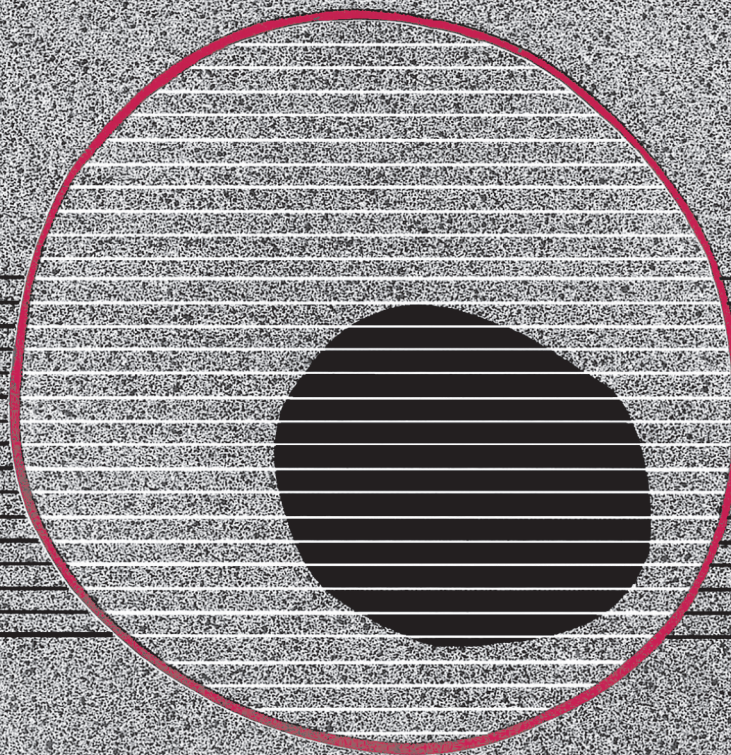


revisiones en

CANCER

LEUCEMIAS CRÓNICAS

VOL. 16, NÚM. 2, 2002



ARAN

revisiones en

CANCER

SUMARIO

VOL. 16

NÚM. 2

Biología molecular de la leucemia mieloide crónica L. Cifuentes De Castro, C. Guerras Pérez, M. C. Pérez-Íñigo	43
Transformación aguda de los síndromes mieloproliferativos J. L. Arroyo, J. M ^a . Hernández, J. F. San Miguel	52
Tratamiento de la tricoleucemia J. F. Tomás Martínez	68
Tratamiento de la leucemia linfática crónica y enfermedades afines F. Bosch, A. Muntañola, E. Montserrat	74

Biología molecular de la leucemia mieloide crónica

L. CIFUENTES DE CASTRO, C. GUERRAS PÉREZ, M. C. PÉREZ-ÍÑIGO

Servicio de Inmunopatología Oncológica. Unidad Oncológica. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

INTRODUCCIÓN

La considerable profundización, conseguida en los últimos diez años, en nuestro nivel de comprensión de los mecanismos bioquímicos que controlan los procesos de crecimiento y diferenciación en células normales y las alteraciones de los mismos implicadas en el origen de la transformación neoplásica, ha propiciado la aparición de nuevos abordajes diagnósticos y terapéuticos que han modificado significativamente el panorama clínico de numerosos procesos oncológicos. El caso de la leucemia mieloide crónica (LMC) es paradigmático a este respecto, ya que constituye el proceso neoplásico mejor conocido actualmente a nivel molecular, habiendo representado una especie de banco de pruebas donde se ha acreditado de manera inequívoca la utilidad de varias técnicas de laboratorio de reciente implantación en el análisis rutinario de entidades patológicas relacionadas con la genética molecular. La LMC constituye, pues, un excelente modelo para el estudio de reorganizaciones moleculares provocadas por una anomalía citogenética asociada con un proceso patológico.

MECANISMOS GENÉTICOS DE LA TRANSFORMACIÓN NEOPLÁSICA

El cáncer es fundamentalmente una enfermedad genética, que aparece como consecuencia de alteraciones en la estructura o expresión de dos subgrupos relativamente pequeños de genes dentro del conjunto de ochenta mil genes que constituyen, aproximadamente, el genoma humano (1). El primer subgrupo, constituido en la actualidad por alrededor de sesenta genes, está compuesto por los denominados proto-oncogenes, debido a su potencial oncogénico latente. Los proto-oncogenes actúan sobre el control del crecimiento y la diferen-

ciación de células normales, estando incluidos en este grupo genes que codifican factores de crecimiento, receptores para hormonas y para factores de crecimiento, proteínas transmisoras de señales extracelulares al interior celular y proteínas nucleares que se unen al ADN y regulan la expresión génica (factores reguladores de la transcripción) (2,3). En células normales, tanto la expresión como la función de los proto-oncogenes están sometidas a un rígido control. Sin embargo, estos genes celulares normales pueden convertirse en oncogenes activos e inducir la aparición de tumores siempre que su estructura o función se vea alterada por mutación, amplificación génica o reordenamiento cromosómico. Los oncogenes activos son preferentemente dominantes, lo que implica que la activación de un único alelo del proto-oncogén normal puede trastornar los mecanismos de control del crecimiento y originar una transformación neoplásica (4). Es de obligada mención aquí el proto-oncogén ABL, situado en la banda q34 del cromosoma 9, que juega un papel decisivo en la transformación molecular subyacente en la génesis de la LMC. El producto codificado por ABL es una tirosina-quinasa nuclear de gran importancia en la mielopoyesis normal. Como veremos más adelante, la alteración de dicho producto, por translocación cromosómica y fusión con otro gen, intensifica considerablemente su actividad enzimática, además de trasladar su localización al citoplasma de la célula (5).

También ha sido identificado otro subgrupo de genes celulares normales, constituido por los denominados genes supresores de tumor o anti-oncogenes. Este subgrupo actúa contrarrestando o antagonizando las señales promotoras de crecimiento de los proto-oncogenes normales y de los oncogenes activos derivados de ellos. En células normales, los genes supresores pueden regular negativamente la proliferación celular o la diferenciación. Solamente un pequeño grupo de genes supreso-

res ha sido identificado y caracterizado hasta el momento actual, aunque numerosos equipos trabajan activamente en este campo. Por cada punto clave en el control del crecimiento normal podrían coexistir funciones de promoción equilibrada del crecimiento, a cargo de un proto-oncogén, y de supresión del mismo crecimiento, a cargo de un gen supresor. A diferencia de los oncogenes, los genes supresores de tumor actúan en forma recesiva, lo que implica la necesidad de la alteración simultánea de ambos alelos para la inactivación de su función supresora (6). Entre los genes supresores cabe destacar el p53, que codifica una proteína nuclear. Al igual que el *RB-1*, gen supresor de la susceptibilidad al retinoblastoma, el p53 se expresa en múltiples líneas celulares, estando implicado en la inhibición de la proliferación celular (7).

APLICACIONES CLÍNICAS DE LA TECNOLOGÍA DEL ADN RECOMBINANTE

La tecnología del ADN recombinante ha proporcionado a la Medicina actual la oportunidad de definir toda una serie de procesos patológicos en términos moleculares precisos.

En la actualidad, aparte de su utilización en el desarrollo de mapas genómicos, su aplicación se extiende fundamentalmente a cuatro áreas concretas: a) información diagnóstica sobre enfermedades genéticas; b) identificación específica de microorganismos; c) diagnóstico molecular en procesos tumorales, sobre todo en leucemias y linfomas, y d) terapia génica. La tecnología del ADN recombinante se apoya en dos procesos clave: a) la excisión del ADN en zonas específicas predeterminadas, mediante endonucleasas de restricción, y b) la hibridación de secuencias de ADN complementario (ADNc) (8). Las endonucleasas de restricción dan lugar con frecuencia, mediante un proceso de hidrólisis enzimática, a fragmentos de restricción con zonas terminales adherentes o "pegajosas", lo que permite la recombinación de moléculas de ADN de múltiples fuentes de origen. Los nuevos fragmentos de ADN pueden clonarse en vectores apropiados. Las endonucleasas de restricción reconocen secuencias cortas específicas de ADN, siendo éstas frecuentemente palindrómicas (la misma secuencia, pero al revés, en ambas cadenas opuestas de la molécula de ADN). Algunos individuos no emparentados pueden heredar zonas de reconocimiento para enzimas de restricción, de tal forma que la digestión del ADN produce fragmentos de longitud variable, conocidos como "polimorfismos de longitud en fragmentos de restricción" (RFLP), utilizables como marcadores de determinadas regiones del genoma (9). La caracterización de los fragmentos clonados de ADN puede llevarse a cabo mediante la determinación de la secuencia de los pares de bases. Dichos fragmentos pueden marcarse con radionucleótidos o cromógenos no radiactivos, para producir "sondas", es decir, fragmentos o secuencias de ADN (o ARN) que se hibridizan con una secuencia complementaria de nucleótidos en otro fragmento monocatenario de ácido nucleico. Las sondas marcadas

pueden emplearse en varias reacciones de hibridación para detectar y cuantificar secuencias complementarias en ADN mediante transferencia tipo *Southern* (desde un gel de agarosa a una membrana de nitrocelulosa), en ARNm por transferencia tipo *Northern* (electroforesis, transferencia a nitrocelulosa y sondaje con un fragmento clonado y marcado de ADN) o en preparaciones tisulares por hibridación *in situ*. La especificidad y sensibilidad de tales reacciones puede ser modulada modificando las condiciones que rigen la reacción de hibridación. Se pueden constituir "bibliotecas" de fragmentos de restricción de ADN clonado a partir de ADN genómico nuclear completo, conteniendo secuencias tanto codificantes (exones) como no codificantes (intrones). Mediante la utilización de transcriptasa inversa para la síntesis de copias de ADN a partir de ARNm que contiene sólo las secuencias codificantes (exones), se obtiene ADN complementario (ADNc), a partir del que pueden obtenerse sondas génicas específicas. Dichas sondas también pueden ser obtenidas a partir de moléculas cortas de ADN monocatenario (oligonucleótidos) obtenidas por síntesis química de secuencias de genes o proteínas conocidos (10).

La técnica de la "reacción en cadena de la polimerasa" (PCR) permite superar una de las principales limitaciones de las técnicas de transferencia, consistente en la escasa cantidad de ADN o ARN disponible, lo que repercute en la débil impresión y revelado lento de las señales autorradiográficas. En esta reacción se utiliza la enzima Taq ADN-polimerasa (termorresistente) y oligonucleótidos específicos que actúan como iniciadores (*primers*). Se requiere previamente un conocimiento preciso de las secuencias que flanquean la región de interés, pudiéndose amplificar regiones entre doscientas y mil pares de bases (11).

CITOGENÉTICA DE LA LMC: EL CROMOSOMA PHILADELPHIA

En el año 1960, Nowell y Hungerford (12) describieron la presencia de un cromosoma de tamaño minúsculo, perteneciente al grupo G, en la leucemia mieloide crónica (LMC), lo que constituyó el primer hallazgo de una anomalía cromosómica asociada consistentemente con un proceso neoplásico. Rowley (13) demostró que dicho cromosoma era, en realidad, un cromosoma 22 con un acortamiento del brazo largo q. Esta observación fue posible gracias a la aplicación de nuevas técnicas de tinción que permitieron la visualización de bandas únicas y características en todos y cada uno de los cromosomas. Dicho acortamiento se produce como consecuencia de una translocación recíproca de material genético entre los cromosomas 9 y 22. En este tipo de alteración, los puntos de ruptura se producen de forma prácticamente constante en el brazo q del cromosoma 9, a nivel de la banda q34 y en el brazo q del cromosoma 22, en la banda q11. Dicha translocación, denominada t(9;22) (q34;q11), se representa esquemáticamente en la figura 1 y da lugar a la aparición, en el 95% de enfermos de LMC, de dos cromosomas anormales, denominados

cromosoma Philadelphia (Ph) (22q-), como recuerdo de la ciudad donde se produjo la observación inicial, y 9q+. El cromosoma Ph se encuentra en células de estirpe mieloide, eritroide, megacariocítica y linfoide, lo que indica que la alteración original se establece a nivel de células madre.

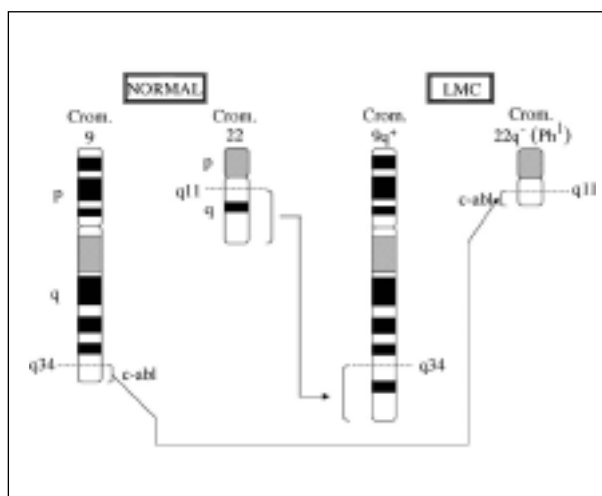


Fig. 1. Representación esquemática de la translocación recíproca $t(9;22)(q34;q11)$, con formación de los cromosomas Ph(22q-) y 9q+.

GENÉTICA MOLECULAR DE LA LMC

En 1982, el grupo de Nora Heisterkamp, trabajando en la Universidad Erasmus de Rotterdam publicaron una observación que constituyó un auténtico hito en la comprensión de los mecanismos genéticos moleculares implicados en la aparición de procesos neoplásicos (14). Dicho hallazgo consistió en la demostración de que la translocación en la LMC ocurre a nivel del gen *ABL* del cromosoma 9. Dicha porción translocada al cromosoma 22 (banda 9q34-qter) incluye las secuencias correspondientes al gen *c-ABL* humano, lo que implicaría a dicho gen en la aparición de la LMC. A este respecto, conviene recordar la homología existente entre un grupo de genes *ONC* celulares bien conservados desde el punto de vista evolutivo y los genes transformantes de retrovirus oncogénicos. Las secuencias incluidas en el gen humano *c-ABL* representan el homólogo celular de las secuencias transformantes (*v-ABL*) presentes en el virus Abelson de la leucemia murina (*A-MuLV*). Este retrovirus procede de la recombinación entre el virus Moloney de la leucemia murina (*M-MuMV*) (15) y secuencias celulares murinas *c-ABL*, que inducen la aparición de tumores linfoides tras su inoculación al ratón. Estos autores clonaron las secuencias homólogas al *v-ABL* mediante sondas de material genético procedente de un carcinoma pulmonar humano y de *v-ABL*. El gen humano *c-ABL* o, al menos, su porción homóloga a *v-ABL* se distribuye en una región de 40 kb (kilobases) de ADN humano, que contiene, como mínimo, cuatro secuencias con actividad codificadora. Por análisis mediante transferencia tipo *Southern* de un conjunto de híbridos celulares somáticos, se localizó el gen *c-ABL* en el cromoso-

ma 9. Dicha conclusión fue alcanzada mediante la utilización de líneas celulares híbridas de LMC roedorhumano, con segregación de los cromosomas implicados en la translocación. La detección de los fragmentos de restricción *c-ABL* en el ADN de células híbridas (utilizando sondas *v-ABL*) no suele ser concluyente, debido a su presencia en concentraciones submolares (20-50%) ya que muchos de los fragmentos de restricción humanos *c-ABL* emigran conjuntamente en electroforesis con los fragmentos de restricción homólogos de ADN murino o de hamster, que exhiben una intensa capacidad hibridizante con *v-ABL*. Para evitar esta complicación, el grupo holandés empleó dos sondas *c-ABL* obtenidas a partir del gen humano, derivadas de los fragmentos proximales 5' y 3', obtenidos por digestión *Eco*-RI. Los productos de la digestión por endonucleasas de restricción del ADN procedente de líneas celulares híbridas conteniendo los cromosomas 9, 22, 9q+ y 22q-, así como de las líneas celulares originales y de placenta humana se sometieron a electroforesis, transfiriéndose a un filtro de nitrocelulosa. La hibridación con las sondas humanas *c-ABL* demostró claramente que dicho gen se transloca del cromosoma 9 al 22q-. En una de las líneas celulares híbridas (WESP-2A), el grupo de Nora Heisterkamp demostró que las bandas que hibridizan con *v-ABL* pueden también ser detectadas en el cromosoma 22q-, por lo que dedujeron que el gen *c-ABL* completo se transloca al cromosoma 22q- (Ph) (16).

El gen *c-ABL* presenta 11 exones a lo largo de 230 kb. Codifica la proteína p145^{ABL}, con un peso molecular de 145 kd, que funciona como tirosina-quinasa, no asociada a receptor de membrana. La p145^{ABL} se expresa ubicuamente y presenta dos isoformas por empalme alternativo del primer exón. Presenta varios dominios estructurales, tres de ellos de homología SRC, de los que SH1 soporta la función tirosina-quinasa y SH2-SH3 regulan la interacción con otras proteínas (17). Hacia el centro existen secuencias ricas en prolina y hacia el extremo 3' se encuentran señales de localización nuclear, unión a ADN y unión a actina (Fig. 2). La proteína normal p145^{ABL} parece ejercer un papel importante en la regulación de la progresión del ciclo celular (18). En células quiescentes, la proteína ABL está unida a un complejo que incluye la proteína RB, la cual ejerce una actividad inhibitoria sobre ABL. Con el progreso de la fase G1 hacia S, la RB se fosforila y se disocia de ABL, activándose esta última y siendo fosforilada por quinasas CDC2. Cuando se sobreexpresa, *c-ABL* provoca la detención del ciclo celular, lo que le califica como un regulador negativo del crecimiento celular (19). La proteína ABL interviene en la transmisión de información sobre el ambiente extracelular a través de señalización por integrinas (20).

El gen *BCR* se extiende a lo largo de 135 kb y comprende 23 exones. Su función aún no está suficientemente aclarada y se transcribe en dos tipos de ARNm de 4,5 y 6,7 kb, ambos traducidos en una proteína de 160 kd, expresándose de forma ubicua en la especie humana.

En la proteína BCR pueden identificarse varias regiones estructurales. En el extremo amino-terminal se

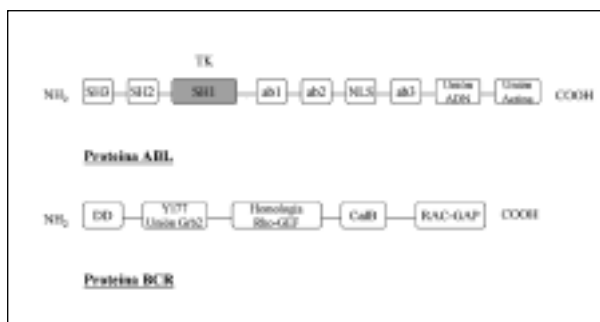


Fig. 2. Estructura funcional de las proteínas normales $p145^{ABL}$ y $p160^{BCR}$.

localiza un dominio de dimerización. A continuación se encuentra un residuo de tirosina que puede unirse a GRB2 seguido de una región de homología con factores de intercambio guanina-nucleótido Rho (Rho-GEF); seguidamente se encuentra otra región implicada en uniones lipídicas calcio-dependientes (Cal B) y una región relacionada con la función de proteína activadora Rac-GTPasa (Rac GAP) (Fig. 2). La proteína BCR se localiza en el citoplasma de células quiescentes, mientras que durante la mitosis se detecta a nivel pericromosómico, lo que sugiere un papel en la regulación del ciclo celular (21).

Como consecuencia de la translocación Ph, parte del gen BCR, concretamente el extremo 3', se transloca al cromosoma 9, mientras que la zona 5' permanece en el cromosoma 22. Las restantes secuencias BCR actúan comoceptoras del gen *c-ABL*.

La $p145$ normal muestra una débil actividad tirosina-quinasa, mientras que en la $p210$ dicha actividad está multiplicada. La posible importancia de la actividad quinasa en este caso concreto se pone de manifiesto si tomamos en consideración el hecho de que el producto correspondiente del *v-ABL* (homólogo viral del gen celular *ABL*) tiene también gran actividad tirosina-quinasa, siendo capaz de inducir procesos leucémicos en ratones. Este hallazgo inspiró la hipótesis que implica al oncogén *ABL* en la patogénesis de la LMC. En la figura 3 se esquematiza la génesis de las distintas proteínas codificadas por los ARNm transcritos a partir de las diferentes modalidades de fusión. Existen, al menos, dos variedades de proteína $p210$ y solamente una de ellas contiene la secuencia de aminoácidos codificada por el exón 3 *BCR* (22).

La movilidad electroforética de ambas variantes es muy similar, debido a la escasa longitud del exón 3, que no rebasa la cifra de veinticinco pares de bases. El proto-oncogén *ABL* se transforma en oncogén tras la ocupación de su región N-terminal por el gen *BCR*. La nueva proteína quimérica aberrante $p210^{BCR-ABL}$, presuntamente implicada en la activación oncogénica, actuaría a través del ya mencionado cambio de actividad enzimática, unido a una diferente localización subcelular y a cambios simultáneos en el grado de afinidad por el sustrato, aspectos que la diferencian claramente de las proteínas normales $p160$ y $p145$, que presentan escasa actividad proteína-quinasa.

El punto de ruptura a nivel del gen *c-ABL* se limita a una zona relativamente corta, situada en el flanco 5' del exón 2, eliminándose únicamente los exones alternativos Ia o Ib. En el ARNm híbrido resultante, las secuencias BCR están siempre conectadas al exón a2 de *ABL*, de manera que la porción de gen *ABL* transcrita es siempre la misma (23). En el gen *BCR* existen tres zonas potenciales de ruptura (regiones de agrupación de puntos de ruptura, *breakpoint cluster regions*). Estas regiones o zonas predeterminadas son las siguientes: 1) *m-bcr*: *región principal de ruptura*: se extiende a lo largo de 5,8 kb e incluye los exones 12 a 16 (b1-b5 en la terminología original) y comprende a la gran mayoría de los casos de LMC y a una tercera parte de los de LLA Ph (+). En este tipo de reordenamiento se originan dos tipos de ARNm de neofusión, con uniones b2-a2 y b3-a2, traducidos ambos en una proteína quimérica $p210^{BCR-ABL}$. 2) *m-bcr*: *región menor de ruptura*: situada entre los exones alternativos e2' y e2. Los raros casos de LMC portadores de esta modalidad de transcripción se caracterizan clínicamente por una acentuada tendencia a la monocitosis. El ARNm transcrito en este caso (unión e1-a2) codifica una proteína quimérica de 190 kDa ($p190^{BCR-ABL}$). 3) *m-bcr*: *micro-región de ruptura*: recientemente identificada, esta zona potencial de ruptura se encuentra en el flanco 3' del exón e19, entre este exón y el e20. El ARNm transcrito en este caso codifica una proteína de 230 kDa ($p230^{BCR-ABL}$), asociada a un raro tipo de LMC que presenta niveles elevados de neutrófilos, con un curso generalmente menos agresivo (24) (Fig. 3).

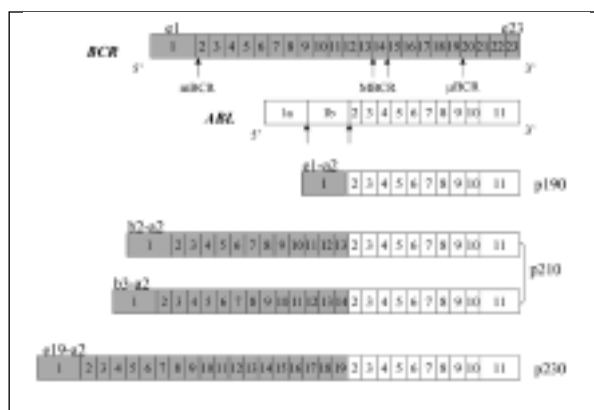


Fig. 3. Estructura de las oncoproteínas $p190^{BCR-ABL}$, $p210^{BCR-ABL}$ y $p230^{BCR-ABL}$.

Debido a la reciprocidad de la translocación, puede generarse otro tipo de gen de fusión, el *ABL-BCR*, por unión del extremo 5' del gen *ABL* con el extremo 3' del gen *BCR*. La expresión de este gen ocurre en el 60-70% de los casos de LMC positiva a *BCR-ABL*. Teniendo en cuenta la considerable proporción de casos que no expresan este tipo de fusión génica no es probable que juegue un papel importante en la transformación neoplásica ni tampoco que su influencia sea significativa en el proceso de transición a la fase blástica, ya que también se ha demostrado su expresión durante la fase crónica. La delección 3' *M-BCR* no tiene efecto significati-

vo sobre el cuadro clínico en el momento del diagnóstico ni en la evolución del proceso según un reciente estudio de González y cols. (25).

El fragmento ABL de la proteína quimérica es, por tanto, prácticamente constante, mientras que la porción de BCR presenta grandes variaciones, de lo que se deduce que la capacidad transformante reside en el fragmento ABL, mientras que los diferentes tamaños de la secuencia BCR modifican la expresión fenotípica del proceso leucémico. Daley y cols. (26) transfectaron células mieloides murinas con un retrovirus portador de una secuencia génica codificadora de la proteína aberrante p210^{BCR-ABL}, consiguiendo la inducción de neoplasias hematológicas estrechamente relacionadas con la LMC humana en animales inoculados con dichos clones celulares. En ratones, los tres tipos de proteína quimérica BCR-ABL producen transformación leucémica, aunque en el caso de la p230^{BCR-ABL} no se completa la evolución hasta alcanzar la independencia total respecto a factores de crecimiento, lo que está en consonancia con el curso clínico relativamente benigno de la LMC neutrofílica p230^{BCR-ABL} positiva (27).

MECANISMOS BIOQUÍMICOS IMPLICADOS EN LA GÉNESIS DE LA LMC

La oncoproteína BCR-ABL actúa como una tirosina-quinasa constitutivamente activa, es decir, no sometida a mecanismos de control. La BCR-ABL está confinada en el citoplasma (en contraste con la proteína ABL normal que circula entre el núcleo y el citoplasma). La oncoproteína híbrida puede fosforilar hasta una veintena de sustratos proteicos, activando múltiples cascadas de transducción de señales relacionadas con el crecimiento y la diferenciación celular a nivel de tejido hemopoyético normal. Se produce, por tanto, un profundo cambio en el patrón normal de fosforilación de moléculas de importancia crítica en la transducción de señales informativas entre receptores de membrana y el núcleo celular, así como en la regulación de la expresión de otros genes relacionados con el crecimiento, diferenciación, apoptosis y adhesión celular (28). La comprensión del entramado de influencias de las distintas vías afectadas por el estímulo proliferativo ha mejorado considerablemente en los últimos años, pero es aún incompleta.

La expresión de BCR-ABL en células hemopoyéticas induce resistencia a la apoptosis, desarrollo de niveles progresivos de independencia frente a factores de crecimiento, alteraciones en la relación intercelular y con la matriz del estroma y fenotipo neoplásico asociado con el incremento en la expresión y activación de diversas vías efectoras, tales como RAS, RAC, RAF-1, fosfatidilinositol-3 quinasa (PI-3K), AKL, factor nuclear B y STATs (transductores de señal y activadores de transcripción (29).

Varias regiones de la proteína BCR-ABL sirven como importantes elementos de control para RAS, que representa un elemento central de gran importancia en el conjunto de vías señalizadoras implicadas en la LMC. La activa-

ción de RAS es mediada por una serie de proteínas adaptadoras, tales como GRB2, CBL, SHC y CRKL. La autofosforilación de la tirosina 177 proporciona un punto de anclaje para la molécula adaptadora GRB-2, que estabiliza RAS en su forma activa unida a GTP (30). SHC y CRKL se unen a BCR-ABL a través de SH2 y SH3 (dominios de ABL). La vía RAS es necesaria, tanto para la instauración de resistencia a la apoptosis como para la actividad transformante inherente a la proteína BCR-ABL, lo que tiene implicaciones terapéuticas, como veremos más adelante (31). La expresión de BCR-ABL en líneas celulares murinas (32) y humanas (33), dependientes de factor de crecimiento, previene la apoptosis cuando se suprime el aporte de dicho factor, estando dicho efecto estrictamente relacionado con la activación de RAS (34) inducida por la fosforilación exacerbada dependiente de BCR-ABL. La antiapoptosis generada en células leucémicas portadoras del oncogén *BCR-ABL* no está aún completamente dilucidada. Horita y cols. (35) han demostrado que la proteína antiapoptótica BCL-X_L, codificada por el gen de supervivencia *BCLX* es inducida por BCR-ABL a través del transductor de señales y activador de la transcripción (STAT) 5. En líneas celulares humanas de LMC-CD34⁺, la inhibición de la expresión de la quinasa BCR-ABL por el inhibidor selectivo CGP 57148 bloquea la actividad de STAT 5. El bloqueo de STAT 5 mediante CGP 57148 o transfección STAT 5-negativa dominante inhibe la expresión de BCL-X_L e induce apoptosis.

Las proteínas adaptadoras conectan también la p210^{BCR-ABL} a complejos de adhesión focal, P1-3 quinasa y otros sistemas y mecanismos mensajeros, como las quinasas JAK-STAT. La señalización más allá de RAS parece implicar fundamentalmente a quinasas activadas por mitógenos (MAPK) y, sobre todo, a la vía dependiente de la JUN-quinasa (JNK), aunque el tema está aún sujeto a cierta controversia. Ajenjo y cols. (36) han estudiado el papel de las MAPK ERK (1/2) en líneas de leucemia mieloide, no encontrando relación, en este caso, entre la activación mitogénica y la activación de ERK. La inhibición de ERK, inducida por varios métodos, no parece tener efecto significativo, según estos autores, sobre la proliferación y diferenciación a nivel de estas líneas celulares leucémicas.

MODELOS ANIMALES

A lo largo de los últimos diez años se han desarrollado algunos modelos experimentales de LMC, con el objetivo de profundizar en su patofisiología. Hasta el momento, ninguno de los modelos propuestos, *in vitro* o *in vivo*, abarca todos los aspectos relativos a la enfermedad humana, aunque han aportado considerable luz sobre algunos aspectos controvertidos.

Mediante el trasplante de células hematopoyéticas portadoras del gen híbrido *BCR-ABL*, se ha conseguido inducir la aparición de una variedad de síndromes mieloproliferativos en ratones receptores, incluyendo leucemias mielocíticas. La inyección intratímica de retrovirus con genes clonados que expresan la proteína p210^{BCR-ABL} produce también tímomas (37).

Mediante la utilización de ratones transgénicos, se ha conseguido demostrar que la capacidad de expresión de p210^{BCR-ABL} se relaciona con la aparición de linfomas B y T. Voncken y cols. (38) consiguieron inducir en ratones híbridos transgénicos algunas leucemias de estirpe mieloide, pero ninguna de evolución crónica.

En general, en el modelo murino, las células modificadas para expresar p210^{BCR-ABL} reproducen algunas de las características de la LMC humana, aunque la evolución suele ser más agresiva, con acentuada tendencia a la transformación linfoide.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR

El análisis citogenético revela la existencia de cromosoma Ph en el 90% de los enfermos con LMC, así como otros tipos de anomalías cariotípicas, que van haciéndose más frecuentes con la progresión del proceso neoplásico. En la mitad del 10% restante (casos Ph (-)), la presencia del gen de fusión *BCR-ABL* puede ser demostrada por análisis molecular.

La enorme capacidad de amplificación del ADN que proporciona la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) permite la detección de hasta una célula maligna en un millón de células normales, siempre que exista una secuencia de nucleótidos que sea característica exclusiva de las células neoplásicas, requisito que se cumple en la LMC *BCR*-positiva. Mediante la aplicación de esta tecnología, varios grupos han conseguido detectar la transcripción *BCR-ABL* en porcentajes considerables (30-90%) de enfermos en remisión clínica y citogenética tras radio-quimioterapia y trasplante de médula ósea (TMO). Antes de la aplicación de estas técnicas, la detección de la enfermedad residual mínima (ERM) solamente era posible cuando el clono maligno excedía del 1% de la población celular total. Snyder y cols. (39) han estudiado la expresión de ARNm *BCR-ABL* en muestras de enfermos con supervivencia de un año post-trasplante, encontrando transcripción detectable en trece de ellos, sobre un total de diecinueve. Sólo uno de ellos recidivó por criterios citogenéticos y clínicos veintiocho meses después del TMO, aunque seis de los casos permanecieron en transcripción positiva. En algunas ocasiones, por tanto, pueden persistir pequeños números de células leucémicas residuales o reaparecer transitoriamente sin que ello conduzca necesariamente a la recidiva clínica. Villegas y cols. (40) han detectado el reordenamiento *BCR-ABL* en casos de LMC Ph(+) y Ph(-) en el momento de la aparición de la crisis blástica y después del tratamiento con interferón o trasplante alogénico de médula ósea, resaltando la utilidad de este método de diagnóstico molecular en la valoración de la efectividad del tratamiento. Roth y cols. (41) encontraron treinta y cuatro recidivas a nivel molecular de un total de sesenta y cuatro enfermos en remisión clínica post-TMO. Trece de ellos presentaron recidiva clínica o citogenética, en contraste con ninguno de los veintisiete pacientes *BCR-ABL*-negativos. La eventual persistencia o desaparición de la positividad *BCR-ABL* durante los seis meses siguientes puede definir subgrupos con bajo, intermedio

o alto riesgo de recidiva. Hughes y cols. (42) mediante una técnica PCR en dos etapas, llegan a la conclusión de que la positividad *BCR-ABL* durante los seis meses siguientes al TMO, con negatividad ulterior, no presupone necesariamente la recidiva clínica del proceso. Nakamura y cols. (43) han comunicado la detección de ARNm *BCR-ABL* en veintidós de treinta y tres enfermos en remisión clínica completa tras TMO alogénico, de los que seis se hicieron negativos en un segundo análisis. Estos autores especulan con la posibilidad de que la remisión pueda ser mantenida en estos casos de recidiva molecular por un efecto de "injerto contra leucemia". No está aún suficientemente claro qué proporción de enfermos con recidiva molecular presentarán recidiva clínica. Sin embargo, parece lógico suponer que aquellos casos sin evidencia de alteración molecular residual por PCR están definitivamente curados de su LMC.

La posición exacta de ruptura del ADN en los productos de fusión puede determinarse mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y análisis por transferencia tipo *Southern* (*Southern blot*). Con la reacción de la transcriptasa inversa (RT-PCR, PCR por retrotranscripción) y análisis por transferencia tipo *Northern* se pueden detectar las secuencias transcritas de ARN. La proteína p210^{BCR-ABL} puede objetivarse mediante inmunoprecipitación o análisis por transferencia tipo *Western* (*Western blot*), utilizando anticuerpos anti-región N-terminal de *BCR* o anti-región C-terminal de *ABL*. En la hibridación fluorescente *in situ* (FISH) se emplean sondas moleculares que detectan los genes *BCR* y *ABL* pudiendo objetivar el gen de fusión con una sensibilidad del 0,05%. En sangre periférica constituye un método rápido y relativamente fiable, con un 10% de falsos positivos. La hibridación *in situ* de fluorescencia en hipermetafase, no produce falsos positivos, pero no puede realizarse en sangre periférica (44,45).

El análisis citogenético de un grupo de enfermos diagnosticados de LMC (5-10%) no demuestra la presencia de un cromosoma Philadelphia. En un principio, este hecho provocó considerable controversia en relación con la exactitud del diagnóstico, enfrentándose los criterios de los que consideraban estos casos como una variante de la LMC con los que opinaban que se trataba de una entidad nosológica diferente. Los casos de LMC Ph(-) exhiben normalmente un cariotipo normal, aunque alrededor de un 30% de ellos presenta alteraciones citogenéticas, como trisomía del cromosoma 8 o, a veces, translocación recíproca entre la banda q34 del cromosoma 9 y otro cromosoma distinto al 22. Sin embargo, el análisis molecular de los casos de LMC Ph(-) ha demostrado que en un 50% de los mismos aparece un reordenamiento *BCR* (46).

La LMC Ph (-) constituye una entidad nosológica peor definida y menos claramente distinguible que otros síndromes mieloproliferativos. Los enfermos Ph (-) suelen responder peor al tratamiento, mostrando supervivencias más cortas. En estos casos la detección del reordenamiento *BCR-ABL* por transferencia tipo *Southern* mejora el pronóstico, haciéndole similar al Ph (+). En un pequeño número de pacientes, la translocación sólo es detectable por RT-PCR (47).

La precisa definición del término “recidiva molecular” tras un tratamiento potencialmente curativo como es el trasplante de médula ósea continúa siendo un punto de importancia crítica. La RT-PCR puede detectar células LMC mediante amplificación del ARNm transcrito p210^{BCR-ABL}. Sin embargo, no todos los pacientes PCR (+) recidivan, por lo que el procedimiento tiene un valor pronóstico dudoso. En vista de ello, se han diseñado otros tipos de análisis molecular, como la RT-PCR cuantitativa, que permite detectar incrementos o disminuciones en el nivel de expresión. El método es complicado y engorroso desde el punto de vista técnico. También se utiliza el análisis del quimerismo (proporción relativa de células del donante y receptor tras el TMO). La situación de quimerismo completo del donante se asocia con remisiones prolongadas (48).

ASPECTOS CLÍNICOS DE LA LMC

La evolución clínica de la LMC atraviesa por tres fases sucesivas (44). Dicha secuencia evolutiva constituye un claro ejemplo de progresión tumoral con etapas múltiples, mejor delimitada que en otras entidades neoplásicas. La LMC comienza por una fase benigna o crónica que precede a una segunda fase acelerada de mayor agresividad con una duración que oscila entre varias semanas a varios meses y que desemboca inevitablemente en una crisis blástica. La fase crónica se caracteriza por un gran incremento de células precursoras mieloides comprometidas, consecuencia de un trastorno en la regulación del crecimiento o de una anomalía en el proceso de maduración (49). Debido a la conservación de la diferenciación terminal, el rasgo más llamativo de esta fase consiste en un aumento significativo del número de polimorfonucleares neutrófilos circulantes. Durante esta fase, las concentraciones elevadas de leucocitos pueden ser controladas sin excesivos problemas mediante la aplicación de varias modalidades terapéuticas no tóxicas (45), pudiendo llevar la mayoría de los afectados una vida prácticamente normal. Sin embargo, después de un intervalo medio de cuatro años (con una oscilación entre varias semanas y más de veinte años) se instaura una situación hematológica de aceleración mieloproliferativa más agresiva, caracterizada por la incapacidad de la célula mieloide de alcanzar el grado final de diferenciación, apareciendo, además, en el 80% de los casos, nuevas anomalías citogenéticas. La aparición de precursores mieloides inmaduros con signos de evolución clonal anuncia la inminente instauración de la fase de transformación blástica resistente al tratamiento, fase final de la enfermedad que presenta una estrecha similitud con las leucemias agudas. La progresión de la LMC hacia la fase terminal de transformación aguda o crisis blástica se asocia frecuentemente con la aparición de una o más anomalías citogenéticas adicionales. Existen suficientes datos que apoyan o demuestran una situación de acentuada inestabilidad genómica en la LMC, producida por una progresiva incapacidad para reparar defectos en la copia del ADN debido a una mar-

cada tendencia a la inhibición de la apoptosis, lo que conlleva una acumulación progresiva de errores de transcripción. La fosforilación ejercida por la p210^{BCR-ABL} conduce a la inactivación de la proteína XPB (proteína del grupo B, *xeroderma pigmentosum*) y a la aparición de ADN-polimerasas deficientes. A estas anomalías se añaden la aparición de un segundo cromosoma Ph, monosomía 7, trisomía 8, isocromosoma 17q, trisomía 19 y alteraciones moleculares tales como cambios en la estructura y expresión del gen *c-MYC* y de los genes supresores p16, p53 y *RB*, lo que contribuye a la instauración progresiva del fenotipo maligno (50). Los cambios cromosómicos secundarios asociados a la evolución hacia la crisis blástica son, en general, no aleatorios. También se ha descrito un aumento de la síntesis de telomerasa coincidiendo con la entrada de la enfermedad en la fase acelerada (23). Se considera generalmente la proporción de un 30% de blastos en médula ósea como punto límite a partir del cual se inicia la fase blástica del proceso. La morfología clonal blástica puede adscribirse a cualquiera de las líneas hematopoyéticas portadoras del cromosoma Philadelphia: mieloide (blastos o promielocitos), linfoide (T y B), eritroide o megacariocítica. La crisis blástica (transformación aguda) se asemeja estrechamente con frecuencia a la leucemia aguda, con una proporción de 130 a 190% de blastos sobre el total de células nucleadas en sangre periférica. La transformación subaguda (fase acelerada) presenta características similares, excepto que el porcentaje de blastos en sangre permanece por debajo del 25% (51). Se puede llegar a una identificación exacta del fenotipo clonal blástico mediante la utilización combinada de técnicas morfológicas, citoquímicas, enzimáticas, inmunológicas y moleculares. Son más frecuentes las crisis blásticas mieloides y linfoides, con un 65 y 25% de los casos, respectivamente. La correcta identificación del subtipo blástico responsable de la crisis tiene importantes repercusiones terapéuticas.

TERAPIA DE LA LMC A NIVEL MOLECULAR

La actividad tirosina-quinasa constitutivamente desregulada ejercida por la proteína BCR-ABL está directamente implicada en el proceso de transformación neoplásica que conduce a la LMC. Por tanto, la inhibición específica de la intensa actividad de fosforilación de sustratos proteicos portadores del aminoácido tirosina constituye una diana terapéutica de enorme utilidad potencial.

Se ha utilizado ARN mensajero antisentido dirigido contra el gen *BCR-ABL* para eliminar selectivamente, *in vitro*, células Ph-positivas, lo que permite reinfundir al paciente únicamente sus propias células Ph-negativas, en calidad de autoinjerto como complemento a tratamientos quimioterápicos en los que se haya obtenido remisiones citogenéticas (52).

Actualmente están en estudio una serie de fármacos anti-Ras del grupo de los inhibidores de la farnesil transferasa, que bloquean un tipo de modificación lipídica de la proteína RAS, necesaria para la función seña-

lizadora. La intensificación de la vía señalizadora a cargo de la proteína RAS es crítica para la actividad antiapoptótica y transformante de la proteína BCR-ABL. Las proteínas RAS participan en la transducción de la señal de proliferación celular inducida por factores de crecimiento tras su unión a receptores de membrana. Las modificaciones post-transduccionales (p. ej. farnesilación), son indispensables para que la proteína se una a la membrana y sea funcional. Los inhibidores de la farnesilación inducen un grado apreciable de regresión tumoral, con pocos efectos secundarios (53).

Otra modalidad de abordaje terapéutico molecular se inició en 1995 con la descripción por Druker y cols. (54) de la inhibición selectiva ejercida por compuestos del grupo de la 2-fenilamino pirimidina sobre las tirosina-quinasa ABL y PDGF-R (quinasa del receptor para factor de crecimiento derivado de plaquetas). Posteriormente se han sintetizado toda una serie de compuestos químicamente afines, entre los que destacó por su actividad el STI-571 (anteriormente denominado CGP 57148B), capaz de inhibir las quinasa codificadas por los genes *v-ABL* y *PDGF-R* (Figs. 4 y 5).

El STI 571 ha sido evaluado en diversos modelos preclínicos, habiéndose demostrado que concentraciones submolares de este compuesto inhiben la autofosforilación de *v-ABL*, receptor PDGF y receptor KIT, bloqueando además la formación de inositol-fosfato inducida por PDGF, la activación de MAP-quinasa y la expresión de ARNm de *c-FOS* (55).

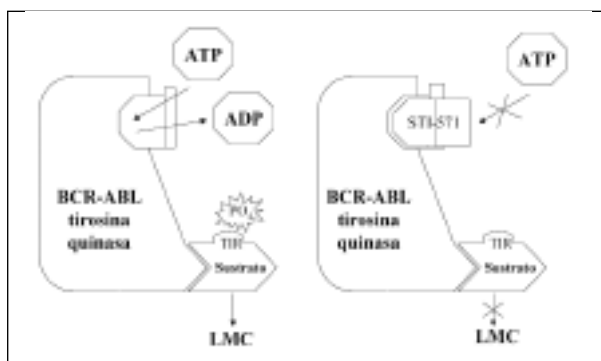


Fig. 4. Esquema del mecanismo inhibitorio de la tirosina-quinasa por el STI-571.

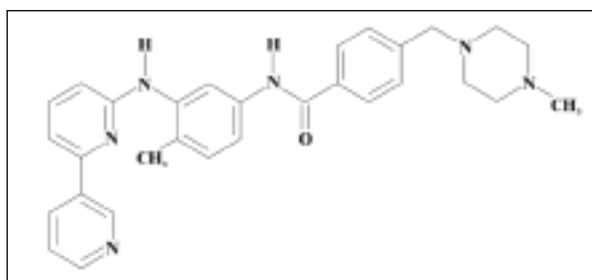


Fig. 5. Estructura química del STI-571 (2-fenilamino pirimidina).

En otra serie de experimentos preclínicos, a nivel celular, se demostró que el STI571 suprime la proliferación de células que expresan BCR-ABL *in vitro* e *in vivo*, con mínima inhibición de células normales (54).

El STI571 inhibe la proteína activadora de transducción y transcripción STAT 5, cuya actividad reduce los niveles de BCL X_L, proteína con efecto antiapoptótico. La actividad del fármaco induce, por tanto, apoptosis a través de este mecanismo (56).

Aunque el STI 571 es relativamente específico para la tirosina quinasa BCR-ABL, inhibe también en menor grado otras quinasa ya mencionadas, y es inactivo contra una larga serie de tirosina-quinasa que también han sido estudiadas en este contexto (57).

En 1998 se iniciaron las pruebas clínicas y los resultados obtenidos hasta el momento, aunque preliminares, apuntan a que el STI 571 puede representar un considerable avance sobre el IFN- γ . Más del 90% de los pacientes con LMC en fase crónica refractaria a IFN- γ , entraron en remisión completa durante el tratamiento con STI 571. De éstos, alrededor del 45% presentaron remisiones citogenéticas (58). En la fase acelerada de la enfermedad, el índice de respuesta hematológica ha sido del 78%. En fase blástica se ha obtenido un 55% de respuesta, con un 22% de remisiones completas, aunque la duración de las mismas tiende a ser menor (56). Un estudio clínico en Fase III, actualmente en curso para enfermos recién diagnosticados de LMC, en fase crónica, en comparación con la combinación de IFN- γ y citarabina. En mayo de 2001, la FDA americana aprobó el uso clínico de STI-571 (Gleevec, Novartis) para casos de LMC en fase crónica resistentes a IFN- γ y también para enfermos en fase más avanzada de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

- Bishop JM. Molecular themes in oncogenesis. *Cell* 1991; 64: 235-48.
- Cross M, Dexter TM. Growth factors in development, transformation and tumorigenesis. *Cell* 1991; 64: 271-80.
- Cantley LC, Auger KR, Carpenter C. Oncogenes and signal transduction. *Cell* 1991; 64: 281-302.
- Kumar R, Sukumar S, Barbacid M. Activation of ras oncogenes preceding the onset of neoplasia. *Science* 1990; 248: 1101-2.
- Kidd KK, Klinger HP, Ruddle FH. Human Gene Mapping 10. *Cancer Genet. Cytogenet* 1989; 51: 1-4.
- Schwab M. Oncogene amplification in neoplastic development and progression of human cancers. *Crit Rev Oncogenesis* 1990; 2: 35-52.
- Smith U, McCulloch EA, Benchimol S. Expression of the p53 oncogene in acute myeloblastic leukemia. *J Exp Med* 1986; 164: 751.
- Watson JD, Gilman M, Witkowski J, Zoller M. Recombinant ADN. 2nd Ed. New York. Scientific American, 1992.
- Otal I, Martin C, Vincent-Levy-Frebault V, Thierry D, Gicquel B. Restriction fragment length polymorphism using an I56110 as an epidemiological marker in tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 1252-4.
- Brown TA. Gene cloning: an introduction. 2nd Ed. Chapman and Hall, 1990.

11. Wright PA, Wynford-Thomas D. The polymerase chain reaction: miracle or mirage? A critical review of its uses and limitations in diagnosis and research. *J Pathol* 1990; 162: 99-117.
12. Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 1960; 132: 1497.
13. Rowley, JD. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature* 1973; 243: 290-3.
14. De Klein A, Van Kessel AG, Grosveld G, Bartram CR, Hagemeijer A, Bootsma D, Spurr NK, et al. A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukemia. *Nature* 1982; 300: 765-7.
15. Klotzler WS, Maxwell SA, Allinghaus RB. p85 gag-mos encoded by Ts 110 Moloney murine sarcoma virus has an associated protein kinase activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 412-6.
16. Heisterkamp N, Stephenson JR, Groffen J, Hansen PF, De Klein A, Bartram CR, et al. Localization of the ABL oncogene adjacent to a translocation breakpoint in CML. *Nature* 1983; 316: 239-42.
17. Holyoake TL. Recent advances in the molecular and cellular biology of chronic myeloid leukaemia: lessons to be learned from the laboratory. *Brit J Haematol* 2001; 113: 11-23.
18. Van Etten RA. Cycling, stressed-out and nervous: cellular functions of c-ABL. *Trends in Cell Biology* 1999; 9: 179-86.
19. Sawyers CL, McLaughlin J, Witte ON. The nuclear tyrosine-kinase c-Abl negatively regulates cell growth. *Cell* 1994; 77: 121-31.
20. Lewis JM, Schwartz MA. Integrins regulate the association and phosphorylation of paxilin by c-Abl. *J Biol Chem* 1998; 273: 14225-30.
21. Thissen SFT, Schuurhuis GJ, Van Oostveen IW, Ossenkopele GJ. Chronic myeloid leukemia from basics to bedside. *Leukemia* 1999; 13: 1646-74.
22. Kurzrock R, Klotzler WS, Talpaz M, Blick M, Walters R, Arlinghaus RB, et al. Identification of molecular variants of p210 bcr-abl in chronic myelogenous leukemia. *Blood* 1987; 70: 233-6.
23. Deininger MWN, Goldman JM, Melo JU. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000; 96: 3343-56.
24. Ghaffari S, Daley GQ, Lodish HF. Growth factor independence and BCR/ABL transformation: promise and pitfalls of murine model systems and assays. *Leukemia* 1999; 13: 1200-6.
25. González FA, Anguita E, Mora A, Asenjo S, López I, Polo M, Villegas A. Deletion of BCR region 3' in chronic myelogenous leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 2001; 130: 68-74.
26. Daley GQ, Van Etten RA, Baltimore D. Induction of chronic myelogenous leukemia in mice by the p210BCR/ABL gene of the Philadelphia chromosome. *Science* 1990; 247: 824-30.
27. Li S, Ilaria RL Jr, Million RP, Daley GQ, van Etten RA. The p190, p210 and p230 forms of the BCR/ABL oncogene induce a similar chronic myeloid leukemia-like syndrome in mice but have different lymphoid leukemogenic activity. *J Exp Med* 1999; 189: 1399-412.
28. Sawyers CL. Signal transduction in BCR-ABL transformation. *Balière's Clin Haematol* 1997; 2: 223-31.
29. Sattler M, Salgia R. Activation of hematopoietic growth factor signal transduction pathways by the human oncogen BCR/ABL. *Cytokine Growth Factor Rev* 1997; 8: 63-79.
30. Pendergast AM, Quilliam LA, Cripe LD. BCR-ABL induced oncogenesis is mediated by direct interaction with the SH2 domain of the GRB-2 adaptor protein. *Cell* 1993; 75: 175-85.
31. Cortez D, Stoica G, Pierce JH, Pendergast AM. The BCR-ABL tyrosine kinase inhibits apoptosis by activating a Ras-dependent signaling pathway. *Oncogene* 1996; 13: 2589-94.
32. Daley GQ, Baltimore D. Transformation of an interleukin 3-dependent hematopoietic cell line by the chronic myelogenous leukemia-specific p210bcr/abl protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 85: 9312-6.
33. Sirard C, Laneville P, Dick JE. Expression of bcr-abl abrogates factor-dependent growth of human hematopoietic MOZE cells by an autocrine mechanism. *Blood* 1994; 83: 1575-1585.
34. Puil L, Liu J, Gish G. Bcr-Abl oncoproteins bind directly to activators of the Ras signalling pathway. *EMBO J* 1994; 13: 764-73.
35. Horita M, Andreu EJ, Benito A, Arisona C, Sanz C, Benet I, et al. Blockade of the Bcr-Abl kinase activity induces apoptosis of chronic myelogenous leukemia cells by suppressing signal transducer and activator of transcription 5-dependent expression of BCL-XL. *J Exp Med* 2000; 191: 977-84.
36. Ajenjo N, Aaronson DS, Ceballos E, Richard C, León J, Crespo P. Myeloid leukemia cell growth and differentiation are independent of mitogen-activated protein kinase ERK1/2 activation. *J Biol Chem* 2000; 275: 7189-97.
37. Gordon MY. Biological consequences of the BCR/ABL fusion gene in humans and mice. *J Clin Pathol* 1999; 52: 719-22.
38. Voncken JW, Kaarinen V, Pattengale PK, et al. BCR/ABL p210 and p190 cause distinct leukemia in transgenic mice. *Blood* 1995; 86: 4603-11.
39. Snyder DS, Rossi JJ, Wang JL, Sniecinski U, Slovak ML, Wallace RB, et al. Persistence of bcr-abl gene expression following bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia in chronic phase. *Transplantation* 1991; 51: 1033-40.
40. Villegas A, González A, Sáez I, Ferro M, del Potro E, Martínez R, et al. Reordenamiento bcr/abl en la LMC. *Sangre* 1991; 36 (suplemento 2): 19.
41. Roth MS, Antin JH, Ash R, Terry VH, Gotlieb M, Silver SM, et al. Prognostic significance of Philadelphia chromosome positive cells detected by the polymerase chain reaction after allogeneic bone marrow transplant for chronic myelogenous leukemia. *Blood* 1992; 79: 276-82.
42. Hughes TP, Morgan GJ, Martiat P, Goldman JM. Detection of residual leukemia after bone marrow transplant for chronic myeloid leukemia: role of polymerase chain reaction in predicting relapse. *Blood* 1991; 77: 874-8.
43. Nakamura K, Mizutani S, Matsue T. Molecular analysis of bcr-abl mRNA in chronic myelogenous leukemia after bone marrow transplantation by using RT-PCR method. *Rinsho Ketsueki* 1992; 33: 436-4.
44. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, Kurzrock R, Kantarjian HM. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Eng J Med* 1999; 341: 164-72.
45. Sawyers CL. Chronic myeloid leukemia. *N Eng J Med* 1999; 340: 1330-40.
46. Morris CM, Reeve AF, Fitzgerald PH, Hollings PF, Beard MF, Heaton DC. Genomic diversity correlates with clinical variation in Ph1-negative chronic myeloid leukaemia. *Nature* 1986; 320: 281-3.
47. Oscier DG. Atypical chronic myeloid leukemia, a distinct clinical entity related to the myelodysplastic syndrome? *British Journal of Haematology* 1996; 92: 582-6.
48. Román J, Álvarez MA, Torres A. Molecular basis for therapeutic decisions in chronic myeloid leukemia patients after allogeneic bone marrow transplantation. *Haematologica* 2000; 85: 1072-82.
49. Kurzrock R, Gunennan JV, Talpaz M. Therapy of chronic myelogenous leukemia with interferon. *Cancer Invest* 1989; 7: 83-91.
50. Ahuja H, Bar-Eli M, Arlin Z, et al. The spectrum of molecular alterations in the evolution of chronic myelocytic leukemia. *J Clin Invest* 1991; 87: 2042-7.
51. Feinstein E, Cimino G, Gale RP, Canaani E. Initiation and progression of chronic myelogenous leukemia. *Leukemia* 1992; 6 Suppl. I: 37-43.
52. De Fabritiis P, Amadori S, Petti MC. In vitro purging with BCR-ABL antisense oligodeoxynucleotides does not prevent hematologic reconstitution after autologous bone marrow transplantation. *Leukemia* 1995; 9: 662-4.
53. Gibbs JB, Oliff A, Kohl NE. Farnesyltransferase Inhibitors: Ras research yields a potential cancer therapeutic. *Cell* 1994; 77: 175-8.
54. Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of BCR-ABL positive cells. *Nature Medicine* 1996; 2: 561.
55. Buchdunger E. Selective inhibition of the platelet-derived growth factor signal transduction pathway by a protein-tyrosine kinase inhibitor of the 2-phenylaminopyrimidine class. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 2558-62.
56. Druker BJ, Kantarjian H, Sawyers CL. Activity of an ABL specific tyrosine kinase inhibitor in patients with BCR-ABL positive acute leukemias, including chronic myelogenous leukemia in blast crisis. 41st Am Soc Hematol Annual Meeting 1999; 94: 697 a Abstract 3082.
57. Druker BJ, Lydon NB. Lessons learned from the development of an Abl tyrosine kinase inhibitor for chronic myelogenous leukemia. *J Clin Invest* 2000; 105: 3-7.
58. Druker BJ, Talpaz M, Resta D. Chronic myelogenous leukaemia-new therapeutic principles. *J Int Med* 2001; 250: 3-9.

Transformación aguda de los síndromes mieloproliferativos

J. L. ARROYO, J. M^a. HERNÁNDEZ, J. F. SAN MIGUEL

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de Salamanca

INTRODUCCIÓN

Los síndromes mieloproliferativos (SMP) son enfermedades clonales que pueden presentar un curso evolutivo bifásico, en el que a una primera etapa estable o fase crónica, sucede otra denominada transformación aguda o crisis blástica (CB), que es una auténtica leucemia aguda generalmente resistente al tratamiento. Esta transformación leucémica, característica en la evolución natural de la leucemia mieloide crónica (LMC) (1), se observa con menor frecuencia en el resto de SMP. Así, tan sólo se produce en el 15% de los pacientes con mielofibrosis idiopática (MF) (2,3) y trombocitemia esencial (TE) (4) y en menos del 10% de los enfermos con Policitemia Vera, que no han recibido tratamiento previamente con fósforo radioactivo (P 32) o agentes alquilantes (5). Las características clínicas y biológicas de la fase crónica de los SMP están bien definidas. Por el contrario, es escasa la información relativa a la fase aguda de estas enfermedades con la excepción de la CB de la LMC (6-8).

En esta revisión se analizan las principales características clínicas, biológicas, evolutivas y el tratamiento de las transformaciones agudas de los SMP.

CRISIS BLÁSTICA DE LA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

Es la más estudiada de las transformaciones agudas de los SMP. Con frecuencia la transición desde la fase crónica a la CB ocurre de manera brusca, pero en casi la mitad de los pacientes entre ambas fases se intercala un periodo intermedio, habitualmente menor de un año, denominado fase de aceleración (9). Aunque no existe unanimidad en su definición, la mayoría de los autores coinciden en que los criterios necesarios para el diagnóstico de crisis blástica son: a) porcentaje de blastos en SP y/o MO superior al 20%; b) blastos más promielocito-

tos superiores al 30% en SP o al 50% en MO o c) infiltración blástica extramedular (1).

ETIOPATOGENIA DE LA CRISIS BLÁSTICA

El conocimiento de los mecanismos que desencadenan la transición de la fase crónica a la aguda es de capital importancia, ya que la regulación de este evento es el principal determinante para la supervivencia de los pacientes con LMC. Esta evolución es el resultado final de una serie de mecanismos moleculares que llevan a la inestabilidad genómica y al acúmulo de lesiones moleculares. Entre estos mecanismos se encuentran:

1. Reparación defectuosa del ADN: la alteración molecular característica de la LMC es la t(9;22). En ella se produce una fusión de los genes BCL y ABL que da lugar a la formación de una proteína quimérica, la p 210. Esta proteína interacciona con una serie de proteínas implicadas en los mecanismos de reparación del ADN (proteína B del xeroderma pigmentoso y ADN-PKcs) alterando su expresión (10-12).

2. Acortamiento de los telómeros: los telómeros son elementos genéticos localizados en la parte terminal de los cromosomas que se componen de secuencias repetidas de 10-15 kilobases que evitan que se produzca inestabilidad génica. En cada ciclo celular se produce un acortamiento de los telómeros. Este acortamiento puede ser considerado como un reloj biológico que indica envejecimiento proliferativo y que podría estar implicado en el desarrollo del cáncer. En la LMC el progresivo acortamiento de los telómeros se asocia a transformación blástica (13).

3. Inactivación de genes supresores de tumor: estos genes ejercen un efecto protector sobre la célula, de forma que cuando ésta sufre una alteración genómica, inducen la detención del ciclo celular en la fase G1 per-

mitiendo la reparación del ADN dañado, o si la lesiones son muy extensas, induciendo la apoptosis. En la CB de la LMC se ha demostrado la inactivación por metilación del gen de la calcitonina y de los promotores de los genes inhibidores de las ciclinas dependientes de cinasas, en especial de la familia KIP (14). Esta inactivación impide el bloqueo en G1 y las células dañadas pueden seguir sufriendo mitosis.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-HEMATOLÓGICAS

La transformación aguda de la LMC suele afectar a pacientes más jóvenes que en el resto de los SMP. Aunque en un pequeño porcentaje (5%) la crisis blástica es la forma de presentación de una LMC, casi siempre aparece precedida de la fase estable o crónica de la enfermedad. En el 60% de los pacientes el paso de la fase crónica a la CB ocurre de una forma abrupta, produciéndose una invasión blástica de la sangre periférica, médula ósea u otros órganos sin sintomatología acompañante. En estos casos, el diagnóstico suele ser un hallazgo casual. En el resto de los pacientes, como se mencionó anteriormente, existe una fase intermedia entre la fase crónica y la crisis blástica, denominada fase de aceleración, cuya duración rara vez sobrepasa el año (15). Aunque el diagnóstico de esta fase de aceleración se basa en la presencia de una serie de parámetros clínicos y biológicos, los cuales varían ligeramente según el autor (Tabla I) (15-17), en la práctica clínica podríamos decir que la resistencia al tratamiento con IFN- α , hidroxiurea o cualquier otro tratamiento previamente usado con éxito en la fase crónica, es el indicio más consistente del inicio de la metamorfosis de la enfermedad hacia la fase aguda.

Durante la CB el paciente refiere síntomas de intensidad creciente (18). La mitad de los enfermos presentan astenia, anorexia, pérdida de peso o malestar general. La fiebre es el signo de presentación en un tercio de los

casos. En otros casos, los síntomas predominantes son el dolor óseo secundario a la infiltración medular o la sintomatología abdominal consecutiva a la esplenomegalia. Las complicaciones clínicas derivadas de las citopenias, fundamentalmente la trombopenia, son una constante en esta fase de la enfermedad. En la exploración física destaca la hepatoesplenomegalia presente hasta en el 75% de los pacientes (6,8,19-21). En un 10% de los pacientes la transformación blástica tiene lugar fuera de la MO (ganglios linfáticos hueso, tejido celular subcutáneo y otras menos frecuentes). Aunque en alguno de estos casos, se pudiera plantear algún problema en el diagnóstico (p.ej. diagnóstico diferencial con linfoma en el caso de proliferación blástica en los ganglios linfáticos), esto se resuelve con el estudio de la SP y de la MO que muestran las características típicas de la LMC. Más difícil suele ser el diagnóstico diferencial entre las LMCs que se presentan inicialmente como crisis blástica linfóide medular y las leucemias linfoblásticas agudas de novo Ph positivas. En estos casos, que pueden tener un patrón molecular similar, la forma más precisa de identificar la crisis blástica, es la combinación del estudio inmunofenotípico con el citogenético mediante la técnica de FISH, que en el caso de la LMC mostrará la presencia de fusión BCR-ABL en todas las células, mientras sólo en las linfoides en el caso de las leucemias agudas linfoblásticas Ph positivas.

El perfil hematimétrico de la CB de la LMC es semejante al de una leucemia aguda: anemia más marcada que en las fases previas, leucocitosis con más de 20% de blastos, trombopenia y, en ocasiones, basofilia superior al 20% (8, 19, 21-23).

La mediana de la supervivencia de los enfermos en esta fase es de 2 a 4 meses. Las principales causas de mortalidad son las complicaciones infecciosas (neumonía o sepsis en el 50% de los casos) y los procesos hemorrágicos (cerebrales o digestivos), si bien la incidencia de estos últimos está disminuyendo gracias al mejor soporte transfusional (21, 24 Jm).

TABLA I
CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE LA FASE DE ACELERACIÓN DE LA LMC

<i>Sokal et al</i>	<i>IBMT</i>	<i>Cervantes et al</i>
Blastos en s.p. o MO 5%	Blastos en s.p. o MO 10%	<i>Criterios mayores</i>
Basófilos en s.p. > 20%	Blastos en s.p. o MO + promielocitos 20%	Blastos 6-13% s.p. o 10-19% MO
Anomalías citogenéticas adicionales	Basófilos + eosinófilos en s.p. > 20%	Basofilia s.p. > 20%
Signos de dishemopoyesis	Anomalías citogenéticas adicionales	Anomalías citogenéticas adicionales
Fibrosis colágena	Mielofibrosis	Fiebre/sudación > 1mes*
Anemia o trombopenia**	Trombocitosis persistente	Dolor óseo persistente
Esplenomegalia progresiva	Esplenomegalia progresiva	Esplenomegalia > 10 cm resistente al tto.
Tiempo duplicación recuento leucocitario < 5 días	Tiempo duplicación leucocitos < 5 días	Criterios menores
Fiebre*	Fracaso de BU o hidroxiurea en control recuento leucocitario	Pérdida peso > 10%
		Anemia < 10 g/dL **
		Trombopenia **
		Eritroblastos s.p. 10%
		Fibrosis progresiva

*No atribuible a otras causas; **no atribuible al tratamiento

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E INMUNOFENOTÍPICAS

La infiltración blástica media de la MO se sitúa en torno al 50-60%. Las células blásticas tanto de éste como de los otros SMP, fueron consideradas clásicamente como de origen mielode exclusivamente (6) en relación con el clon proliferante en la fase crónica de la enfermedad. Con la introducción de los primeros marcadores inmunológicos (TdT, CALLA, etc.), se describieron las crisis blásticas de LMC de origen linfoide (25). Posteriormente, el empleo sistematizado de anticuerpos monoclonales permitió reconocer crisis blásticas de origen megacariocítico, de línea eritroide o de dos o más estirpes celulares (26) (Fig. 1). Morfológicamente los blastos mieloides se caracterizan por una relación núcleo/citoplasma $< 0,8$, cromatina fina y múltiples nucleolos, mientras que los de estirpe linfoide son más pequeños, con una relación N/C mayor, cromatina densa y a diferencia de los mieloides, sin granulación citoplasmática. Los megacarioblastos morfológicamente son muy heterogéneos, incluyendo desde formas indiferenciadas, similares a los linfoblastos, hasta blastos de mayor tamaño con protusiones citoplasmáticas, que corresponden a desprendimiento plaquetario. Citoquímicamente presentan un patrón de positividad para la ANAE y negatividad para la butirato esterasa. En la microscopia electrónica los megacarioblastos muestran peroxidasa plaquetaria, siendo esta tinción específica de este tipo de células (27,28). Los blastos eritroides se caracterizan por su marcada basofilia citoplasmática, membrana nuclear bien delimitada y núcleo grande con cromatina fina; citoquímicamente pueden ser fosfatasa ácida positivos y con microscopia electrónica de transmisión en la mayoría de los blastos se observan fenómenos de rofecitosis (28). Las CB basófilas, eosinófilas y promielocíticas son mucho más raras (29).

La aplicación del inmunofenotipaje al análisis de las CB, ha permitido confirmar que cualquier línea hemato-

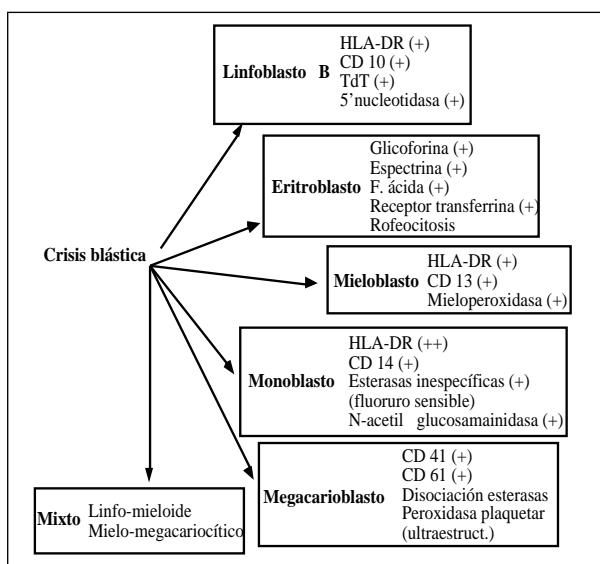


Fig. 1. Características citoquímicas e inmunofenotípicas de la celularidad blástica en la transformación aguda de la LMC.

poyética puede estar implicada en la transformación blástica, hecho que sustenta que la proliferación que da lugar a la CB tiene su origen en una célula madre pluri-potencial. (30). Las más frecuentes son las de origen mielode (70%). En ellas pueden estar implicadas todas las líneas mieloides, siendo especialmente frecuente la combinación de blastos de varias líneas mieloides (granulocítica, monocítica, eritroide y megacarioblástica) en proporción variable (26,30). Las CB híbridas, es decir, aquellas que presentan a la vez expresión de antígenos mieloides y linfoides, suponen en torno al 5% y las CB indiferenciadas presentan una incidencia inferior al 2%. (26,30-33). No obstante, desde un punto de vista práctico, lo que reviste gran interés es el hecho de que el 20% de las crisis blásticas referidas en la literatura presentan fenotipo linfoide (26,34,35). Estas transformaciones, que son casi siempre de estirpe linfoide B (26,36), presentan un perfil clínico hematológico característico (34,35), en el que las diferencias fundamentales respecto a las crisis blásticas mieloides son el comienzo más brusco, la ausencia de fase de aceleración previa, menor frecuencia de visceromegalias, menor basofilia, y trombopenia más acusada, quizás motivada por el mayor grado de infiltración blástica medular que en la mayoría de los casos es superior al 80%. Del mismo modo que existen rasgos peculiares de las CB linfoides, las CB megacarioblásticas suelen presentar anemia más acusada, pero una cifra de plaquetas cercana a la normal.

CITOGÉNÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

La alteración citogenética característica de la LMC es la t(9;22)(q34;q11) en la que un segmento del protooncogen C-ABL, localizado en la banda q34 del cromosoma 9 se trasloca al gen BCR, situado en la banda q11 del cromosoma 22 (37). La importancia del estudio de esta traslocación en el contexto de las CB recae fundamentalmente en dos aspectos: su valor para conocer el origen común de las distintas líneas hemopoyéticas proliferantes y su papel en la patogenia y pronóstico de la enfermedad: el estudio de los reordenamientos en la región M-bcr, permite explorar su presencia en las células blásticas de las transformaciones y confirma con ello su pertenencia al clon original, excluyendo la posibilidad de que se trate de una segunda leucemia, lo que es especialmente útil en las CB extramedulares, en las CB Ph negativas y en las transformaciones mixtas y linfoides T (38,39). El segundo foco de atención es la existencia de pequeñas variaciones en la localización exacta del punto de ruptura en la región M-bcr que genera fundamentalmente dos transcritos distintos, b3a2 y b2a2. Aunque en ocasiones, a estas variaciones se les ha atribuido una implicación clínica y pronóstica, en la actualidad se considera que los pacientes b3a2 y b2a2 presentan características clínicas, respuesta al tratamiento y pronóstico similares.

Cerca del 80% de los pacientes en crisis blástica, presentan alguna alteración citogenética acompañando al cr Ph (9,40). Las más frecuentes son la trisomía 8, el isocromosoma 17, la trisomía 19 y la aparición de un segundo cr. Ph. Otras anomalías menos frecuentes son

las monosomías del Y, 7 ó 17, inv. (16), trisomías 17 y 21 y la translocación recíproca t(3;21)(q26;q22). Estas alteraciones pueden detectarse incluso 3-6 meses antes de la transformación aguda (41) y con relativa frecuencia, si se consigue revertir la enfermedad a fase crónica, la presencia del cr. Ph vuelve a detectarse como única alteración, dejando de observarse las otras anomalías (42). Algunas de estas alteraciones citogenéticas se relacionan directamente con cambios moleculares que se han demostrado relacionados con la leucemogénesis (43-45). Entre ellas se incluyen alteraciones en p53 (cromosoma 17p13), c-myc (8q24), p16INK4A (9p21) y AML-EV1, una proteína de fusión que resulta de la translocación t(3;21)(q26;q22). Las alteraciones de p53 ocurren en el 25% de los pacientes con crisis blástica y están asociadas con la transformación mieloide y megacarioblástica (46). Las alteraciones de RB1 (13q14) y la delección homocigota de p16, están asociadas con las crisis blásticas de fenotipo linfoide.

TRATAMIENTO DE LA CRISIS BLÁSTICA DE LA LMC

El pronóstico de los pacientes en crisis blástica es infausto, con una mediana de supervivencia de 3-6 meses (47). Los resultados de la quimioterapia intensiva en el tratamiento de la CB son decepcionantes. Esto hace que la terapéutica de esta fase de la enfermedad sea fundamentalmente paliativa (transfusiones, analgesia, quimioterapia oral como la 6-mercaptopurina). La excepción a esta actitud la constituyen los pacientes con CB de fenotipo linfoide, en quienes están indicados los esquemas terapéuticos similares a los utilizados en la leucemia aguda linfoblástica, que incluyen vincristina, prednisona y un antraciclina, ya que las posibilidades de

RC son del 60%, aunque siempre transitoria (7). En el caso de la transformación mieloide, el tratamiento con quimioterapia queda restringido a pacientes jóvenes en los que pueden ensayarse esquemas de poli-quimioterapia similares a los usados en la leucemia aguda mielo-blástica, si bien los resultados son muy pobres.

Los resultados del trasplante de precursores hematopoyéticos en la fase blástica de la LMC han sido desesperanzadores. La supervivencia libre de eventos a largo plazo, según los registros del EBMT y IBMTR, es inferior al 10%, lo que se debe al alto porcentaje de recidivas (60-80%). Los mejores resultados se obtienen en los pacientes en los que se ha conseguido una segunda fase crónica previa al trasplante (48). Este sombrío panorama se ha modificado en parte gracias a la aparición del STI571. Este fármaco es un inhibidor de la proteína tirosino-cinasa bcr-abl. Representa el avance más importante de los últimos años en la terapéutica de la LMC y es el paradigma del tratamiento basado en el conocimiento de la biología y fisiopatología de una neoplasia (Fig. 2). Los esperanzadores resultados obtenidos en el tratamiento de pacientes en fase crónica, han impulsado la realización de estudios experimentales en crisis blástica. Recientemente se han publicado los datos de una serie de 58 pacientes en crisis blástica (38 mieloide y 20 linfoide) tratados con STI571 a dosis diarias de 300-1.000 mg (49). De los pacientes en crisis blástica mieloide, 4 (11%) alcanzaron remisión completa y en 21/38 (55%) se consiguió una respuesta hematológica definida por < 15% blastos en MO. Sin embargo, la tasa de recaídas fue de 60% en los primeros 6 meses de tto. La tasa de respuestas en el grupo de las crisis linfoides fue mayor (70%, incluyendo 4 casos de respuestas completa), pero desafortunadamente todos excepto uno recayeron antes del 4º mes. En la serie global, el

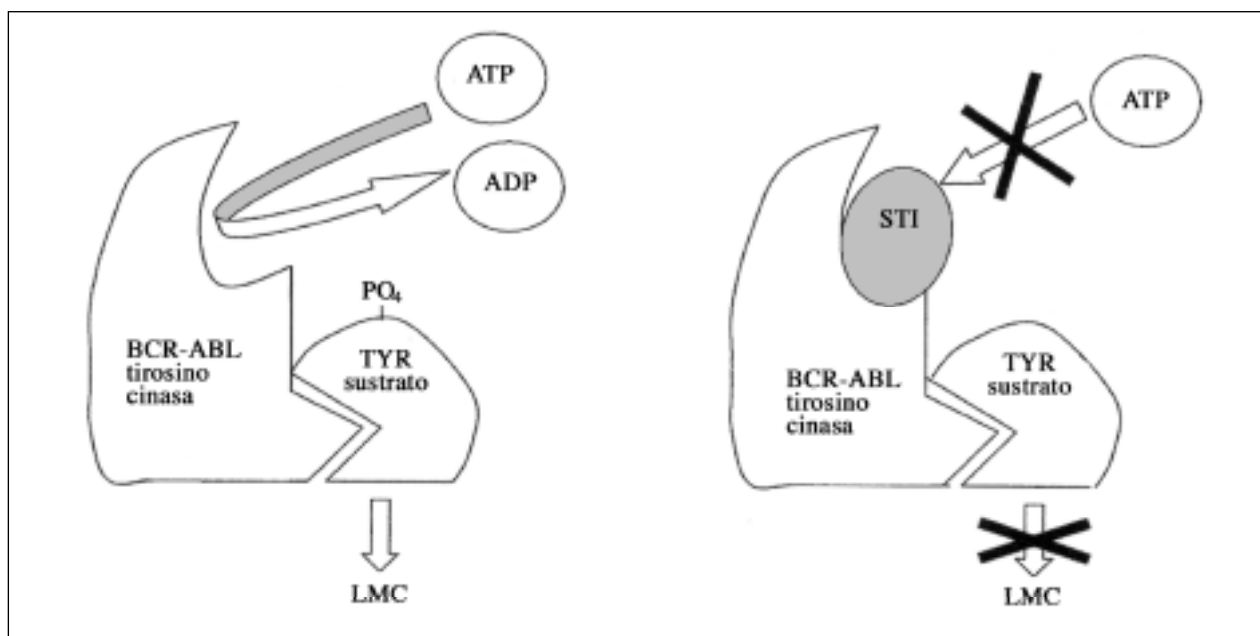


Fig. 2. Función de BCR-ABL tirosino-cinasa e inhibición por STI571. La tirosino-cinasa cataliza la transferencia de un grupo fosfato del ATP a los residuos de tirosina en las proteínas sustrato. STI571 ocupa el lugar de unión del ATP a la tirosino-cinasa y bloquea la fosforilación.

12% alcanzó una respuesta citogenética mayor y el 70% completa. Por ello es previsible que en el futuro deban asociarse otros fármacos a STI571 para mejorar la eficacia de esta sustancia en las CB de la LMC. En la actualidad se están llevando a cabo estudios fase II cuyos resultados preliminares confirman estos resultados tan esperanzadores (50,51). Una atractiva posibilidad sería el inducir respuestas con STI, para llevar a cabo una rápida consolidación con trasplante alogénico y posterior reutilización del STI en caso de persistencia de enfermedad mínima residual.

CRISIS BLÁSTICA DE LA POLICITEMIA VERA

En los años 1950–60 se creía que la PV era un proceso benigno y que por tanto los casos de transformación leucémica eran exclusivamente atribuibles al tratamiento con agentes alquilantes o radioterapia. Sin embargo, posteriormente se determinó el origen clonal de la PV (52). Un estudio del PVSG comparando la utilización de flebotomía, el clorambucilo y el ³²P, mostró una incidencia de leucemia aguda del 1,5% en los pacientes tratados sólo con flebotomías, del 17,5% en los tratados con clorambucilo y del 10,9% en los tratados con el ³²P (53). Esta incidencia de leucemia aguda en los pacientes tratados sólo con flebotomías, es mucho mayor que la esperada en un grupo control de similar edad, lo que indica que la leucemia es una fase evolutiva natural de la Policitemia Vera, cuya aparición se ve favorecida por el uso de agentes alquilantes o ³²P (54-57).

CLÍNICA Y BIOLOGÍA

La duración de la fase crónica en estos pacientes es muy superior a la registrada en la CB de la LMC. Rara vez se presenta la leucemia aguda antes de los 8 años siguientes al diagnóstico. Su presentación puede ser brusca u observarse, a veces, una fase preleucémica caracterizada por una anemia refractaria con exceso de blastos; esta forma evolutiva se ha descrito hasta en la mitad de los casos de alguna serie (58). Un 50% progresa directamente de la fase eritrocítica a leucemia aguda (55). El fenotipo leucémico es en su mayoría mielóide, aunque se han descrito raros casos de leucemia linfoblástica (55,59).

CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS Y MOLECULARES

En nuestra experiencia, los blastos mieloides de estas leucemias con mucha frecuencia (40%) coexpresan de forma aberrante antígenos linfoides (CD19, CD7, TdT.) (59).

A diferencia del cariotipo de la fase crónica de la PV que suele ser normal, el 80% de los enfermos con transformación aguda de la PV tienen alteraciones cromosómicas. Ninguna de éstas es específica de la PV o de la transformación. Las más frecuentes son la monosomía de los cromosomas 5 y 7 y la trisomía del cromosoma 8 (60-62).

TRATAMIENTO

La leucemia aguda que se desarrolla a partir de la Policitemia Vera, por regla general es de mal pronóstico y resistente a los tratamientos. En los pacientes de edad avanzada se aconseja medidas de soporte. En los más jóvenes pueden lograrse remisiones prolongadas con quimioterapias intensivas y puede intentarse erradicación del clon leucémico mediante un TMO (55,63,64).

TRANSFORMACIÓN BLÁSTICA DE LA MIELOFIBROSIS IDIOPÁTICA

La leucemia aguda postmielofibrosis es un evento infrecuente cuya incidencia oscila entre el 5 y el 22%. Sólo el 50% de los pacientes que desarrollan transformación leucémica han recibido previamente tratamiento con agentes alquilantes o con radioterapia, lo que sugiere que esta transformación leucémica forma parte de la evolución natural de la enfermedad (2,3,65,66). El estudio de Barosi y cols. (67) demuestra que la probabilidad de transformación se multiplica casi por tres en pacientes esplenectomizados.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-HEMATOLÓGICAS

De todos los SMP, la TA de la MF es el proceso que está precedido de una fase crónica más corta, habitualmente inferior a los dos años. Generalmente existe un proceso intermedio similar a la fase de aceleración de la LMC. Suele cursar con hepatoesplenomegalia marcada en el 80% de los casos y con adenopatías en la cuarta parte de los pacientes. La esplenomegalia masiva junto con la infiltración medular, son las responsables de la anemia y trombopenia intensas presentes en la mayoría de los pacientes.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y FENOTÍPICAS DE LA TRANSFORMACIÓN BLÁSTICA DE LA MF

La caracterización morfológica e inmunofenotípica de los blastos de estas leucemias, pone de manifiesto que en su mayoría se trata de blastos de estirpe mielóide o mielomonocítica y, en menor medida, megacarioblástica, aunque puede estar implicada cualquier estirpe hematopoyética (68-71). Nuestro grupo ha descrito transformaciones leucémicas con fenotipo mielóide mixto (mieloblástico, eritroide, megacariocítico) o híbrido (mieloide-linfoide) hasta en un 1/3 de los casos, lo que refleja el origen de la enfermedad en una célula *stem* pluripotente (70).

ALTERACIONES MOLECULARES

Los eventos moleculares subyacentes en la transformación no están claros, pero las alteraciones citogenéti-

cas se aproximan al 90%, un hecho congruente con la teoría multiescalonada de la leucemogénesis (72). Ninguno de los cambios cromosómicos es característico de las transformaciones de la MF. Los más frecuentes son la trisomía del cromosoma 8 y las pérdidas del cromosoma 5 o del 7 (61).

PRONÓSTICO Y TRATAMIENTO

Al igual que las CB de los otros SMP, la respuesta al tratamiento quimioterápico es escasa y sólo en raras ocasiones se han descrito remisiones duraderas (63). El riesgo actuarial de muerte por transformación leucémica es del 2% y del 16% al año y a los 5 años del diagnóstico respectivamente (73). Entre las variables biológicas que han demostrado asociarse a mayor riesgo de transformación leucémica, están la cifra de leucocitos superior a 30×10^9 , el elevado porcentaje de precursores mieloides en sangre periférica y el cariotipo anormal. (73, 74). La avanzada edad de estos pacientes hace que, al igual que en las transformaciones agudas de los otros SMP, en muchos casos el tratamiento sea paliativo.

TRANSFORMACIÓN BLÁSTICA DE LA TROMBOCITEMIA ESENCIAL

A pesar de tratarse de un SMP, la transformación leucémica es un evento infrecuente en la evolución natural de la TE, estimándose su incidencia entre el 0,6 y 5% de la totalidad de pacientes diagnosticados de TE y en menos del 1% en los pacientes que no han recibido ningún tipo de tratamiento (4,75).

CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-HEMATOLÓGICAS

En general, se presenta en personas de edad más avanzada que el resto de las CB de los SMP y que han recibido tratamiento citorreductor, siendo especialmente frecuente en aquellos tratados con más de un agente (76,77). En estudios en los que la mediana de seguimiento osciló entre 3 y 7 años, el intervalo medio de tiempo desde el diagnóstico hasta la transformación fue de 6 años (rango 1,7-16 años) (78-81). El hecho de que la evolución a leucémica aguda también haya sido descrita en casos sin medicación intercurrente, sugiere que ésta dependa más de la propia biología de la enfermedad y de su duración, que de la terapia específica recibida (82,83).

De igual modo que ocurre en las CB de los otros SMP, la pancitopenia es moderada, en relación con el grado de infiltración de la médula ósea y el curso clínico es fatal (4,84). Los subtipos citológicos más frecuentes son los correspondientes a las leucemias mieloides M1, M2, M4 y M7 de la clasificación FAB y, aunque con menos frecuencia, también se han descrito crisis blásticas linfoides (4,85).

LESIONES GENÉTICAS ASOCIADAS A LA CRISIS BLÁSTICA DE LA TE

No se ha descrito ninguna alteración citogenética específica de la CB de la TE. No obstante, la gran mayoría de las leucemias agudas y de los síndromes mielodisplásicos que aparecen en los pacientes con TE, tratados solamente con hidroxiurea, presentan los hallazgos morfológicos (disgranulopoyesis con vacuolización y pseudo-Pelger), citogenéticos (deleción 17p) y moleculares (mutación de p53), característicos del síndrome 17p. Estudios secuenciales de los mismos pacientes en la fase crónica y la crisis blástica, han demostrado que la mutación de p53 no está presente en la fase crónica de la enfermedad apareciendo en el 40% de las CB de la TE (86,87). De forma esporádica también se han observado casos con cariotipo hipodiploide, trisomía 14, monosomía 7 o alteraciones del 5 (86,87).

¿ES LA HIDROXIUREA LEUCEMÓGENA?

La evolución leucémica de pacientes con TE o PV que no han recibido ningún tipo de tratamiento, demuestran que estas enfermedades tienen una tendencia inherente a la transformación blástica (82,83), cuyo riesgo se ve incrementado por una evolución prolongada de la enfermedad, o la transformación a mielofibrosis previa (88).

La hidroxiurea es una molécula relativamente simple que inhibe la ribonucleotidorreductasa, interfiriendo por tanto en la síntesis de DNA. Por su facilidad de uso y predictibilidad de acción es el tratamiento paliativo de elección para los SMP desde hace ya más de 30 años. Son muchos los grupos que han analizado la relación entre el tratamiento prolongado con hidroxiurea y la conversión a leucemia aguda, tanto en el contexto de TE como de PV. En PV, la mayoría de los datos publicados al respecto coinciden en que el riesgo de transformación leucémica en pacientes que han recibido tratamiento sólo con hidroxiurea, es similar al de los pacientes que no han recibido tratamiento (89). Por el contrario, el riesgo aumenta en sujetos que reciben tratamientos combinados. Así, en una serie de 357 pacientes con TE, en el que la mediana de seguimiento fue de 8 años, la incidencia de conversión a SMD o LA, fue de 3,5% en pacientes que sólo habían recibido tratamiento con hidroxiurea y 14% en los pacientes que habían recibido HU en combinación con P32, busulfán o pipobromán (86).

Es un hecho demostrado en la literatura que la asociación de la HU con otros agentes, o la utilización de alquilantes e HU secuencialmente, incrementan de forma significativa el riesgo leucémico (76). Sin embargo, hasta la fecha, no hay ningún estudio randomizado, ni en el contexto de PV ni en el de TE, que demuestre que por sí sola, la hidroxiurea tiene una mayor capacidad leucemógena que cualquier otra estrategia terapéutica utilizada en estas enfermedades.

En resumen, la transformación aguda de los SMP es un hecho común a estas enfermedades que aparece con

distinta incidencia y tiempo de latencia en los diferentes SMP. Estas leucemias agudas pueden presentar características moleculares comunes, aunque ninguna especifi-

ca. Su pronóstico sigue siendo muy malo, aunque en la LMC la aparición de inhibidores de la tirosino-cinasa ha abierto perspectivas esperanzadoras.

BIBLIOGRAFÍA

- Cervantes F, Rozman C. A multivariate analysis of prognostic factors in chronic myeloid leukemia. *Blood* 1982; 60: 1298-304.
- Silverstein MN, Brown AN, Linman JW. Idiopathic myeloid metaplasia. Its evolution in acute leukemia. *Arch Int Med* 1973; 132: 709-12.
- López-Guillermo A, Cervantes F, Rovira M, et al. Mielofibrosis idiopática: patrones evolutivos, supervivencia y causas de muerte en una serie de 60 pacientes. *Sangre* 1990; 35: 114-8.
- Belluci S, Janvier M, Tobelem G, et al. Essential Thrombocythemia. Clinical evolution and biological data. *Cancer* 1988; 58: 2440-7.
- Landaw SA. Acute leukemia in polycythemia vera. *Sem Hematol* 1986; 23: 156-65.
- Karanas A, Silver RT. Characteristics of the terminal phase of chronic granulocytic leukemia. *Blood* 1968; 32: 445-59.
- Janosy G, Woodruff RK, Pippard MJ, et al. Relation of "lymphoid" phenotype and response to chemotherapy incorporating vincristine-prednisolone in the acute phase of Ph1 positive leukemia. *Cancer* 1979; 43: 426-34.
- Kantarjian HM, Keating MJ, Talpaz M, et al. Chronic myelogenous leukemia in blast crisis. *Am J Med* 1987; 83: 445-54.
- Sawyers ChL. Chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999; 340: 1330-40.
- Canitrot Y, Lautier D, Laurent G, et al. Mutator phenotype of BCR-ABL transfected Ba/F3 cell lines and its association with enhanced expression of DNA polymerase beta. *Oncogene* 1999; 18: 2676-80.
- Takedem N, Shibuya M, Maru Y. The BCR-ABL oncoprotein potentiates interaction with the xeroderma pigmentosum group B protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 203-7.
- Deutsch E, Dugray A, Abdulkarim B, et al. BCR-ABL down regulates the DNA repair protein DNA-PKcs. *Blood* 2001; 113: 329-338.
- Boultwood J, Penker A, Wathins F, et al. Telomere length shortening in chronic myelogenous leukemia is associated with reduced time to accelerated phase. *Blood* 2000; 96: 358-61.
- Roman J, Castillejo JA, Jimenez A, et al. Hypermethylation of the calcitonin gene in acute lymphoblastic leukaemia is associated with unfavourable clinical outcome. *Br J Haematol* 2001; 113: 329-38.
- Cervantes F, López-Guillermo A, Bosch F, et al. An assessment of the clinicohematological criteria for the accelerated phase of chronic myelogenous leukemia. *Eur J Haematol* 1996; 57: 286-91.
- Sokal JE, Baccarani M, Russo D, et al. Staging and prognosis in chronic myelogenous leukemia. *Semin Hematol* 1988; 25: 49-61.
- Savage DG, Szydlo RM, Chase A, et al. Bone marrow transplantation for chronic myeloid leukemia: the effects of differing criteria for defining chronic phase on probabilities of survival and relapse. *Br J Haematol* 1997; 99: 30-5.
- Savage DG, Szydlo RM, Goldman JM. Clinical features at diagnosis in 430 patients with chronic myeloid leukaemia seen at a referral centre over a 16-year period. *Br J Haematol* 1997; 96: 111.
- Muehleck SD, McKenna, Arthur DC, et al. Transformation of chronic myelogenous leukemia: Clinical, morphologic, and cytogenetic features. *Am J Clin Pathol* 1984; 82: 1-14.
- Koeffler HP, Golde DW. Chronic myelogenous leukemia. New concepts. *N Eng J Med* 1981; 304: 1201-1209; 1269-74.
- Rosenthal S, Canellos GP, Whang-Peng J, et al. Blast crisis of chronic granulocytic leukemia: morphologic variants and therapeutic implications. *Am J Med* 1976; 60: 209-220.
- Coleman M, Silver RT, Pajak TF, et al. Combination chemotherapy for terminal-phase chronic granulocytic leukemia: Cancer and Leukaemia Group B studies. *Blood* 1980; 55: 29-36.
- Peterson LC, Bloomfield CD, Brunning RD. Blast crisis as an initial or terminal manifestations of chronic myeloid leukemia. *Am J Med* 1976; 60: 209-20.
- Thiele J, Laubert A, Wywoupl KF, et al. Autopsy and clinical findings in acute leukaemia and chronic-myeloproliferative diseases. An evaluation of 104 patients. *Pathol Res Pract* 1985; 179: 328-36.
- Janosy G, Greaves MF, Revesz T, et al. Blast crisis of chronic myeloid leukemia (CML). II. Cell surface markers analysis of "lymphoid" and myeloid cases. *Br J Haematol* 1976; 34: 179.
- Hernández JM, González-Sarmiento R, Martín R, et al. Immunophenotypic, genomic and clinical characteristics of blast crisis of chronic myelogenous leukemia. *Br J Haematol* 1991; 79: 408-14.
- Breton-Gorius J, Reyes F, Vernant JP, et al. The blast crisis of chronic granulocytic leukemia: Megakaryoblastic nature of cells as revealed by the presence of platelet-peroxidase. A cytochemical study. *Br J Haematol* 1978; 39: 295-303.
- Polli N, O'Brien M, Tavares de Castro J, et al. Characterization of blast cells in chronic granulocytic leukemia in transformation, acute myelofibrosis and undifferentiated leukemia. *Br J Haematol* 1985; 59: 277-96.
- San Miguel JF, Hernández JM. Crisis blástica en leucemia mieloide crónica. F Cervantes (Ed), Barcelona: Edit Doyma, 1990.
- Griffin JD, Todd RF, Ritz J, et al. Differentiation patterns in the blastic phase of chronic myeloid leukemia. *Blood* 1983; 6: 85-91.
- Bettelheim P, Lutz D, Majdic O, et al. Cell lineage heterogeneity in blast crisis of chronic myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 1985; 59: 395-409.
- San Miguel, Tavares de Castro, Matutes E, et al. Characterization of blast cells in chronic granulocytic leukaemia in transformation, acute myelofibrosis and undifferentiated leukaemia. *Br J Haematol* 1985; 59: 297-309.
- Saikia T, Advani S, Dasgupta A, et al. Characterization of blast cells during blastic phase of chronic myeloid leukemia by immunophenotyping-experience in 60 patients. *Leuk Res* 1988; 12: 499.
- Derderian PM, Kantarjian HM, Talpaz M, et al. Chronic myeloid leukemia in the lymphoid blastic phase: characteristics, treatment response, and prognosis. *Am J Med* 1993; 94: 69-74.
- Cervantes F, Villamayor N, Steve J, et al. "Lymphoid" blast crisis of chronic myeloid leukemia is associated with distinct clinicohematological features. *Br J Haematol* 1998; 100: 123-8.
- Bakshi A, Minowada J, Arnold A, et al. Lymphoid blast crisis of chronic myelogenous leukemia represent stages in the development of B-cell precursors. *N Eng J Med* 1983; 309: 826-31.
- Kurzock R, Gutterman JU, Talpaz M. The molecular genetics of Philadelphia-chromosome positive leukemias. *N Engl J Med* 1988; 319: 990.
- Giannone L, Whitlock JA, Kinney MC, et al. Use of the BCR probe to demonstrate extramedullary recurrence of CGL with a T cell lymphoid phenotype following bone marrow transplantation. *BMT* 1988; 3: 631.
- Gramatzki M, Bartram CR, Müller D, et al. Early T cell differentiated chronic myeloid leukemia blast crisis with rearrangement of the break-point cluster region but not of the T cell receptor chain genes. *Blood* 1987; 69: 1082.
- Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, et al. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Eng J Med* 1999; 341: 164-72.
- Canellos GP. Clinical characteristics of the blast phase of chronic granulocytic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 1990; 4: 359-67.
- Mitelman F. The cytogenetic scenario of chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 1993; 11: 11-5.
- Thijssen SFT, Schunrhuis GJ, Van Oostveen JW, et al. Chronic myeloid leukemia from basics to bedside. *Leukemia* 1999; 13: 1646-74.
- Deininger MWN, Goldman JM, Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000; 96: 3343-56.

45. Yamaguchi H, Inokuchi K, Sakuma Y, et al. Mutation of the p51/p63 gene is associated with blastic crisis in chronic myelogenous leukemia. *Leukemia* 2001; 15: 1729-34.
46. Ahuja H, Bar-Eli M, Arlin Z, et al. The spectrum of molecular alterations in the evolution of chronic myelocytic leukemia. *J Clin Invest* 1991; 87: 2042.
47. Cervantes F, Rozman M, Rosell J, et al. A study of prognostic factors in blast crisis of Philadelphia chromosome-positive myelogenous leukaemia. *Br J Haematol* 1990; 76: 27-32.
48. Visani G, Rosti G, Bandini G, et al. Second chronic phase before transplantation is crucial for improving survival of blastic phase chronic myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2000; 109: 722.
49. Druker BJ, Sawyers CL, Kantarjian H, et al. Activity of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome. *N Engl J Med* 2001; 344: 1038.
50. Sawyers C, Hochhaus A, Feldman E, et al. A phase II study to determine the safety and antileukemic effects of ST571 in patients with Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukemia in myeloid blast crisis [abstract]. *Blood* 2000; 96: 503a.
51. Ottmann OG, Sawyers C, Druker B, et al. A phase II study to determine the safety and antileukemic effects of STI571 in adult patients with Philadelphia chromosome positive acute leukemias. *Blood* 2000; 96: 828a.
52. Adamson JW, Fialkow PJ. The pathogenesis of myeloproliferative syndromes. *Br J Haematol* 1978; 38: 299.
53. Wasserman LR. The management of polycythemia vera. *Br J Haematol* 1971; 21: 371.
54. Berk PD, Goldberg JD, Silverstein MN, et al. Increased evidence of acute leukemia in polycythemia vera associated with clorambucil therapy. *N Eng J Med* 1981; 304: 444.
55. Landaw SA. Acute leukemia in polycythemia vera. In Wasserman R, Berk PO, Berlin NI (eds): *Polycythemia Vera and Myeloproliferative disorders*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1995; p. 154.
56. Berk PD, Wasserman LR, Fruchtmann SM, et al. Treatment of polycythemia vera: a summary of clinical trials conducted by the polycythemia vera study group. In Wasserman R, Berk PO, Berlin NI (eds): *Polycythemia Vera and Myeloproliferative disorders*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1995; p. 66.
57. Fruchtmann SM, Mack K, Kaplan ME, et al. From efficacy to safety: a polycythemia vera study group report on hydroxyurea in patients with polycythemia vera. *Semin Hematol* 1997; 34: 17-23.
58. Najean Y, rain JD, Dresch C, et al. Acute leukemia and myelodysplasia in polycythemia vera: a clinical study with long-term follow up. *Cancer* 1988; 61: 89.
59. Hernández JM, Orfao A, González M, et al. Immunophenotypic characterization of acute leukemia following polycythemia vera. *J Clin Pathol* 1993; 46: 668.
60. Díez-Martín JL, Graham DL, Pettit RM, Dewald GW. Chromosomes studies in 104 patients with polycythemia vera. *Mayo Clin Proc* 1991; 60: 287.
61. Dewald GW, Wright PI. Chromosome abnormalities in myeloproliferative disorders. *Semin Oncol* 1995; 22: 341.
62. Mertens F, Johanson B, Heim S, et al. Karyotypic patterns in chronic myeloproliferative disorders: report on 74 cases and review of the literature. *Leukemia* 1991; 5: 214-20.
63. Hoyle CF, De Bastos M, Barzilai D. AML associated with previous cytotoxic therapy, MDS or myeloproliferative disorders: results from the MRC's 9th AML trial. *Br J Haematol* 1989; 72: 45.
64. Hazani A, Tatarsky T, Burzila. Prolonged remission of leukemia associated with polycythemia vera. *Cancer* 1977; 40: 1297.
65. Visani G, Finelli C, Castelli U, et al. Myelofibrosis with myeloid metaplasia. Clinical and haematological parameters predicting survival in a series of 133 patients. *Br J Haematol* 1990; 75: 4-9.
66. Cervantes F, Barosi G, Demory JL, et al. Myelofibrosis with myeloid metaplasia in young individuals: disease characteristics, prognostic factors and identification of risk groups. *Br J Haematol* 1998; 102: 684-690.
67. Barosi G, Ambrosetti A, Centra A, et al. Splenectomy and risk of blast transformation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 1998; 91: 3630-6.
68. Polliack A, Prokocimer M, Matzner Y. Lymphoblastic leukemia transformation in myelofibrosis and myeloid metaplasia. *Am J Hematol* 1989; 9: 211.
69. García S, Miguel A, Zinares M, et al. Idiopathic myelofibrosis terminating in erythroleukemia. *Am J Hematol* 1989; 32: 70.
70. Hernández JM, Miguel S, González M, et al. Development of acute leukemia after idiopathic myelofibrosis. *J Clin Pathol* 1992; 45: 427.
71. Kimura A, Kawaishi K, Nakata Y, et al. Leukemia transformation of primary myelofibrosis: immunophenotype, genotype and growth characteristics of blast cells. *Leuk Lymph* 1995; 19: 493.
72. Reilly JT, Wilson G, Barnett D, et al. Karyotype and ras gene mutational analysis in idiopathic myelofibrosis. *Br J Haematol* 1994; 88: 575-81.
73. Dupriez B, Morel P, Demory JL. Prognostic factors in agnogenic myeloid metaplasia: a report on 195 cases with a new scoring system. *Blood* 1996; 88: 1013-8.
74. Reilly JT. Idiopathic myelofibrosis: pathogenesis, natural history and management. *Blood Reviews* 1997; 11: 233-42.
75. Sedlacek SM, Curtis JL, Weintraub J. Essential thrombocythemia and leukemic transformation. *Medicine (Baltimore)* 1986; 65: 353-64.
76. Murphy S, Peterson P, Lland H, et al. Experience of the Polycythemia Vera Study Group with essential thrombocythemia: a final report on diagnostic criteria, survival, and leukemic transition by treatment. *Semin Hematol* 1997; 34: 29-39.
77. Sterkers Y, Preudhomme C, Lai JL, et al. Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes following essential thrombocythemia treated with hydroxyurea: high proportion of cases with 17p deletion. *Blood* 1998; 91: 616-22.
78. Fenaux P, Simon M, Caulier MT, et al. Clinical course of essential thrombocythemia in 147 cases. *Cancer* 1990; 66: 549-56.
79. Bellucci S, Janvier M, Tobelem G, et al. Essential thrombocythemias. Clinical evolutionary and biological data. *Cancer* 1986; 58: 2440-7.
80. Chistolini A, Mazzuconi MG, Ferrari A, et al. Essential Thrombocythemia: a retrospective study on the clinical course of 100 patients. *Haematologica* 1990; 75: 537.
81. Colombi M, Radaelli F, Zocchi L, et al. Thrombotic and hemorrhagic complications in essential thrombocythemia. A retrospective study of 103 patients. *Cancer* 1991; 67: 2926-30.
82. Geller SA, Shapiro E. Acute leukemia as a natural sequel to primary thrombocythemia. *Am J Clin Pathol* 1982; 77: 353-56.
83. Shibata K, Shinamoto Y, Shuga K, et al. Essential thrombocythemia terminating in acute leukemia with minimal myeloid differentiation - a brief review of recent literature. *Acta Haematol* 1994; 91: 84-8.
84. San Miguel JF, Hernández JM. Características de las transformaciones leucémicas de los síndromes mieloproliferativos. *Rev Cancer* 1993; 7: 93-100.
85. Frei-Lahr D, Barton JC, Hoffman R, et al. Blastic transformation of essential thrombocythemia: dual expression of myelomonoblastic/megakaryoblastic phenotypes. *Blood* 1984; 63: 866-72.
86. Stekers Y, Preudhomme, Lai JL, et al. Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes following essential thrombocythemia treated with hydroxyurea: high proportion of cases with 17p deletion. *Blood* 1998; 91: 616-22.
87. Gaidano G, Pastore C, Santini V, et al. Genetic lessons associated with blastic transformation of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Genes Chromosom Cancer* 1997; 19: 250-5.
88. Emilia G, Sacchi S, Temperani P, et al. Progression of essential thrombocythemia to blastic crisis via idiopathic myelofibrosis. *Leuk Lymphoma* 1993; 9: 423.
89. Tefferi A, Silverstein M. Treatment of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Baillière's Clinical Haematology* 1998; 11: 769-85.

Tratamiento de la tricoleucemia

J. F. TOMÁS MARTÍNEZ

Servicio de Hematología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid

La tricoleucemia o leucemia de células peludas, fue descrita inicialmente por Bouroncle y cols. en 1958 como reticuloendoteliosis leucémica, por el aspecto morfológico de los elementos celulares neoplásicos que por su tamaño y morfología recordaban a las células del denominado entonces sistema reticuloendotelial (1). La enfermedad se caracteriza por la presencia de linfocitos B circulantes que muestran unas prolongaciones citoplásmicas a modo de finos pelos y un patrón de infiltración medular y esplénico característicos. Por todo ello en 1966 su denominación se modificó por la de leucemia de células peludas (2). La enfermedad tiene una predominancia en los varones frente a las mujeres (4:1) y la mediana de edad al diagnóstico son los 52 años. No es un proceso común y representa menos del 2% del total de las leucemias diagnosticadas en la edad adulta (3). Clínicamente los pacientes se presentan con esplenomegalia y células peludas circulantes (90%), acompañadas de pancitopenia (70%). Menos del 10% de los pacientes desarrollan adenomegalias y por el contrario hasta un 30% pueden tener un hígado agrandado. Existe una especial susceptibilidad a las complicaciones infecciosas, tanto por infecciones bacterianas piógenas, como por otros organismos oportunistas como *Aspergillus*, *Histoplasma*, *Listeria monocytogenes*, *Cryptococcus* y *Pneumocystis Carinii*. Sin embargo, en distintas series se ha remarcado la especial susceptibilidad al desarrollo de infecciones por micobacterias atípicas, particularmente por *Mycobacterium kansasii*. La frecuencia y severidad de las infecciones no se ha relacionado con la esplenectomía que se realizaba a muchos de estos pacientes, sino con el grado y duración de la neutropenia y monocitopenia que acompañan al proceso (4). Un pequeño número de pacientes pueden desarrollar cuadros de vasculitis sistémica con una histología de vasculitis leucocitoclástica indistinguible de la que acompaña a otros trastornos autoinmunes, e incluso cuadros de poliarteritis nudosa

(5). La afectación ósea en forma de lesiones osteolíticas en el esqueleto axial o en el fémur proximal ha sido descrita en algunos pacientes. El diagnóstico se basa en la presencia en sangre periférica y/o médula ósea de una proliferación de linfocitos B con una morfología característica, un inmunofenotipo compatible (CD19+, CD20+, CD22+, CD11c+, CD25+, CD103+, CD5-) y un comportamiento citoquímico propio (positividad a la fosfatasa ácida y ulterior resistencia al tartrato). La positividad del antígeno CD103, presente de forma fisiológica en los linfocitos asociados a mucosas, linfocitos T intraepiteliales y algunos linfocitos activados, junto a los antígenos pan-B clásicos, es muy sugestiva de tricoleucemia (6). El diagnóstico diferencial debe realizarse principalmente con la leucemia linfática crónica clásica, la leucemia prolinfocítica, algunos linfomas leucemizados y, especialmente, con el linfoma esplénico con linfocitos vellosos circulantes. La distinción más compleja en ocasiones es con éste último proceso, ya que la morfología de los linfocitos circulantes y la esplenomegalia pueden ser elementos de confusión. Aunque un hematopatólogo experimentado puede encontrar elementos morfológicos diferenciales, como un citoplasma más abundante en la tricoleucemia y con tendencia a la palidez, o una morfología nuclear en granos de café, el inmunofenotipo y el patrón de infiltración esplénica son definitivos. En este sentido el linfoma esplénico con linfocitos vellosos es CD103-, sólo ocasionalmente presenta CD25+ e infiltra la pulpa blanca esplénica a diferencia de la tricoleucemia que de forma característica afecta a la pulpa roja (7,8).

La historia natural de la tricoleucemia antes de la introducción de los análogos de las purinas y cuando el tratamiento se basaba en la esplenectomía, ofrecía una supervivencia media de 53 meses (9-12), mientras que en la actualidad ésta aún no se ha alcanzado en las grandes series de pacientes que han recibido dichos análogos y con seguimientos medios superiores a los 8 años (13-16).

No todos los pacientes diagnosticados de tricoleucemia deben recibir tratamiento, ya que hasta un 10% de ellos nunca desarrollarán síntomas ni citopenias relevantes, y la enfermedad sólo requiere de una estrecha vigilancia para instaurar en su correcto momento los eficaces tratamientos que disponemos actualmente. Precisamente por esa alta eficacia, algunos autores discuten esta aproximación a la enfermedad y sugieren que todos los pacientes diagnosticados de tricoleucemia deberían recibir tratamiento. Sin embargo los tratamientos no están exentos de toxicidad y los criterios más aceptados para iniciar un tratamiento son los que se recogen en la tabla I.

TABLA I

CRITERIOS DE TRATAMIENTO DE LA TRICOLEUCEMIA

Citopenias
Hb < 11g/dl
Neutrófilos < 1.000/ml
Plaquetas < 100.000 /ml
Esplenomegalia sintomática
Infecciones
Síntomas constitucionales (fiebre, sudoración, astenia)
Vasculitis y/u otros trastornos autoinmunes

A continuación vamos a revisar los diferentes tratamientos disponibles y finalmente realizaremos una valoración de los mismos.

ESPLENECTOMÍA

Fue el primer tratamiento eficaz para esta enfermedad, ya que corregía de forma rápida las citopenias periféricas, de las que dependían las principales manifestaciones clínicas de la enfermedad (9-12). En esta época, se observó que el tamaño del bazo no era predictivo para alcanzar una correcta respuesta a la esplenectomía, y era más importante el grado de afectación medular con una mejor respuesta para aquellos con una afectación parcheada, frente a los que mostraban una masiva infiltración y fibrosis medular (17).

Aunque casi todos los pacientes mostraban cierto grado de respuesta y mejoraban su situación clínica, un 50% de los pacientes esplenectomizados requerían nuevo tratamiento por progresión de sus citopenias con una mediana de 8,3 meses desde la esplenectomía. Por ello, cuando se introdujeron otros tratamientos más eficaces se abandonó su uso, aunque la supervivencia global a los cinco años era cercana al 70%. En la actualidad la esplenectomía se reserva en aquellos pacientes en los que fracasan los tratamientos sistémicos, o muestran sangrado activo por trombocitopenia o infección, o una esplenomegalia sintomática.

CLORAMBUCIL Y OTROS AGENTES QUIMIOTERÁPICOS

Su empleo se limitó en la época de la esplenectomía al control de los pacientes que progresaban después de

la misma (18). Las respuestas fueron muy limitadas y especialmente la recuperación de la neutropenia sólo se alcanzaba en un pequeño número de pacientes. Aunque se han comunicado respuestas favorables en pacientes tratados con CHOP, su empleo, como sucedió con el clorambucil, se ha abandonado (19).

INTERFERÓN

El interferón alfa (Ifn-) fue el primer tratamiento sistémico capaz de erradicar al menos de forma parcial los tricoleucocitos de la médula ósea. La primera publicación apareció en 1984, empleaba una solución parcialmente purificada de interferón y lograron alcanzar respuestas en más de la mitad de los pacientes incluidos en el estudio (20). La primera serie que empleaba un Ifn- recombinante (Intron A: *Schering Corporation*) fue publicada en 1986 e incluía 64 pacientes (21). De ellos, 3 alcanzaron una respuesta completa (5%) y 45 una respuesta parcial (70%). Este mismo estudio se actualizó en 1990 con 195 pacientes y ofrecía unos resultados similares (22). La duración óptima del tratamiento era de un año y tratamientos más prolongados no mejoraban la tasa ni la calidad de las respuestas, pero aumentaban significativamente los efectos adversos. Una vez que se finalizaba el tratamiento con interferón, el tiempo que mediaba hasta la progresión era de unos 18-25 meses (23), y un nuevo tratamiento obtenía respuestas en casi un 70% de los pacientes. Los pacientes con infiltración medular por tricoleucocitos superior al 30% o recuentos plaquetarios inferiores a 150.000/ml, al finalizar el tratamiento tenían más probabilidades de una rápida progresión (24,25).

Los mecanismos por los cuales el Ifn- producía las remisiones en los pacientes con tricoleucemia se desconocen y la dosis recomendada es de 2 millones de unidades/m² tres días a la semana durante 12 meses. Es frecuente que los neutrófilos y hematíes disminuyan sus valores en los primeros dos meses del tratamiento, pudiendo ser necesario un soporte transfusional. Las plaquetas aumentan antes que la hemoglobina y los neutrófilos suelen responder de forma más tardía. Así unos valores de neutrófilos superiores a 1.500/ml no se alcanzan como mediana hasta los cinco meses de iniciado el tratamiento. Algunos trabajos recientes sugieren que una administración prolongada de interferón a una dosis similar a la utilizada en el tratamiento de la hepatitis vírica por VHC (3 millones/día/tres días a la semana), es bien tolerada y logra mantener la respuesta inicial hasta en un 60% de los pacientes a los cinco años (26).

2-DEOXYCOFORMICINA (PENTOSTATINA)

Este producto fue aislado del *Streptomyces antibioti - cus* y se demostró un potente inhibidor de la adenosina deaminasa (ADA), la misma enzima de la que son deficientes hasta un 30% de los niños con inmunodeficiencia combinada severa y cuyos linfocitos se lesionaban por un acúmulo de deoxiadenosín trifosfato. De esta

forma era una droga con un potencial efecto linfocitotóxico, lo que ha podido comprobarse en distintos procesos neoplásicos linfoides como la tricoleucemia (27).

Aunque la pentostatina se comenzó a utilizar en la misma época que el interferón, los primeros estudios reclutaron menos pacientes y una de las primeras publicaciones recoge la experiencia con 27 sujetos en un ensayo del ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*) (28). De ellos, en 16 (59%) se alcanzó una respuesta completa y en 10 una respuesta parcial (37%). Este mismo grupo publicó recientemente su experiencia en 50 pacientes que recibieron pentostatina a una dosis de 5 mg/m²/día/dos días/i.v. cada dos semanas hasta alcanzar la máxima respuesta (29). La tasa de remisiones completas fue de un 64% y las respuestas globales del 85%. La toxicidad fue moderada e incluía náuseas, vómitos, rash cutáneo, conjuntivitis y neurotoxicidad ocasional. La neutropenia fue severa en un 70% de los pacientes y la mortalidad por infección atribuible al tratamiento sucedió en un 6% de los pacientes. Otros grupos han utilizado una dosis inferior de pentostatina (4 mg/i.v./día/15 días hasta máxima respuesta o 4 mg/m²/día/3 semanas x 8 ciclos) con resultados clínicos similares, pero menos complicaciones infecciosas severas (30).

La superioridad de la pentostatina sobre el interferón se demostró en un estudio randomizado coordinado por el NCI (*National Cancer Institute*), que se inició en 1986 y que incluía pacientes no esplenectomizados (31). El estudio cruzaba de rama a los pacientes que no respondían o progresaban con el tratamiento adjudicado. En un análisis inicial se demostró una tasa de remisiones completas significativamente superiores con la pentostatina (76% vs 11%; $p < 0,0001$). Con una mediana de seguimiento de 57 meses, se comprobó también que las remisiones tendían a ser duraderas en los pacientes que recibían pentostatina, frente a los tratados con interferón. Así sólo 10/117 pacientes de aquéllos progresaron frente a 12/17 de los que habían alcanzado una remisión completa con Ifn- α ($p < 0,0001$). El NCI ha actualizado recientemente los datos clínicos de 241 pacientes tratados con pentostatina en este estudio (154 al inicio y 87 por fracaso del interferón) y con una mediana de seguimiento de 9,3 años la supervivencia estimada a los cinco y diez años era de un 90% (87-94%) y un 81% (75-86%) respectivamente (32). Se da la circunstancia de que es la serie con mayor seguimiento de pacientes con tricoleucemia tratados con alguna de las drogas disponibles, además de que no pudo demostrar ni una mayor frecuencia de neoplasias secundarias ni un impacto aparente de la tricoleucemia en la supervivencia, ya que sólo 2 de las 40 muertes registradas eran por tricoleucemia y el resto fue por causas que no diferían del resto de la población.

2-CLORODEOXIADENOSINA (CLADRIBINA)

La 2-clorodeoxiadenosina (2-Cda) es un análogo de las purinas que no inhibe a la adenosín deaminasa (ADA), pero es resistente a ésta. Este agente parece

acumularse en los linfocitos porque en éstos abunda la enzima deoxicitidín kinasa que fosforila a la 2-Cda, lo que genera un nucleótido responsable de la inhibición de la ADA (33).

Fueron Piro y cols. quienes demostraron por primera vez en 1990 la eficacia de esta droga en el tratamiento de la tricoleucemia, cuando obtuvieron una respuesta completa en 11/12 pacientes a los que administraron un único curso de 2-Cda a una dosis de 0,1mg/kg/día/i.v./infusión continua/7 días (34). Con una mediana de seguimiento de 15,5 años ninguno de estos pacientes ha recaído. El mismo grupo de la *Scripps Clinic* de la Jolla, ha publicado recientemente su experiencia en 349 pacientes tratados con 2-Cda (15). En 319 se obtuvo una remisión completa (91%) y en 22 una respuesta parcial (6%). Un 26% de los pacientes recayeron con una mediana de 29 meses. De ellos, fueron tratados 53 con un segundo curso de 2-Cda, alcanzando 33 una nueva respuesta completa (62%) y 14 una respuesta parcial (26%). De esta forma podemos comprobar cómo muy pocos pacientes se muestran resistentes al tratamiento con 2-Cda, ya sea al diagnóstico (3%) o en una ulterior recidiva (12%).

El NCI también presentó sus datos en su registro de un estudio en fase II a través de sus protocolos de Grupo C en 979 pacientes registrados (35). De ellos 861 eran evaluables para respuesta y 895 para toxicidad. Más de la tercera parte habían recibido tratamiento previo. La tasa de remisiones completas fue del 50% y las remisiones parciales del 37%. Con una mediana de seguimiento de 52 meses, un 12% de los pacientes habían progresado y un 7% habían fallecido por causas relacionadas con la tricoleucemia.

Al menos tres series superiores a 50 pacientes se han publicado y la tasa de remisiones completas fue del 70-80%, con respuestas parciales en casi todos los restantes pacientes y una resistencia primaria inferior al 8% (36-38). Del mismo modo es interesante señalar que a pesar de ser fármacos con evidentes analogías, no parecen tener una resistencia cruzada. Así Saven y Piro obtuvieron una respuesta completa en 4/5 pacientes que no habían tolerado o eran resistentes a la pentostatina (39). Estos datos también fueron comprobados por el NCI (35).

Frente a la posología clásica, algunos grupos han demostrado la posibilidad de administrar la droga en una infusión de 2 horas durante siete días en vez de en infusión continua, reducir los días de tratamiento a 5 días (40) o incluso se han ensayado presentaciones orales de 2-Cda (41) o su administración subcutánea (42).

El principal problema en el tratamiento con 2-Cda, y también con la pentostatina, es la inmunosupresión que asocian. En efecto, ambas drogas disminuyen la cuantía de linfocitos totales y especialmente de las poblaciones T. Los niveles de linfocitos CD4+ y CD8+ se reducen a menos de 200/ml, al menos durante los seis siguientes meses desde la administración de la 2-Cda. En una serie corta de 15 pacientes tratados con pentostatina, la mediana para la recuperación de los linfocitos CD4+ fue de 54 meses (43) y en un estudio similar en pacientes tratados con 2-Cda fue de 40 meses (44). Sin embargo, clínicamente no se han documentado en la frecuen-

cia que cabría esperar, un aumento de las infecciones severas. En el grupo de la *Scripps Clinics*, en el seguimiento sólo se recogieron 9 infecciones severas, siete casos de *Herpes zoster*, y dos infecciones por micobacterias en los años que seguían al tratamiento (15). No obstante, se recomienda evitar el empleo de esteroides en estos pacientes, ya que su asociación podría incrementar el riesgo de infecciones oportunistas.

BL-22 (INMUNOTOXINA RECOMBINANTE ANTI-CD22)

En fecha reciente, Kreitman y cols. (45) presentaron sus resultados en el tratamiento con BL22 de 16 pacientes con tricoleucemia con una respuesta inadecuada a la 2-Cda, bien por una duración corta de la remisión completa (2 casos) o por haber presentado respuesta parcial o nula a la misma (14 casos). El BL22 es una molécula de diseño que consta de un anticuerpo monoclonal frente al CD22 al que se une una exotoxina de *Pseudomonas*. Los autores obtuvieron una respuesta completa en 11/16 pacientes tratados. El principal efecto adverso fue el desarrollo de un síndrome urémico-hemolítico severo, pero reversible, en dos pacientes. Aunque estos resultados son muy esperanzadores teniendo en cuenta la escasa resostencia inicial a la 2-Cda y la buena respuesta que se obtiene de nuevo con la misma en los tratamientos de rescate, el empleo de esta droga va ser puntual.

OTROS TRATAMIENTOS

Aunque se han publicado algunos casos puntuales de pacientes resistentes a análogos de las purinas que han recibido rituximab (anti-CD20) (46-48) o incluso fludarabina (49), se trata de casos puntuales y no hay suficiente información para recomendar su utilización, aunque estudios *in vitro* han demostrado su actividad (50).

EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA

Muchos de los problemas en la interpretación de los estudios clínicos en la tricoleucemia, derivan de los criterios y métodos de evaluación de la respuesta al tratamiento. Los criterios clínicos son sencillos y reproducibles: normalización de las citopenias y reducción del tamaño esplénico. Los criterios biológicos valoran la desaparición de tricoleucocitos en sangre y médula ósea, pero su sensibilidad se modifica de forma importante según la técnica que empleemos. El estudio por inmunohistoquímica de los bloques de biopsia ósea empleando un anti-CD20 demuestra enfermedad residual en un 13-51% de los casos de aparente remisión completa (51). La presencia de enfermedad residual puede incrementarse aún más cuando se usan técnicas moleculares (52). No obstante, aunque hay relación entre la cantidad de enfermedad residual y la probabilidad de recaída (53,54), el tratamiento sigue reservándose a aquellos pacientes con sintomatología derivada del desarrollo de citopenias o las recogidas en la tabla I.

TRICOLEUCEMIA Y DESARROLLO DE SEGUNDAS NEOPLASIAS

Teniendo en cuenta que con el empleo de análogos de las purinas la supervivencia media de los pacientes con tricoleucemia a los cinco años es de un 90% y a los diez años cercana al 80%, la probabilidad de que desarrollen un mayor número de neoplasias secundarias relacionadas con la profunda inmunosupresión de estas drogas, ha alertado a los principales grupos cooperativos que han trabajado en este campo.

En una revisión de la Universidad de Chicago de 172 pacientes con tricoleucemia, seguidos por un periodo de diez años, los autores sugerían un aumento de las segundas neoplasias, revisando 15 casos de su centro (55). En una publicación del mismo grupo, diez años después y centrados en los pacientes que habían recibido interferón, Kampmeier y cols. recogieron 13 casos de segundas neoplasias de un total de 69 pacientes tratados con interferón, sugiriendo un posible papel de este fármaco en su desarrollo (56). Otro estudio en Canadá también mostraba una incidencia de segundas neoplasias mayor a lo esperado entre 117 pacientes seguidos durante 20 años, de los que 26 fueron diagnosticados de un nuevo tumor (57).

Por el contrario en estudios más recientes, con series más amplias de pacientes, no ha podido comprobarse este hecho. Así, ni el grupo del MD Anderson en una serie de 350 pacientes tratados fundamentalmente con interferón (58), ni el NCI en su serie de 928 pacientes (35), ni el grupo de Piro, han demostrado una mayor frecuencia de segundas neoplasias (15). En este sentido el estudio más firme ha sido publicado recientemente por parte del Grupo Cooperativo Italiano para el Estudio de la Tricoleucemia que ha revisado su experiencia en una serie de 1.022 pacientes con tricoleucemia y donde no han podido demostrar una mayor incidencia de segundas neoplasias (59).

APROXIMACIÓN AL TRATAMIENTO DE LA TRICOLEUCEMIA

Nuestra actitud en los pacientes diagnosticados de tricoleucemia es iniciar el tratamiento basado en los datos clínicos del paciente (Tabla I). Aquellos pacientes que requieren tratamiento reciben 2-Cda a una dosis de 0,1mg/kg/día/ x 7 días en infusión continua por vía endovenosa. Nuestra preferencia por la 2-Cda se basa en la comparación de la misma con la pentostatina (Tabla II). Si durante el tratamiento aparece fiebre, se

TABLA II

RESULTADOS DEL TRATAMIENTO DE LA TRICOLEUCEMIA CON DOS ANÁLOGOS DE LAS PURINAS

	2-Cda	Pentostatina
RC	80-90%	60-70%
RP	10-20%	20-30%
Resistencia	<8%	10-15%
Posología	Unico tratamiento 7 días	Ciclos Al menos 4-6 meses
Toxicidad	Fiebre por infusión Inmunosupresión	Naúseas, vómitos Inmunosupresión Neurotoxicidad

realiza un manejo similar a los pacientes neutropénicos, pero no se interrumpe la administración. Si a pesar de los antiinfecciosos persiste la fiebre y si no hay foco clínico ni documentación microbiológica, se administra algún antiinflamatorio/antitérmico ya que la fiebre podría deberse a la 2-Cda. No administramos de forma rutinaria G-CSF ni eritropoyetina a estos pacientes y

realizamos una primera reevaluación de la histología medular a los 3-4 meses después del tratamiento.

Los pacientes que recidivan tras un primer curso de 2-Cda o tras otro tratamiento (esplenectomía, pentostatina, interferón), reciben un nuevo curso de 2-Cda. Si el paciente progresa tras dos cursos previos de 2-Cda valoramos el uso de interferón o de pentostatina.

BIBLIOGRAFÍA

- Bouroncle BA, Wiseman BK, Doan CA. Leukemic reticuloendotheliosis. *Blood* 1958; 13: 609-13.
- Schrek R, Donnelly WJ. "Hairy" cells in blood in lymphoreticular neoplastic disease and flagellated cells of normal lymph nodes. *Blood* 1966; 27: 199-205.
- Andrey J, Saven A. Therapeutic advances in the treatment of hairy cell leukemia. *Leuk Res* 2001; 25: 361-8.
- Golomb HM, Catovsky D, Golde DW. Hairy cell leukemia: a five year update on seventy-one patients. *Ann Intern Med* 1983; 99: 485-90.
- Eikon KB, Hughes GRV, Catovsky D, et al. Hairy cell leukemia with polyarteritis nodosa. *Lancet* 1979; 2: 280-2.
- Möller P, Mielke B, Moldenhauer G. Monoclonal antibody HML-1, a marker for intraepithelial T-cells and lymphomas derived thereof, also recognizes hairy cell leukemia and some B-cell lymphomas. *Am J Pathol* 1990; 136: 509-16.
- Troussard X, Valensi F, Duchayne E, et al. Splenic lymphoma with villous lymphocytes: clinical presentation, biology and prognostic factors in a series of 100 patients. *Br J Haematol* 1996; 93: 731-8.
- Matutes E, Morilla R, Owusu-Ankomah K, et al. The immunophenotype of splenic lymphoma with villous lymphocytes and its relevance to the differential diagnosis with other B-cell disorders. *Blood* 1994; 83: 1558-63.
- Mintz U, Golomb HM. Splenectomy as initial therapy in twenty-six patients with leukemic reticuloendotheliosis (hairy cell leukemia). *Cancer Res* 1979; 39: 2366-71.
- Jansen J, Hermans J. Splenectomy in hairy cell leukemia: a retrospective multicenter analysis. *Cancer* 1981; 47: 2066-73.
- Van Norman AS, Nagorney DM, Martin JK, et al. Splenectomy for hairy cell leukemia: a clinical review of 63 patients.
- Magee MJ, McKenzie S, Filippa DA, et al. Hairy cell leukemia durability of response to splenectomy in 26 patients and treatment of relapse with androgens in 6 patients. *Cancer* 1985; 56: 2557-61.
- Cheson BD, Sorensen JM, Vena DA, et al. Treatment of hairy cell leukemia with 2-chlorodeoxyadenosine via the Group C protocol mechanism of the National Cancer Institute: a report of 979 patients. *J Clin Oncol* 1998; 16 (9): 3007-15.
- Dearden CE, Matutes E, Hilditch BL, et al. Long-term follow-up of patients with hairy cell leukaemia after treatment with pentostatin or cladribine. *Br J Haematol* 1999; 106 (2): 515-9.
- Saven A, Burian C, Koziol JA, et al. Long-term follow-up of patients with hairy cell leukemia after cladribine treatment. *Blood* 1998; 92 (6): 1918-26.
- Saven A. Treatment of hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 2001; 345 (20): 1500-1.
- Golomb HM, Vardiman JW. Response to splenectomy in 65 patients with hairy cell leukemia: an evaluation of spleen weight and bone marrow involvement. *Blood* 1983; 61: 349-54.
- Golomb HM. Progress report on chlorambucil therapy in postsplenectomy patients with progressive hairy cell leukemia. *Blood* 1981; 57: 464-7.
- Calvo F, Castaigne S, Signaux F, et al. Intensive chemotherapy of hairy cell leukemia in patients with progressive disease. *Blood* 1985; 65: 115-21.
- Quesada JR, Reuben J, Manning JT, et al. Alpha interferon for induction of remission in hairy cell leukemia. *N Engl J Med* 1984; 310: 15-21.
- Quesada JR, Hersh EM, Manning J, et al. Treatment of hairy cell leukemia with recombinant alpha-interferon. *Blood* 1988; 68: 493-501.
- Golomb HM, Fefer D, Golde DW, et al. Report of a multi-institutional study of 193 patients with hairy cell leukemia treated with interferon alpha-2. *Semin Oncol* 1988; 15: 7-15.
- Ratain MJ, Golomb HM, Bardawil RG, et al. Durability of responses to interferon alpha-2b in advanced hairy cell leukemia. *Blood* 1987; 69: 672-7.
- Ratain MJ, Golomb HM, Vardiman JW, et al. Relapse after interferon-2b therapy for hairy cell leukemia: analysis of prognostic variables. *J Clin Oncol* 1986; 4: 900-07.
- Golomb HM, Ratain MJ, Fefer A, et al. A randomized study of the duration of treatment with interferon alfa-2b in hairy cell leukemia patients. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80: 369-78.
- Smith JW, Longo DL, Urba JW, et al. Prolonged subcutaneous treatment of hairy cell leukemia patients with recombinant interferon-alpha2a. *Blood* 1991; 78: 1664-71.
- Cohen A, Hirshhorn R, Horowitz SD, et al. Deoxyadenosine triphosphate as a potentially toxic metabolite in adenosine deaminase deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 2172-81.
- Spier ASD, Moore D, Cassileth PA, et al. Remissions in hairy cell leukemia with pentostatin (2-deoxycoformycin). *N Engl J Med* 1987; 316: 825-31.
- Cassileth PA, Chevart B, Spier ASD, et al. Pentostatin induces durable remissions in hairy cell leukemia. *J Clin Oncol* 1991; 9: 243-51.
- Kraut EH, Bouroncle BA, Grever MR. Pentostatin in the treatment of advanced hairy cell leukemia. *J Clin Oncol* 1989; 7: 168-76.
- Grever M, Kopecky K, Foucar MK, et al. A randomized comparison of pentostatin vs alpha-interferon in previously untreated patients with hairy cell leukemia: an intergroup study. *J Clin Oncol* 1995; 13: 974-87.
- Flinn IW, Kopecky KJ, Foucar MK, et al. Long-term follow-up of remission duration, mortality, and second malignancies in hairy cell leukemia patients treated with pentostatin. *Blood* 2000; 96: 2981-6.
- Fox RM, Mann CJ, Kefford RF. Deoxyadenosine toxicity to human peripheral blood lymphocytes: implications for 2-deoxyadenosine as a potential immunosuppressive drug. *Cancer Treatment Symposia* 1984; 2: 33-42.
- Piro LD, Carrera CJ, Carson DA, et al. Lasting remissions in hairy cell leukemia induced by a single infusion of 2-chlorodeoxyadenosine. *N Engl J Med* 1990; 332: 1117-22.
- Cheson BD, Sorensen JM, Vena DA, et al. Treatment of hairy cell leukemia with 2-chlorodeoxyadenosine via the Group C protocol mechanism of the National Cancer Institute: a report of 979 patients. *J Clin Oncol* 1998; 16: 3007-15.
- Zinzani PL, Magagnoli M, Bendandi M, et al. Long-term follow-up of hairy cell leukemia patients treated with 2-chlorodeoxyadenosine. *Haematologica* 2000; 85: 922-5.

37. Tallman MS, Hakimian D, Rademaker AW, et al. Relapse of hairy cell leukemia after 2-chlorodeoxyadenosine: long-term follow up of the Northwestern University experience. *Blood* 1996; 88: 1954-62.
38. Hoffman MA, Jansen D, Rose E, et al. Treatment of hairy cell leukemia with cladribine: response, toxicity, and long-term follow-up. *J Clin Oncol* 1997; 15: 1138-45.
39. Saven A, Piro LD. Complete remissions in hairy cell leukemia with 2-chlorodeoxyadenosine after failure with 2-deoxycoformycin. *Ann Intern Med* 1993; 119: 278-85.
40. Juliusson G, Eksborg S. A limited sampling strategy for estimation of the cladribine plasma area under the concentration versus time curve after intermittent i.v. infusion SC injection and oral administration. *Cancer Chem Pharmacol* 1996; 38: 536-43.
41. Liliemark J, Albertioni F, Hassan M, et al. On the bioavailability of oral and subcutaneous 2-chloro-2-deoxyadenosine in humans: alternative routes of administration. *J Clin Oncol* 1995; 10: 1514-23.
42. Betticher DC, Ratschiller D, Hsu Schmitz SF, et al. Reduced dose of subcutaneous cladribine induces identical response rates but decreased toxicity in pretreated chronic lymphocytic leukaemia. Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK). *Ann Oncol* 1998; 9: 721-6.
43. Seymour JF, Talpaz M, Kurzrock R. Response duration and recovery of CD4+ lymphocytes following deoxycoformycin in interferon-alfa-resistant hairy cell leukemia: 7-year follow-up. *Leukemia*; 1997; 11: 42-9.
44. Seymour JF, Kurzrock R, Freireich EJ, et al. 2-chlorodeoxyadenosine induces durable remissions and prolonged suppression of CD4+ lymphocyte counts in patients with hairy cell leukemia. *Blood* 1994; 83: 2906-12.
45. Kreitman RJ, Wilson WH, Bergeron K, et al. Efficacy of the anti-CD22 recombinant immunotoxin BL22 in chemotherapy-resistant hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 2001; 345: 241-7.
46. Hagberg H, Lundholm L. Rituximab, a chimeric anti-CD20 monoclonal antibody, in the treatment of hairy cell leukaemia. *Br J Haematol* 2001; 115: 609-11.
47. Hoffman M, Auerbach L. Bone marrow remission of hairy cell leukaemia induced by rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) in a patient refractory to cladribine. *Br J Haematol* 2000; 109: 900-1.
48. Lauria F, Lenoci M, Annino L, et al. Efficacy of anti-CD20 monoclonal antibodies (Mabthera) in patients with progressed hairy cell leukemia. *Haematologica* 2001; 86: 1046-50.
49. Kraut EH, Chun HG. Fludarabine phosphate in refractory hairy cell leukemia. *Am J Haematol* 1991; 37: 59-65.
50. Bellosillo B, Villamor N, Lopez-Guillermo A, Marce S, Esteve J, Campo E, et al. Complement-mediated cell death induced by rituximab in B-cell lymphoproliferative disorders is mediated in vitro by a caspase-independent mechanism involving the generation of reactive oxygen species. *Blood* 2001; 98: 2771-7.
51. Hakimian D, Tallman MS, Peterson L. Detection of minimal residual disease by immunostaining of bone marrow biopsies after 2-chlorodeoxyadenosine for hairy cell leukemia. *Blood* 1993; 82: 1798-805.
52. Filleul B, Delannoy A, Ferrant A, et al. A single course of 2-chlorodeoxyadenosine does not eradicate leukemic cells in hairy cell leukemia patients in complete remission. *Leukemia* 1994; 8: 1153-61.
53. Matutes E, Mees P, McLennan K, et al. The significance of minimal residual disease in hairy cell leukemia treated with deoxycoformycin: a long-term follow-up study. *Br J Haematol* 1997; 98: 375-82.
54. Wheaton S, Tallman MS, Hakimian D, et al. Minimal residual disease may predict bone marrow relapse in patients with hairy cell leukemia treated with 2-chlorodeoxyadenosine. *Blood* 1995; 87: 1556-63.
55. Jacobs RH, Vokes EE, Golomb HM. Second malignancies in hairy cell leukemia. *Cancer* 1985; 56: 1462-7.
56. Kampmeier P, Spielberg R, Dickstein J, et al. Increased incidence of second neoplasms in patients treated with interferon alpha-2 for hairy cell leukemia: a clinicopathological assessment. *Blood* 1994; 83: 2931-8.
57. Au WY, Klasa RJ, Gallagher R, et al. Second malignancies in patients with hairy cell leukemia in British Columbia: a 20-year experience. *Blood* 1998; 92: 1160-4.
58. Kurzrock R, Strom SS, Estey E, et al. Second cancer risk in hairy cell leukemia: Analysis of 350 patients. *J Clin Oncol* 1997; 15: 1803-10.
59. Federico M, Zinzani PL, Frassoldati A, et al. Risk of Second Cancer in Patients With Hairy Cell Leukemia: Long-Term Follow-Up. *J Clin Oncol* 2002; 20: 638-46.

Tratamiento de la leucemia linfática crónica y enfermedades afines

F. BOSCH, A. MUNTAÑOLA, E. MONTSERRAT

Servicio de Hematología. Institut de Malalties Hemato-Oncològiques. Hospital Clínic. Barcelona

INTRODUCCIÓN

Los síndromes linfoproliferativos crónicos con expresión leucémica (SLPC) son enfermedades caracterizadas por la proliferación de linfocitos, detenidos en diversas etapas de su desarrollo, que invaden la médula ósea, tejidos linfoides y sangre periférica. Dentro de los SLPC se incluyen muy diversas entidades (Tabla I) (1-4). En este trabajo se revisan sus principales características clínicas y tratamiento.

TABLA I

CLASIFICACIÓN DE LOS SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS CRÓNICOS CON EXPRESIÓN LEUCÉMICA

Origen linfoide B

Leucemia linfática crónica
Leucemia prolinfocítica B
Tricoleucemia
Linfomas leucemizados

Origen linfoide T

Leucemia prolinfocítica T
Leucemia de linfocitos grandes granulares T
Leucemia / linfoma T del adulto
Leucemia de células NK
Síndrome de Sézary

LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

GENERALIDADES

La leucemia linfática crónica (LLC) es una enfermedad caracterizada por la proliferación monoclonal de linfocitos inmunoincompetentes de pequeño tamaño,

aspecto maduro y fenotipo B. Es la forma más frecuente de leucemia en los países occidentales, con una incidencia de 2 casos por 100.000 habitantes y año. La mayoría de pacientes son mayores de 50 años (mediana de edad, 70 años) y es más frecuente en el sexo masculino (1,5:1) (5-7).

En más de la mitad de los casos el diagnóstico se realiza de forma casual (5). Las manifestaciones clínicas de esta enfermedad se deben a la progresiva infiltración de la médula ósea, ganglios linfáticos y otros tejidos por dichos linfocitos, así como a las diferentes alteraciones inmunológicas que acompañan a esta proliferación. Cuando la enfermedad depara síntomas, los más frecuentes son astenia, infecciones de repetición, anemia, aparición de adenopatías, esplenomegalia o hepatomegalia (5-7). Por otro lado, los pacientes con LLC tienen un riesgo superior a la población normal de desarrollar segundas neoplasias (8).

La patogenia molecular de esta enfermedad no es bien conocida. Alrededor de un 80% de los casos presentan alteraciones cromosómicas, entre las que destacan la del(13q14) (60%) (9,10), trisomía +12 (20%) (11), del (17p13) (7%) (11) y la del (11q22-23) (20%) (11). Por otro lado, aproximadamente un 50% de los casos de LLC presentan mutaciones somáticas en la región variable de la cadenas de las inmunoglobulinas, hecho de gran importancia etiopatogénica y pronóstica (12,13). Asimismo, en la LLC es rara la presencia de translocaciones cromosómicas, más propias de los linfomas no hodgkinianos (14).

En los exámenes de laboratorio destaca la leucocitosis, que suele estar comprendida entre 20 y 150 x 10⁹/L, con una linfocitosis superior al 75%. Los linfocitos suelen ser de pequeño tamaño, cromatina condensada y un citoplasma escaso, bien delimitado y de color basófilo claro (4-7). No se suelen observar nucleolos y son frecuentes las sombras de Grumprecht. El porcentaje de

linfocitos atípicos suele ser inferior al 10%. El linfocito de la LLC tiene un inmunofenotipo característico (Tabla II). Un 15-20% de casos presentan anemia en el momento del diagnóstico, mientras que la plaquetopenia es menos frecuente (5). La hipogammaglobulinemia es común, sobre todo en las fases avanzadas de la enfermedad (50% de los casos). En el 5-10% de los enfermos puede detectarse una gammapatía monoclonal (IgM o IgG) (5-7).

Los criterios diagnósticos son (4): a) linfocitosis mantenida, por lo general superior a $10 \times 10^9/L$; b) morfología típica, con menos de un 10% de células de aspecto inmaduro; c) fenotipo compatible con LLC (Tabla II); y d) infiltración de la médula ósea > 30% y/o biopsia medular compatible con LLC. El diagnóstico es posible con linfocitos < $10 \times 10^9/L$ si la morfología y el inmunofenotipo son típicos de LLC (4). En la tabla II se presentan las principales características inmunofenotípicas de los síndromes linfoproliferativos con los cuales puede plantearse el diagnóstico diferencial.

La mediana de supervivencia global es de alrededor de 10 años (5). Considerado individualmente, sin embargo, el pronóstico de los enfermos con LLC es sumamente variable. Así, mientras en algunos pacientes

la esperanza de vida no se ve modificada por la enfermedad, otros fallecen pocos meses después del diagnóstico. Los parámetros pronósticos más importantes son los estadios clínicos (15,16) (Tabla III), la histopatología medular (17), el recuento y tiempo de duplicación linfocitario (18), el número de prolinfocitos en sangre periférica (19,20), las alteraciones citogenéticas (21), la elevación de marcadores tumorales séricos (22), el aumento de la expresión de CD38 (23), y la presencia de mutaciones somáticas de VH (24,25) (Tabla IV). Así, los pacientes sin factores de riesgo tienen una esperanza de vida que no difiere de la población general; por el contrario, aquellos enfermos con factores de alto riesgo, tienen una mediana de supervivencia inferior a 2 años.

TRATAMIENTO

Antes de iniciar el tratamiento es necesario observar la evolución del enfermo durante unas cuantas semanas. Durante este periodo se completará el estudio del enfermo y se practicarán diversos recuentos sanguíneos a fin de poder calcular, por extrapolación, el previsible tiem-

TABLA II

INMUNOFENOTIPO DE LOS DIFERENTES SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS DE ORIGEN B (TABLA II-A) O DE ORIGEN T (TABLA II-B)

A	LLC	LPL-B	TL	LCM	LME	LF	LNH-B
IgS	+/-	++	++	++	+/-	++	++
CD5	++	+/-	-	++	-	-	- ⁽¹⁾
CD19	++	++	++	++	++	++	++
CD20	+/-	++	++	++	+/-	++	++
CD23	++	+/-	-	-	-	-	+/-
FMC7	+/-	++	++	++	++	++	++
CD10	-	-	-	-	-	++	++
CD11c	-	-	++	-	-	-	-
CD25	-	-	++	-	-	-	-

LLC= leucemia linfática crónica; LPL-B= leucemia prolinfocítica B; TL= triucleucemia; LCM= linfoma de células del manto; LME= linfoma marginal esplénico; LF= linfoma folicular; LNH= otros linfomas leucemizados.

⁽¹⁾ Positivo en algunos casos de linfoma linfoplasmocitoide.

B	LPL-T	LLTA	SS	LLGG	LNK
CD3	++	++	++	++	-
CD5	++	++	+	+/-	-
CD7	++	-	+/-	+/-	-
CD4	++ ⁽¹⁾	++ ⁽¹⁾	++	+/-	-
CD8	+/-	-	-	++	-
CD11b	-	-	-	+	+/-
CD57	-	-	-	+	-
CD56	-	-	-	-	+/-
TIA-1	-	-	+	++	-
TCR	+	+	++	++	-

LPL-T= leucemia prolinfocítica; LLTA= leucemia linfoma T del adulto; SS= síndrome de Sézary; LLGG= leucemia de linfocitos grandes granulares; LNK = leucemia de células NK.

⁽¹⁾ Pueden existir casos CD4+ CD8 +.

TABLE III
LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA. ESTADIOS CLÍNICOS DE BINET Y DE RAI (15,16)

ESTADIOS DE BINET		ESTADIOS DE RAI	
Binet A	Hb 10 g/dL, plaquetas 100 x 10 ⁹ /L y 2 áreas ganglionares afectas (Y)	Rai 0	Linfocitosis en s.p. y m.o. Bajo riesgo
Binet B	Hb 10 g/dL, plaquetas 100 x 10 ⁹ /L y 3 áreas ganglionares afectas (Y)	Rai 1	Linfocitosis + adenopatías Riesgo intermedio
Binet C	Hb <10 g/dL o plaquetas < 100 x 10 ⁹ /L	Rai 2	Linfocitosis + esplenomegalia y/o hepatomegalia
(Y) áreas ganglionares: 1. Cabeza y cuello (incluyendo anillo de Waldeyer) (uni- o bilateral); 2. Axilar (uni- o bilateral); 3. Inguinal (uni- o bilateral); 4. Esplenomegalia palpable; 5. Hepatomegalia palpable.		Rai 3	Linfocitosis + Hb < 11,0 g/dL Alto riesgo
		Rai 4	Linfocitosis + plaquetas < 100 x 10 ⁹ /L

TABLE IV

PRINCIPALES FACTORES PRONÓSTICOS DE LA LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA

FACTORES	BAJO RIESGO	ALTO RIESGO
	(MS > 15 años)	(MS < 5 años)
Edad	Joven	Mayor
Estadio clínico	Binet A, Rai 0/I	Binet B/C, Rai II-IV
Infiltración médula ósea	moderada	masiva
Morfología	típica	atípica
Tiempo duplicación linfocitario	> 12 meses	< 12 meses
Citogenética	normal, del (13q14)	del (17p), del (11q)
Marcadores séricos (LDH, TK, 2M, CD23)	normales	aumentados
Expresión CD38	baja	alta
Hipermutaciones IgV _H	mutaciones	no mutaciones

po de duplicación linfocitario. Todo ello permitirá conocer el estadio de la enfermedad y otros factores pronósticos de interés para decidir si el enfermo debe ser tratado o no (5).

Aunque la existencia de signos de mal pronóstico es de gran importancia para ello, el criterio fundamental para iniciar el tratamiento es que la enfermedad depare síntomas o muestre signos de progresión. Como norma, los pacientes con LLC asintomática y cuya enfermedad no muestra signos de progresión no deben tratarse. Los criterios para iniciar el tratamiento son la presencia de: a) síntomas generales (fiebre, sudación, pérdida de peso); b) adenopatías o esplenomegalia de gran tamaño y que causan molestias; c) infecciones de repetición en

sujetos que presentan hipogammaglobulinemia; d) descenso paulatino de la tasa de hemoglobina o cifra de plaquetas; y e) tiempo de duplicación linfocitario rápido (inferior a 12 meses) (26). La leucocitosis y la hipogammaglobulinemia, si no van acompañadas de otros datos de actividad de la enfermedad, no son por sí mismas criterios para iniciar el tratamiento. A su vez, la existencia de anemia hemolítica autoinmune, no justifica el empleo de quimioterapia a no ser que la misma no responda a los corticoesteroides (26).

A continuación, se exponen las bases de la estrategia terapéutica en los pacientes con LLC en función de su pronóstico, origen de la citopenia y otros parámetros relevantes para ello.

Pacientes con enfermedad de bajo riesgo

En estos casos no se han demostrado las ventajas del tratamiento. En estudios aleatorizados se ha comprobado que, si bien el tratamiento retrasa la progresión de la enfermedad a estadios más avanzados, la supervivencia no se prolonga (27,28). Desde el punto de vista práctico, por tanto, lo más adecuado es dejar a estos enfermos en observación, y tratarlos únicamente si se observa progresión de la enfermedad. Esta actitud es particularmente obligada en los casos de LLC quiescente (5).

Pacientes con enfermedad de alto riesgo

Aunque algunos de los pacientes con datos de mal pronóstico presentan un curso clínico poco agresivo, la mayoría precisan tratamiento, ya sea de forma inmedia-

ta tras el diagnóstico o transcurridos unos cuantos meses desde el mismo. El tratamiento de elección ha venido siendo el clorambucilo, que se puede dar de forma intermitente (0,4-0,8 mg/kg, cada 15 días) o continua (8-10 mg/día, ajustando la dosis en función de la tolerancia hematológica), y asociado o no a prednisona. Con la pauta intermitente, para que el tratamiento resulte efectivo debe efectuarse durante 8-10 meses. El máximo efecto se obtiene, por término medio, a los 12-18 meses de tratamiento. Su prolongación más allá de este periodo no aporta ventaja alguna. La tasa de respuestas completas alcanzadas con clorambucilo es baja (alrededor del 5%) (28). Mediante el tratamiento con combinaciones de quimioterapia (COP, CHOP) se alcanza un mayor número de respuestas completas (15-20%), sin que ello signifique un beneficio en mejoría en cuanto a la supervivencia (28-30).

Los análogos de las purinas fludarabina y 2-clorodeoxiadenosina (2-CDA) son los fármacos de elección en el tratamiento de los casos resistentes al clorambucilo y se están usando de forma muy activa como tratamiento de primera línea. La fludarabina se administra a razón de 25 mg/m² y día, por vía intravenosa los días 1 a 5; cada 4 semanas hasta completar un total de 6 ciclos. Los factores que se asocian con una mayor probabilidad de responder a la fludarabina son la edad (mejores resultados en pacientes de < 60 años), ausencia de delección de 17p en el estudio citogenético (31), buen estado general, función renal normal, escaso número de tratamientos previos y enfermedad no totalmente resistente al tratamiento. La fludarabina, administrada como tratamiento de primera línea, no prolonga la supervivencia en comparación con el tratamiento mediante clorambucilo o CHOP, aunque el intervalo libre de síntomas es más prolongado en los enfermos tratados con este agente (32-34). La 2-CDA (0,12 mg/kg/día en perfusión intravenosa durante 2 h, a lo largo de 5 días), muestra una eficacia similar a la fludarabina (35,36). Los análogos de las purinas deparan una tasa de respuestas del 40-60%, de las cuales alrededor del 25% son completas (32-34). Es interesante mencionar que con los análogos de las purinas se alcanzan remisiones completas moleculares (es decir, no se detecta la presencia de enfermedad por métodos moleculares) de forma esporádica. Estos fármacos producen una importante inmunodepresión, sobre todo en forma de descenso de las células CD4+ de sangre periférica, lo que puede facilitar la aparición de infecciones. Por ello, es razonable administrar antibióticos de forma profiláctica a los enfermos tratados con estos agentes, especialmente frente a infecciones por *Pneumocystis carinii*. Otros efectos adversos que pueden observarse, son la aparición de anemia hemolítica autoinmune (37) y síndrome de lisis tumoral (38).

La eficacia de los análogos de las purinas disminuye considerablemente cuando se administra en pacientes recaídos y, en especial, en enfermos resistentes al tratamiento previo. Por ello, en los últimos años se han venido empleando combinaciones de fludarabina con diferentes fármacos que han demostrado una sinergia con la fludarabina tanto en estudios *ex-vivo* como en ensayos clínicos. Así, los análogos de las purinas se han asocia-

do a ciclofosfamida, mitoxantrone, idarrubicina y otros agentes, con resultados, en cuanto a la tasa de respuestas, superiores a los análogos de las purinas administrados solos. Así, mediante el uso de análogos de las purinas en combinación, se obtienen tasas de remisiones completas del 50% y remisiones completas moleculares en 10-15% de los pacientes (39-44). La superioridad de tales combinaciones sobre la fludarabina todavía no se ha demostrado en estudios randomizados, por lo que su uso es experimental y sólo está justificado en ensayos clínicos.

En los últimos años se han venido empleando anticuerpos monoclonales en el tratamiento de la LLC. Campth-1H es un anticuerpo humanizado anti-CD52. Este antígeno se expresa en la mayoría de linfocitos T y B y en una pequeña fracción de neutrófilos. El tratamiento con Campth-1H consigue alrededor de un 30% de respuestas cuando se usa en pacientes previamente tratados (45). Aunque su administración no está exenta de efectos adversos, en especial reacciones infusionales, es especialmente eficaz en el tratamiento de la afectación medular. Por otro lado, es un potente inmunosupresor y su empleo requiere la administración profiláctica de antibióticos, antivíricos y la monitorización periódica de la infección citomegálica. Recientemente se ha aprobado su uso en la Unión Europea para aquellos casos de LLC tratados con agentes alquilantes y que sean resistentes o presenten una recaída temprana (< 6 meses) tras el tratamiento con fludarabina. Rituximab es un anticuerpo monoclonal anti-CD20. La expresión de CD20 es especialmente baja en los casos de LLC típica, por lo que en esta enfermedad se está usando a dosis altas y en combinación con otros fármacos (46).

El número de trasplantes de progenitores hematopoyéticos en la LLC, se ha incrementado en los últimos años. El trasplante autólogo es capaz de prolongar la duración de la respuesta y la supervivencia, en especial cuando se lleva a cabo en casos que han alcanzado una muy buena respuesta antes del trasplante (47,48). El trasplante alogénico presenta una elevada morbilidad y mortalidad, pero con este procedimiento parece alcanzarse la curación en algunos casos. Dado que el trasplante puede practicarse en un pequeño segmento de la población de pacientes con LLC y su elevada morbilidad y mortalidad, este procedimiento debe considerarse experimental y únicamente llevarse a cabo en centros con experiencia y en el seno de estudios controlados.

Pacientes con citopenias de mecanismo inmune

Cuando la citopenia tiene un origen inmune (anemia hemolítica *Coombs* positiva), el tratamiento de elección consiste en la administración de glucocorticoides (p. ej., prednisona, 1-2 mg/kg/día, durante 4-6 semanas). Los casos que no responden a glucocorticoides pueden hacerlo a los agentes citostáticos como la ciclofosfamida o la ciclosporina A (37). Recientemente se han descrito casos que, no habiendo respondido a todo lo anterior, sí lo han hecho al rituximab.

Pacientes con hiperesplenismo

En casos de resistencia a la quimioterapia, la esplenectomía puede ser útil. La esplenectomía entraña un riesgo nada desdeñable (mortalidad 5-7%), que puede minimizarse mediante la esplenectomía por laparoscopia. Cuando existen contraindicaciones para la esplenectomía, la radioterapia esplénica puede ser una alternativa útil.

Tratamiento de las complicaciones sistémicas

La tendencia a las infecciones obliga a administrar antibióticos de amplio espectro siempre que se sospeche la existencia de una infección. En un estudio controlado, la administración de IgG a altas dosis, disminuyó el número de infecciones en enfermos con LLC e hipogammaglobulinemia, pero no modificó la supervivencia de los enfermos. Los factores de crecimiento hematopoyético (G-CSF, GM-CSF) pueden ser útiles en las neutropenias secundarias al tratamiento. La eritropoyetina puede ser eficaz en las anemias que no responden a otras medidas. Finalmente, la radioterapia local puede ayudar a resolver problemas compresivos por adenopatías de gran tamaño.

LEUCEMIA PROLINFOCÍTICA B

GENERALIDADES

La leucemia prolinfocítica B (LPL-B) es un SLPC muy poco frecuente, caracterizado por mostrar más de un 55% de prolinfocitos en sangre periférica. Los prolinfocitos son células linfoides de tamaño mediano (el doble de un linfocito), núcleo redondo con un nucléolo muy visible y citoplasma escaso y basófilo (49). Desde el punto de vista inmunofenotípico (Tabla II), la LPL-B presenta marcadores B y tienen alta expresión de inmunoglobulinas de superficie. El CD5 es positivo en 1/3 de los casos y el CD23 es negativo. La mayoría de casos son FMC7+ (50). En la citogenética la t (11;14) (q13;q32) aparece en un 20% de los casos, y no son raras las deleciones de 11q23 y 13q14 (51). Los pacientes tienen una gran esplenomegalia, con pocas adenopatías periféricas, y una marcada linfocitosis, en general $> 100 \times 10^9/L$. La anemia y plaquetopenia aparecen en la mitad de casos. La mediana de supervivencia es de 2-3 años (19).

TRATAMIENTO

No existe ningún tratamiento satisfactorio. Los pacientes suelen ser responder mal al tratamiento con CHOP o análogos de las purinas. La radiación esplénica o esplenectomía pueden mejorar el estado general del paciente pero no mejoran el pronóstico.

TRICOLEUCEMIA

GENERALIDADES

La tricoleucemia es un SLP de linfocitos pequeños con núcleo oval y citoplasma con prolongaciones a modo de pelos que aparecen en sangre periférica, médula ósea y pulpa roja del bazo (52). Es una enfermedad poco frecuente (2% de SLPC), la mediana de edad es de 55 años y es más frecuente en varones (5:1) (53). Los pacientes suelen presentar pancitopenia, con monocitopenia y esplenomegalia. Son frecuentes las infecciones y la aparición de segundas neoplasias (53). Debido a la fibrosis, la médula ósea es difícil de aspirar. Los linfocitos pueden presentar inclusiones citoplasmáticas (complejo ribosómico-lamelar), son positivos para la fosfatasa ácida resistente al tartrato, y expresan los antígenos CD11c, CD25, FMC7 y CD103 (50). No se conoce ninguna lesión genética asociada a esta enfermedad, aunque el 75% de casos presentan expresión de ciclina D1 (54). El pronóstico es bueno, con una supervivencia superior al 80% a los 10 años. Las llamadas tricoleucemias "variantes" presentan un peor pronóstico.

TRATAMIENTO

La respuesta a la quimioterapia convencional es mala. Algunos pacientes presentan una respuesta moderada al interferón alfa-2b o a la esplenectomía. Los enfermos con tricoleucemia presentan una excelente respuesta al tratamiento con los análogos de las purinas 2-deoxicoformicina y 2-clorodeoxiadenosina. Por ello, estos agentes se consideran de elección en estos momentos (55,56).

LINFOMAS B LEUCEMIZADOS

GENERALIDADES

Todos los linfomas no hodgkinianos pueden invadir la médula ósea y la sangre periférica. No obstante, los linfomas que presentan mayor frecuencia de leucemización son el linfoma de células del manto y el linfoma marginal esplénico. La leucemización de los linfomas foliculares es poco frecuente, aunque mucho más rara es la leucemización en el caso de los linfomas de células grandes (5% de casos). El cuadro clínico de estos casos es el propio de los linfomas: afectación del estado general, adenopatías y hepatoesplenomegalia.

El linfoma de células del manto representa un 10% del total de linfomas (57). Los linfocitos se caracterizan por presentar expresión de marcadores B junto con el CD5 (Tabla II), y una alta expresión de ciclina D1 (58). En la citogenética se detecta una t (11;14) (q13;q32) en la mayoría de casos, junto a anomalías de 17p y 11q23. La leucemización aparece en $> 50%$ de casos, aunque por inmunofenotipo pueden detectarse células circulantes en el 90% de casos. Los linfocitos tumorales son de pequeño tamaño, escaso citoplasma y núcleo con hendidura (centrocitos).

El linfoma marginal esplénico es un linfoma que infiltra la pulpa roja del bazo y que con frecuencia afecta a la médula ósea. Es un linfoma poco frecuente (1% de linfomas), afecta a personas de más de 50 años y los pacientes presentan esplenomegalia, muchas veces acompañada de citopenias (59). Los linfocitos circulantes presentan prolongaciones citoplasmáticas (linfocitos vellosos) y suelen ser CD5-, CD23-, ciclina D1- y CD103 negativos (50).

TRATAMIENTO

El curso del linfoma de células del manto es agresivo. Así, la mediana de supervivencia es inferior a los 5 años y son raras las curaciones. Esta enfermedad presenta una mala respuesta al tratamiento quimioterápico. En la actualidad se están elevando a cabo estudios controlados con altas dosis de quimioterapia y trasplantes de progenitores hematopoyéticos (57).

El linfoma marginal esplénico tiene un curso indolente. Los pacientes suelen presentar una buena respuesta a la esplenectomía, con una supervivencia prolongada. Al igual que otros linfomas de bajo grado, puede ocurrir la transformación a un linfoma de alto grado (59).

LEUCEMIA PROLINFOCÍTICA T

GENERALIDADES

La leucemia prolinfocítica T (LPL-T) es una leucemia agresiva de estirpe T, caracterizada por la presencia de prolinfocitos circulantes. Es una enfermedad poco frecuente (2% de las leucemias) y, a diferencia de la LPL-B, en ella los pacientes presentan hepatoesplenomegalia, adenopatías generalizadas e infiltración extranodal (infiltración cutánea en un 20%) (60). La serología para el virus HTLV-I siempre es negativa. Los linfocitos son de tamaño intermedio y expresan CD2, CD3 y CD7. En un 60% de casos son CD4+/CD8-, un 25% son CD4+/CD8+, y el resto CD4-/CD8+ (60). Son frecuentes las alteraciones cromosómicas: en el 80% de casos se observa afectación del cromosoma 14q11 (gen TCL1) y anomalías del cromosoma 8. Asimismo, las alteraciones del gen ATM son frecuentes. El curso de la enfermedad es progresivo y la supervivencia es inferior a un año, aunque existen casos indolentes que presentan una larga supervivencia (60).

TRATAMIENTO

La respuesta a la quimioterapia convencional o a los análogos de las purinas es, en general, mala. Mediante el tratamiento con Campath-1H se han reportado respuestas en más del 70% de casos, incluyendo respuestas moleculares, por lo que este agente se considera el tratamiento de elección (61).

LEUCEMIA DE LINFOCITOS GRANDES GRANULARES

GENERALIDADES

Con el término de leucemia de linfocitos grandes granulares (LLGG), se designa a un proceso heterogéneo caracterizado por la persistencia (más de 6 meses) de linfocitos grandes granulares en sangre periférica, en general entre $2-20 \times 10^9/L$, sin una causa identificada. Esta enfermedad representa 2-3% de SLPC leucemizados (62,63). La mayoría de pacientes presenta un curso indolente. La característica más frecuente es una severa neutropenia con o sin anemia, y en la exploración puede detectarse una moderada esplenomegalia. Esta enfermedad puede acompañarse de fenómenos autoinmunes: artritis reumatoide, anemia severa por aplasia pura de serie roja, presencia de autoanticuerpos, etc. Los enfermos presentan linfocitos de tamaño grande y granulocitosis azurófila. No hay consenso en cuanto al número de linfocitos para su diagnóstico, aunque las linfocitosis reactivas rara vez tienen más de $5 \times 10^9/L$. El inmunofenotipo más frecuente es CD3+, TCR +, CD4-, CD8+. En algunos casos se observa un fenotipo NK.

TRATAMIENTO

Las formas bien toleradas no precisan tratamiento. En casos de neutropenia severa, los pacientes pueden beneficiarse del tratamiento con ciclosporina A, metotrexate o ciclofosfamida y prednisona. La esplenectomía no corrige las citopenias (62,63).

LEUCEMIA LINFOMA T DEL ADULTO

GENERALIDADES

La leucemia linfoma T del adulto es una proliferación de linfocitos T periféricos causada por el virus HTLV-1. Esta enfermedad es endémica en algunas partes del mundo, en particular el sur de Japón, el Caribe y algunas zonas del centro de África. El tiempo de latencia desde la infección es muy prolongado, y la incidencia estimada entre los portadores del HTLV-1 es del 2,5%. La mediana de edad es de 55 años. Se reconocen diferentes variantes clínicas: aguda (más común), linfomatosa, crónica y quiescente (64). La forma aguda se caracteriza por una fase leucémica (en general con altos recuentos linfocitarios y eosinofilia), rash cutáneo, adenopatías generalizadas, hepatoesplenomegalia y LDH elevada. La hipercalcemia es frecuente, con o sin lesiones líticas asociadas. Las otras formas pueden evolucionar a una forma aguda. El pronóstico es muy variable, pero la mediana de supervivencia no excede de 1 año. Las infecciones son la primera causa de muerte (64,65). Las células linfoides son de mediano o gran tamaño, con un marcado pleomorfismo nuclear. La biopsia ganglionar muestra un infiltrado difuso muy pleomórfico, con células que recuerdan a las de Reed Sternberg. Los linfocitos son CD3+, CD5+, CD7-, CD4- y CD8+. El

diagnóstico debe incluir la determinación de anticuerpos anti HTLV-1 y, eventualmente, la demostración de la integración del provirus en el genoma de las células CD4+.

TRATAMIENTO

Es poco eficaz: las quimioterapias empleadas en los linfomas de alto grado de malignidad pueden dar lugar a respuestas transitorias. La deoxicofurcina ha dado buenas respuestas, aunque transitorias (64,65).

LEUCEMIA DE CELULAS NK

GENERALIDADES

La leucemia de células NK es una forma muy rara de leucemia/linfoma, más frecuente en países asiáticos, con un curso clínico muy agresivo (66). Los pacientes tienen fiebre, hepatoesplenomegalia, síntomas constitucionales y otros síntomas característicos de las leucemias agudas. Los pacientes fallecen en menos de un año desde el diagnóstico. Las células neoplásicas son de mayor tamaño que los linfocitos grandes granulares y tienen un núcleo grande e irregular. En la médula ósea es frecuente encontrar figuras de hemofagocitosis. Los linfocitos son CD2+, CD3-, CD56+, CD57-. Este proceso debe distinguirse de las proliferaciones NK indolentes, como la leucemia de linfocitos grandes granulares de fenotipo NK (66).

TRATAMIENTO

No existe ningún tratamiento satisfactorio para este

proceso. Habitualmente se emplean los regímenes de quimioterapia usados en las leucemias agudas linfoblásticas.

SÍNDROME DE SÉZARY

GENERALIDADES

El síndrome de Sézary es una proliferación T madura que se caracteriza por la presencia de eritrodermia, linfadenopatías y la presencia de células tumorales en la sangre periférica (67). Estas células tienen un núcleo cerebriforme. Esta enfermedad clásicamente se ha considerado una variante de la micosis fungoides, pero su curso clínico es mucho más agresivo. En realidad, la histopatología cutánea es indistinguible de la micosis fungoide. La leucocitosis puede ser moderada ($10-15 \times 10^9/L$) o extrema (superior a $200 \times 10^9/L$). El porcentaje de células de Sézary también varía mucho de un caso a otro. Su fenotipo es CD3+, CD4+, CD5+, CD7 +/- . El diagnóstico se basa en el cuadro clínico, la histopatología de las lesiones cutáneas (epidermotropismo, microabscesos de Pautrier) y, sobre todo, en la identificación de la piel y sangre periférica de las células de Sézary (68). El pronóstico de los pacientes con síndrome de Sézary es malo, con una esperanza de vida que es inferior a los tres años (68).

TRATAMIENTO

En las formas leucemizadas se han usado quimioterapias como las empleadas en los linfomas de alta malignidad. La 2-clorodeoxiadenosina y el Campath-1H se han empleado recientemente con bastante éxito (69).

BIBLIOGRAFÍA

1. Montserrat E, Rozman C. Síndrome linfoproliferativos crónicos de expresión leucémica. Medicina Interna (Farreras / Rozman). Harcourt -Brace. Barcelona, 1997.
2. Woessner S, Florensa L (eds). La citología óptica en el diagnóstico hematológico. Barcelona: Medici 2000.
3. Bennet JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of chronic (mature) B and T lymphoid neoplasms. J Clin Pathol 1989; 42: 567-74.
4. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (Eds.). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of Haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: ARC Press, 2001.
5. Rozman C, Montserrat E. Chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 1995; 33: 1052-57.
6. O'Brien S, del Giglio A, Keating MJ. Advances in the biology and treatment of B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood 1995; 85: 307-18.
7. Montserrat E, Bosch F, Rozman C. Chronic lymphocytic leukemia: Recent progress in biology, diagnosis, and therapy. Ann Oncol 1997; 8 (suppl 1): S93-101.
8. Hisada M, Biggar RJ, Greene MH, et al. Solid tumors after chronic lymphocytic leukemia. Blood 2001; 98: 1979-81.
9. Migliazza A, Cayanis E, Bosch F, et al. Molecular pathogenesis of B-cell chronic lymphocytic leukaemia: analysis of 13q14 chromosomal deletions. Curr Top Micro Immunol 2000; 252: 275-84.
10. Migliazza A, Bosch F, Komatsu H, et al. Nucleotide sequence, transcription map, and mutation analysis of the 13q14 chromosomal region deleted in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood 2001; 97:2098-104.
11. Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 2000; 343: 1910-6.
12. Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, et al. Unmutated Ig V (H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. Blood 1999; 94: 1848-4.
13. Damle RN, Wasil T, Fais F, et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. Blood 1999; 94:1840-7.
14. Kupperts R, Dalla-Favera R. Mechanisms of chromosomal translocations in B cell lymphomas. Oncogene 2001; 20: 5580-94.
15. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, et al. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. Blood 1975; 46: 219-34.

16. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981; 48: 198-206
17. Montserrat E, Villamor N, Reverter JC, et al. Bone marrow assessment in B-cell chronic lymphocytic leukaemia: aspirate or biopsy? A comparative study in 258 patients. *Br J Haematol* 1995; 93: 111-6.
18. Montserrat E, Sanchez-Bisoño J, Viñolas N, et al. Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukaemia: analysis of its prognostic significance. *Br J Haematol* 1986; 62: 567-5.
19. Melo JV, Catovsky D, Gregory WM, et al. The relationship between chronic lymphocytic leukemia and prolymphocytic leukemia. IV. Analysis of survival and prognostic features. *Br J Haematol* 1987; 65: 23-9.
20. Vallespí T, Montserrat E, Sanz MA. Chronic lymphocytic leukaemia: prognostic value of lymphocyte morphological subtypes. A multivariate survival analysis in 146 patients. *Br J Haematol* 1991; 77: 478-85.
21. Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000; 343: 1910-6.
22. Molica S. Prognostic value of biological variables in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Can we improve upon clinical parameters? *Haematologica* 1997; 82: 705-9.
23. Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, et al. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999; 94: 1848-54.
24. Damle RN, Wasil T, Fais F, et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999; 94: 1840-7.
25. Hamblin TJ, Orchard JA, Ibbotson RE, et al. CD38 expression and immunoglobulin variable region mutations are independent prognostic variables in chronic lymphocytic leukemia, but CD38 expression may vary during the course of the disease. *Blood* 2002; 99: 1023-9.
26. Cheson BD, Bennett JM, Grever M, et al. National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood* 1996; 87: 4990-7.
27. Effects of chlorambucil and therapeutic decision in initial forms of chronic lymphocytic leukemia (stage A): results of a randomized clinical trial on 612 patients. The French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood* 1990; 75: 1414-21.
28. Chemotherapeutic options in chronic lymphocytic leukemia: a meta-analysis of the randomized trials. CLL Trialists' Collaborative Group. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 861-8.
29. Is the CHOP regimen a good treatment for advanced CLL? Results from two randomized clinical trials. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia. *Leuk Lymphoma* 1994; 13: 449-56.
30. Montserrat E, Alcalá A, Parody R, et al. Treatment of chronic lymphocytic leukemia in advanced stages. A randomized trial comparing chlorambucil plus prednisone versus cyclophosphamide, vincristine, and prednisone. *Cancer* 1985; 56: 2369-75.
31. Dohner H, Fischer K, Bentz M, et al. p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood* 1995; 85: 1580-9.
32. Johnson S, Smith AG, Loffler H, et al. Multicentre prospective randomised trial of fludarabine versus cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone (CAP) for treatment of advanced-stage chronic lymphocytic leukaemia. The French Cooperative Group on CLL. *Lancet* 1996; 347: 1432-8.
33. Leporrier M, Chevret S, Cazin B, et al. Randomized comparison of fludarabine, CAP, and ChOP in 938 previously untreated stage B and C chronic lymphocytic leukemia patients. *Blood* 2001; 98: 2319-25.
34. Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR, et al. Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000; 343: 1750-7.
35. Saven A, Lemon RH, Kosty M, et al. 2-Chlorodeoxyadenosine activity in patients with untreated chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 1995; 13: 570-4.
36. Tallman MS, Hakimian D, Zanzig C, et al. Cladribine in the treatment of relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 1995; 13: 983-8.
37. Mauro FR, Foa R, Cerretti R, et al. Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia: clinical, therapeutic, and prognostic features. *Blood* 2000; 95: 2786-92.
38. Cheson BD, Frame JN, Vena D, Quashu N, Sorensen JM, et al. Tumor lysis syndrome: an uncommon complication of fludarabine therapy of chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2313-20.
39. Robertson LE, O'Brien S, Kantarjian H, et al. Fludarabine plus doxorubicin in previously treated chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 1995; 9: 943-5.
40. Rummel MJ, Kafer G, Pfreundschuh M, et al. Fludarabine and epirubicin in the treatment of chronic lymphocytic leukaemia: a German multicenter phase II study. *Ann Oncol* 1999; 10: 183-8.
41. McLaughlin P, Hagemeister FB, Romaguera JE, et al. Fludarabine, mitoxantrone, and dexamethasone: an effective new regimen for indolent lymphoma. *J Clin Oncol* 1996; 14: 1262-8.
42. O'Brien SM, Kantarjian HM, Cortes J, et al. Results of the fludarabine and cyclophosphamide combination regimen in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1414-20.
43. Zaja F, Rogato A, Russo D, et al. Combined therapy with fludarabine and cyclophosphamide in relapsed/resistant patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia and non-Hodgkin's lymphomas. *Eur J Haematol* 1997; 9: 327-8.
44. Flinn IW, Byrd JC, Morrison C, et al. Fludarabine and cyclophosphamide with filgrastim support in patients with previously untreated indolent lymphoid malignancies. *Blood* 2000; 96: 71-5.
45. Kennedy B, Rawstron A, Carter C, et al. Campath-1H and fludarabine in combination are highly active in refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002; 99: 2245-7.
46. Keating MJ, O'Brien S, Albitar M. Emerging information on the use of rituximab in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol* 2002; 29 (1 Suppl 2): 70-4.
47. Michallet M, Thiebaut A, Dreger P, et al. Peripheral blood stem cell (PBSC) mobilization and transplantation after fludarabine therapy in chronic lymphocytic leukaemia (CLL): a report of the European Blood and Marrow Transplantation (EBMT) CLL subcommittee on behalf of the EBMT Chronic Leukaemias Working Party (CLWP). *Br J Haematol* 2000; 108: 595-601.
48. Esteve J, Villamor N, Colomer D, et al. Stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia: different outcome after autologous and allogeneic transplantation and correlation with minimal residual disease status. *Leukemia* 2001; 15: 445-51.
49. Melo JV, Catovsky D, Galton DA. The relationship between chronic lymphocytic leukaemia and prolymphocytic leukaemia. I. Clinical and laboratory features of 300 patients and characterization of an intermediate group. *Br J Haematol* 1986; 63: 377-87.
50. Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, et al. The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia* 1994; 8: 1640-5.
51. Lens D, Matutes E, Catovsky D, Coignet LJ. Frequent deletions at 11q23 and 13q14 in B cell prolymphocytic leukemia (B-PLL). *Leukemia* 2000; 14: 427-30.
52. Bouroncle BA, Wiseman BK, Doan CA. Leukaemic reticuloendotheliosis. *Blood* 1958; 13: 609-30.
53. Frassoldati A, Lamparelli T, Federico M, et al. Hairy cell leukemia: a clinical review based on 725 cases of the Italian Cooperative Group (ICGHCL). Italian Cooperative Group for Hairy Cell Leukemia. *Leuk Lymphoma* 1994; 13: 307-16.
54. Bosch F, Campo E, Jares P, et al. Increased expression of the PRAD-1/CCND1 gene in hairy cell leukaemia. *Br J Haematol* 1995; 91: 1025-30.
55. Rafel M, Cervantes F, Beltran JM, et al. Deoxycytosine in the treatment of patients with hairy cell leukemia: results of a Spanish collaborative study of 80 patients. *Cancer* 2000; 88: 352-7.
56. Tallman MS, Peterson LC, Hakimian D, et al. Treatment of hairy-cell leukemia: current views. *Semin Hematol* 1999; 36: 155-63.
57. Bosch F, Lopez-Guillermo A, Campo E, et al. Mantle cell lymphoma: presenting features, response to therapy, and prognostic factors. *Cancer* 1998; 82: 567-75.
58. Bosch F, Jares P, Campo E, et al. PRAD-1/cyclin D1 gene overexpression in chronic lymphoproliferative disorders: a highly specific marker of mantle cell lymphoma. *Blood* 1994; 84: 2726-32.

59. Berger F, Felman P, Thieblemont C, et al. Non-MALT marginal zone B-cell lymphomas: a description of clinical presentation and outcome in 124 patients. *Blood* 2000; 95: 1950-6.
60. Matutes E, Brito-Babapulle V, Swansbury J, et al. Clinical and laboratory features of 78 cases of T-prolymphocytic leukemia. *Blood* 1991;78: 3269-74.
61. Dearden CE, Matutes E, Cazin B, et al. High remission rate in T-cell prolymphocytic leukemia with CAMPATH-1H. *Blood* 2001; 98: 1721-6.
62. Lamy T, Loughran TP Jr. Current Concepts: large granular lymphocyte leukemia. *Blood Rev* 1999; 13: 230-40.
63. Semenzato G, Zambello R, Starkebaum G, et al. The lymphoproliferative disease of granular lymphocytes: updated criteria for diagnosis. *Blood* 1997; 89: 256-60.
64. Shimoyama M. Diagnostic criteria and classification of clinical subtypes of adult T-cell leukaemia-lymphoma. A report from the Lymphoma Study Group (1984-87). *Br J Haematol* 1991; 79: 428-37.
65. Bunn PA Jr, Schechter GP, Jaffe E, et al. Clinical course of retrovirus-associated adult T-cell lymphoma in the United States. *N Engl J Med* 1983; 309: 257-64.
66. Chan JK. Natural killer cell neoplasms. *Anat Pathol* 1998; 3:77-145.
67. Kim YH, Hoppe RT. Mycosis fungoides and the Sézary syndrome. *Semin Oncol* 1999; 26: 276-89.
68. Willemze R, Kerl H, Sterry W, et al. EORTC classification for primary cutaneous lymphomas: a proposal from the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. *Blood* 1997; 90: 354-71.
69. Dearden CE, Matutes E, Catovsky D. Clinical overview of pentostatin use in lymphoid malignancies. *Semin Oncol* 2000; 27 (Suppl 5): 22-6.