



UNIVERSIDAD DE CANTABRIA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y PSIQUIATRÍA

TESIS DOCTORAL

**SUPERVIVENCIA A LARGO PLAZO DE LOS
PACIENTES TRASPLANTADOS POR
LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA.
ANÁLISIS DE LOS FACTORES DE RIESGO.**

Santander, 2015

CARMEN MONTES GAISÁN



Facultad de Medicina
Departamento de Medicina y Psiquiatría

D. EULOGIO CONDE GARCIA, CATEDRÁTICO DEL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y PSIQUIATRÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA Y JEFE DEL SERVICIO DE
HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA DEL HOSPITAL
UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA DE SANTANDER

CERTIFICO que la presente tesis doctoral titulada “SUPERVIVENCIA
A LARGO PLAZO DE LOS PACIENTES TRASPLANTADOS POR
LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA. ANÁLISIS DE LOS
FACTORES DE RIESGO”, realizada bajo mi dirección por Dña. Carmen
Montes Gaisán, responde a las exigencias científicas de originalidad y
rigor propias de un trabajo de esta índole y son fruto de la capacidad
técnica e interpretativa del doctorando.

Santander, Mayo 2015

A mi padre, sobran las palabras.

A mi madre, el inmejorable ejemplo a seguir.

A mis hermanos, porque la unión hace la fuerza.

A Rober, por hacerme feliz cada día.

A Carmen...por ser lo mejor que hemos hecho en la vida.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, gracias a mi madre y a mis hermanos por TODO. Siempre me animaron a dedicarme a la Hematología recordando el excepcional trato humano de “Conde y Marina”, pero debo destacar a mi madre, por ser la persona que más me ha apoyado con este largo trabajo, y a Rober, por su infinita paciencia y su ayuda incondicional.

Por supuesto, mi más sincero agradecimiento al Doctor Eulogio Conde García, bajo cuya dirección he realizado esta Tesis. Ha demostrado plena confianza en mí y me ha ofrecido la atención y el apoyo que he podido necesitar. De la misma forma, quiero agradecer a Germán Pérez y Marco Gandarillas la ayuda que me han brindado con el análisis estadístico de los resultados, y a Marta Albajar y las técnicas de laboratorio, con la búsqueda y el manejo de las muestras antiguas.

Mención especial merecen también Enrique Mazo, Julio Baro y Arturo Iriondo por su gran cariño y dedicación, el poco tiempo que he podido aprender de ellos.

En general, a todo el Servicio de Hematología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla: secretarias, auxiliares, enfermeras y médicos.

En último lugar, y no por ello menos importante, gracias a todos los pacientes, así como a sus familiares, por la entereza que continuamente demuestran, y por enseñarnos todos los días a valorar las cosas importantes y ser mejores personas.

*Dedico esta Tesis a todos mis familiares y amigos que sé
que hoy se alegran de que, por fin, tanto trabajo dé su fruto.
Destaco también de manera muy especial, a mi abuelo que está
deseando verme defenderla a sus casi 92 años, y a mis padrinos
que siempre nos han tratado como a verdaderos hijos.*



UNIVERSIDAD DE CANTABRIA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y PSIQUIATRÍA

**SUPERVIVENCIA A LARGO PLAZO DE LOS
PACIENTES TRASPLANTADOS POR
LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA.
ANÁLISIS DE LOS FACTORES DE RIESGO.**

DOCTORANDO: CARMEN MONTES GAISÁN
DIRECTOR: EULOGIO CONDE GARCÍA

Tesis presentada para aspirar al grado de Doctor en Medicina
Santander, Mayo 2015

1. TITULO.....	1
2. INDICE.....	3
3. ABREVIATURAS	9
4. INTRODUCCIÓN.....	15
A. Leucemia Mieloblástica Aguda	17
I. Epidemiología.....	18
II. Etiología	18
III. Patogenia	19
IV. Clasificación	20
V. Clínica.....	22
VI. Diagnóstico.....	23
a. Citología	23
b. Citoquímica	24
c. Inmunofenotipo	24
d. Citogenética Convencional.....	26
e. Citogenética Molecular o FISH.....	27
f. Biología Molecular	27
VII. Pronóstico	29
a. Variables relativas al paciente	30
b. Variables relativas a la enfermedad.....	30
c. Variables de respuesta al tratamiento	42
VIII. Tratamiento.....	44
a. Tratamiento de Inducción.....	44
b. Tratamiento Post-Remisión	45
c. Nuevos tratamientos	48
B. Trasplante de Precursores Hematopoyéticos.....	50
I. Tipos de trasplante.....	50
II. Indicaciones de trasplante.....	51
III. Fases del trasplante	52
IV. Complicaciones del trasplante	53
V. Índice de comorbilidad pretrasplante.....	56
5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	59
A. Hipótesis de trabajo	63
B. Objetivos.....	65

6. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	67
A. Material.....	69
I. Pacientes.....	69
II. El trasplante en el Hospital Marqués de Valdecilla.....	70
B. Métodos.....	73
I. Recogida de datos.....	73
II. Características biológicas de las células leucémicas	74
III. Estudio de las muestras congeladas al diagnóstico.....	81
IV. Análisis estadístico	86
7. RESULTADOS	91
A. Análisis descriptivo	93
I. Incidencia anual de cada tipo de trasplante	93
II. Características de la población a estudio	94
B. Análisis de supervivencia	101
I. Tipo de trasplante y evolución a lo largo del tiempo..	102
a. Supervivencia Global.....	104
b. Supervivencia Libre de Enfermedad	107
c. Riesgo de Recaída.....	110
d. Mortalidad Relacionada con el Trasplante.....	113
II. Análisis multivariable de los factores de riesgo	116
III. Variables con pequeño tamaño muestral	126
C. Calidad de vida en los largos supervivientes	131
D. Causas de mortalidad.....	133
E. Neoplasias secundarias	134
8. DISCUSIÓN	137
9. CONCLUSIONES.....	149
10. BIBLIOGRAFÍA	153

LMA: Leucemia Mieloblástica Aguda.

TPH: Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos.

HUMV: Hospital Universitario Marqués de Valdecilla.

Alo-TPH: Trasplante Alogénico de Progenitores Hematopoyéticos.

Auto-TPH: Trasplante Autólogo de Progenitores Hematopoyéticos.

HLA: Antígenos leucocitarios humanos.

CPH: Células Progenitoras Hematopoyéticas.

MO: Médula Osea.

SP: Sangre Periférica.

G-CSF: Factor Estimulador de Colonias Granulocitarias.

EMR: Enfermedad Mínima Residual.

FISH: Fluorescencia e Hibridación *in situ*.

DNA: Ácido Desoxirribonucleico.

RNA: Ácido Ribonucleico.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa.

CBF: Core Binding Factor.

FLT3: Fms-Like Tyrosine-kinase 3.

ITD: Internal Tandem Duplications.

TKD: Tirocin Kinasa Domain.

NPM1: Nucleofosmina.

MLL: Mixed Lineage Leukemia.

PTD: Partial Tandem Duplication.

CEBPA: CCAAT/Enhancer-Binding Protein Alpha.

QT: Quimioterapia.

RT: Radioterapia.

Bu: Busulfán.

Cy: Ciclofosfamida.

Flu: Fludarabina.

CsA: Ciclosporina A.

FK: Tacrolimus.

RC: Respuesta Completa.

RP: Respuesta Parcial.

RF: Refractariedad.

SG: Supervivencia Global.

OS: Overall Survival.

SLE: Supervivencia Libre de Enfermedad.

DFS: Disease Free Survival.

SLR: Supervivencia Libre de Recaída.

RR: Riesgo de Recaida.

CIR: Cumulative Incidence of Relapse.

MRT: Mortalidad Relacionada con el Trasplante.

TRM: Transplant-Related Mortality.

NRM: Non-Relapse Mortality.

HR: Hazard Ratio.

ECOG: Escala de comorbilidad del Eastern Cooperative Oncology Group.

EICH: Enfermedad Injerto Contra Huésped.

EiCL: Efecto Injerto contra Leucemia.

CMV: Citomegalovirus.

VEB: Virus Epstein-Barr

SMD: Síndrome Mielodisplásico.

A) LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA

La Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA) constituye un grupo heterogéneo de neoplasias que se producen como consecuencia de una alteración en la regulación del crecimiento y la diferenciación de las células hematopoyéticas. Esto da lugar a la acumulación de precursores mieloides inmaduros que conservan la capacidad de replicarse, pero que han perdido la capacidad de diferenciarse hacia células hematopoyéticas maduras (Figura 1). Como consecuencia de esta alteración, la expansión clonal de células blásticas infiltra la médula ósea y otros tejidos, impidiendo la hematopoyesis normal y alterando la función de otros órganos¹.

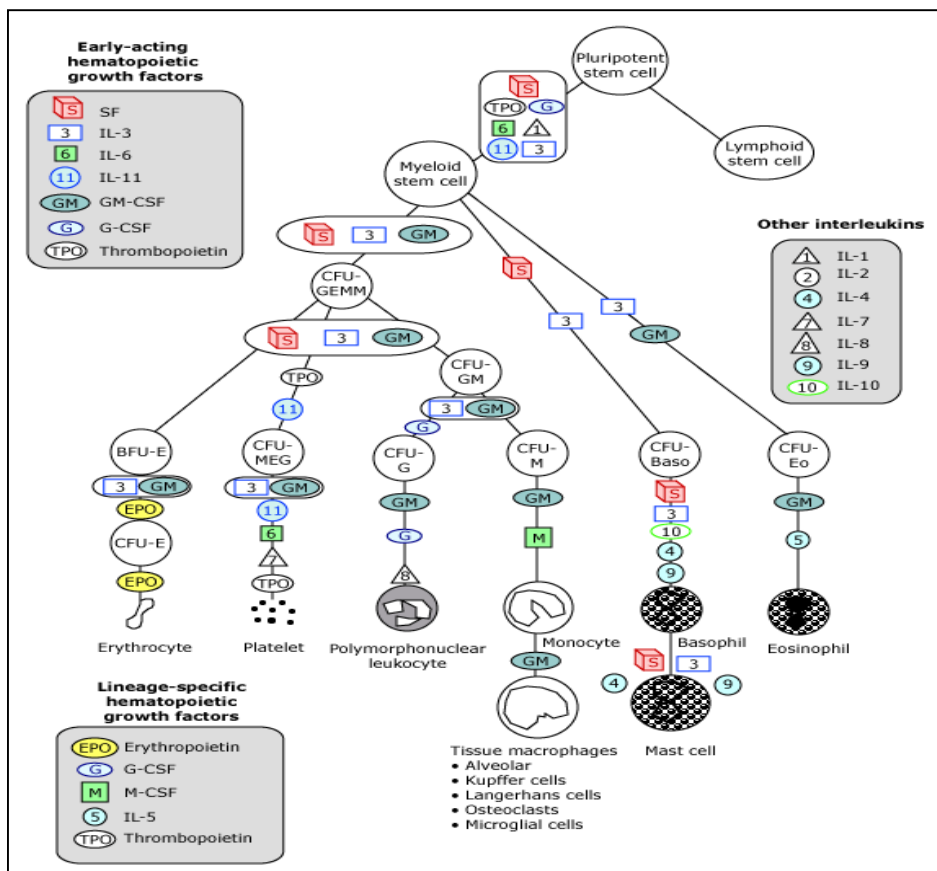


Figura 1. Esquema de la hematopoyesis normal

I. Epidemiología

Se trata de la forma más frecuente de leucemia aguda en el adulto²; la incidencia es de 1-3 casos / 100.000 habitantes al año, teniendo en cuenta que en los últimos 10 años la incidencia de esta enfermedad se ha incrementado significativamente. Ajustada a la edad, la incidencia aumenta de forma directamente proporcional: en pacientes con < 30 años es de < 1 caso / 100.000 habitantes al año, mientras que en pacientes con > 75 años llega a ser de 14 casos / 100.000 habitantes al año. Se estima que en Europa el 0.6% de todas las formas de cáncer corresponden a una LMA, lo que equivale a unos 18.000 casos nuevos de LMA por año. En España, la incidencia sería de entre 900 y 1000 casos nuevos anuales. Dentro de la totalidad de los procesos neoplásicos, la LMA es la causante del 1,2% de la mortalidad global por cáncer.

II. Etiología

La causa sigue siendo desconocida; sin embargo, se sabe que hay un aumento de la incidencia² en las siguientes circunstancias:

1. Pacientes con hemopatías previas: Síndromes Mielodisplásicos o Mieloproliferativos crónicos.
2. Pacientes con ciertas alteraciones cromosómicas:
 - a) Hiperfragilidad de la cromatina: Anemia de Fanconi, Síndrome de Bloom, Ataxia Telangiectasia, Síndrome de Kostmann, Síndrome de Li Fraumeni, Neurofibromatosis, Anemia de Diamond Blackfan o Síndrome de Wiskott-Aldrich.
 - b) Aneuploidias: Síndrome de Patau, Síndrome de Down o Síndrome de Klinefelter.

3. Pacientes expuestos a ciertas sustancias:

- a) Radiaciones ionizantes (de forma aislada o en combinación con quimioterapia): provocan daño en el DNA dando lugar a una hematopoyesis ineficaz y, por tanto, a un mayor riesgo de LMA, que aumenta con la edad del paciente y la dosis utilizada.
- b) Solventes químicos: la exposición laboral al benceno, los herbicidas y pesticidas, los derivados del petróleo, o incluso el tabaco, pueden provocar mutaciones de RAS y polimorfismos que conducen a la inactivación de NADPH (enzima reductora del stress oxidativo) y, por tanto, aumentar el riesgo de LMA.
- c) Tratamientos previos con inhibidores de la topoisomerasa o con agentes alquilantes (melfalán, procarbamina o mostaza nitrogenada).

III. Patogenia

El proceso de transformación de las células normales en células leucémicas clonales es multifactorial y tiene lugar en diferentes fases que están directamente ligadas a diversas alteraciones genéticas y a factores del microambiente celular. Las distintas alteraciones moleculares que acontecen en las células neoplásicas durante el proceso de leucemogénesis hacen que la LMA sea un proceso extraordinariamente heterogéneo desde el punto de vista morfológico, fenotípico y genético. La consecuencia directa de esta heterogeneidad es la constatación de que existen una serie de factores pronósticos que dan lugar a diferentes subtipos de LMA que tienen un comportamiento clínico distinto y que, por lo tanto, pueden beneficiarse de modificaciones en el tratamiento³.

IV. Clasificación

La primera clasificación de las LMA fue la Clasificación Franco-Americana-Británica (FAB) que data de 1976 y fue actualizada en 1985 (Tabla 1)⁴. Divide a las LMA en 8 subtipos según la línea mieloide afectada y su grado de diferenciación celular de acuerdo con los criterios morfológicos y citoquímicos. Sin embargo, la baja reproducibilidad de esta clasificación y los avances en el conocimiento de los factores biológicos de los últimos años han puesto de manifiesto la escasa utilidad clínica y significación pronóstica, excepto en el caso de la Leucemia Promielocítica Aguda (LPA o LMA M3) considerada en la actualidad una entidad aparte.

CLASIFICACIÓN FRANCO-AMERICANA-BRITÁNICA (FAB) DE LA LMA		
Denominación	Morfología	Frecuencia (%)
M0	LMA sin diferenciación *	3
M1	LMA sin maduración	15-20
M2	LMA con maduración granulocítica	25-30
M3 y M3 variante	LPA hipergranular y LPA hipogranular	5-10
M4	LMA mielomonocítica	25-30
M5a y M5b	LMA monoblástica y LMA monocítica	2-10
M6	LMA eritroide	3-5
M7	LMA megacarioblástica*	3-12
LMA: leucemia mieloide aguda; LPA: leucemia promielocítica aguda.		
* Para su diagnóstico es imprescindible el estudio inmunofenotípico.		

Tabla 1

La clasificación actual es la de la Organización Mundial de la Salud (OMS) del año 2001⁵, que se actualizó posteriormente en el año 2008 (Tabla 2)⁶⁻⁷. Esta clasificación surgió como consecuencia de la incorporación de la citogenética y las alteraciones moleculares a la

morfología, con lo que mejoró el diagnóstico y, sobre todo, se identificaron grupos pronósticos en la LMA. Las principales aportaciones de esta clasificación fueron la reducción del porcentaje de blastos en MO/SP hasta un 20% para establecer el diagnóstico de LMA y la inclusión de las leucemias con displasia multilínea, las leucemias relacionadas con el tratamiento y las leucemias con alteraciones citogenéticas recurrentes como entidades independientes, dado el diferente pronóstico que las confieren estas características.

CLASIFICACIÓN DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) PARA LMA (2008)*
1. LMA con alteraciones genéticas recurrentes
LMA con t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> LMA con inv(16)(p13;q22) o t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> LPA con t(15;17)(q22;q12) <i>PML-RARA</i> (M3c y M3v)** LMA con t(9;11)(p22;q23); <i>MLLT3-MLL</i> [†] LMA con t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i> LMA con inv(3)(q21q26.2) o t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EVI1</i> LMA (megacarioblástica) con t(1;22)(p13;q13); <i>RBM15-MKL1</i> Entidades Provisionales: LMA con <i>NPM1</i> mutado y LMA con <i>CEBPA</i> mutado
2. LMA con cambios relacionados con mielodisplasia[‡]
3. Neoplasias relacionadas con el tratamiento[§]
4. LMA no especificadas (NOS)
LMA mínimamente diferenciada (M0)** LMA sin maduración (M1)** LMA con maduración (M2)** Leucemia aguda mielomonocítica (M4)** Leucemia aguda monoblástica o monocítica (M5a y M5b)** Leucemia aguda eritroide (M6)** Leucemia eritroide pura Eritroleucemia Leucemia aguda megacarioblástica (M7)** Leucemia aguda basofílica Panmielosis aguda con mielofibrosis (sinónimos: mielofibrosis aguda, mieloesclerosis aguda)

5. Sarcoma mieloides
6. Proliferación mieloides relacionada con el síndrome de Down
Mielopoyesis anormal transitoria LMA/SMD relacionada con el síndrome de Down
7. Neoplasia de célula dendrítica plasmocitoide blástica
8. Leucemias agudas de Linaje ambiguo
Leucemia aguda indiferenciada Leucemia aguda fenotípicamente mixta con t(9;22) (q34;q11.2); <i>BCR/ABL1</i> ^{II} Leucemia aguda fenotípicamente mixta con t(v;11q23); <i>MLL</i> reordenado Leucemia aguda fenotípicamente mixta (mieloides/linfoides B), (NOS) Leucemia aguda fenotípicamente mixta (mieloides/linfoides T), (NOS) Entidad Provisional: Leucemia/linfoma linfoblástico de células natural killer
LMA: leucemia mieloides aguda; SMD: síndrome mielodisplásico. * Adaptado de Ref. 3 (Swerdlow y cols., 2008). ** Entre paréntesis, su contrapartida en la clasificación FAB. † Otras traslocaciones afectando al gen <i>MLL</i> se deben reportar: Ej. AML con t(6;11)(q27;q23); <i>MLLT4-MLL</i> ; AML con t(11;19)(q23;p13.3); <i>MLL-MLLT1</i> ; AML con t(11;19)(q23;p13.1); <i>MLL-ELL</i> ; AML con t(10;11)(p12;q23); <i>MLLT10-MLL</i> . ‡ Las alteraciones citogenéticas suficientes para diagnosticar LMA con cambios relacionados con mielodisplasia son: – Cariotipo complejo (definido como 3 o más alteraciones cromosómicas). – Alteraciones no balanceadas: -7 o del(7q); -5 o del(5q); i(17q) o t(17p); -13 o del(13q); del(11q); del(12p) o t(12p); del(9q); idic(X)(q13). – Alteraciones balanceadas: 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;p12); t(5;7)(q33;q11.2); t(5;17)(q33;p13); t(5;10)(q33;q21); t(3;5)(q25;q34). § Los Agentes citotóxicos principalmente implicados en neoplasias hematológicas relacionadas con el tratamiento son: agentes alquilantes, radiaciones ionizantes y los inhibidores de la topoisomerasa II. ^{II} Las leucemias agudas <i>BCR-ABL1</i> pueden presentar un fenotipo mixto linfoides/mieloides, pero de cualquier forma deben tratarse como leucemias linfoblásticas agudas <i>BCR/ABL1</i> positivas.

Tabla 2

V. Clínica

Los síntomas y signos que presentan los pacientes con una LMA se deben al fallo medular, y son la consecuencia de la infiltración de la médula ósea y de diversos órganos y tejidos por las células leucémicas⁸⁻⁹.

La infiltración de la medula ósea provoca un déficit de la hemopoyesis normal, dando lugar a una pancitopenia y a las consecuencias propias de una anemia, neutropenia y trombocitopenia que, generalmente, son severas. La infiltración de otros órganos da lugar a una alteración de su funcionamiento normal y nuevos datos clínicos que varían mucho dependiendo del órgano afectado: dolores óseos, visceromegalias, hipertrofia gingival (sobre todo cuando hay componente monocítico), infiltración meníngea, lesiones cutáneas o leucémides, sarcomas granulocíticos o cloromas...

Cuando la cifra de leucocitos es muy alta, generalmente por encima de los 100.000/uL, hasta un 10% de los pacientes pueden desarrollar un cuadro clínico denominado leucostasis, con manifestaciones clínicas a nivel pulmonar o del sistema nervioso central, y que es debido a una alteración de la microcirculación en dichos órganos. Otros pacientes pueden presentar insuficiencia renal por hiperuricemia o, en las leucemias monocíticas, por elevación de la lisozima. En la LPA (leucemia promielocítica aguda o M3) son frecuentes las alteraciones de la coagulación, por lo general secundarias a una CID.

VI. Diagnóstico

a) CITOLOGÍA

La citología es el estudio inicial para el diagnóstico de una LMA y la base de la Clasificación FAB⁴. Para el estudio morfológico normalmente se emplea la tinción de May-Grünwald-Giemsa, analizándose 200 leucocitos en SP y 500 células nucleadas en MO, y requiriéndose un 20% de blastos, por norma general, para el diagnóstico de LMA⁶⁻⁷.

b) CITOQUÍMICA

El estudio citoquímico es el complemento de la citología convencional. Estudia la composición química de la célula y permite localizar diversas sustancias, ejerciendo de nexo de unión entre la morfología y la bioquímica al conjugar forma y función ⁶.

Algunas reacciones bioquímicas han persistido a pesar de los avances, por ejemplo, la peroxidasa sigue siendo insustituible a la hora de distinguir una población mieloide de una linfoide, y la constatación de una pérdida parcial o total de mieloperoxidasa en una célula granulopoyética semimadura o madura apunta a su pertenencia a una clona mieloide patológica (pudiendo distinguir así una reacción leucemoide secundaria). De la misma forma, las esterasas son clásicas a la hora de identificar el componente monocítico en una población celular y la PAS-positividad es siempre anómala en las poblaciones eritroblásticas.

c) INMUNOFENOTIPO

La caracterización fenotípica de los blastos leucémicos mediante citometría de flujo es una herramienta fundamental en la individualización de la línea celular afecta (mieloide versus linfoide) y el grado de diferenciación de la misma, sin desplazar en ningún caso a la morfología¹⁰. Su objetivo es identificar y localizar componentes celulares mediante el reconocimiento de la reacción de éstos con los anticuerpos monoclonales correspondientes que, a su vez, van unidos a un fluorocromo.

El estudio inmunofenotípico nos permite identificar, de manera precisa, el linaje celular así como el estadio madurativo en el que ha tenido lugar la transformación leucémica (Tabla 3).

LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA Y LEUCEMIA AGUDA DE FENOTIPO MIXTO: EXPRESIÓN DE MARCADORES DE SUPERFICIE Y CITOPASMÁTICOS	
Diagnóstico de leucemia mieloide aguda (LMA)*	
Ags de células precursoras	CD34, CD38, CD117, CD133, HLA-DR
Marcadores granulocíticos	Mieloperoxidasa citoplasmática (MPOc), CD13, CD15, CD16, CD33, CD65
Marcadores monocíticos	Esterase no específica (ENE), CD11c, CD14, CD64, CVA, CD4, CD11b, CD36, 7.1 (NG2 homólogo) [†]
Marcadores megacariocíticos	CD41 (glicoproteína IIb/IIIa), CD61 (glicoproteína IIIa), CD42 (glicoproteína 1b)
Marcadores eritroides	CD235a (glicoforina A), CD105
Marcadores basófilos	CD203c, CD123, HLA-DR
Marcadores de mastocitos tumoral	CD117, CD203c, CD2/CD25**
Ags dendríticas plasmocitoides	CD123, HLA-DR, CD4
Ags Naturl-Killer	cPerforina, cGranzima, CD56, CD94
Diagnóstico de leucemia aguda de fenotipo mixto (LAFM)[‡]	
Línea mieloide	MPO o evidencia de diferenciación monocítica (<i>al menos 2 de los siguientes: ENE, CD11c, CD14, CD64, lisozyme</i>)
Línea linfoide-B	CD19 (fuerte) con al menos uno de los siguientes: CD79a, cCD22, CD10, o CD19 (débil) con al menos 2 de los siguientes: CD79a, cCD22, CD10
Línea linfoide-T	CD3 citoplasmático o de superficie
* Este listado de marcadores supone un listado de marcadores útiles para el diagnóstico de LMA, pero no implica un panel de antígenos a realizar sistemáticamente para el estudio de LMA. (Referencias 3,13).	
[†] La mayoría de casos con alteración en 11q23 expresa NG2 homologue (codificado por <i>CSPG4</i>) que reacciona con el anticuerpo monoclonal 7.1.	
[‡] Requisitos para asignar afectación de una determinada línea celular (Referencias 3,13 y 14). El diagnóstico de LAFM puede establecerse tanto si una misma célula coexpresa antígenos de dos o más líneas (LAFM bifenotípica) o bien existen blastos que expresan Ags mieloide y linfoides en células separadas (LAFM bilineal) o bien combinación de ambos tipos de células.	
** Expresión aberrante en mastocito tumoral.	

Tabla 3

Sus aportaciones fundamentales son¹⁰⁻¹¹:

1. La cuantificación exacta de blastos en SP y MO.
2. La precisa caracterización de los tipos de leucemia específica descritos por la OMS 2008.
3. La identificación de marcadores aberrantes y su posible correlación con el pronóstico: las LMA con t(8;21) suelen expresar antígenos de superficie de clase B como CD19 y CD56, las LMA con inv(16) suelen expresar

antígenos de superficie de clase T como CD2, las LMA con mutaciones del gen NPM1 suelen expresar CD33 fuerte y CD34 débil/negativo y las LMA con mutaciones de FLT3-ITD suelen ser CD34, HLA-DR y CD133 negativas y CD56 y CD123 positivas.

4. La detección de la Enfermedad Mínima Residual (EMR) mediante la identificación de defectos madurativos en los blastos leucémicos que los pueden hacer distinguibles de las células mieloides inmaduras normales. Su cuantificación post-tratamiento es también un marcador pronóstico.

d) CITOGENÉTICA CONVENCIONAL

El estudio citogenético mediante análisis de metafases con bandas G (mínimo de 20) es una evaluación inicial obligada ya que es el factor pronóstico independiente más importante¹²⁻¹³⁻¹⁴⁻¹⁵⁻¹⁶⁻¹⁷.

Sus aportaciones fundamentales son:

1. La detección de alteraciones numéricas y estructurales en el 50-60% de los casos¹².
2. La clasificación de los 7 subgrupos descritos por la OMS 2008 dentro de su entidad “LMA con alteraciones genéticas recurrentes”¹⁶.
3. La capacidad de establecer el diagnóstico de “LMA con cambios relacionados con mielodisplasia” con la presencia de determinadas alteraciones citogenéticas, aunque no se alcance la cifra standard de 20% de blastos en MO.

Sin embargo, esta técnica también tiene sus limitaciones¹⁷:

1. Mala calidad o ausencia de suficientes metafases analizables.
2. Presencia de reordenamientos crípticos no detectables.
3. Necesidad de técnicas moleculares complementarias ya que hasta el 40% de los casos tienen cariotipo normal.

e) CITOGENÉTICA MOLECULAR (FISH)

El estudio citogenético mediante FISH (fluorescencia e hibridación *in situ*) es de gran utilidad para detectar reordenamientos genéticos conocidos y pérdidas o ganancias de material cromosómico mediante técnicas moleculares¹⁸. Estaría especialmente indicado en los casos en los que falla la citogenética convencional y siempre que el estudio morfológico y/o fenotípico sugiera la presencia de un determinado reordenamiento genético pero el cariotipo sea negativo.

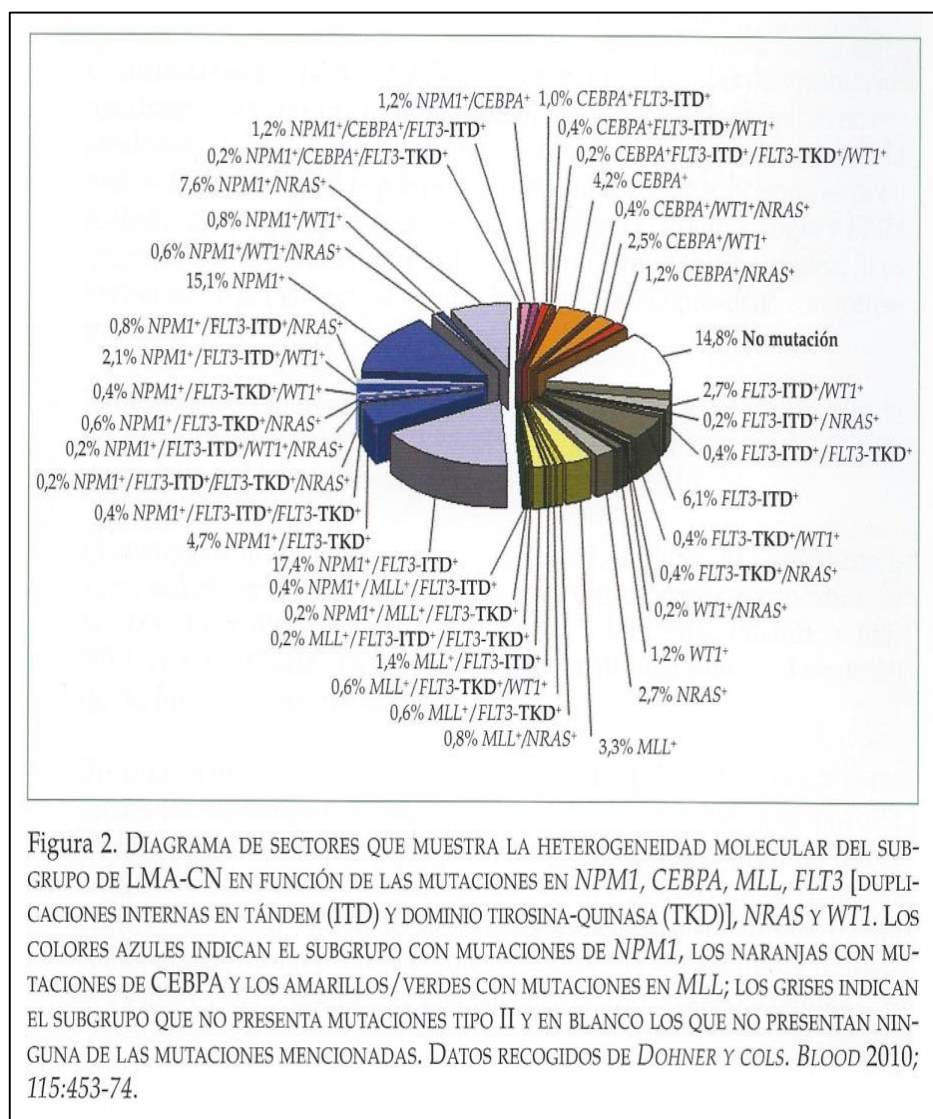
f) BIOLOGÍA MOLECULAR

El estudio molecular nos permite conocer los reordenamientos moleculares que se producen como consecuencia de las translocaciones e inversiones recíprocas, así como la detección de mutaciones y alteraciones de genes implicados en la LMA. Los reordenamientos moleculares se detectan en RNA mediante técnicas de transcripción reversa a partir de RNA seguido de PCR (RT-PCR), bien de forma cualitativa¹⁹ o bien de forma cuantitativa a tiempo real²⁰.

Ocasionalmente pueden existir discrepancias entre la citogenética convencional, la FISH y las técnicas de RT-PCR, principalmente en el caso de las translocaciones crípticas¹⁸. Por eso es recomendable hacer un estudio molecular cuando la citología y/o el inmunofenotipo sean sugestivos de presentar alguna translocación, aun cuando la citogenética y la FISH sean normales²¹.

Por otro lado, estudios moleculares han demostrado que las LMA presentan con frecuencia alteraciones en diferentes genes que están implicados en la mielopoyesis. Estas alteraciones podrían relacionarse con la patogenia de la LMA, ya que estudios experimentales sugieren que en el desarrollo de las LMA se necesitaría al menos la concurrencia de dos

eventos moleculares que darían lugar, por un lado, a la aparición de un defecto en la diferenciación celular y, por el otro, a una proliferación excesiva. La diferente incidencia de estas alteraciones, así como las distintas combinaciones de las mismas, da lugar a una gran heterogeneidad molecular del subgrupo de LMA con cariotipo normal (Figura 2).



VII. Pronóstico

El estudio biológico de la LMA está proporcionando actualmente información sobre diversos marcadores de la enfermedad que se asocian de forma importante con la probabilidad de supervivencia. Por eso es fundamental una selección de los marcadores pronósticos que deben ser considerados en el contexto de algoritmos que faciliten la toma de decisiones terapéuticas mediante una integración razonada y escalonada²².

Tradicionalmente se han utilizado como variables pronósticas las características del paciente, los datos biológicos de la enfermedad y la respuesta al tratamiento. Estas variables están vigentes hoy en día a la hora de analizar el riesgo de recidiva de la enfermedad. Además, es fundamental el estudio de la enfermedad mínima residual (EMR) como indicador de respuesta al tratamiento. La evaluación de la EMR se realiza por citometría de flujo y con los estudios citogenéticos-moleculares. Estos últimos nos han permitido realizar una estratificación pronóstica de la LMA facilitando el desarrollo de la terapia adaptada al riesgo (Figura 3).

	National Comprehensive Cancer Network®	NCCN Guidelines™ Version 2.2011 Acute Myeloid Leukemia	NCCN Guidelines Index AML Table of Contents Discussion
RISK STATUS BASED ON CYTOGENETICS AND MOLECULAR ABNORMALITIES			
RISK STATUS	CYTOGENETICS	MOLECULAR ABNORMALITIES	
Better-risk	inv(16) ¹ or t(16;16) ¹ t(8;21) ¹ t(15;17)	Normal cytogenetics: with NPM1 mutation or isolated CEBPA ³ mutation in the absence of FLT3-ITD	
Intermediate-risk	Normal cytogenetics +8 t(9;11) Other non-defined	t(8;21), inv (16), t(16;16): with c-KIT ⁴ mutation	
Poor-risk	Complex (≥ 3 clonal chromosomal abnormalities) -5, 5q-, -7, 7q-, 11q23 - non t(9;11) inv(3), t(3;3) t(6;9) t(9;22) ²	Normal cytogenetics: with FLT3-ITD mutation ⁵	

Figura 3. Clasificación citogenética-molecular empleada en este estudio

a) VARIABLES RELATIVAS AL PACIENTE

En numerosos estudios se ha demostrado que la edad avanzada (> 60 años) es un factor de mal pronóstico²³, tanto para la obtención de la remisión como para el riesgo de recidiva, disminuyendo por tanto la supervivencia global. Se trata de un subgrupo de pacientes que frecuentemente tienen comorbilidades asociadas y toleran peor los tratamientos, habiendo un alto porcentaje de fallecimientos en el periodo de aplasia. Un hecho a destacar es la frecuencia con la que los pacientes mayores presentan alteraciones biológicas que les confieren peores resultados²⁴: citogenética de alto riesgo, mayor inmadurez inmunofenotípica de los blastos leucémicos, antecedentes de mielodisplasia y positividad para la proteína de multirresistencia a drogas (MDR-1)²⁵.

La situación clínica del paciente, evaluada de acuerdo con el ECOG, tiene importancia pronóstica de tal manera que, en los pacientes con un ECOG >1, la tasa de remisiones es menor. Por otro lado, y referido a la evaluación pre-trasplante, la escala de comorbilidad de Sorrow²⁶⁻²⁷ parece predecir el riesgo de muerte precoz en pacientes alotrasplantados.

Finalmente, no hay una clara asociación con el sexo, aunque algún estudio habla de mayor número de recidivas en mujeres que en hombres.

b) VARIABLES RELATIVAS A LA ENFERMEDAD

La hiperleucocitosis, la infiltración masiva de la médula ósea, la hepatoesplenomegalia, la afectación extramedular y el aumento de la LDH sérica son marcadores clínicos de una alta carga tumoral en el momento del diagnóstico. De todas ellas, la que se considera un factor pronóstico desfavorable en la mayoría de los estudios es la leucocitosis > 20.000/ μ L

²⁶⁻²⁷, pues se asocia con mayor dificultad para alcanzar la remisión y mayor tasa de recidivas.

Los **estudios citogenéticos-moleculares** son los que tiene el mayor valor pronóstico²⁸⁻²⁹⁻³⁰⁻³¹⁻³². Son varios los estudios que demuestran que las alteraciones citogenéticas tienen una marcada influencia en la evolución de la LMA²⁸⁻²⁹⁻³⁰⁻³¹⁻³². Los hallazgos a nivel del cariotipo, o su contrapartida molecular, tienen un altísimo valor predictivo sobre las tasas de remisión completa (RC), la supervivencia libre de enfermedad (SLE), el riesgo de recaída (RR) y la supervivencia global (SG). El estudio citogenético, en forma de cariotipo o FISH para las alteraciones más importantes, se ha convertido en una herramienta necesaria para el manejo de la LMA y permite la diferenciación de tres grupos de riesgo con pronóstico diferente: favorable, intermedio y desfavorable²⁶⁻²⁷:

PRONÓSTICO FAVORABLE

Dejando al margen la Leucemia Promielocítica Aguda (LPA o LMA M3), sólo dos alteraciones citogenéticas se asocian a un pronóstico favorable, la t(8;21) y la inv(16)²⁸⁻³⁰⁻³¹⁻³². Ambas alteraciones tienen en común que se originan como resultado de dos transcritos que engloban los genes encargados de la codificación de los dos heterodímeros del “core binding factor” (CBF), CBF α y CBF β ³³⁻³⁴. Dichos transcritos son AML1/ETO y CBF β /MYH11. Prácticamente Todos los pacientes con t(8;21) alcanzan RC (98%) y muestran un RR y una SG mejor que el resto de grupos²⁸⁻³⁰⁻³¹⁻³⁴. Aunque las tasas de RC en los pacientes con inv(16) es más baja, parece que este fenómeno no se debe a un mayor número de casos que muestren resistencia al tratamiento sino a una mayor mortalidad durante la inducción (12%), lo que probablemente guarda relación con la mayor tendencia a la hiperleucocitosis observada al diagnóstico en este tipo de

leucemias grupos²⁸⁻³⁰⁻³¹⁻³³. Los pacientes con leucemias CBF tienen un riesgo de recidiva menor al observado en los grupos de riesgo intermedio y alto y parece que se benefician especialmente del tratamiento con altas dosis de citarabina durante la consolidación. La presencia de anomalías cromosómicas adicionales no empeora el pronóstico de estos pacientes³².

PRONÓSTICO DESFAVORABLE

En el extremo opuesto se sitúan los pacientes con cariotipo de alto riesgo portadores de alteraciones etiquetadas como de mal pronóstico. Estos pacientes muestran un alto índice de resistencia al tratamiento de inducción con un elevado RR y una baja SG (5-14%)²⁸⁻²⁹⁻³⁰⁻³¹⁻³².

PRONÓSTICO INTERMEDIO

Los pacientes con cariotipo normal, aquellos que son portadores de alteraciones no clasificables en los grupos de riesgo favorable o desfavorable, constituyen lo que se conoce como el grupo de riesgo intermedio. Se trata de un grupo altamente heterogéneo, que comprende a la mayoría de pacientes con LMA²⁸⁻²⁹⁻³⁰⁻³¹⁻³². Los pacientes de este grupo intermedio cuya citogenética esté asociada con alteraciones de buen pronóstico pasan a ser consideradas como favorables, y viceversa ocurre con las que se acompañan de alteraciones de mal pronóstico. Si bien la SLE en el grupo de riesgo intermedio es mejor que la observada en el grupo de mal pronóstico, existe una amplia variabilidad en la evolución clínica de estos pacientes. Por ello se hace necesario refinar el pronóstico de este subgrupo mediante el empleo de marcadores moleculares específicos.

	Original MRC	SWOG/ECO G	CALGB	GIMEMA/ AML10	German AML CG	HOVON/ SAKK	Refined MRC
Favorable	t(15;17) t(8;21) inv(16)/t(16;16)	t(15;17) t(8;21) [lacking del(9q), complex, ie, $\geq$ 3 unrel abn] inv(16)/t(16;16) /del(16q)	t(15;17) t(8;21) inv(16)/t(16;16)	t(15;17) t(8;21) inv(16)/t(16;16)	t(15;17) t(8;21) inv(16)/t(16;16)	t(15;17) t(8;21) alone inv/del(16)) and lacking unfav abn	t(15;17) t(8;21) inv(16)/t(16;16)
Intermediate	Normal Other non-complex	Normal +6, +8, -Y, del(12p)	Normal Other non-complex	Normal -Y	Normal Other non-complex	Normal Other non-complex	Normal Other non-complex
Adverse	abn(3q) -5/del(5q) -7 complex [$\geq$ 5 unrel abn] Excluding those with favorable changes	abn(3q),(9q),(11q),(21q) abn(17p) -5/del(5q) -7/del(7q) t(6;9) t(9;22) complex [$\geq$ 3 unrel abn]	inv(3)/t(3;3) -7 t(6;9) t(6;11) t(11;19) +8 complex ($\geq$ 3 unrel abn) Excluding those with favorable changes	Other	inv(3)/t(3;3) -3 - 5/del(5q) - 7/del(7q) abn(11q2) 3 del(12p) abn(17p) complex ($\geq$ 3 unrel abn)	abn(3q) -5/del(5q) -7/del(7q) abn(11q2) 3 t(6;9) t(9;22) complex ($\geq$ 3 unrel abn)	abn(3q) [excluding t(3;5)] inv(3)/t(3;3) add(5q)/del(5q)/ -5,- 7/add(7q) t(6;11) t(10;11) t(9;22) -17 abn(17p) with other changes Complex ($>$ 3 unrel abn) Excluding those with favorable changes
Variation in cytogenetic risk group classification across clinical trial groups. References for the various classification systems can be found in Grimwade.¹ The HOVON/SAKK cytogenetic classification was derived from the study by Cornelissen et al.⁴ The revised MRC classification system was based on an analysis of 5635 patients aged 16 to 59 years enrolled in the MRC AML10, AML12 and AML15 trials.⁶ Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2009;385-95.							

La incorporación de nuevos marcadores moleculares ha permitido mejorar la estratificación pronóstico de los pacientes con cariotipo normal y se hace necesaria en la actualidad para el manejo clínico de este subgrupo de enfermos³⁵. Las duplicaciones en tándem de FLT3 (FLT3-

ITD) y las mutaciones de NPM1 o CEBPA condicionan de manera importante el pronóstico de los pacientes con cariotipo de riesgo intermedio y su estudio permite diferenciar distintos subgrupos en cuanto al riesgo estimado de recidiva y supervivencia libre de enfermedad³⁵.

FLT3

El gen FLT3 (Fms-like tyrosine kinase 3) codifica un receptor de membrana de la familia de las tirosin kinasas de clase III, que se expresa en las células progenitoras hematopoyéticas de la médula ósea y que juega un importante papel en la diferenciación y proliferación de las células madre multipotentes³⁶⁻³⁷. Entre las alteraciones más importantes destacan, por su frecuencia e implicación pronóstica, las duplicaciones internas en tandem de FLT3³⁸⁻³⁹⁻⁴⁰⁻⁴¹. Esta mutación se conoce desde 1996 y afecta a un segmento de la secuencia codificadora del dominio yuxtamembrana (JMD, exones 14 y 15). Consiste en duplicaciones en tándem cuya longitud varía desde 3 hasta más de 400 nucleótidos, dando como resultado una proteína FLT3 alterada. La proteína codificada por FLT3-ITD sufre una dimerización independiente de ligando, una autofosforilación y una activación constitutiva, que provoca una cascada de señalización implicada en la proliferación, la diferenciación y la supervivencia celular. Finalmente se afecta al transductor de señal de la kinasa Janus 2 (JAK2), a la vía del activador de la transcripción 5 (STAT5) y a la vía de la protein kinasa mitógeno-activada (MAPK). Se encuentra en aproximadamente un 30%³⁸⁻³⁹⁻⁴²⁻⁴³⁻⁴⁴⁻⁴⁵ de los pacientes con LMA y cariotipo normal (aunque con menor frecuencia se puede asociar también a alteraciones cromosómicas). El otro tipo de alteraciones encontradas son las mutaciones puntuales de Asp 835 afectando al dominio tirosín kinasa de FLT3. Estas suceden con una frecuencia en torno al 7% en los pacientes con LMA, aunque puede alcanzar hasta el

14% de los pacientes con cariotipo normal³⁸, y su relación con el pronóstico está mucho más cuestionada³⁸⁻³⁹⁻⁴².

Casi todos los estudios publicados hasta la fecha coinciden en otorgar un papel pronóstico adverso para la presencia de FLT3-ITD³⁵⁻³⁸⁻³⁹⁻⁴²⁻⁴⁴⁻⁴⁵. Es más frecuente en las LMA de novo y suele implicar una cifra de leucocitos más alta y una infiltración medular mayor. Aunque la tasa de RC es similar con respecto a los pacientes no portadores de dicha mutación, la duración de la misma es menor. Sin embargo, la peor evolución de los pacientes con mutaciones de FLT3 viene determinada fundamentalmente por un claramente mayor RR y, por tanto, una menor SLE y una menor SG.

NPM1

La incidencia de mutaciones de NPM1 oscila entre 25 y 53% en todas las LMA, siendo la alteración más frecuente en los pacientes con cariotipo normal (entre 46 y 67%)⁴⁵⁻⁴⁶⁻⁴⁷⁻⁴⁸⁻⁴⁹⁻⁵⁰⁻⁵¹. La mutación más habitual consiste en la duplicación de 4 pares de bases en el exón 12. Se produce un cambio en la fase de lectura y tiene como consecuencia la alteración de la porción C-terminal de la nucleofosmina, favoreciendo la señal de transporte fuera del núcleo. A su vez se produce una pérdida de residuos de triptófano fundamentales para el anclaje nucleolar de la proteína. Ambos hechos explican que las células leucémicas presenten una localización anómala de la proteína codificada. Cuando la nucleofosmina está en el citoplasma celular no lleva a cabo sus funciones: prevención de la agregación de proteínas en el nucléolo, regulación del ensamblaje ribosómico de las proteínas y regulación de las vías de supresión tumoral de ARF y p53.

Las diferencias halladas en los estudios realizados, cuando se encuentran, van en la misma dirección de conferir a la mutación NPM1 una cierta

implicación pronóstica favorable⁵²⁻⁵³⁻⁵⁴⁻⁵⁵. Se asocia a sexo femenino, diferenciación monocítica (LMA M4 o M5 de la FAB) y ausencia de expresión de CD34. Suele implicar una cifra de leucocitos más alta, una infiltración medular mayor y trombocitosis acompañante en el momento del diagnóstico⁴⁵⁻⁴⁶⁻⁴⁷⁻⁴⁸⁻⁴⁹⁻⁵⁰⁻⁵¹. Un trabajo sugiere una mayor incidencia de enfermedad extramedular, fundamentalmente a expensas de hiperplasia gingival⁴⁷, y solamente otro ha encontrado una asociación con la edad, siendo más frecuente en pacientes mayores de 35 años⁵⁰. Varios trabajos han analizado su impacto en el pronóstico de los pacientes con LMA, así como su relación con las distintas características clínico-biológicas⁴⁵⁻⁴⁶⁻⁴⁷⁻⁴⁸⁻⁴⁹⁻⁵⁰⁻⁵¹. Existe una clara asociación entre las mutaciones de FLT3 y las de NPM1, siendo sin embargo muy rara la asociación de éstas últimas con otras mutaciones como las de CEBPA, MLL o NRAS⁴⁶⁻⁴⁷⁻⁴⁸⁻⁴⁹⁻⁵⁰⁻⁵¹. Desde el punto de vista de la evolución de los pacientes, la mayor parte de los trabajos otorgan un papel favorable a las mutaciones de NPM1. No obstante, este pronóstico favorable se observa fundamentalmente en los pacientes con FLT3 no mutada (según algunos estudios podría mejorar el pronóstico de las mutaciones de FLT3-TKD, pero no el de las FLT3-ITD), en los que se alcanzan tasas de remisión en torno al 85%, presentando una SLE del 50-60% y una SG de alrededor del 50%⁴⁵⁻⁴⁶⁻⁴⁷⁻⁴⁸⁻⁵⁰, cifras claramente superiores a las observadas en pacientes con mutaciones de NPM1 y FLT3-ITD. Por tanto, las mutaciones de NPM1 definirían un grupo de mejor pronóstico dentro de los pacientes con LMA de cariotipo normal, siempre que no se asocien a mutaciones de FLT3.

MLL

Fue la primera mutación que se supo afectaba al pronóstico de las LMA con cariotipo normal. Ocurre en el 5-11% de esas LMA y consiste en la

duplicación de la región que se extiende desde el exón 5 hasta el 11-12 y su posterior inserción en el intrón 4 del gen MLL, teniendo como resultado una duplicación de la región N-terminal. La mutación MLL-PTD conserva todos los dominios funcionales de la forma salvaje de la proteína, pero su presencia se acompaña simultáneamente del silenciamiento del alelo de MLL salvaje en los blastos con LMA. Este hecho parece involucrar distintas modificaciones en la metilación del DNA. Dentro de los múltiples patrones de fusión que dan lugar al reordenamiento 11q23/MLL caben destacar 4: MLL-AF4 en relación con t(4;11)(q21;q23), MLL-AF9 en relación con t(9;11)(p23;q23), MLL-AF6 en relación con t(6;11)(p27;q23) y MLL-ELL en relación con t(11;19)(q23;p13.1), siendo mucho más frecuentes las dos primeras. Clásicamente la t(4;11) es la que se ha asociado en la mayor parte de los estudios (relativos a AML y ALL) a un mal pronóstico⁵⁶. Sin embargo, todas ellas parecen implicarlo, en mayor o menor medida, según los estudios más recientes⁵⁷. El único caso que ha provocado controversia es la t(9;11) ya que, en un primer momento, parecía conferir un relativo buen pronóstico en los niños diagnosticados de AML⁵⁸. Sin embargo, estudios posteriores no confirmaron este hallazgo⁵⁹, y cuando se amplió la información en la población adulta, surgió la polémica pues en algunas publicaciones implicaba un pronóstico intermedio⁶⁰ y en otras, un pronóstico adverso⁶¹.

Aunque según la clasificación de la WHO del año 2002, el reordenamiento 11q23/MLL confería un pronóstico intermedio, parece que en actualidad forma parte del grupo de mutaciones en las que existe indicación de ALoTPH en 1ª RC⁵⁶. Las características biológicas de la enfermedad al diagnóstico no varían sustancialmente según la presencia o no del reordenamiento. Sin embargo, existe una clara asociación entre las mutaciones de FLT3 y MLL (alrededor del 40%), siendo sin embargo muy rara la asociación de éstas últimas con otras mutaciones como las de

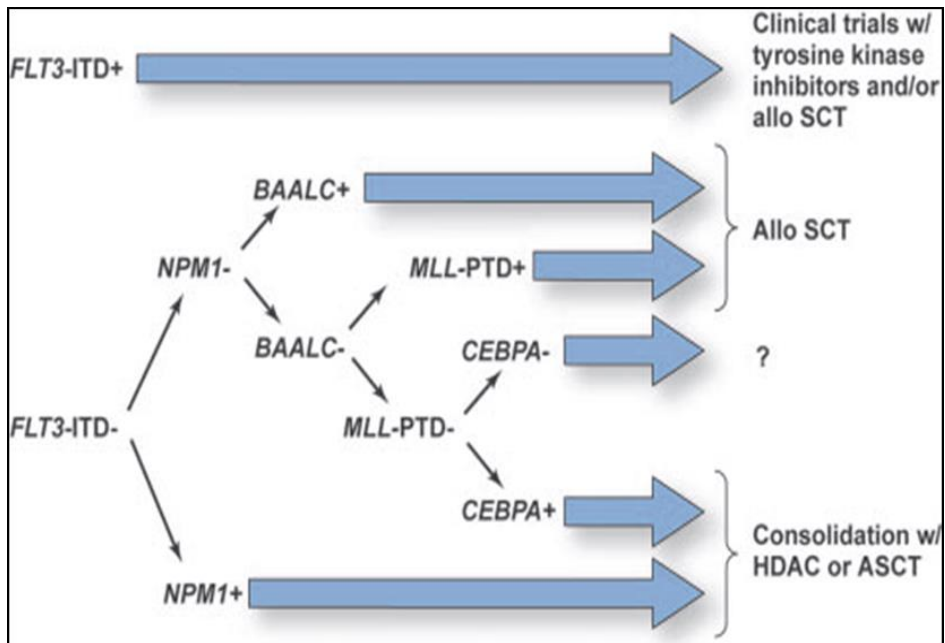
NPM1o CEBPA²⁶⁻²⁷. En cuanto al pronóstico de los pacientes con cariotipo normal que presentan la mutación MLL-PTD, la mayoría de los estudios no encuentra diferencias significativas sobre la tasa de RC o la SG²⁶⁻²⁷, pero sí hay algunos que encuentran una menor duración de la RC, una mayor tasa de recaídas y, por lo tanto, una menor SLE²⁸.

CEBPA

CEBPA codifica un factor fundamental de la diferenciación granulocítica. Sus mutaciones aparecen en un 5-10% de todas las LMA de novo, preferentemente en aquellas con cariotipo normal. De forma similar a las mutaciones de NPM1, aunque con una mejor frecuencia que éstas, las alteraciones de CEBPA parecen relacionarse también con un mejor pronóstico³⁵⁻⁶⁵⁻⁶⁶. En un estudio realizado sobre 135 pacientes se encontraron 22 mutaciones de CEBPA en un total de 15 pacientes (11%). Las mutaciones de CEBPA no guardaron relación con las características biológicas de la enfermedad al diagnóstico, excepto una ligera tendencia por las LMA M1 y M2 según la FAB. Todos los casos se dieron en el grupo citogenético de riesgo intermedio. Aunque las tasas de RC fueron las mismas en los dos grupos, los pacientes con mutaciones de CEBPA tuvieron una mejor SG que el resto (55% vs. 25%). Esta asociación se observó también para la SLR y la SLE. En el análisis multivariante, las mutaciones de CEBPA aparecieron como un factor pronóstico independiente. Hay que destacar que la incidencia de FLT3-ITD fue del 26%, sin que existieran diferencias entre los pacientes con CEBPA mutado o no. Parece que la asociación a FLT3-ITD anulaba el pronóstico favorable de las mutaciones de CEBPA. Estos datos han podido ser verificados en una serie más reciente³⁵.

Las mutaciones en los genes FLT3, NPM1 y CEBPA permiten una clasificación pronóstica de los pacientes LMA con cariotipo normal. Las mutaciones de NPM1 o CEBPA se han incluido ya en la clasificación de la OMS 2008 como subentidades provisionales, ya que ambas alteraciones parecen ser eventos genéticos primarios con un papel causal de la enfermedad. Sin embargo, buena parte de las alteraciones genéticas que subyacen en esta enfermedad son todavía desconocidas. Por ello, independientemente del estudio de las mutaciones conocidas, la lista de anormalidades genéticas estudiadas en este grupo de pacientes va creciendo día a día y muchas de ellas están siendo incluidas en la caracterización molecular de la LMA.

Standardized reporting for correlation of cytogenetic and molecular genetic data in AML with clinical data (Blood 2010;115:453-474)	
GRUPO FAVORABLE	t(8;21)(q22;q22); (<i>RUNX1-RUNX1T1</i>)
	inv(16)(p13.1;q22)/t(16;16)(p13.1;q22); (<i>CBFβ/MYH11</i>)
	Cariotipo normal con NPM1 mutado y FLT3 no mutado
	Cariotipo normal con CEBPA mutado
GRUPO INTERMEDIO-I	Cariotipo normal con NPM1 y FLT3 no mutados
	Cariotipo normal con FLT3-ITD y NPM1 mutado
	Cariotipo normal con FLT3-ITD y NPM1 no mutado
GRUPO INTERMEDIO-II	t(9;11)(p22;q23)11q23 (<i>MLLT3-MLL</i>)
	Citogenética no clasificada como favorable o adversa
GRUPO ADVERSO	t(6;9)(p23;q34); (<i>DEK-NUP214</i>)
	inv(3)(q21;q26.2)/t(3;3)(q21;q26.2); (<i>RPN1-EVI1</i>)
	t(v;11q23)
	-5, del(5q), -7, abn(17p) y cariotipo complejo



Proposed schema assigning AML patients with normal karyotype to risk-adapted postremission therapies using information on currently known prognostic markers as a basis for designing future clinical studies (Blood 2007;109:431-448)

OTROS

Una vez considerados los marcadores moleculares que están definiendo la terapia adaptada al riesgo en la actualidad, hay que tener en cuenta que, recientemente, gracias a las técnicas de secuenciación de nueva generación, la lista de los genes que juegan un papel en la fisiopatología de la LMA está creciendo rápidamente, permitiendo una mejor caracterización de la enfermedad. Algunos de los más estudiados recientemente se describen a continuación⁶⁷:

GEN	FRECUENCIA DE MUTACIONES	IMPORTANCIA CLÍNICA
IDH1/IDH2	- LMA: IDH1 6% e IDH2 8% - LMA con cariotipo normal: IDH1 10-16% e IDH2 10-19% - IDH2 más frecuente en mayores.	Asociación con NPM1 mutado/FLT3 no mutado, confiriendo mayor CIR y menor OS. Las mutaciones IDH1 e IDH2 son mutuamente excluyentes.
KIT	- LMA-CBF: 25-30%	Confiere peor evolución. Ensayos clínicos evaluando los inhibidores de KIT.
WT1	- LMA con cariotipo normal: 10-13%	Pronóstico indeterminado.
RUNX1	- LMA: 5-13% - Asociación con trisomía 13, trisomía 21 y cariotipo normal.	Asociación con MLL-PTD. Correlación inversa con CEBPA y NPM1. Confiere menor CR, DFS y OS.
MLL-PTD	- LMA con cariotipo normal: 5-11% - Asociación con trisomía 11 (>90%)	No es factor pronóstico independiente. Confiere menor DFS y RFS.
NRAS	- LMA con cariotipo normal: 9-14% - LMA-CBF: >40%	No se ha asociado con ningún factor pronóstico. Podría predecir la sensibilidad al tratamiento.
KRAS	- LMA-CBF: 5-17%	No se ha asociado con ningún factor pronóstico.
TP53	- LMA con cariotipo complejo: 56-76%	Confiere peor evolución.
TET2	- LMA: <10%	En investigación.
ASXL1	- LMA de novo: 7-30%	En investigación.
CBL	- Mutaciones raras en LMA	Sin impacto pronóstico

Nuevas variaciones genéticas recurrentes en adultos con LMA:
Significado biológico y clínico Marcucci et al., 2011; Walker et al, 2011

c) VARIABLES DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO

La necesidad de más de un ciclo de inducción o más de 50 días para alcanzar la remisión se considera un factor pronóstico adverso al estar relacionado con una mayor tasa de recidivas y una supervivencia global menor. Así mismo ocurre en los casos que necesitan varias líneas de tratamiento para controlar la enfermedad y en aquellos otros que se someten a TPH sin estar la enfermedad controlada.

El concepto de **Enfermedad Mínima Residual** hace referencia a la persistencia tras el tratamiento de una proporción de células leucémicas indetectables mediante los estudios morfológicos habituales. Los análisis multiparamétricos mediante citometría de flujo permiten analizar la presencia de la EMR y los niveles de ésta inciden sobre la probabilidad de recidiva. Varios trabajos demuestran que el nivel de EMR en la MO correspondiente a la obtención de la RC tras el tratamiento de inducción permite discriminar claramente pacientes con diferente riesgo de recaída⁶⁸. Los pacientes con niveles muy bajos ($ERM < 10^{-4}$), bajos (ERM entre 10^{-4} y 10^{-3}), intermedios (ERM entre 10^{-3} y 10^{-2}) y altos ($ERM > 10^{-2}$) presentan una SLR a tres años de 100%, 85%, 55% y 15%, respectivamente.

En cuanto a la EMR post-consolidación y pre-TPH, parece que el punto de corte más significativo en la predicción de la recaída es 0,0035⁶⁹. Aunque alguna serie aislada que reconoce el valor pronóstico de la EMR tras el tratamiento de consolidación no obtiene resultados concluyentes en el análisis realizado al momento de alcanzar la RC⁷⁰, la mayoría de ellas sí que confirman el impacto pronóstico del estudio de la EMR por CMF, tanto en el momento de obtener la RC morfológica como en las fases posteriores de tratamiento⁷²⁻⁷³⁻⁷⁴, e incluso en momentos precoces de la inducción⁷⁵. La combinación de los estudios de EMR con los hallazgos

moleculares y citogenéticos puede mejorar la estratificación pronóstico de los pacientes con LMA⁷¹⁻⁷⁶.

Relapse rate in different cytogenetic groups according to the status of MRD at the end of consolidation (Blood 2010;116:2295-2303)	
RIESGO BAJO DE RECAIDA	Citogenética de bajo riesgo con EMR negativa
	Citogenética de riesgo intermedio con EMR negativa
RIESGO ALTO DE RECAIDA	Citogenética de bajo riesgo con EMR positiva
	Citogenética de riesgo intermedio con EMR positiva
	Citogenética de alto riesgo independientemente de la EMR
	Citogenética de riesgo intermedio con mutación de FLT3 independientemente de la EMR

Finalmente, debe destacarse que las LMA secundarias responden peor al tratamiento que las LMA de novo, por lo que es más difícil la obtención de la remisión cuando la LMA proviene de una enfermedad hematológica previa o está relacionada con QT/RT²⁶⁻²⁷. Clásicamente las LMA relacionadas con la terapia se subdividen en dos: las secundarias a DNA topoisomerasa II, que suelen tener traslocaciones balanceadas y un periodo de latencia más corto, y las secundarias a antimetabolitos, agentes alquilantes y RT, que suelen presentar cariotipo complejo y un periodo de latencia más largo, estando precedidas habitualmente por un síndrome mielodisplásico. Esta es la razón por la que se acompañan de una supervivencia global menor.

VIII. Tratamiento

El tratamiento de la LMA ha progresado poco en los últimos años, a pesar de los grandes avances conseguidos en el conocimiento de la biología de la enfermedad. Es posible que en el futuro podamos disponer de tratamientos dirigidos contra dianas moleculares.

a) TRATAMIENTO DE INDUCCIÓN

El objetivo principal es conseguir una Remisión Completa (RC). Para conseguir este fin, disponemos de diversos esquemas de poliquimioterapia intensiva, pero el más aceptado internacionalmente es el esquema 3+7 que combina 3 días de Antraciclina y 7 días de Citarabina.

La antraciclina más utilizada es la Daunorrubicina a la dosis de 45-60 mg/m²/día, pero también se ha empleado a la dosis de 90 mg/m²/día con mejores resultados, sin aumentar la toxicidad⁷⁷. Algunos grupos utilizan más la Idarrubicina a la dosis de 10-12 mg/ m²/día con resultados similares a los de la Daunorrubicina⁷⁸⁻⁷⁹⁻⁸⁰⁻⁸¹. La dosis de Citarabina oscila entre 100 y 200 mg/m²/día en infusión continua durante 7 días (alternativamente 10 días de inyecciones en bolo intravenoso)⁸²⁻⁸³. Se puede utilizar también a dosis altas de 1 a 3 g/m² en las fases posteriores de consolidación, pero no en la inducción porque no mejora las tasas de RC y aumenta la toxicidad⁸⁴⁻⁸⁵⁻⁸⁶⁻⁸⁷.

La adición de otros fármacos (fundamentalmente Etopósido, Tioguanina o Fludarabina) al esquema 3+7 no ha mejorado los resultados.

La LPA es un subtipo especial de LMA que se trata con una antraciclina y un diferenciador celular, el ATRA (ácido trans-retinoico) o el ATO (tríóxido de arsénico), seguidos de un mantenimiento durante 2

años. Los resultados conseguidos son muy buenos, tasas de RC del 85-95% y SLE mantenida del 70-80%

b) TRATAMIENTO POST-REMISIÓN

Alrededor del 60-80% de los pacientes adultos con LMA alcanzan la RC con quimioterapia de inducción intensiva⁸⁸⁻⁸⁹⁻⁹⁰⁻⁹¹. Sin embargo, sin tratamiento adicional, prácticamente todos los pacientes recaen en los siguientes 6 meses. Esto justifica la necesidad del tratamiento post-remisión con el que se puede llegar a conseguir una supervivencia, a largo plazo, entorno al 45-50%.

Los tratamientos post-RC intentan destruir las células leucémicas que han sobrevivido a la terapia de inducción y que son indetectables en general por estudios convencionales. Así se reduce al máximo la enfermedad mínima residual y se evitan las recaídas. Existen tres opciones básicas de tratamiento post-RC: quimioterapia de consolidación, trasplante autólogo (Auto-TPH) y trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (Alo-TPH). La elección depende de factores como:

1. Tasa de recaída esperable: depende fundamentalmente de las características biológicas de la LMA y de la respuesta alcanzada con el tratamiento de inducción.
2. Morbilidad y mortalidad esperable: influenciada especialmente por la edad del paciente y la existencia de comorbilidades.
3. Disponibilidad de tratamientos de rescate en caso de recaída.

Esta aproximación intenta minimizar la exposición a terapias excesivamente tóxicas en aquellos pacientes con posibilidad de curarse solamente con quimioterapia y proporcionar la máxima acción antitumoral en los pacientes con LMA de difícil curación.

De lo dicho anteriormente, y en función de los factores pronósticos, el tratamiento post-remisión puede ser de tres formas:

1. Pacientes de riesgo favorable: La quimioterapia puede ser una buena opción de tratamiento.

Los pacientes con LMA de riesgo favorable pueden obtener excelentes tasas de supervivencia recibiendo altas dosis de citarabina como terapia post-RC (SG del 60-70% a los 4 años)⁸⁹⁻⁹⁰⁻⁹¹⁻⁹²⁻⁹³. La citarabina a dosis altas (HDaraC) ha sido el fármaco de elección durante las últimas dos décadas, aunque ciclos alternos (combinando etopóxido, ciclofosfamida, citarabina a dosis estándar y mitoxantrone) proporcionan resultados similares a los alcanzados con HDaraC y con menor toxicidad. El número ideal de ciclos post-RC se desconoce, pero los mejores resultados se han conseguido administrando al menos 3 ciclos. En este grupo de pacientes de riesgo favorable, el Alo-TPH no mejora los resultados descritos con la quimioterapia, porque el mayor efecto erradicador del trasplante está neutralizado por la mayor mortalidad que genera.

2. Pacientes de riesgo desfavorable: El alotrasplante es la mejor opción de curación.

En este grupo de pacientes debe iniciarse la búsqueda de un donante en el momento del diagnóstico de la enfermedad, ya sea entre los hermanos o un donante no emparentado, con el fin de realizar el alotrasplante lo antes posible. La SLE si solo reciben quimioterapia de consolidación es del 15-30%, mejorando hasta el 40% a los 5 años si reciben un Alo-TPH⁹⁴⁻⁹⁵⁻⁹⁶⁻⁹⁷⁻⁹⁸⁻⁹⁹. Después del alotrasplante existe la posibilidad de infundir linfocitos del donante con el fin de potenciar el efecto injerto contras leucemia (EicL), que puede ser beneficioso en algunos pacientes.

3. Pacientes de riesgo intermedio: El alotrasplante puede ser la mejor opción terapéutica.

El tratamiento quimioterápico con HDaraC, o esquemas similares, proporciona una SLE del 30%.

El Auto-TPH mejora los resultados hasta el 40-45% con una baja mortalidad ($<5\%$)¹⁰⁰⁻¹⁰¹⁻¹⁰², pero la tasa de recaídas puede llegar hasta el 50% por ausencia del efecto EICL.

El Alo-TPH es, sin duda, la mejor opción terapéutica por el EICL que conlleva¹⁰³, pero la elevada mortalidad asociada, que puede llegar a ser hasta del 30%, hace que los resultados finales sean similares a los que se consigue con el autotrasplante. No obstante, en los pacientes jóvenes con un buen donante, la mortalidad es más baja y, por consiguiente, el alotrasplante es el tratamiento que proporciona los mejores resultados. La mayor parte de los autores no considera indicado el Alo-TPH en pacientes con cariotipo normal, mutaciones NPM1 o FLT3 nativo, ya que estos casos alcanzan tasas de SLE del 60% con quimioterapia intensiva o Auto-TPH¹⁰⁴⁻¹⁰⁵⁻¹⁰⁶. En los casos con mutaciones en CEBPA existe controversia, aunque los resultados de algunos trabajos van a favor del Alo-TPH como opción preferente¹⁰⁵.

Por lo tanto, una parte importante de pacientes con LMA de riesgo intermedio parece no precisar la realización de un Alo-TPH en 1ª RC, pero son necesarias nuevas investigaciones. El Alo-TPH permite rescatar al 30-40% de los pacientes que recaen y alcanzan una 2ªRC.

c) NUEVOS TRATAMIENTOS

El mejor conocimiento de las bases genéticas que favorecen el desarrollo de la leucemia ha servido para el diseño de fármacos que van dirigidos contra dianas moleculares concretas que están implicadas en la patogenia de las LMA. El objetivo es revertir o bloquear estas alteraciones específicas. De esta manera se han desarrollado múltiples fármacos que, en la mayoría de los casos, no se han trasladado a la práctica clínica por la falta de eficacia. Esta limitación parece deberse al desconocimiento que todavía se tiene acerca de los mecanismos que determinan la transformación leucémica.

Los más importantes descritos hasta la fecha son (Figura 4):

Fármacos hipometilantes: Su objetivo es impedir la metilación del DNA (proceso epigenético al cual se atribuye un papel significativo en la patogenia de las enfermedades neoplásicas). Los 2 principales representantes de esta familia son Azacitidina y Decitabina, que han demostrado eficacia en SMD y cuentan con la aprobación en la LMA con hasta un 20-30% de blastos en MO¹⁰⁷⁻¹⁰⁸.

Anticuerpos monoclonales (Gentuzumab Ozogamicina): Es una inmunoglobulina humanizada dirigida contra el antígeno CD33 expresado en los precursores hematopoyéticos, y conjugada con un potente antibiótico antitumoral denominado caliqueamicina. Dicho antibiótico se libera una vez que se han unido antígeno y anticuerpo, dirigiendo el antineoplásico contra el tejido diana y disminuyendo de esta manera la toxicidad medular¹⁰⁹⁻¹¹⁰.

Inhibidores de la farnesiltransferasa: Su objetivo es impedir la reacción de prenilación que facilita el anclaje de la RAS a la membrana e impedir así su acción (puesta en marcha de una cascada de eventos de fosforilación que controlan la proliferación y diferenciación celular)¹¹¹⁻¹¹².

B) TRASPLANTE DE PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS

La base del TPH es destruir el tejido hematopoyético del paciente y recuperarlo a partir de un pequeño número de células precursoras hematopoyéticas del donante. Estas células son indiferenciadas y poseen la capacidad de replicación indefinida hasta dar lugar a las células especializadas que formarán un nuevo sistema hematopoyético sano¹¹⁴.

I. Tipos de trasplante

Según el origen de los progenitores hematopoyéticos:

- El propio paciente: TPH autólogo
- Un donante sano: TPH alogénico

Según el tipo de donante (en Alo-TPH):

- Hermano gemelo univitelino: TPH singénico (se comporta como Auto-TPH)
- Hermano HLA-idéntico
- Familiar parcialmente compatible: TPH haploidéntico
- No emparentado (HLA-idéntico o no)

Según la intensidad del acondicionamiento:

- Convencional (mieloablativo): erradicación de la celularidad anómala del paciente y posterior reconstitución de la hematopoyesis mediante los progenitores hematopoyéticos sanos del donante.
- De intensidad reducida (no mieloablativo): progresiva sustitución de la celularidad hematopoyética anómala del paciente por la sana del donante, bien mediante la retirada de la inmunosupresión, bien reforzando el injerto con la infusión de linfocitos del donante (ILD)¹¹⁵.

II. Indicaciones de trasplante

TPH AUTÓLOGO¹¹⁶⁻¹¹⁷:

- LPA en 2ªRC Molecular.
- En 1ªRC con citogenética de alto riesgo.
- En indicaciones de Alo-TPH si no se dispone de donante compatible.

La única posibilidad es hacer un acondicionamiento mieloablativo convencional, pues el objetivo es utilizar dosis de quimioterapia tan elevadas que provocarían en el paciente una mielosupresión irreversible de no ser rescatados con sus propios progenitores hematopoyéticos sanos previamente congelados.

TPH ALOGÉNICO¹¹⁸⁻¹¹⁹:

- LPA con enfermedad molecular persistente.
- Refractariedad al tratamiento.
- Recaída precoz.
- LMA secundaria.
- En 1ªRC con citogenética de alto riesgo.
- En 1ªRC con citogenética de riesgo intermedio, excepto NMP1 mutado / FLT3 nativo.
- En 2ªRC.

La edad es un factor bien establecido. Por encima de los 50-55 años la tendencia, en la mayor parte de los centros nacionales, es a realizar un acondicionamiento de intensidad reducida. Sin embargo, siempre hay que valorar la ausencia de comorbilidades y la disponibilidad de un hermano HLA-idéntico como factores añadidos que pueden suponer excepciones.

III. Fases del trasplante

Acondicionamiento:

Tiene que ser lo suficientemente ablativo como para eliminar el sistema hematopoyético del receptor y, en el caso de los Alo-TPH, también lo suficientemente inmunosupresor como para evitar el rechazo de los nuevos progenitores hematopoyéticos.

Obtención de los progenitores hematopoyéticos:

Extracción de MO mediante múltiples punciones-aspiraciones en cresta iliaca o extracción de SP mediante aféresis previa movilización de progenitores hematopoyéticos desde la MO¹²⁰. En el caso de los Alo-TPH, la selección del donante se hace según: compatibilidad HLA, presencia de anticuerpos anti-HLA (si existe disparidad), serologías de CMV donante/receptor, edad, ausencia de embarazos y/o transfusiones y compatibilidad ABO.

Conservación del inóculo:

Criopreservación del mismo si no se infunde en las siguientes 24 horas desde la extracción.

Infusión de progenitores hematopoyéticos vía endovenosa:

En el caso de los Alo-TPH, según la compatibilidad ABO, puede ser necesario desplasmatizar (incompatibilidad menor) o eliminar los hematíes (incompatibilidad mayor) del inóculo.

Aplasia profunda:

Durante las 2 o 3 primeras semanas.

Recuperación hematológica:

Progresiva normalización de las cifras en sangre periférica, habitualmente es más precoz en el caso del Auto-TPH por emplearse la sangre periférica como fuente habitual (en nuestro centro siguen siendo los progenitores hematopoyéticos (PH) de la médula ósea los más empleados en el caso del Alo-TPH) ¹²¹⁻¹²².

Reconstitución inmune:

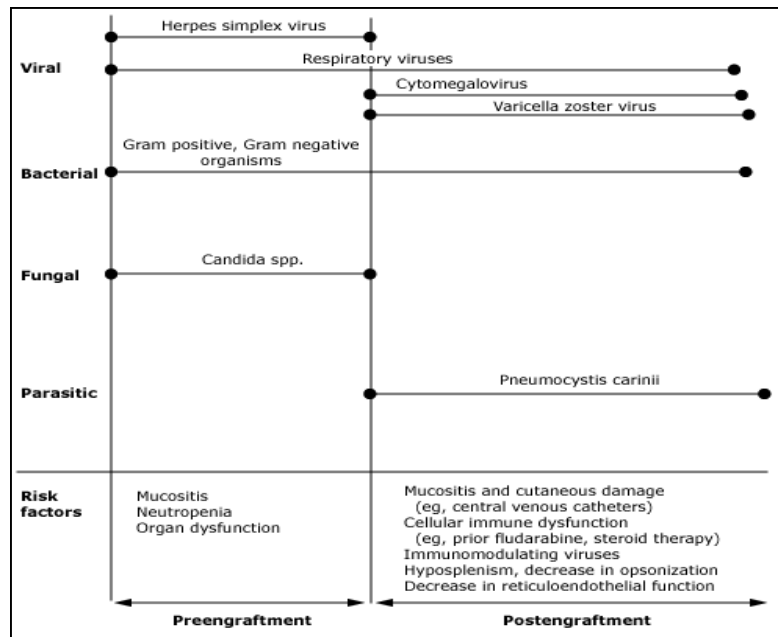
Durante los 6 primeros meses, pudiéndose alargar hasta los 2 años. Esta fase es mucho más tórpida en el caso de los Alo-TPH por la inmunosupresión que supone¹²¹⁻¹²³.

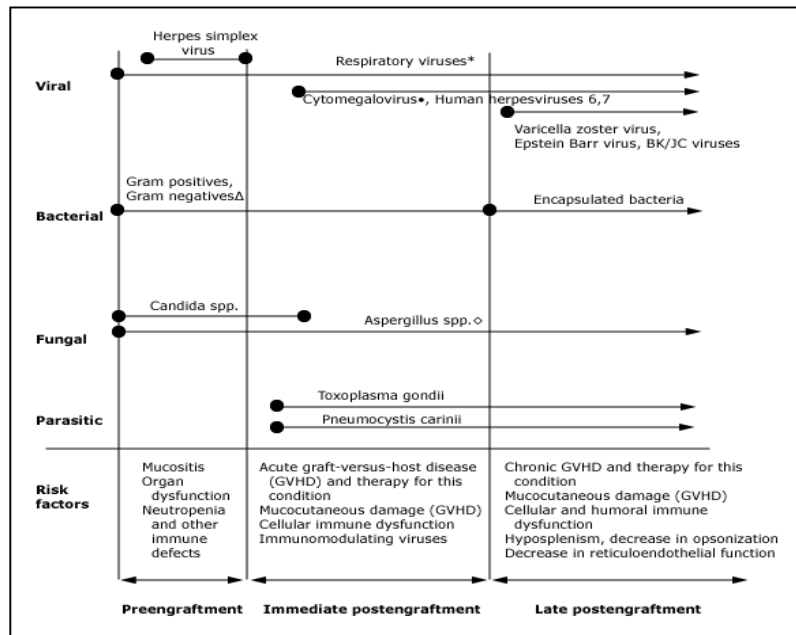
IV. Complicaciones del trasplante

INFECCIONES¹²¹⁻¹²³⁻¹²⁴:

- 1ª etapa (0-21 días): Neutropenia con pérdida de función fagocítica y daño de la barrera cutáneo-mucosa, que favorecen principalmente las infecciones bacterianas y fúngicas.
- 2ª etapa (21-100 días): Inmunodeficiencia celular, que favorece principalmente las reactivaciones víricas (de especial importancia el CMV¹²⁵, seguido del VEB), las infecciones fúngicas¹²⁶ y las oportunistas.
- 3ª etapa (4º mes- 2º año): Inmunodeficiencia humoral, que favorece principalmente las infecciones por bacterias encapsuladas y por virus respiratorios.

Auto-TPH



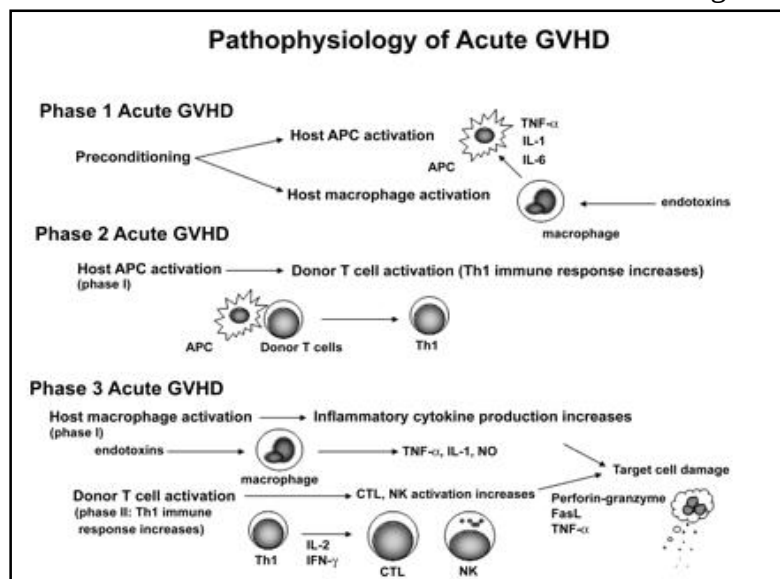
Alo-TPH**TOXICIDAD¹²⁴:**

- Mucositis (principalmente Busulfán y Melfalán)
- Cistitis hemorrágica precoz (sobre todo, Ciclofosfamida)
- Vasculares precoces:
 - Enfermedad veno-oclusiva hepática¹²⁷: lesión endotelial del sinusoides hepático, favorecida por la liberación de citocinas asociadas al acondicionamiento o a los inhibidores de la calcineurina, que se manifiesta por la triada típica de ictericia, hepatomegalia dolorosa y retención hídrica.
 - Hemorragia alveolar difusa: similar al cuadro hepático pero a nivel pulmonar, cursando con disnea, hipoxemia e infiltrados alveolares en la placa de tórax.
 - Púrpura trombótica trombocitopénica: cuadro clínico clásico, habitualmente en relación con los inhibidores de la calcineurina.

ENFERMEDAD INJERTO CONTRA HUESPED (sólo en Alo-TPH) ¹²⁴:

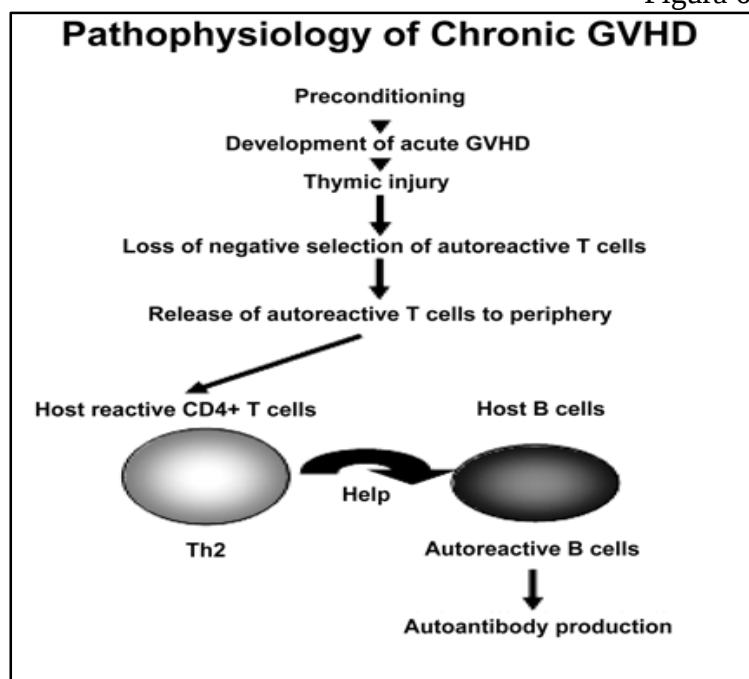
- Aguda¹²⁸: tiene lugar cuando prenden los PH del donante en un receptor inmunosuprimido para evitar el rechazo del injerto (Figura 5)¹¹⁴⁻¹²¹. Aparece en los 100 primeros días y sus órganos diana son piel, tubo digestivo e hígado. Su incidencia va del 10 al 80% y se ve favorecida por:
 - Donante no emparentado
 - Disparidad HLA
 - Mayor edad de donante y/o receptor
 - Donante mujer y receptor hombre
 - Donante CMV+ y receptor CMV-
 - Receptor con embarazos o transfusiones previas
 - Sangre periférica como fuente de progenitores
 - Mayor celularidad del inóculo (más CD34 y más CD3)
 - Acondicionamiento empleado
 - Profilaxis de EICH menos potente

Figura 5



- Crónica¹²⁹: es la complicación tardía más frecuente (30 al 80%), pero también es la que aparece ligada al EICL (injerto contra leucemia) y, por tanto la que, mediante el efecto inmune, implica el poder curativo del Alo-TPH en la LMA (Figura 6)¹¹⁴⁻¹²¹. Se considera a partir del día 100 y sus órganos diana son mucosas, piel, pulmón, hígado y tubo digestivo. La previa aparición de EICH agudo es el factor favorecedor más importante.

Figura 6



V. Indice de comorbilidad pretrasplante

La elevada morbilidad del trasplante alogénico sigue siendo el principal problema a la hora de decidir la actitud terapéutica a seguir¹³⁰⁻¹³¹ una vez logrado el control de la enfermedad. El modelo de riesgo pre-TPH más aceptado en la actualidad es el Índice de Sorror (Tabla 4)¹³²⁻¹³³:

COMORBILIDAD	PUNTUACIÓN
Arritmia cardíaca (FA, flutter o arritmia ventricular)	1
Cardiopatía isquémica, ICC, IAM o FE <50%	1
Enfermedad Inflamatoria Intestinal	1
Diabetes en tratamiento farmacológico	1
Enfermedad cerebrovascular (AIT o ictus)	1
Depresión o ansiedad en tratamiento	1
Obesidad (IMC > 35 kg/m ²)	1
Hepatopatía crónica leve (Bb ≤ 1,5 valor normal o AST/ALT ≤ 2,5)	1
Hepatopatía crónica moderada/severa (cirrosis, Bb > 1,5 valor normal o AST/ALT > 2,5)	3
Infección que requiera antibioterapia el día de la infusión de células progenitoras	1
Enfermedades reumatológicas	2
Úlcera péptica en tratamiento	2
Insuficiencia renal moderada/severa (Cr >2 mg/dL, diálisis o trasplante previo)	2
Enfermedad pulmonar moderada (DLCO +/- FEV1 66-80% o disnea de mínimos esfuerzos)	2
Enfermedad pulmonar moderada (DLCO +/- FEV1 <65% o disnea de reposo)	3
Tumor sólido previo (excepto cáncer cutáneo no melanoma)	3
Valvulopatía cardíaca (excepto prolapso mitral)	3

Tabla 4. Escala de comorbilidad pre-TPH de Sorror

PUNTUACIÓN	RIESGO	TRM (2años)	OS (2años)
0	Bajo	14 %	71 %
1-2	Intermedio	21 %	60 %
≥ 3	Alto	41 %	34 %

5. Justificación del estudio

La leucemia mieloblástica aguda (LMA) es el tipo más común de leucemia en los adultos. Clínicamente se caracteriza por un fallo en la diferenciación y proliferación de las células progenitoras hematopoyéticas (CPH), que da lugar a la acumulación de mieloblastos patológicos. En los últimos años ha habido un notable progreso en el conocimiento de las bases genéticas de la LMA, lo que nos ha permitido reconocer la heterogeneidad de estas leucemias desde el punto de vista clínico y biológico. En general, el pronóstico de las LMA es malo, con la excepción de la Leucemia Promielocítica Aguda (M3), y el tratamiento se basa en la quimioterapia y el trasplante de CPH. La identificación de diferentes grupos pronósticos de LMA, basados en las características genéticas, ha permitido optimizar el tratamiento de los pacientes y definir, de manera más precisa, el papel que juega cada uno de ellos en la curación de estos pacientes. Además, se han identificado dianas terapéuticas que cada vez se utilizan más en la práctica clínica, combinadas con quimioterapia.

El tratamiento curativo de los pacientes con LMA es el alotrasplante (Alo-TPH) como consolidación del tratamiento de Inducción. El efecto erradicador de las células leucémicas residuales se basa en la terapia celular ejercida por las células efectoras procedentes del donante, principalmente linfocitos T y células NK. Alternativamente, en los casos en los que no se puede realizar un Alo-TPH, se utiliza como consolidación una megadosis de quimioterapia seguida de un autotrasplante (Auto-TPH). La mortalidad tóxica del alotrasplante de CPH es elevada y debida, fundamentalmente, a la inmunosupresión y a la Enfermedad Injerto contra Huésped (EICH), pero las recidivas de la enfermedad son muy pocas. Por el contrario, en el autotrasplante de CPH, la mortalidad tóxica es muy baja, pero las recidivas de la enfermedad son elevadas. El resultado final es similar en ambos grupos porque la eficacia/toxicidad está contrabalanceada.

A) HIPÓTESIS DE TRABAJO

El hecho de disponer de un gran número de pacientes con LMA trasplantados en nuestro Hospital, de manera uniforme, a lo largo de 30 años con una mediana de seguimiento de casi 5 años, nos ha animado a realizar este análisis retrospectivo para conocer nuestros resultados y compararlos con los resultados de otros estudios retrospectivos de grupos cooperativos multicéntricos.

Analizaremos y compararemos el papel que juegan los diferentes factores pronósticos, biológicos o clínicos, con el fin de conocer en nuestros pacientes, el riesgo de recaída y la morbilidad asociada a cada tipo de trasplante. En base a estos resultados intentaremos conocer:

1. En qué pacientes está indicado el Alo-TPH y en cuales sería suficiente un Auto-TPH para lograr el control de la enfermedad.
2. Nuevas estrategias de inmunomodulación o de tratamiento post Auto-TPH para reducir el riesgo de recaída.
3. El mejor protocolo de acondicionamiento, y de prevención de EICH en el caso del Alo-TPH, para lograr la mayor tasa de curación con la menor morbilidad posible.

B) OBJETIVOS

Objetivo principal

Analizar la supervivencia global, la toxicidad y las recaídas en los 112 pacientes autotrasplantados y en los 162 pacientes alotrasplantados en nuestro centro, así como su calidad de vida a largo plazo.

Objetivos secundarios

Analizar mediante un modelo explicativo la verdadera magnitud de efecto que tiene cada uno de los factores pronósticos (características clínicas y biológicas relacionadas con el paciente, con la enfermedad y su tratamiento previo o con el procedimiento) sobre la Incidencia Acumulada de Recaída y sobre la Supervivencia Global de las LMA sometidas a TPH en nuestro centro, evitando el efecto de confusión que podrían ejercer el resto de variables analizadas.

Analizar el material genético almacenado en el Banco de Sangre y Tejidos de Cantabria para completar el perfil biológico, mediante FISH y Biología Molecular, de los pacientes con LMA transplantados en nuestro centro, que no fueron estudiados al diagnóstico, pero de los que disponíamos de células criopreservadas de aquel momento.

A) MATERIAL

I. Pacientes

Se trata de un estudio retrospectivo que incluye los Trasplantes de Progenitores Hematopoyéticos (TPH) por Leucemia Mieloide Aguda (LMA) realizados en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV) desde Marzo de 1982, cuando se inició la práctica de dicho procedimiento, hasta Diciembre de 2011.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. TPH realizados a pacientes mayores de 18 años.
2. TPH realizados a pacientes diagnosticados de LMA (criterios FAB o WHO) en Cantabria, o bien referidos desde otras Comunidades para trasplantar.
3. TPH, sean autólogos, singénicos, alogénicos o haploidénticos, realizados en nuestro centro (HUMV) desde Marzo de 1982 hasta Diciembre de 2011.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. TPH realizados a niños y adolescentes.
2. TPH realizados a pacientes diagnosticados de LPA (LMA M3).
3. Dobles TPH, ya que en el caso de que un mismo paciente haya recibido más de un TPH, sólo se considerará para nuestro estudio el primer trasplante realizado, independientemente del centro de donde proceda.

Siguiendo los criterios expuestos, del total de 371 TPH realizados en el HUMV desde 1982 hasta 2011 a pacientes diagnosticados de LMA, se seleccionaron 274 para la realización de este estudio. Por lo tanto, 97 casos se excluyeron por diversas causas: 39 pacientes eran menores de 18 años, 46 pacientes fueron diagnosticados de LPA y 11 pacientes se habían sometido a algún procedimiento previo (6 a un TPHautólogo, 3 a un TPHalogénico, 1 a un TPHsingénico y 1 a un TPHautólogo y un TPHalogénico).

En resumen, la población objeto de nuestro estudio consta de un total de 274 pacientes clasificados del siguiente modo: 109 TPHautólogos, 3 TPHsingénicos, 160 TPHalogénicos, y 2 TPHhaploidénticos.

II. El trasplante en el Hospital Marqués de Valdecilla

El procedimiento del TPH ha sufrido cambios fundamentales en las últimas décadas, lo cual ha supuesto notables mejorías en cuanto a Supervivencia Global (OS) y Supervivencia Libre de Enfermedad (DFS)

En el caso concreto de nuestro centro, hemos intentado unificar fechas para destacar hitos históricos que implican cambios objetivos a tener en cuenta en el análisis estadístico de los resultados del TPH en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla:

*DÉCADA 1982-1991*1982:

Características del paciente: Edad límite de alrededor de 45 años para realizar el TPH.

Diagnóstico: Fundamentalmente por Citología y Citoquímica, los marcadores para Citometría de Flujo se fueron adquiriendo desde este momento paulatinamente.

Medidas de soporte: Aislamiento inverso, sólo algunas unidades de flujo laminar.

1988:

Características del paciente: Aumento del límite de edad hasta casi 60 años para el TPHautólogo.

Profilaxis de EICH (TPHalogénico): Inicio de Ciclosporina A.

Medidas de soporte: Uso de Septrim profiláctico.

*DÉCADA 1992-2001*1993:

Diagnóstico: Introducción de la Biología Molecular (sólo para alteraciones recurrentes).

Medidas de soporte: Uso de quinolonas profilácticas y aparición de Anfotericina B.

1995:

Tratamiento de Inducción: Introducción del esquema standard “3+7”.

Acondicionamiento: Inicio de la tendencia por BuCy oral sobre CyRT.

1997:

Diagnóstico: Análisis de la Enfermedad Mínima Residual por Citometría de Flujo (2 colores).

1999:

Diagnóstico: Introducción de la FISH.

Medidas de soporte: Abandono de las profilaxis.

2000:

Características del paciente: Aumento del límite de edad hasta casi 50 años para el TPHalogénico.

Tratamiento de Inducción: Introducción del esquema FlagIda (SMD secundarios).

Medidas de soporte: Aparición de Caspofungina.

2001:

Diagnóstico: Introducción de los 3 colores en la Citometría de Flujo para afinar en la EMR pre-TPH.

DÉCADA 2002-2011

2003:

Diagnóstico: Introducción de los 4 colores en la Citometría de Flujo para afinar en la EMR pre-TPH.

2005:

Acondicionamiento: Inicio del Busulfán endovenoso.

2006:

Selección del donante (TPHalogénico): Alta definición de HLA en locus A-B-C-DRB1-DQB1.

Medidas de soporte: Aislamiento en habitaciones con filtro HEPA.

2007:

Diagnóstico: Introducción de marcadores pronósticos por Biología Molecular (FLT3).

2008:

Características del paciente: Aumento del límite de edad hasta casi 60 años para el TPHalogénico.

B) MÉTODOS

I. Recogida de datos

Se ha creado una base de datos mediante revisión de historias clínicas. Incluye 157 variables clínico-biológicas de los 274 pacientes incluidos en el estudio, y se ha completado hasta Diciembre de 2012 para asegurar un seguimiento mínimo de un año en todos los casos. Las variables incluyen información referente a:

a) DATOS DEMOGRÁFICOS

Variables para identificar y definir correctamente al paciente.

b) EL PACIENTE

1. Variables clínicas en el momento del debut de la enfermedad.
2. Variables clínicas en el momento inmediatamente previo al TPH.
3. Variables clínicas en el periodo post-TPH.
4. Variables clínicas en el momento del último seguimiento.

c) LA ENFERMEDAD

1. Variables biológicas en el momento del debut de la enfermedad.
2. Variables relacionadas con la terapia de inducción a la remisión.
3. Variables relacionadas con la respuesta al tratamiento quimioterápico.
4. Variables biológicas en el momento inmediatamente previo al TPH.
5. Variables biológicas en el periodo post-TPH.
6. Variables biológicas en el momento del último seguimiento.

d) EL TRASPLANTE

1. Variables relacionadas con el procedimiento.
2. Variables relacionadas con la infusión y la recuperación hematopoyética.
3. Variables relacionadas con el donante (si Alo-TPH).
4. Variables relacionadas con la Enfermedad Injerto Contra Huésped (si Alo-TPH).
5. Variables relacionadas con el seguimiento.

II. Características biológicas de las células leucémicas

Se realizan 3 tipos de análisis en las células leucémicas al diagnóstico:

a) ESTUDIOS CITOLÓGICOS Y CITOQUÍMICOS

El **estudio citológico** tiene una importancia clásica en el diagnóstico de las LMA (clasificación de la FAB). De hecho, todas las técnicas que han ido apareciendo se consideran un complemento que define y caracteriza el diagnóstico inicial proporcionado por la morfología microscópica de las células leucémicas.

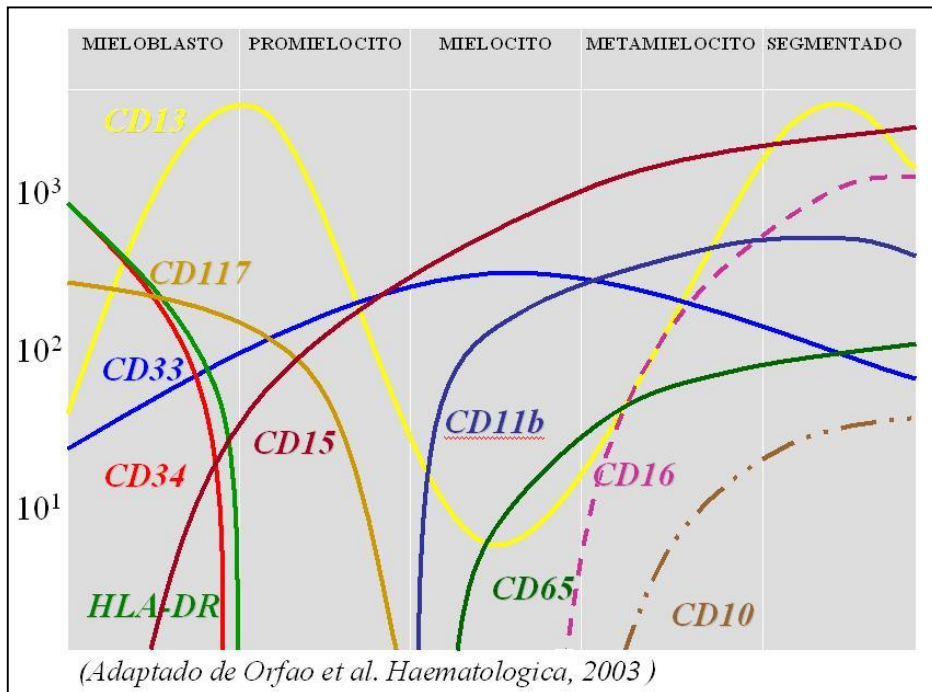
La **citoquímica** es la más antigua y supone un nexo de unión entre la morfología y la bioquímica al conjugar forma y función. En el caso de las LMA, las 3 técnicas con mayor importancia son:

- Mieloperoxidasa (enzima oxidante): marcador mieloide por excelencia y técnica fundamental para diferenciar la estirpe mieloide o linfoide de las células leucémicas.
- Esterasas (enzimas hidrolíticas): cloro-acetato-esterasa, que marca la granulopoyesis neutrofílica y alfa-naftol-acetato-esterasa o ANAE, que marca el componente monocítico de una población celular.
- Reacción de PAS (carbohidrato): marcador de los eritroblastos patológicos en la LMA M6.

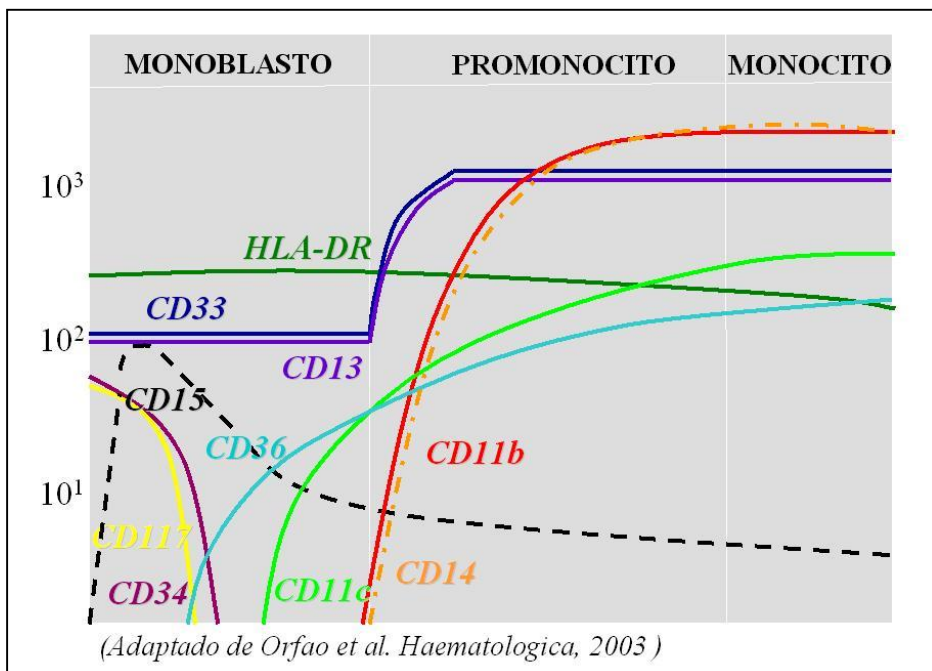
b) ESTUDIOS INMUNOFENOTÍPICOS

El estudio inmunológico posibilita la detección de antígenos, moléculas de inmunoglobulina y receptores de membrana celular, que pueden ser específicos para una línea celular determinada o para un estadio madurativo específico.

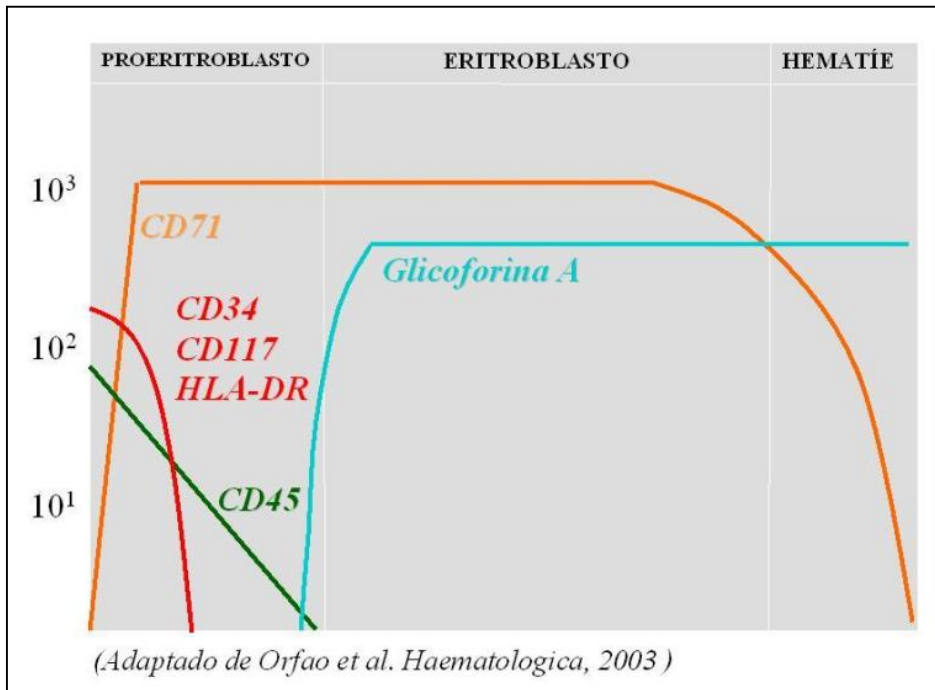
Diferenciación granulocítica



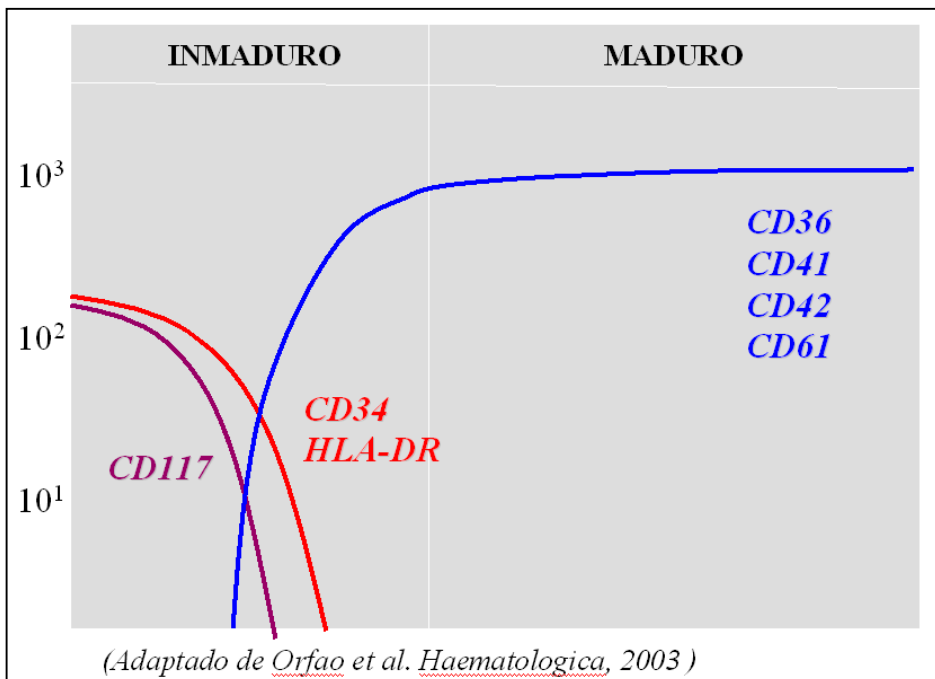
Diferenciación monocítica



Diferenciación eritroide



Diferenciación megacariocítica



Se han agrupado anticuerpos monoclonales de características similares o idénticas, y están definidos por un número o CD. Así, cada uno de ellos, puede detectar diferentes epítomos de una molécula y, por tanto, sus propiedades funcionales, bioquímicas o de reactividad con células hematopoyéticas, pueden no ser idénticas.

Los procesos de incubación, lisis y lavados celulares se llevaron a cabo mediante las recomendaciones de Becton Dickinson Biosciences, San José, CA. La adquisición de las células se realizó mediante el citómetro de flujo FACScanCalibur y el análisis de las muestras mediante el software Paint-A-Gate. Los fluorocromos utilizados han ido aumentando con el paso de los años hasta contar con 4 en la actualidad: clásicamente fueron FITC (isotiocianato de fluoresceína) y PE (ficoeritrina), y más recientemente, se han añadido PerCP y APC.

Inmunofenotipo según la clasificación de la FAB

Wood B. Multicolor immunophenotyping: human immune system hematopoiesis. (Methods Cell Biol 2004; 75: 559-576)

Antibody	AML M0-2	AML-M2 t(8:21)	AML-M3 (APL)	AML-M4		AML-M5	AML-M6	AML-M7
				Blasts	Monocytes			
CD2	-	-	+/-	-	-	-	-	-
CD3	-	-	-	-	-	-	-	-
CD4	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	-	-/+
CD7	-/+	-/+	-/+	-/+	+/-	+/-	-	-/+
CD10	-	-	-	-	-	-	-	-
CD11b	-	-	-	-	+	+	-	-
CD11c	-/+	-/+	-/+	+/-	+	+	-	-
CD13	+	+	+	+	+	dim+	-	-/dim+
CD14	-	-	-	-	+	+/-	-	-
CD16	-	-	-	-	-	-/+	-	-
CD19	-	+	-	-	-	-	-	-
CD20	-	-	-	-	-	-	-	-
CD22	-	-	-	-	-	-	-	-
CD33	+	+	+	+	+	bright+	-	bright+
CD34	+	+	-	+	-	+/-	+/-	-/rare+
CD41	-	-	-	-	-	-	-	+
CD45	+	+	+	+	+	+	-/rare+	+/-rare-
CD56	-/+	+/-rare-	-/+	-	-/+	+/-	-/rare+	-/rare+
CD61	-	-	-	-	-	-	-	+
CD64	-/+	-/+	-/+	-/+	+	+/-	-	-
CD79a	-	-	-	-	-	-	-	-
CD117	+	+	+	+	-	-/+	dim+	dim+
HLA-DR	+/-rare-	+/-rare-	-	+	+	+/-	+	-/dim
TdT	-/+	-/+	-	-	-	-	-	-
GPHA	-	-	-	-	-	-	+	-
cIgM	-	-	-	-	-	-	-	-

c) ESTUDIOS MOLECULARES

Citogenética convencional mediante patrón de bandas G

El cariotipo revela la morfología de los cromosomas para poder encontrar alteraciones en el tamaño, la posición del centrómero o la tinción de las bandas. Para que el estudio sea concluyente necesitamos, al menos, 20 metafases. El proceso es el siguiente:

- Incubar la muestra en presencia de productos inductores de la mitosis (fitohemoaglutinina).
- Bloquear el proceso de mitosis interfiriendo en la polimerización de los microtúbulos del huso mitótico (colchicina).
- Lograr una buena separación cromosómica mediante choque osmótico.
- Fijar las células.
- Teñir con giemsa.

Citogenética Molecular (FISH)

La FISH permite detectar y localizar secuencias específicas de ácidos nucleicos en células en interfase, sin necesidad de que estén dividiéndose. Además aporta mayor sensibilidad y rapidez con respecto al cariotipo, evitando la difícil interpretación que deriva de la obtención de cromosomas de mala calidad. El proceso es el siguiente:

- Disponer de la sonda adecuada (complementaria del fragmento de DNA que se quiere estudiar) marcada con moléculas fluorescentes: habitualmente se usan de tipo centromérico, de secuencia única o de pintado cromosómico.

- Desnaturalizar el DNA (tanto de la muestra a estudio como de la sonda) gracias a la rotura reversible de los puentes de hidrógeno mediante la utilización de altas temperaturas.
- Hibridar ambas cadenas sencillas desnaturalizadas (la de la muestra con la de la sonda) gracias a la complementariedad de las bases mediante incubación a 37°C.
- Lavar las células renaturalizadas.
- Analizar las muestras mediante microscopio de fluorescencia.

Biología Molecular

Se basa en el estudio de traslocaciones cromosómicas y de alteraciones genéticas, como son las mutaciones o las sobreexpresiones. El análisis de los ácidos nucleicos se realiza mediante distintas técnicas:

- PCR (RT-PCR): amplificación de una región del DNA (o de RNA previa transcripción inversa) mediante una polimerasa termoestable, utilizando cebadores que hibridan específicamente en los 2 extremos de la región a estudio. Es el método diagnóstico más sensible (hasta 10^{-6}) de que disponemos en la actualidad, por eso constituye la mejor manera de seguir la enfermedad mínima residual post-tratamiento, aunque en el momento inicial pueda ser más rápido realizar FISH si se trata de una alteración identificable.
- Southern Blot: digestión del DNA con enzimas de restricción y separación de los fragmentos mediante electroforesis en un gel de agarosa, para que, una vez desnaturalizados, hibriden con una sonda marcada radiactivamente que reconoce el gen de interés. Actualmente se utiliza menos que la PCR, pero su especificidad es mayor.

III. Estudio de las muestras congeladas al diagnóstico

Analizando todo el material congelado y almacenado en el Banco de Sangre y Tejidos de Cantabria, dependiente del grupo de investigación de IFIMAV “Neoplasias Hematológicas y Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos”, se encuentran disponibles 84 muestras pertenecientes a 27 pacientes diagnosticados de LMA (13 de los casos fechados de 1997 a 2000, 8 de ellos de 2001 a 2004 y los 6 restantes, de 1989 a 1996) que están incluidos en nuestro estudio, a excepción de 2 leucemias promielocíticas.

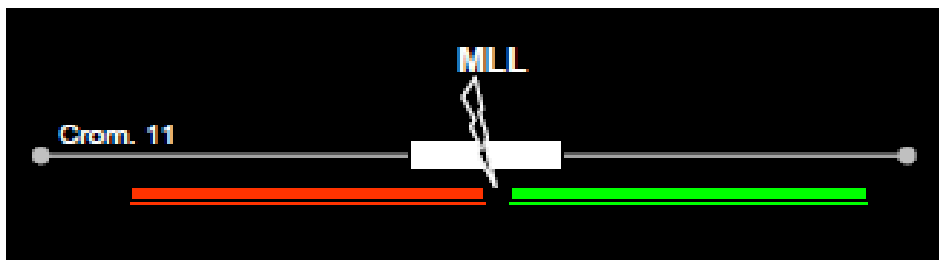
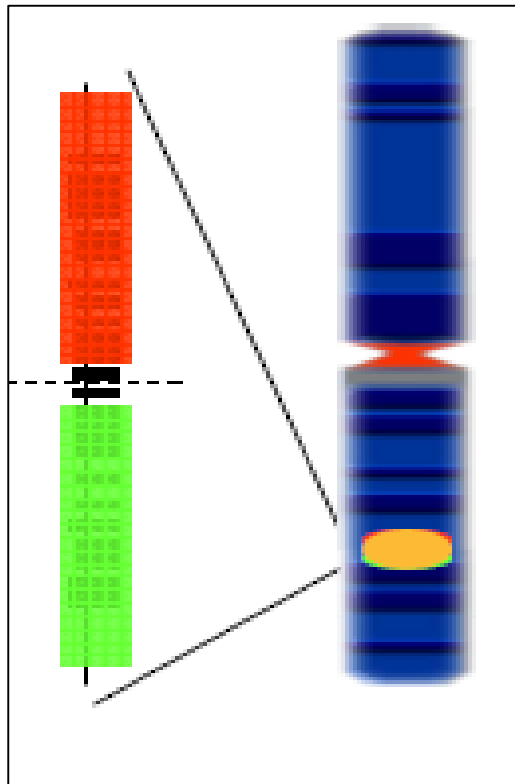
Con el fin de obtener la mayor rentabilidad posible, hemos hecho un estudio preliminar de dichas muestras, donde cabe destacar:

- Datos de Citología y Citoquímica disponibles en 26 pacientes.
- Datos de Inmunofenotipo disponibles en 25 pacientes.
- Datos de Cariotipo disponibles en 21 pacientes.
- Datos de FISH disponibles en 3 pacientes.
- Datos de Biología Molecular disponibles en 10 de 27 pacientes, de los cuales estudios tan relevantes en la actualidad como el FLT3 o el NPM1 no lo tiene realizado ningún paciente, o en el caso del MLL, tan solo 4 del total.

Por esta razón, antes de estudiar nuevos posibles marcadores pronósticos, se decidió completar el perfil biológico mediante FISH y Biología Molecular de las Leucemias Mieloblásticas Agudas (LMA), en aquellos casos en los que no disponemos de esta información inicial, pero tenemos muestras congeladas del momento del diagnóstico de la enfermedad. De esta forma pudimos ampliar el tamaño muestral en cuanto a factores pronósticos ya conocidos y aportar mayor peso estadístico al estudio.

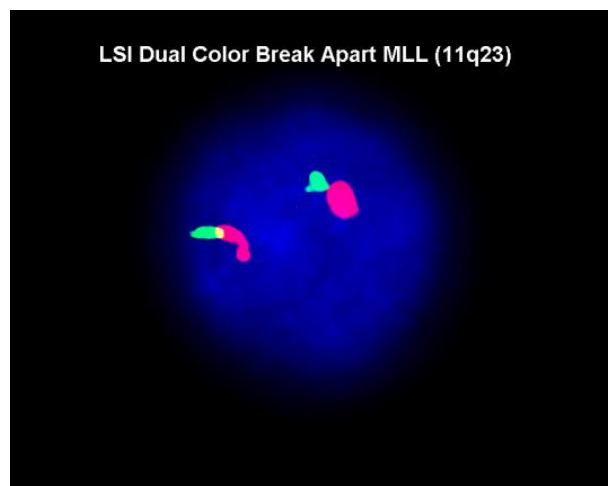
a) REORDENAMIENTO DE MLL POR FISH

La sonda empleada para detectar alteraciones en la región 11q23 es de tipo “break-apart”, esto implica que las 2 señales de fusión aparecen en la situación de normalidad, mientras que una de ellas se separará en 2 cuando esté reordenada.

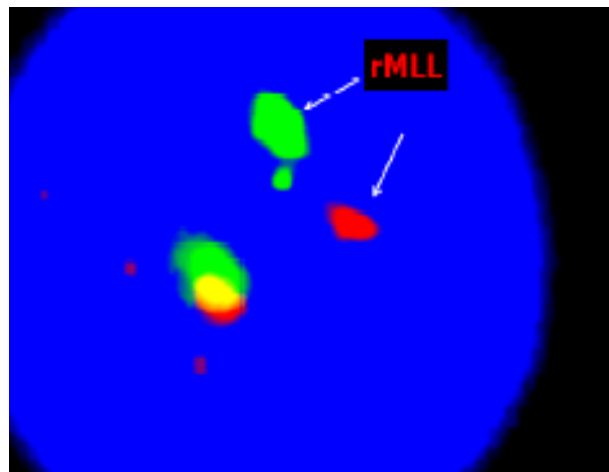


De los 25 pacientes que han aumentado nuestra base de datos, sólo 3 de ellos presentaban reordenamiento de MLL:

DIAGNÓSTICO:	Leucemia Mieloblástica Aguda
Momento diag.:	Diagnóstico
RESULTADOS HIBRIDACIÓN IN SITU -FISH-	
<u>Anomalia estudiada</u>	<u>% células con alteración</u>
MLL /11q23	No reordenamiento



DIAGNÓSTICO:	Leucemia Mieloblástica Aguda
Momento diag.:	Diagnóstico
RESULTADOS HIBRIDACIÓN IN SITU -FISH-	
<u>Anomalia estudiada</u>	<u>% células con alteración</u>
MLL /11q23 (BA)	Reordenamiento positivo

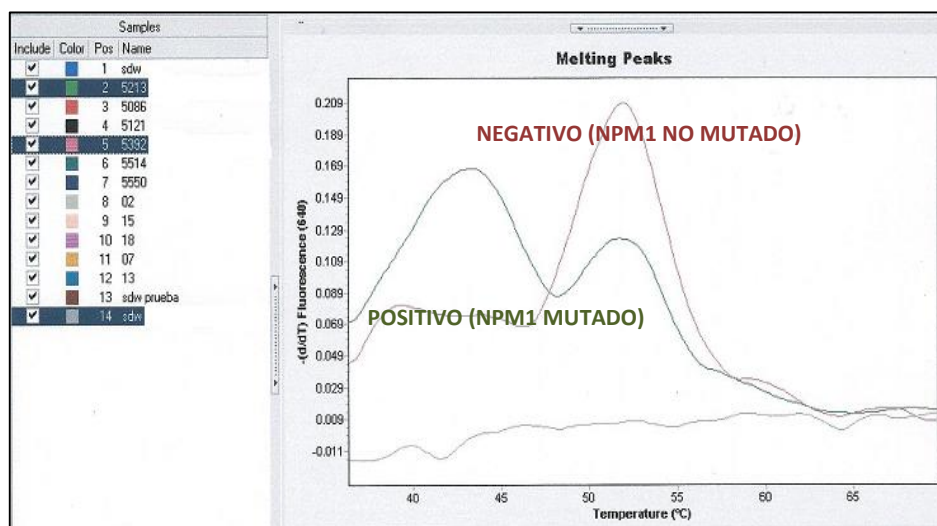


b) MUTACIONES DE NPM1 Y FLT3 POR BIOLOGÍA MOLECULAR

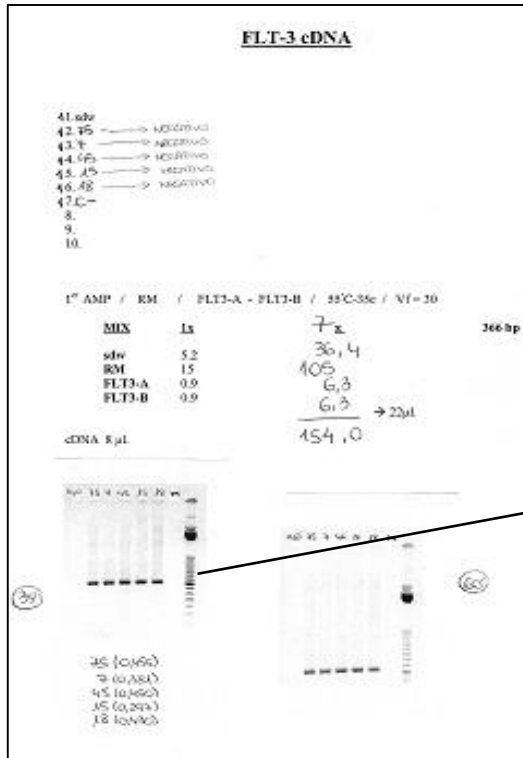
Son 2 tipos de mutaciones que se aplican en las tablas de riesgo, sólo en caso de que las LMA sean de cariotipo normal.

NPM1 (de buen pronóstico siempre que FLT3 no esté mutada)

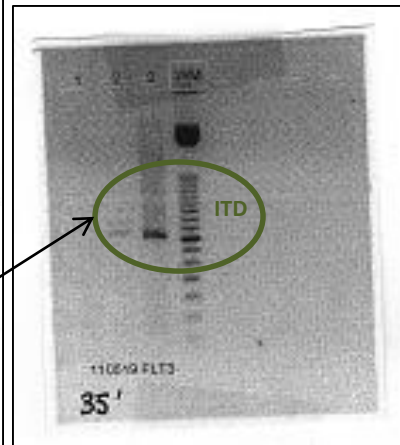
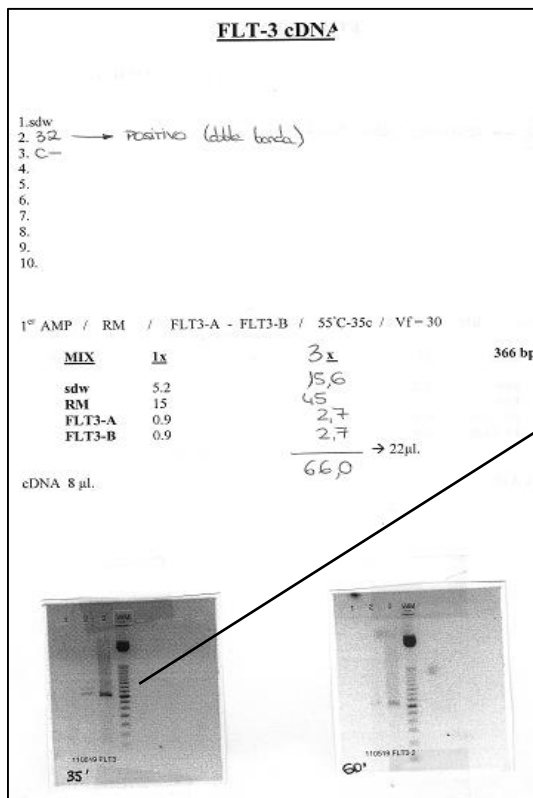
Los oligonucleótidos que se utilizan flanquean la región del exón 12, uno de ellos está marcado con fluorescencia de forma que el resultado se analiza mediante electroforesis capilar utilizando el software Genemapper. Se observa un pico de amplificación único de 238 pb en caso de no existir mutación, y un pico adicional de mayor tamaño en el caso de presencia de inserción.

**FLT3 (de mal pronóstico)**

En el análisis de los productos de amplificación obtenidos por PCR, se observa que los casos FLT3/ITD + exhiben una banda de 366pb correspondiente al alelo wild-type (WT) y una banda adicional de mayor peso molecular correspondiente a las duplicaciones internas en tandem (ITD).



NEGATIVO (FLT3 NO MUTADO)



POSITIVO (FLT3 MUTADO)

De los 25 pacientes que han aumentado nuestra base de datos, 14 de ellos presentaban cariotipo normal, procediéndose a la realización de las mutaciones de FLT3 y NPM1. Se observaron 3 pacientes con alelo mutado en cada caso, uno de los cuales compartía ambas alteraciones.

IV. Análisis estadístico

Se trata de un estudio retrospectivo que abarca los 30 años de experiencia de nuestro centro en la realización de Transplante de Precursores Hematopoyéticos en Leucemia Mieloblástica Aguda.

Todos los análisis de los datos se realizaron mediante el paquete estadístico SPSS v.20 y Stata v.12.

a) ANÁLISIS DESCRIPTIVO

El análisis descriptivo de las variables del estudio se realizó aportando el cálculo de la frecuencia absoluta y proporciones para las variables cualitativas, y media, mediana y rango para las variables cuantitativas. Las pruebas de significación estadística que se emplearon fueron: el test exacto de Fisher para la comparación entre proporciones de variables categóricas, el test T de Student para la comparación entre medias independientes o test de ANOVA si las comparaciones son múltiples, y métodos de correlación de Pearson o Spearman para la comparación entre dos variables cuantitativas independientes. Se consideró una asociación significativa cuando $p < 0,05$.

b) ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

Los análisis de supervivencia se realizaron siguiendo las recomendaciones de la “European LeukemiaNet”³ y el “International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia”¹¹³, para lo cual se definieron las siguientes variables de resultado:

1. La **Supervivencia global (SG/OS)** se calculó para todos los pacientes empleando el tiempo transcurrido desde la fecha del TPH hasta la fecha de muerte. Para aquellos que no presentaron el evento muerte el tiempo se censuró en la fecha de último seguimiento.
2. La **Supervivencia libre de enfermedad (SLE/DFS)** se calculó empleando el tiempo transcurrido, sólo en aquellos pacientes que consiguieron la RC, desde la fecha del TPH hasta la fecha de evento, tomando como evento la recaída o la muerte. Para aquellos que no presentaron evento durante el periodo observado el tiempo se censuró a fecha de último seguimiento.
3. La **Incidencia Acumulada de Recaída o Riesgo de recaída (CIR)** se calculó empleando el tiempo transcurrido, sólo en aquellos pacientes que consiguieron la RC, desde la fecha del TPH hasta la fecha de la recaída. Para aquellos que no recayeron el tiempo se censuró a la fecha de último seguimiento o fecha de la muerte considerando la muerte como un evento competitivo de la recaída.

4. La **Mortalidad Relacionada con el Trasplante (MRT/TRM)**, también conocida como mortalidad no relacionada con la recaída (NRM) se calculó empleando el tiempo transcurrido, sólo para aquellos pacientes que consiguieron la RC, desde la fecha del TPH hasta la fecha de muerte de causa distinta a la enfermedad. Para aquellos pacientes que no fallecieron o que murieron con enfermedad el tiempo se censuró a fecha de muerte o de último seguimiento, considerando la muerte por enfermedad como un evento competitivo de la muerte de otra causa.

UNIVARIABLE

Las curvas y medianas de supervivencia se estimaron mediante el método del producto límite de Kaplan-Meier. La significación en la comparación entre curvas de supervivencia se estimó mediante el test log-rank de Mantel-Haenszel.

MULTIVARIABLE

Se analizó cada uno de los factores pronósticos para supervivencia (Overall Survival) y recaída (Cumulative Incidence of Relapse) mediante regresión de Cox y regresión para riesgos competitivos de Fine-Gray, respectivamente.

Para cada factor se generan modelos multivariantes con una finalidad explicativa, es decir, para estimar la magnitud de su efecto sobre los resultados de supervivencia de manera independiente. Para ello se tienen en cuenta todos aquellos posibles factores de confusión que puedan influir sobre los HR univariantes observados, esto es, factores de riesgo reconocidos por la literatura o variables que en nuestra serie se comportan como tales pues cumplen con los clásicos criterios de confusión (1.

relación con el efecto, 2. relación con la exposición, y 3. no ser variable intermedia entre la exposición y el efecto), teniendo en cuenta que el primer criterio se comprueba en los no expuestos y el segundo, sobre el total de casos.

Se establece como referencia para la toma de decisiones que el posible confusor tenga un $HR \leq 0,7$ o $\geq 1,3$ en el primer criterio y una $OR \leq 0,7$ a $\geq 1,3$ en el segundo criterio cuando las variables son categóricas o una correlación con Rho de Spearman $>|0.1|$ cuando son cuantitativas.

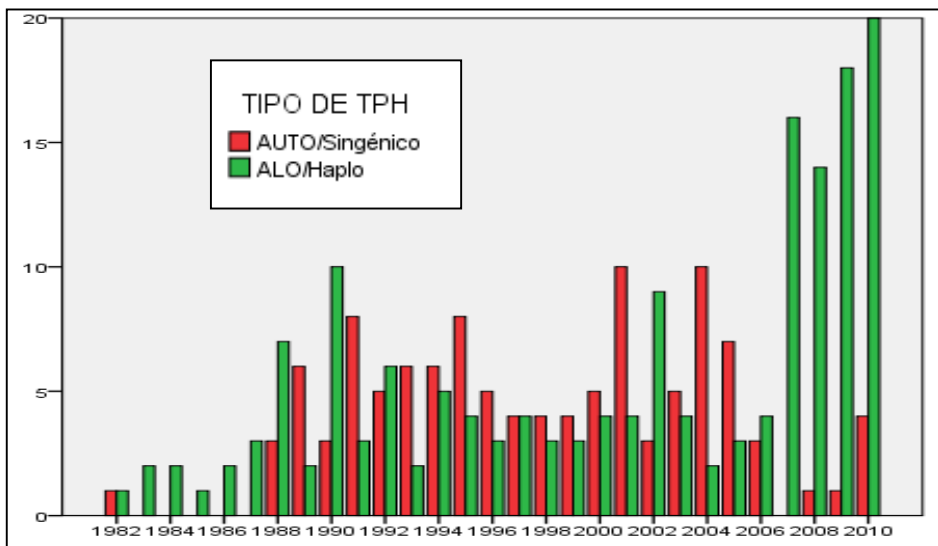
Los modelos multivariantes explorarán el efecto de cada factor ajustado por todos aquellos posibles factores de confusión. Cuando por cuestión de tamaño muestral y reducido recuento de eventos se deba limitar el número de variables de ajuste, la magnitud del cambio en el HR y la precisión en la estimación serán los criterios a considerar a la hora de excluirlas del modelo.

7. Resultados

A) ANÁLISIS DESCRIPTIVO

I. Incidencia anual de cada tipo de trasplante

La población objeto de nuestro estudio consta de 4 tipos de TPH, agrupados en 2. Por un lado, los 3 TPHsingénicos deben incorporarse a los TPHautólogos ya que, a pesar de que el origen de los progenitores hematopoyéticos no sea el propio paciente, el desarrollo del procedimiento es realmente superponible al tratarse de material genético idéntico al del receptor, y así contamos con un total de 112 Auto-TPH distribuidos en el tiempo, como muestra la gráfica, con una incidencia superior de 1998 a 2006 y con una clara tendencia a la práctica desaparición en los últimos años. Por otro lado, los 2 TPHhaploidénticos, aunque suponen una complejidad mayor, por su reducido número se han incorporado a los TPHalogénicos, contando con un total de 162 Alo-TPH que fueron los que realmente impulsaron este procedimiento a principios de los años 80 y los que están cobrando protagonismo en los últimos años.



II. Características de la población a estudio

Es importante reseñar aquellas variables que no están distribuidas de manera uniforme entre ambos grupos ya que pueden ser factores de confusión a tener en cuenta a la hora de hacer los análisis de supervivencia.

VARIABLES		TOTAL	AUTOLOGO	ALOGENICO	sig.
1. RELATIVAS AL PACIENTE					
Número, n (%)		274 (100)	112 (40,9)	162 (59,1)	-
Edad, mediana (RIC)		40,7 (31,1-52,5)	44,5 (33,5-55,9)	37,8 (29,6-50,2)	p=0,001
Grupos de edad, n (%)					-
	18-34 años	98 (35,8)	29 (25,9)	69 (42,5)	
	35-49 años	87 (31,7)	36 (32,1)	51 (31,5)	
	≥ 50 años	89 (32,5)	47 (42,0)	42 (26,0)	
Sexo, n (%)					ns
	Hombre	140 (51,1)	60 (53,6)	80 (49,4)	
	Mujer	134 (48,9)	52 (46,4)	82 (50,6)	

La mediana de edad fue significativamente menor en los pacientes sometidos a Alo-TPH (37,8 versus 44,5 años en el Auto-TPH, p=0,001). Sin embargo, ambos grupos fueron comparables en lo que sexo se refiere.

2. RELATIVAS A LAS CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE LA ENFERMEDAD					
Clasificación FAB, n (%)					ns
	<i>M0</i>	14 (5,6)	4 (3,8)	10 (7,0)	
	<i>M1</i>	61 (24,6)	29 (27,6)	32 (22,4)	
	<i>M2</i>	63 (25,4)	25 (23,8)	38 (26,5)	
	<i>M4</i>	51 (20,6)	22 (21,0)	29 (20,3)	
	<i>M5</i>	53 (21,4)	22 (20,9)	31 (21,7)	
	<i>M6-M7</i>	6 (2,4)	3 (2,9)	3 (2,1)	
Etiología, n (%)					p=0,032
	<i>De novo</i>	230 (83,9)	101 (90,2)	129 (79,6)	
	<i>Secundaria</i>	44 (16,1)	11 (9,8)	33 (20,4)	
Leucocitosis al diagnóstico (x10⁹/L), mediana (RIC)		14,7 (4,0-54,6)	13,5 (3,8-55,0)	14,9 (4,0-55,0)	ns
Grupos de leucocitosis al diagnóstico (x10⁹/L), n (%)					-
	< 20	130 (54,6)	53 (54,1)	77 (55,0)	
	20-50	43 (18,1)	19 (19,4)	24 (17,1)	
	> 50	65 (27,3)	26 (26,5)	39 (27,9)	
Afectación extramedular,n (%)					p=0,016
	<i>Ausente</i>	245 (89,4)	106 (94,6)	139 (85,8)	
	<i>Presente</i>	29 (10,6)	6 (5,4)	23 (14,2)	
Riesgo NCCN, n (%)					ns
	<i>Bajo</i>	19 (9,8)	7 (9,6)	12 (12,0)	
	<i>Intermedio</i>	99 (51,3)	39 (53,4)	60 (50,0)	
	<i>Alto</i>	75 (38,9)	27 (37,0)	48 (40,0)	

El origen secundario de la LMA fue significativamente más frecuente en los pacientes sometidos a Alo-TPH (20,4% versus 9,8% en el Auto-TPH, $p=0,032$), al igual que la afectación extramedular (14,2% versus 5,4% en el Auto-TPH, $p=0,016$). Sin embargo, los grupos fueron comparables en cuanto a clasificación de la FAB, leucocitosis al diagnóstico y riesgo citogenético-molecular (con porcentajes similares a los descritos en la literatura: aproximadamente un 50% conforman el grupo intermedio, por lo que es fundamental buscar otros factores pronósticos, principalmente moleculares, que lo definan con mayor exactitud de cara a poder tomar las decisiones terapéuticas más acertadas).

3. RELATIVAS A LA RESPUESTA DE LA ENFERMEDAD AL TRATAMIENTO					
Respuesta Inducción, n (%)					p=0,002
	RC	195 (73,3)	88 (81,5)	107 (67,7)	
	RP	43 (16,2)	17 (15,7)	26 (16,5)	
	Refractariedad	28 8 (10,5)	3 (2,8)	25 (15,8)	
Ciclos hasta 1ºRC, n (%)					p=0,031
	1	205 (78,8)	96 (86,5)	109 (73,2)	
	≥ 2	55 (21,2)	15 (13,5)	40 (26,8)	
Líneas tratamiento, n (%)					p=0,002
	1	209 (77,1)	97 (87,4)	112 (70,0)	
	2	48 (17,7)	13 (11,7)	35 (21,9)	
	≥ 3	14 (5,2)	1 (0,9)	13 (8,1)	
Situación de la enfermedad pretrasplante, n (%)					p=0,008
	RC	251 (91,6)	109 (97,3)	142 (87,6)	
	RP	5 (1,8)	1 (0,9)	4 (2,5)	
	Actividad	18 (6,6)	2 (1,8)	16 (9,9)	

EMR pretrasplante, n (%)					ns
	Negativa	64 (31,4)	27 (37,0)	37 (28,2)	
	Positiva	140 (68,6)	46 (63,0)	94 (71,8)	

Al igual que ocurre con la etiología 1ª o 2ª de la LMA, es lógico que las variables relativas a la respuesta de la enfermedad al tratamiento no estén distribuidas de manera uniforme entre ambos grupos (el origen secundario de la enfermedad, al igual que la mala respuesta inicial al tratamiento o el tiempo en conseguir la respuesta, son criterios de indicación de Alo-TPH).

De esta forma, los pacientes sometidos a Auto-TPH habían obtenido la RC con la primera inducción en el 81,5% de los casos, y sólo un 13,5% de los mismos necesitaron un segundo ciclo. En cambio, en el grupo del Alo-TPH, sólo el 67,7% alcanzaron RC con la primera inducción ($p=0,002$) y un 26,8% de los mismos precisaron de ciclo/s de reinducción ($p=0,031$).

Como resultado final previo al procedimiento, la situación de la enfermedad fue significativamente peor en los pacientes sometidos a Alo-TPH (87,6% de RC versus 97,3% en el grupo del Auto-TPH, $p=0,008$) a pesar del empleo de más líneas de tratamiento (≥ 2 en el 30,0% de los pacientes sometidos a Alo-TPH versus 12,6% en el grupo del Auto-TPH, $p=0,002$).

4. RELATIVAS AL PROCEDIMIENTO DEL TRASPLANTE					
Periodo del TPH, n (%)					p=0,020
	1982-1996	104 (38,0)	51 (45,5)	53 (32,7)	
	1997-2011	170 (62,0)	61 (54,5)	109 (67,3)	

Acondicionamiento, n (%)					p<0,001
	<i>BuCy oral</i>	96 (35,7)	65 (60,8)	31 (19,1)	
	<i>CyRT</i>	82 (30,5)	26 (24,3)	56 (34,6)	
	<i>BuCy ev</i>	32 (11,9)	13 (12,1)	19 (11,7)	
	<i>BuFlu</i>	47 (17,4)	-	47 (29,0)	
	<i>Intensidad Reducida</i>	4 (1,5)	-	4 (2,5)	
	<i>Otros</i>	8 (3,0)	3 (2,8)	5 (3,1)	
Fuente progenitores, n (%)					p<0,001
	<i>Sangre Periférica</i>	69 (25,9)	50 (47,6)	19 (11,7)	
	<i>Medula Osea</i>	187 (70,0)	47 (44,8)	140 (86,4)	
	<i>Ambas</i>	8 (3,0)	8 (7,6)	-	
	<i>Cordón Umbilical</i>	3 (1,1)	-	3 (1,9)	
Cifra de CD34 (x10⁶/Kg), mediana (RIC)		2,56 (1,54-4,12)	2,85 (2,37-4,15)	2,11 (1,24-4,14)	ns
Prendimiento hematopoyético (μL), mediana de días (RIC)					
	<i>100 PMN</i>	13 (11-18)	12 (11-16)	14 (12-18)	p=0,001
	<i>500 PMN</i>	16 (13-22)	14 (12-26)	17 (15-21)	p<0,001
	<i>20.000 plaquetas</i>	17 (13-24)	14 (12-24)	18 (13-24)	p=0,052
Profilaxis de EICH, n (%)					-
	<i>Basados en CsA</i>	-	-	142 (87,7)	
	<i>Basados en FK</i>	-	-	6 (3,7)	
	<i>Deplección T ex vivo</i>	-	-	6 (3,7)	
	<i>Otras</i>			8 (4,9)	
Tipo de donante, n (%)					-
	<i>Hermano idéntico</i>	-	-	122 (75,3)	
	<i>DnE idéntico</i>	-	-	23 (14,2)	
	<i>DnE no idéntico</i>	-	-	15 (9,3)	
	<i>Haploidéntico</i>	-	-	2 (1,2)	

Estatus CMV, n (%)					-
	<i>D- / R-</i>	-	-	21 (15,4)	
	<i>Resto</i>	-	-	115 (84,6)	

Además de la diferente incidencia anual de cada tipo de TPH comentada en el apartado anterior, se pueden destacar 3 aspectos fundamentales del procedimiento con diferencias estadísticamente significativas:

En primer lugar, el acondicionamiento empleado ($p<0,001$). Regímenes clásicos como Ciclofosfamida-Radioterapia están presentes en ambos grupos, pero el empleo de Busulfán oral hasta 2004 hace que su combinación con Ciclofosfamida suponga el 60,8% de los Auto-TPH, mientras que la fórmula endovenosa adquiere importancia combinada con Fludarabina (29%) en los Alo-TPH más actuales.

En segundo lugar, la fuente de progenitores utilizada ($p<0,001$). Seguimos siendo un centro que fundamentalmente hace Alo-TPH de medula ósea (86,4%), lo que contrasta con una distribución uniforme del Auto-TPH entre medula ósea (44,8%) y sangre periférica (47,6%).

Y en tercer lugar, el prendimiento hematopoyético, significativamente más corto en el grupo de Auto-TPH. La cifra de 100 polimorfonucleares se alcanza con una mediana de 12 días versus los 14 días de los pacientes sometidos a Alo-TPH ($p=0,001$), al igual que la cifra de 20.000 plaquetas autólogas se alcanza con una mediana de 14 días versus los 18 días de los pacientes sometidos a Alo-TPH ($p=0,052$).

5. RELATIVAS A LOS RESULTADOS DEL TRASPLANTE					
EICH agudo, n (%)					-
	<i>Ausente</i>	-	-	79 (48,8)	
	<i>Grados I-II</i>	-	-	59 (36,4)	
	<i>Grados III-IV</i>	-	-	24 (14,8)	
EICH crónico, n (%)					-
	<i>Ausente</i>	-	-	68 (56,7)	
	<i>Limitado</i>	-	-	27 (22,5)	
	<i>Extenso</i>	-	-	25 (20,8)	
ECOG actual vivos, n (%)					p=0,047
	0	75/115 (65,2)	32/43 (74,4)	43/72 (59,7)	
	1	31/115 (27,0)	11/43 (25,6)	21/72 (29,2)	
	≥ 2	9/115 (7,8)	0/43 (0,0)	8/72 (11,1)	
Causas de mortalidad, n (%)					p<0,001
	<i>Enfermedad</i>	78/158 (49,4)	45/69 (65,2)	33/90 (36,7)	
	<i>MRT:</i>	66/158 (41,8)	14/69 (20,4)	52/90 (57,8)	
	<i>Toxicidad</i>	14 (9,0)	6 (8,7)	8 (8,9)	
	<i>Infección</i>	26 (16,4)	6 (8,7)	20 (22,2)	
	<i>EICH</i>	16 (10,1)	-	16 (17,8)	
	<i>Mixta</i>	10 (6,3)	2 (3,0)	8 (8,9)	
	<i>Neoplasia secundaria</i>	7/158 (4,4)	5/69 (7,2)	2/90 (2,2)	
	<i>No relacionada</i>	7/158 (4,4)	5/69 (7,2)	3/90 (3,3)	
Segundas neoplasias, n					p=0,039
	<i>Sólida</i>	5	1	4	
	<i>Hematológica</i>	5	5	0	

Los resultados finales del TPH definen perfectamente ambos grupos:

Auto-TPH: La principal causa de mortalidad es la enfermedad relacionada con la recaída posterior al procedimiento (65,2% versus 36,7% en el grupo del Alo-TPH, $p < 0,001$), principalmente durante los 2 primeros años. Sin embargo, los pacientes vivos en remisión tienen un ECOG 0 en el 74,4% (versus un 59,7% en el caso de los Alo-TPH, $p = 0,047$), aunque desarrollan más neoplasias secundarias a largo plazo ($p = 0,039$), lo cual podría estar relacionado en cierta medida con la edad superior de los pacientes sometidos a Auto-TPH.

Alo-TPH: La principal causa de mortalidad es la relacionada con el trasplante (57,8% versus 20,4% en el grupo del Auto-TPH, $p < 0,001$), ya sea por infecciones, EICH y/o toxicidad. Además, los pacientes vivos y curados de la enfermedad presentan comorbilidades, en ocasiones importantes, que disminuyen su calidad de vida. Sin embargo, presentan menos neoplasias secundarias y todas de origen sólido, lo que hace suponer una probable relación del Auto-TPH con las hematológicas, por el uso de precursores previamente tratados con QT y/o RT.

B) ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

En primer lugar, expondremos la implicación del tipo de TPH en los resultados de supervivencia de la LMA y cómo ha evolucionado a lo largo del tiempo.

Posteriormente analizaremos cada uno de los factores pronósticos para supervivencia (Overall Survival) y recaída (Cumulative Incidence of Relapse) mediante los métodos estadísticos comentados en el apartado de Metodología. Se explorarán de manera rutinaria las siguientes variables: edad del paciente, etiología de la LMA, leucocitosis al diagnóstico, afectación extramedular, riesgo citogenético y molecular,

respuesta de la LMA al tratamiento de Inducción y situación de la enfermedad al trasplante.

Otras variables, por la menor cantidad de datos de que disponemos o por hacer referencia tan sólo al Alo-TPH, se analizarán excluidas del modelo multivariable: inmunofenotipo aberrante, número de CD34 infundidas, EMR, recuperación hematológica, régimen de acondicionamiento y presencia de EICH agudo severo.

I. Tipo de trasplante y su evolución a lo largo del tiempo

El *tipo de TPH* no es ningún factor de riesgo, pero en nuestro análisis hay que incluirlo en el apartado de estudio multivariable, ya que un objetivo propuesto es definir en qué pacientes es requisito imprescindible para la curación un Alo-TPH, y en cuales sería suficiente con un Auto-TPH para lograr controlar la enfermedad.

Supervivencia Global (OS): En el análisis univariable, si consideramos el Auto-TPH como categoría de referencia, el Alo-TPH presenta una HR=1,071 con p=0,672. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (edad, etiología, afectación extramedular, situación de la enfermedad pre-TPH y año del TPH), HR= 1,124 con p=0,514 (más en detalle, HR=1,108 con p=0,570 si el donante es HLA-idéntico y HR=1,410 con p=0,333 si existe disparidad).

Riesgo de recaída (CIR): En el análisis univariable, si consideramos el Auto-TPH como categoría de referencia, el Alo-TPH presenta una HR=0,424 (IC95% [0,276-0,652]) con p<0,001. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (etiología y situación de la enfermedad pre-TPH), HR= 0,284 (IC95% [0,177-0,456]) con

$p < 0,001$ (más en detalle, $HR = 0,301$ (IC95% [0,187-0,485]) con $p < 0,001$ si el donante es HLA-idéntico y $HR = 0,189$ (IC95% [0,069-0,522]) con $p = 0,001$ si existe disparidad).

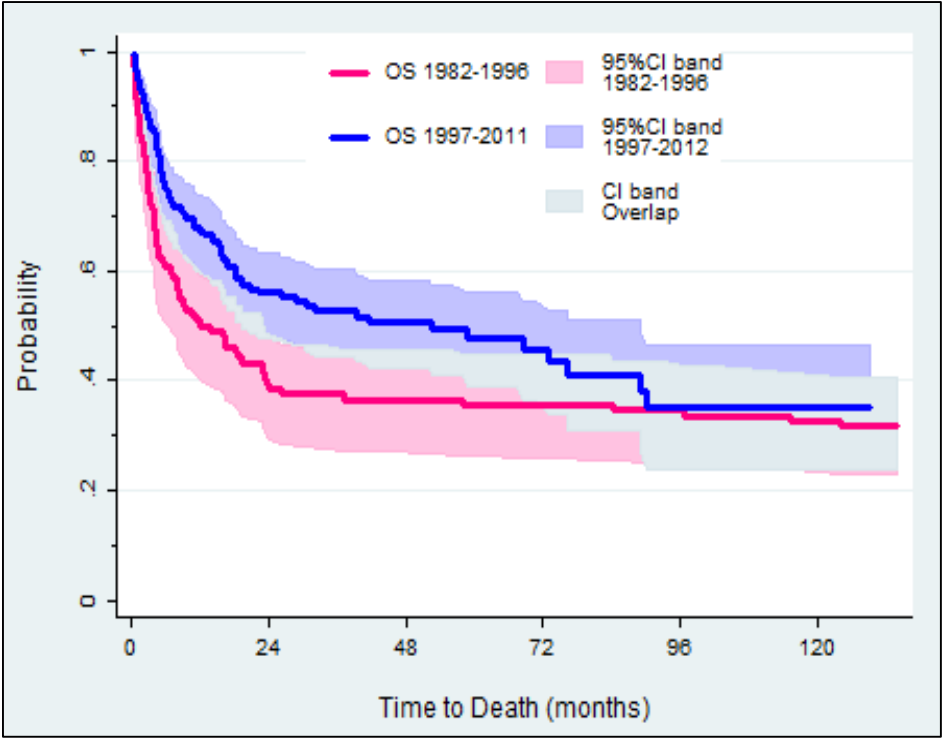
En nuestro caso, un periodo de estudio tan largo, como son 30 años (1982-2011), conlleva muchos cambios comentados en apartados previos, por lo que parece obligado incluir el *año del TPH* dentro del estudio multivariable, pues la antigüedad se comporta como factor de riesgo de supervivencia.

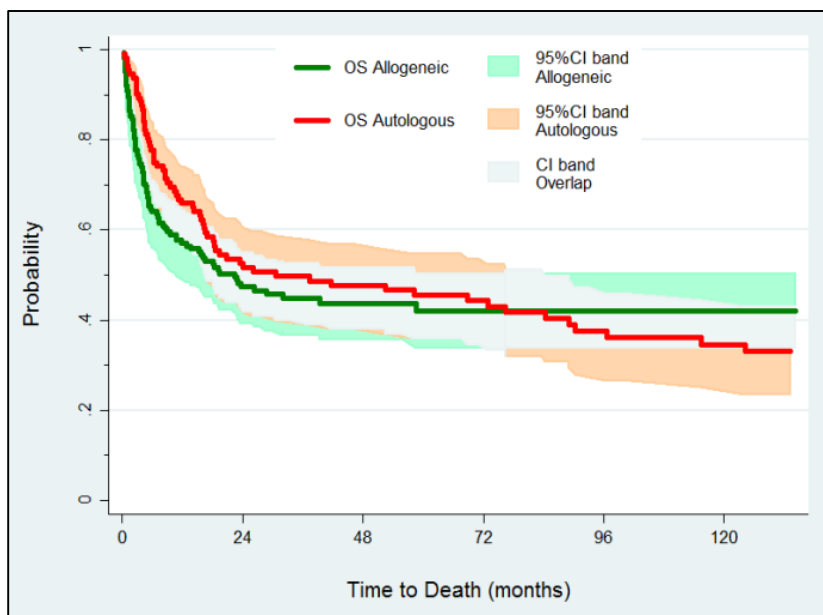
Supervivencia Global (OS): Al tratarse de una variable cuantitativa tenemos dos maneras de abordarla, por sí misma y por periodos de tiempo. En el análisis univariable $HR = 0,960$ (IC95% [0,941-0,980]) con $p < 0,001$ y, con respecto a la categoría de referencia (periodo 1997-2011), el periodo 1982-1996 presenta una $HR = 1,428$ (IC95% [1,036-1,966]) con $p = 0,029$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (edad, etiología y situación de la enfermedad pre-TPH), $HR = 0,950$ (IC95% [0,928-0,972]) con $p < 0,001$, lo que implica que ha ido mejorando un 5% anual la supervivencia relacionada con el procedimiento. Si hacemos el análisis por franjas de edad con respecto a la categoría de referencia (periodo 1997-2011), el periodo 1982-1996 presenta una $HR = 1,682$ (IC95% [1,176-2,405]) con $p = 0,004$.

Riesgo de recaída (CIR): En el análisis univariable $HR = 0,988$ con $p = 0,331$ y, con respecto a la categoría de referencia (periodo 1997-2011), el periodo 1982-1996 presenta una $HR = 0,995$ con $p = 0,983$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (situación de la enfermedad pre-TPH y tipo de TPH), $HR = 1,019$ con $p = 0,179$. Si hacemos el análisis por franjas de edad con respecto a la categoría de referencia (periodo 1997-2011), el periodo 1982-1996 presenta una $HR = 0,734$ con $p = 0,169$.

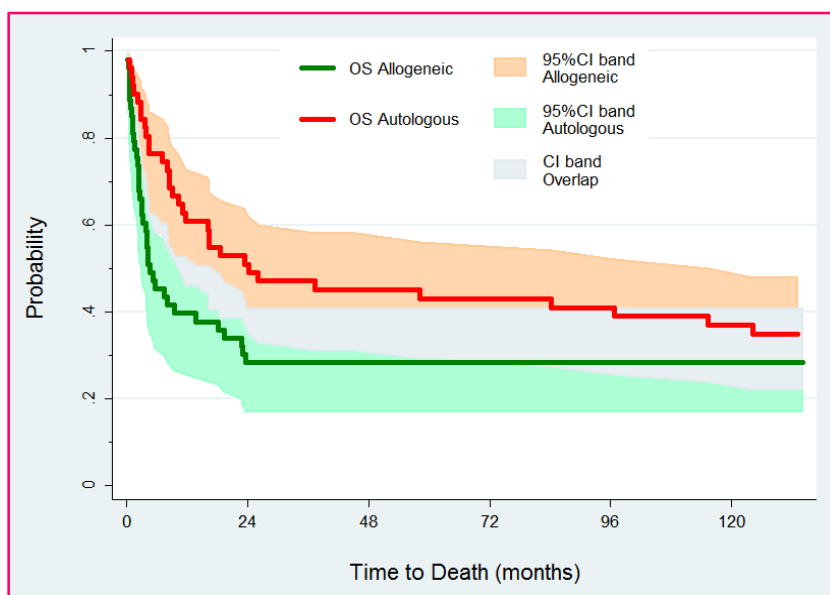
a) SUPERVIVENCIA GLOBAL (SG)

OS	TOTAL	AUTOLOGO	ALOGENICO
1982-1996			
OS al año	0.50 (0.40 - 0.59)	0.61 (0.46 - 0.73)	0.40 (0.27 - 0.52)
OS a 5 años	0.36 (0.26 - 0.48)	0.45 (0.31 - 0.58)	0.28 (0.17 - 0.41)
1997-2011			
OS al año	0.67 (0.60 - 0.74)	0.70 (0.57 - 0.80)	0.66 (0.56 - 0.74)
OS a 5 años	0.48 (0.39 - 0.56)	0.48 (0.34 - 0.60)	0.47 (0.34 - 0.59)



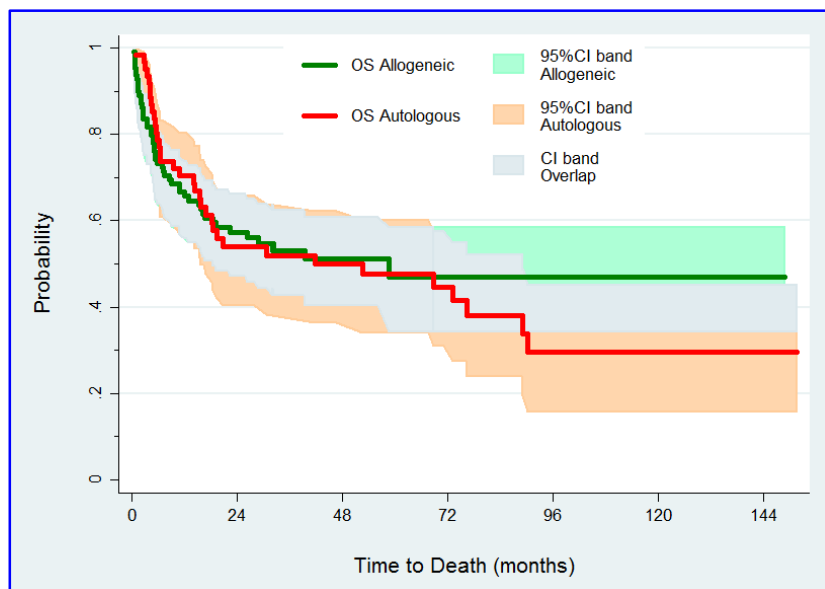


1982-2011



1982-1996

OS	HAZARD RATIO (aloTPH vs autoTPH)	sig
1982-1996	1,45	p=0,12
1997-2011	0,96	p=0,86



1997-2011

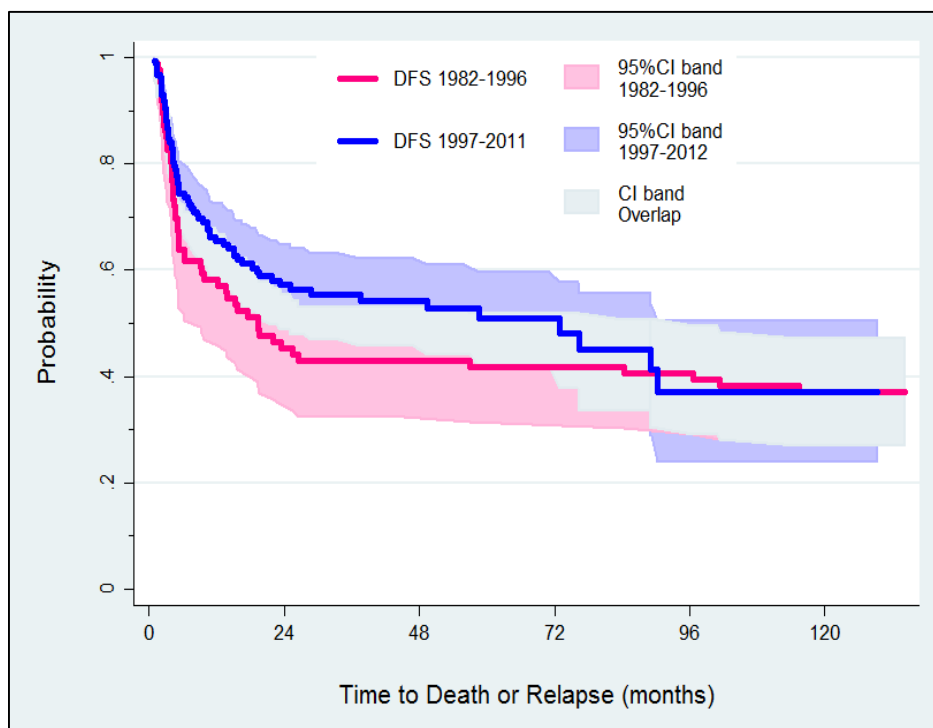
En líneas generales, al analizar la Supervivencia Global, lo principal es destacar que las curvas tienden a separarse fundamentalmente en función del periodo en el que se realiza el procedimiento, no en función del tipo de TPH.

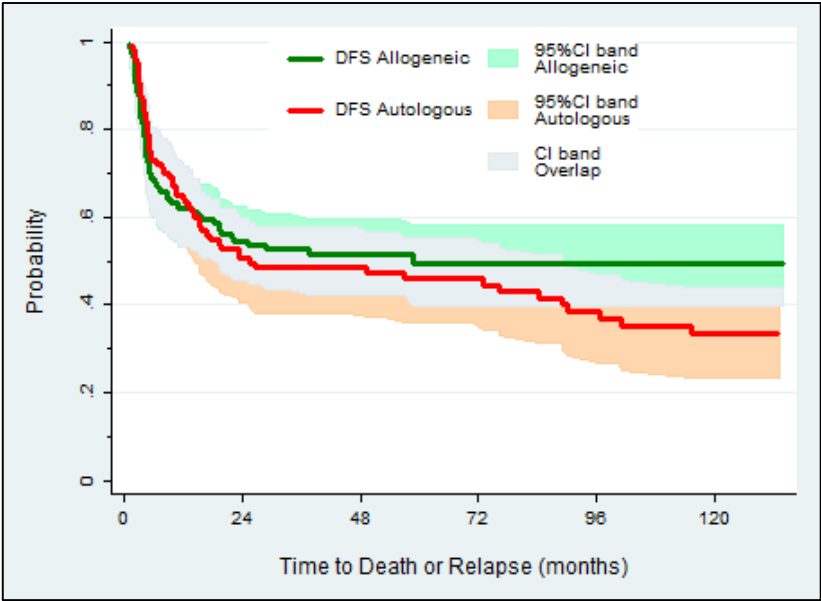
La Supervivencia Global en los primeros años (1982-1996) es del 50% al año y del 36% a los 5 años, con resultados claramente inferiores en el Alo-TPH (40% al año y 28% a los 5 años versus 61% al año y 45% a los 5 años en el grupo del Auto-TPH, con un HR de 1,45, aunque no llega a la significación estadística: $p=0,12$).

Sin embargo, en los últimos años (1997-2011) las curvas se superponen durante los primeros 6 años post-TPH (OS global del 67% al año y del 48% a los 5 años), para tender a separarse a favor del Alo-TPH a partir de entonces. Analizando las causas de mortalidad desde el séptimo año post-TPH en el grupo de los Auto-TPH, los exitus parecen corresponder a los pacientes que desarrollaron neoplasias secundarias, no a recaídas.

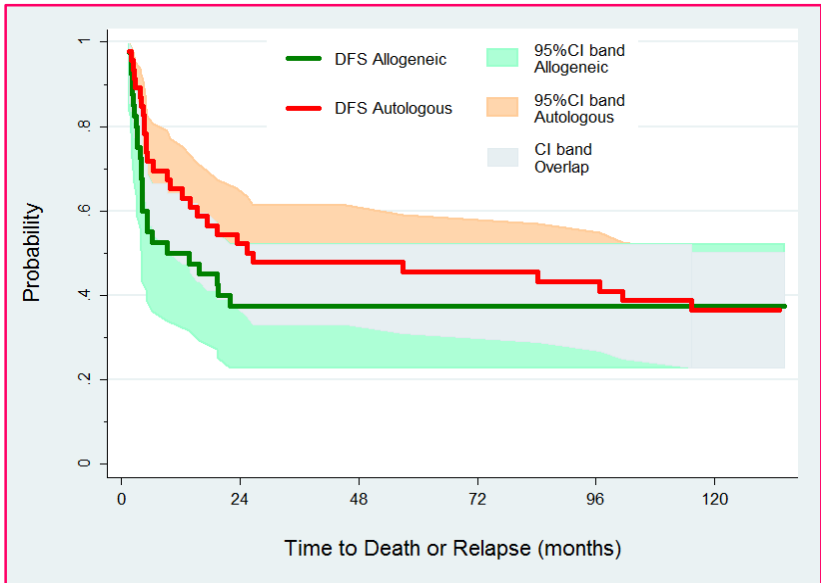
b) SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD (SLE)

DFS	TOTAL	AUTOLOGO	ALOGENICO
1982-1996			
DFS al año	0.58 (0.47 - 0.68)	0.65 (0.50 - 0.77)	0.50 (0.34 - 0.64)
DFS a 5 años	0.42 (0.31 - 0.52)	0.46 (0.31 - 0.59)	0.38 (0.23 - 0.52)
1997-2011			
DFS al año	0.66 (0.57 - 0.72)	0.63 (0.49 - 0.74)	0.67 (0.57 - 0.75)
DFS a 5 años	0.51 (0.42 - 0.60)	0.47 (0.33 - 0.59)	0.52 (0.37 - 0.64)



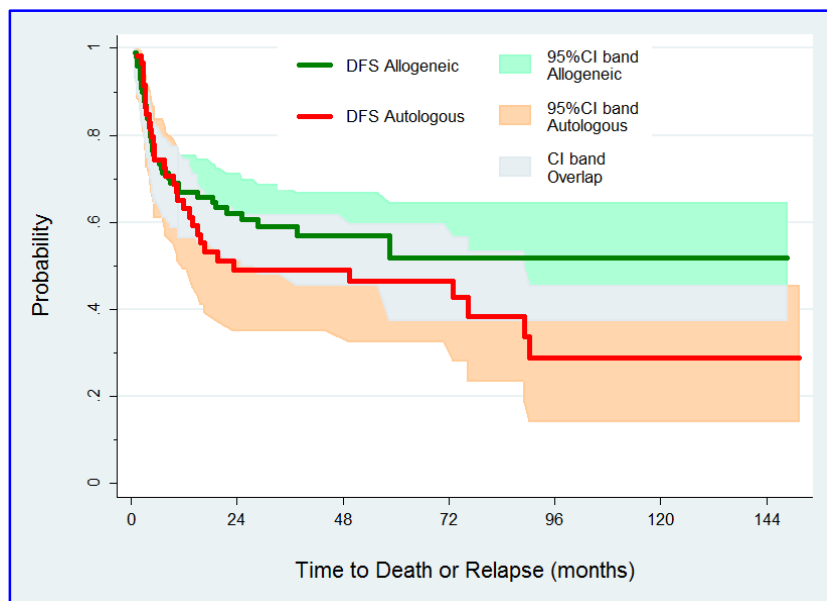


1982-2011



1982-1996

DFS	HAZARD RATIO (aloTPH vs autoTPH)	sig
1982-1996	1,20	p=0,51
1997-2011	0,70	p=0,11



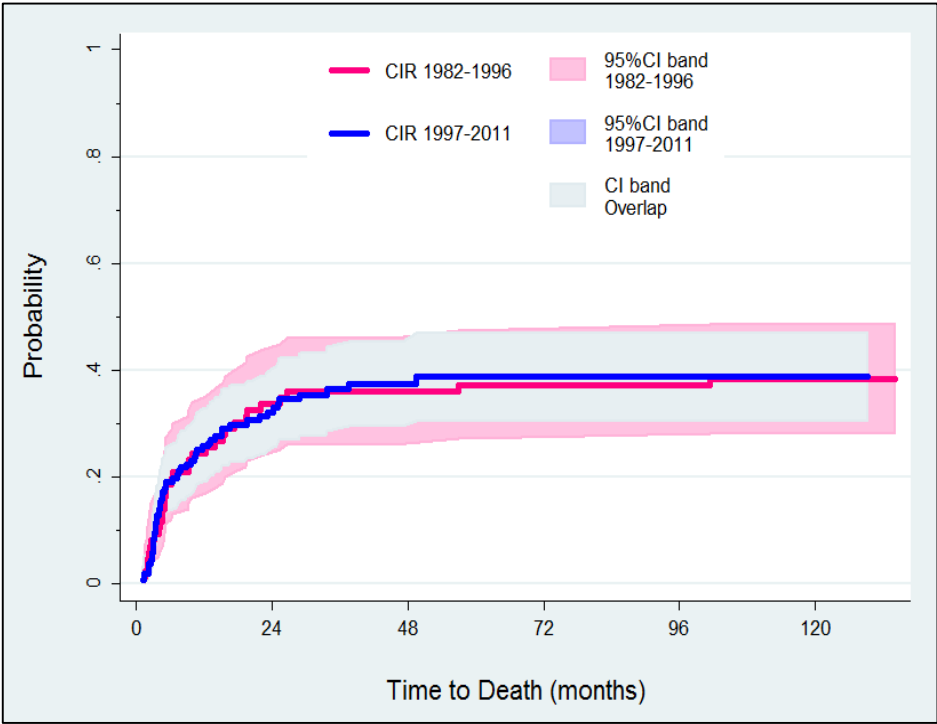
1997-2011

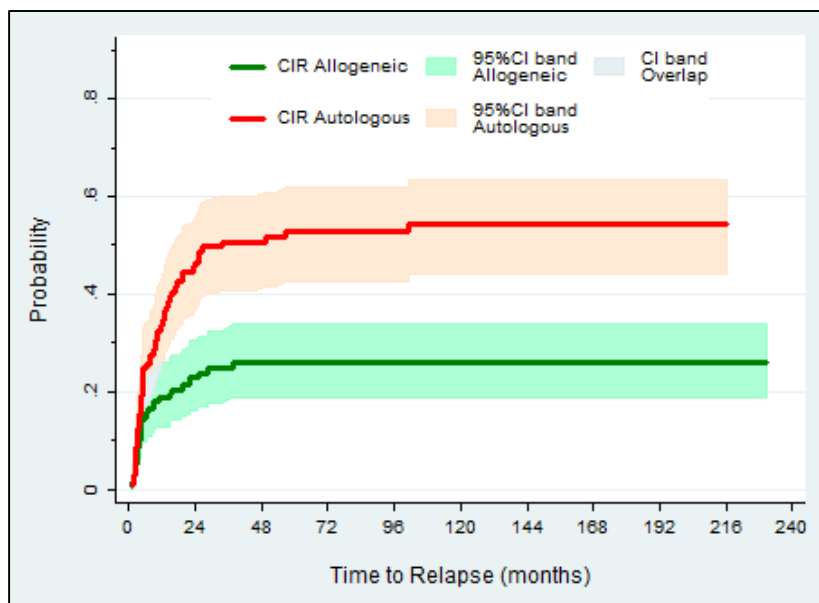
La Supervivencia Libre de Enfermedad en los primeros años (1982-1996) es del 58% al año y del 42% a los 5 años, sin que existan diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de Auto-TPH (65% al año y 46% a los 5 años) y el de Alo-TPH (50% al año y 38% a los 5 años).

Sin embargo, en los últimos años (1997-2011), los resultados son ligeramente superiores en el Alo-TPH (67% al año y 52% a los 5 años versus 63% al año y 47% a los 5 años en el Auto-TPH, con un HR de 0,70, aunque no llega a la significación estadística: $p=0,11$). Analizando esta situación, parece que puede estar condicionada por la disminución de la TRM en los 2 primeros años posteriores al Alo-TPH, además de lo observado tardíamente al analizar la SG.

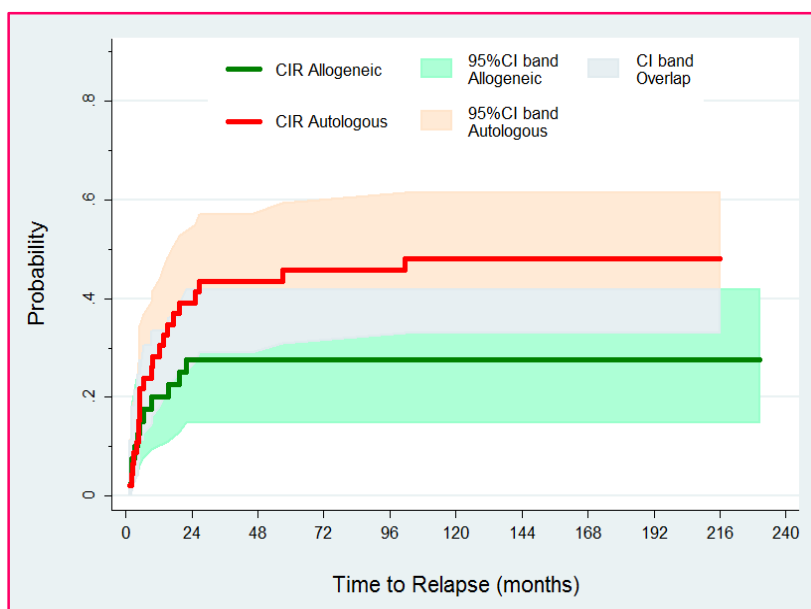
c) RIESGO DE RECAÍDA (RR)

CIR	TOTAL	AUTOLOGO	ALOGENICO
1982-1996			
CIR al año	0.24 (0.16 - 0.34)	0.28 (0.16 - 0.42)	0.20 (0.09 - 0.33)
CIR a 5 años	0.37 (0.27 - 0.47)	0.46 (0.31 - 0.59)	0.28 (0.15 - 0.42)
1997-2011			
CIR al año	0.26 (0.19 - 0.33)	0.38 (0.25 - 0.50)	0.18 (0.11 - 0.27)
CIR a 5 años	0.39 (0.31 - 0.47)	0.59 (0.44 - 0.70)	0.26 (0.17 - 0.36)



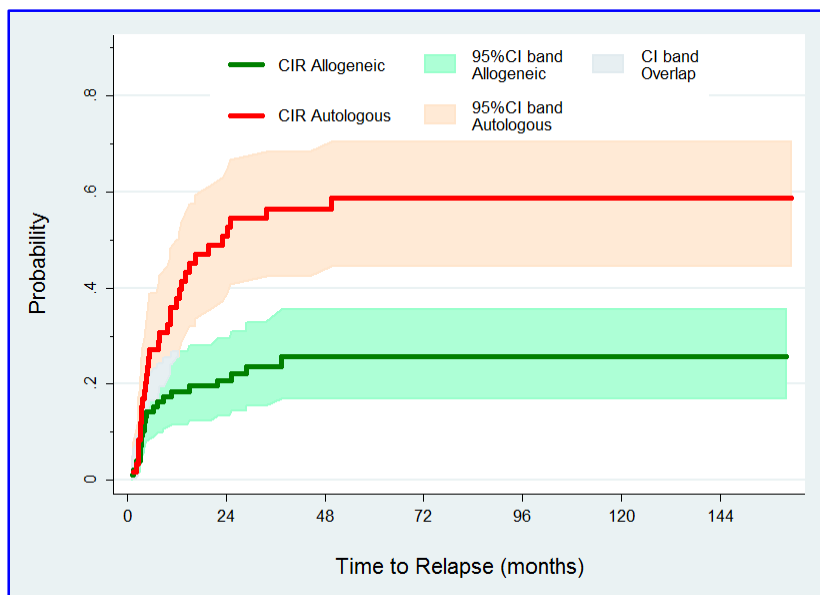


1982-2011



1982-1996

CIR	HAZARD RATIO (aloTPH vs autoTPH)	sig
1982-1996	0,52	p=0,08
1997-2011	0,36	p<0,01



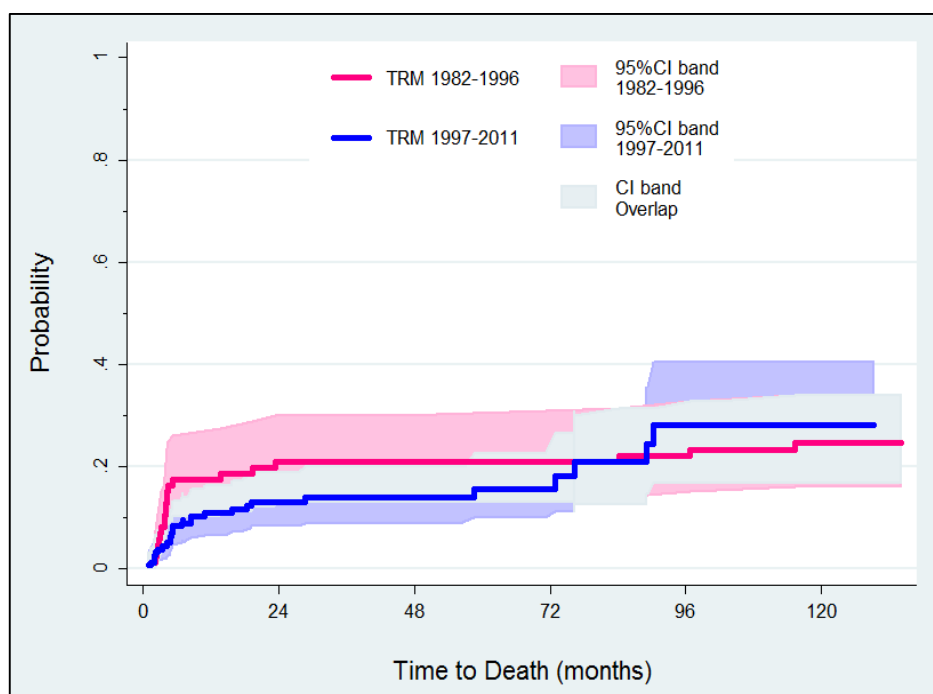
1997-2011

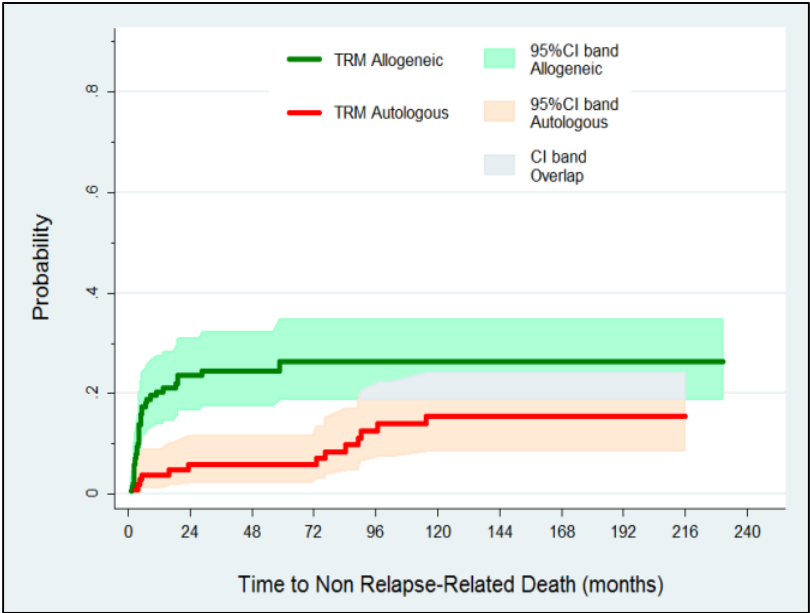
Lo primero que llama la atención al analizar la Incidencia Acumulada de Recaída es que las curvas se superponen al comparar el periodo más temprano (1982-1996) con el más reciente (1997-2011), lo cual implica que el riesgo de recaída de ambos grupos no cambia de manera significativa con el momento del procedimiento.

Sin embargo, hay que destacar que en ambos periodos, y principalmente en el más tardío donde alcanza claramente la significación estadística, la Incidencia Acumulada de Recaída es claramente inferior en el grupo del Alo-TPH (18% al año y 26% a los 5 años versus 38% al año y 59% a los 5 años en el grupo del Auto-TPH, con un HR de 0,36, $p < 0,01$).

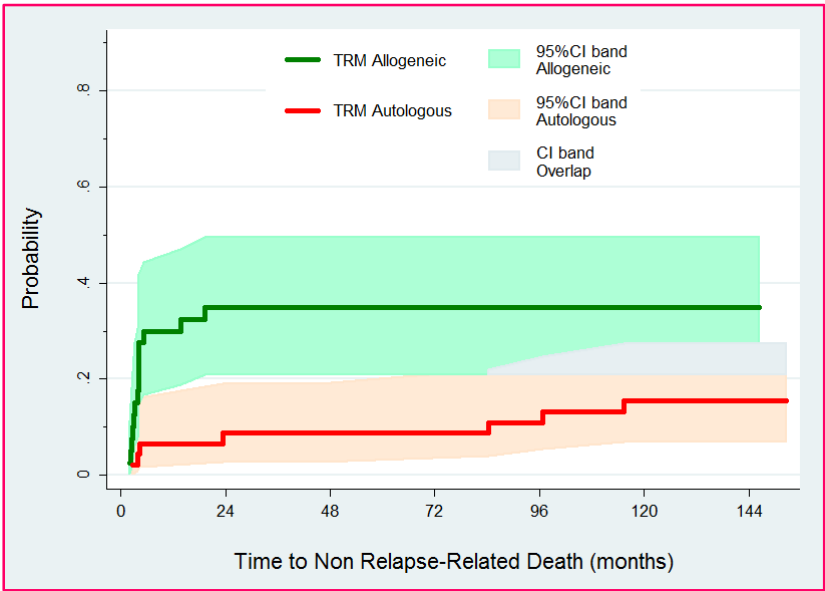
d) MORTALIDAD RELACIONADA CON EL TRASPLANTE (MRT)

TRM	TOTAL	AUTOLOGO	ALOGENICO
1982-1996			
TRM al año	0.17 (0.10 - 0.26)	0.07 (0.02 - 0.16)	0.30 (0.17 - 0.44)
TRM a 5 años	0.21 (0.13 - 0.30)	0.09 (0.03 - 0.19)	0.35 (0.21 - 0.50)
1997-2011			
TRM al año	0.11 (0.07 - 0.16)	0.02 (0.00 - 0.08)	0.16 (0.10 - 0.24)
TRM a 5 años	0.16 (0.10 - 0.22)	0.04 (0.01 - 0.11)	0.25 (0.14 - 0.38)



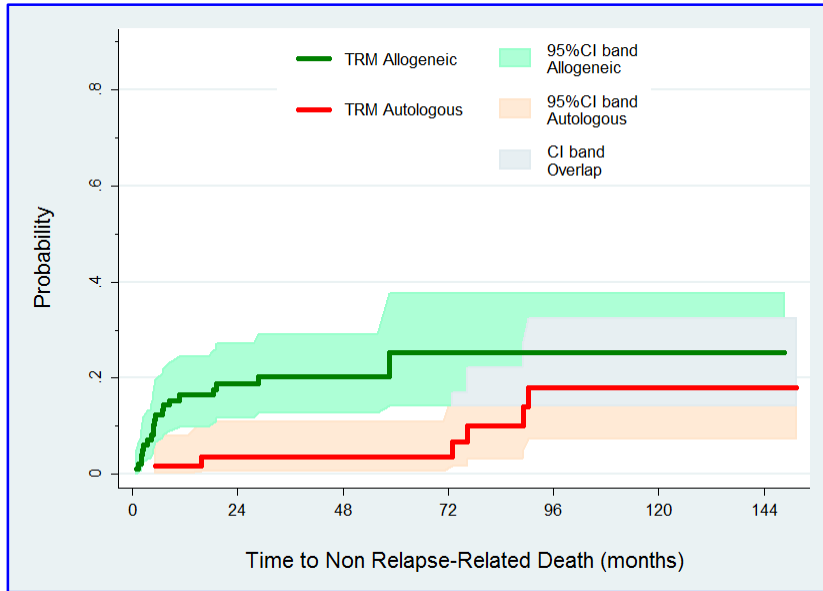


1982-2011



1982-1996

TRM	HAZARD RATIO (aloTPH vs autoTPH)	sig
1982-1996	2,98	p=0,01
1997-2011	2,76	p=0,02



1997-2011

Hay que destacar que en ambos periodos la Mortalidad Relacionada con el Trasplante es significativamente superior en el grupo del Alo-TPH (“1982-1996”: 30% al año y 35% a los 5 años versus 7% al año y 9% a los 5 años en el grupo del Auto-TPH, con un HR de 2,98, $p=0,01$ / “1997-2011”: 16% al año y 25% a los 5 años versus 2% al año y 4% a los 5 años en el grupo del Auto-TPH, con un HR de 2,76, $p=0,02$), principalmente en el periodo más temprano, al disminuir claramente la mortalidad precoz relacionada con el procedimiento en el periodo más reciente.

De nuevo en estas gráficas se pone de manifiesto el aumento de la mortalidad tardía a partir del sexto año post-TPH en el grupo del Auto-TPH, en relación con la aparición de neoplasias secundarias hematológicas.

II. Análisis multivariable de los factores de riesgo

Edad

La edad clásicamente se ha considerado un factor de riesgo de la supervivencia en el TPH. Al tratarse de una variable cuantitativa tenemos dos maneras de abordarla, por sí misma o por franjas de edad. A continuación exponemos los resultados relativos a ambas aproximaciones para supervivencia y recaída.

Supervivencia Global (OS):

En el análisis univariable HR=1,006 con $p=0,321$ y, con respecto a la categoría de referencia (18-34 años), la franja de 35-49 presenta una HR=0,966 con $p=0,860$ y los pacientes con ≥ 50 años, una HR=1,172 con $p=0,408$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (situación de la enfermedad pre-TPH, año del TPH y tipo de TPH), HR=1,021 (IC95% [1,008-1,034]) con $p=0,001$, lo que implica que es estadísticamente significativo que cada década que aumenta la edad del paciente, la supervivencia disminuye en un 23%. Si hacemos el análisis por franjas de edad con respecto a la categoría de referencia (18-34 años), la franja de 35-49 presenta una HR=1,098 con $p=0,646$ y los pacientes con ≥ 50 años, una HR=1,871 (IC95% [1,212-2,888]) con $p=0,005$.

Riesgo de recaída (CIR): En el análisis univariable HR=1,006 con $p=0,444$ y, con respecto a la categoría de referencia (18-34 años), la franja de 35-49 presenta una HR=1,092 con $p=0,740$ y los pacientes con ≥ 50 años, una HR=1,325 con $p=0,261$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (afectación extramedular y situación de la enfermedad pre-TPH), HR= 1,006 con $p=0,458$. Si hacemos el análisis

por franjas de edad con respecto a la categoría de referencia (18-34 años), la franja de 35-49 presenta una $HR=0,990$ con $p=0,970$ y los pacientes con ≥ 50 años, una $HR=1,482$ con $p=0,126$.

Etiología

El origen “de novo” o secundario de la LMA clásicamente se ha considerado un factor de riesgo de la supervivencia.

Supervivencia Global (OS): En el análisis univariable de la etiología secundaria con respecto a la primaria, $HR=1,476$ con $p=0,064$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (edad, año del TPH y tipo de TPH), $HR= 1,672$ (IC95% [1,082-2,585]) con $p=0,021$.

Riesgo de recaída (CIR): En el análisis univariable de la etiología secundaria con respecto a la primaria, $HR=1,329$ con $p=0,312$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (afectación extramedular y tipo de TPH), $HR= 1,753$ (IC95% [1,029-2,987]) con $p=0,039$.

Leucocitosis al diagnóstico

La leucocitosis al diagnóstico (como muestra de la carga tumoral) clásicamente se ha considerado un factor de riesgo de la supervivencia.

Supervivencia Global (OS): Al tratarse de una variable cuantitativa tenemos dos maneras de abordarla, por sí misma y por franjas de cifra de leucocitos. En el análisis univariable $HR=1,003$ (IC95% [1,000-1,006]) con $p=0,025$ y, con respecto a la categoría de referencia ($<20.000/\mu L$), la franja de $20.000-50.000/\mu L$ presenta una $HR=0,941$ con

$p=0,797$ y los pacientes con $>50.000/\mu\text{L}$, una $\text{HR}=1,330$ con $p=0,139$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (etiología, riesgo citogenético, respuesta a la Inducción, número de líneas de tratamiento y situación de la enfermedad pre-TPH), $\text{HR}=1,003$ con $p=0,059$, lo que implica que casi es estadísticamente significativo que cada mil leucocitos que aumenta la cifra de leucocitos del diagnóstico, la supervivencia disminuye en un 3%. Si hacemos el análisis por franjas de cifra de leucocitos con respecto a la categoría de referencia ($<20.000/\mu\text{L}$), la franja de $20.000-50.000/\mu\text{L}$ presenta una $\text{HR}=0,779$ con $p=0,343$ y los pacientes con $>50.000/\mu\text{L}$, una $\text{HR}=1,251$ con $p=0,264$.

Riesgo de recaída (CIR): En el análisis univariable $\text{HR}=1,006$ ($\text{IC}_{95\%}$ [1,003-1,009]) con $p<0,001$ y, con respecto a la categoría de referencia ($<20.000/\mu\text{L}$), la franja de $20.000-50.000/\mu\text{L}$ presenta una $\text{HR}=1,618$ con $p=0,090$ y los pacientes con $>50.000/\mu\text{L}$, una $\text{HR}=2,025$ ($\text{IC}_{95\%}$ [1,203-3,408]) con $p=0,008$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (etiología y riesgo citogenético), $\text{HR}=1,005$ ($\text{IC}_{95\%}$ [1,003-1,008]) con $p<0,001$, lo que implica que es estadísticamente significativo que cada mil leucocitos que aumenta la cifra de leucocitos del diagnóstico, el riesgo de recaída aumenta en un 5%. Si hacemos el análisis por franjas de cifra de leucocitos con respecto a la categoría de referencia ($<20.000/\mu\text{L}$), la franja de $20.000-50.000/\mu\text{L}$ presenta una $\text{HR}=1,818$ ($\text{IC}_{95\%}$ [1,028-3,216]) con $p=0,040$ y los pacientes con $>50.000/\mu\text{L}$, una $\text{HR}=1,879$ ($\text{IC}_{95\%}$ [1,100-3,210]) con $p=0,021$.

Afectación extramedular

La afectación extramedular puede ser un indicativo de mayor carga tumoral y parece comportarse como factor de confusión para otras muchas variables reconocidas como factores de riesgo.

Supervivencia Global (OS): En el análisis univariable, la presencia de afectación extramedular supone un HR=1,055 con $p=0,834$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (etiología, riesgo citogenético, situación de la enfermedad pre-TPH y año del TPH), HR= 1,246 con $p=0,402$.

Riesgo de recaída (CIR): En el análisis univariable, la presencia de afectación extramedular supone un HR=1,265 con $p=0,475$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (riesgo citogenético, situación de la enfermedad pre-TPH, año del TPH y tipo de TPH), HR= 2,077 (IC95% [1,106-3,900]) con $p=0,023$.

Riesgo citogenético y molecular

El riesgo citogenético y molecular (guías CNNC) es un factor claramente relacionado con la supervivencia y el riesgo de recaída en múltiples publicaciones.

Supervivencia Global (OS): Con respecto al riesgo citogenético/molecular bajo (considerado categoría de referencia), en el análisis univariable el riesgo intermedio presenta una HR=1,447 con $p=0,365$ y el riesgo alto una HR=2,544 (IC95% [1,151-5,622]) con $p=0,021$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión

(afectación extramedular y año del TPH), HR= 1,748 con $p=0,177$ en el caso del riesgo intermedio y HR=2,919 (IC95% [1,314-6,481]) con $p=0,008$ en el de riesgo alto.

Riesgo de recaída (CIR): Con respecto al riesgo citogenético/molecular bajo (considerado categoría de referencia), en el análisis univariable el riesgo intermedio presenta una HR=1,286 con $p=0,623$ y el riesgo alto una HR=2,242 con $p=0,110$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (año del TPH), HR= 1,426 con $p=0,508$ en el caso del riesgo intermedio y HR=2,419 con $p=0,095$ en el de riesgo alto.

Respuesta a la Inducción

La respuesta a la inducción en distintas publicaciones se ha relacionado con la supervivencia y el riesgo de recaída, bien por la profundidad de la respuesta alcanzada en sí, bien por la rapidez en alcanzar dicha respuesta o bien por la necesidad de reinducciones para controlar la enfermedad al diagnóstico.

Este análisis multivariable parece indicar que las respuestas parciales (RP) presentan un mejor pronóstico que las completas (RC), algo que en principio desafía el conocimiento establecido. Se ha tenido la precaución de no elegir ninguna variable que pudiera actuar como mediadora entre la respuesta a la inducción y la supervivencia. Para ello se han obviado todas aquellas variables que temporalmente se sitúan entre la valoración de la respuesta y el trasplante (número de ciclos de inducción, número de líneas empleadas, número de respuesta completa, situación de la enfermedad pretrasplante, enfermedad mínima residual e incluso el propio tipo de trasplante).

Sin embargo, con el fin de averiguar el mecanismo responsable, se han ido incorporando paulatinamente aquellas variables que pudieran explicar este resultado, de tal forma que, si alguna de estas variables corrigiera los HR, tendríamos que pensar en su implicación causal en el efecto. Se trata de un estudio que abarca tan amplio periodo de tiempo que parece que la explicación pudiera estar en la menor incidencia de recaída en el grupo que obtuvo una respuesta parcial tras la inducción (no porque tenga una menor mortalidad tóxica o unas características biológicas más favorables). El motivo es que probablemente la respuesta a la inducción influyó en la decisión clínica de tratar más intensivamente a estos pacientes en comparación con el grupo de referencia (RC). Si esto es así, las RP recibirían una dosis mayor o una quimioterapia más agresiva, pudiendo ser más fácil para este grupo alcanzar una menor enfermedad mínima residual pre-trasplante (no valorada durante un importante periodo de tiempo de este estudio) que disminuyese la recaída postrasplante y mejorase la supervivencia. Si este fuera el mecanismo, incluir la EMR como variable de ajuste en el modelo debería corregir el HR de la respuesta parcial, pero esto no es posible ya que la técnica sólo se realiza con suficiente sensibilidad desde 2001 y ya que no disponemos de EMR en algunos pacientes que proceden de otros centros. Tampoco la situación pre-trasplante sirve como variable de ajuste al estar basada en alcanzar una respuesta completa morfológica (<5% blastos) en una cohorte en la que el 91% de los pacientes están en RC en el momento del trasplante.

Ante esta situación se propuso explorar la influencia de algunas variables representativas de las decisiones clínicas que se pueden tomar en base a la respuesta a la inducción como si de variables subrogadas de la EMR se trataran. En primer lugar, se analizó el tipo de trasplante y, si bien el trasplante alogénico es más frecuente en el grupo de respuestas

parciales y de refractarios, su incorporación en el modelo no añadía ningún cambio importante en los HR. En segundo lugar, se intentó verificar si las reinducciones recibidas por la mayoría de los casos de RP permitían profundizar más en la respuesta y ser así responsables de la menor EMR observada y de la mejor supervivencia de las RP, en base a una menor tasa de recaídas, en comparación con las RC. El resultado es contundente, si consideramos la reinducción con la que una RP alcanza una RC como una más de las consolidaciones y comparamos el número de ciclos de consolidación que recibe cada grupo.

Supervivencia Global (OS): Para tratar de demostrar que reinducir las RP es responsable de la mejor supervivencia observada, generamos un nuevo modelo a partir de una variable de respuesta a la inducción con 5 categorías (RC, RC con alta EMR, RP reinducida, RP sin reinducción y RF), y aplicamos las mismas covariables que en el modelo original. Con respecto a la RC (considerada categoría de referencia) y teniendo en cuenta posibles factores de confusión (edad, etiología, riesgo citogenético y año del TPH), HR= 1,012 con p=0,971 en el caso de RC con alta EMR, HR=0,381 (IC95% [0,178-0,813]) con p=0,013 en el caso de RP reinducida, HR= 1,127 con p=0,870 en el caso de RP sin reinducción y HR=2,309 (IC95% [1,307-4,078]) con p=0,004 en el caso de RF. De esto se deduce que sólo las RP reinducidas muestran características protectoras de supervivencia, al igual que las RF aumentan el riesgo, siempre con respecto a los pacientes en RC.

Riesgo de recaída (CIR): Empleando el mismo modelo que en el caso de la Supervivencia Global (OS), con respecto a la RC (considerada categoría de referencia) y teniendo en cuenta posibles factores de confusión (etiología, leucocitosis al diagnóstico, afectación extramedular, riesgo citogenético y tipo de TPH), HR= 0,838 con p=0,653 en el caso de RC con alta EMR, HR=0,506 con p=0,105 en el caso de RP reinducida,

HR= 0,766 con $p=0,679$ en el caso de RP sin reinducción y HR=1,519 con $p=0,325$ en el caso de RF.

Situación de la enfermedad pre-TPH

El nivel de control de la enfermedad antes de someter al paciente al procedimiento es un factor de riesgo de recaída bien establecido, lo cual repercute directamente en la supervivencia.

Supervivencia Global (OS): Con respecto a una 1ª Remisión Completa (considerada categoría de referencia), en el análisis univariable la situación de $\geq 2^{\text{a}}$ RC o RP presenta una HR=1,567 con $p=0,078$ y la enfermedad activa una HR=4,083 (IC95% [2,566-6,496]) con $p<0,001$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (etiología y riesgo citogenético), HR= 1,698 (IC95% [1,028-2,803]) con $p=0,039$ en el caso de $\geq 2^{\text{a}}$ RC o RP y HR=3,724 (IC95% [2,330-5,951]) con $p<0,001$ si enfermedad activa.

Riesgo de recaída (CIR): Con respecto a una 1ª Remisión Completa (considerada categoría de referencia), en el análisis univariable la situación de $\geq 2^{\text{a}}$ RC o RP presenta una HR=1,470 con $p=0,249$ y la enfermedad activa una HR=5,103 (IC95% [2,712-9,602]) con $p<0,001$. Cuando, para crear un modelo explicativo, se realiza el análisis multivariable teniendo en cuenta los posibles factores de confusión (etiología, leucocitosis al diagnóstico y tipo de TPH), HR= 2,356 (IC95% [1,088-5,103]) con $p=0,030$ en el caso de $\geq 2^{\text{a}}$ RC o RP y HR=9,143 (IC95% [4,365-19,150]) con $p<0,001$ si enfermedad activa.

SUPERVIVENCIA GLOBAL (OS)							
FACTORES DE RIESGO	UNIVARIABLE			MULTIVARIABLE			
	HR	p	IC95%	HR	p	IC95%	Variables de ajuste
EDAD: Edad en años	1,006	0,321	[0,995-1,017]	1,021	0,001	[1,008-1,034]	-Situación de enfermedad pre-TPH
Edad en categorías							-Año TPH
18-34	1			1			-Tipo TPH
35-49	0,966	0,860	[0,655-1,424]	1,098	0,646	[0,738-1,632]	
≥50	1,172	0,408	[0,805-1,706]	1,871	0,005	[1,212-2,888]	
ETIOLOGÍA: DE NOVO SECUNDARIA	1 1,476	0,064	[0,978-2,228]	1 1,672	0,021	[1,082-2,585]	-Edad -Año TPH -Tipo TPH
LEUCOCITOSIS DIAGNÓSTICO:							-Etiología
Leucocitos / µL	1,003	0,025	[1,000-1,006]	1,003	0,059	[1,000-1,006]	-Riesgo citogenético y molecular
Leucocitosis en categorías							-Respuesta a Inducción
<20.000/µL	1			1			-Número líneas de tratamiento
20-50.000/µL	0,941	0,797	[0,593-1,493]	0,779	0,343	[0,465-1,305]	-Situación de enfermedad pre-TPH
>50.000/µL	1,330	0,139	[0,912-1,940]	1,251	0,264	[0,844-1,854]	
AFECCIÓN EXTRAMEDULAR:							-Etiología
AUSENTE	1			1			-Riesgo citogenético y molecular
PRESENTE	1,055	0,834	[0,638-1,747]	1,246	0,402	[0,745-2,084]	-Situación de enfermedad pre-TPH
RIESGO CITOGENÉTICO Y MOLECULAR (GUÍAS NCCN):							-Año TPH
BAJO	1			1			-Afectación extramedular
INTERMEDIO	1,447	0,365	[0,651-3,214]	1,748	0,177	[0,778-3,929]	
ALTO	2,544	0,021	[1,151-5,622]	2,919	0,008	[1,314-6,481]	
RESPUESTA A INDUCCIÓN:							-Edad
RC	1			1			-Etiología
RP	0,694	0,133	[0,430-1,118]	0,438	0,018	[0,221-0,868]	-Riesgo citogenético y molecular
REFRACTARIA	1,856	0,010	[1,163-2,963]	2,293	0,003	[1,316-3,993]	-Año TPH
SITUACIÓN DE ENFERMEDAD PRE- TPH:							-Etiología
1ºRC	1			1			-Riesgo citogenético y molecular
≥2ºRC / RP	1,567	0,078	[0,952-2,580]	1,698	0,039	[1,028-2,803]	
ACTIVIDAD	4,083	<0,001	[2,566-6,496]	3,724	<0,001	[2,330-5,951]	

AÑO TPH: Año del TPH	0,960	<0,001	[0,941-0,980]	0,950	<0,001	[0,928-0,972]	-Edad -Etiología -Situación de enfermedad pre-TPH
Periodo 1997-2011 1982-1996	1 1,428	0,029	[1,036-1,966]	1 1,682	0,004	[1,176-2,405]	
TIPO TPH: AutoTPH AloTPH: HLA-idéntico <10/10	1 1,071	0,672	[0,780-1,470]	1 1,124 1,108 1,410	0,514 0,570 0,333	[0,791-1,597] [0,777-1,580] [0,703-2,826]	-Edad -Etiología -Afectación extramedular -Situación de enfermedad pre-TPH -Año TPH

INCIDENCIA ACUMULADA DE RECAÍDA (CIR)

FACTORES DE RIESGO	UNIVARIABLE			MULTIVARIABLE			
	HR	p	IC95%	HR	p	IC95%	Variables de ajuste
EDAD: Edad en años	1,006	0,444	[0,991-1,020]	1,006	0,458	[0,991-1,021]	-Afectación extramedular -Situación de enfermedad pre-TPH
Edad en categorías 18-34	1			1			
35-49	1,092	0,740	[0,648-1,840]	0,990	0,970	[0,595-1,648]	
≥50	1,325	0,261	[0,811-2,164]	1,482	0,126	[0,896-2,451]	
ETIOLOGÍA: DE NOVO SECUNDARIA	1 1,329	0,312	[0,766-2,307]	1 1,753	0,039	[1,029-2,987]	-Afectación extramedular -Tipo TPH
LEUCOCITOSIS DIAGNÓSTICO: Leucocitos / µL	1,006	<0,001	[1,003-1,009]	1,005	<0,001	[1,003-1,008]	-Etiología -Riesgo citogenético y molecular
Leucocitosis en categorías <20.000/µL	1			1			
20-50.000/µL	1,618	0,090	[0,928-2,821]	1,818	0,040	[1,028-3,216]	
>50.000/µL	2,025	0,008	[1,203-3,408]	1,879	0,021	[1,100-3,210]	
AFECCIÓN EXTRAMEDULAR AUSENTE PRESENTE	1 1,265	0,475	[0,664-2,410]	1 2,077	0,023	[1,106-3,900]	-Riesgo citogenético y molecular -Situación de enfermedad pre-TPH -Año TPH -Tipo TPH
RIESGO CITOGÉNICO Y MOLECULAR (GUÍAS NCCN): BAJO INTERMEDIO ALTO	1 1,286 2,242	0,623 0,110	[0,472-3,501] [0,833-6,038]	1 1,426 2,419	0,508 0,095	[0,498-4,086] [0,857-6,827]	-Año TPH

RESPUESTA A INDUCCIÓN: RC RP REFRACTARIA	1 0,584 1,144	0,125 0,714	[0,294-1,161] [0,557-2,350]	1 0,588 1,151	0,132 0,705	[0,295-1,174] [0,557-2,378]	-Etiología -Leucocitosis diagnóstico -Afectación extramedular -Riesgo citogenético y molecular -Tipo TPH
SITUACIÓN DE ENFERMEDAD PRE-TPH: 1°RC ≥2°RC / RP ACTIVIDAD	1 1,470 5,103	0,249 <0,001	[0,763-2,832] [2,712-9,602]	1 2,356 9,143	0,030 <0,001	[1,088-5,103] [4,365-19,150]	-Etiología -Leucocitosis diagnóstico -Tipo TPH
AÑO TPH: Año del TPH Periodo 1997-2011 1982-1996	0,988 1 0,995	0,331 0,983	[0,965-1,012] [0,648-1,528]	1,019 1 0,734	0,179 0,169	[0,991-1,048] [0,472-1,140]	-Situación de enfermedad pre-TPH -Tipo TPH
TIPO TPH: AutoTPH AloTPH: HLA-idéntico <10/10	1 0,424	<0,001	[0,276-0,652]	1 0,284 0,301 0,189	<0,001 <0,001 0,001	[0,177-0,456] [0,187-0,485] [0,069-0,522]	-Etiología -Situación de enfermedad pre-TPH

III. Variables con pequeño tamaño muestral

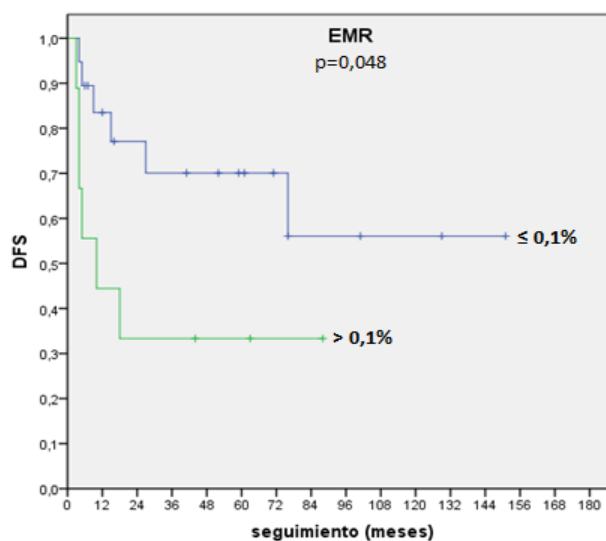
Tal y como se deduce de la experiencia clínica, de los estudios publicados y de nuestros análisis de supervivencia (comentados previamente en el apartado de Resultados), aunque la OS y la DFS no presentan diferencias estadísticamente significativas entre Auto-TPH y Alo-TPH, la explicación radica en que el mayor riesgo de recaída del Auto-TPH se compensa con la mayor mortalidad relacionada con el procedimiento en el caso del Alo-TPH. Esta es la razón por la cual también se ha realizado un análisis univariable de algunos factores influyentes que, en nuestra serie, tienen un tamaño muestral demasiado pequeño para incluirlos en el análisis multivariable.

a) QUE AUMENTAN EL RIESGO DE RECAÍDA EN EL AUTO-TPH:

Para interpretar los siguientes análisis hay que destacar que se han realizado tan sólo 30 Auto-TPH en los últimos 9 años del estudio. Es a partir del año 2003 (momento en que se comienza a realizar la citometría de flujo de 4 colores) que el producto de precursores hematopoyéticos infundido y la cuantificación de la EMR pre-TPH pudo afinarse hasta los límites de hoy en día, evitando al máximo la presencia de enfermedad prácticamente indetectable de otro modo.

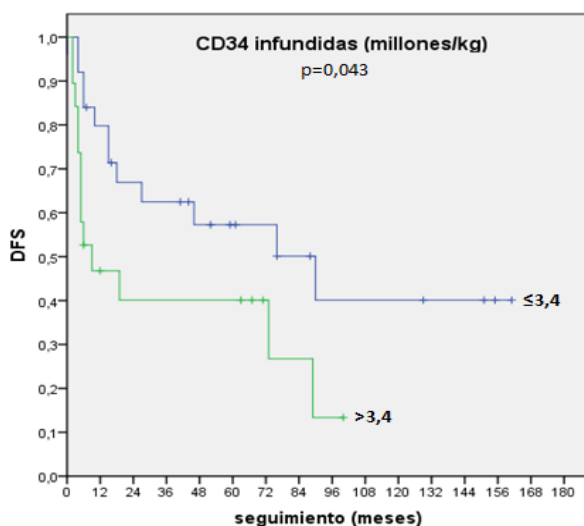
Enfermedad Mínima Residual (EMR)

Desde 1997 (cuando se empezó a analizar la EMR pre-TPH mediante citometría de flujo con 2 colores), disponemos de datos en 28 Auto-TPH. Se observa una DFS a los 5 años del 70% cuando $EMR \leq 0,1\%$ y del 33% si $> 0,1\%$ ($p=0,048$).



Número de CD34 infundidas

Antes de 1997 la evaluación de la enfermedad se hacía morfológicamente (en una minoría de casos, la presencia de alteraciones genéticas o moleculares, permitía recurrir al cariotipo, la FISH o la Biología Molecular para tal fin), por lo que los precursores hematopoyéticos infundidos, la mayor parte de las veces, se definían con una sensibilidad de 1/100. Disponemos de datos en 44 pacientes sometidos a Auto-TPH de sangre periférica. Se observa una DFS a los 5 años del 57% cuando se infunden $\leq 3,4$ millones/kg de CD34 y del 40% si $>3,4$ millones/kg ($p=0,043$), lo cual hace suponer que, a mayor producto infundido, mayor posibilidad de incluir alguna célula leucémica.

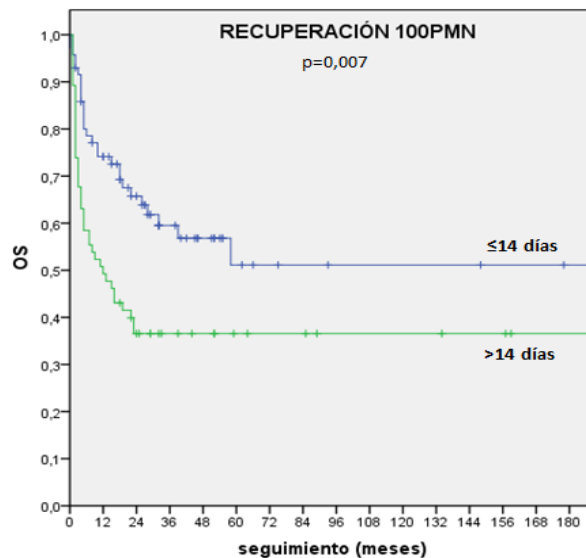


b) QUE AUMENTAN LA MORTALIDAD EN EL ALO-TPH:

Los siguientes análisis son de factores implicados con las 3 causas principales de mortalidad en el Alo-TPH: infección, toxicidad y EICH.

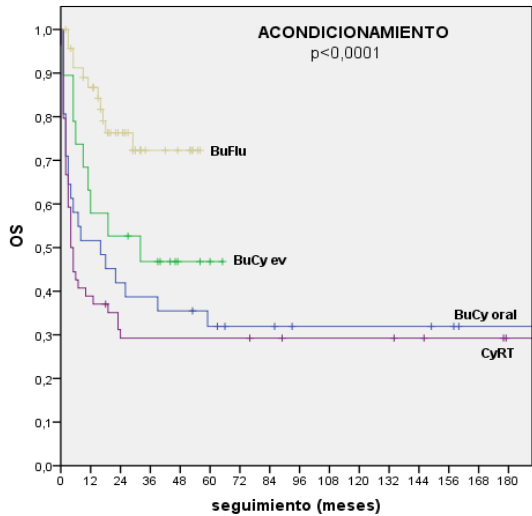
Recuperación hematológica

La mediana de tiempo hasta alcanzar los 100 polimorfonucleares en nuestra serie de Alo-TPH es de 14 días. Cualquier retraso puede incrementar el riesgo de mortalidad precoz. Se observa una OS a los 100 días del 92% cuando los PMN suben por encima de 100/ μ L en las 2 primeras semanas y del 68% si tardan más de 14 días ($p=0,007$).



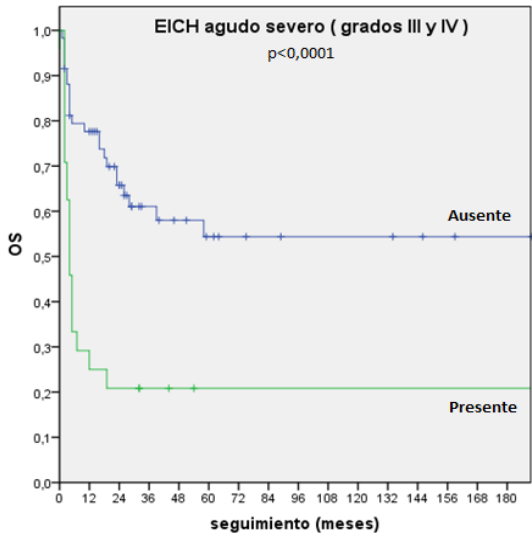
Regimen de acondicionamiento

El reciente esquema Busulfán-Fludarabina está obteniendo resultados sorprendentes que superan las mejoras que implicaron en los regímenes de Ciclofosfamida en su día, tanto el paso de Busulfán oral a endovenoso, como el abandono de la Radioterapia. Se observa una OS a los 2 años del 76% cuando el acondicionamiento empleado es BuFlu, del 53% con BuCy ev, del 42% con BuCy oral y del 29% en caso de CyRT ($p<0,0001$).



EICH agudo severo

Aunque la presencia de EICH crónico parece ir pareja a la eficacia del Alo-TPH por el efecto injerto contra leucemia (IcL), una EICH aguda descontrolada implica una importante morbilidad. Se observa una OS a los 2 años del 66% cuando no aparece EICH agudo o bien lo hace en forma leve (grados I y II) y del 21% en caso de EICH agudo grados III o IV ($p < 0,0001$).



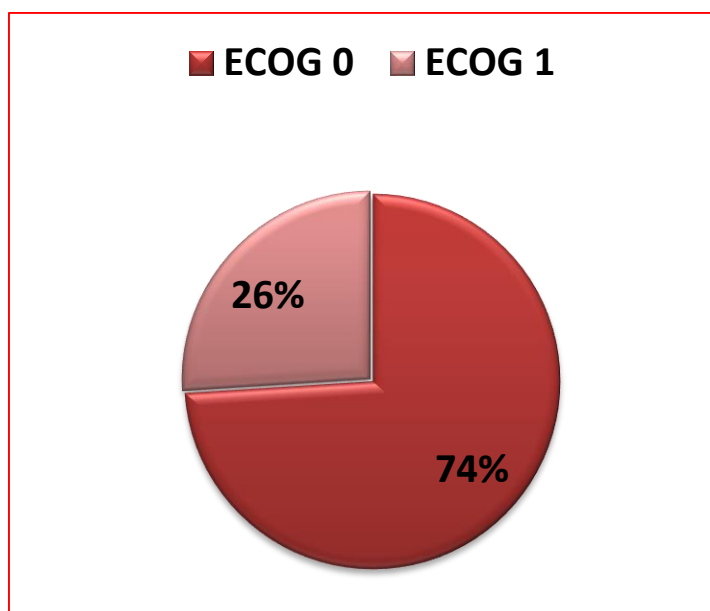
C) CALIDAD DE VIDA EN LOS LARGOS SUPERVIVIENTES

Durante un periodo de 30 años (1982-2011), se han realizado un total de 371 trasplantes por Leucemia Mieloblástica Aguda en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, de los que 274 son objeto de nuestro estudio. La mediana de seguimiento de los mismos es 55 meses [2-316], y se distribuyen en 112 TPH autólogos y 162 TPH alogénicos.

I. Trasplante Autólogo

A fecha de último seguimiento, de los 112 pacientes con LMA autotrasplantados, 43 permanecen vivos. Todos ellos están en Remisión Completa con un seguimiento mínimo de 2 años.

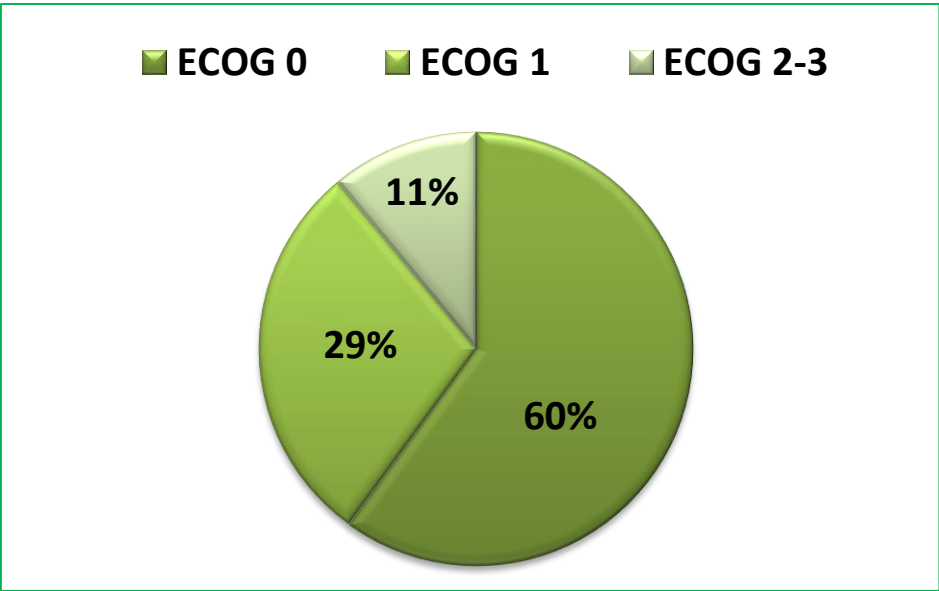
Su calidad de vida puede definirse como excelente, casi las tres cuartas partes tienen un ECOG=0 y realizan un tipo de vida similar al que tenían previamente al trasplante.



II. Trasplante Alogénico

A fecha de último seguimiento de los 162 pacientes con LMA alotrasplantados, 72 permanecen vivos. Todos ellos están en Remisión Completa con un seguimiento mínimo de 2 años.

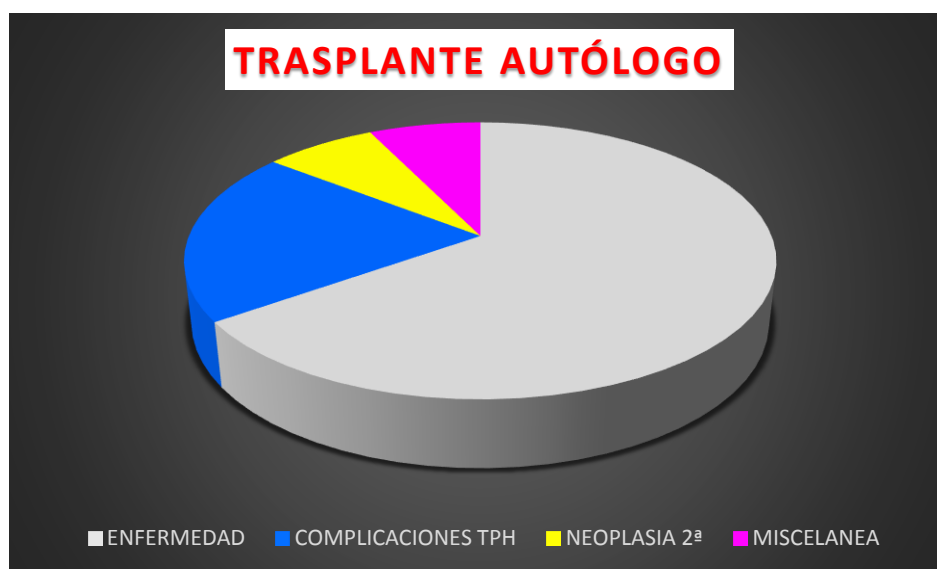
Sin embargo, su calidad de vida está mermada, un 40% de los pacientes tienen un ECOG $\geq$ 1. La razón principal es la presencia de EICH crónico en 39 pacientes (55% de los vivos), casi la mitad de ellos en forma extensa. Existe afectación mucocutánea en el 100%, pulmonar en el 28%, hepática en el 21% y digestiva en el 5%. A fecha de último seguimiento, 3 pacientes son refractarios a todo tipo de tratamientos, 16 necesitan corticoides a dosis altas, 5 han precisado de tratamiento alternante con inhibidores de calcineurina y 15 son corticodependientes a dosis bajas.



D) CAUSAS DE MORTALIDAD

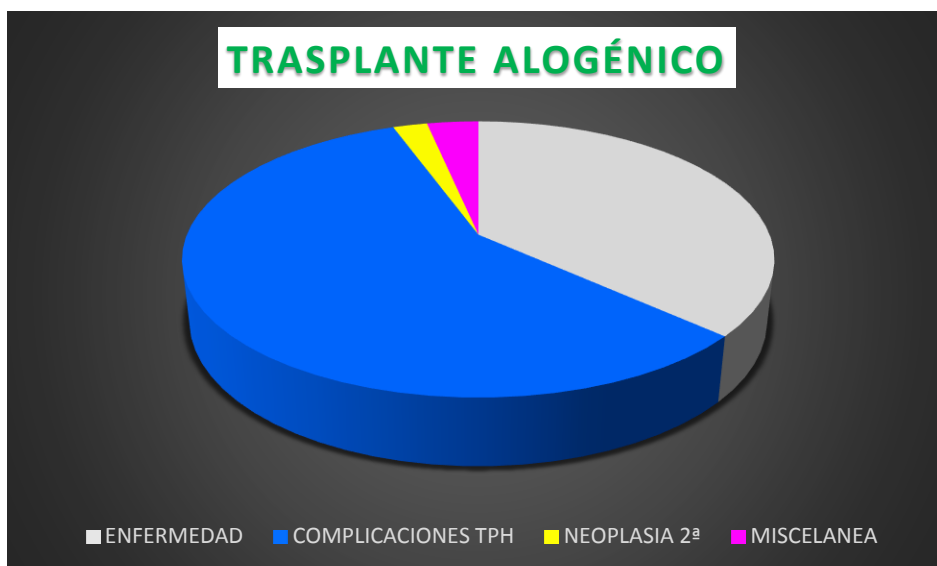
I. Trasplante Autólogo

A fecha de último seguimiento, de los 112 pacientes con LMA autotrasplantados, 69 han fallecido: 45 por enfermedad, 14 por complicaciones del trasplante, 5 por neoplasias secundarias y 5 por otras causas o desconocidas.



II. Trasplante Alogénico

A fecha de último seguimiento, de los 162 pacientes con LMA alotrasplantados, 90 han fallecido: 52 por complicaciones del trasplante (20 por infección, 16 por EICH, 8 por toxicidad y 8 por causas mixtas), 33 por enfermedad, 2 por neoplasias secundarias y 3 por otras causas o desconocidas.



E) NEOPLASIAS SECUNDARIAS

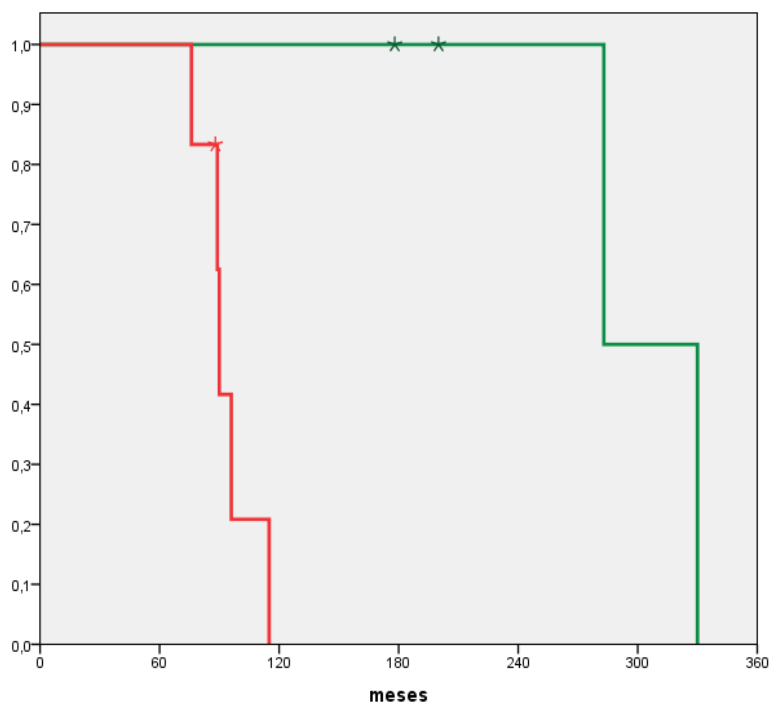
I. Trasplante Autólogo

Con una mediana de seguimiento de 93 meses [5-230], 6 pacientes desarrollaron una neoplasia secundaria, 5 de las cuales fueron hematológicas, con una mediana de aparición a los 90 meses [76-115]: 4 SMD a los 76, 89, 90 y 115 meses del TPH, una neoplasia sólida de laringe a los 97 meses y un linfoma folicular a los 89 meses (el único que permanece vivo en la actualidad). Ninguno de ellos había recibido radioterapia previa pero, aunque el escaso número de pacientes no permite sacar conclusiones y la mediana de edad de los mismos en ese momento era de 72 años, el hecho de presentar neoplasias de origen hematológico parece estar relacionado con la infusión de precursores hematopoyéticos previamente tratados con quimioterapia. Lo que sí queda demostrado es que son las neoplasias secundarias la razón de la llamativa caída de la curva de supervivencia global a largo plazo en el grupo del Auto-TPH.

II. Trasplante Alogénico

Con una mediana de seguimiento de 43 meses [2-316], 4 pacientes desarrollaron una neoplasia secundaria, todas ellas sólidas, con una mediana de aparición a los 242 meses [179-331]. Permanecen vivos 2 de ellos (un seminoma a los 179 meses y una neoplasia de esófago a los 200 meses) y han fallecido los 2 restantes (una neoplasia de pulmón a los 283 meses y un osteosarcoma a los 331 meses). Ninguno de ellos había recibido tampoco radioterapia previa.

A modo de resumen, para resaltar el momento de aparición de las 10 neoplasias secundarias de nuestro estudio, y los pacientes que fallecieron por su causa en ambos grupos (5 autotrasplantados en rojo y 2 alotrasplantados en verde), valga el siguiente gráfico:



Nuestro estudio es un análisis retrospectivo que incluye 274 Transplantes de Progenitores Hematopoyéticos realizados en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla a adultos diagnosticados de Leucemia Mieloblástica Aguda no promielocítica, desde Marzo de 1982 hasta Diciembre de 2011.

Para poder sacar conclusiones prácticas aplicables a la realidad clínica, nos hemos centrado en el periodo más reciente (1997-2011) ya que, solo a partir de este momento, disponemos de citometría de flujo como herramienta diagnóstica para precisar la enfermedad mínima residual, variable fundamental a la hora de predecir el riesgo de recaída (principal problema del Auto-TPH). En cuanto a la mortalidad relacionada con el TPH, ha habido importantes mejoras, tanto en los regímenes de acondicionamiento y profilaxis de EICH, como en los tratamientos de soporte aplicables a ambos tipos de procedimientos, siendo más notables aún en el Alo-TPH (donde es el principal problema).

Comprobaremos la reproducibilidad de los datos en nuestra serie y valoraremos nuevos hallazgos, revisando de forma paralela con detalle los cuatro grandes estudios multicéntrico europeos: HOVON/SAKK¹³⁴ (2287 LMA no promielocíticas diagnosticadas en Alemania, Bélgica y Suiza desde 1982 hasta 2004), EORTC/GIMEMA¹³⁵ (2157 LMA no promielocíticas diagnosticadas en Italia desde 1993 hasta 1999), UK/MRC¹³⁶ (1966 LMA y SMDt diagnosticados en Reino Unido, Irlanda y Nueva Zelanda desde 1988 hasta 1995) y BGMT¹³⁷ (1007 LMA diagnosticadas en Francia desde 1984 hasta 2001).

Objetivo principal

Analizar la supervivencia global, la toxicidad y las recaídas en los 112 pacientes autotrasplantados y en los 162 pacientes alotrasplantados en nuestro centro, así como su calidad de vida a largo plazo.

Ambos grupos son comparables en cuanto a sexo, clasificación de la FAB, leucocitosis al diagnóstico y riesgo citogenético. Sin embargo, la mediana de edad es 7 años mayor en el Auto-TPH (44,5 vs 37,8 años con $p=0,001$) y el origen secundario de la LMA se da 2 veces más en el Alo-TPH (20,4 vs 9,8% con $p=0,032$). En el caso de HOVON/SAKK, EORTC/GIMEMA y BGMT, ambos grupos además eran comparables en cuanto a edad.

Como es lógico por la actitud terapéutica, las variables relativas a la respuesta de la enfermedad al tratamiento no están distribuidas de manera uniforme. El 81,5% de los pacientes sometidos a Auto-TPH obtienen RC con la Inducción (67,7% en el grupo del Alo-TPH, $p=0,002$) y, previamente al procedimiento, la enfermedad está en RC en el 97,3% de los Auto-TPH (87,6% en el grupo del Alo-TPH, $p=0,008$). En el caso de HOVON/SAKK definen el grupo de riesgo con una combinación de riesgo citogenético-molecular, leucocitosis al diagnóstico y tiempo hasta alcanzar la RC y en el caso de UK/MRC, con una combinación de riesgo citogenético-molecular y respuesta al tratamiento de Inducción.

Los resultados de supervivencia, de riesgo de recaída y de mortalidad relacionada con el procedimiento de nuestra serie son:

Supervivencia Global:

SG del Auto-TPH: 70% al año y 48% a los 5 años del TPH. SG del Alo-TPH: 66% al año y 47% a los 5 años del TPH. Tomando como referencia el Auto-TPH, HR=0,96 con $p=0,86$. Por lo tanto, no hay diferencias estadísticamente significativas.

En el grupo HOVON/SAKK, OS a los 4 años: 46% en caso de no disponer de donante y 54% en Alo-TPH, con HR= 0,85 y $p=0,09$. En el grupo EORTC/GIMEMA, OS a los 4 años: 51% en caso de no disponer de donante y 58% en Alo-TPH, con $p=0,18$. En el grupo BGMT, OS a los 4 años: 55% en Auto-TPH y 51% en Alo-TPH, con $p=0,11$.

Incidencia Acumulada de Recaída:

CIR del Auto-TPH: 38% al año y 59% a los 5 años del TPH. CIR del Alo-TPH: 18% al año y 26% a los 5 años del TPH. Tomando como referencia el Auto-TPH, HR=0,36 con $p<0,01$. Por lo tanto, es estadísticamente significativo que el riesgo de recaída es casi 3 veces mayor en el Auto-TPH.

En el grupo HOVON/SAKK, CIR a los 4 años: 59% en caso de no disponer de donante y 32% en Alo-TPH, con HR= 0,46 y $p<0,001$. En el grupo EORTC/GIMEMA, CIR a los 4 años: 53% en caso de no disponer de donante y 30% en Alo-TPH, con $p<0,001$. En el grupo UK/MRC, CIR a los 7 años: 52% en caso de no disponer de donante y 36% en Alo-TPH, con HR=0,63 y $p<0,001$. En el grupo BGMT, CIR a los 4 años: 55% en caso de no disponer de donante y 27% en Alo-TPH, con $p<0,001$.

Mortalidad Relacionada con el Transplante:

MRT del Auto-TPH: 2% al año y 4% a los 5 años del TPH. MRT del Alo-TPH: 16% al año y 25% a los 5 años del TPH. Tomando como referencia el Auto-TPH, HR=2,76 con $p=0,02$ Por lo tanto, es estadísticamente significativo que el riesgo de mortalidad relacionada con el procedimiento es casi 3 veces mayor en el Alo-TPH.

En el grupo HOVON/SAKK, MRT a los 4 años: 4% en caso de no disponer de donante y 21% en Alo-TPH, con HR= 3,99 y $p<0,001$. En el grupo EORTC/GIMEMA, MRT a los 4 años: 5% en caso de no disponer de donante y 17% en Alo-TPH, con $p<0,001$. En el grupo BGMT, MRT a los 4 años: 6% en caso de no disponer de donante y 24% en Alo-TPH, con $p<0,001$.

La calidad de vida no fue evaluada en ninguno de los cuatro grandes estudios multicéntricos. Pero a continuación se exponen los **resultados del seguimiento a largo plazo** de nuestra serie:

Auto-TPH:

Con una mediana de seguimiento de 93 meses [5-230], el 74% de los pacientes vivos en la actualidad tienen un ECOG 0, ninguno presenta ECOG>1. No existen recaídas posteriores a los 2 años del TPH. Se han documentado seis neoplasias secundarias (cinco hematológicas), con una mediana de aparición a los 90 meses del TPH.

Alo-TPH:

Con una mediana de seguimiento de 43 meses [2-316], el 60% de los pacientes vivos en la actualidad tienen un ECOG, y un 11% presenta ECOG>1. No existen recaídas posteriores a los 2 años del TPH. Se han documentado cuatro neoplasias secundarias (todas sólidas), con una mediana de aparición a los 242 meses del TPH.

Objetivo secundario

Analizar mediante un modelo explicativo la verdadera magnitud de efecto que tiene cada uno de los factores pronósticos (características clínicas y biológicas relacionadas con el paciente, con la enfermedad y su tratamiento previo o con el procedimiento) sobre la Incidencia Acumulada de Recaída y sobre la Supervivencia Global de las LMA sometidas a TPH en nuestro centro, evitando el efecto de confusión que podrían ejercer el resto de variables analizadas.

Se han explorado de manera rutinaria las siguientes variables: edad del paciente, etiología de la LMA, leucocitosis al diagnóstico, afectación extramedular, riesgo citogenético y molecular, respuesta de la LMA al tratamiento de Inducción y situación de la enfermedad al trasplante.

Supervivencia Global:

En el análisis multivariable de nuestro estudio, además del año del TPH, los factores de riesgo que se consideran predictivos negativos y que, por lo tanto, disminuyen la supervivencia son:

Edad: los pacientes de ≥ 50 años presentan un riesgo 1,871 veces mayor que los de 18-34 años ($p=0,005$).

Etiología: los pacientes con LMA secundarias presentan un riesgo 1,672 veces mayor que los diagnosticados de LMA *de novo* ($p=0,021$).

Riesgo citogenético: los pacientes con LMA de alto riesgo según la NCCN presentan un riesgo 2,919 veces mayor que los diagnosticados de LMA de bajo riesgo ($p=0,008$).

Respuesta a la Inducción: los pacientes refractarios presentan un riesgo 2,293 veces mayor que los que alcanzan RC ($p=0,003$).

Situación de la enfermedad pre-TPH: los pacientes que entran en $\geq 2^{\text{a}}$ RC/RP presentan un riesgo 1,698 veces mayor que los que entran en 1^{a} RC ($p=0,039$) y los que entran en actividad, un riesgo 3,724 veces mayor ($p<0,001$).

En el grupo HOVON/SAKK el análisis multivariable para OS se definió con el tipo de trasplante, el grupo de riesgo (combinación de riesgo citogenético-molecular, leucocitosis al diagnóstico y tiempo hasta alcanzar la RC) y la edad. En el grupo EORT/GIMEMA, el análisis multivariable se definió con el tipo de trasplante, el riesgo citogenético-molecular y la edad, poniéndose de manifiesto que la DFS fue similar en los grupos de riesgo bajo e intermedio y significativamente superior para el Alo-TPH en los grupos de alto riesgo, principalmente si los pacientes eran jóvenes. En el grupo UK/MRC, el análisis multivariable se definió con el tipo de trasplante, el grupo de riesgo (combinación de riesgo citogenético-molecular y respuesta al tratamiento de Inducción) y la edad, poniéndose de manifiesto que la OS fue significativamente superior para el Alo-TPH en el grupo de riesgo intermedio sólo si los pacientes eran <35 años. En el grupo BGMT, el análisis multivariable se realizó con el tipo de trasplante, la leucocitosis al diagnóstico, la clasificación de la FAB, el riesgo citogenético y el número de ciclos de Inducción recibidos para alcanzar la RC, creándose un índice pronóstico que pone de manifiesto que el Alo-TPH ofrecía ventajas en OS y DFS sólo en el grupo de riesgo intermedio (los que tienen 1-2 de los factores de riesgo analizados).

Incidencia Acumulada de Recaída:

En el análisis multivariable de nuestro estudio, además del tipo de TPH, los factores de riesgo que se consideran predictivos positivos y que, por lo tanto, aumentan el riesgo de recaída son:

Etiología: los pacientes con LMA secundarias presentan un riesgo 1,753 veces mayor que los diagnosticados de LMA *de novo* ($p=0,039$).

Leucocitosis al diagnóstico: los pacientes que debutan con 20.000-50.000 leucocitos/ μ L presentan un riesgo 1,818 veces mayor que los de $<20.000/\mu$ L ($p=0,040$) y los que debutan con $>50.000/\mu$ L, un riesgo 1,879 veces mayor ($p=0,021$).

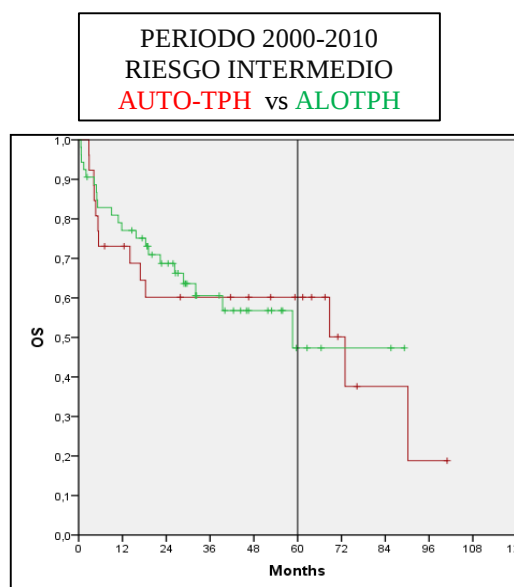
Afectación extramedular: los pacientes que debutan con afectación extramedular presentan un riesgo 2,077 veces mayor que aquellos con afectación exclusivamente medular ($p=0,023$).

Situación de la enfermedad pre-TPH: los pacientes que entran en $\geq 2^{\text{a}}$ RC/RP presentan un riesgo 2,356 veces mayor que los que entran en 1^{a} RC ($p=0,030$) y los que entran en actividad, un riesgo 9,143 veces mayor ($p<0,001$).

El grupo UK/MRC pone de manifiesto que el Alo-TPH fue capaz de disminuir la CIR en todos los grupos de riesgo y en todas las franjas de edad. El resto de los grupos multicéntricos europeos hacen referencia a la CIR al analizar DFS en lugar de OS (como se ha comentado ya previamente) y, en mayor o menor medida, concluyen que el hecho de tener donante como variable surrogada de recibir un Alo-TPH, protegía de forma estadísticamente significativa con respecto al Auto-TPH en todas las categorías de edad y riesgo citogenético, excepto: en el caso de riesgo citogenético favorable, en el que parecía protector el Auto-TPH y

en el caso de edad >35años, en el que, aunque la tendencia era minimamente protectora a favor del Alo-TPH, no fue significativo.

Dentro del problemático grupo de riesgo citogenético intermedio (aproximadamente un 50% de las LMA de reciente diagnóstico), pues la opción no se discute en citogenética de bajo riesgo donde tiene mejores resultados el Auto-TPH, ni en citogenética de alto riesgo donde sólo tiene cabida el Alo-TPH, nuestros resultados defienden que, aunque el Auto-TPH está en desuso en los últimos años, es una opción muy válida, con resultados de supervivencia equiparables al Alo-TPH y con mejor calidad de vida a largo plazo, para pacientes mayores diagnosticados de LMA *de novo*, sin leucocitosis ni afectación extramedular al diagnóstico y que se encuentren en 1ªRC (si es posible con $EMR \leq 0,1\%$) en el momento del procedimiento, recomendándose la infusión de no más de $3,4 \times 10^6$ CD34/kg.



Mediante regresión de Cox, tomando como referencia el Auto-TPH y ajustando por situación de la enfermedad pre-TPH, $OR=0,888$ ($IC_{95\%}$ [0,407-1,937]) con $p=0,765$.

Analizar el material genético almacenado en el Banco de Sangre y Tejidos de Cantabria para completar el perfil biológico, mediante FISH y Biología Molecular, de los pacientes con LMA transplantados en nuestro centro, que no fueron estudiados al diagnóstico, pero de los que disponíamos de células criopreservadas de aquel momento.

Paso previo básico para ampliar la base de datos y poder trabajar en los objetivos del estudio (comentado en el apartado de Métodos).

9. Conclusiones

- 1. La SG a los 5 años fue prácticamente del 50% en ambos grupos (tanto en el Auto-TPH como en el Alo-TPH), en el periodo más reciente (1997-2011).*
- 2. No ha habido apenas MRT en el grupo del Auto-TPH en el último periodo analizado, y se ha reducido significativamente en el grupo del Alo-TPH.*
- 3. El riesgo de recaída es mayor en el grupo del Auto-TPH, pero debe destacarse que no ha habido ninguna recaída a partir del segundo año post-trasplante en ninguno de los grupos.*
- 4. La calidad de vida a largo plazo es excelente en el grupo del Auto-TPH, pero existe un aumento de la incidencia de neoplasias secundarias tardías, especialmente las hematológicas.*
- 5. Los factores que influyen negativamente en la SG son: la enfermedad activa en el momento del TPH, el riesgo citogenético-molecular alto, la refractariedad al tratamiento de Inducción, la etiología secundaria de la LMA y la edad avanzada.*
- 6. Los factores predictivos de un mayor riesgo de recaída son: la enfermedad activa al TPH, la carga tumoral al diagnóstico (hiperleucocitosis y afectación extramedular) y la etiología secundaria de la LMA.*
- 7. El Auto-TPH es una opción terapéutica válida, con resultados de supervivencia equiparables a los del Alo-TPH y con mejor calidad de vida a largo plazo, para algunos pacientes con LMA de riesgo intermedio.*

1. Estey E, Dohner H. Acute myeloid leukaemia. *Lancet*. 2006;368:1894-1907.
2. Deschler B, Lubbert M: Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. *Cancer* 2006; 107:2099-2107.
3. Dohner, H, Estey, EH, Amadori, S, 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; 115:453.
4. Hasserjian RP. Acute myeloid leukemia: advances in diagnosis and classification. *Int J Lab Hematol*. 2013 Jun;35(3):358-66.
5. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW: World Health Organization Classification of Tumours - pathology and genetics of tumours of haemopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press. 2001.
6. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (eds.): WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008.
7. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, Harris NL, LeBeau MM, Hellstrom-Lindberg E, Tefferi A, Bloomfield CD: The 2008 revision of the WHO Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009; 114:937-951.
8. Lowenberg B, Downing JR, Burnett A: Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999; 341:1051-1062.
9. Lowenberg B, Griffin JD, Tallman MS: Acute myeloid leukemia and acute promyelocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2003;82-101.
10. Craig FE, Foon KA: Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood* 2008; 111:3941-67.

11. Bene MC, Castaldi G, Knapp W y cols.: Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995; 9:1783-1786.
12. Mrozek K, Heerema NA, Bloomfield CD: Cytogenetics in acute leukemia. *Blood Rev* 2004; 18:115-136.
13. Grimwade D, Walker H, Oliver F y cols.: The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. *Blood* 1998; 92:2322-2333.
14. Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA y cols.: Karyotypic analysis predicts outcome of pre-remission and post-remission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group /Eastern Cooperative Oncology Group study. *Blood* 2000; 96:4075-4083.
15. Byrd JC, Mrozek K, Dodge RK y cols.: Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood* 2002; 100:4325-4336.
16. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters S, Goldstone AH, Wheatley K, Harrison CJ, Burnett AK; National Cancer Research Institute Adult Leukaemia Working Group: 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; 116:354-365.

17. Grimwade D: Impact of cytogenetics on clinical outcome in AML. In: Karp JE ed. *Acute Myelogenous Leukemia*. Totowa, New Jersey: Human Press 2007:177-192.
18. Frohling S, Skelin S, Liebisch P y cols.: Comparison of cytogenetic and molecular cytogenetic detection of chromosome abnormalities in 240 consecutive adult patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2002; 20:2480-2485.
19. Van Dongen JJM, Macintyre EA, Gabert JA y cols.: Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Report of the BIOMED-1 Concerted Action: investigation of minimal residual disease in acute leukemia. *Leukemia* 1999; 13:1901-1928.
20. Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, Bi W, Grimwade D, Pallisgaard N, Barbany G, Cazzaniga G, Cayuela JM, Cave H, Pane F, Aerts JL, De Micheli D, Thirion X, Pradel V, Gonzalez M, Viehmann S, Malec M, Saglio G, van Dongen JJ: Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. *Leukemia* 2003;23:18-2357.
21. Rowe D, Cotterill SJ, Ross FM y cols.: Cytogenetically cryptic AML1-ETO and CBF beta-MYH11 gene rearrangements: incidence in 412 cases of acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2000; 111:1051-1056.
22. O'Donnell MR. Risk stratification and emerging treatment strategies in acute myeloid leukemia. *J Natl Compr Canc Netw*. 2013 May;11(5 Suppl):667-9.

23. Büchner T, Berdel WE, Haferlach C, Haferlach T, Schnittger S, Müller-Tidow C, Braess J, Spiekermann K, Kienast J, Staib P, Grüneisen A, Kern W, Reichle A, Maschmeyer G, Aul C, Lengfelder E, Sauerland MC, Heinecke A, Wörmann B, Hiddemann W. Age-related risk profile and chemotherapy dose response in acute myeloid leukemia: a study by the German Acute Myeloid Leukemia Cooperative Group. *J Clin Oncol*. 2009 Jan 1;27(1):61-9.
24. Farag SS, Archer KJ, Mrózek K, Ruppert AS, Carroll AJ, Vardiman JW, Pettenati MJ, Baer MR, Qumsiyeh MB, Koduru PR, Ning Y, Mayer RJ, Stone RM, Larson RA, Bloomfield CD. Pretreatment cytogenetics add to other prognostic factors predicting complete remission and long-term outcome in patients 60 years of age or older with acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B 8461. *Blood*. 2006 Jul 1;108(1):63-73.
25. Suárez L, Vidriales MB, Moreno MJ, López A, García-Laraña J, Pérez-López C, Tormo M, Lavilla E, López-Berges MC, de Santiago M, San Miguel JF, Orfao A; PETHEMA Cooperative Group. Differences in anti-apoptotic and multidrug resistance phenotypes in elderly and young acute myeloid leukemia patients are related to the maturation of blast cells. *Haematologica*. 2005 Jan;90(1):54-9.
26. Grimwade D, Hills RK. Independent prognostic factors for AML outcome. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009:385-95.
27. Matthew L. Smith, Robert K. Hills, David Grimwade. Independent prognostic variables in acute myeloid leukaemia. *Blood Reviews* 2011;25:39–51.

28. Grimwade D, Walker H, Oliver F et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Blood*. 1998;92:2322-2333.
29. Grimwade D, Walker H, Harrison G et al. The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): analysis of 1065 patients entered into the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. *Blood*. 2001;98:1312-1320.
30. Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA 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.
31. Byrd JC, Mrozek K, Dodge RK et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood*. 2002;100:4325-4336.
32. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV 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;116:354-365.
33. Delaunay J, Vey N, Leblanc T et al. Prognosis of inv(16)/t(16;16) acute myeloid leukemia (AML): a survey of

- 110 cases from the French AML Intergroup. *Blood*. 2003;102:462-469.
34. Nguyen S, Leblanc T, Fenaux P et al. A white blood cell index as the main prognostic factor in t(8;21) acute myeloid leukemia (AML): a survey of 161 cases from the French AML Intergroup. *Blood*. 2002;99:3517-3523.
 35. Schlenk RF, Dohner K, Krauter J et al. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2008;358:1909-1918.
 36. Lyman SD, Jacobsen SE. c-kit ligand and Flt3 ligand: stem/progenitor cell factors with overlapping yet distinct activities. *Blood*. 1998;91:1101-1134.
 37. McKenna HJ, Stocking KL, Miller RE et al. Mice lacking flt3 ligand have deficient hematopoiesis affecting hematopoietic progenitor cells, dendritic cells, and natural killer cells. *Blood*. 2000;95:3489-3497.
 38. Thiede C, Steudel C, Mohr B 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;99:4326-4335.
 39. Frohling S, Schlenk RF, Breitruck J 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;100:4372-4380.
 40. Liu YC1, Hsiao HH, Lin PM, Yang WC, Chang CS, Liu TC, Hsu JF, Yang MY, Lin F. Prognostic implication of molecular aberrations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia patients receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Genet Mol Res*. 2013 Nov 11;12(4):5414-23.

41. Yokota S, Kiyoi H, Nakao M et al. Internal tandem duplication of the FLT3 gene is preferentially seen in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome among various hematological malignancies. A study on a large series of patients and cell lines. *Leukemia*. 1997;11:1605-1609.
42. Kottaridis PD, Gale RE, Frew ME 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;98:1752-1759.
43. Gale RE, Hills R, Kottaridis PD et al. No evidence that FLT3 status should be considered as an indicator for transplantation in acute myeloid leukemia (AML): an analysis of 1135 patients, excluding acute promyelocytic leukemia, from the UK MRC AML10 and 12 trials. *Blood*. 2005;106:3658-3665.
44. Kiyoi H, Naoe T, Nakano Y et al. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood*. 1999;93:3074-3080.
45. Krzysztof Mrózek, Guido Marcucci, Peter Paschka, Susan P. Whitman and Clara D. Bloomfield. Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics: are we ready for a prognostically prioritized molecular classification?. *Blood* 2007;109: 431-448.
46. Thiede C, Koch S, Creutzig E et al. Prevalence and prognostic impact of NPM1 mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood*. 2006;107:4011-4020.

47. Dohner K, Schlenk RF, Habdank M 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;106:3740-3746.
48. Schnittger S, Schoch C, Kern W et al. Nucleophosmin gene mutations are predictors of favorable prognosis in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *Blood*. 2005;106:3733-3739.
49. Boissel N, Renneville A, Biggio V et al. Prevalence, clinical profile, and prognosis of NPM mutations in AML with normal karyotype. *Blood*. 2005;106:3618-3620.
50. Verhaak RG, Goudswaard CS, van Putten W et al. Mutations in nucleophosmin (NPM1) in acute myeloid leukemia (AML): association with other gene abnormalities and previously established gene expression signatures and their favorable prognostic significance. *Blood*. 2005;106:3747-3754.
51. Suzuki T, Kiyoi H, Ozeki K et al. Clinical characteristics and prognostic implications of NPM1 mutations in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2005;106:2854-2861.
52. Mrózek K, Heerema NA, Bloomfield CD. Cytogenetics in acute leukemia. *Blood* 2004;18:115-136.
53. Farag SS, Ruppert AS, Mrózek K, et al. Outcome of induction and postremission therapy in younger adults with acute myeloid leukemia with normal karyotype: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 2005;23:482-493.
54. Schichman SA, Caligiuri MA, Strout MP, et al. ALL-1 tandem duplication in acute myeloid leukemia with a normal karyotype involves homologous recombination between Alu elements. *Cancer Res* 1994;54:4277-4280.

55. Nakao M, Yokota S, Iwai T, et al. Internal tandem duplication of the *flt3* gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 1996;10:1911-1918
56. Tamai H, Inokuchi K. 11q23/MLL acute leukemia: update of clinical aspects. *J Clin Exp Hematop*. 2010;50(2):91-8.
57. Pui CH, Schrappe M, Riberiro RC, Niemeyer CM. Childhood and adolescent lymphoid and myeloid leukemia. Education program book. American Society of Hematology, pp.118-145, 2004.
58. Rubnitz JE, Raimondi SC, Tong X, Srivastava DK, Razzouk BI, et al. Favorable impact of the t(9;11) in childhood acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2002;20:2302-2309.
59. Balgobind BV, Raimondi SC, Harbott J, Zimmermann M, Alonzo TA, et al. Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/MLL-rearranged acute myeloid leukemia: results of an international retrospective study. *Blood*. 2009;114:2489-2496.
60. Mrózek K, Heinonen K, Lawrence D, Carroll AJ, Koduru PR, et al. Adult patients with de novo acute myeloid leukemia and t(9;11) (p22;q23) have a superior outcome to patients with other translocations involving band 11q23: a Cancer and Leukemia Group B Study. *Blood*. 1997;90:4532-4538.
61. Schoch C, Schnittger S, Klaus M, Kern W, Hiddemann W, et al. AML with 11q23/MLL abnormalities as defined by WHO classification: incidence, partner chromosomes, FAB subtype, age distribution, and prognostic impact in an unselected series of 1897 cytogenetically analyzed AML cases. *Blood*. 2003;102:2395-2402.
62. Caligiuri MA, Strout MP, Lawrence D, et al. Rearrangement of *ALL1* (MLL) in acute myeloid leukemia with normal cytogenetics. *Cancer Res* 1998;58:55-59.

63. Döhner K, Tobis K, Ulrich R, 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;20:3254-3261.
64. Schnittger S, Kinkelin U, Schoch C, et al. Screening for MLL tandem duplication in 387 unselected patients with AML identify a prognostically unfavorable subset of AML. *Leukemia* 2000;14:796-804.
65. Preudhomme C, Sagot C, Boissel N et al. Favorable prognostic significance of CEBPA mutations in patients with de novo acute myeloid leukemia: a study from the Acute Leukemia French Association (ALFA). *Blood*. 2002;100:2717-2723.
66. Schlenk RF1, Taskesen E, van Norden Y, Krauter J, Ganser A, Bullinger L, Gaidzik VI, Paschka P, Corbacioglu A, Göhring G, Kündgen A, Held G, Götze K, Vellenga E, Kuball J, Schanz U, Passweg J, Pabst T, Maertens J, Ossenkoppele GJ, Delwel R, Döhner H, Cornelissen JJ, Döhner K, Löwenberg B. The value of allogeneic and autologous hematopoietic stem cell transplantation in prognostically favorable acute myeloid leukemia with double mutant CEBPA. *Blood*. 2013 Aug 29;122(9):1576-82.
67. Jay P. Patel, Mithat Gönen, Ph.D., Maria E. Figueroa, M.D., Hugo Fernandez, M.D., Zhuoxin Sun, Ph.D., Janis Racevskis, Ph.D., Pieter Van Vlierberghe, Ph.D., Igor Dolgalev, B.S., Sabrena Thomas, B.S., Olga Aminova, B.S., Kety Huberman, B.S., Janice Cheng, B.S., Agnes Viale, Ph.D., Nicholas D. Socci, Ph.D., Adriana Heguy, Ph.D., Athena Cherry, Ph.D., Gail Vance, M.D., Rodney R. Higgins, Ph.D., Rhett P. Ketterling, M.D., Robert E. Gallagher, M.D., Mark Litzow, M.D., Marcel

- R.M. van den Brink, M.D., Ph.D., Hillard M. Lazarus, M.D., Jacob M. Rowe, M.D., Selina Luger, M.D., Adolfo Ferrando, M.D., Ph.D., Elisabeth Paietta, Ph.D., Martin S. Tallman, M.D., Ari Melnick, M.D., Omar Abdel-Wahab, M.D., and Ross L. Levine, M.D. Prognostic Relevance of Integrated Genetic Profiling in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 2012;366:1079-89.
68. San Miguel JF, Vidriales MB, Lopez-Berges C et al. Early immunophenotypical evaluation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia identifies different patient risk groups and may contribute to postinduction treatment stratification. *Blood*. 2001;98:1746-1751.
 69. Kern W, Haferlach C, Haferlach T, Schnittger S. Monitoring of minimal residual disease in acute myeloid leukemia. *Cancer*. 2008;112(1):4-16.
 70. Francesco Buccisano, Luca Maurillo, Alessandra Spagnoli, Maria Ilaria Del Principe, Daniela Fraboni, Paola Panetta, Tiziana Ottone, Maria Irno Consalvo, Serena Lavorgna, Pietro Bulian, Emanuele Ammatuna, Daniela F. Angelini, Adamo Diamantini, Selenia Campagna, Licia Ottaviani, Chiara Sarlo, Valter Gattei, Giovanni Del Poeta, William Arcese, Sergio Amadori, Francesco Lo Coco and Adriano Venditti. Cytogenetic and molecular diagnostic characterization combined to postconsolidation minimal residual disease assessment by flow cytometry improves risk stratification in adult acute myeloid leukemia. *Blood*. 2010;116: 2295-2303.
 71. Cornelissen JJ, Gratwohl A, Schlenk RF, et al. The European Leukemia Net AML Working Party consensus statement on allogeneic HSCT for patients with AML in remission: an

- integrated-risk adapted approach. *Nat Rev Clin Oncol*. 2012;9(10):579-590.
72. Feller N, van der Pol MA, van Stijn A et al. MRD parameters using immunophenotypic detection methods are highly reliable in predicting survival in acute myeloid leukaemia. *Leukemia*. 2004;18:1380-1390.
 73. Kern W, Voskova D, Schoch C et al. Determination of relapse risk based on assessment of minimal residual disease during complete remission by multiparameter flow cytometry in unselected patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 2004;104:3078-3085.
 74. Walter RB, Buckley SA, Pagel JM, et al. Significance of minimal residual disease before myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for AML in first and second complete remission. *Blood*. 2013;122(10):1813-1821.
 75. Kern W, Voskova D, Schoch C et al. Prognostic impact of early response to induction therapy as assessed by multiparameter flow cytometry in acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2004;89:528-540.
 76. Buccisano F, Maurillo L, Spagnoli A et al. Cytogenetic and molecular diagnostic characterization combined to postconsolidation minimal residual disease assessment by flow cytometry improves risk stratification in adult acute myeloid leukemia. *Blood*. 2010;116:2295-2303.
 77. Fernandez HF, Sun Z, Yao X y cols.: Anthracycline dose intensification in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2009; 361:1249-1259.
 78. A systematic collaborative overview of randomized trials comparing idarubicin with daunorubicin (or other anthracyclines) as induction therapy for acute myeloid

- leukaemia. AML Collaborative Group. *Br J Haematol* 1998; 103:100-109.
79. Berman E, Heller C, Santorsa J y cols.: Results of a randomized trial comparing idarubicin and cytosine arabinoside with daunorubicin and cytosine arabinoside in adult patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia. *Blood* 1991; 77:1666-1674.
 80. Wiernik PH, Banks PL, Case DC, Jr. y cols.: Cytarabine plus idarubicin or daunorubicin as induction and consolidation therapy for previously untreated adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 1992; 79:313-319.
 81. Vogler WR, Velez-Carcia E, Weiner RS y cols.: A phase III trial comparing idarubicin and daunorubicin in combination with cytarabine in acute myelogenous leukemia: a Southeastern Cancer Study Group Study. *J Clín Oncol* 1992; 10:1103-1111.
 82. Burnett AK, Wheatley K, Coldstone AH, Prentice A: Attempts to improve induction treatment in AML patients under 60 years: the impact of mitoxantrone; ARA-C dose and retinoid acid: results of MRC AML 12. *Hematol J* 2002; 3(51):159. 2008. Ref Type: Serial (Book, Monograph).
 83. Dillman RO, Davis RB, Creen MR y cols.: A comparative study of two different doses of cytarabine for acute myeloid leukemia: a phase III trial of Cancer and Leukemia Group B. *Blood* 1991; 78:2520-2526.
 84. Bishop JF, Matthews JP, Young CA y cols.: A randomized study of high-dose cytarabine in induction in acute myeloid leukemia. *Blood* 1996; 87:1710-1717.
 85. Weick JK, Kopecky KJ, Appelbaum FR y cols.: A randomized investigation of high-dose versus standard-dose cytosine arabinoside with daunorubicin in patients with previously

- tm-treated acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group study. *Blood* 1996; 88:2841-2851.
86. Buchner T, Hiddemann W, Wormann By cols.: Double induction strategy for acute myeloid leukemia: the effect of high-dose cytarabine with mitoxantrone instead of standard-dose cytarabine with daunorubicin and 6-thioguanine: a randomized trial by the German AML Cooperative Group. *Blood* 1999; 93:4116-4124.
 87. Kern W, Estey EH: High-dose cytosine arabinoside in the treatment of acute myeloid leukemia: Review of three randomized trials. *Cancer* 2006; 107:116-124.
 88. Cassileth PA, Lynch E, Hines JD, et al. Varying intensity of postremission therapy in acute myeloid leukemia. *Blood*. 1992;79:1924.
 89. Rees JK, Gray RG, Wheatley K. Dose intensification in acute myeloid leukaemia: greater effectiveness at lower cost. Principal report of the Medical Research Council's AML9 study. MRC Leukaemia in Adults Working Party. *Br J Haematol*. 1996;94:89.
 90. Magenau J, Couriel D. Hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia: to whom, when, and how. *Curr Oncol Rep*. 2013 Oct;15(5):436-44.
 91. Lowenberg, B. Post-remission treatment of acute myelogenous leukemia. *N Engl J Med*. 1995;332:260.
 92. Cassileth PA, Harrington DP, Appelbaum FR, et al. Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission. *N Engl J Med*. 1998;339:1649.
 93. Schlenk RF, Benner A, Hartmann F, et al. Risk adapted post-remission therapy in acute myeloid leukemia: results of the

- German Multicenter AML HD93 treatment trial. *Leukemia*. 2003;17:1521-1528.
94. Suciu S, Mandelli F, de Witte T, et al. Allogeneic compared with autologous stem cell transplantation in the treatment of patients younger than 46 years with acute myeloid leukemia (AML) in first complete remission (CR1): an intention-to-treat analysis of the EORTC/GIMEMAAML-10 trial. *Blood*. 2003;102(4):1232-1240.
 95. Cornelissen JJ, van Putten WLJ, Verdonck LF, et al. Results of a HOVON/SAKK donor versus no donor analysis of myeloablative HLA-identical sibling stem cell transplantation in first remission acute myeloid leukemia in young and middle aged adults: benefits for whom? *Blood*. 2007;109:3658-3666.
 96. Basara N, Schulze A, Wedding U, et al: East German Study Group Hematology and Oncology (OSHO). Early related or unrelated haematopoietic cell transplantation results in higher overall survival and leukaemia-free survival compared with conventional chemotherapy in high-risk acute myeloid leukaemia patients in first complete remission. *Leukemia*. 2009;23:635-40.
 97. Koreth J, Schlenk R, Kopecky KJ, et al. Allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: systematic review and meta-analysis of prospective clinicaltrials. *JAMA*. 2009;301:2349-2361.
 98. Meijer E, Cornelissen JJ. Allogeneic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia in first or subsequent remission: weighing prognostic markers predicting relapse and risk factors for non-relapse mortality. *Semin Oncol*. 2008;35:449-457.
 99. Basara N, Schulze A, Wedding U, et al. Early related or unrelated haematopoietic cell transplantation results in higher

- overall survival and leukaemia- free survival compared with conventional chemotherapy in high-risk acute myeloid leukaemia patients in first complete remission. *Leukemia*. 2009;23:635-640.
100. Seshadri T, Keating A. Is there a role for autotransplants in AML in first remission? *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15(1 Suppl):17-20.
 101. Breems DA, Lowenberg B. Acute myeloid leukemia and the position of autologous stem cell transplantation. *Semin Hematol*. 2007;44:259- 266.
 102. Linker CA, Ries CA, Damon LE, et al. Autologous bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia using 4-hydroperoxycyclophosphamide-purged bone marrow and the busulfan/etoposide preparative regimen: A follow-up report. *Bone Marrow Transplant*. 1998;22:865.
 103. Kolb HJ. Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. *Blood*. 2008;112:4371-83.
 104. Hamadani M, Awan FT, Copelan EA. Hematopoietic stem cell transplantation in adults with acute myeloid leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008;14:556-67.
 105. Lodewyck T, Cornelissen JJ. Allogeneic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia: a risk-adapted approach. *Blood Rev*. 2008;22(6):293-302.
 106. Burnett AK, Wheatley K, Goldstone AH, et al. The value of allogeneic bone marrow transplant in patients with acute myeloid leukaemia at different risk of relapse: results of the UK MRC AML 10 trial. *Br J Haematol*. 2002;118(2):385-400.
 107. Issa JP, Garcia-Manero G, Giles FJ y cols.: Phase 1 study of low-dose prolonged exposure schedules of the hypomethylating

- agent 5-aza-2-deoxycytidine (decitabine) in hematopoietic malignancies. *Blood* 2004; 103:1635-1640.
108. Garcia-Manero G, Kantarjian HM, Sanchez-Gonzalez B y cols.: Phase 1/2 study of the combination of 5-aza-2'-deoxycytidine with valproic acid in patients with leukemia. *Blood* 2006; 108:3271-3279.
 109. Giles F, Estey E, O'Brien S. Gemtuzumab ozogamicin in the treatment of acute myeloid leukemia. *Cancer* 2003; 98:2095-2104.
 110. Tsimberidou AM, Giles FJ, Estey E y cols.: The role of gemtuzumab ozogamicin in acute leukaemia therapy. *Br J Haematol* 2006; 132:398-409.
 111. Rebollo A, Martinez A: Ras proteins: recent advances and new functions. *Blood* 1999; 94:2971-2980.
 112. Reuter CW, Morgan MA, Bergmann L: Targeting the Ras signaling pathway: a rational, mechanism-based treatment for hematologic malignancies? *Blood* 2000; 96:1655-1669.
 113. McKenna HL, Stocking KL, Miller RE y cols.: Mice lacking flt3ligand have deficient hematopoiesis affecting hematopoietic progenitor cells, dendritic cells, and natural killer cells. *Blood* 2000; 95:3489-3497.
 114. Carreras E, Rozman C. Trasplante de progenitores hematopoyéticos. En: Sans-Sabrafén J, Besses C, Vives JL. *Hematología clínica*. 5ª ed. Madrid: Elsevier 2006. p 789-807.
 115. Bethge WA, Hegenbart U, Stuart MJ, Storer BE, Maris MB, Flowers ME, Maloney DG, Chauncey T, Bruno B, Agura E, Forman SJ, Blume KG, Niederwieser D, Storb R, Sandmaier BM. Adoptive immunotherapy with donor lymphocyte infusions after allogeneic hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning. *Blood*. 2004 Feb 1;103(3):790-5.

116. Breems DA, Löwenberg B. Acute myeloid leukemia and the position of autologous stem cell transplantation. *Semin Hematol*. 2007 Oct;44(4):259-66.
117. Seshadri T, Keating A. Is there a role for autotransplants in AML in first remission? *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009 Jan;15(1 Suppl):17-20.
118. Hamadani M, Awan FT, Copelan EA. Hematopoietic stem cell transplantation in adults with acute myeloid leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008 May;14(5):556-67.
119. Tallman MS, Mathews V, DiPersio JF. Role of hematopoietic stem cell transplantation in acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Cancer Treat Res*. 2009;144:415-39.
120. DiPersio JF, Ho AD, Hanrahan J, Hsu FJ, Fruehauf S. Relevance and clinical implications of tumor cell mobilization in the autologous transplant setting. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011 Jul;17(7):943-55.
121. Thomson BG, Robertson KA, Gowan D, Heilman D, Broxmeyer HE, Emanuel D, et al. Analysis of engraftment, graft-versus-host disease, and immune recovery following unrelated donor cord-blood transplantation. *Blood* 2000; 96:2703-2711.
122. Pavletic ZS, Bishop MR, Tarantolo SR, Martin-Algarra S, Bierman PJ, Vose JM, Reed EC, Gross TG, Kollath J, Nasrati K, Jackson JD, Armitage JO, Kessinger A. Hematopoietic recovery after allogeneic blood stem-cell transplantation compared with bone marrow transplantation in patients with hematologic malignancies. *J Clin Oncol*. 1997 Apr;15(4):1608-16.
123. Mackall C, Fry T, Gress R, Peggs K, Storek J, Toubert A. Background to hematopoietic cell transplantation, including post-transplant immune recovery. *Bone Marrow Transplantation* 2009;44:457-462.

124. Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Gratwohl A, Masszi T. Early complications after HSCT. Hematopoietic Stem Cell Transplantation. The EBMT Handbook, 5th ed. 2008, pp:180-197.
125. Ljungman P, Perez-Bercoff L, Jonsson J, Avetisyan G, Sparrelid E, Aschan J, Barkholt L, Larsson K, Winiarski J, Yun Z, Ringdén O. Risk factors for the development of cytomegalovirus disease after allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2006 Jan;91(1):78-83.
126. Pagano L, Caira M, Candoni A, Offidani M, Martino B, Specchia G, Pastore D, Stanzani M, Cattaneo C, Fanci R, Caramatti C, Rossini F, Luppi M, Potenza L, Ferrara F, Mitra ME, Fadda RM, Invernizzi R, Aloisi T, Picardi M, Bonini A, Vacca A, Chierichini A, Melillo L, de Waure C, Fianchi L, Riva M, Leone G, Aversa F, Nosari A. Invasive aspergillosis in patients with acute myeloid leukemia: SEIFEM-2008 registry study. *Haematologica*. 2010 Apr;95(4):644-50.
127. Carreras E, Bertz H, Arcese W, Vernant JP, Tomás JF, Hagglund H, Bandini G, Esperou H, Russell J, de la Rubia J, Di Girolamo G, Demuyneck H, Hartmann O, Clausen J, Ruutu T, Leblond V, Iriondo A, Bosi A, Ben-Bassat I, Koza V, Gratwohl A, Apperley JF. Incidence and outcome of hepatic veno-occlusive disease after blood or marrow transplantation: a prospective cohort study of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. European Group for Blood and Marrow Transplantation Chronic Leukemia Working Party. *Blood*. 1998 Nov 15;92(10):3599-604.
128. Cutler C, Anton C. Manifestations and treatment of acute graft versus host disease. *Thomas' Hematopoietic Transplantation*. 2009, pp:1287-1303.

129. Martin PJ, Carpenter PA, Sanders JE, Flowers ME. Diagnosis and clinical management of chronic graft-versus-host disease. *Int J Hematol.* 2004 Apr;79(3):221-8.
130. Cornelissen JJ, Gratwohl A, Schlenk RF, Sierra J, Bornhäuser M, Juliusson G, Råcil Z, Rowe JM, Russell N, Mohty M, Löwenberg B, Socié G, Niederwieser D, Ossenkoppele GJ. The European LeukemiaNet AML Working Party consensus statement on allogeneic HSCT for patients with AML in remission: an integrated-risk adapted approach. *Nat Rev Clin Oncol.* 2012 Oct;9(10):579-90.
131. Phillips GL. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) for high-risk acute myeloid leukemia (AML)/myelodysplastic syndrome (MDS): how can we improve outcomes in the near future? *Leuk Res.* 2012 Dec;36(12):1490-5.
132. Sorror ML, Maris MB, Storb R, Baron F, Sandmaier BM, Maloney DG et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood* 2005;106:2912-2919.
133. Vaughn JE, Storer B, Armand P, Raimondi R, Gibson C, Rambaldi A, Ciceri F, Oneto R, Bruno B, Martin PJ, Sandmaier BM, Storb R, Sorror ML. Design and Validation of an Augmented Hematopoietic Cell Transplantation-Comorbidity Index Comprising Pre-transplant Ferritin, Albumin and Platelet Count for Prediction of Outcomes after Allogeneic Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015 Apr 7. pii: S1083-8791(15)00231-1
134. HOVON/SAKK. Results of a donor versus no-donor analysis of myeloablative HLA-identical sibling stem cell transplantation in first remission acute myeloid leukemia in young and middle-aged adults: benefits for whom? *Blood* 2007; 109: 3658-3666.

135. EORTC/GIMEMA. Allogeneic compared with autologous stem cell transplantation in the treatment of patients younger than 46 years with acute myeloid leukemia (AML) in first complete remission (CR1): an intention-to-treat analysis. *Blood* 2003; 102: 1232-1240.
136. UK/MRC. The value of allogeneic bone marrow transplant in patients with acute myeloid leukaemia at differing risk of relapse. *British Journal of Haematology* 2002; 118: 385-400.
137. BGMT. Early Allogeneic Stem-Cell Transplantation for young adults with Acute Myeloblastic Leukemia in first Complete Remission: *J Clin Oncol* 2005; 23: 7676-7684.