FLT3*-ITD en 29 (59%). La incidencia de *NPM1* mutada en las LAM post-TPH fue del 18%, similar al 14-16% descrito por otros autores en t-LAM (Andersen et al, 2008; Kayser et al 2011; Lindsley et al, 2015).

La incidencia de *FLT3*-ITD en las LAM post-TPH fue del 21%, superior al 12-16% observado en las t-LAM (Kayser et al, 2011; Lindsley et al, 2015). Tres de estos pacientes presentaron una *FLT3*-ITD en el momento del diagnóstico, 2 pacientes presentaron un *FLT3**wt* y en un caso el estudio mutacional de *FLT3* al diagnóstico, no se realizó. Esta incidencia es algo superior a la observada en otras series y parecida a la descrita en las LAM *de novo* y podría deberse a que el 50% de los casos que presentaron *FLT3*-ITD en el momento de la LAM post-TPH, tenían un cariotipo normal. Se ha descrito que las t-LAM con cariotipo normal presentan una incidencia de *NPM1* mutada y *FLT3*-ITD similar a las LAM *de novo* (Pedersen-Bjergaard et al, 2008)

6.2. Factores implicados en la etiopatogenia de las LAM post-TPH.

En este estudio, los pacientes que desarrollaron una LAM post-TPH recibieron con más frecuencia un auto-TPH y presentaron, en el momento del diagnóstico, más s-LAM, más cariotipos complejos, un mayor número de alteraciones citogenéticas y más alteraciones desequilibradas.

Según diferentes estudios, el riesgo acumulado de t-SMD y t-LAM varía mucho, desde un 1.1% a los 20 meses (Taylor et al, 1997) hasta un 24.3% a los 43 meses del TPH (Pedersen-Bjergaard et al, 1997). En esta serie, la incidencia acumulada de LAM post-TPH fue del 36% a los 5 años (IC 95%, 28%-44%), muy parecida a la incidencia de recaída post-TPH descrita en la bibliografía, en pacientes trasplantados por una LAM (30-40%) (Frassoni et al, 1998; Schmid et al, 2012). Por otro lado, el tiempo transcurrido desde el TPH hasta el diagnóstico de la LAM post-TPH fue de 0,59 años [extremos 0,05-7,48], muy inferior a los 12-24 meses descritos en pacientes que presentan una t-LAM/t-SMD después de un TPH (Bathia, 2013), pero similar a los 4-7 meses observados en pacientes con LAM recaídos después de un alo-TPH (Devillier et al, 2013; Bejanyan et al, 2015).

6.2.1. s-LAM y LAM post-TPH.

En esta serie los pacientes con s-LAM presentaron una mayor incidencia de LAM post-TPH que los pacientes con LAM *de novo* (37% vs 58%). Este hecho contrasta con el trabajo realizado por Michellis et al (Bone Marrow Transplant, 2015) en una serie de 264 pacientes diagnosticados de LAM *de novo* (n=180) y s-LAM (n=84) que recibieron un alo-TPH en primera RC, en el que no se observaron diferencias en la supervivencia libre de leucemia ni en la incidencia acumulada de recaída entre ambos grupos de pacientes.

Diferentes autores han observado que las s-LAM presentan una mayor inestabilidad citogenética con más cariotipos complejos y alteraciones desequilibradas, respecto las LAM *de novo*. Entre ellos, Milosevic et al (Am J Hematol 2012) a partir de las muestras de ADN de 86 s-LAM y 117 LAM *de novo* observaron diferencias significativas tanto en el porcentaje de cariotipos normales (17,4% vs 37,7%, $p < 0,0017$) como de cariotipos complejos (44,2 % vs 11,4%, $p < 0,0001$). En esta serie, las s-LAM/t-LAM también presentaron, respecto las LAM *de novo*, más cariotipos alterados, cariotipos de pronóstico adverso en función de la clasificación del riesgo citogenético según el MRC, cariotipos monosómicos, cariotipos complejos, alteraciones citogenéticas desequilibradas y cariotipos hipodiploides. Probablemente debido a este pronóstico citogenético adverso, los pacientes diagnosticados de s-LAM del presente estudio recibieron, respecto los pacientes diagnosticados de LAM *de novo*, un mayor número

de alo-TPH, acondicionados preferentemente con regímenes que incluían agentes alquilantes asociados o no a antimetabolitos y timoglobulina.

Además, los cariotipos de las LAM post-TPH por una s-LAM/t-LAM, presentaron de forma estadísticamente significativa, respecto el cariotipo de las LAM post-TPH por una LAM *de novo*, un mayor porcentaje de casos con las alteraciones citogenéticas observadas en la LAM inicial, acompañadas o no de otras alteraciones (61% vs 9%), y menos alteraciones cromosómicas *de novo* (23% vs 43%). Todo ello, junto con el hecho de que, en la presente serie, las LAM post-TPH se presentaron con más frecuencia en los pacientes que recibieron un auto-TPH y que el régimen de acondicionamiento (agentes alquilantes vs agentes alquilantes e ICT) no se ha relacionado con la presencia de una LAM post-TPH, parece apuntar que en el caso de las s-LAM, la complejidad citogenética en el momento del diagnóstico puede ser el principal factor implicado en el desarrollo de una LAM post-TPH.

6.2.2. auto-TPH y LAM post-TPH.

Tal y como se ha observado previamente en otros estudios, en el presente trabajo, la incidencia de LAM post-TPH ha sido superior en los pacientes que han recibido un auto-TPH (Akhtari et al, 2013). Se ha sugerido que este hecho puede deberse a la reinfusión de las CPH con el ADN dañado que, junto al estrés proliferativo que tiene lugar durante la regeneración hematopoyética, da lugar a un mayor acortamiento telomérico y una inestabilidad cromosómica que favorecerá la adquisición de nuevas alteraciones citogenéticas y la aparición de una t-NM (Shay et al, 1998; Akhtari et al, 2013; Bathia, 2013). Por otro lado, también es un hecho reconocido que las recaídas de las LAM tras un TPH son más frecuentes en los pacientes que reciben un auto-TPH, probablemente debido a la reinfusión de CPH con EMR positiva. Consecuentemente, sería esperable que las LAM post auto-TPH presentaran un mayor número de alteraciones cromosómicas, preferentemente relacionadas con la exposición previa a agentes citotóxicos y/o relacionadas con la anomalía cromosómica inicial, y una mayor complejidad citogenética respecto las LAM post alo-TPH. Sin embargo, en esta serie las LAM después de un auto-TPH presentaron, respecto las LAM post alo-TPH, un menor número de alteraciones, cariotipos complejos, cariotipos monosómicos, alteraciones desequilibradas y cariotipos de riesgo citogenético adverso según el MRC. Además, las LAM post auto-TPH tampoco presentaron más cariotipos alterados, alteraciones citogenéticas *de novo* ni alteraciones cromosómicas relacionadas con las observadas en la LAM inicial, respecto las LAM post alo-TPH. Si consideramos exclusivamente las LAM post-TPH con cariotipo normal y alteraciones citogenéticas *de novo*, tampoco se observaron diferencias en la incidencia de

alteraciones cromosómicas relacionadas con la exposición previa a agentes citotóxicos entre ambos grupos (15% de las LAM post auto-TPH vs 18% de las LAM post alo-TPH).

Esta aparente discrepancia, puede explicarse por el mayor número de alo-TPH realizados en las s-LAM/t-LAM, respecto a las LAM *de novo* y por la mayor complejidad citogenética que presentan las s-LAM/t-LAM respecto las LAM *de novo* en el momento del diagnóstico. Estos hechos también apoyarían la hipótesis de que en las LAM post-TPH, más que el tratamiento previo recibido y el daño acumulado en el ADN de las CPH, el factor predictivo más importante es la complejidad citogenética en el momento del diagnóstico. Otra posible causa, que puede contribuir a explicar esta discrepancia, puede ser el escaso número de auto-TPH realizados en esta serie (37%).

6.2.3. Otros factores descritos en la bibliografía implicados en el desarrollo de una LAM post-TPH.

A diferencia de André et al (Blood 1998) y Milligan et al (Br J Haematol 1999) que identificaron la edad superior a 40 años como un factor de riesgo independiente para desarrollar una t-NM después de un TPH, en el presente trabajo la edad no ha tenido influencia en el desarrollo de una LAM post-TPH. También se ha referido que el número de recaídas, reflejo del número de ciclos de quimioterapia administrados previamente al TPH, se asocia a un mayor riesgo de t-NM (Akhtari et al, 2013). Sin embargo, en este estudio el número de ciclos administrados durante los tratamientos de inducción y consolidación no se ha relacionado con un mayor riesgo de LAM post-TPH. A pesar de que en esta serie el uso de ICT en el régimen de acondicionamiento no ha tenido influencia en el desarrollo de una LAM post-TPH, la ICT también se ha considerado por diferentes autores como un factor de riesgo independiente para el desarrollo de una t-NM (Stone et al, 1994; Friedberg et al, 1999; Milligan et al, 1999).

Algunos autores como Kanda et al (Leukemia 2004) han observado que la incidencia de recaída de una LAM post-TPH es menor en aquellos pacientes que presentan una EICH aguda o crónica. Sin embargo, en el presente estudio la EICH no ha tenido influencia en el desarrollo de una LAM post-TPH.

El uso de CPH procedentes de sangre periférica, especialmente en los pacientes movilizados con etopósido también se ha relacionado con un mayor riesgo de desarrollar una t-NM (Krishnan et al, 2000; Beauchamp-Nicoud et al, 2003). En la presente serie, el 86% de los TPH se realizaron a partir de CPH procedentes de sangre periférica y la incidencia de LAM post-TPH no difirió de la incidencia de t-LAM ni de la recaída post-TPH reportada en otros trabajos (Pedersen-Bjergaard et al, 1997; Schmid et al, 2012).

6.3. Deleción de *TP53* por FISH

En este trabajo, se estudió la deleción de *TP53* en 20 pacientes, tanto en el momento del diagnóstico de la LAM inicial como en el momento del diagnóstico de la LAM post-TPH. La deleción de *TP53* tan sólo se detectó en dos casos, en ambos momentos del estudio. Tal como se describe en la bibliografía, ambos casos presentaban, en ambos momentos del análisis, un cariotipo complejo, monosómico y con deleción del cromosoma 5 (Tavor et al, 2011; Sebaa et al 2012).

La incidencia de deleción de *TP53* observada en el presente estudio ha sido del 10%, tanto en las LAM al diagnóstico como en las LAM post-TPH. Esta incidencia es superior al 5% observado por Seifert et al (Leukemia 2009) en un estudio multicéntrico que incluye 2272 pacientes diagnosticados de LAM e inferior al 20-50% reportado en la bibliografía en las t-NM (Chistiansen et al, 2001). A diferencia de otros estudios en los que se observa la deleción de *TP53* en el 75% de las LAM con cariotipo complejo y en el 54% de las LAM con cariotipo monosómico (Tavor S et al, 2011; Gaillard et al, 2012), en el presente estudio la incidencia de deleción de *TP53* en estos subgrupos de pacientes ha sido inferior. Sin embargo, esta discrepancia posiblemente se debe al escaso número de pacientes analizados.

6.4 Limitaciones del estudio

Una de las principales limitaciones del presente trabajo ha sido el tamaño de la serie, que ha comportado que el análisis de subgrupos pierda potencia estadística. Por otro lado, el estudio mutacional de *NPM1* y *FLT3*, así como la deleción de *TP53* por FISH, sólo se ha realizado en un número reducido de pacientes, especialmente en el momento de aparición de la LAM post-TPH, por no disponer de muestras biológicas.

En definitiva, los resultados del presente estudio indican la importancia de caracterizar las LAM post-TPH con la misma exhaustividad que se hace en las LAM *de novo*, para poder identificar nuevas alteraciones cromosómicas y moleculares que permitan conocer mejor la etiopatogenia de estas LAM, con el objetivo de desarrollar futuros tratamientos más específicos que ayuden a mejorar el pronóstico de estos pacientes.

7. CONCLUSIONES

1. Caracterizar las alteraciones citogenéticas de las LAM post-TPH y compararlas con las características citogenéticas de las LAM antes del TPH.

Las LAM post-TPH del presente estudio, han presentado respecto las LAM previas al TPH más cariotipos alterados, cariotipos de pronóstico adverso según el MRC, cariotipos complejos, monosómicos e hipodiploides.

En las LAM post-TPH, las alteraciones cromosómicas relacionadas con la exposición previa a inhibidores de la topoisomerasa II y a agentes alquilantes han sido poco frecuentes. Ello sugiere que el tratamiento previo al TPH, no parece tener una influencia fundamental en su etiopatogenia.

Las características citogenéticas de las LAM post-TPH del presente estudio, son superponibles a las observadas en las s-LAM antes del TPH. En el 71% de los cariotipos con alteraciones citogenéticas *de novo* se han observado alteraciones relacionadas con SMD frente al 39% de alteraciones relacionadas con agentes citotóxicos.

Las LAM post alo-TPH han presentado más alteraciones citogenéticas y de mayor complejidad que las LAM post auto-TPH. Ello sugiere que en el desarrollo de las LAM post-TPH las lesiones acumuladas en el ADN de las CPH infundidas tienen menos influencia que la complejidad citogenética en el momento del diagnóstico.

En función de las anomalías cromosómicas observadas podemos clasificar las LAM post-TPH en 4 grupos: recaídas de la LAM inicial (37%), s-LAM (8%), s-LAM/t-LAM (12%) y no clasificable (43%).

2. Analizar los factores implicados en la etiopatogenia de las LAM post-TPH.

Los pacientes que desarrollaron una LAM post-TPH recibieron con más frecuencia un auto-TPH y presentaron, en el momento del diagnóstico, más s-LAM, más cariotipos complejos, un mayor número de alteraciones citogenéticas y más alteraciones desequilibradas.

En este estudio, la edad, el estado mutacional del gen de la *NMP1*, *FLT3-ITD* y *FLT3-D835* al diagnóstico, la fase de la enfermedad, el número de ciclos de quimioterapia

administrados previamente al TPH, el tipo de acondicionamiento recibido (agentes alquilantes vs ciclofosfamida e ICT), la profilaxis de la EICH (tratamiento inmunodepresor vs tratamiento inmunodepresor y metotrexato) y la presencia de EICH no se han relacionado con el desarrollo de una LAM post-TPH.

3. Analizar la incidencia de las deleciones de *TP53* en las LAM al diagnóstico y post-TPH (mediante hibridación *in situ* fluorescente) y su relación con el cariotipo complejo, el cariotipo monosómico y la deleción del cromosoma 5q.

En las LAM post-TPH la incidencia de deleción de *TP53* ha sido inferior a la descrita en las t-LAM.

En el presente estudio, la deleción de *TP53* se ha relacionado con el cariotipo complejo, el cariotipo monosómico y con la deleción del cromosoma 5q.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abruzzese E, Radford JE, Miller JS, Vredenburg JJ, Rao PN. Detection of abnormal pretransplant clones in progenitor cells of patients who developed myelodysplasia after autologous transplantation. *Blood* 1999; 94 (5): 1814-1819.
- Akhtari M, Bhatt VR, Tandra PK, Krishnamurthy J, Horstman H, Dreessen A et al. Therapy-related myeloid neoplasms after autologous hematopoietic stem cell transplantation in lymphoma patients. *Cancer Biol Ther* 2013; 14 (12): 1077-1088.
- Andersen MK, Christiansen DH, Kirchhoff M, Pedersen-Bjergaard J. Duplication or amplification of chromosome band 11q23, including the unrearranged *MLL* gen, is a recurrent abnormality in therapy-related MDS and AML, and is closely related to mutations of the *TP53* gene and to previous therapy with alkylating agents. *Genes Chromosomes Cancer* 2001; 31 (1): 33-41.
- Andersen MT, Andersen MK, Christiansen DH and Pedersen-Bjergaard J. *NPM1* mutations in therapy-related acute myeloid leukemia with uncharacteristic features. *Leukemia* 2008; 22 (8): 951-955.
- André M, Henry-Amar M, Blaise D, Colombat P, Fleury J, Milpied N et al. Treatment-related deaths and second cancer risk after autologous stem-cell transplantation for Hodgkin's disease. *Blood* 1998; 92 (6): 1933-1940.
- Aref S, Ibrahim L, Morkes H, Azmy E, Ebrahim M. Meningioma 1 (*MN1*) expression: refined risk stratification in acute myeloid leukemia with normal cytogenetics (CN-AML). *Hematology* 2013; 18 (5): 277-283.
- Armand P, Haesook TK, DeAngelo DJ, Ho VT, Cutler CS, Stone RM et al. Impact of cytogenetics on outcome of *de novo* and therapy-related AML and MDS after allogeneic transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13 (6): 655-664.
- Bacher U, Haferlach T, Schoch C, Kern W, Schnittger. Implications of *NRAS* mutations in AML: a study of 2502 patients. *Blood* 2006; 107 (10): 3847-3853.

- Baldus CD, Tanner SM, Ruppert AS, Whitman SP, Archer KJ, Marcucci G et al. *BAALC* expression predicts clinical outcome of de novo acute myeloid leukemia patients with normal cytogenetics: a Cancer and Leukemia Group B Study. *Blood* 2003; 102 (5): 1613-1618.
- Baldus CD, Thiede C, Soucek S, Bloomfield CD, Thiel E and Ehninger G. *BAALC* expression and *FLT3* internal tandem duplication mutations in acute myeloid leukemia patients with normal cytogenetics: prognostic implications. *J Clin Oncol* 2006; 24 (5): 790-797.
- Barragán E, Cervera J, Bolufer P, Ballester S, Martín G, Fernández P et al. Prognostic implications of Wilm's tumor gene (*WT1*) expression in patients with *de novo* acute myeloid leukemia. *Haematol* 2004; 89 (8): 926-933.
- Basecke J, Whelan JT, Griesinger F and Bertrand E. The MLL partial tandem duplication in acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2006; 135 (4): 438-449.
- Bathia S. Therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Semin Oncol* 2013; 40 (6): 666-675.
- Beauchamp-Nicoud A, feneux D, Bayle C, Bernheim A, Léonard C, Koscielny S et al. Therapy-related myelodysplasia and/or acute myeloid leukemia after autologous haematopoietic progenitor cell transplantation in a prospective single centre cohort of 221 patients. *Br J Haematol* 2003; 122 (1): 109-117.
- Becker H, Marcucci G, Maharry K, Radmacher MD, Mrózek K, Margeson D et al. Favorable prognostic impact of *NPM1* mutations in older patients with cytogenetically normal de novo acute myeloid leukemia and associated gene- and microRNA-expression signatures: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 2010; 28 (4): 596-604.
- Bejanyan N, Weisdorf DJ, Logan BR, Wang HL, Devine SM, de Lima M et al. Survival of patients with acute myeloid leukemia relapsing after allogeneic hematopoietic cell

transplantation: a center for international blood and marrow transplant research study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21 (3): 454-459.

- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR et al. Proposals for the classification of acute leukaemias. French-American-British (FAB) Co-operative Group. *Br J Haematol* 1976;33:451-458.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukaemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985; 103 (4): 620-625.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukemia (AML-M0). *Br J Haematol* 1991; 78: 325-329.
- Benthaus T, Schneider F, Mellert G, Zellmeier E, Schneider S, Kakadia PV et al. Rapid and sensitive screening for *CEBPA* mutations in acute myeloid leukemia. *Br J Haematol* 2008; 143: 230-239.
- Bindels EMJ, Havermans M, Lugthart S, Erpelinck C, Wocjtowicz E , Krivtsov AV et al. *EVI1* is critical for the pathogenesis of a subset of *MLL-AF9*-rearranged AMLs. *Blood* 2012; 119 (24): 5838-5849.
- Blackburn EH. Structure and function of telomeres. *Nature* 1991; 350: 569-573.
- Bloomfield CD, Archer KJ, Mrózek K, Irlington DM, Kaneko Y, Head DR et al. 11q23 balanced chromosome aberrations in treatment-related myelodysplastic syndromes and acute leukemia: Report from an international workshop. *Genes Chromosomes Cancer* 2002; 33(4): 362-378.
- Bowen DT, Frew ME, Hills R, Gale RE, Wheatley K, Groves MJ et al. *RAS* mutation in acute myeloid leukemia is associated with distinct cytogenetic subgroups but does not influence outcome in patients younger than 60 years. *Blood* 2005; 106 (X): 2113-2119.

- Bowen D, Groves MJ, Burnett AK, Patel Y, Allen C, Green C et al. *TP53* gene mutation is frequent in patients with acute myeloid leukemia and complex karyotype, and is associated with very poor prognosis. *Leukemia* 2009; 23: 203-206.
- Breems DA, Van Putten WL, De Greef GE, Van Zelderren-Bhola SL, Gerssen-Schoorl KB, Mellink CH et al. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J Clin Oncol* 2008; 26: 4791-4797.
- Byrd JC, 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 6461). *Blood* 2002; 100: 4325-4336.
- Cairoli R, Beghini A, Grillo G, Nadali G, Elice F, Ripamonti CB et al. Prognostic impact of *c-KIT* mutations in core binding factor leukemias: an Italian retrospective study. *Blood* 2006; 107: 3463–3468.
- Chakraborty S, Sun C-L, Francisco L, Sabado M, Li L, Chang KL et al. Accelerated telomere shortening precedes development of therapy-related myelodysplasia or acute myelogenous leukemia after autologous transplantation for lymphoma. *Journal Clinical Oncology* 2009; 27: 791-798.
- Christiansen DH, Andersen MK, Pedersen-Bjergaard J. Mutations with loss of heterozygosity of *p53* are common in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia after exposure to alkylating agents and significantly associated with deletion or loss of 5q, a complex karyotype, and a poor prognosis. *J Clin Oncol* 2001; 19 (5): 1405-1413.
- Christiansen DH, Anderson MK, Pedersen-Bjergaard J. Mutations of *AML1* are common in therapy-related myelodysplasia following therapy with alkylating agents and are significantly associated with deletion or loss of chromosome arm 7q and with subsequent leukemic transformation. *Blood* 2004; 104 (5): 1474-1481.

- Christiansen DH, Desta F, Andersen MK, Pedersen-Bjergaard J. Mutation of genes in the receptor tyrosin kinase (*RTK*)/*RAS-BRAF* signal transduction pathway in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2005; 19 (12): 2232-2240.
- Chou WC, Huang HH, Hou HA, Chen CY, Tang JL, Yao M et al. Distinct clinical and biological features of de novo acute myeloid leukemia with additional sex comb-like 1 (*ASXL1*) mutations. *Blood* 2010; 116 (29): 4086-4094.
- Cloos J, Goemans BF, Hess CJ, van Oostveen JW, Waisfisz Q, Corthals S et al. Stability and prognostic influence of *FLT3* mutations in paired initial and relapsed AML samples. *Leukemia* 2006; 20: 1217–1220.
- Cuervo-Sierra J, Jaime-Pérez JC, Gómez-Almaguer D. Mutaciones del módulo *FLT3* en leucemia aguda mieloblástica. *Rev Hematol Mex* 2012; 13 (4): 177-184.
- Damm F, Heuser M, Morgan M, Wagner K, Görlich K, Grobhenning A et al. Integrative prognostic risk score in acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Blood* 2011; 117 (17): 4561-4568.
- Deguchi K and Gilliland DG. Cooperativity between mutations in tyrosine kinases and in hematopoietic transcription factors in AML. *Leukemia* 2002; 16: 740-744.
- Deol A, Abrams J, Masood A, Al-Kadhimi Z, Abidi MH, Ayash L et al. Long-term follow up of patients proceeding to transplant using plerixafor mobilized stem cells and incidence of secondary myelodysplastic syndrome/AML. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48 (8): 1112-1116.
- De Roos AJ, Deeg HJ, Davis S. A population-based study of survival in patients with secondary myelodysplastic syndromes (SMD): impact of type and treatment of primary cancers. *Cancer Causes Control* 2007; 18 (10): 1199-1208.

- Desta F, Christiansen DH, Andersen MK, Pedersen-Bjergaard J. Activating mutations of *JAK2V617F* are uncommon in t-MDS and t-AML and are only observed in atypic cases. *Leukemia* 2006; 20 (3): 547-548.
- Devillier R, Crocchiolo R, Etienne A, Prebet T, Charbonnier A, Fürst S et al. Outcome of relapse after allogeneic stem cell transplant in patients with acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2013; 54 (6): 1128-1234.
- Döhner K, Tobis K, Ulrich R, Fröhling S, Benner A, Schlenk RF et al. Prognostic significance of partial tandem duplications of the *MLL* gene in adult patients 16 to 60 years old with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the Acute Myeloid Leukemia Study Group Ulm. *J Clin Oncol* 2002; 20 (15):3254-3261.
- Dhöner K, Schlenk RF, Habdank M, Scholl C, Rücker FG, Corbacioglu A et al. Mutant nucleophosmin (*NPM1*) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: interaction with other gene mutations. *Blood* 2005; 106 (12): 3740-3746.
- Dhöner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010; 115 (3): 453-474.
- Ding Y, Sun CL, Li L, Li M, Francisco L, Sabado M et al. Genetic susceptibility to therapy-related leukemia after Hodgkin lymphoma or non-Hodgkin lymphoma: role of drug metabolism, apoptosis and DNA repair. *Blood Cancer J* 2012; 2 (3): e58.
- Eichenauer DA, Thielen I, Haverkamp H, Franklin J, Behringer K, Halbsguth T et al. Therapy-related acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes in patients with Hodgkin lymphoma: a report from the German Hodgkin Study Group. *Blood* 2014;123(11):1658-1664.
- El-Sharkawi D, Ali A, Evans CM, Hills Rk, Burnett AK, Linch DC et al. *ASXL1* mutations are infrequent in young patients with primary acute myeloid leukemia and their

detection has limited role in therapeutic risk stratification. *Leuk Lymphoma* 2014; 55 (6): 1326-13331.

- Estey EH. Acute myeloid leukemia: 2014 Update on risk-stratification and management. *Am J Hematol* 2014; 89 (11): 1063-1081.
- Fang M, Storer B, Estey E, Othus M, Zhang L, Sandmaier BM et al. Outcome of acute myeloid leukemia patients with monosomal karyotype who undergo hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2011; 118 (6): 1490-1494.
- Fernández-Mercado M, Yip BH, Pellagatti A, Davies C, Larrayoz MJ, Kondo T et al. Mutation patterns of 16 genes in primary and secondary acute myeloid leukemia (AML) with normal cytogenetics. *PLoS One* 2012; 7 (8): e42334.
- Ferrant A, Labopin M, Frassoni F, Prentice HG, Cahn JY, Blaise D et al. Karyotype in acute myeloblastic leukemia: prognostic significance for bone marrow transplantation in first remission: an European group for blood and marrow transplantation study. *Blood* 1997; 90: 2931-2938.
- Figueroa ME, Lugthart S, Li Y, Erpelinck-Verschueren C, Deng X, Christos PJ et al. DNA methylation signatures identify biologically distinct subtypes in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell* 2010; 17 (1): 13-27.
- Fitzgibbon J, Smith LL, Raghavan M, Smith ML, Debernardi S, Skoulakis S et al. Association between acquired uniparental disomy and homozygous gene mutation in acute myeloid leukemias. *Cancer Res* 2005; 65: 9152–9154.
- Frassoni F, Barret AJ, Grañena A, Ernst P, Garthon G, Kolb HJ et al. Relapse after allogeneic bone marrow transplantation for acute leukaemia: a survey by the E.B.M.T. of 117 cases. *Br J Haematol* 1998; 70 (3): 317-320.
- Friedberg JW, Neuberg D, Stone RM, Alyea E, Jallow H, LaCasce A et al. Outcome in patients with myelodysplastic syndrome after autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1999 : 17 (10): 3128-3135.

- Fröhling S, Schlenk RF, Breitnick 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.
- Fröhling S, Schlenk RF, Stolze I, Bihlmayr J, Benner A, Kreitmeier S et al. *CEBPA* mutations in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: prognostic relevance and analysis of cooperating mutations. *J Clin Oncol* 2004; 22 (4): 624-633.
- Fuster O, Barragán E, Bolufer P, Such E, Valencia A, Ibáñez M et al. Fragment length analysis screening for detection of *CEBPA* mutations in intermediate-risk karyotype acute myeloid leukemia. *Ann Hematol* 2012; 91 (1): 1-7.
- Gaidzik VI, Paschka P, Späth D, Habdank M, Köhne CH, Germing U et al. *TET2* mutations in acute myeloid leukemia (AML): results from a comprehensive genetic and clinical analysis of the AML study group. *J Clin Oncol* 2012; 30 (12): 1350-1357.
- Gaidzik VI, Schlenk RF, Paschka P, Stölzle A, Späth D, Kuendgen A et al. Clinical impact of *DNMT3A* mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia: results of the AML Study Group (AMLSG). *Blood* 2013; 121 (23): 4769-4777.
- Gaillard JB, Chiesa J, Reboul D, Arnaud A, Brun S, Donadio D et al. Monosomal karyotype routinely defines a poor prognosis subgroup in acute myeloid leukemia and is frequently associated with *TP53* deletion. *Leuk Lymphoma* 2012; 53 (2): 336-337.
- Gale RE, Geen C, Allen C, Mead AJ, Burnett AK, Hills RK et al. The impact of *FLT3* internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with *NPM1* mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2008; 111 (5): 2776-2784.
- Gale RP, Horowitz MM, Weiner RS, Ash RC, Atkinson K, Babu R et al. Impact of cytogenetic abnormalities on outcome of bone marrow transplants in acute myelogenous leukemia in first remission. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16: 203-208.

- Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Roquain J, Adélaïde J, Carbuccia N, Estemi B et al. *ASXL1* mutation is associated with poor prognosis and acute transformation in chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2010; 151 (4): 365-375.
- Gelsi-Boyer V, Brecqueville M, Deviller R, Murati A, Mozziconacci MJ, Birnbaum D. Mutations in *ASXL1* are associated with poor prognosis across the spectrum of malignant myeloid diseases. *J Hematol Oncol* 2012; 5: 12.
- Godley LA, Larson RA. Therapy-related myeloid leukemia. *Seminars Oncology* 2008; 35 (4): 418-429.
- Goode EL, Ulrich CM, Potter JD. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11: 1513-1530.
- Govindarajan R, Jagannath S, Flick JT, Vesole DH, Sawyer J, Barlogie B et al. Preceding standard therapy is the likely cause of MDS after autotransplants for multiple myeloma. *Br J Haematol* 1996; 95 (2): 349-353.
- Granfeldt Ostgard LS, Medeirosw BC, Sengelov H, Norgaard M, Andersen MK, Dufva IH et al. Epidemiology and clinical significance of secondary and therapy-related acute myeloid leukemia: a national population-based cohort study. *J Clin Oncol* 2015; 33 (31): 3641-3649.
- Graubert TA, Brunner AM and Fathi AT. New molecular abnormalities and clonal architecture in AML: from reciprocal translocations to whole-genome sequencing. *ASCO educational book* 2014: e334-e340.
- Grimwade D, Walker H, Oliver F, Wheatley K, Harrison C, Harrison G et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1612 patients entered into the MRC 10 trial. *Blood* 1998; 92 (7): 2322-2333.
- Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters S, Goldstone AH et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876

younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood* 2010; 116 (3): 354-365.

- Griffiths M, Mason J, Rindl M, Akiki S, McMullan D, Stinton V et al. Acquired isodisomy for chromosome 13 is common in AML, and associated with FLT3-ITD mutations. *Leukemia* 2005; 19: 2355–2358.
- Gröschel S, Lugthart S, Schlenk RF, Valk PJ, Eiwen K, Goudswaard C et al. High *EVI1* expression predicts outcome in younger adult patients with acute myeloid leukemia and is associated with distinct cytogenetic abnormalities. *J Clin Oncol* 2010; 28 (12): 2101-2107.
- Haas K, Kundi M, Sperr WR, Esterbauer H, Ludwig WD, Ratei R et al. Expression and prognostic significance of different mRNA 5'-end variants of the oncogen *EVI1* in 266 patients with *de novo* AML: *EVI1* and *MDS/EVI1* overexpression both predict short remission duration. *Genes Chromosomes Cancer* 2008; 47 (4): 288-298.
- Haferlach C, Dicker F, Herholz H, Schnittger S, Kern W, Haferlach T. Mutations of the *TP53* gene in acute myeloid leukemia are strongly associated with a complex aberrant karyotype. *Leukemia* 2008; 22(8): 1539-1541.
- Haferlach C, Mecucci C, Schnittger S, Kohlmann A, Mancini M, Cuneo A. AML with mutated *NPM1* carrying a normal or aberrant karyotype show overlapping biologic, pathologic, immunophenotypic, and prognostic features. *Blood* 2009; 114 (14): 3024-3032.
- Haferlach C, Alpermann T, Schnittger S, Kern W, Chromik J, Schmid C et al. Prognostic value of monosomal karyotype in comparison to complex aberrant karyotype in acute myeloid leukemia: a study of 824 cases with aberrant karyotype. *Blood* 2012; 119 (9): 2122-2125.
- Harada H, Harada Y, Tanaka H, Kimura A, Inaba T. Implications of somatic mutations in *AML1* gene in radiation-associated and therapy-related myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia. *Blood* 2003; 101 (2): 673-680.

- Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J et al. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting-Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol* 1999; 17 (12): 3835-3849.
- Harrison CN, Gregory W, Hudson GV, Devereux S, Goldstone AH, Hancock B et al. High-dose BEAM chemotherapy with autologous haemopoietic stem cell transplantation for Hodgkin's disease is unlikely to be associated with a major increased risk of secondary MDS/AML. *Br J Cancer* 1999; 81: 476-483.
- Hengeveld M, Suciú S, Chelgoum Y, Marie J-P, Muus P, Lefrère F et al. High numbers of mobilized CD34+ cells collected in AML in first remission are associated with high relapse risk irrespective of treatment with autologous peripheral blood SCT or autologous BMT. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50: 341-347.
- Heuser M, Beutel G, Krauter J, Döhner K, von Neuhoff N, Schlegelberger B et al. High meningioma 1 (*MN1*) expression as a predictor for poor outcome in acute myeloid leukemia with normal cytogenetics. *Blood* 2006; 108 (12): 3898-3905.
- Heuser M, Berg T, Kuchenbauer F, Lai CK, Park G, Fung S et al. Functional role of *BAALC* in leucemogenesis. *Leukemia* 2012; 26 (3): 532-536.
- Ishikawa Y, Kiyoi H, Tsujimura A, Miyawaki S, Miyazaki Y, Kuriyama K et al. *Eur J Haematol* 2009; 83 (2): 90-98.
- Itzhar N, Dessen P, Toujani S, Auger N, Preudhomme C, Richon C et al. Chromosomal minimal critical regions in therapy-related leukemia appear different from those of *de novo* leukemia by high-resolution aCGH. *PLoS ONE* 2011; 6 (2): e16623.
- Jongen-Lavrencic M, Sun SM, Dijkstra MK, Valk PJ, Löwenberg B. MicroRNA expression profiling in relation to the genetic heterogeneity of acute myeloid leukemia. *Blood* 2008; 111 (10): 5078-5085.

- Kanda Y, Izutsu K, Hirai H, Sakamaki H, Iseki T, Kodera Y et al. Effect of graft-versus-host disease on the outcome of bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling donor using GVHD prophylaxis with cyclosporin A and methotrexate. *Leukemia* 2004; 18 (5): 1013-1019.
- Kayser S, Döhner K, Krauter J, Köhne CH, Horst HA, Held G et al. The impact of therapy-related acute myeloid leukemia (AML) on outcome in 2853 adult patients with newly diagnosed AML. *Blood* 2011; 117 (7): 2137-2145.
- Kayser S, Zucknick M, Döhner K, Krauter J, Köhne CH, Horst HA et al. Monosomal karyotype in adult acute myeloid leukemia: prognostic impact and outcome after different treatment strategies. *Blood* 2012; 119(2): 551-558.
- Kelly LM, Kutok JL, Williams IR, Boulton CL, Amaral SM et al. *RARalpha* and FLT3-ITD induce an APL-like disease in a mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99:8283–8288.
- Keung YK, Beaty MW, Pettenati M, Levitan D, Hurd DD. Possible role of engraftment syndrome and autologous graft-versus-host disease in myelodysplastic syndrome after autologous stem cell transplantations: retrospective analysis and review of the literature. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2010; 10 (2): 129-133.
- Kottaridis PD, Gale RE, Frew ME, Harrison G, Langabeer SE, Belton AA et al. The presence of a *FLT3* internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. *Blood* 2001; 98 (6): 1752-1759.
- Krishnan A, Bathia S, Slovak ML, Arber DA, Niland JC, Nademanee A et al. Predictors of therapy-related leukemia and myelodysplasia following autologous transplantation for lymphoma: an assessment of risk factors. *Blood* 2000; 95 (5): 1588-1593.

- Langer C, Marcucci G, Holland KB, Radmacher MD, Maharry K, Paschka P et al. Prognostic importance of *MN1* transcript levels, and biologic insights from *MN1*-associated gene and microRNA expression signatures in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B Study. *J Clin Oncol* 2009; 27 (19): 3198-3204.
- Ley TJ, Ding L, Walter MJ, McLellan MD, Lamprecht T, Larson DE et al. *DNMT3A* mutations in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2010; 363: 2424-2433.
- Li L, Li M, Sun C, Francisco L, Chakraborty S, Sabado M et al. Altered hematopoietic cell gene expression precedes development of therapy-related myelodysplasia/acute myeloid leukemia and identifies patients at risk. *Cancer Cell* 2011; 20 (5): 591-605.
- Lin TC, Hou HA, Chou WC, Ou DL, Yu SL, Tien HF et al. *CEBPA* methylation as a prognostic biomarker in patients with de novo acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2011; 25 (1):32-40.
- Lindsley RC, Mar BG, Mazzola E, Grauman PV, Shareef S, Allen SL, et al. Acute myeloid leukemia ontogeny is defined by distinct somatic mutations. *Blood* 2015; 125 (9): 1367-1376.
- Litzow MR, Tarima S, Pérez WS, Bolwell BJ, Cairo MS, Camitta BM et al. Allogeneic transplantation for therapy-related myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Blood* 2010 ; 115 (9): 1850-1857.
- Lo Coco F, Cuneo A, Pane F, Cilloni D, Diverio D, Mancini M et al. Prognostic impact of genetic characterization in the GIMEMA LAM99P multicenter study for newly diagnosed acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2008; 93: 1017-1024.
- Lo-Coco F, Awisati G, Vignetti M, Thiede C, Orlando SM, Iacobelli S et al. Retinoic acid and arsenic trioxide for acute promyelocytic leukemia. *N Engl J Med* 2013; 369 (2): 111-121.
- Lugthart S, van Drunen E, van Norden Y, van Hoven A, Erpelinck CA, Valk PJ et al. High *EV11* levels predict adverse outcome in acute myeloid leukemia: prevalence of *EV11*

overexpression and chromosome 3q26 abnormalities underestimated. *Blood* 2008; 111(8): 4329-4337.

- Marcucci G, Baldus CD, Ruppert AS, Radmacher MD, Mrózek K, Whitman SP et al. Overexpression of the ETS-related gene, *ERG*, predicts a worse outcome in acute myeloid leukemia with normal karyotype: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 2005; 23(36):9234-9242.
- Marcucci G, Maharry K, Whitman SP, Vukosavljevic T, Paschka P, Langer C et al. High expression of the ETS-related gene, *ERG*, predicts adverse outcome and improves molecular risk-based classification of cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B Study. *J Clin Oncol* 2007; 25 (22): 3337-3343.
- Marcucci G, Maharry K, Wu YZ, Radmacher MD, Mrózek K, Margeson D et al. *IDH1* and *IDH2* gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 2010; 28 (14): 2348-2355.
- Marcucci G, Haferlach T and Döhner H. Molecular genetics of adult acute myeloid leukemia: prognostic and therapeutic implications. *J Clin Oncol* 2011; 29 (5): 475-486.
- Mauritzson N, Albin M, Rylander L, Billström R, Ahlgren T, Mikoczy Z et al. Pooled analysis of clinical and cytogenetic features in treatment-related and *de novo* adult acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes based on a consecutive series of 761 patients analyzed 1976-1993 and on 5098 unselected cases reported in the literature 1974-2001. *Leukemia* 2002; 16: 2366-2378.
- Medeiros BC, Othus M, Fang M, Roulston D and Appelbaum FR. Prognostic impact of monosomal karyotype in young adult and elderly acute myeloid leukemia: the Southwest Oncology Group (SWOG) experience. *Blood* 2010; 116 (3): 2224-2228.
- Meshinchi S, Appelbaum FR. Structural and functional alterations of *FLT3* in acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res* 2009;15 (13): 4263-4269.

- Metayer C, Curtis RE, Vose J, Sobocinski KA, Horowitz MM, Bhatia S et al. Myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia after autotransplantation for lymphoma: a multicenter case-control study. *Blood* 2003; 101 (5): 2015-2013.
- Metzeler KH, Dufour A, Benthaus T, Hummel M, Sauerland MC, Heinecke A et al. *ERG* expression is an independent prognostic factor and allows refined risk stratification in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a comprehensive analysis of *ERG*, *MN1* and *BAALC* transcript levels using oligonucleotide microarrays. *J Clin oncol* 2009; 27 (30): 5031-5038.
- Metzeler KH, Becker H, Maharry K, Radmacher MD, Kohlschmidt J, Mrózek K et al. *ASXL1* mutations identify a high-risk subgroup of older patients with primary cytogenetically normal AML within the ELN favorable genetic category. *Blood* 2011; 118 (26): 6920-6929.
- Metzeler KH, Maharry K, Radmacher MD, Mrózek K, Margeson D, Becker H et al. *TET2* mutations improve the new European LeukemiaNet risk classification of acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 2011; 29 (10): 1373-1381.
- Michelis FV, Atenafu EG, Gupta V, Kim DD, Kuruvilla J, Lipton JH et al. Comparable outcomes post allogeneic hematopoietic cell transplant for patients with de novo or secondary acute myeloid leukemia in first remission. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50 (7): 907-913.
- Milligan DW, Ruiz De Elvira MC, Kolb HJ, Goldstone AH, Meloni G, Rohatiner AZ et al. Secondary leukaemia and myelodysplasia after autografting for lymphoma: results from the EBMT. EBMT Lymphoma and Late Effects Working Parties. European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Br J Haematol* 1999; 106 (4): 1020-1026.
- Milosevic JD, Puda A, Malcovati L, Berg T, Hofbauer M, Stukalov A et al. Clinical significance of genetic aberrations in secondary acute myeloid leukemia. *Am J Hematol* 2012; 87: 1010-1016.

- Mistry AR, Felix CA, Whitmarsh RJ, Mason A, Reiter A, Cassinat B et al. DNA topoisomerase II in therapy-related acute promyelocytic leukemia. *N Engl J Med* 2005; 352 (15): 1529-1538.
- Miyawaki S, Hatsumi N, Tamaki T, Naoe T, Ozawa K, Kitamura K et al. Prognostic potential of detection of *WT1* mRNA level in peripheral blood in adult acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2010; 51: 1855-1861.
- Mrózek K, Marcucci G, Nicolet D, Maharry KS, Becker H, Whitman SP et al. Prognostic significance of the European LeukemiaNet standardized system for reporting cytogenetic and molecular alterations in adults with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2012; 30 (36): 4515-4523.
- Najima Y, Ohashi K, Kawamura M, Onozuka Y, Yamaguchi T, Akiyama H et al. Molecular monitoring of *BAALC* expression in patients with CD34-positive acute leukemia. *Int J Hematol* 2010; 91: 636-645.
- Nakao M, Yokota S, Iwai T, Kaneko H, Horiike S, Kashima K et al. Internal tandem duplication of the *FLT3* gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1996; 10 (12): 1911- 1918.
- Nomdedéu J, Hoyos M, Carricondo M, Esteve J, Bussaglia E, Estivill C et al. Adverse impact of *IDH1* and *IDH2* mutations in primary AML: Experience of the Spanish CETLAM group. *Leukemia Research* 2012; 36: 990-997.
- Ommen HB, Hokland P, Haferlach T, Abildgaard L, Alpermann T, Haferlach C et al. Relapse kinetics in acute myeloid leukaemias with *MLL* translocations or partial tandem duplications within the *MLL* gene. *Br J Haematol* 2014; 165 (5): 618-628.
- Oran B, Dolan M, Cao Q, Brunstein C, Warlick E, Weisdorf D. Monosomal karyotype provides better prognostic prediction after allogenic stem cell transplantation in patients with acute myelogenous leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17 (3): 356-364.

- Paschka P, Marcucci G, Ruppert AS, Mrozek K, Chen H, Kittles RA et al. Adverse prognostic significance of *KIT* mutations in adult acute myeloid leukemia with inv(16) and t(8;21): a Cancer and Leukemia Group B Study. *J Clin Oncol* 2006; 24:3904–3911.
- Paschka P, Schlenk RF, Gaidzik VI, Habdank M, Krönke J, Bullinger L et al. *IDH1* and *IDH2* mutations are frequent genetic alterations in acute myeloid leukemia and confer adverse prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with *NPM1* mutation without *FLT3* internal tandem duplication. *J Clin Oncol* 2010; 28 (22): 3636-3643.
- Paschka P, Schlenk RF, Gaidzik VI, Herzing JK, Aulitzky T, Bullinger L et al. *ASXL1* mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia: a study by the German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group. *Haematologica* 2015; 100 (3): 324-330.
- Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, Fernandez H, Sun Z, Racevskis J et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2012; 366 (12): 1079-1089.
- Pedersen-Bjergaard J, Philip P, Larsen SO, Andersson M, Daugaard G, Ersboll J. Therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. Cytogenetic characteristics of 115 consecutive cases and risk in seven cohorts of patients treated intensively for malignant diseases in the Copenhagen series. *Leukemia* 1993; 7: 1975-1986.
- Pedersen-Bjergaard J, Pedersen M, Myhre J, Geisler C. High risk of therapy-related leukemia after BEAM chemotherapy and autologous stem cell transplantation for previously treated lymphomas is mainly related to primary chemotherapy and not to the BEAM-transplantation procedure. *Leukemia* 1997; 11 (10): 1654-1660.
- Pedersen-Bjergaard J, Andersen MK, Christiansen DH. Therapy-related acute myeloid leukemia and myelodysplasia after high-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation. *Blood* 2000; 95 (11); 3273-3279.

- Pedersen-Bjergaard J, Christiansen DH, Desta F, Andersen MK. Alternative genetic pathways and cooperating genetic abnormalities in the pathogenesis of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2006; 20 (11): 1943-1949.
- Pedersen-Bjergaard J, Andersen MT, Andersen MK. Genetic pathways in the pathogenesis of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Hematology AM Soc Hematol Educ Program*. 2007: 392-397.
- Pedersen-Bjergaard J, Andersen MK, Andersen MT and Christiansen DH. Genetics of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2008; 22 (2): 240-248.
- Pfeiffer T, Schleuning M, Mayer J, Haude KH, Tisher J, Buchholz S et al. Influence of molecular subgroups on outcome of acute myeloid leukemia with normal karyotype in 141 patients undergoing salvage allogeneic stem cell transplantation in primary induction failure or beyond first relapse. *Haematologica* 2013; 98 (4): 518-525.
- Pratcorona M, Abbas S, Sanders MA, Koenders JE, Kavelaars FG, Erpelinck-Verschueren CAJ et al. Acquired mutations in *ASXL1* in acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value. *Haematologica* 2012; 97 (3): 388-392.
- Qin YZ, Zhu HH, Jiang Q, Jiang H, Zhang LP, Xu LP et al. Prevalence and prognostic significance of *c-KIT* mutations in core binding factor acute myeloid leukemia: a comprehensive large-scale study from a single Chinese center. *Leuk Res* 2014; 38 (12): 1435-1440.
- Reindl C, Bagrintseva K, Vempati S, Schnittger S, Ellwart JW, Wenig K et al. Point mutations in the juxtamembrane domain of *FLT3* define a new class of activating mutations in AML. *Blood* 2006; 107 (9): 3700-3707.
- Reneville A, Roumier C, Biggio V, Nibourel O, Boissel N, Fenaux P et al. Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leukemia* 2008; 22: 915-931.

- Ricca I, Compagno M, Ladetto M, Rocci A, Dell'Aquila M, Omedè P et al. Marked telomere shortening in mobilized peripheral blood progenitor cells (PBPC) following two tightly spaced high-dose chemotherapy courses with G-CSF. *Leukemia* 2005; 19 (4): 644-651.
- Ritter M, Kim TD, Lisske P, Thiede C, Schaich M, Neubauer A. Prognostic significance of *N-RAS* and *K-RAS* mutations in 232 patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2004; 89 (11): 1397-1399.
- Rockova V, Abbas S, Wouters BJ, Erpelinck CAJ, Beverloo HB, Delwel R et al. Risk stratification of intermediate-risk acute myeloid leukemia: integrative analysis of a multitude of gene mutation and gene expression markers. *Blood* 2011; 118 (4): 1069-1076.
- Röllig C, Bornhäuser M, Thiede M, Taube F, Kramer M, Mohr B et al. Long-term prognosis of acute myeloid leukemia according to the new genetic risk classification of the European LeukemiaNet recommendations: evaluation of the proposed reporting system. *J Clin Oncol* 2011; 29 (20): 2758-2765.
- Rucker FG, Schlenk RF, Bullinger L, Kaiser S, Teleanu V, Kett H et al. *TP53* alterations in acute myeloid leukemia with complex karyotype correlate with specific copy number alterations, monosomal karyotype, and dismal outcome. *Blood* 2012; 119 (9): 2114-2121.
- Sanz MA, Lo-Coco F. Modern approaches to treating acute promyelocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2011;29:495-503.
- Schmid C, Labopin M, Nagler A, Niederwieser D, Castagna L, Tabrizi R et al. Treatment, risk factors, and outcome of adults with relapsed AML after reduced intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2012; 119 (6): 1599-1606.
- Schnittger S, Kinkel U, Schoch C, Heinecke A, Haase D, Haferlach T et al. Screening for *MLL* tandem duplication in 387 unselected patients with AML identify a prognostically unfavorable subset of AML. *Leukemia*. 2000; 14 (5):796-804.

- Schnittger S, Kohl TM, Haferlach T, Kern W, Hiddemann W, Spiekermann K et al. *KIT-D816* mutations in *AML1-ETO*-positive AML are associated with impaired event-free and overall survival. *Blood* 2006; 107: 1791–1799.
- Schnittger S, Bacher U, Kern W, Haferlach C, Haferlach T. *JAK2* seems to be a typical cooperating mutation in therapy-related t(8;21)/ *AML1-ETO*-positive AML. *Leukemia* 2007; 21 (1): 183–184.
- Schnittger S, Eder C, Jeromin S, Alpermann T, Fasan A, Grossmann V et al. *ASXL1* exon 12 mutations are frequent in AML with intermediate risk karyotype and are independently associated with an adverse outcome. *Leukemia* 2013; 27 (1): 82-91.
- Schwind S, Marcucci G, Kholschmidt J, Radmacher MD, Mrózek K, Maharry K et al. Low expression of *MN1* associates with better treatment response in older patients with *de novo* cytogenetically normal acute leukemia. *Blood* 2011; 118 (15): 4188-4198.
- Sebaa A, Ades L, Baran-Marzack F, Mozziconacci MJ, Penther D, Dobbstein S et al. Incidence of 17p deletions and TP53 mutation in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with 5q deletion. *Genes Chromosomes Cancer* 2012; 51 (12): 1086-1092.
- Seifert H, Mohr B, Thiede C, Oelschlägel U, Schäkel U, Illmer T et al. The prognostic impact of 17p (p53) deletion in 2272 adults with acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2009; 23 (4): 656-663.
- Sevilla J, Rodríguez A, Hernández-Maraver D, de Bustos G, Aguado J, Ojeda E et al. Secondary acute myeloid leukemia and myelodysplasia after autologous peripheral blood progenitor cell transplantation. *Ann Hematol* 2002; 81 (1): 11-15.
- Shay JW. Accelerated telomere shortening in bone marrow recipients. *Lancet* 1998; 351: 153-154.
- Shih AH, Chung SS, Dolezal EK, Zhang S-J, Abdel-Wahab OI, Park CY et al. Mutational analysis of therapy-related myelodysplastic syndromes and acute myelogenous leukemia. *Haematologica* 2013; 98 (6): 908-912.

- Shih LY, Huang CF, Wu JH, Lin TL, Dunn P, Wang PN et al. Internal tandem duplication of *FLT3* in relapsed acute myeloid leukemia: a comparative analysis of bone marrow samples from 108 adult patients at diagnosis and relapse. *Blood* 2002; 100: 2387–2392.
- Shih LY, Huang CF, Wu JH, Wang PN, Lin TL, Dunn P et al. Heterogeneous patterns of *FLT3* Asp (835) mutations in relapsed de novo acute myeloid leukemia: a comparative analysis of 120 paired diagnostic and relapse bone marrow samples. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1326–1332.
- Shih LY, Liang DC, Fu JF, Wu JH, Wang PN, Lin TL et al. Characterization of fusion partner genes in 114 patients with de novo acute myeloid leukemia and *MLL* rearrangement. *Leukemia* 2005; 20 (2): 218-223.
- Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, Harrington DH, Theil KS, Mohamed A et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study. *Blood* 2000; 96: 4075-4083.
- Slovak ML, Bedell V, Popplewell L, Arber DA, Schoch C, Slater R. 21q22 balanced chromosome aberrations in therapy-related hematopoietic disorders: Report from an international workshop. *Genes Chromosomes Cancer* 2002; 33 (4): 379-394.
- Smith ML, Hills RK, Grimwade D. Independent prognostic value in acute myeloid leukaemia. *Blood Rev* 2011; 25 (1): 39-51.
- Smith SM, Le Beau MM, Huo D, Karrison T, Sobecks RM, Anastasi J et al. Clinical-cytogenetic associations in 306 patients with therapy-related myelodysplasia and myeloid leukemia: the University of Chicago series. *Blood* 2003; 102: 43-52.
- Snaddon J, Smith ML, Neat M, Cambal-Parralles M, Dixon-McIver A, Arch R et al. Mutations of *CEBPA* in acute myeloid leukemia FAB types M1 and M2. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 37 (1): 72-78.

- Spassov BV, Stoimenov AS, Balatzenko GN, Genova ML, Peichev DB, Konstantinov SM. Wilms' tumor protein and *FLT3*-internal tandem duplication expression in patients with *de novo* acute myeloid leukemia. *Hematology* 2011; 16: 37-42.
- Steudel C, Wermke M, Schaich M, Schäkel U, Illmer T, Ehninger G et al. Comparative analysis of *MLL* partial tandem duplication and *FLT3* internal tandem duplication mutations in 956 adult patients with acute myeloid leukemia. *Genes, Chromosomes and Cancer* 2003; 37 (3): 237-251.
- Stirewalt DL, Kopecky KJ, Meshinchi S, Engel JH, Pogossova-Agadjanyan EL, Linsley J et al. Size of *FLT3* internal tandem duplication has prognostic significance in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2006; 107 (9):3724-3726.
- Stone RM, Neuberg D, Soiffer R, Takvorian T, Whelan M, Rabinowe SN et al. Myelodysplastic syndrome as a late complication following autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1994; 12 (12): 2535-2542.
- Swords R, Freeman C and Giles F. Targeting the FMS-like tyrosine kinase 3 in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2012; 26 (10): 2176-2185.
- Tanner SM, Austin JL, Leone G, Rush LJ, Plass C, Heinonen K et al. *BAALC*, the human member of a novel mammalian neuroectoderm gene lineage, is implicated in hematopoiesis and acute leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98 (24): 13901-13906.
- Taskesen E, Bullinger L, Corbacioglu A, Sanders MA, Erpelinck CA, Wouters BJ et al. Prognostic impact, concurrent genetic mutations, and gene expression features of AML with *CEBPA* mutations in a cohort of 1182 cytogenetically normal AML patients: further evidence for *CEBPA* double mutant AML as a distinctive disease entity. *Blood* 2011; 117 (8): 2469-2475.
- Tavor S, Rothman R, Golan T, Voskoboinik N, Katz BZ, Sarid N et al. Predictive value of *TP53* fluorescence in situ hybridization in cytogenetic subgroups of acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2011; 52 (4): 642-647.

- Taylor PR, Jackson GH, Lennard AL, Hamilton PJ, Proctor SJ. Low incidence of myelodysplastic syndrome following transplantation using autologous non-cryopreserved bone marrow. *Leukemia* 1997; 11 (10): 1650-1653.
- The Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and epigenomic landscapes of adult *de novo* acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2013; 368 (22): 2059-2074.
- Thiede C, Studel 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.
- Thiede C, Koch S, Creutzig E, Studel C, Illmer T, Schaich M et al. Prevalence and prognostic impact of *NPM1* mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood* 2006; 107 (10): 4011- 4020.
- Thol F, Friesen I, Damm F, Yun H, Weissinger EM, Krauter J et al. Prognostic significance of *ASXL1* mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2011; 29 (18): 2499-2506.
- Tian X, Xu Y, Yin J, Tian H, Chen S, Wu D et al. *TET2* gene mutation is unfavorable prognostic factor in cytogenetically normal acute myeloid leukemia patients with *NPM1*+ and *FLT3*-ITD- mutations. *Int J Hematol* 2014; 100(1): 96-104.
- Tucker MA, Coleman CN, Cox RS, Varghese A, Rosenberg SA. Risk of second cancer after treatment for Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 1998; 318 (2): 76-81.
- Vardiman JW, Brunning RD, Arber DA, Le Beau MM, Porwit A, Tefferi A et al. Introduction and overview of the classification of the myeloid neoplasms. In: Swerdlow H, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J and Vardiman JW, eds. *WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, France: IARC Press; 2008: 18-30.

- Vardiman JW, Arber DA, Brunning RD, Larson RA, Matutes E, Baumann I et al. Therapy-related myeloid neoplasms. In: Swerdlow H, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J and Vardiman JW, eds. WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008: 127-129.
- Walter MJ, Shen D, Ding L, Shao J, Koboldt DC, Chen K et al. Clonal Architecture of Secondary Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 2012; 366 (12):1090–1098.
- Wartman LD, Larson DE, Xiang Z, Ding L, Chen K, Lin L et al. Sequencing a mouse acute promyelocytic leukemia genome reveals genetic events relevant for disease progression. *J Clin Invest* 2011; 121(4):1445–1455.
- Waterman J, Rybicki L, Bolwell B, Copelan E, Pohlman B, Sweetenham J. Fludarabine as a risk factor for poor stem cell harvest, treatment-related MDS and AML in follicular lymphoma patients after autologous hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47 (4): 488-493.
- Weber S, Alpermann T, Dicker F, Jeromin S, Nadarajah N, Eder C et al. BAALC expression: a suitable marker for prognostic risk stratification and detection of residual disease in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Blood Cancer J* 2014; 4: e173.
- Welch JS, Ley TJ, Link DC, Miller CA, Larson DE, Koboldt DC et al. The origin and evolution of mutations in Acute Myeloid Leukemia. *Cell* 2012; 150 (2): 264-278.
- Wheeler C, Eickhoff C, Elias A, Ibrahim J, Ayash L, McCauley M et al. High-dose cyclophosphamide, carmustine and etoposide with autologous transplantation in Hodgkin's disease: a prognostic model for treatment outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant* 1997; 3 (2): 98-106.
- Wheeler C, Khurshid A, Ibrahim J, Elias A, Mauch P, Ault K et al. Incidence of post transplant myelodysplasia/acute leukemia in non-Hodgkin's lymphoma patients compared with Hodgkin's disease patients undergoing autologous transplantation

- following cyclophosphamide, carmustine, and etoposide (CBV). *Leuk Lymphoma*. 2001; 40 (5-6): 499-509.
- Whitman SP, Liu S, Vukosavljevic T, Rush LJ, Yu L, Liu C et al. The *MLL* partial tandem duplication: evidence for recessive gain-of-function in acute myeloid leukemia identifies a novel patient subgroup for molecular-targeted therapy. *Blood* 2005; 106 (1): 345-352.
 - Whitman SP, Ruppert AS, Marcucci G, Mrózek K, Paschka P, Langer C et al. Long-term disease-free survivors with cytogenetically normal acute myeloid leukemia and *MLL* partial tandem duplication: a Cancer and Leukemia Group B study. *Blood* 2007; 109 (12):5164-5167.
 - Whitman SP, Caliguri MA, Maharry K, Radmacher MD, Kohlschmidt J, Becker H et al. The *MLL* partial tandem duplication in adults aged 60 years and older with *de novo* cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2012; 26 (7): 1713-1717.
 - Xiang L, Li M, Liu Y, Cen J, Chen Z, Zhen X et al. The clinical characteristics and prognostic significance of *MN1* gene and *MN1*-associated microRNA expression in adult patients with *de novo* acute myeloid leukemia. *Ann Hematol* 2013; 92: 1063-1069.
 - Xiaodong L, Yaping X, Ruihua M, Jing D, Xianwei W, Jieying H et al. Overexpression of Wilms Tumor 1 Gene as a Negative Prognostic Indicator in Acute Myeloid Leukemia. *PLoS One* 2014; 9 (3): e92470.
 - Yahya RS, Sofan MA, Abdelmaseih HM, Saady N, Sharaf-Eldein MA. Prognostic implication of *BAALC* gene expression in adult acute myeloid leukemia. *Clin Lab* 2013; 59 (5-6): 621-628.
 - Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, Suzuki R, Kodera Y, Miyawaki S et al. Activating mutation of D835 within the activation loop of *FLT3* in human hematologic malignancies. *Blood* 2001; 97 (8): 2434-2439.

- Yeang CH, McCormick F, Levine A. Combinatorial patterns of somatic gene mutations in cancer. *FASEB J* 2008; 22 (2): 2605-2622.
- Zhu X, Ma Y, Liu D. Novel agents and regimens for acute myeloid leukemia: 2009 ASH annual meeting highlights. *J Hematol Oncol* 2010; 3: 17.

9. ANEXOS

TRATAMIENTOS DE INDUCCIÓN Y CONSOLIDACIÓN

CETLAM 99	
<u>Inducción a la remisión (IDICE).</u>	<p>< 60 AÑOS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Idarubicina, 12 mg/m² intravenoso (iv), a pasar en 15 min, los días 1, 3 y 5. - Ara-C, 500 mg/m²/12 horas (iv), a pasar en 2 horas, los días 1, 3, 5 y 7. - Etopósido, 100 mg/m² (iv) a pasar en 1 hora, los días 1 a 3. <p>> 60 AÑOS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Idarubicina, 10 mg/m² (iv), a pasar en 15 min, los días 1, 3 y 5. - Ara-C, 100 mg/m²/día (iv), a pasar en 24 horas, los días 1 a 7. - Etopósido, 100 mg/m² (iv) a pasar en 1 hora, los días 1 a 5.
<u>Intensificación (MIT-DIC).</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Ara-C, 500 mg/m²/12 horas (iv) a pasar en 2 horas los día 1 a 6. - Mitoxantrone, 12 mg/m² (iv), los días 4 a 6, justo antes del ara-C, a pasar en 30 min.
<u>Tratamiento posterior.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Alteraciones citogenéticas de buen pronóstico:</u> los pacientes con t(8;21), inv(16) o t(16;16) recibirán intensificación con mitoxantrone y ara-C. En ausencia de hermano HLA-idéntico se recogerán progenitores hematopoyéticos de sangre periférica. A continuación se administrará un ciclo de quimioterapia con ara-C en dosis altas (3 mg/m²/12 horas, los días 1, 3 y 5. En caso de recidiva citogenética o morfológica se tratará a los pacientes con TPH, alogénico o autólogo. - <u>Pacientes de riesgo intermedio:</u> pacientes con cariotipo normal o que alcancen la RC con sólo un ciclo de quimioterapia. En este grupo de pacientes se realizará un auto-TPH con independencia de que dispongan de un hermano HLA-idéntico no singénico. Si dispone de un hermano gemelo univitelino se efectuará un trasplante singénico. - <u>Pacientes del grupo desfavorable:</u> enfermos no incluidos en los dos grupos anteriores. Los pacientes de este grupo recibirán un alo-TPH si disponen de un hermano HLA-idéntico o un auto-TPH en caso contrario.

CETLAM LMA-03	
<u>Inducción a la remisión (IDICE)</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Idarubicina, 12 mg/m² (iv), a pasar en 30 min, los días 1, 3 y 5. - Ara-C, 500 mg/m²/12 horas (iv), a pasar en 2 horas, los días 1, 3, 5 y 7. - Etopósido, 100 mg/m² (iv) a pasar en 1 hora, los días 1 a 3.
<u>Intensificación (MIT-DIC).</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Ara-C, 500 mg/m²/12 horas (iv) a pasar en 2 horas los día 1 a 6. - Mitoxantrone, 12 mg/m² (iv), los días 4 a 6, justo antes del ara-C, a pasar en 30 min.

CETLAM LMA-12	
<u>Inducción a la remisión.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Idarubicina, 12 mg/m² (iv) a pasar en 5 min, los días 1 a 3. - Ara-C, 200 mg/m²/día en infusión continua los días 1 a 7. - G-CSF 150 µg/m² subcutánea (sc) los días 0 a 7.
<u>Primera consolidación para todos los pacientes en RC.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Pacientes de edad igual o inferior a 60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - Ara-C, 3 g/m²/12 horas (iv) a pasar en 2 horas, los días 1, 3 y 5. - Neulasta^R, 6 mg (sc) el día 7 a juicio de cada centro. - <u>Pacientes de edad igual o inferior a 60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - Ara-C, 1,5 g/m²/12 horas (iv) a pasar en 2 horas, los días 1, 3 y 5. - Neulasta^R, 6 mg (sc) el día 7 a juicio de cada centro.
<u>Tratamiento posterior.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Pacientes de pronóstico favorable.</u> Los pacientes con t(8;21) o con inv(16)/t(16;16), LAM con <i>NPM1</i> mutado/<i>FLT3wt</i> o ratio <i>FLT3-ITD/FLT3wt</i> < 0,5 o LAM con mutación bialélica de <i>CEBPA</i>, recibirán dos ciclos de consolidación con ara-C a dosis altas. <ul style="list-style-type: none"> - <u>Pacientes de edad igual o inferior a 60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - Ara-C, 3 g/m²/12 horas (iv) a pasar en 2 horas, los días 1, 3 y 5. - Neulasta^R, 6 mg (sc) el día 7 a juicio de cada centro. - <u>Pacientes de edad igual o inferior a 60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - Ara-C, 1,5 g/m²/12 horas (iv) a pasar en 2 horas, los días 1, 3 y 5. - Neulasta^R, 6 mg (sc) el día 7 a juicio de cada centro. <p>En los pacientes con EMR positiva y/o una tendencia a un incremento cuantitativo, se realizará un alo-TPH a partir de donante familiar o no emparentado.</p> <p>En pacientes con EMR negativa, se recomienda un seguimiento periódico, cada 3 meses, durante 2 años. En caso de recaída molecular, se procederá a un trasplante alogénico.</p> - <u>Pacientes de riesgo intermedio.</u> Pacientes con cariotipo intermedio según las clasificaciones MRC refinada y del ELN intermedio-1 con ausencia de mutaciones de <i>NPM1</i>, <i>FLT3-ITD</i> y mutación bialélica de <i>CEBPA</i>. En este grupo de pacientes se efectuará un alo-TPH o un auto-TPH según asignación biológica. - <u>Pacientes del grupo desfavorable.</u> Pacientes con citogenética desfavorable según MRC, incluido cariotipo monosómico y/o detección de <i>FLT3-ITD</i> y pronóstico intermedio-2 y adverso de la ELN. Los pacientes de buen pronóstico o intermedio que tras la quimioterapia de consolidación muestren persistencia de EMR, también serán considerados de alto riesgo. Los pacientes de este grupo, en función de la edad recibirán una alo-TPH con acondicionamiento mieloablatoivo o no mieloablatoivo.

MITOXANTRONE Y CITARABINA	
<u>Tratamiento de inducción.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Mitoxantrone, 12 mg/m² (iv), a pasar en 30 min, los días 1 a 5. - ARA-C, 1g/m²/12 horas (iv), a pasar en 2 horas, los días 1 a 3.

SMD ALTO RIESGO (IPSS INT-2 O ALTO) O LAM SECUNDARIA	
<u>Inducción a la remisión.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Cariotipo de buen pronóstico o intermedio:</u> <ul style="list-style-type: none"> - Idarubicina, 10 mg/m² (iv), a pasar en 30 min, los días 1, 3 y 5. - Ara-C, 100 mg/m² en infusión continua, los días 1 a 7. - Etopósido, 100 mg/m² (iv), a pasar en 1 hora, los días 1 a 3. - <u>Cariotipo adverso:</u> <ul style="list-style-type: none"> - Azacitidina, 75 mg/m² durante 7 días, cada 28 días (6 ciclos) - Etopósido, 100 mg/m² (iv) a pasar en 1 hora, los días 1 a 5.
<u>Tratamiento posterior.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Los pacientes < de 50 años recibirán un alo-TPH. - Los pacientes > de 50 años recibirán un alo-TPH-IR.

LAMR 2003	
<u>Tratamiento de inducción (FLAT).</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Fludarabina, 30 mg/m² (iv), a pasar en 1 hora, los días 1 a 4. - Ara-C, 2 g/m² (iv), a pasar en 4 horas, los días 1 a 4. - Topotecán, 1,5 mg/m² (iv), a pasar en 4 horas los días 1 a 4. <p>Si persisten blastos en la médula ósea (< 50% de la cifra inicial) se continuará con una segunda tanda de FLAT similar a la primera.</p>
<u>Tratamiento de consolidación (FLAT).</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Fludarabina, 30 mg/m² (iv), a pasar en 1 hora, los días 1 a 4. - Ara-C, 2 g/m² (iv), a pasar en 4 horas, los días 1 a 4. - Topotecán, 1,5 mg/m² (iv), a pasar en 4 horas los días 1 a 4.

II-S-VEL-EU-0070126866138CAN2015	
<u>Primer ciclo de tratamiento.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Fludarabina, 30 mg/m² (iv), a pasar en 30 min, los días 1 a 4. - Ara-C, a la dosis óptima definida (200 mg/m², 500 mg/m² o 1000 mg/m²) (iv), a pasar en 2-4 horas, los días 1 a 4. - Idarubicina, 10 mg/m² (iv), a pasar en 15 min, los días 1 a 3. - Bortezomid 1,3 mg/m² (iv), en bolo, 2 veces por semana (días 5, 8, 12 y 15), seguido de un descanso de 12 días (días 16 a 28).
<u>Segundo ciclo de tratamiento.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Bortezomid 1,3 mg/m² (iv), en bolo, 2 veces por semana (días 1, 4, 8 y 11), seguido de un descanso de 10 días (días 12 a 21).

Protocolo PETHEMA LAMR/2000 (Daunoxome®)	
<u>Tratamiento de inducción.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Daunorubicina liposómica (Daunoxome®), 120 mg/m² (iv) a pasar en 2 horas los días 1 a 3. - Ara-C, 1 g/m²/12 horas (iv) a pasar en 2 horas los días 1-5 (edad < 65) o los días 1, 3, 5 (edad > 65).
<u>Tratamiento de consolidación.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Daunoxome®, 80 mg/m² (iv) a pasar en 2 horas los días 1 a 3. - Ara-C, 1 g/m²/12 horas (iv) a pasar en 2 horas los días 1-3 (edad < 65) o los días 1 y 2 (edad > 65).

ICOG-07	
<u>Tratamiento de inducción (ICGO).</u>	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Cohorte 1 (20 pacientes):</u> <ul style="list-style-type: none"> - Gemtuzumab ozogamicina (GO), 3 mg/m² (máximo 5 mg) en infusión iv de 2 horas, a pasar el día 1. - Idarubicina, 12 mg/m² (iv) en 30 min, a pasar los días 2, 3 y 4. - Ara C, 100 mg/m² en infusión continua iv los días 1 a 7, a comenzar 4 horas después de la administración de GO. - <u>Cohorte 2 (20 pacientes):</u> <ul style="list-style-type: none"> - G-CSF, 150 µg/m² (sc) los días 0 a 7, a iniciar 12-18 horas antes de la infusión de GO. - GO, 3 mg/m² (máximo 5 mg) en infusión iv de 2 horas, a pasar el día 1. - Idarubicina, 12 mg/m² (iv) en 30 min, a pasar los días 2, 3 y 4. - Ara C, 100 mg/m² en infusión continua iv los días 1 a 7, a comenzar 4 horas después de la administración de GO. - <u>Cohorte 3 (20 pacientes):</u> <ul style="list-style-type: none"> - G-CSF, 150 µg/m² (sc) los días 0 a 7, a iniciar 12-18 horas antes de la infusión de GO. - GO, 6 mg/m² (máximo 10 mg) en infusión iv de 2 horas, a pasar el día 1. - Idarubicina, 12 mg/m² (iv) en 30 min, a pasar los días 2, 3 y 4. - Ara C, 100 mg/m² en infusión continua iv los días 1 a 7, a comenzar 4 horas después de la administración de GO.
<u>Intensificación con MIT-DIC u otro similar.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Ara-C, 500 mg/m²/12 horas (iv), a pasar en 2 horas los días 1 a 6. - Mitoxantrone, 12 mg/m² (iv), a pasar en 30 min los días 4 a 6, a pasar en 30 min.

Grupo CETLAM SMD ICE/mini-ICE	
<u>Tratamiento de inducción.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Idarubicina, 10 mg/m² intravenoso (iv), a pasar en 15 min, los días 1, 3 y 5. - Ara-C, 100 mg/m²/día (iv), a pasar en 24 horas, los días 1 a 7. - Etopósido, 100 mg/m² (iv) a pasar en 1 hora, los días 1 a 5.
<u>Tratamiento de consolidación.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Idarubicina, 8 mg/m² intravenoso (iv), a pasar en 15 min, los días 1 a 3. - Ara-C, 800 mg/m²/día (iv), a pasar en 2 horas, los días 1 a 3. - Etopósido, 150 mg/m² (iv) a pasar en 2 horas, los días 1 a 3.

FLAG-ida	
<u>Ciclo de inducción.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Fludarabina, 30 mg/m² (iv), a pasar los días 1 a 5. - Ara-C, 2 g/m² (iv), a pasar los días 1 a 5. - Idarubicina, 12 mg/m² (iv), a pasar los días 1, 3 y 5. - G-CSF, 300 µg/Kg/día (sc), los días 1 a 5.

PERIFLAG	
<u>Ciclo de inducción.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Fludarabina, 30 mg/m² (iv), a pasar en 30 min, los días 1 a 4. - Ara-C, 2 g/m² (iv), a pasar en 2-4 horas, los días 1 a 4. - Idarubicina, 10 mg/m² (iv), a pasar en 15 min, los días 1 a 3. - G-CSF, 5 µg/Kg/día (sc), los días 1 a 4. - Plerixafor (iv) en un escalado de dosis entre los días 1 y 4 (120 µg/Kg/12 horas; 160 µg/Kg/12 horas; 200 µg/Kg/12 horas; 240 µg/Kg/12 horas).
<u>Tratamiento posterior.</u>	<p>Los pacientes que no consigan una RC después de un ciclo de inducción, abandonarán el estudio y se someterán a seguimiento según la práctica clínica rutinaria. Los pacientes que consigan una RC después de un ciclo de inducción y que dispongan de un hermano HLA-idéntico, se someterán a un alo-TPH. Los pacientes que alcancen una RC y no sean aptos para un TPH o no dispongan de donante, recibirán 2 ciclos de consolidación con:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ara-C, 3 g/m²/12 horas (iv), los días 1, 3 y 5. - G-CSF, 5 µg/Kg/día (sc), los días 1 a 5. - Plerixafor, a la misma dosis utilizada en el ciclo de inducción los días 1, 3 y 5.

IDR-12	
<u>Inducción a la remisión.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Cohorte 1 (15 pacientes):</u> <ul style="list-style-type: none"> - Idarubicina, 14 mg/m² (iv) los días 1 a 3. - Ara-C, 200 mg/m² (iv) los días 1 a 7. - G-CSF 150 µg/m² (sc) los días 0 a 7. - <u>Cohorte 2 (15 pacientes):</u> <ul style="list-style-type: none"> - Idarubicina, 16 mg/m² (iv) los días 1 a 3. - Ara-C, 200 mg/m² (iv) los días 1 a 7. - G-CSF 150 µg/m² (sc) los días 0 a 7. - <u>Cohorte 3 (15 pacientes):</u> <ul style="list-style-type: none"> - Idarubicina, 18 mg/m² (iv) los días 1 a 3. - Ara-C, 200 mg/m² (iv) los días 1 a 7. - G-CSF 150 µg/m² (sc) los días 0 a 7.
<u>Tratamiento de consolidación.</u>	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Pacientes de edad igual o inferior a 60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - Ara-C, 3 g/m²/12 horas (iv), a pasar en 2 horas, los días 1, 3 y 5. - Neulasta^R, 6 mg (sc) el día 7 a juicio de cada centro. - <u>Pacientes de edad igual o inferior a 60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - Ara-C, 1,5 g/m²/12 horas (iv), a pasar en 2 horas, los días 1, 3 y 5. - Neulasta^R, 6 mg (sc) el día 7 a juicio de cada centro.
<u>Tratamiento posterior.</u>	<p>Los pacientes realizarán posteriormente el tratamiento habitual, según el protocolo LMA-12 del grupo CETLAM.</p>

Protocolo PETHEMA LPA2005

<u>Tratamiento de inducción.</u>	<p>- Ácido holo-trans retinoico (ATRA), 45 mg/m²/día oral (vo), fraccionado en dos tomas hasta la obtención de la RC o hasta un máximo de 90 días en caso de persistencia de promielocitos atípicos en la médula ósea.</p> <p>- Idarubicina, 12 mg/m² los días 2, 4, 6 y 8 por perfusión iv, a pasar en 5-20 min. En pacientes mayores de 70 años, se administrarán sólo 3 dosis (días 2, 4 y 6).</p>																
<u>Tratamiento de consolidación.</u>	<table border="1" data-bbox="715 577 1453 860"> <thead> <tr> <th></th> <th><i>Riesgo bajo</i> leucocitos <10.000 plaquetas >40.000</th> <th><i>Riesgo intermedio</i> leucocitos <10.000 plaquetas <40.000</th> <th><i>Riesgo alto</i> leucocitos >10000</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ciclo 1</td> <td>ATRA (45 mg/m² días 1-15) Idarubicina (5 mg/m² días 1-4)</td> <td>ATRA (45 mg/m² días 1-15) Idarubicina (7 mg/m² días 1-4)</td> <td>ATRA (45 mg/m² días 1-15) Idarubicina (5 mg/m² días 1-4) Ara-C (1000 mg/m² días 1-4)</td> </tr> <tr> <td>Ciclo 2</td> <td>ATRA (45 mg/m² días 1-15) Mitoxantrone (10 mg/m² días 1-3)</td> <td>ATRA (45 mg/m² días 1-15) Mitoxantrone (10 mg/m² días 1-3)</td> <td>ATRA (45 mg/m² días 1-15) Mitoxantrone (10 mg/m² días 1-5)</td> </tr> <tr> <td>Ciclo 3</td> <td>ATRA (45 mg/m² días 1-15) Idarubicina (12 mg/m² día 1)</td> <td>ATRA (45 mg/m² días 1-15) Idarubicina (12 mg/m² día 1-2)</td> <td>ATRA (45 mg/m² días 1-15) Idarubicina (12 mg/m² día 1) Ara-C (150 mg/m²/8h días 1-5)</td> </tr> </tbody> </table>		<i>Riesgo bajo</i> leucocitos <10.000 plaquetas >40.000	<i>Riesgo intermedio</i> leucocitos <10.000 plaquetas <40.000	<i>Riesgo alto</i> leucocitos >10000	Ciclo 1	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Idarubicina (5 mg/m ² días 1-4)	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Idarubicina (7 mg/m ² días 1-4)	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Idarubicina (5 mg/m ² días 1-4) Ara-C (1000 mg/m ² días 1-4)	Ciclo 2	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Mitoxantrone (10 mg/m ² días 1-3)	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Mitoxantrone (10 mg/m ² días 1-3)	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Mitoxantrone (10 mg/m ² días 1-5)	Ciclo 3	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Idarubicina (12 mg/m ² día 1)	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Idarubicina (12 mg/m ² día 1-2)	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Idarubicina (12 mg/m ² día 1) Ara-C (150 mg/m ² /8h días 1-5)
	<i>Riesgo bajo</i> leucocitos <10.000 plaquetas >40.000	<i>Riesgo intermedio</i> leucocitos <10.000 plaquetas <40.000	<i>Riesgo alto</i> leucocitos >10000														
Ciclo 1	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Idarubicina (5 mg/m ² días 1-4)	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Idarubicina (7 mg/m ² días 1-4)	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Idarubicina (5 mg/m ² días 1-4) Ara-C (1000 mg/m ² días 1-4)														
Ciclo 2	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Mitoxantrone (10 mg/m ² días 1-3)	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Mitoxantrone (10 mg/m ² días 1-3)	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Mitoxantrone (10 mg/m ² días 1-5)														
Ciclo 3	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Idarubicina (12 mg/m ² día 1)	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Idarubicina (12 mg/m ² día 1-2)	ATRA (45 mg/m ² días 1-15) Idarubicina (12 mg/m ² día 1) Ara-C (150 mg/m ² /8h días 1-5)														
<u>Tratamiento de mantenimiento.</u>	<p>Se iniciará un mes después de la recuperación hematológica tras la última consolidación, durante 2 años.</p> <p>- 6-mercaptopurina 50 mg/m²/día (vo).</p> <p>- Metotrexate 15 mg/m²/semanal (im).</p> <p>- ATRA 45 mg/m²/día (vo) durante 15 días, cada 3 meses. En menores de 20 años la dosis se reducirá a 25 mg/m²/día. El primer curso de mantenimiento con ATRA comenzará 3 meses después de finalizar la tercera consolidación. Durante los días de administración de ATRA, se interrumpirá el tratamiento con metotrexate y 6-mercaptopurina.</p>																

Protocolo PETHEMA LPA-R2007

<u>Tratamiento de inducción.</u>	<p>- Trióxido de Arsénico (ATO), 0,15 mg/Kg/día en perfusión iv de 1-2 horas hasta la obtención de la RC o hasta un máximo de 60 días. En pacientes con recaída molecular aislada, se administrará ATO (a la misma dosis) 5 días/semana durante 6 semanas.</p>
<u>Tratamiento de consolidación.</u>	<p>- ATO, 0,15 mg/Kg/día en perfusión iv de 1-2 horas, 5 días/semana durante 5 semanas, combinado con ATRA 45 mg/m²/día (vo) ininterrumpidamente durante esas 5 semanas.</p>
<u>Tratamiento postconsolidación.</u>	<p>Consistirá en la realización de un TPH (autólogo o alogénico) en aquellos pacientes candidatos a este procedimiento.</p>

Protocolo PETHEMA LPA 2012

<p><u>Tratamiento de inducción.</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> - ATRA 45 mg/m²/día (vo) hasta la obtención de una RC - Idarubicina 12 mg/m²/día los días 2, 4, 6 y 8. Se suprime el día 8 en pacientes de edad superior o igual a 60 años.
<p><u>Tratamiento de consolidación.</u></p>	<p>Ciclo 1</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Riesgo bajo y todos los pacientes de edad superior o igual a 60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - ATRA, 45 mg/m²/día los días 1–15. - Idarubicina, 5 mg/m²/día los días 1–4. - <u>Riesgo intermedio y edad <60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - ATRA, 45 mg/m²/día los días 1–15. - Idarubicina, 5 mg/m²/día, los días 1–4. - Ara-C, 500 mg/m²/día, los días 1–4. - <u>Riesgo alto y edad <60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - ATRA, 45 mg/m²/día los días 1–15. - Idarubicina, 5 mg/m² día, los días 1–4. - Ara-C, 1g/m²/día, los días 1–4. <p>Ciclo 2</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Riesgo bajo y todos los pacientes de edad superior o igual a 60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - ATRA, 45 mg/m²/día los días 1–15. - Mitoxantrone, 10 mg/m²/día, los días 1–3. - <u>Riesgo intermedio y edad <60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - ATRA, 45 mg/m²/día los días 1–15. - Mitoxantrone, 10 mg/m²/día, los días 1–3. - <u>Riesgo alto y edad <60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - ATRA, 45 mg/m²/día los días 1–15. - Mitoxantrone, 10 mg/m²/día, los días 1–5. <p>Ciclo 3</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Riesgo bajo y todos los pacientes de edad superior o igual a 60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - ATRA, 45 mg/m²/día los días 1–15. - Idarubicina, 12 mg/m²/día, el día 1. - <u>Riesgo intermedio y edad <60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - ATRA, 45 mg/m²/día los días 1–15. - Idarubicina, 12 mg/m²/día, el día 1. - Ara-C, 500 mg/m²/día, los días 1y 2. - <u>Riesgo alto y edad <60 años:</u> <ul style="list-style-type: none"> - ATRA, 45 mg/m²/día los días 1–15. - Idarubicina, 12 mg/m²/día, el día 1. - Ara-C, 500 mg/m²/día, los días 1-4.
<p><u>Tratamiento de mantenimiento</u> <u>(2 años).</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> - ATRA, 45 mg/m²/día, durante 15 días cada 3 meses. - Metotrexate, 15 mg/m²/semanal. - 6-mercaptopurina, 50 mg/m²/día.

REGÍMENES DE ACONDICIONAMIENTO.

CICLOFOSFAMIDA E ICT

- Ciclofosfamida, 60 mg/Kg/día (iv), a pasar en 1 hora los días -6 y -5.
- ICT, 2Gy/día, los días -6 a -1.

BUSULFÁN Y CICLOFOSFAMIDA

- Busulfán, 4 mg/Kg/horas (vo), los días -7 a -4.
- Ciclofosfamida 60 mg/Kg/día (iv), a pasar en 1 hora, los días -3 y -2.

FLUDARABINA Y BUSULFÁN

- Fludarabina, 30 mg/m²/día (iv), a pasar en 30 min, los días -9 a -5.
- Busulfán, 1 mg/Kg/6 horas (vo), los días -6 a -4 (total 10 dosis, 4-4-2).

TIMOGLOBULINA, TIOTEPA, FLUDARABINA Y BUSULFÁN

- Fludarabina, 50 mg/m²/día (iv), a pasar en 60 min, los días -5 a -3.
- Busulfán, 3,3 mg/Kg/día (iv), a pasar en 3 horas, los días -5 a -3.
- Tiotepa, 5 mg/kg/día (iv), a pasar en 4 horas, los días -7 y -6.
- Timoglobulina, 2 mg/Kg/día (iv), a pasar en 8 horas, los días -4 a -2.

TIOTEPA, FLUDARABINA Y BUSULFÁN

- Tiotepa, 5 mg/Kg/día (iv), a pasar los días -6 y -5.
- Fludarabina, 50 mg/m²/día (iv), a pasar en 60 min, los días -5 a -3.
- Busulfán, 6,14 mg/Kg/día (iv), a pasar en 3 horas, los días -4 y -3.

MELFALÁN

- Melfalán, 70 mg/m² (iv), a pasar en 20 min, los días -3 y -2.