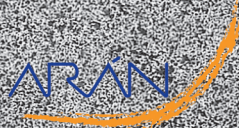
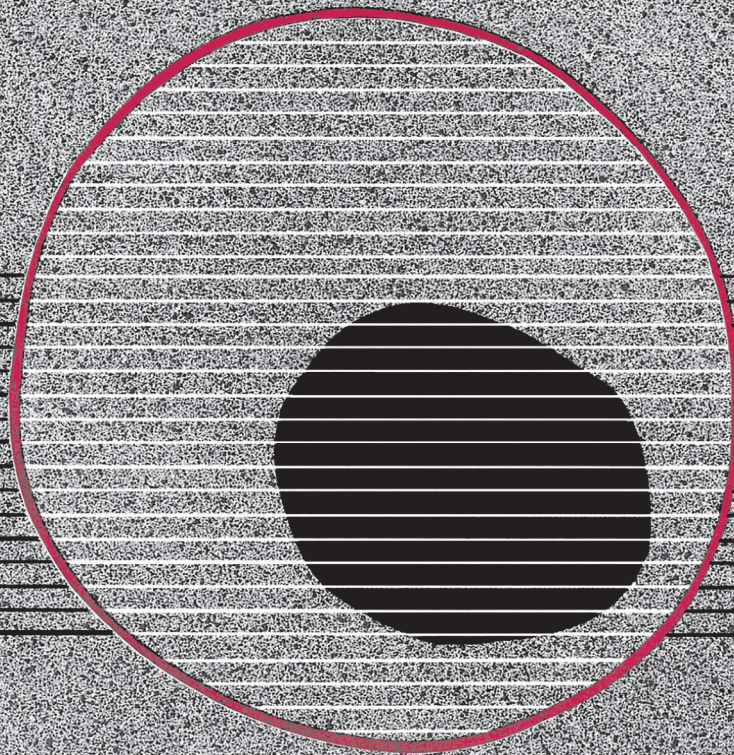


revisiones en

# CANCER

## LEUCEMIAS AGUDAS

VOL. 15, NÚM. 6, 2001



revisiones en

---

# CANCER

## SUMARIO

**VOL. 15**

**NÚM. 6**

Alteraciones moleculares en las leucemias agudas E. Anguita Mandly, F. A. González Fernández, A. Villegas Martínez	199
Tratamiento de la leucemia aguda linfoblástica en adultos E. Del Potro, C. Benavente, R. Martínez	225
Leucemia aguda linfoblástica del niño J. J. Ortega Aramburu	231
Tratamiento de la leucemia aguda mieloide J. Díaz Mediavilla, A. M. Álvarez Carmona	241
Tratamiento de la leucemia aguda mieloide J. Díaz Mediavilla, A. M. Álvarez Carmona	241
Trasplante de progenitores hematopoyéticos en la leucemia mieloblástica aguda A. Alegre, A. Figuera, J. M. Fernández-Rañada	246
Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica en leucemia mieloblástica aguda S. Saavedra, J. De La Rubia, M. A. Sanz	256

# Alteraciones moleculares en las leucemias agudas

E. ANGUITA MANDLY, F. A. GONZÁLEZ FERNÁNDEZ, A. VILLEGAS MARTÍNEZ

*Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico San Carlos. Madrid*

## CONCEPTO DE LEUCEMIA AGUDA

Las leucemias agudas (LAs) humanas son proliferaciones clonales de células hematopoyéticas inmaduras de tipo blástico. La leucemia surge tras la transformación maligna de un solo progenitor hematopoyético cuya proliferación determina la formación de un clon de células leucémicas. La célula en la cual se produce la transformación leucémica puede ser un precursor linfóide, un precursor mielóide o una célula madre primitiva con potencial de diferenciación multilineal (1-3).

## ASPECTOS BÁSICOS DE GENÉTICA MOLECULAR DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS

El análisis de las alteraciones cromosómicas clonales en los blastos de los pacientes con leucemia ha permitido hallar translocaciones o inversiones en más del 65% de los casos. Estas alteraciones determinan la aparición de reordenamientos genéticos que constituyen la mayoría de las anomalías genéticas bien caracterizadas en las LAs, si bien el número de deleciones específicas descubiertas se halla en incremento. A diferencia de lo que ocurre en los tumores sólidos, la amplificación génica, o aumento del nivel de actividad de un gen normal, es rara y las mutaciones puntuales parecen ser poco frecuentes. Estas alteraciones genéticas determinan la aparición de oncogenes que son los genes responsables de la aparición de la proliferación maligna. Los oncogenes se originan por la desregulación de genes "normales" (genes silvestres) denominados proto-oncogenes u oncogenes celulares, los cuales tienen funciones relacionadas con la regulación de la división o la diferenciación celular.

Algunos oncogenes son dominantes. Los oncogenes dominantes (también denominados simplemente oncogenes) están "activados" en las células tumorales produciendo una ganancia de función. Otros oncogenes son recesivos, en este caso la mutación oncogénica inactiva un proto-oncogén cuya función normal es inhibir la proliferación celular, son los genes supresores de tumor o antioncogenes. Se requiere la inactivación de las dos copias o alelos de estos últimos genes para eliminar el freno que ejercen sobre el ciclo celular (4,5).

Los oncogenes, como todos los genes, están compuestos por ácido desoxirribonucleico (ADN). El ADN está formado por 4 moléculas básicas llamadas nucleótidos, idénticas entre sí excepto en que cada una contiene una base nitrogenada diferente. Cada nucleótido contiene fosfato, un azúcar (desoxirribosa) y una de las 4 bases. Las cuatro bases son adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T). Las bases A y G son de estructura similar y se denominan purinas. Las otras dos bases, C y T, también son similares entre sí, y se denominan pirimidinas. El hidroxilo 5' del azúcar de un desoxirribonucleótido se une al hidroxilo 3 del azúcar adyacente mediante un puente fosfodiéster formando un "esqueleto de azúcar-fosfato". La estructura del ADN es una doble hélice en la que dos "esqueletos de azúcar-fosfato" discurren en direcciones opuestas (antiparalelas), uno se denomina 5' 3' y el otro 3' 5' según el carbono que queda libre en el extremo, sea el 5' o el 3'. Las dos hélices se mantienen unidas gracias a puentes de hidrógeno (enlaces entre átomos de hidrógeno con una pequeña carga negativa y átomos con una pequeña carga positiva) que se producen entre las bases nitrogenadas. La A se une a la T mediante dos puentes de hidrógeno y la G a la C mediante tres. El ADN se replica de forma semiconservativa, de modo que una doble hélice se duplica en dos hélices idénticas. Cada una de estas dos hélices dobles está compuesta por una cadena

Publicado: Rev. Cáncer 1999; 13: 166-191.

vieja y otra polimerizada de nuevo. La replicación se lleva a cabo a través de varias enzimas incluyendo las polimerasas de ADN. Entre las características de las polimerasas de ADN destaca que solamente actúan en la dirección 5' → 3' y que solamente pueden alargar una cadena, pero no iniciarla, por lo que la síntesis de ADN debe ser iniciada por un cebador u oligonucleótido que genera un segmento de ADN de doble cadena. Las polimerasas actúan añadiendo desoxinucleótidos al extremo 3' del cebador.

El ADN codifica la información que dirige la síntesis de las proteínas. Los eucariotas son aquellos organismos cuyas células poseen un núcleo rodeado de una membrana, como es el caso del humano. Para que la información genética pase del núcleo, donde se localiza el ADN en las células eucariotas, al citoplasma, donde se fabrican las proteínas, es necesario que otro ácido nucleico, el ácido ribonucleico (ARN), actúe como intermediario. El ARN se diferencia del ADN por ser siempre una cadena sencilla, poseer en sus nucleótidos el azúcar ribosa en lugar de desoxirribosa y contener la base uracilo (U) en lugar de T. La síntesis de moléculas de ARN a partir de un molde de ADN se denomina transcripción. La transcripción está catalizada por una enzima denominada polimerasa de ARN. Se distinguen por su valor de sedimentación (S) en un gradiente de densidad de sacarosa varios tipos de ARN, los principales son:

1. El ARN ribosómico (ARNr), forma junto con un conjunto de proteínas los ribosomas, que son los orgánulos celulares donde se produce la síntesis de las proteínas. En los eucariotas existen moléculas de ARNr de 28S-5.8S, 18S y 5S.

2. El ARN transferente (ARNt), es un conjunto de moléculas de 4S cada una, con especificidad de unión a un aminoácido concreto. Es el encargado de transportar los aminoácidos a los ribosomas donde se incorporan al polipéptido en formación para la síntesis de las proteínas.

3. El ARN mensajero (ARNm), contiene la información para la síntesis de las proteínas. La secuencia de bases del ARNm determina la secuencia de aminoácidos. La síntesis de un polipéptido a partir de una molécula de ARNm, mediada por los ribosomas se denomina traducción.

Se ha demostrado en la mayoría de los eucariotas superiores estudiados que no existe una correspondencia entre los mapas genéticos y las moléculas de ARNm. Este fenómeno también se ha observado en el ARNr y a veces en el ARNt. Ello es debido a que los segmentos de ADN que determinan la estructura de la proteína están interrumpidos por secuencias intermedias denominadas intrones. Las regiones que codifican la información para la síntesis de las proteínas se denominan exones. Antes de su transporte al citoplasma, el transcrito primario de ARN producido en el núcleo a partir de un molde de ADN se somete a diversas transformaciones (procesamiento del ARN). Primero se añade una caperuza consistente en un residuo de 7-metilguanosa unido al extremo 5' del transcrito. Luego se añade una serie de 150 a 200 residuos de adenosina al extremo 3', son las colas poli(A). Tras estas modificaciones se produce el proceso de corte y empalme o *splicing*,

por el que se eliminan los intrones y se unen los exones. En algunos casos, un mismo transcrito primario puede dar lugar a ARNms diferentes, siguiendo procesos de corte y empalme distintos (5).

#### REORDENAMIENTOS GENÉTICOS EN LAS LEUCEMIAS AGUDAS

Los reordenamientos genéticos que se han detectado en las LAs pueden ser de dos tipos principales:

1. En el más frecuente se produce la ruptura de los dos genes afectados y su unión en un gen de fusión, el cual da lugar a un transcrito de ARN de fusión y a su traducción a una proteína quimérica. Este mecanismo de fusión génica se puede producir en leucemias de estirpes tanto linfocítica como mielocítica, y supone un cambio cualitativo que es relativamente tumor específico. La ruptura de los dos genes implicados está limitada a uno o un número limitado de intrones (sólo en escasos genes se produce en un exón), por lo que se produce un limitado número de transcritos de fusión que pueden ser retrotranscritos en ADN complementario (ADNc) mediante una transcriptasa reversa. Posteriormente, el ADNc se puede amplificar mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), obteniéndose un producto de PCR idéntico en diferentes individuos con distintos puntos de ruptura en su ADN. La PCR en la que se realiza una retrotranscripción previa se conoce como RT-PCR.

2. En el segundo tipo de mecanismo se produce la movilización de un proto-oncogén a la vecindad del gen que codifica las inmunoglobulinas o a la del gen que codifica el receptor de células T (RCT), por un error en el proceso de reordenamiento fisiológico de estos últimos genes. Esto origina un cambio cuantitativo en la expresión del proto-oncogén translocado. Este proceso es frecuente en los linfomas, pero en las LAs es poco frecuente y aparece limitado a casos de leucemia linfoblástica (6).

#### CONCEPTO DE ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL

En el momento del diagnóstico los pacientes con LA pueden tener  $10^{12}$  células malignas. Estos enfermos se consideran en remisión completa hematológica (RC) cuando se detecta menos de un 5% de blastos en la médula ósea mediante el microscopio óptico, no obstante podrían permanecer aún hasta  $10^{10}$  células neoplásicas. Por ello se intenta detectar la enfermedad mínima residual (EMR) o aquella que todavía puede existir cuando las técnicas citológicas hacen considerar a un enfermo en remisión completa. Es de gran interés investigar si la EMR es indicativa de una recaída posterior de la enfermedad según los criterios clásicos (citológicos y clínicos) (7).

Las alteraciones genéticas al diagnosticar un paciente de LA y la EMR se pueden estudiar mediante los siguientes métodos:

1. Citogenética: si bien puede revelar la existencia de diversas alteraciones cromosómicas, muchas anormali-

dades genéticas pueden pasar desapercibidas, es un método poco sensible, se requiere MO como material de trabajo, y en un alto porcentaje de casos no se obtienen suficientes metafases para el realizar el estudio.

2. Hibridación *in situ* fluorescente (*fluorescence in situ hybridization* o FISH): esta técnica consiste en el uso de sondas específicas para un cromosoma o un gen que permiten identificar anomalías cromosómicas numéricas o estructurales por medio de un marcado directo o indirecto de la sonda con un fluorocromo. Tiene como ventaja el hecho de no ser requerida la MO para hacer el estudio y el que pueda realizarse sobre células en interfase. Sin embargo, es una técnica poco sensible (1%) (7) y no siempre de fácil interpretación.

3. Método de Southern o *Southern blot*: esta técnica presenta las ventajas del método anterior, pero, igualmente, su sensibilidad puede ser considerada insuficiente para hacer un estudio de EMR, ya que sólo permite detectar un reordenamiento si está presente en un 1-5% de las células analizadas (8,9). No obstante, permite detectar reordenamientos de un gen con diversas parejas y realizar análisis de deleciones.

4. PCR: es la técnica con más sensibilidad (puede detectar 1 célula maligna entre  $10^5$ - $10^6$  o más) (7,10,11) y tiene alta especificidad (ambas se incrementan mediante una segunda ronda de amplificación con el uso de cebadores internos respecto a los empleados en la primera, PCR anidada o *nested PCR*).

#### GENES DE FUSIÓN EN LAS LEUCEMIAS AGUDAS

Los genes implicados en la leucemogénesis pueden afectar distintos niveles del funcionamiento celular, incluyendo la interacción receptor-ligando, la transducción de señales, localización intracelular, regulación de la transcripción, control del ciclo celular y la muerte celular programada. Sin embargo, la mayoría codifica factores de transcripción que pueden regular la función de diversos genes (4,6,12).

#### Factores de transcripción oncogénicos

##### Aspectos básicos

Todas las moléculas de ARNm son sintetizadas por la ARN polimerasa II. Para obtener un máximo nivel de transcripción la ARN polimerasa II se requieren dos formas de control:

1. Control en *cis* (que actúa sobre la propia molécula): depende de los promotores y los intensificadores. Los promotores son secuencias de ADN situadas "corriente arriba" (hacia el extremo 5') del sitio de iniciación del ARNm. Son la región TATA (*TATA box*) que indica a la ARN polimerasa que la transcripción comienza aproximadamente 30 pares de bases (pb) corriente abajo (hacia el extremo 3'). La secuencia TATA funciona mejor si hay otras dos, localizadas a unos 40 y 110 pb corriente arriba. La secuencia CCMT es una de ellas y una región rica en GC puede ser la otra.

Los intensificadores son secuencias de ADN que potencian la tasa de transcripción a partir de promotores que están en la misma molécula de ADN. Se caracterizan por actuar a distancias de varios miles de pares de bases (kilobases o kb) y poder funcionar actuar en cualquier orientación y corriente arriba o corriente abajo del promotor que potencian.

2. Control en *trans* de la transcripción (que actúa sobre otra molécula): se lleva a cabo por los factores de transcripción. Actúan uniéndose a elementos del promotor o a regiones intensificadoras. Muchos de ellos poseen dos dominios separados, uno que reconoce y se une a las secuencias de ADN que actúan en *cis* y otro que activa la transcripción. Los dominios de unión al ADN pueden clasificarse en varias familias según su estructura:

—*Proteínas que contienen un motivo hélice-giro-hélice*. Estas proteínas contienen tres hélices. Las hélices 1 y 2 interaccionan con otras proteínas y la hélice 3 es la de reconocimiento que realiza la unión con el ADN.

—*Proteínas con una región rica en cisteína e histidina* en un dominio de unión al ADN que forma complejos con iones de zinc, dando lugar a unas protuberancias que parecen dedos, por lo cual estas estructuras se denominan dedos de zinc.

—*Proteínas con cremalleras de leucina*. Pueden formar dímeros a través de una superficie de contacto hidrofóbica formada por varios residuos de leucina separados por seis aminoácidos. A los lados de la cremallera de leucina se encuentra el dominio de unión al ADN que contiene muchos residuos de lisina y arginina. Para que se pueda producir la unión al ADN se tienen que formar los dímeros, que pueden ser homodímeros o heterodímeros según se formen pares de proteínas idénticas o diferentes.

—*Proteínas hélice-bucle-hélice*. También forman dímeros. La estructura de la superficie de contacto son dos hélices unidas por un bucle. El análisis de células progenitoras hematopoyéticas en ratones y humanos ha generado evidencias que indican que la acción de muchos factores de transcripción oncogénicos está relacionada con la regulación de los denominados complejos HOX (12).

En 1894 William Bateson describió un fenómeno denominado homeosis, por el cual se produce la sustitución local de una estructura normal por otra cuya ubicación anatómica no era aquella (por ejemplo la transformación en un artrópodo de una anténula en una mandíbula) (4,13,14). Aunque este fenómeno se ha observado en diversos grupos de animales, ha sido la mosca del vinagre, *Drosophila melanogaster*, el organismo donde se ha estudiado con mayor profundidad. En esta mosca se han caracterizado mutaciones que causan este tipo de transformaciones las cuales se han denominado mutaciones homeóticas. El estudio de estas mutaciones permitió descubrir dos complejos de genes homeóticos en *Drosophila*: el complejo génico bithorax (BX-C) y *Antenapedia* (ANT-C). Los genes homeóticos en *Drosophila* se definen por transformar, cuando son defectivos, un metámero o un grupo de ellos en la apa-

riencia de otro y por compartir una secuencia de ADN muy similar de 180 pares de bases denominada secuencia homeótica (*homeobox*) (4,13). Esta secuencia codifica un segmento polipeptídico de 60 aminoácidos denominada homeodominio. El homeodominio, que tiene una estructura de hélice-giro-hélice, se une al ADN de una forma específica de secuencia y activa o reprime otros genes diana.

Se han descubierto secuencias homeóticas homólogas en muchos animales. En los vertebrados las agrupaciones de genes homeóticos se denominan complejos HOX, frente a las de *Drosophila* que se denominan HOM-C (complejo de genes homeóticos). En el hombre se conocen 39 genes HOX que se agrupan en 4 complejos (HOX-A al HOX-D) cada uno localizado en un cromosoma diferente. Estos genes se dividen en 13 grupos denominados parálogos que comparten características estructurales y funcionales con genes HOM-C (12,14).

Los principales datos de la importancia de los genes HOX en el proceso de diferenciación de los precursores hematopoyéticos, el cual se encuentra bloqueado en las leucemias, así como de la relación entre estos genes y la mayoría de los protooncogenes que son factores de transcripción y dan lugar a genes de fusión en las LAs, son los enumerados a continuación:

1. La expresión de los genes HOX en los progenitores hematopoyéticos es específica de la línea y el estadio del desarrollo de la célula progenitora. Al menos 22 de los 39 genes HOX se expresan en las diferentes subpoblaciones de células CD34+ de la médula ósea humana. En las células madre más primitivas se ha encontrado una elevada expresión de los genes de las regiones 3' de los complejos A y B. Estos genes son posteriormente inhibidos y pasan a expresarse genes más próximos al extremo 5', a medida que las células progenitoras se diferencian (12).

2. Se han identificado en los vertebrados genes relacionados con dos reguladores positivos de HOM-C. Uno es el gen de *Drosophila brahma* y el otro es *trithorax* (*trx*), la función de ambos se relaciona con la estructura de la cromatina. El homólogo en mamíferos del gen *trithorax* es el gen MLL que está implicado en múltiples genes de fusión tanto en LAM como en LAL (12,14).

3. El gen de *Drosophila extradenticle* (*exd*), que contiene una secuencia "homeobox", actúa como cofactor de HOM-C. Los homólogos de este gen en mamíferos se conocen como PBX. El gen PBX1 humano forma complejos con un determinado tipo de proteínas HOX. PBX1 aparece reordenado con el gen E2A dando lugar al gen de fusión E2A/PBX1 en LAL, que mantiene la capacidad de interactuar con las proteínas HOX.

4. El gen HOXA9 se ha demostrado que forma un gen de fusión con el gen de la nucleoporina NUP98 en casos de LAM con t(7;11)(p15;p15) (12).

5. El gen HOX11 aparece reordenado con el RCT\* en la t(10;14)(q24;q11) y con el RCT en la t(7;10)(q35;q24) en casos de LAL-T.

6. El ácido retinoico a través de sus receptores nucleares (RARs) produce importantes efectos sobre la expresión de los genes HOX durante la embriogénesis. Este hecho ha llevado a plantear la hipótesis de que el gen de fusión PML/RAR, formado por el gen del

receptor del ácido retinoico en la leucemia aguda promielocítica, altera el patrón normal de expresión de los genes HOX.

7. El complejo de unión al ADN CBF (*core binding factor*) está formado por las proteínas codificadas por los genes AML1 (CBFA2) y CBFβ. Ambos participan en varios genes de fusión presentes en LA, los principales son AML1/ETO, TEL/AML1 y CBFβ/MYH11. AML1 es homólogo del gen de *Drosophila* RUNT que interviene en el patrón de expresión de HOM-C. Se ha planteado la hipótesis de que las proteínas quiméricas relacionadas con RUNT podrían interferir en la función de establecer el correcto patrón de expresión de los genes HOX durante la hematopoyesis, que realizaría el complejo CBF en condiciones normales.

La homología entre la función y la estructura de los complejos HOM-C y HOX, así como entre diversos genes de fusión hallados en LAs humanas y genes de *Drosophila* que intervienen en la regulación de los genes HOM-C, ha llevado a esbozar un modelo según el cual la mayoría de las oncoproteínas de fusión que son factores de transcripción intervendrían en la leucemogénesis alterando la regulación de los genes HOX (Fig. 1).

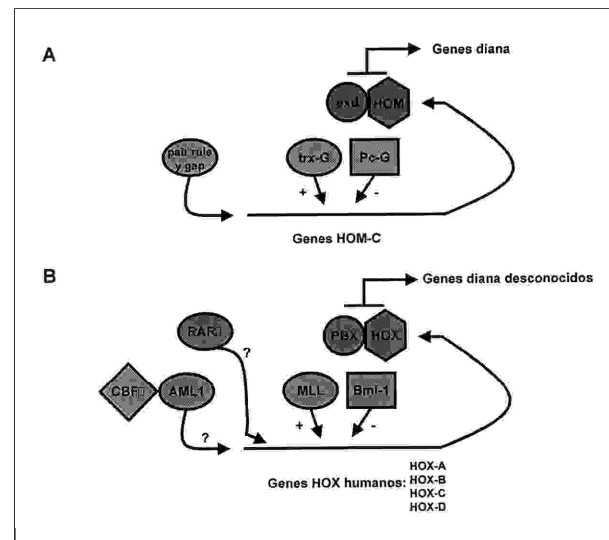


Fig. 1. Modelo basado en las vías de acción de los genes homeóticos que integra a los principales factores de transcripción oncogénicos que intervienen en la leucemogénesis. (A) Los estudios de la embriogénesis de *Drosophila* han establecido que la organización de los segmentos del cuerpo de esta mosca depende de la regulación de la expresión de los genes homeóticos agrupados en el complejo HOM-C. Los genes de "la regla de los pares" (*pair rule*) y *gap* inician la expresión de genes HOM-C específicos. La expresión continuada de los genes HOM-C durante el desarrollo de *Drosophila* depende de dos grupos de factores de transcripción: *trithorax* (*trx-G*), como regulador positivo, y Polycomb (*Pc-G*), opuesto al anterior. Los productos de diferentes genes HOM-C forman complejos con otros factores de transcripción, como *extradenticle* (*exd*), que modulan la especificidad de sus genes diana. (B) Los genes HOX, equivalentes a los HOM-C en los vertebrados, también determinan el patrón corporal durante la embriogénesis. La mayoría de los genes HOX intervienen en la regulación de la hematopoyesis. El gen MLL es homólogo de *trx* y PBX lo es de *exd*. Los genes MLL y PBX1 están reordenados en determinados pacientes con LA (12).

Gen MLL

La investigación sobre la zona de ruptura en la banda 11q23 ha dado como fruto el clonaje y la caracterización de un gen que se ha denominado MLL (*mixed lineage leukemia*), ALL1 o gen *trithorax* humano (Htrx1 o HTRX) (15,16-18). Este gen está implicado en la gran mayoría de los reordenamientos que afectan a dicha banda, si bien se han descrito casos excepcionales de translocaciones en las que no se reordena, como en la t(11;17)(q23;q21) (15). Al mismo tiempo, se ha comunicado que la mayoría de las deleciones de 11q23 y de las inversiones, inv(11)(p13;q23), de las LALs carecen de reordenamientos de MLL (19).

En la descripción inicial del gen se detectaron 21 exones (16), en la actualidad se conocen 36-37 exones con una longitud que varía desde 65 pb en el menor a 4249 en el mayor (20,21). Los puntos donde se produce la ruptura de MLL se acumulan, casi en su totalidad, en una región de 8.3 kb limitada por secuencias de reconocimiento de la enzima de restricción *BamH* 1. Este fragmento se denomina *bcr* (*breakpoint cluster region*) y se extiende entre los exones 5 y 11 de la nomenclatura ini-

cial o de la parte 3 del exón 8 a la 5' del 14 en la revisada (16,21) (Figs. 2 y 3A). La región *bcr* contiene 8 secuencias Alu (repeticiones cortas dispersas por el genoma que favorecen las recombinaciones) y 7 zonas con gran homología con la secuencia consenso de reconocimiento de la topoisomerasa II (15 22).

La proteína producto del gen MLL contiene tres regiones homólogas a secuencias de la proteína codificada por el gen de *Drosophila trithorax*. Estas secuencias incluyen dos regiones ricas en cisteína con 4 y 2 dominios como dedos de zinc, respectivamente, y la tercera es el extremo carboxilo de ambas proteínas. Ambas proteínas tienen, además, similar tamaño (15) (Fig. 2). Previamente se ha citado el papel del gen *trithorax* en la regulación de HOM-C (Fig. 1). Además, el producto de MLL tiene otros dos tipos de regiones que pueden estar, directa o indirectamente, relacionadas con el control de la transcripción. Uno es similar a la *AT hook* del grupo de proteínas de alta movilidad-I. Existen tres dominios de MLL con cierta homología con la secuencia consenso de los *AT hooks* (Fig. 2) (17). Los *AT hooks* son dominios de unión al ADN capaces de unirse a regiones ricas en A y T del surco menor de la doble hélice del

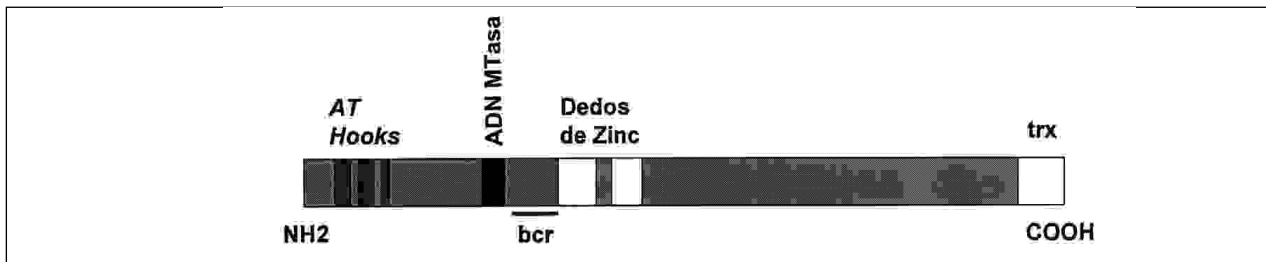


Fig. 2. Representación esquemática de la proteína codificada por el gen MLL. Se indican los tres dominios con homología con los motivos de unión al ADN conocidos como AT hooks o garfios de adenina-timina; las dos regiones de dedos de zinc homólogas de la proteína *trithorax* de *Drosophila*; ADN MTasa, corresponde al motivo homólogo de la metiltransferasa de ADN de doble hélice de mamífero; *trx* señala la región homóloga de la proteína *trithorax* del extremo carboxilo. En la parte inferior se muestra la zona codificada por la región de acumulación de los puntos de corte o *bcr*.

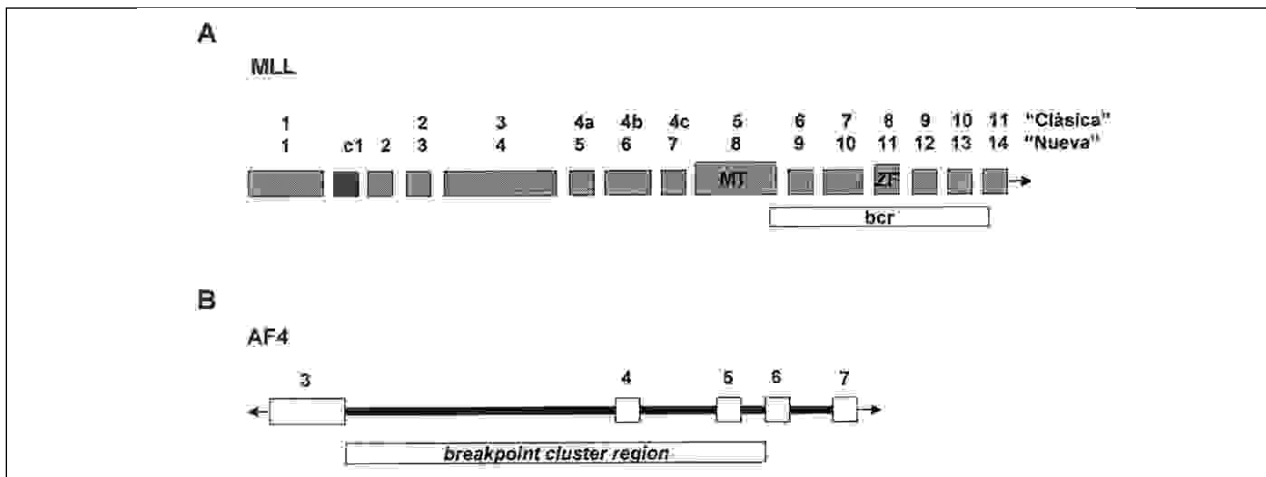


Fig. 3. (A) Representación esquemática de los primeros exones del gen MLL. Inmediatamente sobre los cuadrados representativos de los exones se muestra la numeración "nueva" y sobre ésta se indica la numeración inicial, o "clásica", revisada. Bajo los exones correspondientes se señala la región de acumulación de los puntos de corte o breakpoint cluster region (*bcr*). (B) Representación parcial esquemática del gen AF4 en la que se muestra su región de acumulación de los puntos de corte o breakpoint cluster region entre los exones 3 y 6.

ADN (23) que no activan directamente la transcripción, pero facilitan la acción de otros factores. La otra zona que puede estar relacionada con el control de la transcripción es una región rica en cisteína homóloga de la metiltransferasa de ADN de doble hélice de mamífero, la cual favorece la producción de cambios conformacionales en el ADN que facilitan la acción de otros reguladores. El dominio del extremo carboxilo activa la transcripción y el del extremo amino es represor (15,18).

—Reordenamientos del gen MLL:

Hasta el momento se han caracterizado al menos 12 genes que se reordenan con MLL (de las, al menos, 35 posibles parejas) y duplicaciones de este gen (15,18, 24,25). En las translocaciones recíprocas se forman, al menos en principio, dos genes quiméricos localizados cada uno en un cromosoma derivado (der) originado por el reordenamiento. En las translocaciones que afectan al gen MLL existen evidencias citogenéticas y moleculares que indican que el der(11) es el que codifica el transcrito leucemógeno (por ejemplo, cuando sólo uno de los derivados está presente casi siempre es el der(11) y en las translocaciones complejas es el que conserva la orientación correcta (26). El der(11) contiene un gen de fusión formado en la parte 5 por MLL y en 3 por su pareja correspondiente. La parte 5' de MLL retiene el AT *hook* y de ella se pierden los dedos de zinc (Fig. 2). La porción 3' (telomérica) de MLL se encuentra delecionada en un 20-30% de los reordenamientos de MLL (13).

La mayoría de las parejas de reordenamiento de MLL carecen de semejanzas estructurales (con excepciones como AF9 y ENL, AF10 y AF17, y AFX con AF6q21), por lo que probablemente no actúan modulando la transcripción, en cambio existen datos que apoyan la posibilidad de que aporten dominios de dimerización (como la presencia de cremalleras de leucina en AF17 y AF10 o que la duplicación de MLL de lugar a una proteína que sería equivalente a un dímero del extremo amino de la proteína codificada por MLL) (18).

La frecuencia de los reordenamientos de MLL aún debe seguir siendo investigada con métodos moleculares. Se han observado frecuentes casos con reordenamiento de MLL en los que no se había detectado alteración de 11q23 en el cariotipo (27-32). La detección con métodos citogenéticos de algunas translocaciones como la t(6;11)(q27;q23) (33) y la (11;19) (q23;p13.3) es difícil y la de las duplicaciones de 11q23 casi imposible, aunque pueden ser sospechadas en casos de trisomías del cromosoma 11. En la actualidad se considera que un 5-10% de los casos de LA presentan translocaciones en las que interviene el gen MLL (34). El 70-80% de los niños menores de un año (9, 27, 35, 36) y hasta un 10% de los adultos y niños mayores de dicha edad con LAL tienen reordenado MLL (37,38). En la LAM aparece reordenado en el 23-30% de las M4/M5 (18,39,40) y hasta en un 20% de las M1 (30). Su frecuencia es mayor en los pacientes pediátricos con LAM que en los adultos, alcanzando un 20% en aquéllos (50-70% en los menores de 1 año) (37). En las LAs secundarias de los pacientes tratados previamente con inhibidores de la topoisomerasa II (como las antraciclinas y las epipodofilotoxinas (41)) las anomalías de 11q23 pueden

alcanzar el 80% de los casos, muchos de los cuales presentan reordenamientos de MLL (42,43), al mismo tiempo que existen casos con reordenamiento molecular sin alteración citogenética de 11q23 (44).

En las LAs *de novo* la mayoría de los puntos de ruptura (74%) se localizan en la zona 5' de bcr donde se localizan 5 de las 8 secuencias Alu, mientras que en las secundarias (75%) y en los niños menores de 1 año se suelen producir en la parte 3' donde se encuentran 6 de las secuencias de reconocimiento de la topoisomerasa II, incluida la de mayor identidad con la secuencia consenso, y una región de unión al esqueleto nuclear (*scaffold attachment region* o SAR) de alta afinidad (18, 45, 46). También se han descrito roturas sin reordenamiento del gen MLL en la secuencia de reconocimiento de la topoisomerasa II (pseudorreordenamiento) (47-50).

—Influencia de los reordenamientos de MLL, detectados mediante *Southern blot*, en el pronóstico de los pacientes con LA:

Respecto al pronóstico de los pacientes con reordenamiento de MLL, sólo ha sido claramente establecido en los niños con LAL menores de un año analizados con *Southern blot*, en los cuales es muy desfavorable, aún empleando diferentes protocolos de quimioterapia y con independencia de otros factores a los que se asocia, como la hiperleucocitosis (18,27,36,51). De estos casos, los no reordenados parecen conformar una subpoblación de buen pronóstico (27,28). En los pacientes pediátricos mayores de un año con LAL y reordenamiento de 11q23 se ha descrito también un pronóstico adverso (52), incluso excluyendo los que tienen t(4;11) (53). Se ha descrito que los numerosos casos de LAL en los que la citogenética señala la existencia de deleción de 11q23 o inv(11)(p13q23) carecen de reordenamiento de MLL y tienen buen pronóstico (19).

En los pacientes con LAM M4 y M5 algunos estudios no han encontrado diferencias evolutivas entre los casos con y sin reordenamiento (39,40). No obstante, también se ha comunicado que los adultos con LAM con reordenamientos de MLL o translocaciones balanceadas de 11q23 tienen mejor pronóstico que los casos con alteraciones no balanceadas de 11q23, pero peor que el de los pacientes con cariotipo normal y sin reordenamiento de MLL (54).

—Genes de fusión más frecuentes en los que participa MLL:

1. *MLL/AF4*: Los genes implicados en la t(4;11) (q21;q23) han sido clonados, identificándose el gen MLL y a su pareja, el gen AF4 (también conocido como FEL o MLLT2), localizado en la banda 4q21. AF4 codifica una proteína rica en prolina y serina que contiene dos secuencias de localización nuclear. La ruptura de AF4 se produce a lo largo de una zona de 38 kb localizada entre los exones 3 y 6 (de los al menos 21 que forman el gen) (55) (Fig. 3B). Mediante RT-PCR en un único paso no se ha podido detectar el transcrito quimérico del der(11), MLL/AF4, en todos los casos portadores de t(4;11)(q21;q23). En cambio, mediante *nested* RT-PCR se ha podido detectar este gen en todos los casos con t(4;11)(q21;q23) (32, 56). Sin embargo, aplicando *nested* RT-PCR el gen AF4/MLL del der(4) aparece en sólo el



84% de los casos, aunque presenten dos bandas de reordenamiento por *Southern blot* (56). En algunas t(4;11) anormales, como (q13;q23) y (q35;q14-22), existe reordenamiento de MLL sin detectarse MLL/AF4 (28).

El gen MLL/AF4 aparece en casos de LAL. Se han descrito 9 tipos de transcritos híbridos de MLL/AF4 con unión de la secuencia de los exones 6, 7 u 8 de MLL (denominación clásica) (16) con la de los exones 4, 5 o 6 de AF4, según la localización de la ruptura de los genes (que se han localizado en los intrones 3, 4 o más infrecuentemente, 5) y el mecanismo de corte y empalme (Fig. 4) (55-57). En algunos pacientes se puede detectar más un tipo de transcrito (57).

Recientemente, se ha descrito un elevado porcentaje de casos de LAL sin t(4;11)(q21;q23), en los que se ha detectado MLL/AF4 con *nested* RT-PCR y no con RT-PCR en un paso, algunos de los cuales presentaron reordenamiento de MLL en el *Southern blot*. En estos pacientes las características clínicas y la evolución fueron similares a las de los casos negativos para los transcritos de fusión MLL/AF4, E2A/PBX1 y BCR/ABL. Frente a los que presentan t(4;11) y reordenamiento de MLL, que tienen mayor frecuencia de organomegalias e hiperleucocitosis y muy mala evolución (32). Estos autores también han encontrado

MLL/AF4 en hígado y MO fetal y en un lactante normal, con *nested* RT-PCR, ante un cariotipo y un *Southern blot* normales (32).

Se han realizado estudios en los que el seguimiento de MLL/AF4 con *nested* RTPCR ha demostrado utilidad, ya que los pacientes que estaban en remisión completa con PCR positiva recayeron, mientras que los pacientes mantenidamente negativos permanecieron en RC durante el seguimiento (57).

2. *MLL/AF6*: La t(6;11)(q27;q23) genera el gen de fusión MLL/AF6 (Fig. 5) (58). El gen AF6 codifica una proteína citoplásmica que interacciona con Ras (59). La t(6;11)(q27;q23) se ha detectado mayoritariamente en casos de LAM, principalmente M4 y M5, si bien se ha citado en casos de LAL-T y en un lactante con LAL de precursores B. Los pacientes portadores de la t(6;11) con LAM parecen tener mal pronóstico (33). Sin embargo, aún deben realizarse amplios estudios mediante PCR para evaluar adecuadamente la frecuencia y el papel en el pronóstico de las LAs del gen híbrido MLL/AF6.

3. *MLL/AF9*: La t(9;11)(p22;q23) produce la fusión de MLL con el gen AF9 (también llamado MLLT3 y LTG9). Se han descrito tres puntos de unión de AF9 con los exones 6, 7 u 8 de MLL (Fig. 6) (30, 60). El

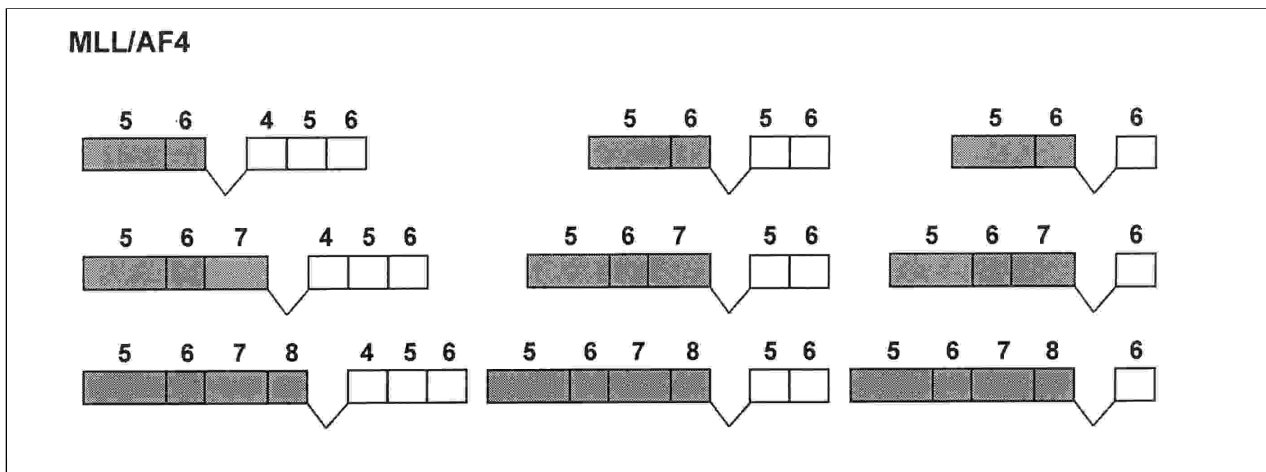


Fig. 4. Esquema de los distintos transcritos de fusión derivados del gen MLL/AF4 según la localización de los puntos de ruptura en ambos genes y el mecanismo de corte y empalme alternativo.

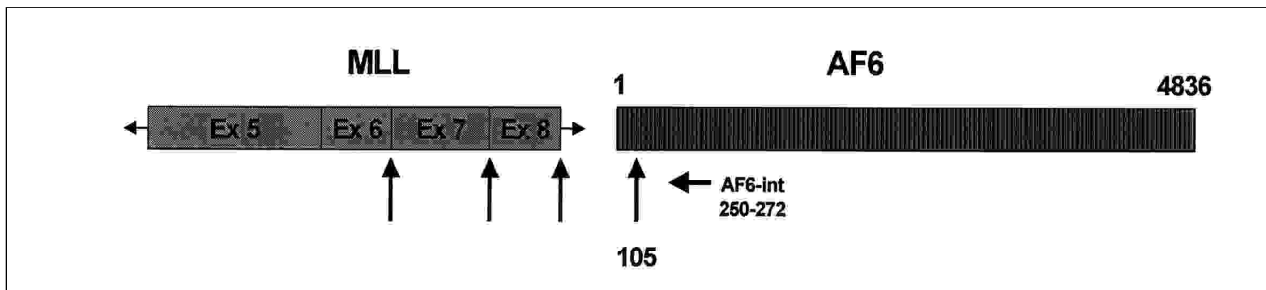


Fig. 5. Esquema del ADNc obtenido a partir del ARNm del gen AF6, que se reordena con MLL en un gen de fusión derivado de la t(6;11). Por medio de flechas verticales se reflejan los puntos de fusión entre AF6 y MLL. La numeración de los nucleótidos se inicia en el primero que interviene en la codificación de proteína y se termina en el último codificante, según Prasad et al (93). Se muestra además la localización del oligonucleótido AF6-int utilizado en este trabajo para amplificar el gen MLL/AF6. Ex: exón.

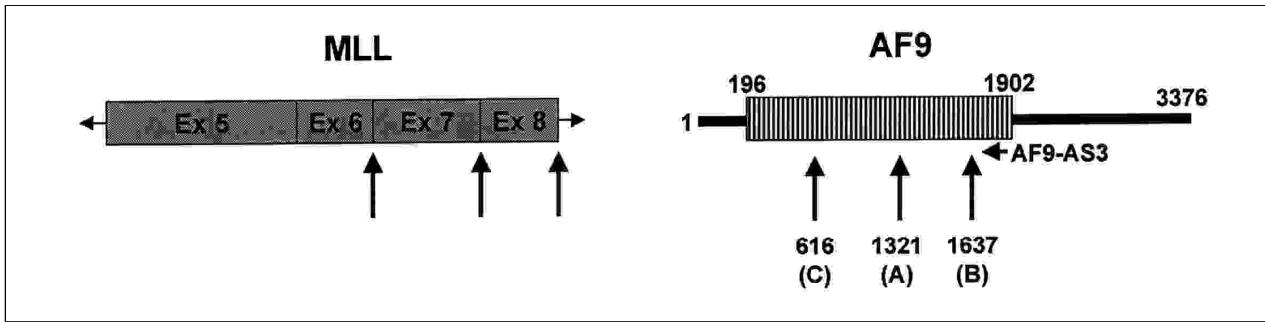


Fig. 6. Representación de parte del ADNc de MLL y del ADNc de AF9. Mediante flechas verticales se muestran los posibles puntos de fusión de MLL (tras los exones 6, 7 u 8) y de AF9. Bajo la flecha correspondiente se indica el nucleótido donde se localizan los puntos de ruptura A, B y C de AF9, según Poirel et al (67). También se señala la localización del oligonucleótido AF9-AS3 (flecha horizontal) utilizado para amplificar el gen MLL/AF9 en este trabajo. Ex: exón.

gen AF9, al igual que AF4, codifica una proteína rica en prolina y serina que contiene una secuencia de localización nuclear (61). La t(9;11) se ha detectado fundamentalmente en casos de LAM, especialmente monocítica (15, 62).

4. *MLL/ENL*: El gen ENL (*eleven-nineteen leukemia*), MLLT1 o LTG codifica una proteína rica en serina y prolina de localización nuclear que puede actuar activando la transcripción mediante un dominio homólogo a una zona de AF9 (63).

La t(11;19)(q23;p13.3) determina la formación del gen de fusión MLL/ENL. Se han detectado ARNm quiméricos producidos por la fusión de los exones 6, 7 u 8 de MLL con dos porciones distintas de ENL (Fig. 7) (64). El reordenamiento MLL/ENL ha sido detectado mediante RT-PCR en casos con t(11;19) diagnosticados

de LAM y LAL (incluidos lactantes) de línea B y T (65,66).

5. *MLL/ELL*: A partir de la t(11;19)(q23;p13.1) se ha clonado el gen de fusión MLL/ELL (Fig. 7). El gen ELL (*eleven-nineteen lysine-rich leukemia gene*) codifica una proteína altamente básica, rica en lisina (67). El reordenamiento MLL/ELL se ha detectado por RT-PCR en casos de LAM (65).

Si bien ENL y ELL son los dos genes procedentes de la banda 9p13 que más frecuentemente que se unen a MLL, se ha descrito un tercer gen, el ENN (68).

6. *Duplicación de MLL*: La duplicación parcial del gen MLL ha sido encontrada en el 91% de los casos de LAM con triplicación del cromosoma 11 (69), además de casos de LAM con cariotipo normal (aproximadamente en el 11%), en los que se ha detectado con RT-

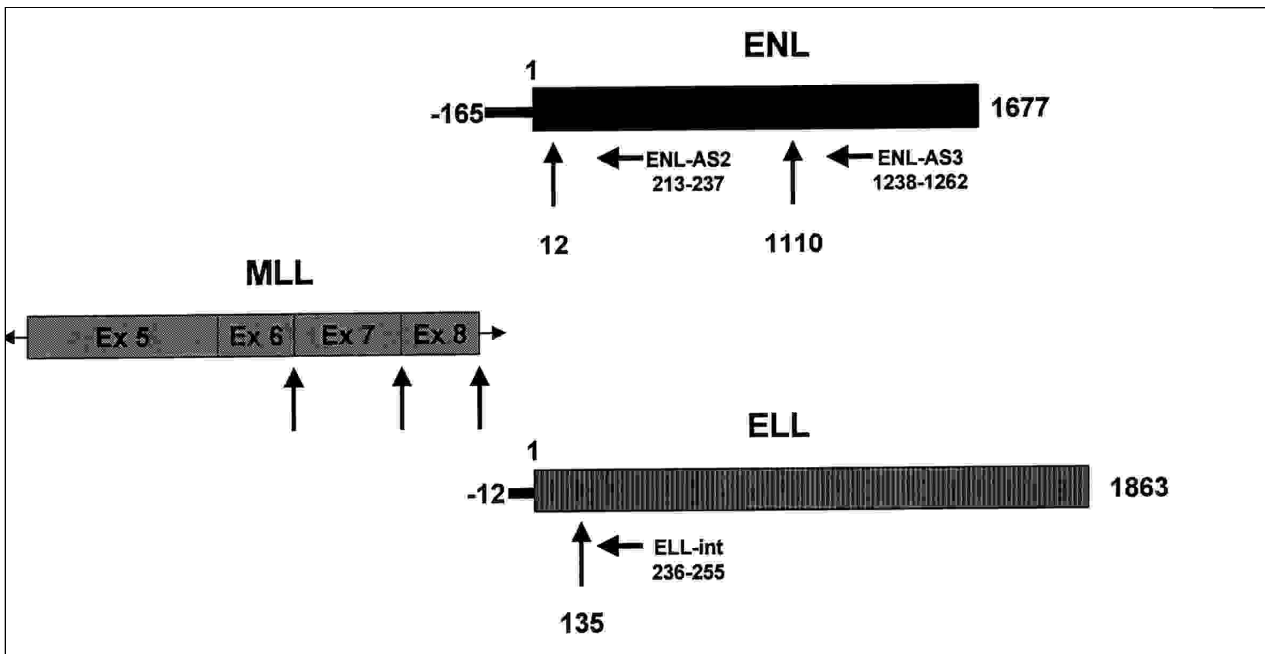


Fig. 7. Esquema de los ADNcs obtenidos a partir de los ARNm de los genes ENL y ELL que se reordenan con MLL en los genes de fusión derivados de la t(11;19). Por medio flechas verticales se reflejan los posibles puntos de fusión de ambos genes con MLL. La numeración de los nucleótidos se inicia en el primero que interviene en la codificación de proteína y se termina en el último codificante (98,101). Se muestra además la localización de los oligonucleótidos ENL-AS2 y ENL-AS3 utilizados en este trabajo para amplificar el gen MLL/ENL y la del cebador ELL-int empleado para amplificar MLL/ELL. Ex: exón.

PCR en un paso y se ha relacionado con un mal pronóstico (70). Se han descrito pacientes con duplicación de MLL no detectable mediante *Southern blot* usando una sonda de la zona bcr (69).

Se ha demostrado que la duplicación se produce en un único alelo (71). En la mayoría de los casos se duplica del exón 2 al 6 u 8 (69, 70).

Recientemente, se ha descrito la presencia de duplicaciones de MLL en un 16-100% de la población normal mediante *nested RT-PCR*, aunque con un paso de PCR y con *Southern blot* fueron negativos. Algunos de estos últimos casos parecen tener uniones de exones no halladas en LAM y en algunos no se mantiene el marco de lectura (*open reading frame*), a diferencia de los detectados en LA, que codifican una proteína de fusión (72, 73).

#### E2A/PBX1

Ciertas zonas del ADN que tienen función reguladora se conocen como *E box* (en honor de su descubridor Ephrussi). La *E box* llamada E2 es importante para la transcripción del gen la cadena ligera de las inmunoglobulinas. La proteína E12 se une específicamente a la secuencia de E2 y no a otras *E box*. Las proteínas E47 y E25 tienen gran homología con E12. Estas tres proteínas son factores de transcripción que contienen un dominio hélice-bucle-hélice y están codificadas por un mismo gen denominado E2A. Las proteínas de E2A intervienen, formando heterodímeros con otras proteínas con dominios hélice-bucle-hélice, en la regulación

de la expresión de distintos genes en diversos tejidos, pero los homodímeros de E2A sólo se han encontrado en linfocitos de línea B. La inactivación de E2A en ratones determina el bloqueo de la maduración de los progenitores de los linfocitos B en un estadio precoz.

Poco después del descubrimiento del gen E2A, se determinó su localización en la banda 19p13.3, en la zona de ruptura de la t(1;19)(q23;p13). Posteriormente, se descubrió que esta translocación, tanto en su variante balanceada como en la no balanceada, da lugar a la fusión de E2A con un gen localizado en el cromosoma 1, previamente desconocido, que se denominó PRL y que actualmente se conoce como PBX1. La citada fusión produce la formación del gen E2A/PBX1 en el der(19) que se transcribe en ARNm. En cambio, el recíproco PBX1/E2A del der(1) no produce proteína, ya que E2A no se transcribe en las células linfoides.

Ya se ha citado previamente que las proteínas PBX (PBX1, PBX2 y PBX3) tienen una gran homología en toda su secuencia con la proteína de *Drosophila extradenticle*. La proteína E2A/PBX1 pierde el extremo carboxilo de E2A, que incluye la región hélice-bucle-hélice, que es sustituido por la porción de PBX1 que contiene el homeodominio (Fig. 8). Esta proteína quimérica se une a las zonas del ADN que reconoce la proteína PBX1, pero tiene propiedades de regulación de la transcripción diferentes. Las proteínas PBX y E2A/PBX1 se unen a ciertas proteínas HOX con las que actúan cooperativamente. La mínima zona de PBX1 necesaria para la oncogénesis es, precisamente, la que interacciona con las proteínas HOX. Al parecer, el efec-

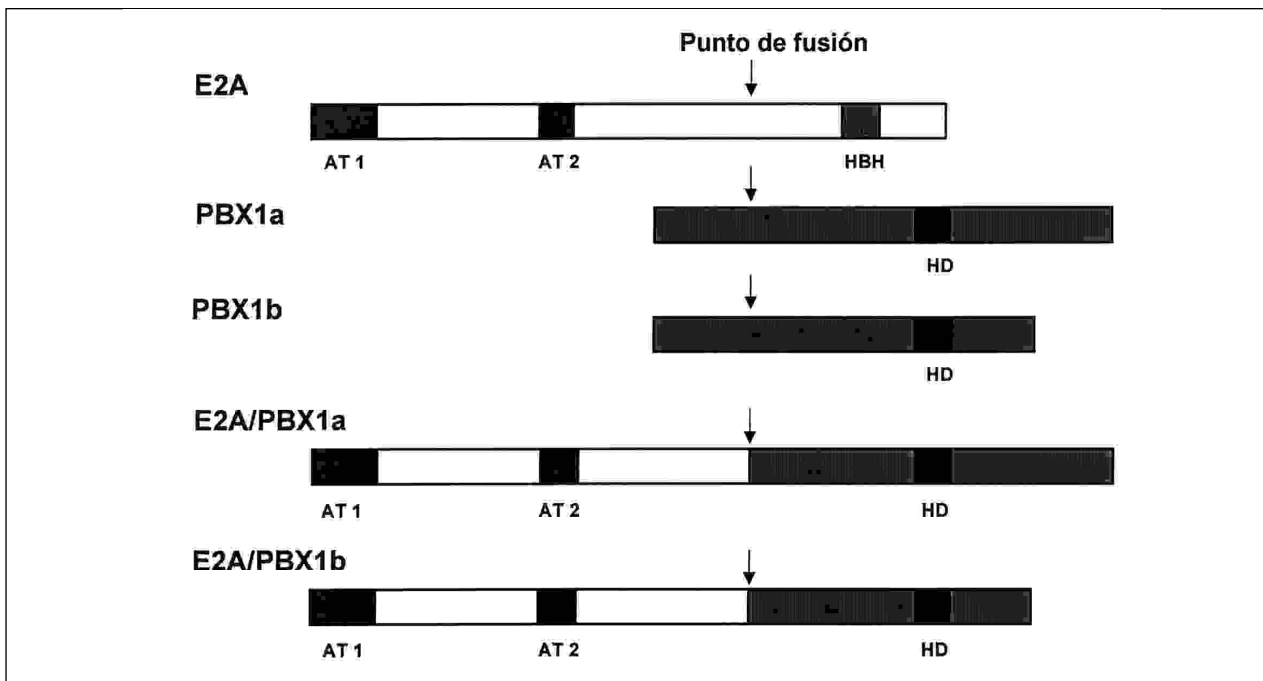


Fig. 8. Esquema de la estructura de las proteínas E2A, PBX1 y E2A/PBX1. El punto en el que se produce la fusión entre las proteínas E2A y PBX1 se señala con una flecha. Las proteínas PBX1a y PBX1b (así como E2A/PBX1a y E2A/PBX1b) se diferencian sólo en su extremo carboxilo y su origen está un mecanismo alternativo de corte y empalme. Abreviaturas: AT1 y AT2, dominios activadores de la transcripción 1 y 2, respectivamente; HBH, dominio hélice-bucle-hélice; HD, homeodominio.

to de E2A/PBX1 es, fundamentalmente, el bloqueo de la diferenciación, y para producir el fenotipo transformado son necesarias otras alteraciones genéticas (74). Si bien, se ha observado que E2A/PBX1 induce tanto proliferación, como apoptosis (75).

La ruptura del gen E2A se produce en un intrón de aproximadamente 3.5 kb que se localiza entre los exones 13 y 14. Por su parte, el gen PBX1 parece que también queda roto en un único intrón, ya que repetidamente se detecta la misma porción de este gen en el ARNm de fusión. Además, se han descrito casos con 27 nucleótidos más entre las secuencias de E2A y de PBX1 en el ARN de fusión y un caso con un tipo de fusión diferente del de los demás (76).

El ARNm de E2A/PBX1 se ha detectado en más del 95% de las LALs con t(1;19) (77, 78). Según los datos obtenidos hasta el momento, la gran mayoría de las LALs con t(1;19) poseen el gen E2A/PBX1, son positivas para las Clg y tienen un inmunofenotipo particular con una elevada expresión de CD19, CD10 y CD9, una ausencia completa de CD34 y al menos una carencia parcial de CD20 (78). Mientras que en una pequeña minoría de casos citogenéticamente idénticos a los anteriores, al parecer con mejor pronóstico, son negativas las Clg, carecen de E2A/PBX1 y no presentan el referido inmunofenotipo (79). No obstante, estos marcadores de superficie aparecen en el 8% de las LALs de precursores B, incluyendo casos sin t(1;19) con E2A/PBX1 y otros sin este gen de fusión (78). Y, a su vez, existen casos de LAL con t(1;19) que expresan el ARNm de E2A/PBX1 y en los que son negativas las Clg (74, 80). Todo ello hace que sea más útil el estudio molecular que el fenotipo en los casos con t(1;19). Además, se ha detectado el ARN de E2A/PBX1 en algún caso de LAM (80). El estudio de RT-PCR de E2A/PBX1 ha permitido detectar su ARNm quimérico en casos sin t(1;19) (77-79, 81), hasta el punto de postularse que entre un 25 y un 50% de los casos con E2A/PBX1 no se detecta la t(1;19) (74).

En 74 pacientes con LAL y t(1;19) se ha realizado un estudio de enfermedad mínima residual (con un prolongado seguimiento) mediante el análisis del ARN de E2A/PBX1 con *nested* RT-PCR al final de la fase de consolidación del tratamiento, que ha concluido que la detección de dicho ARN quimérico en este momento no predice la evolución de los pacientes. Los estudios ante-

riores, realizados sobre un escaso número de pacientes, tampoco han podido establecer una relación entre la positividad de la PCR durante el tratamiento y la evolución de los pacientes (76, 82),

### Complejo del core binding factor (CBF)

Tres de los más frecuentes genes de fusión de las LAs afectan distintos componentes del CBF. El CBF es un heterodímero, formado por las subunidades CBF $\beta$  y CBF $\alpha$ , que se une al ADN en la secuencia o *core* TGT/cGGT. Existen al menos 3 subunidades, las cuales tienen homología con el gen RUNT de *Drosophila*. La proteína CBF $\beta$  está codificada por el gen AML1, también llamado CBFA2, y la CBF $\alpha$  por el gen CBF $\beta$ . La subunidad CBF $\alpha$  se une al ADN directamente, en cambio la  $\beta$  aumenta la afinidad de CBF modificando su configuración, pero no se une al ADN directamente (Fig. 9). El dominio RUNT de la subunidad  $\alpha$  es el responsable tanto de la unión al ADN, como de la interacción con la subunidad  $\beta$ .

El complejo CBF regula la expresión de una gran variedad de proteínas que se expresan en las células hematopoyéticas como la interleucina 3, el factor estimulante de colonias granulomonocíticas (GM-CSF), el receptor del factor estimulante de colonias monocíticas (M-CSF), el RCT, la mieloperoxidasa, CD3, HoxB2 y la elastasa de los neutrófilos (6,83,84).

### TEL/AML1

El gen TEL (*translocation ets-like leukemia*) o ETV6 fue identificado tras ser clonada la región implicada en la t(5;12)(q33;p13) que se observa en algunas leucemias mielomonocíticas crónicas. Posteriormente, se caracterizó la t(12;21)(p13;q22) que, como se ha indicado, se halla excepcionalmente en la LAL, y se observó que en esta translocación se produce la unión de TEL con AML1 (85,86). TEL es un miembro de la familia de factores de transcripción llamada ETS. El factor de transcripción que codifica contiene un dominio en el extremo amino de dimerización y transactivación, a continuación un dominio hélice-bucle-hélice y en el extremo carboxilo un dominio de unión al ADN. En el híbrido

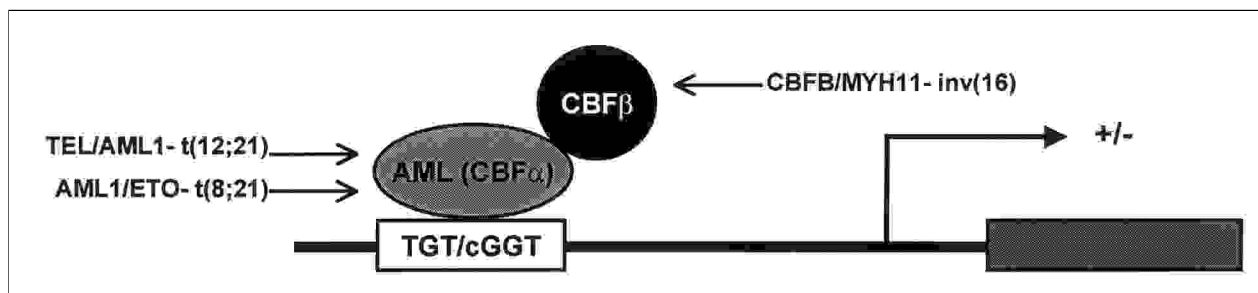


Fig. 9. El heterodímero normal CBF (core binding factor) está formado por la subunidad  $\beta$  (CBF $\beta$ ) y la subunidad  $\alpha$  (CBF $\alpha$  o AML), a través de esta última se une al ADN en la secuencia core (TGT/cGGT) y regula la expresión de diversos genes. Este complejo es la diana de tres frecuentes fusiones génicas en leucemias agudas, la subunidad que afecta cada una de ellas se muestra en la figura.

TEL/AML1, los dos dominios citados en primer lugar quedan unidos a la proteína CBF 2 casi completa, incluyendo la zona de homología con RUNT y el dominio de transactivación de su extremo carboxilo (Fig. 10C) (85, 87). Se ha demostrado que la proteína de TEL/AML1 forma homodímeros y heterodímeros con la proteína TEL normal, gracias a la porción de TEL presente en la quimera (118).

El uso de técnicas de FISH y RT-PCR ha permitido detectar el gen híbrido TEL/AML1 o su ARNm, respectivamente, en el 10-29% de los casos de LAL de edad pediátrica (88-96). Sin embargo, en los pacientes adultos con LAL se ha observado en aproximadamente el 3% de los casos (88,90,97,98) y en pacientes menores de un año o con síndrome de Down parece ser infrecuente (99,110). Solamente en un 45% de los casos con TEL/AML1 se detecta el recíproco AML1/TEL (88). También se ha observado que la mayoría (87,5%) de los casos con TEL/AML1 presentan el otro alelo de TEL deletionado (90,101), al parecer éste es un fenómeno secundario (101) que no afecta al pronóstico de los pacientes (94). TEL/AML1 se detecta en casos de LAL de precursores B, en los que alcanza, dentro de la edad pediátrica, un 12-36% (89-91, 93,101,102). La máxima frecuencia de TEL/AML1 es entre los 2 y 7 años (88,90,93,102), no se observa en casos portadores de los reordenamientos BCR/ABL, E2A/PBX1, ni MLL/AF4 u otras translocaciones que afecten al gen MLL (90,91, 93) no suelen tener hiperleucocitosis, ni hiperdiploidía (91,93), frecuentemente poseen algún marcador mieloiide (CD13 y/o CD33) asociado a los linfoides B y son con frecuencia CD10 positivos (90,93,94,103).

Se ha considerado que los niños portadores de TEL/AML1 tienen un pronóstico bueno o incluso excelente (118,123,134-136). Sin embargo, en la

actualidad, este hecho se encuentra en discusión (92,94-96,107).

La amplificación del ADNc de TEL/AML1 permite detectar dos productos de PCR fundamentales (89), uno mayor que deriva de la unión del nucleótido 1033, extremo 5' del exón 5, de TEL con el exón 2 de AML1 (Fig. 10A) y otro menor en el que el citado punto de TEL se une al exón 3 de AML1 (Fig. 10B) (90). El transcrito mayor se suele acompañar de la coamplificación del menor con intensidad inferior a la del primero (96). En estos casos se produce la eliminación del exón 2 de AML1 (39 pb) por el mecanismo de corte y empalme alternativo (96).

Los estudios que intentan valorar la utilidad de la detección del ARNm de TEL/AML1 como indicador de la existencia de EMR aún son pocos, se han realizado sobre escasos pacientes y con seguimiento durante un breve periodo de tiempo. No obstante, existen algunos datos que parecen indicar que los enfermos que permanecen en remisión completa de forma prolongada mantienen la PCR negativa, mientras que en los que recaen se hace positiva previamente (108,109).

#### AML1/ETO

En la inmensa mayoría de los casos de LAM con t(8;21) la ruptura del cromosoma 21q22 se produce en el intrón del gen AML1 o CBFA2 que se localiza inmediatamente después del exón que codifica el dominio RUNT. El der(8) resultante de esta translocación pasa a codificar una proteína de fusión que incluye la porción del extremo amino de CBF 2, incluyendo el dominio RUNT, y que conserva, por tanto, la capacidad de unirse al ADN y de formar dímeros con CBF (Fig. 10C). La

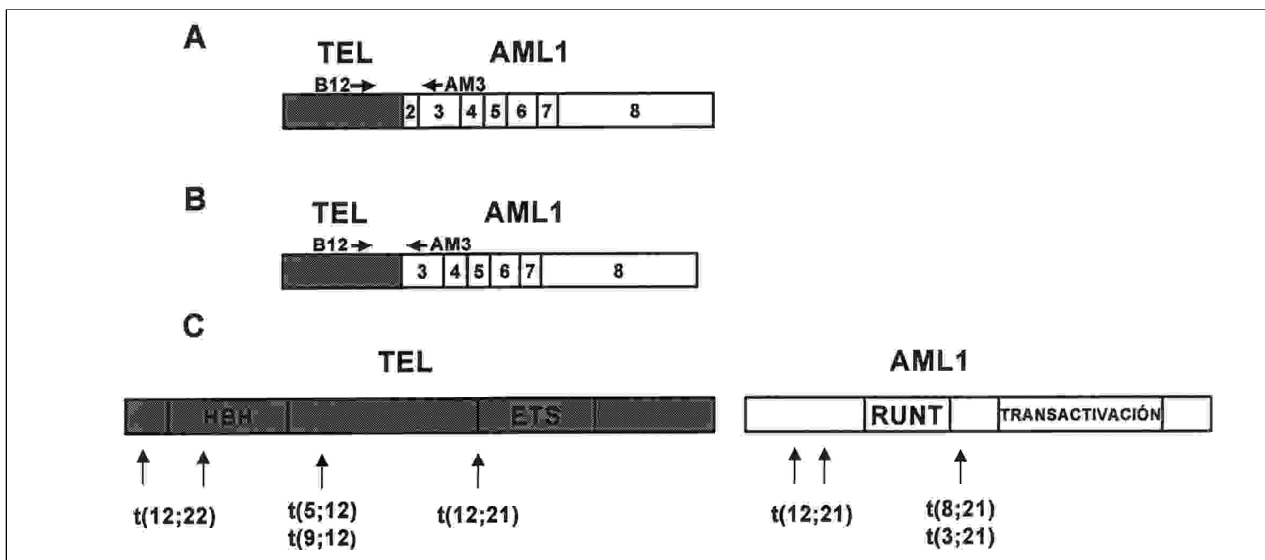


Fig. 10. Representación esquemática de los dos tipos de transcritos fundamentales del gen de fusión TEL/AML1, en los que el exón 5 de TEL queda unido al exón 2 (A) o al exón 3 (B) de AML1. Se muestra la posición de los cebadores B12 y AM3 que se han utilizado para la amplificación de TEL/AML1 en este trabajo. (C) Esquema de la estructura de las proteínas TEL y AML1, en el que se señalan los dominios hélice-bucle-hélice (HBH) y de unión al ADN (ETS) de TEL y los dominios de homología con la proteína RUNT de *Drosophila* y de transactivación de AML1, respectivamente. Las flechas verticales debajo de las proteínas indican los puntos de fusión que se originan por las distintas translocaciones que afectan a los genes que las codifican.

porción del extremo carboxilo de AML1, que incluye el dominio de transactivación, queda sustituida por la secuencia casi completa de la proteína codificada por el gen ETO (*eight-twenty-one*) que se piensa que es un factor de transcripción con dos dedos de zinc. El gen ETO (también llamado MTG8 y CDR) procede del cromosoma 8q22 (83). La proteína quimérica CBF 2/ETO se cree que actúa por un mecanismo dominante negativo.

El ARNm de AML1/ETO puede ser detectado en la casi totalidad de las LAMs portadoras de t(8;21) (q22;q22) cuando son diagnosticadas (83,110), si bien se ha descrito un caso de LAM tras un síndrome mielodisplásico con t(8;21)(q22;q22) en el que el gen AML1 no estaba afectado (111). También se ha objetivado el ARNm quimérico de AML1/ETO en casos en los que no se ha apreciado una t(8;21) por técnicas citogenéticas clásicas (110,112-114). El análisis cariotípico permite demostrar la t(8;21) en aproximadamente el 7-8% de los pacientes adultos con LAM y por RT-PCR se estima que se podría detectar el ARNm de AML1/ETO en un porcentaje, aún no claramente determinado, que podría ser superior al citado para la t(8;21) en un 5-10% (110,112).

El análisis del ARNm de AML1/ETO por RT-PCR ha permitido detectarlo en pacientes que se hallaban en RC desde periodos de tiempo muy prologados, con una hematopoyesis policlonal y probablemente curados de su LA, tras ser tratados con quimioterapia convencional, trasplante autólogo o alogénico de médula ósea (83,113,115,116). Se ha demostrado que la presencia de AML1/ETO en estos pacientes se debe a la persistencia residual de precursores hematopoyéticos multipotentes del mismo origen clonal que los blastos leucémicos presentes en el momento del diagnóstico (115). El desarrollo de diferentes metodologías de PCR cuantitativa para AML1/ETO ha permitido observar que un incremento en el número de copias de AML1/ETO podría preceder a la recaída de algunos de los escasos pacientes que se han analizado (117,119).

#### CBF/MYH11

Los estudios de genética molecular han demostrado que la inv(16) y la t(16;16) determinan la formación de un gen de fusión en el que participan el gen CBF, que se localiza normalmente en el brazo largo del cromosoma 16 (16q22), y el gen MYH11 que está en el brazo corto de dicho cromosoma (16p13). CBF codifica la subunidad del CBF, y MYH11 la cadena pesada de la miosina del músculo liso. El gen de fusión originado que parece tener importancia en la patogénesis de la leucemia es CBF/MYH11, mientras que el potencial recíproco MYH11/CBF, no se forma en todos los casos con inv(16), por delección de las secuencias del extremo 5' de MYH11, y además, sus características biológicas hacen que sea poco probable su implicación de forma importante en la leucemogénesis (30). En algunos casos portadores de del(16)(q22) también se ha demostrado la presencia del ARNm de fusión de CBF/MYH11, si bien estos casos pueden no ser auténticas delecciones (84,114).

Se conocen al menos 11 tipos de transcritos de fusión

distintos derivados de CBF/MYH11 (84,120,121). De estos transcritos híbridos existen 8 variantes según los puntos de fusión entre CBF y MYH11 que se clasifican mediante letras de la A a la H, de los cuales el más frecuente es el tipo A (Fig. 11) (84), los demás se deben a inserciones o pérdidas de secuencia (120,121).

Se ha detectado el ARNm de CBF/MYH11 en pacientes sin alteraciones evidentes del cariotipo a nivel del cromosoma 16 (114,122-124). Esto supone que el ARNm de CBF/MYH11 podría llegar a detectarse mediante RT-PCR en aproximadamente un 10% de las LAMs, mientras que la inv(16) se podría evidenciar en aproximadamente el 6% (123).

#### PML/RAR $\alpha$

Virtualmente en el 100% de los casos con morfología típica de LAP se puede detectar mediante RT-PCR o FISH el reordenamiento PML/RAR. El gen PML (nombre derivado de promielocito), inicialmente denominado myl, se localiza en la zona de ruptura del cromosoma 15 producida en la t(15;17)(q22;q21). El gen afectado por esta translocación en el cromosoma 17 codifica el receptor del ácido retinóico (125). El gen de fusión PML/RAR también se ha detectado en otras translocaciones variantes que afectan a la banda 17q21 y a otro cromosoma diferente del 15: t(1;17), t(8;17), t(14;17), así como en casos con translocaciones complejas como la t(1;15;17) (126,127).

De manera infrecuente se han observado reordenamientos del gen RAR con otros genes. Esto ocurre en la t(11;17) en la que RAR se une a un gen denominado PLZF (*promyelocytic leukemia zinc finger*) que codifica una proteína con dedos de zinc. En los casos portadores de la t(11;17) las células leucémicas presentan características morfológicas intermedias entre una LAM-M2 y una LAM-M3. Estos casos, al contrario que las LAM-M3 con t(15;17) y/o reordenamiento PML/RAR, no responden al tratamiento con ácido todo-trans retinoico (ATRA, del inglés *all-trans retinoic acid*) (128). En un caso se ha descrito la t(5;17), que produce la unión del gen NPM con RAR (129). También se ha descrito en un paciente el reordenamiento de RAR con el gen NuMA que se localiza en el cromosoma 11 (130). En otro caso, morfológicamente clasificado como LAM-M2, se ha descrito una t(15;17)(q24.3;q21.1), sin reordenamiento PML/RAR y resistente al tratamiento con ATRA (131).

—Estructura y función de los genes PML y RAR normales:

Los retinoides ejercen su acción a través receptores nucleares que han sido clasificados en dos clases principales: los receptores del ácido retinóico (RAR) y los receptores de retinoides X (RXR). Ambos tipos incluyen tres miembros que se denominan  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . RAR está formado por 6 dominios (A-F). Los dominios A/B tienen funciones de activación de la transcripción, el C contiene dos dedos de zinc, el D es un dominio de dimerización y el E de localización nuclear.

El gen PML está formado por 9 exones. Por el meca-

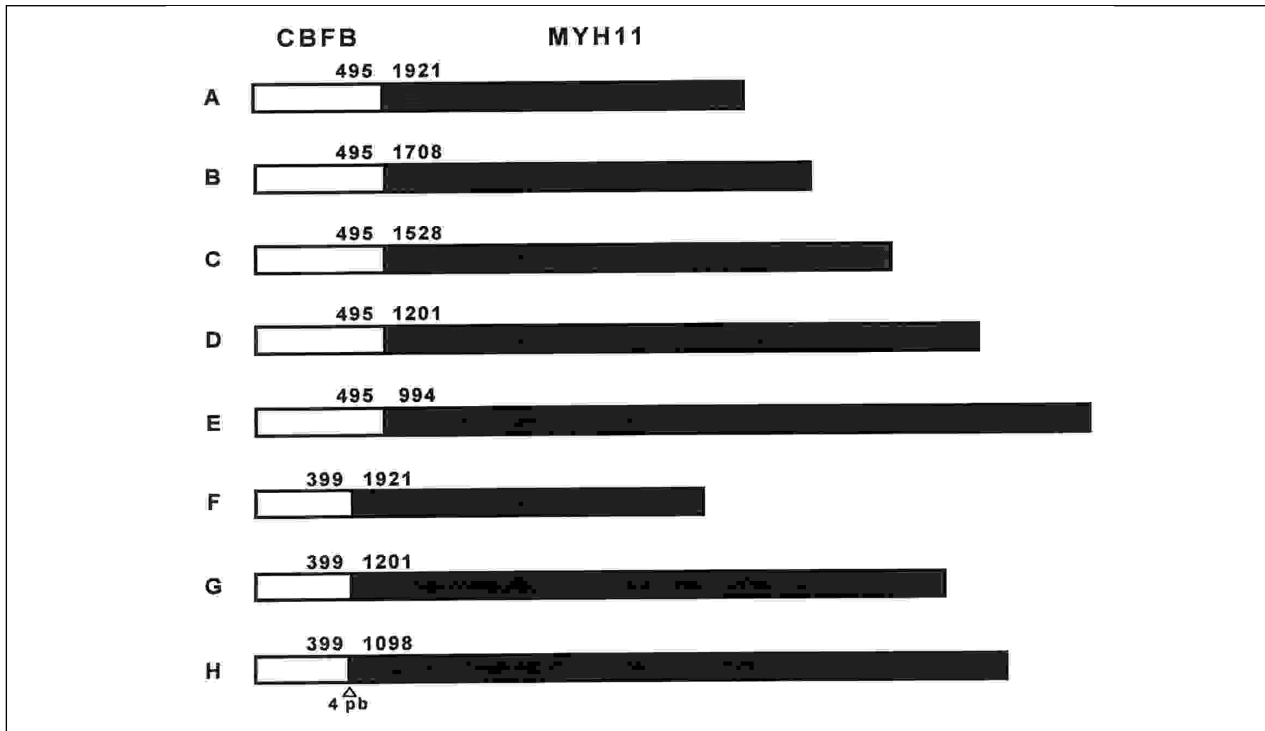


Fig. 11. Esquema de la clasificación los transcritos híbridos del gen de fusión CBFβ/MYH11 según los puntos de unión originados. Los números corresponden al nucleótido de CBFβ y al de MYH11, a la izquierda y derecha respectivamente, que se encuentra en el punto de fusión. El triángulo indica la posición de una inserción de 4 pb de origen desconocido que mantiene el marco de lectura de MYH11 (30).

nismo de corte y empalme del transcrito primario se pueden formar, al menos, 13 variantes de la proteína PML. La región del extremo amino contiene un dominio de transactivación, un tipo de dedo de zinc denominado RING, una región en hélice y un dominio responsable de homo o heterodimerización. El extremo carboxilo es una región rica en serina y prolina que contiene un lugar de fosforilación, este extremo varía en distintas isoformas originadas por el mecanismo de corte y empalme. PML se localiza en el núcleo con un patrón de inmunofluorescencia en grandes manchas (131,132).

—Gen de fusión PML/RAR :

La t(15;17) da lugar al gen PML/RAR en el der(15q+) y al gen recíproco RAR /PML en el der(17q). El gen RAR /PML sólo se expresa en un 70-80% de las LAPs con t(15;17) (132,134,135). En cambio, el ARNm PML/RAR se detecta mediante RT-PCR en casi el 100% de ellas y en casos de LAP sin evidencia citogenética de t(15;17) (114,132,134,136). El gen PML/RAR da lugar a la proteína PML/RAR y a una proteína PML aberrante en la que el extremo amino de PML ha sido sustituido por 10 aminoácidos de RAR y que se origina por el mecanismo de corte y empalme (137).

La ruptura del cromosoma 17q se produce siempre en el intrón 2 de RAR (137). En cambio, los puntos de ruptura en 15q se producen fundamentalmente en tres localizaciones de PML denominadas, respectivamente, bcr1, que está situada en el intrón 6; bcr2, en el exón 6; y bcr3, ubicada en el intrón 3 (Fig. 12A) (137). La variante

más frecuente es la formada por la ruptura en la región bcr1 (conocida como el transcrito largo), la cual está presente en el 55-60% de los casos (132,138). La forma originada por la ruptura en bcr3 (el transcrito corto) se detecta en el 35-40% de los casos (132,137-139). El transcrito producido por la ruptura en bcr2 (llamado V o variable) se describe en aproximadamente el 8% de los casos (Fig. 12B) (132,138,140). Se han descrito de manera excepcional otros puntos de corte, como en el exón 5 de PML (132). La relación existente entre la presencia de los distintos transcritos y el pronóstico de los enfermos es discutida. Se ha observado una sensibilidad al ATRA *in vitro* disminuida en algunas variantes de bcr2 (140), y una peor evolución de los pacientes portadores del transcrito corto de PML/RAR (134,141). No obstante, recientemente, se ha observado en un numeroso grupo de pacientes con LAP una asociación entre la presencia del transcrito corto y recuentos leucocitarios, porcentaje de blastos más promielocitos en SP, número absoluto de blastos más promielocitos en SP y porcentaje de LAM-M3V superiores a los de los casos portadores de la variante larga; y, sin embargo, no se objetivaron diferencias significativas en el porcentaje de pacientes en los que se obtuvo RC, ni en la supervivencia libre de enfermedad (138).

—Tratamiento con ATRA:

Los RARs se unen a diversos retinoides. El ATRA se une con gran afinidad a los RARs y con muy baja afinidad a los RXRs, al contrario que otras formas de ácido retinoico que se unen a ambos con una afinidad similar

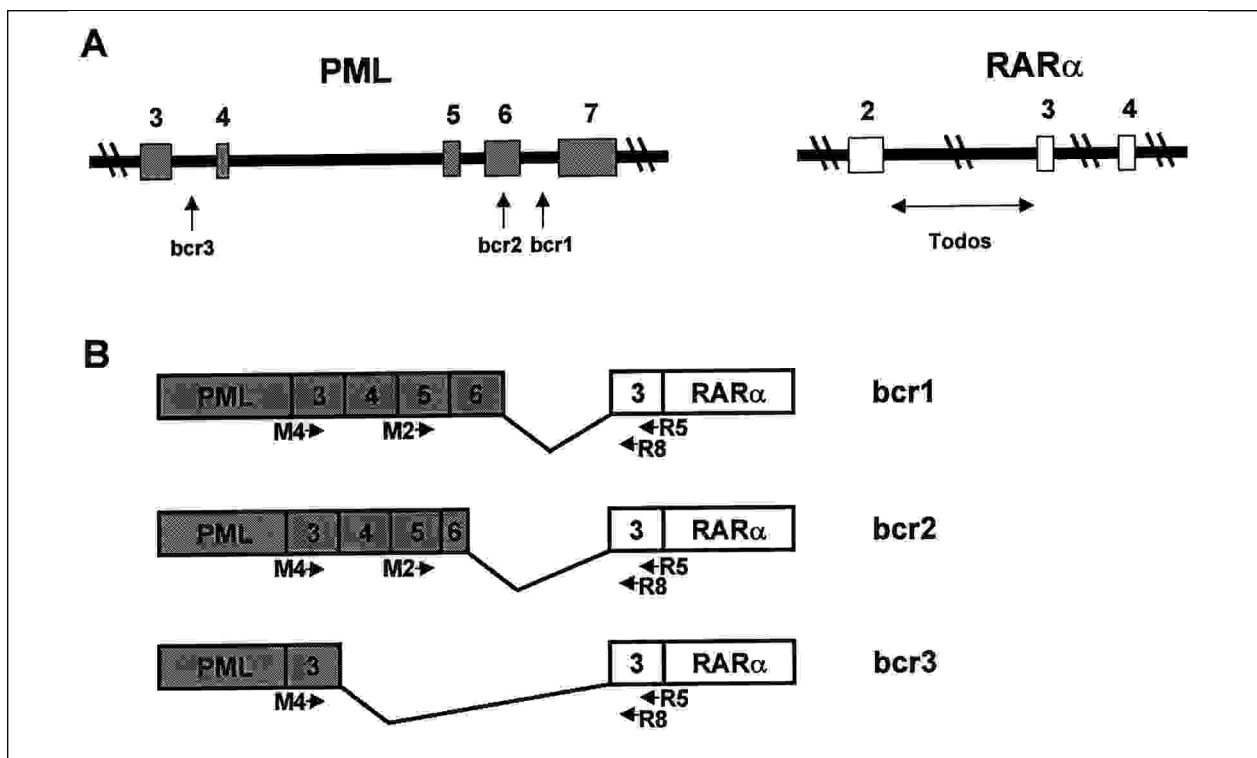


Fig. 12. (A) Representación esquemática de los genes PML y RAR $\alpha$  en la que aparecen las regiones de acumulación de puntos de corte (bcr) de ambos genes. En el gen PML existen tres regiones: bcr3 que se localiza en el intrón 3, bcr2 situada en el exón 6 y bcr1 que está en el intrón 6. Todos los puntos de corte en RAR $\alpha$  se producen en el intrón 2. (B) Esquema de los ARNm quiméricos resultantes según se produzca la ruptura en bcr1 (transcrito largo), bcr2 (transcrito variable) o bcr3 (transcrito corto). Se indica la localización de los oligonucleótidos que se han empleado en este trabajo para la amplificación de PML/RAR $\alpha$ .

(125). Se ha demostrado que la proteína PML/RAR disminuye en respuesta al ATRA (142).

Los resultados obtenidos mediante el tratamiento con quimioterapia convencional en la LAP mostraron una elevada sensibilidad a las antraciclinas, lográndose unos porcentajes de RC superiores a los de otras LAMs (125). El fallo para lograr la RC se debía, más que a la resistencia a la quimioterapia, a la mortalidad producida por los trastornos de la coagulación presentes en estos pacientes (125,143). Estas alteraciones de la coagulación se producen por mecanismos complejos que incluyen una actividad procoagulante, fibrinólisis, proteólisis no específica y liberación de citoquinas. El ATRA, sin producir hipoplasia, determina una diferenciación de los promielocitos leucémicos, un aumento del porcentaje de RC, un aumento en la supervivencia libre de enfermedad y una resolución de la coagulopatía. Este último efecto se logra reduciendo la actividad procoagulante, mientras que la actividad fibrinolítica no cambia o mejora y la proteolítica no se modifica; además, si bien el ATRA aumenta la producción de citoquinas, actúa protegiendo el endotelio frente a estos mediadores (143). No obstante, el ATRA no es útil en los casos PML/RAR negativos (128,131,136,138). El efecto indeseable más importante que origina es el llamado síndrome del ATRA que produce fiebre, dificultad respiratoria (*distrés*), infiltrados pulmonares, derrame pleuropericárdico, hipotensión, edema, a veces fallo renal, y puede estar precedido de leucocitosis. Este sín-

drome puede causar la muerte por hipoxemia y fallo multiorgánico, aunque puede responder al tratamiento precoz con esteroides. Además, casi todos los pacientes tratados únicamente con ATRA recaen pocos meses después de alcanzar la RC (144).

La recaída extramedular, y concretamente en el sistema nervioso central (SNC), de la LAP que se consideraba un raro fenómeno antes del tratamiento con ATRA de esta enfermedad. No obstante, desde la introducción de este tratamiento la incidencia parece estar incrementándose (145-150). Se ha postulado que ello es debido al aumento en la expresión de moléculas de adhesión en los promielocitos leucémicos y en la secreción de citoquinas, como resultado de la terapia con ATRA (147,151,152).

Además de la forma oral de ATRA habitualmente empleada, existen formulaciones liposomales que se pueden administrar por vía intravenosa y conservan la capacidad de inducir diferenciación en las células leucémicas (153).

—Mecanismo de acción del gen PML/RAR :

En modelos experimentales PML/RAR inhibe la apoptosis y la diferenciación. En todas las proteínas PML/RAR originadas se conservan los dominios de dedos de zinc RING y de dimerización de PML, y los de unión al ADN y al ácido retinóico de RAR. Estudios con formas mutantes de PML/RAR han indicado que la integridad de los dominios de dimerización de PML y de unión al ADN de RAR es crucial para el



bloqueo de la diferenciación. Se ha postulado que, dado que PML/RAR puede formar homo o heterodímeros con PML o RXR, la proteína quimérica PML/RAR podría actuar secuestrando los RXRs impidiendo la formación de los heterodímeros funcionales RAR/RXR, sin embargo existen evidencias experimentales que señalan que el secuestro de RXR no contribuye de manera significativa a la actividad de PML/RARQ (154). El patrón normal de inmunofluorescencia de PML en la LAP cambia a un patrón citoplasmático y/o en micropartículas en las que, aparentemente, se localizan PML/RAR y PML. Sin embargo, la heterodimerización con PML tampoco parece ser crucial en la actividad de bloqueo de la diferenciación de PML/RAR (154). El cambio en el patrón de inmunofluorescencia se correlaciona con la positividad de PML/RAR en la RT-PCR, por lo que se ha planteado su uso en el diagnóstico de la LAP (132,133). No obstante, esta técnica puede no ser informativa en casos en los que las células estén destruidas en la muestra objeto del estudio (132) o en los que la zona de unión del anticuerpo no forme parte del der(15) y no se exprese el der(17) (RAR/PML) (159). Recientemente se ha postulado un mecanismo para la inhibición de la transcripción y la diferenciación por parte de la proteína PML/RAR consistente su interacción con unas moléculas conocidas como co-represores nucleares e histona deacetilasa. PML/RAR se uniría al ADN y formaría complejos con dichas moléculas, a través de RAR, para inhibir la transcripción de determinados genes. El ATRA puede interaccionar con secuencias de RAR y separar el complejo PML/RAR-co-represor-histona deacetilasa. La proteína PLZF también tiene un sitio de unión al co-represor, pero resistente al ATRA, lo cual podría explicar la ausencia de respuesta al ATRA de los pacientes portadores del gen PLZF/RAR (155,156).

—Estudio de la enfermedad mínima residual:

Lo Coco y cols. en 1992 obtuvieron resultados indicativos de que la detección mediante *heminested* RT-PCR del ARNm híbrido PML/RAR un mes después de alcanzar la RC no se correlacionaba con la recaída, mientras que resultados posteriores positivos o repetidamente negativos se correlacionaban con la recaída o el mantenimiento de la RC, respectivamente (157). Otros estudios obtuvieron resultados similares (141,158,159). Posteriormente, el grupo italiano GIMEMA desarrolló un protocolo terapéutico que denominaron AIDA para el tratamiento de la LAP en el que se realizó un seguimiento molecular de los pacientes. En este protocolo se administra una inducción con ATRA e idarrubicina simultáneamente y, tras lograr la RC, tres bloques de consolidación (160). El éxito logrado les llevó a aplicar este protocolo sobre un elevado número de pacientes, cuyo diagnóstico debe ser confirmado mediante la presencia de t(15;17) y/o ARNm de PML/RAR, y a incluir en él que los pacientes con RT-PCR positiva para PML/RAR deban tratarse con trasplante alogénico de médula ósea (TMO), si es posible, mientras que en los negativos se administran aleatoriamente distintos tipos de tratamiento de mantenimiento o ninguno. Con

este tratamiento se ha observado que un 95% de los pacientes alcanzaron la RC tras la inducción, en un 60% de ellos se obtuvo la remisión molecular, mientras que un 40% permanecieron con PCR positiva sin aparente influencia en su evolución posterior. Después de la consolidación el PML/RAR fue negativo en un 98%. No obstante, aunque la positividad de la PCR en este momento parece ser un buen predictor de la recaída, la negatividad no es una garantía de cura, ya que algunos pacientes recaen posteriormente (165). Este grupo también ha observado que los pacientes con LAP en segunda RC hematológica sometidos a trasplante autólogo de médula ósea (TAMO), que presentaban positiva la PCR inmediatamente pretrasplante, recaen tras el TAMO; en cambio, la gran mayoría de los que tienen PCR negativa se mantienen en RC por periodos prolongados (161). La sensibilidad, medida por dilución, con la que se han realizado los estudios de PML/RAR mediante RT-PCR permite detectar una célula leucémica entre 10<sup>4</sup> (dilución entre 10<sup>-4</sup> y 10<sup>-5</sup>) (141,158,159,162,163). Muy recientemente, se ha desarrollado un método que aumenta dicha sensibilidad hasta 2x10<sup>6</sup>, mediante el cual se ha detectado el ARNm de PML/RAR en pacientes con RC prolongada y cuya PCR aplicando métodos menos sensibles era negativa. El significado de la presencia de este ARN de fusión en cantidad tan baja es desconocido, ya que podría ser debido a células leucémicas residuales sin capacidad de reproducir la enfermedad (163).

#### *Transducción de señales*

##### *BCR/ABL*

—Estructura de los genes de fusión BCR/ABL y de sus transcritos, correlación con el fenotipo de la leucemia:

La translocación t(9;22)(q34;q11) da lugar a dos genes híbridos, el gen BCR/ABL en el cromosoma 22q, o cromosoma Filadelfia (Ph), y el ABL/BCR en el 9q+. El gen BCR/ABL se detecta en más del 95% de los pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC), en aproximadamente un 3 a 5% de los casos de LAL de la infancia y en alrededor de un tercio de los pacientes adultos con LAL (si bien, su frecuencia aumenta con la edad de los pacientes), así como en casos ocasionales de LAM (7,164-168). Se han descrito casos de LAL BCR/ABL-positivos en los que no se ha detectado el cromosoma Ph, en algunos de ellos por ser insuficientes las metafases obtenidas para realizar el estudio (167, 169), pero otros casos con estudios citogenéticos adecuados han sido igualmente Ph-negativos (167,168).

Todos los genes de fusión BCR/ABL contienen una porción 5' derivada de parte de la secuencia de BCR y una porción 3' que incluye casi todo el gen Abl, excepto sus primeros codones. El punto de ruptura del cromosoma 9 se produce en un segmento de más de 300 kb en el extremo 5' gen Abl: o bien antes (5) del primer exón alternativo Ib, o entre los exones Ib y Ia, o bien después (3') del exón Ia (Fig. 13A). En la inmensa mayoría de los pacientes con LMC, en aproximadamente un tercio de los

casos con LAL del adulto BCR/ABL-positiva y en raros casos infantiles, el punto de corte del cromosoma 22 se produce una región de 5,8 kb llamada M-bcr (*major breakpoint cluster region* o región mayor de agrupación de los puntos de corte) que contiene 5 exones conocidos como b1 a b5 y que corresponden a los exones 12 al 16 del gen BCR (Fig. 13A). Con independencia de la localización del punto de corte en Abl, el procesamiento del transcrito primario da lugar, habitualmente, a dos tipos de ARNm. En un ARNm el exón 2 de M-bcr queda unido al exón 2 de Abl (b2a2) y en el otro el exón 3 de M-bcr se une al exón 2 de Abl (b3a2) (Fig. 13B). Los dos ARNm quiméricos resultantes codifican una proteína de 210 kD (p210) con sólo 25 aminoácidos de diferencia (164). En los otros dos tercios de los pacientes de LAL BCR/ABL-positiva del adulto y en la gran mayoría de los niños, junto con casos excepcionales de LMC y LAM, la ruptura de BCR se produce en un intrón de 54.4 Kb situado entre los dos exones alternativos e2' y e2, esta zona se conoce como región menor bcr o m-bcr (Fig. 13A). En estos casos los exones e1' y e2' son eliminados por el mecanismo de corte y empalme, dando lugar al transcrito e1a2 (Fig. 13B). Este ARNm se traduce en una proteína de 190 kD (p190) (164). La mayoría de los pacientes de LMC y LAL con puntos de ruptura

en la región M-BCR coexpresan los ARNm correspondientes a p210 y p190, si bien este último en menor cantidad. Ello es probablemente debido al mecanismo de corte y empalme alternativo (170,171). Existe una tercera región de ruptura en el gen BCR conocida como  $\mu$ -bcr, entre los exones e19 y e20 (Fig. 13A), que se ha descrito en casos de leucemia neutrofílica crónica y de LMC (172,173). En estos casos se produce la proteína de 230 kD (p230) (164).

La presencia del reordenamiento BCR/ABL se asocia a la LAL de precursores B, si bien se ha detectado en aislados casos de LAL-T (165-167,174,175).

Mediante métodos de RT-PCR anidada de gran sensibilidad se ha detectado ARNm de BCR/ABL de tipo p210 en la sangre periférica de un 30% de la población normal (11,176) y el tipo p190 en un 69% (176). Este fenómeno puede ser explicado sin que signifique la presencia de una leucemia incipiente, porque el gen de fusión se origine en una célula diferenciada incapaz de dar lugar a una leucemia y/o por la necesidad de más de una alteración para originar el proceso neoplásico, al menos en la LMC existen datos que van a favor de esta posibilidad (177), así como por la acción del sistema inmune de los individuos normales sobre estas células.

—Función del proto-oncogén c-Abl:

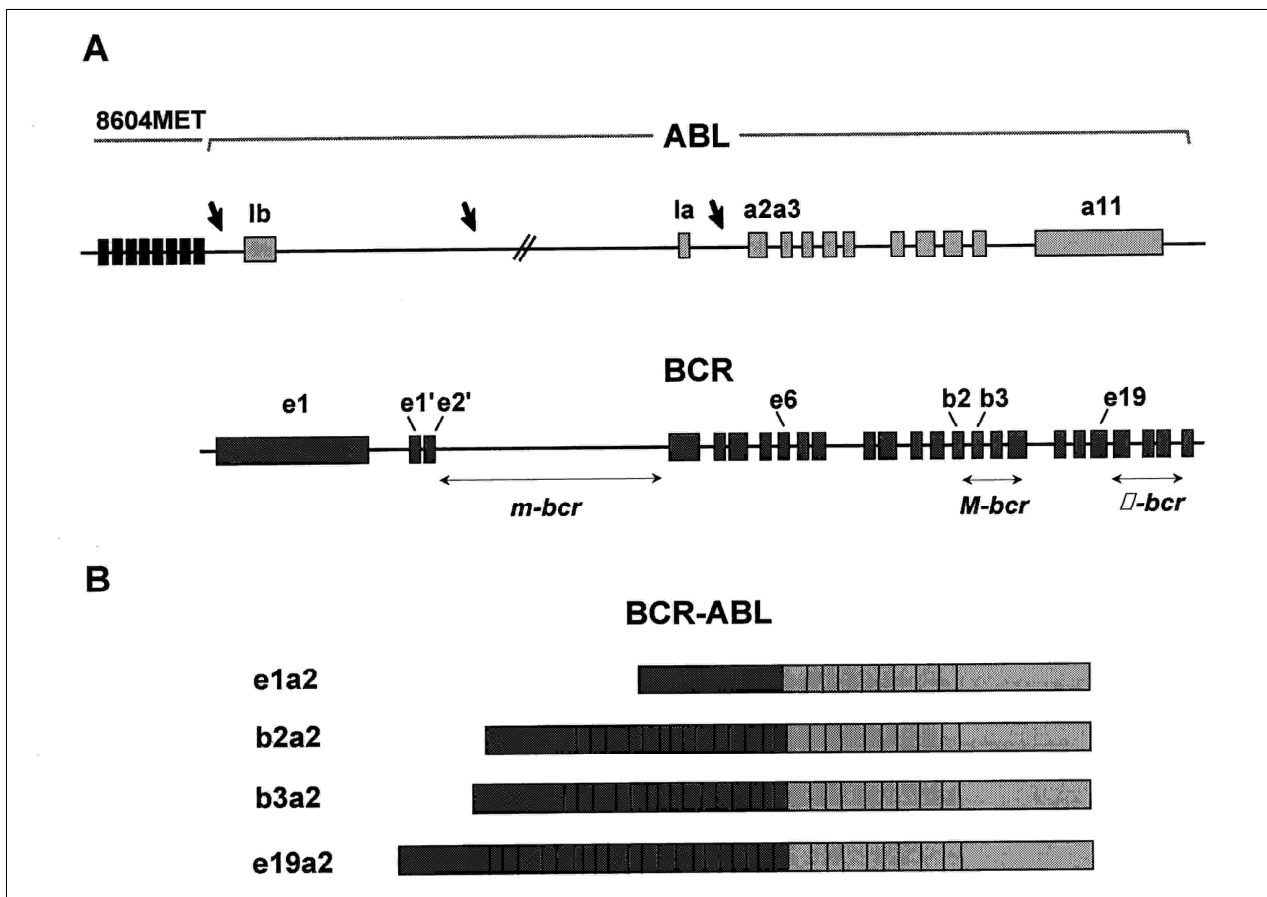


Fig. 13. (A) Esquema de los genes Abl y BCR, en el que también se incluye el gen 8604Met que se localiza "corriente arriba" de Abl. Los exones se representan como rectángulos y los intrones como barras. Los puntos de ruptura del gen Abl en la t(9;22) se simbolizan mediante flechas inclinadas. Las regiones de acumulación de los puntos de corte (bcr) del gen BCR se señalan mediante barras entre flechas. (B) Estructura de los tipos de ARNm formados según la localización de la ruptura en el gen BCR.

El proto-oncogén *c-Abl* se localiza en el cromosoma 9. Este gen codifica una proteína que forma parte de las quinazas de tirosina no recetoras, que son enzimas que fosforilan substratos en residuos de tirosina, pero que no tienen función de receptor en la membrana celular. Esta proteína se localiza tanto en el núcleo como en el citoplasma en células de diversos tejidos (178).

La porción del extremo amino de *c-Abl* es similar al proto-oncogén *c-Src* que es la versión celular del oncogén *v-Src* del virus del sarcoma de Rous, al igual que *c-Abl* es la forma celular del oncogén *v-Abl* del virus de la leucemia murina de Abelson que causa leucemia B en ratones (4). Los proto-oncogenes *c-Abl* y *c-Src* poseen dominios similares denominados SH3 y SH2 (*Src homology region 3 y 2*) (Fig. 14). Estos dominios son sitios de interacción con proteínas. En el caso de SH3 son proteínas que contienen secuencias específicas ricas en prolina, pertenecen a este grupo moléculas como Sos que convierte proteínas G (como Ras, Rho, Rac) de su forma inactiva unida a GDP a su forma activa unida a GTP. La región SH2 interacciona con proteínas con fosfotirosina como Shc, Crkl, Nck, Bp-1 y Grb2 que tienen dominios SH3 y SH2 y actúan como adaptadores que permiten la formación de complejos que ponen en contacto enzimas con substratos específicos.

En el extremo carboxilo *c-Abl* tiene un dominio de interacción con F-actina, por lo que interviene en la fisiología del citoesqueleto. Además, en este extremo tiene una secuencia que permite la localización nuclear y un dominio de unión al ADN (Fig. 14). Posiblemente

la función nuclear de *c-Abl* se relaciona con la regulación del ciclo celular (179).

—Estructura de BCR normal y patológico:

El gen BCR se localiza en el cromosoma 22. La proteína BCR posee en el extremo amino un dominio de dimerización, un lugar de unión de Grb2 y un dominio rico en fosfo-serina/treonina de unión a SH2, los cuales pasan a formar parte de la proteína quimérica p190 y son esenciales y suficientes para la activación de la quinasa de tirosina de Abl (Fig. 14). A continuación, hacia el extremo amino, posee un dominio con homología con el proto-oncogén Dbl que codifica un factor intercambiador de GDP-GTP para el polipéptido semejante a Ras CDC42Hs. Este último dominio está incluido, junto con los anteriores, en la proteína p210 (Fig. 14). Finalmente, en el extremo amino BCR presenta un dominio responsable de su función de proteína activadora de GTPasa (GAP) para p21<sup>rac</sup>. Dos tercios de este dominio están presentes en la proteína p230 (Fig. 14) (164,178).

—Acción de los genes de fusión BCR/ABL:

Todas las variantes oncogénicas de Abl presentan un elevado incremento de la actividad quinasa de tirosina en comparación con el gen Abl normal (178). La activación constitutiva de esta quinasa induce la fosforilación en tirosina de diversos substratos, incluyendo la autofosforilación de BCR/ABL, y la formación de complejos con proteínas adaptadoras. Esto da lugar a la activación de múltiples vías de transmisión de señales que incluyen la vía de Ras (178,180) y de fosfatidil inositol 3'-quinasa (PI3-K) (178,181,182). BCR/ABL

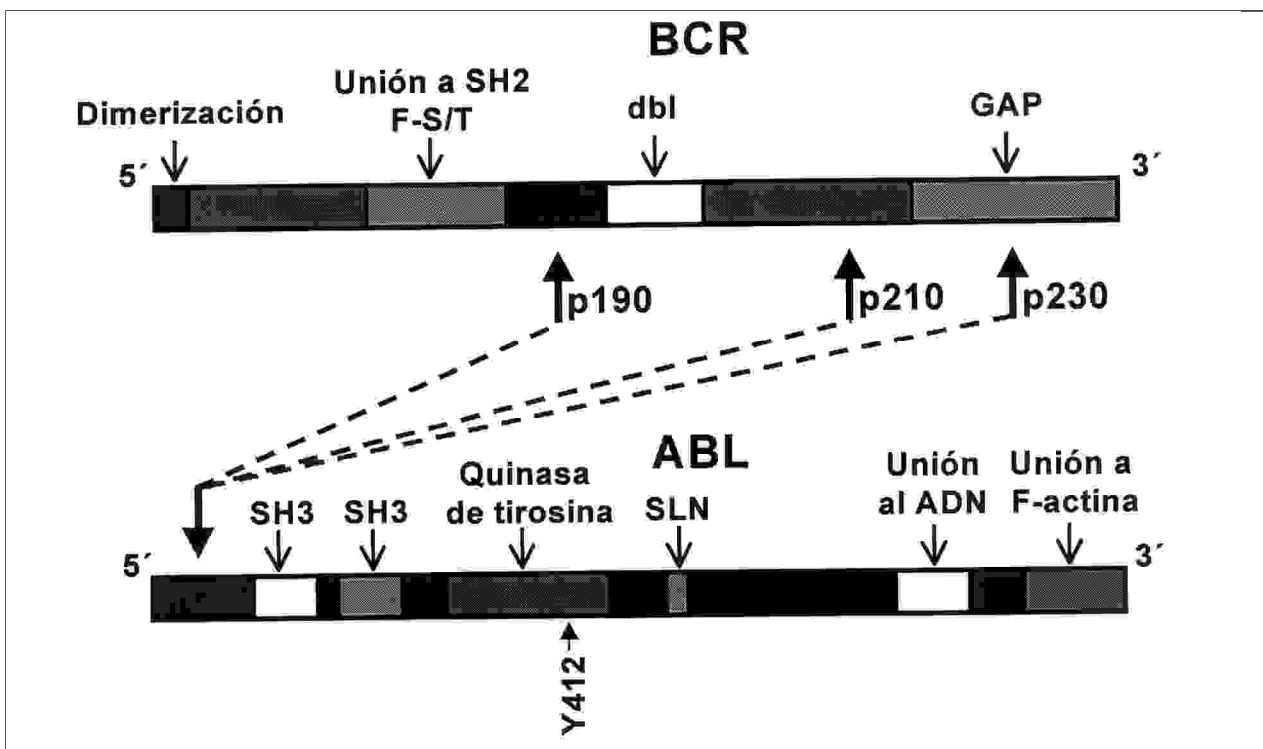


Fig. 14. Esquema de las proteínas BCR y Abl en el que se indican sus dominios funcionales. Abreviaturas: F-S/T, dominio rico en fosfo serina/treonina de unión a SH2; dbl, dominio homólogo al proto-oncogén Dbl; GAP, dominio activador de GTPasa; SLN, señal de localización nuclear. Y412 es el principal sitio de autofosforilación del dominio quinasa de tirosina de Abl. Se indican los puntos de fusión de ambas proteínas que dan lugar a las proteínas quiméricas BCR/ABL p190, p210 y p230, respectivamente.

también activa la vía de c-Myc y las proteínas STATs (*signal transducers and activators of transcription*). Estas actividades determinan proliferación celular (Fig. 15). Además, BCR/ABL podría actuar como un gen antiapoptótico, inhibidor de la muerte celular programada (183), a través de la inducción de la expresión del gen Bcl-2 (204). BCR/ABL también altera las propiedades de adhesión celular, posiblemente por la interacción con proteínas de adhesión focal y con actina (178) (Fig. 15). BCR/ABL se localiza sólo en el citoplasma, por lo que otro posible mecanismo que dé lugar a su acción oncogénica puede ser la pérdida de la función nuclear normal de Abl como gen supresor de tumor (179).

—Importancia clínica de BCR/ABL: Pronóstico y enfermedad mínima residual:

La presencia del transcrito híbrido BCR/ABL en los pacientes diagnosticados de LAL se considera de muy mal pronóstico. Tras el tratamiento de inducción el porcentaje de pacientes que alcanzan la RC es similar entre los BCR/ABL positivos y negativos, pero en los primeros la duración de la remisión, y por lo tanto la supervivencia, es significativamente más corta (184).

Respecto al estudio de EMR, todavía no se conoce con exactitud si la persistencia del ARNm de BCR/ABL durante y tras el tratamiento conlleva siempre la recaída hematológica. Se han realizado estudios en los cuales todos los pacientes que en RC hematológica mantuvieron la positividad molecular y aquellos en los que reapareció el ARNm de BCR/ABL recayeron en breve plazo (185-188). Sin embargo, también se han descrito pacientes en RC prolongada persistentemente BCR/ABL positivos (189).

GENES SUPRESORES DE TUMOR  
O ANTI-ONCOGENES

EL CICLO CELULAR

El ciclo celular en los organismos eucariotas se puede dividir en cuatro fases (4):

1. Fase intermedia G1: En ella se determina si la célula va a entrar en el ciclo de división. La orden para proliferar se produce al pasar el denominado punto de restricción (R), después del cual la entrada en el ciclo es

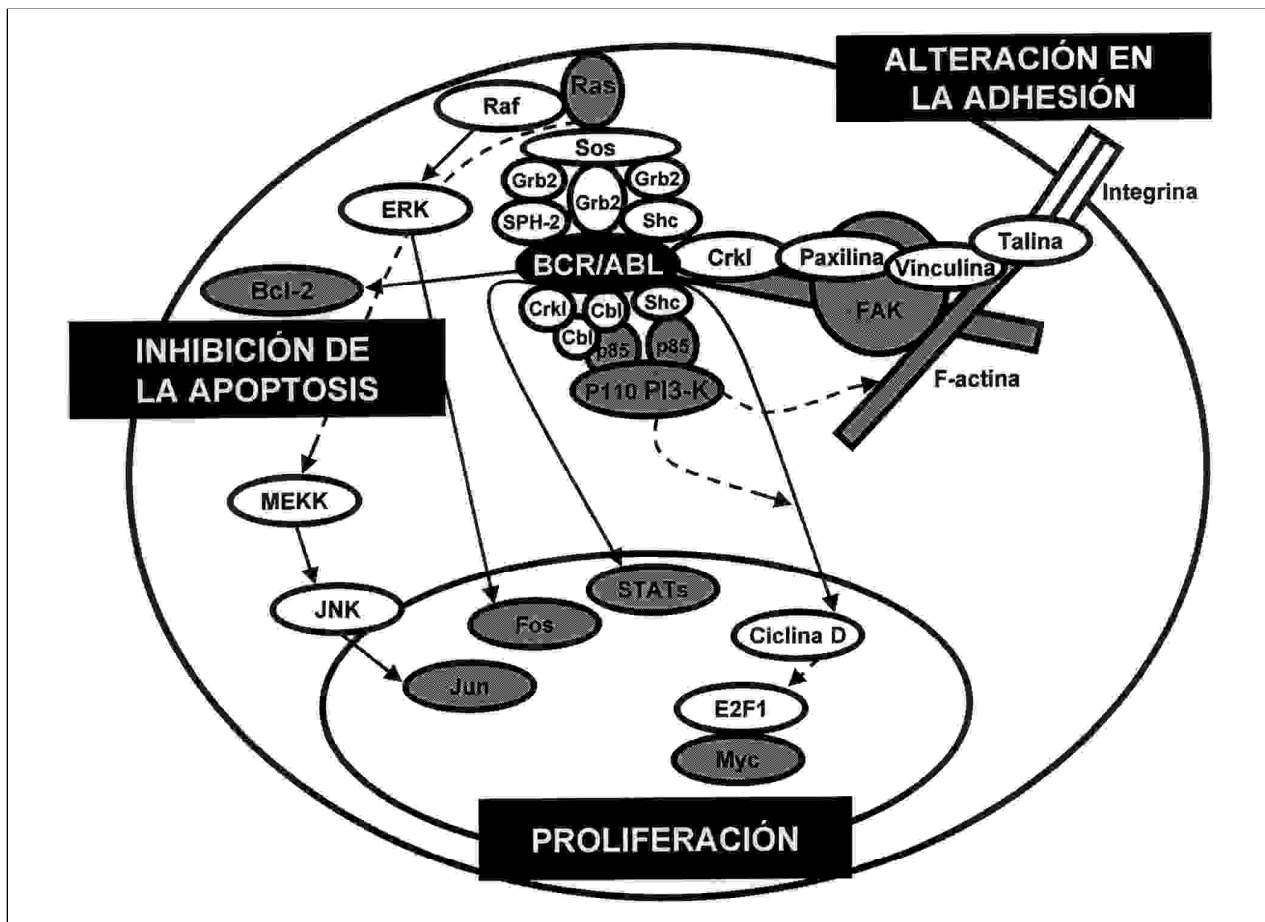


Fig. 15. Representación de las principales señales intracelulares asociadas a BCR/ABL que incluyen la activación de las vías de Ras, fosfatidil inositol 3'quinasa (PI3K) y Myc. Las líneas discontinuas señalan las vías hipotéticas. Además BCR/ABL inhibe la apoptosis y altera la adhesión celular. Abreviaturas: ERK, "quinasa regulada por señales extracelulares"; MEKK, quinasa de MEK; JNK, quinasa N-terminal de Jun; Sos, proteína Son-of-sevenless, STATs, "transductores de señales y activadores de la transcripción"; FAK, "quinasa de adhesión focal". Modificado de Gotoh et al (204).

irreversible. Las células que no entran en el ciclo de división pasan a ser quiescentes o en fase G0.

2. Fase de síntesis (S): En la cual se lleva a cabo la síntesis del ADN.

3. Fase intermedia G2: Las células se preparan para la entrada en mitosis.

4. Fase de mitosis (M): Los cromosomas se distribuyen entre las células hijas.

Este ciclo está regulado por quinasas dependientes de ciclinas (CDKs). La activación secuencial de CDKs y la subsiguiente fosforilación de sus substratos estimula la progresión del ciclo celular. Los complejos formados por la quinasa dependiente de ciclina 4 (CDK4) y las ciclinas de tipo D controlan el paso de la fase G1 a la fase S fosforilando la proteína del retinoblastoma (p105Rb). La proteína del retinoblastoma secuestra factores de transcripción que son necesarios para la transición de la fase G1 a la S, pero su fosforilación por las CDKs inhibe este efecto, dando lugar a la progresión hacia la fase S del ciclo celular (190).

### p16/p19/p15

El gen p16, también conocido como CDKN2, MTS1, INK4A o CDK4I, se encuentra localizado en el cromosoma 9p21. Este gen codifica una proteína de 16 kD inhibidora de la CDK4 y CDK6, lo cual bloquea la fosforilación de la proteína del retinoblastoma y detiene el ciclo celular y la proliferación (191). El locus del gen p16, mediante un primer exón alternativo y un marco de lectura diferente, codifica, además, la proteína p19<sup>ARF</sup> (192-194). Junto al gen p16 se localiza un gen denominado p15, MTS2 o INK4B con el que comparte un elevado grado de homología (90% en el exón 2) (Fig. 16). La proteína que codifica el gen p15 (de 15 kD) también inhibe CDK4 y CDK6.

Los dos alelos del gen p16 se encuentran deleciona-

dos frecuentemente en líneas celulares de cáncer humano. En las líneas celulares de LA, la delección homocigota de este gen puede aparecer en el 38% (195). También se ha encontrado delección homocigota de p16 en la gran mayoría de los casos de LAL con anomalías de 9p21 (196), si bien frecuentemente los casos de LA con delección homocigota de p16 y/o p15 carecen de alteraciones visibles de 9p21 (195-198).

La delección homocigota de p16 se detecta en aproximadamente el 25% de los casos de LAL (195,198,199), en la mayoría de los casos va acompañada de delección de p15. No obstante, existen algunos casos en los que sólo existe delección de p16 y otros más infrecuentes con delección de p15 exclusivamente (197, 198, 200-202). En la LAL de precursores B la delección homocigota de p16 oscila entre el 8 y el 20% de los casos (52,198, 203-209) y la de p15 entre el 3 y el 6%. En la LAL de línea T la delección homocigota de p16 aparece en el 20-80% de los pacientes (52,200,203-206,208) y la de p15 del 15 al 67% (203,205,208). En las crisis blásticas linfoblásticas de LMC se ha detectado la delección homocigota de p16 en el 50% de los casos. Sin embargo, en las LAMs las delecciones homocigotas de p16 y p15 se han observado en escasos pacientes (hasta un 2-7% (197,198), aunque en algunas series no se ha detectado en ningún paciente) (204,206). Se ha descrito la delección homocigota de p16 en algunos casos de LAM asociada a reordenamiento de MLL (210).

A diferencia de lo que ocurre en otros genes supresores de tumor, las mutaciones puntuales, pequeñas delecciones e inserciones, de p16 y p15, en las LAs son muy infrecuentes (196,199-201, 204-206, 210).

Se ha descrito un caso en el que el gen p16 quedó inactivado por la translocación t(9;14)(p21-22;q11) (211), pero la detección de reordenamientos de p16 y/o p15 es infrecuente (212).

La metilación de islas CpG (agrupaciones de citosinas y guaninas) en la región 5' del gen p16 y del gen

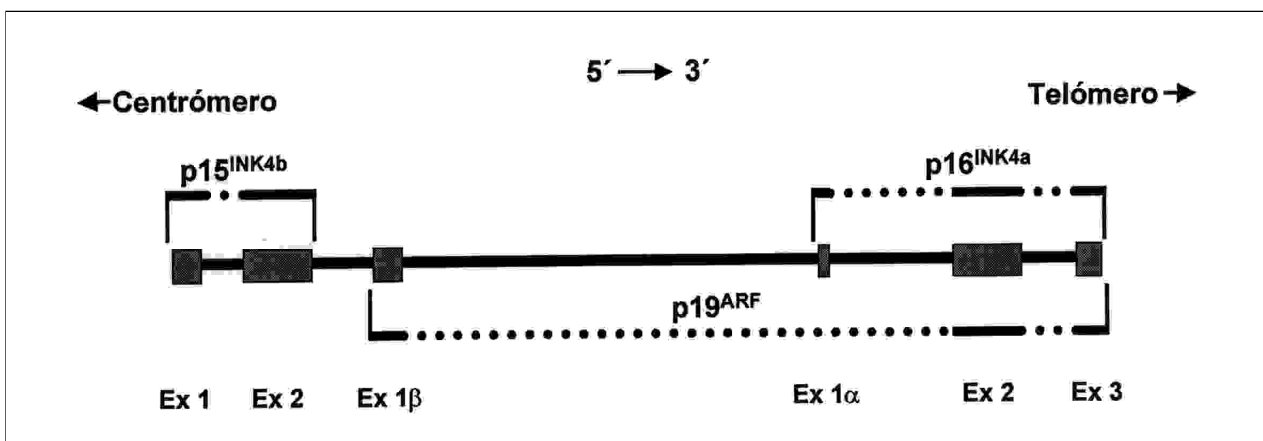


Fig. 16. Mapa de la zona de la banda cromosómica 9p21 que contiene el locus INK4a y el gen INK4b (p15). Los rectángulos simbolizan los exones (Ex), los segmentos sobre estos indican que se transcriben en el ARNm que codifica la proteína cuyo nombre figura sobre ellos, las líneas de puntos entre los segmentos indican zonas de ADN no transcritas. El locus INK4a codifica tanto la proteína p16<sup>INK4a</sup>, como la proteína p19<sup>ARF</sup>. Los ARNMs de cada una de estas proteínas tienen un primer exón específico. El transcrito que contiene la secuencia del exón 1α codifica p16<sup>INK4a</sup>. En cambio, el ARNm que codifica p19<sup>ARF</sup> contiene el exón 1β y carece del exón 1α, pasando al exón 2, que es común a ambos transcritos, con un marco de lectura diferente al anterior ARNm. El gen INK4b (p15) se localiza físicamente muy próximo al locus INK4a con el que comparte una elevada homología entre los exones 2 de ambos.

p15 produce su inactivación. A diferencia de la delección, la hipermetilación es selectiva y suele estar limitada al gen p16 o al p15. Se ha detectado la metilación del gen de p15 en el 88% de las LAMs de los adultos y en el 67% de las de los niños, así como en el 48% de las LAL de precursores B (202) y en el 38% de las LAL de línea T (212). Sin embargo, la hipermetilación de p16 es infrecuente en las LAs (202,212).

Estos hechos, junto con el desarrollo de tumores espontáneos a temprana edad en ratones con delección de p16/p19 (213), han apoyado la idea de que p16 y p15 son genes supresores de tumor. En concreto, estos antioncogenes forman parte de aquellos que se buscaban en el locus 9p21-22, que, como se ha citado, es una región frecuentemente delecionada en LALs y en otros tumores. No obstante, hasta en un 29% de los casos en los que se detecta pérdida de heterocigosidad (LOH o *loss of heterozygosity*) del 9p, los genes de p16 y p15 están sin delecionarse y sin mutaciones puntuales, por lo que no se puede excluir la existencia de otro antioncogén en esta región (201,214).

La influencia de la delección-inactivación de p16 o p15 en el pronóstico de los pacientes con LA es discutida. Algunos estudios han mostrado una peor evolución de los pacientes con delección homocigota de p16 que la de los casos sin delección homocigota de este gen (201, 206, 209). Sin embargo, en otros trabajos no se ha observado esta diferencia en la evolución de los pacientes con delección homocigota de p16 (52,205).

Recientemente se ha demostrado que la delección de p16 y la hipermetilación del promotor del gen p15 aparecen en algunos pacientes únicamente en la recaída, indicando que la pérdida de la función de las proteínas codificadas por estos genes puede relacionarse con la

progresión de la enfermedad en determinados casos de LA (215).

### p53

Las mutaciones del gen de p53 son infrecuentes en las leucemias agudas humanas. Entre los pacientes pediátricos con LAL se han detectado en un 2% (216) y entre los casos de LAM en un 5-10% (6). Estos datos indican que las mutaciones de este gen juegan un papel menos importante en la oncogénesis de las leucemias agudas que en la de los tumores sólidos y los linfomas.

TABLA I

CORRESPONDENCIA ENTRE LAS ALTERACIONES CITOGENÉTICAS Y MOLECULARES MÁS FRECUENTES

Alteraciones citogenéticas	Alteraciones moleculares
t(4;11)(q21;q23)	MLL/AF4
t(9;11)(p22;q23)	MLL/AF9
t(9;11)(p27;q23)	MLL/AF6
t(11;19)(p23;p13,3)	MLL/ENL
t(11;19)(p23;p13,1)	MLL/ELL
+11	Duplicación de ML
t(1;19)(p23;p13)	E2A/PBX1
t(12;21)(p23;q22)	TEL/AML1
t(8;21)(p22;q22)	AML1/ETO
inv(16)(p13;q22),t(16;16)(p13;q22), del(16)(q22)	CBFB/MYH11
t(15;17)(q22;q21)	PML/RAR

### BIBLIOGRAFÍA

- Bain BJ. Leukaemia diagnosis. A guide to the FAB classification. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1990.
- Besses C, Woessner S, Sans-Sabrafen J. Introducción al estudio del las leucemias agudas. Clínica y clasificación. Descripción de las distintas variedades. Formas especiales. Blastosis medular asintomática. En: Sans-Sabrafen J, Besses C, Castillo R, Florensa L, Pardo P, Vives JL, Woessner S. Hematología clínica. 3ª ed. Barcelona: Mosby/Doyma Libros, 1994; 303-19.
- Scheinberg DA, Golde DW. Las leucemias. En: Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL, editores. Harrison. Principios de Medicina Interna. 13ª ed. Madrid: Interamericana-McGraw-Hill, 1994; 2030-42.
- Griffiths AJF, Miller JH, Suzuki DT, Lewontin RC, Gelbart WM. Introducción al análisis genético. 5ª ed. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana, 1997.
- Weinberg RA. Tumor suppressor genes. Science 1991; 254: 1138-45.
- Mauvieux L, Delabesse E, Macintyre E. Molecular genetics of acute leukemias. Rev Clin Exp Hematol 1997; 2: 3-26.
- Campana D, Pui CH. Detection of minimal residual disease in acute leukemia: Methodologic advances and clinical significance. Blood 1995; 85: 1416-34.
- González FA, Villegas A, Ferro MT, San Román C, Sáez I, López M, et al. Utilidad del reordenamiento bcr/abl en el diagnóstico y la evolución de la leucemia mieloide crónica. Med Clin (Barc) 1993; 101: 521-4.
- Hunger SP, Cleary ML. What significance should we attribute to detection of MLL fusion transcripts? Blood 1998; 92: 709-11.
- Anguita E, Villegas A, Díaz-Mediavilla J, González FA, del Potro E, Espinós D. Detection of bcr/abl mRNA in a case of chronic myelogenous leukemia in long-term remission: CML or sensitivity of detection. Haematologica 1998; 83: 744-7.
- Biernaux C, Loos M, Sels A, Huez G, Stryckmans P. Detection of major bcr/abl gene expression at very low level in blood cells of some healthy individuals. Blood 1995; 86: 3118-22.
- Look T. Oncogenic transcription factors in the human acute leukemias. Science 1997; 278: 1059-64.
- Morata G. Homeotic genes in Drosophila. Curr Opin Genet Dev 1993; 3: 606-14.
- Krumlauf R. Hox genes in vertebrate development. Cell 1994; 8: 191-201.
- Bernard OA, Berger R. Molecular basis of 11q23 rearrangements in hematopoietic malignant proliferations. Genes Chromosom Cancer 1995; 13: 75-85.
- Gu Y, Nakamura T, Alder H, Prasad R, Canaani O, Cimino G, et al. The t(4;11) chromosome translocation of human acute leukemias fuses the ALL-1 gene, related to Drosophila trithorax to the AF-4 gene. Cell 1992; 71: 701-8.

17. Tkachuk DC, Kohler S, Cleary ML. Involvement of a homolog of *Drosophila* trithorax by 11q23 chromosomal translocations in acute leukemias. *Cell* 1992; 71: 691-700.
18. Cimino G, Rapanotti MC, Sprovieri T, Elia L. ALL1 gene alterations in acute leukemia: biological and clinical aspects. *Hematologica* 1998; 83: 350-7.
19. Raimondi SC, Frestedt JL, Pui CH, Downing JR, Head DR, Kersey JH, et al. Acute lymphoblastic leukemias with deletion of 11q23 or novel inversion (11)(p13q23) lack MLL gene rearrangement and have favorable clinical features. *Blood* 1995; 86: 1881-6.
20. Rasio D, Schichman SA, Negrini M, Canaani E, Croce CM. Complete exon structure of the ALL1 gene. *Cancer Res* 1996; 56: 1766-9.
21. Nilson I, Löchner K, Siegler G, Greil J, Beck JD, Fey GH, et al. Exon/intron structure of the human ALL-1 (MLL) gene involved in translocations to chromosomal region 11q23 and acute leukaemias. *Br J Haematol* 1996; 93: 966-72.
22. Strissel Broecker PL, Super HG, Thirman MJ, Pomykala H, Yonebayashi Y, Tanabe S, et al. Distribution of 11q23 breakpoints within the MLL breakpoint cluster region in de novo acute myeloid leukemia and in treatment-related acute myeloid leukemia: correlation with scaffold attachment region and topoisomerase II consensus binding sites. *Blood* 1996; 87: 1912-22.
23. Reeves R, Nissen MS. The AT-DNA-binding domain of mammalian high mobility group I chromosomal proteins. A novel peptide motif for recognizing DNA structure. *J Biol Chem* 1990; 265: 8573-82.
24. Thirman MJ, Gill HJ, Burnett RC, Mbangkollo D, McCabe NR, Kobayashi H, et al. Rearrangement of the MLL gene in acute lymphoblastic and acute myeloid leukemias with 11q23 chromosomal translocations. *N Engl J Med* 1993; 329: 909-14.
25. Harrison CJ, Cuneo A, Clark R, Johansson B, Lafage-Pochitaloff M, Mugneret F, et al. Ten novel 11q23 chromosomal partner sites. *Leukemia* 1998; 12: 811-22.
26. Johansson B, Moorman AV, Secker-Walker LM. Derivative chromosomes of 11q23-translocations in hematologic malignancies. *Leukemia* 1998; 12: 828-33.
27. Chen CS, Sorensen PHB, Domer PH, Reaman GH, Korsmeyer SJ, Heerema NA, et al. Molecular rearrangements on chromosome 11q23 predominate in infant acute lymphoblastic leukemia and are associated with specific biologic variables and poor outcome. *Blood* 1993; 81: 2386-93.
28. Hilden JM, Frestedt JL, Moore RO, Heerema NA, Arthur DC, Reaman GH, et al. Molecular analysis of infant acute lymphoblastic leukemia: MLL gene rearrangement and reverse transcriptase-polymerase chain reaction for t(4;11)(q21;q23). *Blood* 1995; 86: 3876-82.
29. Kwong YL, Liang R, Chan V, Chan TK. Molecular rearrangement of the MLL gene in adult acute myeloid leukemia without cytogenetic evidence of 11q23 aberration. *Cancer Genet Cytogenet* 1996; 86: 13-7.
30. Poirel H, Rack K, Delabesse E, Radford-Weiss I, Troussard X, Debert C, et al. Incidence and characterization of MLL gene (11q23) rearrangements in acute myeloid leukemia M1 and M5. *Blood* 1996; 87: 2496-505.
31. Anguita E, González FA, López J, Contra T, Villegas A. The importance of molecular screening of 11q23 abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia. Has the t(11;19)(q23;p13) a higher prevalence than that revealed by conventional cytogenetic techniques? *Med Ped Oncol* 1998; 30: 313-4.
32. Uckun FM, Herman-Hatten K, Crotty ML, Sensel MG, Sather HN, Tuel-Ahlgren L, et al. Clinical significance of MLL-AF4 fusion transcript expression in the absence of a cytogenetically detectable t(4;11)(q21;q23) chromosomal translocation. *Blood* 1998; 92: 810-21.
33. Martineau M, Berger R, Lillington DM, Moorman AV, Secker-Walker LM. The t(6;11)(q27;q23) translocation in acute leukemia: a laboratory and clinical study of 30 cases. *Leukemia* 1998; 12: 788-91.
34. Schichman SA, Canaani E, Croce CM. Self-fusion of the ALL1 gene. *JAMA* 1995; 273: 571-6.
35. Cimino G, Lo Coco F, Biondi A, Elia L, Luciano A, Croce CM, et al. ALL-1 gene at chromosome 11q23 is consistently altered in acute leukemia of early infancy. *Blood* 1993; 82: 544-6.
36. Rubnitz JE, Link MP, Shuster JJ, Carroll AJ, Hakami N, Frankel LS, et al. Frequency and prognostic significance of HTRX rearrangements in infant acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group study. *Blood* 1994; 84: 570-3.
37. Martínez-Climent JA. Molecular cytogenetics of childhood hematological malignancies. *Leukemia* 1997; 11: 1999-2021.
38. Faderl S, Kantarjian HM, Talpaz M, Estrov Z. Clinical significance of cytogenetic abnormalities in adult acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1998; 91: 3995-4019.
39. Bower M, Parry P, Carter M, Lillington DM, Amess J, Lister TA, et al. Prevalence and clinical correlations of MLL gene rearrangements in AML-M4/5. *Blood* 1994; 84: 3776-80.
40. Cimino G, Rapanotti MC, Elia L, Biondi A, Fizzotti M, Testi AM, et al. ALL1 gene rearrangements in acute myeloid leukemia: association with M4-M5. French-American-British Classification subtypes and young age. *Cancer Res* 1995; 55: 1625-8.
41. Winick NJ, McKenna RW, Shuster JJ, Schneider NR, Borowitz MJ, Bowman WP, et al. Secondary acute myeloid leukemia in children with acute lymphoblastic leukemia treated with etoposide. *J Clin Oncol* 1993; 11: 209-17.
42. Super HJG, McCabe NR, Thirman MJ, Larson RA, Le Beau MM, Pedersen-Bjergaard J, et al. Rearrangements of the MLL gene in therapy-related acute myeloid leukemia in patients previously treated with agents targeting DNA-topoisomerase II. *Blood* 1993; 82: 3705-11.
43. Ohshima A, Miura I, Chubachi A, Hashimoto K, Nimura T, Utsumi S, et al. 11q23 aberration is an additional chromosomal change in de novo leukemia after treatment with etoposide and mitoxantrone. *Am J Hematol* 1996; 53: 264-6.
44. Félix CA, Hosler MR, Winick NJ, Masterson M, Wilson AE, Lange BJ. ALL-1 rearrangements in DNA topoisomerase II inhibitor-related leukemia in children. *Blood* 1995; 85: 3250-6.
45. Strissel Broecker PL, Super HG, Thirman MJ, Pomykala H, Yonebayashi Y, Tanabe S, et al. Distribution of 11q23 breakpoints within the MLL breakpoint cluster region in de novo acute leukemia and in treatment-related acute myeloid leukemia: correlation with scaffold attachment regions and topoisomerase II consensus binding sites. *Blood* 1996; 87: 1912-22.
46. Greaves MF. Aetiology of acute leukaemia. *Lancet* 1997; 349: 344-9.
47. Aplan PD, Chervinsky DS, Stanulla M, Burhans WC. Site-specific DNA cleavage within the MLL breakpoint cluster region induced by topoisomerase II inhibitors. *Blood* 1996; 87: 2649-58.
48. Macintyre E, Bourquelot P, Leboeuf D. MLL cleavage occurs in approximately 5% of de novo acute myeloid leukemia, including in patients analyzed before treatment induction. *Blood* 1997; 89: 2224-6.
49. Stanulla M, Wang J, Chervinsky DS, Thandla S, Aplan PD. DNA cleavage within the MLL breakpoint cluster region is a specific event which occurs as part of higher-order chromatin fragmentation during the initial stages of apoptosis. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 4070-9.
50. Stanulla M, Schünemann HJ, Thandla S, Brecher ML, Aplan PD. Pseudo-rearrangement of the MLL gene at chromosome 11q23: a cautionary note on genotype analysis of leukaemia patients. *Mol Pathol* 1998; 51: 85-9.
51. Pui CH, Behm FG, Downing JR, Hancock ML, Shurleff SA, Ribeiro RC, et al. 11q23/MLL rearrangement confers a poor prognosis in infants with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1994; 12: 909-15.
52. Rubnitz JE, Behm FG, Pui CH, Evans WE, Relling MV, Raimondi SC, et al. Genetic studies of childhood acute lymphoblastic leukemia with emphasis on p16, MLL, and ETV6 gene abnormalities: results of St Jude Total Therapy Study XII. *Leukemia* 1997; 11: 1201-6.
53. Behm FG, Raimondi SC, Frestedt JL, Liu Q, Crist WM, Downing JR, et al. Rearrangement of the MLL gene confers a poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia, regardless of presenting age. *Blood* 1996; 87: 2870-7.
54. Archimbaud E, Charrin C, Magaud JP, Campos L, Thomas X, Fièrè D, et al. Clinical and biological characteristics of adult de

- novo and secondary acute myeloid leukemia with balanced 11q23 chromosomal anomaly or MLL gene rearrangement compared to cases with unbalanced 11q23 anomaly: confirmation of the existence of different entities with 11q23 breakpoint. *Leukemia* 1998; 12: 25-33.
55. Nilson I, Reichel M, Ennas MG, Greim R, Knörr C, Siegler G, et al. Exon/intron structure of the human AF-4 gene, a member of the AF-4/LAF-4/FMR-2 gene family coding for a nuclear protein with structural alterations in acute leukaemia. *Br J Haematol* 1997; 98: 157-69.
  56. Downing JR, Head DR, Raimondi SC, Carroll AJ, Curcio-Brint AM, Motroni TA, et al. The der(11)-encoded MLL/AF4 fusion transcript is consistently detected in t(4;11)(q21;q23)-containing acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1994; 83: 330-5.
  57. Cimino G, Elia L, Rivolta A, Rapanotti MC, Rossi V, Alimena G, et al. Clinical relevance of residual disease monitoring by polymerase chain reaction in patients with ALL-1/AF-4 positive-acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 1996; 92: 659-64.
  58. Prasad R, Gu Y, Alder H, Nakamura T, Canaani O, Saito H, et al. Cloning of the ALL-1 fusion partner, the AF-6 gene, involved in acute myeloid leukemias with the t(6;11) chromosome translocation. *Cancer Res* 1993; 53: 5624-8.
  59. Kuriyama M, Harada N, Kuroda S, Yamamoto T, Nakafuku M, Iwamatsu A, et al. Identification of AF-6 and Canoe as putative targets for Ras. *J Biol Chem* 1996; 271: 607-610.
  60. Yamamoto K, Seto M, Iida S, Komatsu H, Kamada N, Kojima S, et al. A reverse transcriptase-polymerase chain reaction detects heterogeneous chimeric mRNAs in leukemias with 11q23 abnormalities. *Blood* 1994; 83: 2912-21.
  61. Iida S, Seto M, Yamamoto K, Komatsu H, Tojo A, Asano S, et al. MLLT3 gene on 9p22 involved in t(9;11) leukemia encodes a serine/proline rich protein homologous to MLLT1 on 19p13. *Oncogene* 1993; 8: 3085-92.
  62. Mrózek K, Heinonen K, Lawrence D, Carroll AJ, Koduru PRK, Rao KW, et al. Adult patients with de novo acute myeloid leukemia and t(9;11)(p22;q23) have a superior outcome to patients with other translocations involving band 11q23: a Cancer and Leukemia Group B Study. *Blood* 1997; 90: 4532-8.
  63. Rubnitz JE, Morrissey J, Savage PA, Cleary ML. ENL, the gene fused with HRX in t(11;19) leukemias, encodes a nuclear protein with transcriptional activation potential in lymphoid and myeloid cells. *Blood* 1994; 84: 1747-52.
  64. Yamamoto K, Seto M, Komatsu H, Iida S, Akao Y, Kojima S, et al. Two distinct portions of LTG19/ENL at 19p13 are involved in t(11;19) leukemia. *Oncogene* 1993; 8: 2617-25.
  65. Rubnitz JE, Behm FG, Curcio-Brint AM, Pinheiro VRP, Carroll AJ, Raimondi SC, et al. Molecular analysis of t(11;19) breakpoints in childhood acute leukemias. *Blood* 1996; 87: 4804-8.
  66. Ida K, Taki T, Bessho F, Kobayashi M, Taira F, Hanada R, et al. Detection of chimeric mRNAs by reverse transcriptase-polymerase chain reaction for diagnosis and monitoring of acute leukemias with 11q23 abnormalities. *Med Pediatr Oncol* 1997; 28: 325-32.
  67. Thirman MJ, Levitan DA, Kobayashi H, Simon MC, Rowley JD. Cloning of ELL, a gene that fuses to MLL in a t(11;19)(q23;p13.1) in acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 12110-4.
  68. So CW, Caldas C, Liu MM, Chen SJ, Huang QH, Gu LJ, et al. EEN encodes for a member of a new family of proteins containing an Src homology 3 domain and is the third gene located on chromosome 19p13 that fuses to MLL in human leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 2563-8.
  69. Caligiuri MA, Strout MP, Schichman SA, Mrózek K, Arthur DC, Herzing GP, et al. Partial tandem duplication of ALL1 as a recurrent molecular defect in acute myeloid leukemia with trisomy 11. *Cancer Res* 1996; 56: 1418-25.
  70. Caligiuri MA, Strout MP, Lawrence D, Arthur DC, Baer MR, Yu F, et al. Rearrangement of ALL1 (MLL) in acute myeloid leukemia with normal cytogenetics. *Cancer Res* 1998; 58: 55-9.
  71. Caligiuri MA, Strout MP, Oberkircher AR, Yu F, de la Chapelle A, Bloomfield CD. The partial tandem duplication of ALL1 in acute myeloid leukemia with normal cytogenetics or trisomy 11 is restricted to one chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 3899-902.
  72. Marcucci G, Strout MP, Bloomfield CD, Caligiuri MA. Detection of unique ALL1 (MLL) fusion transcripts in normal human bone marrow and blood: distinct origin of normal versus leukemia ALL1 fusion transcripts. *Cancer Res* 1998; 58: 790-3.
  73. Schnittger S, Wörmann B, Hiddemann W, Griesinger F. Partial tandem duplications of the MLL gene are detectable in peripheral blood and bone marrow of nearly all healthy donors. *Blood* 1998; 92: 1728-34.
  74. Hunger SP. Chromosomal translocations involving the E2A gene in acute lymphoblastic leukemia: Clinical features and molecular pathogenesis. *Blood* 1996; 87: 1211-24.
  75. Dederda DA, Waller EK, LeBrun DP, Sen-Majumdar A, Stevens ME, Barsh GS, et al. Chimeric homeobox gene E2A-PBX1 induces proliferation, apoptosis, and malignant lymphomas in transgenic mice. *Cell* 1993; 74: 833-43.
  76. Privitera E, Rivolta A, Ronchetti D, Mosna G, Giudici G, Biondi A. Reverse transcriptase/polymerase chain reaction follow-up and minimal residual disease detection in t(1;19)-positive acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 1996; 92: 653-8.
  77. Hunger SP, Galili N, Carroll AJ, Crist WM, Link MP, Cleary ML. The t(1;19)(q23;p13) results in consistent fusion of E2A and PBX1 coding sequences in acute lymphoblastic leukemias. *Blood* 1991; 77: 687-93.
  78. Borowitz MJ, Hunger SP, Carroll AJ, Shuster JJ, Pullen DJ, Steuber CP, et al. Predictability of the t(1;19)(q23;p13) from surface antigen phenotype: implications for screening cases of childhood acute lymphoblastic leukemia for molecular analysis: a Pediatric Oncology Group study. *Blood* 1993; 82: 1086-91.
  79. Privitera E, Kamps MP, Hayashi Y, Inaba T, Shapiro LH, Raimondi SC, et al. Different molecular consequences of the 1;19 chromosomal translocation in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1992; 79: 1781-8.
  80. Troussard X, Rimokh R, Valensi F, Leboeuf D, Fenneteau O, Guitard AM, et al. Heterogeneity of t(1;19)(q23;p13) acute leukaemias. *Br J Haematol* 1995; 89: 516-26.
  81. Anguita E, González FA, Contra T, Martín N, Valverde F, Villegas A. Utilidad de un "screening" molecular en las leucemias linfoblásticas pediátricas. *Sangre* 1998; 43: 7-11.
  82. Hunger SP, Fall MZ, Camitta BM, Carroll AJ, Link MP, Lauer SJ, et al. E2A-PBX1 chimeric transcript status at end of consolidation is not predictive of treatment outcome in childhood acute lymphoblastic leukemias with a t(1;19)(q23;p13): a Pediatric Oncology Group study. *Blood* 1998; 91: 1021-8.
  83. Nucifora G, Rowley JD. AML1 and the 8;21 and 3;21 translocations in acute and chronic myeloid leukemia. *Blood* 1995; 86: 1-14.
  84. Liu PP, Hajra A, Wijmenga C, Collins FS. Molecular pathogenesis of the chromosome 16 inversion in the M4Eo subtype of acute myeloid leukemia. *Blood* 1995; 85: 2289-302.
  85. Golub TR, Barker GF, Bohlander SK, Hiebert SW, Ward DC, Bray-Ward P, et al. Fusion of the TEL gene on 12p13 to the AML1 gene on 21q22 in acute lymphoblastic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4917-21.
  86. Romana SP, Mauchauffé M, Le Coniat M, Chumakov I, Le Paslier D, Berger R, et al. The t(12;21) of acute lymphoblastic leukemia results in a tel-AML1 gene fusion. *Blood* 1995; 85: 3662-70.
  87. Lo Coco F, Pisegna S, Diverio D. The AML1 gene: a transcription factor involved in the pathogenesis of myeloid and lymphoid leukemias. *Haematologica* 1997; 82: 364-70.
  88. McLean TW, Ringold S, Neuberg D, Stegmaier K, Tantravahi R, Ritz J, et al. TEL/AML-1 dimerizes and is associated with a favorable outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996; 88: 4252-8.
  89. Romana SP, Poirel H, Leconiat M, Flexor MA, Mauchauffé M, Jonveaux P, et al. High frequency of t(12;21) in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1995; 86: 4263-9.
  90. Cayuela JM, Baruchel A, Orange C, Madani A, Auclerc MF, Daniel MT, et al. TEL-AML1 fusion RNA as a new target to detect minimal residual disease in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996; 88: 302-8.
  91. Kobayashi H, Satake N, Maseki N, Sakashita A, Kaneko Y. The der(21)t(12;21) chromosome is always formed in a 12;21 translocation associated with childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 1996; 94: 105-11.



92. Chambost H, Michel G, Thuret I, Toiron Y, Brunet C, Capodano AM, et al. TEL/AML1 transcript in childhood acute lymphoblastic leukemia: a new candidate for minimal residual disease study rather than a new prognosis factor? *Br J Haematol* 1996; 93 suppl 2: 55-6.
93. Borkhardt A, Cazzaniga G, Viehmann S, Valsecchi MG, Ludwig WD, Burci L, et al. Incidence and clinical relevance of TEL/AML1 fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the German and Italian multicenter therapy trials. *Blood* 1997; 90: 571-7.
94. Lanza C, Volpe G, Basso G, Gottardi E, Barisone E, Spinelli M, et al. Outcome and lineage involvement in t(12;21) childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 1997; 97: 460-2.
95. Harbott J, Viehmann S, Borkhardt A, Henze G, Lampert F. Incidence of TEL/AML1 fusion gene analyzed consecutively in children with acute lymphoblastic leukemia in relapse. *Blood* 1997; 90: 4933-7.
96. Seeger K, Adams HP, Buchwald D, Beyermann B, Kremens B, Niemeyer C, et al. TEL-AML1 fusion transcript in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1998; 91: 1716-22.
97. Aguiar RCT, Sohal J, van Rhee F, Carapeti M, Franklin IM, Goldstone AH, et al. TEL-AML1 fusion in acute lymphoblastic leukaemia of adults. *Br J Haematol* 1996; 95: 673-7.
98. Kwong YL, Wong KF. Low frequency of TEL/AML1 in adult acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1997; 98: 137-8.
99. Maloney KW, Rubnitz JE, Cleary ML, Frankel LS, Hakami N, Link MP, et al. Lack of ETV6 (TEL) gene rearrangements or p16INK4A/p15INK4B homozygous gene deletions in infant acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1997; 11: 979-83.
100. Lanza C, Volpe G, Basso G, Gottardi E, Perfetto F, Cilli V, et al. The common TEL/AML1 rearrangement does not represent a frequent event in acute lymphoblastic leukaemia occurring in children with Down syndrome. *Leukemia* 1997; 11: 820-1.
101. Raynaud S, Cavé H, Baens M, Bastard C, Cacheux V, Grosgeorge J, et al. The 12;21 translocation involving TEL and deletion of the other TEL allele: two frequently associated alterations found in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996; 87: 2891-9.
102. Baruchel A, Cayuela JM, Ballerini P, Landman-Parker J, Cezard V, Firat H, et al. The majority of myeloid-antigen-positive (My+) childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemias express TEL-AML1 fusion transcripts. *Br J Haematol* 1997; 99: 101-6.
103. Anguita E, González FA, López J, Villegas A. TEL/AML1 transcript and p16 gene deletion in a patient with childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 1997; 99: 240-1.
104. Shurtleff SA, Buijs A, Behm FG, Rubnitz JE, Raimondi SC, Hancock ML, et al. TEL/AML1 fusion resulting from a cryptic t(12;21) is the most common lesion in pediatric ALL and defines a subgroup of patients with excellent prognosis. *Leukemia* 1995; 9: 1985-9.
105. Rubnitz J, Shuster JJ, Land VJ, Link MP, Pullen DJ, Camitta BM, et al. Case-control study suggests a favorable impact of TEL rearrangement in patients with B-lineage acute lymphoblastic leukemia treated with antimetabolite-based therapy: a Pediatric Oncology Group study. *Blood* 1997; 89: 1143-6.
106. Rubnitz J, Downing JR, Pui CH, Shurtleff SA, Raimondi SC, Evans WE, et al. TEL gene rearrangement in acute lymphoblastic leukemia: a new genetic marker with prognostic significance. *J Clin Oncol* 1997; 15: 1150-7.
107. Loh ML, Silverman LB, Young ML, Neuberger D, Golub TR, Sallan SE, et al. Incidence of TEL/AML1 fusion in children with relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1998; 92: 4792-7.
108. Lanza C, Volpe G, Basso G, Gottardi E, Barisone E, Perfetto F, et al. Reappearance of the TEL/AML1 transcript during molecular follow up of t(12;21) ALL is predictive of clinical relapse. *Blood* 1996; 88 suppl 1: 72a.
109. Satake N, Kobayashi H, Tsunematsu Y, Kawasaki H, Horikoshi Y, Koizumi S, et al. Minimal residual disease with TEL-AML1 fusion transcript in childhood acute lymphoblastic leukaemia with t(12;21). *Br J Haematol* 1997; 97: 607-11.
110. Mitterbauer M, Kusec R, Schwarzinger I, Haas OA, Lechner K, Jaeger U. Comparison of karyotype analysis and RT-PCR for AML1/ETO in 204 unselected patients with AML. *Ann Hematol* 1998; 76: 139-43.
111. Kawano S, Miyanishi S, Shimizu K, Tanaka K, Okumura A, Ohki M, et al. Genetic analysis of 8;21 chromosomal translocation without AML1 gene involvement in MDS-AML. *Br J Haematol* 1997; 99: 632-40.
112. Langabeer SE, Walker H, Rogers JR, Burnett AK, Wheatley K, Swirsky D, et al. Incidence of AML1/ETO fusion transcripts in patients entered into the MRC AML trials. *Br J Haematol* 1997; 99: 925-8.
113. Guerrasio A, Rosso C, Martinelli G, Lo Coco F, Pampinella M, Santoro A, et al. Polyclonal haemopoieses associated with long-term persistence of the AML1-ETO transcript in patients with FAB M2 acute myeloid leukaemia in continuous clinical remission. *Br J Haematol* 1995; 90: 364-8.
114. Krauter J, Peter W, Pascheberg U, Heinze B, Bergmann L, Hoelzer D, et al. Detection of karyotypic aberrations in acute myeloblastic leukaemia: a prospective comparison between PCR/FISH and standard cytogenetics in 140 patients with de novo AML. *Br J Haematol* 1998; 103: 72-8.
115. Miyamoto T, Nagafuji K, Akashi K, Harada M, Kyo T, Akashi T, et al. Persistence of multipotent progenitors expressing AML1/ETO transcripts in long-term remission patients with t(8;21) acute myelogenous leukemia. *Blood* 1996; 87: 4789-96.
116. Jurlander J, Caligiuri MA, Ruutu T, Baer MR, Strout MP, Oberkircher AR, et al. Persistence of the AML1/ETO fusion transcript in patients treated with allogeneic bone marrow transplantation for t(8;21) leukemia. *Blood* 1996; 88: 2183-91.
117. Muto A, Mori S, Matsushita H, Awaya N, Ueno H, Takayama N, et al. Serial quantification of minimal residual disease of t(8;21) acute myelogenous leukaemia with RT-competitive PCR assay. *Br J Haematol* 1996; 95: 85-94.
118. Tobal K, Yin JAL. Monitoring of minimal residual disease by quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction for AML1-MTG8 transcripts in AML-M2 with t(8;21). *Blood* 1996; 88: 3704-9.
119. Marcucci G, Livak KJ, Bi W, Strout MP, Bloomfield CD, Caligiuri MA. Detection of minimal residual disease in patients with AML1/ETO-associated acute myeloid leukemia using a novel quantitative reverse transcription polymerase chain reaction assay. *Leukemia* 1998; 12: 1482-9.
120. Novak M, Laczika K, Mitterbauer M, Purtscher B, Schneidelpetrovic A, Lechner K, et al. Novel CBFa-MYH11 fusion transcripts and alternative splicing in acute myeloid leukemia with inversion of chromosome 16. *Blood* 1995; 86: 2449-53.
121. Costello R, Sainy D, Lecine P, Cusenier A, Mozziconacci MJ, Arnoulet C, et al. Detection of CBFa/MYH11 fusion transcripts in acute myeloid leukemia: heterogeneity of cytological and molecular characteristics. *Leukemia* 1997; 11: 644-50.
122. Poirel H, Radford-Weiss I, Rack K, Troussard X, Veil A, Valensi F, et al. Detection of the chromosome 16 CBFa-MYH11 fusion transcript in myelomonocytic leukemias. *Blood* 1995; 85: 1313-22.
123. Langabeer SE, Walker H, Gale RE, Wheatley K, Burnett AK, Goldstone AH, et al. Frequency of CBFa/MYH11 fusion transcripts in patients entered into the UK MCR AML trials. *Br J Haematol* 1997; 96: 736-9.
124. Ritter M, Thiede C, Schäkel U, Schmidt M, Alpen B, Pascheberg U, et al. Underestimation of inversion (16) in acute myeloid leukaemia using standard cytogenetics as compared with polymerase chain reaction: results of a prospective investigation. *Br J Haematol* 1997; 98: 969-72.
125. Grignani F, Fagioli M, Alcalay M, Longo L, Pandolfi PP, Donti E, et al. Acute promyelocytic leukemia: from genetics to treatment. *Blood* 1994; 83: 10-25.
126. Eclache V, Benzacken B, Le Roux G, Casassus P, Chomienne C. PML/RARa rearrangement in acute promyelocytic leukaemia with t(1;17) elucidated using fluorescence in situ hybridization. *Br J Haematol* 1997; 98: 440-3.
127. Diverio D, Lo Coco F. Molecular genetics of acute promyelocytic leukemia. *Rev Clin Exp Hematol* 1997; 2: 45-58.
128. Licht JD, Chomienne C, Goy A, Chen A, Scott AA, Head DR, et al. Clinical and molecular characterization of a rare syndrome of acute promyelocytic leukemia associated with translocation (11;17). *Blood* 1995; 85: 1083-94.

129. Redner RL, Rush EA, Faas S, Rudert WA, Corey SJ. The t(5;17) variant of acute promyelocytic leukemia expresses a nucleophosmin-retinoic acid receptor fusion. *Blood* 1996; 87: 882-6.
130. Lo Coco F, Nervi C, Avvisati G, Mandelli F. Acute promyelocytic leukemia: a curable disease. *Leukemia* 1998; 12: 1866-80.
131. Di Bona E, Montaldi A, Guercini N, Rossi V, Luciano A, Biondi A, et al. A (15;17) translocation not associated with acute promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1996; 95: 706-9.
132. Grimwade D, Howe K, Langabeer S, Davies L, Oliver F, Walker H, et al. Establishing the presence of the t(15;17) in suspected acute promyelocytic leukaemia: cytogenetic, molecular and PML immunofluorescence assessment of patients entered into the M.R.C. ATRA trial. *Br J Haematol* 1996; 94: 557-73.
133. O'Connor SJM, Forsyth PD, Dalal S, Evans PA, Short MA, Shiach C, et al. The rapid diagnosis of acute promyelocytic leukaemia using PML (5E10) monoclonal antibody. *Br J Haematol* 1997; 99: 597-604.
134. Borrow J, Goddard AD, Gibbons B, Katz F, Swirsky D, Fioretons T, et al. Diagnosis of acute promyelocytic leukaemia by RT-PCR: detection of PML-RARA and RARA-PML fusion transcripts. *Br J Haematol* 1992; 82: 529-40.
135. Alcalay M, Zangrilli D, Fagioli M, Pandolfi PP, Mencarelli A, Lo Coco F, et al. Expression pattern of the RARA-PML fusion gene in acute promyelocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 4840-4.
136. Miller WH, Kakizuka A, Frankel SR, Warrell RP, DeBlasio A, Levine K, et al. Reverse transcription polymerase chain reaction for the rearranged retinoic acid receptor a clarifies diagnosis and detects minimal residual disease in acute promyelocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 2694-8.
137. Pandolfi PP, Alcalay M, Fagioli M, Zangrilli D, Mencarelli A, Diverio D, et al. Genomic variability and alternative splicing generate multiple PML/RARA transcripts that encode aberrant PML proteins and PML/RARA isoforms in acute promyelocytic leukaemia. *EMBO J* 1992; 11: 1397-407.
138. Gallagher RE, Willman CL, Slack JL, Andersen JW, Li YP, Viswanatha D, et al. Association of PML-RARA fusion mRNA type with pretreatment hematologic characteristics but not treatment outcome in acute promyelocytic leukemia: an Inter-group molecular study. *Blood* 1997; 90: 1656-63.
139. Mandelli F, Diverio D, Avvisati G, Luciano A, Barbui T, Bernasconi C, et al. Molecular remission in PML/RARA-positive promyelocytic leukemia by combined all-trans retinoic acid and idarubicin (AIDA) therapy. *Blood* 1997; 90: 1014-21.
140. Gallagher RE, Li YP, Rao S, Paietta E, Andersen J, Etkind P, et al. Characterization of acute promyelocytic leukemia cases with PML-RARA break/fusion sites in PML exon 6: identification of a subgroup with decreased in vitro responsiveness to all-trans retinoic acid. *Blood* 1995; 86: 1540-7.
141. Huang W, Sun GL, Li XS, Cao Q, Lu Y, Jang GS, et al. Acute promyelocytic leukemia: clinical relevance of two major PML-RARA isoforms and detection of minimal residual disease by retrotranscriptase/polymerase chain reaction to predict relapse. *Blood* 1993; 82: 1264-9.
142. Raelson JV, Nervi C, Rosenauer A, Benedetti L, Monczak Y, Pearson M, et al. The PML/RARA oncoprotein is a direct molecular target of retinoic acid in acute promyelocytic leukemia cells. *Blood* 1996; 88: 2826-32.
143. Barbui T, Finazzi G, Falanga A. The impact of all-trans-retinoic acid coagulopathy of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1998; 91: 3093-102.
144. Degos L, Dombret H, Chomienne C, Daniel MT, Micléa JM, Chastang C, et al. All-trans-retinoic acid as a differentiating agent in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1995; 85: 2643-53.
145. Weiss MA, Warrell RP. Two cases of extramedullary acute promyelocytic leukemia. *Cancer* 1994; 74: 1882-6.
146. Wiernik PH, De Bellis R, Muxi P, Dutcher JP. Extramedullary acute promyelocytic leukemia. *Cancer* 1996; 78: 2510-4.
147. Evans G, Grimwade D, Prentice HG, Simpson N. Central nervous system relapse in acute promyelocytic leukaemia in patients treated with all-trans retinoic acid. *Br J Haematol* 1997; 98: 437-9.
148. Currie J, Chee YL, Culligan DJ. Central nervous system relapse in acute promyelocytic leukaemia treated with ATRA. *Br J Haematol* 1997; 99: 469.
149. Martino B, Vincelli I, Marino A, Comis M, Ronco F, Nobile F. Meningeal relapse in a patient with acute promyelocytic leukaemia treated with all-trans retinoic acid. *Br J Haematol* 1998; 100: 606-7.
150. Molero T, Valencia JM, Gómez-Casares MT. Central nervous system (CNS) infiltration in a case of promyelocytic leukemia. *Haematologica* 1997; 82: 637.
151. Di Noto R, Schiavone ME, Ferrara F, Manzo C, Lo pardo C, Del Vecchio L. All-trans retinoic acid promotes a differential regulation of adhesion molecules on acute myeloid leukaemia blast cells. *Br J Haematol* 1994; 88: 247-55.
152. Di Noto R, Schiavone ME, Lo pardo C, Ferrara F, Manzo C, Vacca C, et al. Differential regulation of GPI-linked molecules on leukaemic promyelocytes treated in vitro with all-trans retinoic acid. *Br J Haematol* 1996; 93: 392-3.
153. Drach J, López-Borestein G, McQueen T, Andreff M, Mehta K. Induction of differentiation in myeloid leukemia cell lines and acute promyelocytic leukemia cells by liposomal all-trans-retinoic acid. *Cancer Res* 1993; 53: 2100-4.
154. Grignani F, Testa U, Rogaia D, Ferrucci PF, Samoggia P, Pinto A, et al. Effects on differentiation by the promyelocytic leukemia PML/RARa protein depend on the fusion of the PML protein dimerization and RARa DNA binding domains. *EMBO J* 1996; 15: 4949-58.
155. Lin RJ, Nagy L, Inoue S, Shao W, Miller WH, Evans RM. Role of the histone deacetylase complex in acute promyelocytic leukaemia. *Nature* 1998; 391: 811-4.
156. Grignani F, De Matteis S, Nervi C, Tomassoni L, Gelmetti V, Ciocce M, et al. Fusion proteins of the retinoic acid receptor-a recruit histone deacetylase in promyelocytic leukaemia. *Nature* 1998; 391: 815-8.
157. Lo Coco F, Diverio D, Pandolfi PP, Biondi A, Rosi V, Avvisati G, et al. Molecular evaluation of residual disease as a predictor of relapse in acute promyelocytic leukemia. *Lancet* 1992; 340: 1437-8.
158. Miller WH, Levine K, DeBlasio A, Frankel SR, Dmitrovsky E, Warrell RP. Detection of minimal residual disease in acute promyelocytic leukemia by a reverse transcription polymerase chain reaction assay for the PML/RAR-a fusion mRNA. *Blood* 1993; 82: 1689-94.
159. Diverio D, Pandolfi PP, Biondi A, Avvisati G, Petti MC, Mandelli F, et al. Absence of reverse transcription-polymerase chain reaction detectable residual disease in patients with acute promyelocytic leukemia in long-term remission. *Blood* 1993; 82: 3556-9.
160. Avvisati G, Lo Coco F, Diverio D, Falda D, Ferrara F, Lazzarino M, et al. AIDA (all-trans retinoic acid + idarubicin) in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: a Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) pilot study. *Blood* 1996; 88: 1390-8.
161. Meloni G, Diverio D, Vignetti M, Avvisati G, Capria S, Petti MC, et al. Autologous bone marrow transplantation for acute promyelocytic leukemia in second remission: prognostic relevance of pretransplant minimal residual disease assesment by reverse-transcription polymerase chain reaction of the PML/RARA fusion gene. *Blood* 1997; 90: 1321-5.
162. Biondi A, Rambaldi A, Pandolfi PP, Rossi V, Giudici G, Alcalay M, et al. Molecular monitoring of the myl/retinoic acid receptor-a fusion gene in acute promyelocytic leukemia by polymerase chain reaction. *Blood* 1992; 80: 492-7.
163. Tobal K, Yin L. RT-PCR method with increased sesitivity shows persistence of PML/RARA fusion transcripts in patients in long-term remission of APL. *Leukemia* 1998; 12: 1349-54.
164. Melo JV. Diversity of BCR-ABL fusion proteins and their relationship to leukemia phenotype. *Blood* 1996; 88: 2375-84.
165. Maurer J, Janssen JWG, Thiel E, van Denderen J, Ludwig WD, Aydemir U, et al. Detection of chimeric BCR-ABL genes in acute lymphoblastic leukaemia by the polymerase chain reaction. *Lancet* 1991; 337: 1055-8.
166. Saglio G, Guerrasio A, Rosso C, Lo Coco F, Frontani M, Annino L, et al. Detection of Ph1-positive acute lymphoblastic leukaemia by PCR. *Lancet* 1991; 338: 958.

167. Westbrook CA, Hooberman AL, Spino C, Dodge RK, Larson RA, Davey F, et al. Clinical significance of the BCR/ABL fusion gene in adult acute lymphoblastic leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study (8762). *Blood* 1992; 80: 2983-90.
168. Preudhomme C, Fenaux P, Lai JL, Lepelley P, Sartioux C, Collyon-d'Hooghe M, et al. Philadelphia negative, BCR/ABL positive adult acute lymphoblastic leukemia (ALL) in 2 of 39 patients with combined cytogenetic and molecular analysis. *Leukemia* 1993; 7: 1054-7.
169. Kantarjian H, Talpaz M, Estey E, Ku S, Kurzrock R. What is the contribution of molecular studies to the diagnosis of BCR-ABL-positive disease in adult acute leukemia? *Am J Med* 1994; 96: 133-8.
170. Saglio G, Pane F, Gottardi E, Frigeri F, Buonaiuto MR, Guerrasio A, et al. Consistent amounts of acute leukemia-associated P190BCR/ABL transcripts are expressed by chronic myelogenous leukemia patients at diagnosis. *Blood* 1996; 87: 1075-80.
171. Van Rhee F, Hochhaus A, Lin F, Melo JV, Goldman JM, Cross NCP. p190 BCR/ABL mRNA is expressed at low levels in p210-positive chronic myeloid and acute lymphoblastic leukemias. *Blood* 1996; 87: 5213-7.
172. Pane F, Frigeri F, Sindona M, Luciano L, Ferrara F, Cimino R, et al. Neutrophilic-chronic myeloid leukemia: a distinct disease with a specific molecular marker (BCR/ABL with C3/A2 junction). *Blood* 1996; 88: 2410-4.
173. Wilson G, Frost L, Goodeve A, Vandenberghe E, Peake I, Reilly J. BCR-ABL transcript with an e19a2 (c3a2) junction in classical myeloid leukemia. *Blood* 1997; 89: 3064.
174. Simões BP, Scaffo MHS, Falcão RP. Lack of BCR/ABL rearrangement in acute and chronic T cell leukemias. *Leukemia* 1997; 11: 1595-6.
175. Fabbiano F, Santoro A, Felice R, Catania P, Cannella S, Majolino I. bcr/abl rearrangement in adult T-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 1998; 83: 856-7.
176. Bose S, Deininger M, Gora-Tybor J, Goldman JM, Melo JV. The presence of typical and atypical BCR-ABL fusion genes in leukocytes of normal individuals: biologic significance and implications for assessment of minimal residual disease. *Blood* 1998; 92: 3362-7.
177. Vickers M. Estimation of the number of mutations necessary to cause chronic myeloid leukaemia from epidemiological data. *Br J Haematol* 1996; 94: 1-4.
178. Gotoh A, Broxmeyer HE. The function of BCR/ABL and related proto-oncogenes. *Curr Opin Hematol* 1997; 4: 3-11.
179. Guerrasio A, Saglio G. Molecular insights on chronic myeloid leukemia and in other Ph positive human leukemias. *Rev Clin Exp Hematol* 1997; 2: 59-75.
180. Skorski T, Kanakaraj P, Ku DH, Nieborowska-Skorska M, Canaani E, Zon G, et al. Negative regulation of p210GAP GTPase promoting activity by p210bcr/abl: implication for RAS-dependent Philadelphia chromosome positive cell growth. *J Exp Med* 1994; 179: 1855-65.
181. Skorski T, Kanakaraj P, Nieborowska-Skorska M, Ratajczak MZ, Wen SC, Zon G, et al. Phosphatidylinositol-3 kinase activity is regulated by BCR/ABL and is required for the growth of Philadelphia chromosome-positive cells. *Blood* 1995; 86: 726-36.
182. Jain SK, Susa M, Keeler ML, Carlesso N, Druker B, Varticovski L. PI 3-kinase activation in BCR/abl-transformed hematopoietic cells does not require interaction of p85. SH2 domains with p210 BCR/abl. *Blood* 1996; 88: 1542-50.
183. Evans CA, Owen-Lynch PJ, Whetton AD, Dive C. Activation of the Abelson tyrosine kinase activity is associated with suppression of apoptosis in hemopoietic cells. *Cancer Res* 1993; 53: 1735-8.
184. Hoelzer D. Therapy and prognostic factors in adult acute lymphoblastic leukaemia. *Baillière's Clin Haemat* 1994; 7: 299-320.
185. Mitterbauer G, Födinger M, Scherrer R, Knöbl P, Jäger U, Laczika K, et al. PCR-monitoring of minimal residual leukaemia after conventional chemotherapy and bone marrow transplantation in BCR-ABL-positive acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 1995; 89: 937-41.
186. Miyamura K, Tanimoto M, Morishima Y, Horibe K, Yamamoto K, Akatsuka M, et al. Detection of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia by polymerase chain reaction: possible eradication of minimal residual disease by marrow transplantation. *Blood* 1992; 79: 1366-70.
187. Radich J, Gehly G, Lee A, Avery R, Bryant E, Edmands S, et al. Detection of bcr-abl transcripts in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia after marrow transplantation. *Blood* 1997; 89: 2602-9.
188. Preudhomme C, Henic N, Cazin B, Lai JL, Bertheas MF, Vanrumbeke M, et al. Good correlation between RT-PCR analysis and relapse in Philadelphia (Ph1)-positive acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Leukemia* 1997; 11: 294-8.
189. Annino L, Ferrari A, Meloni G, Arciese W, Buffolino S, Lamanda M, et al. RT-PCR monitoring and treatment outcome in BCR/ABL-positive acute lymphoblastic leukemia: persistence of PCR positivity in some long-term survivors. *Blood* 1997; 90 suppl 1: 183a.
190. Sherr CJ. G1 phase progression: cyclin on cue. *Cell* 1994; 79: 551-5.
191. Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK34. *Nature* 1993; 366: 704-7.
192. Quelle D, Zindy F, Ashmun RA, Sherr CJ. Alternative reading frames of the INK4a tumor suppressor gene encode two unrelated proteins capable of inducing cell cycle arrest. *Cell* 1995; 83: 993-1000.
193. Mao L, Merlo A, Bedi G, Shapiro GI, Edwards CD, Rollins BJ, et al. A novel p16INK4A transcript. *Cancer Res* 1995; 55: 2995-7.
194. Stone S, Jiang P, Dayananth P, Tavtigian SV, Katcher H, Parry D, et al. Complex structure and regulation of the P16 (MTS1) locus. *Cancer Res* 1995; 55: 2988-94.
195. Ogawa S, Hirano N, Sato N, Takahashi T, Hangaishi A, Tanaka K, et al. Homozygous loss of the cyclin-dependent kinase 4-inhibitor (p16) gene in human leukemias. *Blood* 1994; 84: 2431-5.
196. Okuda T, Shutterliff SA, Valentine MB, Raimondi SC, Head DR, Behm F, et al. Frequent deletion of p16INK4a/MTS1 and p15INK4b/MTS2 in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1995; 85: 2321-30.
197. Sill H, Goldman JM, Cross NCP. Homozygous deletions of the p16 tumor-suppressor gene are associated with lymphoid transformation of chronic myeloid leukemia. *Blood* 1995; 85: 2013-6.
198. Haidar MA, Cao XB, Manshoury T, Chan LL, Glassman A, Kantarjian HM, et al. p16INK4A and p15INK4B gene deletions in primary leukemias. *Blood* 1995; 86: 311-5.
199. Rasool O, Heyman M, Borgonovo Brandter L, Liu Y, Grandér D, Söderhäll S, et al. p15ink4B and p16ink4 gene inactivation in acute lymphocytic leukemia. *Blood* 1995; 85: 3431-6.
200. Ohnishi H, Kawamura M, Ida K, Sheng XM, Hanada R, Nobori T, et al. Homozygous deletions of p16/MTS1 gene are frequent but mutations are infrequent in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1995; 86: 1269-75.
201. Heyman M, Rasool O, Borgonovo Brandter L, Liu Y, Grandér D, Söderhäll S, et al. Prognostic importance of p15ink4B and p16ink4 gene inactivation in childhood acute lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 1996; 14: 1512-20.
202. Herman JG, Civin CI, Issa JJP, Collector MI, Sharkis SJ, Baylin SB. Distinct patterns of inactivation of p15INK4B and p16INK4A characterize the major types of hematological malignancies. *Cancer Res* 1997; 57: 837-41.
203. Hebert J, Cayuela JM, Berkeley J, Sigaux F. Candidate tumor-suppressor genes MTS1 (p16INK4A) and MTS2 (p15INK4B) display frequent homozygous deletions in primary cells from T- but not from B-cell lineage lymphoblastic leukemias. *Blood* 1994; 84: 4038-44.
204. Quesnel B, Preudhomme C, Philippe N, Vanrumbeke M, Derivate I, Lai JL, et al. p16 gene homozygous deletions in acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1995; 85: 657-63.
205. Takeuchi S, Bartram CR, Seriu T, Miller CW, Tobler A, Janssen JWJ, et al. Analysis of a family of cyclin-dependent kinase inhibitors: p15/MTS2/INK4B, p16/MTS1/INK4A, and p18 genes in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Blood* 1995; 86: 755-60.
206. Fizzotti M, Cimino G, Pisegna S, Alimena G, Quarterone C, Mandelli F, et al. Detection of homozygous deletions of the cyclin-dependent kinase 4 inhibitor (p16) gene in acute lymph-

- hoblastic leukemia and association with adverse prognostic features. *Blood* 1995; 85: 2685-90.
207. Stranks G, Height SE, Mitchell P, Jadayel D, Yuille MAR, De Lord C, et al. Deletions and rearrangement of CDKN2 in lymphoid malignancy. *Blood* 1995; 85: 893-901.
208. Cayuela JM, Hebert J, Sigaux F. Homozygous MTS1 (p16INK4A) deletion in primary tumor cells of 163 leukemic patients. *Blood* 1995; 85: 854.
209. Kees UR, Burton PR, Lü C, Baker DL. Homozygous deletion of the p16/MTS1 gene in pediatric acute lymphoblastic leukemia is associated with unfavorable clinical outcome. *Blood* 1997; 89: 4161-6.
210. Ohnishi H, Guo SX, Ida K, Taki T, Naritaka S, Besso F, et al. Alterations of p16 and p15 genes in acute leukemia with MLL gene rearrangements and their correlation with clinical features. *Leukemia* 1997; 11: 2120-4.
211. Duro D, Bernard O, Della Valle V, Leblanc T, Berger R, Larsen CJ. Inactivation of the p16INK4A/MTS1 gene by a chromosome translocation t(9;14)(p21-22;q11) in an acute lymphoblastic leukemia of B-cell type. *Cancer Res* 1996; 56: 848-54.
212. Batova A, Diccianni MB, Yu JC, Nobori T, Link MP, Pullen J, et al. Frequent and selective methylation of p15 and deletion of both p15 and p16 in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res* 1997; 57: 832-6.
213. Serrano M, Lee HW, Chin L, Cordon-Cardo C, Beach D, DePinho RA. Role of the INK4a locus in tumor suppression and cell mortality. *Cell* 1996; 85: 27-37.
214. Takeuchi S, Bartram CR, Wada M, Reiter A, Hatta Y, Seriu T, et al. Allelotyping analysis of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res* 1995; 55: 5377-82.
215. Maloney KW, McGavran L, Odom LF, Hunger SP. Acquisition of p16INK4A and p15INK4B gene abnormalities between initial diagnosis and relapse in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1999; 93: 2380-5.
216. Wada M, Bartram CR, Nakamura H, Hachiya M, Chen DL, Borenstein J, et al. Analysis of p53 mutations in a large series of lymphoid hematologic malignancies of childhood. *Blood* 1993; 82: 3163-9.

# Tratamiento de la leucemia aguda linfoblástica en adultos

E. DEL POTRO, C. BENAVENTE, R. MARTÍNEZ

*Servicio de Hematología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid*

## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se han producido importantes avances en el conocimiento de la leucemia aguda linfoblástica (LAL) lo que se ha traducido en notables mejoras en el tratamiento, alcanzándose en el momento actual la curación en la mayoría de los niños con esta enfermedad. Sin embargo el pronóstico en los pacientes adultos no es tan favorable.

La mayoría de los progresos conseguidos en el tratamiento de la LAL del adulto proceden de la adaptación de diferentes esquemas terapéuticos que han demostrado su eficacia en el tratamiento de pacientes de edad infantil. Con los protocolos terapéuticos actuales las tasas de remisión completa alcanzadas en los pacientes adultos son del orden de 80-90% (1-7) pero la probabilidad de mantener la remisión a largo plazo es de 30-40% (7-9), muy inferior a las logradas en los niños.

Ello es debido en parte a las distintas características clínicas, inmunológicas y citogenéticas que condicionan considerables variaciones en la evolución clínica y respuesta al tratamiento de los pacientes. De un mejor conocimiento de estas características y de la respuesta a los modernos protocolos de tratamiento se ha conseguido definir algunos factores de gran importancia pronóstica.

La utilización de tratamientos adaptados a los diferentes grupos de riesgo, utilizando protocolos más agresivos en los pacientes con mal pronóstico, junto con las mejoras en el tratamiento de soporte, han permitido mejorar la supervivencia libre de enfermedad.

Comentaremos los factores pronósticos, las distintas fases del tratamiento y las nuevas perspectivas que se abren en el manejo de los pacientes adultos con LAL.

## FACTORES PRONÓSTICOS

Los adultos con LAL que no tienen ningún factor de mal pronóstico, tienen una probabilidad de permanecer en remisión completa, mantenida a los 5 años del 50%, mientras que los que tienen algún factor de mal pronóstico se reduce al 25%. La selección, *a priori*, de aquellos pacientes con alto riesgo de recaída leucémica y la utilización de protocolos quimioterápicos más agresivos ha permitido una mejora en cuanto a las tasas de remisión completa (RC) alcanzada y supervivencia libre de enfermedad (SLE).

Los factores pronósticos más relevantes son los siguientes (Tabla I):

—*Edad del paciente al diagnóstico.* Tiene importancia pronóstica, tanto en la tasa de RC como en la SLE (4,10,11). Los pacientes mayores de 50 años son los de peor pronóstico, los que se encuentran entre los 35 y 50 años son de pronóstico intermedio y los menores de 35 años son los de mejor pronóstico.

—*Número de leucocitos al diagnóstico.* Más de 30.000 leucocitos/ $\mu$ l supone un dato de mal pronóstico en la mayoría de las series (3,4,7,8,12,13). El significado de este factor pronóstico es particularmente importante en la LAL de línea B con leucocitos elevados, donde las posibilidades de conseguir remisiones completas a largo plazo con protocolos de quimioterapia estándar son raras. Por el contrario, en pacientes con LAL de línea T puede no ser un factor de mal pronóstico con los actuales protocolos terapéuticos.

—*Tiempo necesario para conseguir la remisión completa.* En la mayoría de los estudios el no obtener la remisión completa después de cuatro-seis semanas de tratamiento, es un dato de mal pronóstico (3,8,14).

—*Alteraciones citogenéticas y moleculares.* El cariotipo ha sido identificado como el factor pronóstico más

TABLA I  
FACTORES PRONÓSTICOS PARA LA SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD EN LA LAL DEL ADULTO

	<i>Bajo riesgo</i>	<i>Alto riesgo</i>
Edad	Adolescentes (15-20 años)	> 50 años
Nº leucocitos al diagnóstico	<30.000/ $\mu$ L	>30.000/ $\mu$ L
Tiempo para RC	<4 semanas	>4 semanas
Citogenética	Cariotipo normal	t(9;22)/BCR-ABL t(4;11)ALL1-AF4
Inmunofenotipo	LAL-T tímica	LAL pre-B LAL T inmadura LAL T madura

importante para la supervivencia libre de enfermedad (15). En general, pacientes con un cariotipo normal tienen mejor supervivencia que aquéllos con una alteración citogenética. La alteración citogenética más frecuente (30%) y con peor pronóstico es el cromosoma Philadelphia, la t(9;22), cuyo resultado es el gen de fusión BCR/ABL. La t(4;11) que ocasiona el gen de fusión MLL/AF4 es también un factor de mal pronóstico (16-19). Otras alteraciones que se asocian a peor pronóstico son la monosomía del 7 y la trisomía del 8. Por el contrario, otros estudios indican que pacientes con t(10;14) y otras anomalías que implican el cromosoma 14q11-13, que se asocian con fenotipo T, tienen buen pronóstico con regímenes de quimioterapia convencional. La presencia de hiperdiploidía parece que también se asocia con buen pronóstico (15).

—*Inmunofenotipo*. El valor pronóstico del inmunofenotipo ha ido cambiando con los avances tecnológicos y terapéuticos.

En la LAL con inmunofenotipo B maduro (inmunoglobulinas de superficie positivas, LAL-L3 de la clasificación FAB), los estudios iniciales demostraban una tasa baja de RC y una duración muy corta de la misma. Sin embargo con la utilización de una quimioterapia de inducción corta y agresiva, con altas dosis de ciclofosfamida y metotrexato, se han conseguido tasas de RC altas, del 70-80% y una SLE del 50% (20). Actualmente se considera un grupo aparte y se trata con protocolos muy agresivos y de corta duración.

De manera similar ha sucedido con la LAL de inmunofenotipo T, el uso de protocolos de quimioterapia que contienen citarabina y ciclofosfamida han conseguido tasas de remisión completa y SLE similares, o incluso superiores que las LAL de precursores de línea B (6,21,22).

También con el uso de regímenes agresivos la presencia de marcadores mieloides no es actualmente un factor de mal pronóstico.

De lo expuesto anteriormente se deduce que es necesario estratificar el tratamiento de los pacientes con LAL del adulto en función de los factores pronósticos, utilizando tratamientos más agresivos en aquellos enfer-

mos con peor pronóstico (6,21,23). Un reto actual es el estudio de nuevos factores pronósticos biológicos mediante el estudio de enfermedad mínima residual, para identificar aquellos pacientes con una alta probabilidad de recaída leucémica y que se beneficiarían de un trasplante alogénico en primera remisión completa o del uso de nuevas estrategias terapéuticas.

#### TRATAMIENTO

En el tratamiento de la LAL del adulto hay que diferenciar dos fases: inducción a la remisión y tratamiento post-remisión. Con el tratamiento de inducción a la remisión se pretende obtener la remisión completa de la enfermedad, es decir, la desaparición de las células leucémicas y la recuperación de la hematopoyesis normal. Una vez conseguido este primer objetivo es imprescindible un tratamiento post-remisión para reducir al mínimo la enfermedad residual, evitar las recaídas y mantener la remisión hasta la curación del paciente.

#### INDUCCIÓN A LA REMISIÓN

Los protocolos quimioterápicos clásicos utilizados en el tratamiento de inducción incluyen la asociación de 4 fármacos: vincristina, prednisona, L-asparaginasa y una antraciclina (daunorubicina o doxorubicina) con los que se obtienen tasas de remisión entre 70 y 90% (1-4). La adición de otros fármacos como ciclofosfamida y Ara-C no aumenta el número de remisiones, aunque sí se ha demostrado una mayor eficacia en los pacientes con fenotipo T (2,24). Los regímenes de inducción más agresivos con altas dosis de Ara-C, metotrexato o altas dosis de antraciclinas (5,19,25) producen una mayor toxicidad sin aumentar de forma significativa las tasas de remisión, aunque sí pueden mejorar la calidad de la misma prolongando la supervivencia libre de enfermedad. Por este motivo se van a utilizar en una segunda fase del tratamiento, una vez conseguida la remisión completa.

TABLA II  
PACIENTES ADULTOS CON LAL TRATADOS CON QUIMIOTERAPIA POR DIFERENTES GRUPOS COOPERATIVOS

<i>Grupo</i>	<i>Año</i>	<i>Nº pacientes</i>	<i>Edad (años) (Mediana)</i>	<i>Remisión Completa (%)</i>	<i>SLE 8% (≥ 5 años)</i>
SWOG	1989	168	28	68	30
MDACC	1990	105	30	84	34
GIMEMA	1989	358	31	79	25
MSKCC	1990	199		82	33
GMALL (01/81)	1990	368	25	74	41
GMALL (02/84)	1990	562	28	75	41
EORTC	1991	106	27	74	39
CALGB	1991	277	33	64	29
FGTALL	1991	467		76	39
GIMEMA	1996	541	30	80	45
FGTALL	1993	511	33	76	32
CALGB	1995	197	32	85	42
MDACC	2000	204	39	91	39

SWOG= Southwest Oncology Group; MDACC= MD Anderson Cancer Center; GIMEMA= Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne Adupo; MSKCC= Memorial Sloan-Kettering Cancer Center; GMALL= German Multicenter trials in adult ALL; EORTC= European Organization for Research and Treatment of Cancer; CALGB= Cancer and Leukemia Group B; FGTALL= Frech Group for Treatment of Adult Acute Lymphoblastic Leukemia; SLE= Supervivencia Libre de Enfermedad.

Por otra parte, la utilización de factores de crecimiento hematopoyético, G-CSF o GM-CSF, en esta fase de tratamiento permite disminuir ligeramente el periodo de neutropenia y las complicaciones infecciosas como se ha demostrado en algunos estudios (7).

En la tabla II se muestran los resultados del tratamiento en algunas series significativas con gran número de pacientes.

#### TRATAMIENTO POST-REMISIÓN

Aunque, como acabamos de señalar, la mayoría de los pacientes alcanza remisión completa, si no se añade algún tratamiento la duración de la misma es breve y se produce recaída de la enfermedad. Para evitarlo y basándose en el mejor conocimiento de los factores pronóstico se han diseñado protocolos de tratamiento de consolidación o intensificación que han permitido que entre 30 y 40% de los pacientes permanezcan libres de enfermedad a los 5 años (1,3,6,25). Según las distintas modalidades de tratamiento post-remisión podemos hablar de consolidación, intensificación con quimioterapia a altas dosis, o intensificación con trasplante de médula ósea o de células hematopoyéticas de sangre periférica. Por último se debe considerar la profilaxis meníngea y el tratamiento de mantenimiento.

#### CONSOLIDACIÓN

El tratamiento de consolidación consiste en la utilización de fármacos con demostrada actividad antileucémica como metotrexato, mercaptopurina, tioguanina, etopósido, Ara-C, ciclofosfamida, etc., además de los utilizados en el tratamiento de inducción, antraciclinas, L-asparaginasa, vincristina, esteroides, en diferentes combinaciones y administrados de manera repetida durante varios meses. Aunque es difícil demostrar la contribución de cada uno de los fármacos en la eficacia de estos protocolos (1,3,6,27) sí se puede afirmar que con estos tratamientos de consolidación se alcanzan supervivencias libres de enfermedad de 25 a 35% (7,9,10) (Tabla II).

#### INTENSIFICACIÓN

Un paso más y basado en un mejor conocimiento de los factores pronósticos, es la introducción en los tratamientos de consolidación de protocolos de intensificación con quimioterapia a alta dosis, fundamentalmente con metotrexato y Ara-C. Estos protocolos han demostrado una mayor eficacia antileucémica con supervivencias libres de enfermedad de 45 a 50% (14,18) (Tabla II). Por otro lado al alcanzar niveles terapéuticos en LCR permiten, asociados a quimioterapia intratecal, evitar la radioterapia craneal en la profilaxis meníngea.

## TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA

El trasplante de médula ósea y actualmente el de células hematopoyéticas de sangre periférica constituyen un elemento fundamental en el tratamiento post-remisión de los pacientes adultos con LAL.

El trasplante alogénico de médula ósea ha demostrado su eficacia en enfermos primitivamente refractarios o con múltiples recaídas, en los que es el único procedimiento que permite alcanzar supervivencias libre de enfermedad a los 3 años al 20% de los pacientes (26). Ni la poliquimioterapia ni el trasplante autólogo son eficaces en esta situación (27,28).

En los pacientes en primera remisión y a pesar de haberse empleado desde hace más de 20 años, todavía no está definitivamente establecida la indicación y el momento de realización. Existen pocos estudios comparativos entre trasplante alogénico y trasplante autólogo o poliquimioterapia en adultos con LAL. En el estudio de Sebban (29) con una mortalidad peritrasplante de 16%, la supervivencia libre de enfermedad para los pacientes trasplantados es de 45% a los 5 años, respecto a una mortalidad de 5% y una supervivencia libre de enfermedad de 31% para los pacientes tratados con poliquimioterapia o trasplante autólogo, no alcanzando estas diferencias significación estadística. Sin embargo, considerando exclusivamente a los pacientes de alto riesgo las diferencias sí son significativas a favor del trasplante alogénico. En dos estudios del IBMTR, Horowitz (30), sobre 700 pacientes de los cuales 484 fueron tratados con poliquimioterapia y 251 con trasplante alogénico, también demostró una mayor mortalidad inicial con trasplante con una menor incidencia de recaídas, pero tampoco se observaron diferencias significativas en la supervivencia a los 9 años, 34% para los pacientes trasplantados y 32% para los tratados con quimioterapia.

Un planteamiento razonable es realizar trasplante alogénico en primera remisión a los pacientes jóvenes con alteraciones citogenéticas de mal pronóstico, fundamentalmente cromosoma Philadelphia, t(9;22) o t(4;11) o a los pacientes con cualquier dato de mal pronóstico. La indicación es más clara en el caso de los pacientes con cromosoma Philadelphia debido al mal pronóstico que determina, menos de 10% de supervivencia libre de enfermedad en los pacientes tratados con poliquimioterapia (31).

El trasplante autólogo de médula ósea y actualmente el de células hemopoyéticas de sangre periférica presenta menos complicaciones relacionadas con el procedimiento, mucha menor morbilidad y escasa mortalidad, lo que permite aumentar los límites de edad para este procedimiento hasta 60, 65 años. El mayor inconveniente es la ausencia de efecto injerto contra leucemia y por ello la mayor incidencia de recaídas. La supervivencia a largo plazo se mantiene entre 30 y 40%, similar a la de los pacientes tratados con quimioterapia. Aunque existen pocos estudios randomizados, en el del grupo cooperativo francés (32) con pacientes de hasta 50 años trasplantados en primera remisión, no se demuestran diferencias significativas respecto a quimioterapia, 34%

frente a 29% en la serie global; ni en los pacientes de mal pronóstico, 16 respecto a 11%, ni en los de buen pronóstico 49 *versus* 40%.

La principal causa de fracaso es la recaída por la ineficacia de los regímenes de acondicionamiento para erradicar la enfermedad, la falta de efecto injerto contra leucemia o la posible contaminación de células leucémicas en la reinfusión. Parece más probable que la mayoría de las recaídas lo sean por enfermedad residual ya que la utilización de técnicas de purgado *in vitro* no han demostrado gran eficacia (33).

Actualmente también se debe considerar la posibilidad de trasplante de donante no emparentado sobre todo en pacientes jóvenes con enfermedad avanzada. Este procedimiento presenta una alta mortalidad que aumenta con la edad, hasta 44 respecto a 15% en trasplante con donante familiar HLA idéntico, pero con menor índice de recaídas por mayor efecto injerto contra leucemia (34).

Por último, también se está utilizando el trasplante no mieloablativo con menor toxicidad, lo que permite aumentar el límite de edad para el trasplante, manteniendo el efecto injerto contra leucemia (35).

## PROFILAXIS MENÍNGEA

Es imprescindible en los pacientes con LAL realizar algún tipo de profilaxis meníngea para evitar la afectación leucémica del sistema nervioso central (3). Se puede realizar con administración intratecal de quimioterapia, metotrexato, Ara-C, dexametasona, asociada a radioterapia craneal. El empleo de quimioterapia sistémica con metotrexato y Ara-C a alta dosis hace que se alcancen niveles terapéuticos en el sistema nervioso central, por lo que estos fármacos asociados a quimioterapia intratecal constituyen el procedimiento más habitual en el momento actual como profilaxis meníngea, evitando la utilización de radioterapia craneal (14).

En los casos de afectación del sistema nervioso central en el momento del diagnóstico es necesario tratamiento intratecal intenso y tratamiento profiláctico posterior más duradero (3).

## TRATAMIENTO DE MANTENIMIENTO

La mayoría de los protocolos continúan utilizando tratamiento de mantenimiento con mercaptopurina y metotrexato durante 1 a 3 años. Aunque su importancia no está bien determinada, en algunos estudios en los que después de la fase de consolidación no se utilizó tratamiento de mantenimiento, la mediana de duración de la remisión fue corta, 11 meses en el estudio CALGB (16) y de 9 a 11 meses en el ECOG (36). Aunque es probable que los malos resultados de estos protocolos sean debidos a poca eficacia en el tratamiento de inducción y consolidación, más que a la ausencia de tratamiento de mantenimiento. No existen estudios randomizados que permitan establecer una indicación definitiva.



## PERSPECTIVAS FUTURAS

En los últimos años diferentes fármacos con nuevos mecanismos de acción están siendo investigados. Los más importantes son los siguientes:

## INHIBIDOR DE LA ABL-TYROSIN KINASA STI571

La presencia del cromosoma Philadelphia/BCR-ABL es alta en pacientes con LAL del adulto, en torno al 20-25%, y hasta el 40% en pacientes mayores de 50 años, este último es el subgrupo de peor pronóstico con una supervivencia del 10%. En cuanto al inmunofenotipo, es casi exclusiva de precursores B (LAL pre-B y común).

El diagnóstico se realiza bien por citogenética, al evidenciarse la t(9;22), o bien, por PCR, al detectarse el reordenamiento BCR-ABL. La tasa de remisión completa de este grupo es del 70%, algo inferior al 80-90% conseguido por pacientes con el cromosoma Philadelphia /ABL-BCR negativos con fenotipo pre-B o común. Sin embargo sólo el 10-30% de los pacientes que están en remisión completa tienen remisión molecular después de una quimioterapia de inducción intensiva. En el momento actual los mejores resultados se han obtenido después de trasplante alogénico de donante idéntico con una tasa de supervivencia libre de enfermedad de 30-35%.

El gen de fusión BCR-ABL conduce a una alteración en la regulación de la actividad tirosin kinasa que juega un papel crucial en la patogénesis y progresión de la enfermedad en leucemias BCR-ABL positivas. Con un inhibidor selectivo de la Abl-tirosin kinasa (STI571) se ha podido inhibir selectivamente la proliferación de células BCR-ABL positivas de leucemia mieloide crónica (LMC) y LAL (37). En estudios en fase II se ha demostrado que el STI571 es capaz de producir respuesta hematológica en pacientes con LAL resistente o en recaída (38). El tratamiento con STI571 es por vía oral, bien tolerado y es posible aplicarlo a pacientes mayores. Basados en estos resultados se están comenzando estudios con STI571 en pacientes con LAL con cromosoma Philadelphia positivo tanto *de novo* como en pacientes con BCR-ABL positivo después del tratamiento con quimioterapia o trasplante.

## TRATAMIENTO CON ANTICUERPOS MONOCLONALES

Las células blásticas de la LAL expresan antígenos específicos tales como CD 20, CD 19 y estos antígenos específicos de la leucemia podrían ser utilizados como diana para el tratamiento con anticuerpos monoclonales (Ac Mo). Los requerimientos para el tratamiento con

anticuerpos es la presencia de antígenos diana en al menos 20-30%, preferiblemente más del 50% en las células blásticas.

La mayor experiencia que se tiene es con el Rituximab, un Ac Mo anti CD 20, el cual se expresa en células de línea B tanto normales como tumorales. Ha tenido un importante papel antitumoral en linfomas no Hodgkin. El CD 20 también se expresa en un tercio de los blastos de la LLA pre-B, especialmente en pacientes ancianos (40-50%) y en la mayoría de los blastos de LLA B-madura (70-80%). Esto hace que sea razonable investigar el papel del Rituximab en LLA pre-B, LLA B madura y linfoma de Burkitt.

Además Ac Mo anti CD 19 y anti CD 52 (Cam-path-H1) y anti CD7-Ricín están siendo investigados en protocolos de fase II para LLA de línea B y línea T (37).

El tratamiento con anticuerpos monoclonales podría tener un papel en el tratamiento de pacientes ancianos, en los cuales la quimioterapia es limitada y podrían ser administrados como monoterapia o en combinación con quimioterapia. También podrían tener uso en el purgado del producto del trasplante autólogo y en tratamiento postrasplante.

## OTROS AGENTES (39)

—*Trimetrexato*. Similar al metotrexato pero que no requiere una poliglutaminización para ejercer su acción, por lo que es menos susceptible a mecanismos de resistencia observados con el metotrexato. Se está estudiando en LAL refractaria y en recaída.

—*Nelarbina*. Inhibe la enzima purín-nucleótido fosforilasa e induce la apoptosis de células T. Se está estudiando en LAL-T y linfoma linfoblástico resistentes o en recaída.

—*Clofarabina*. Tiene efecto inhibidor de la ribonucleotidil reductasa y DNA polimerasa similar a la fludarabina y 2-clorodeoxiadenosina.

—*Análogos de la deoxicidina*. Potente agente hipometilante que se ha demostrado eficaz en los síndromes mielodisplásicos, LAM y LMC en transformación.

—*Agentes liposomales*. Vincristina y doxorubicina liposomal, que tienen mejor farmacocinética y menor toxicidad.

—*Otros*: Bcl-2 antisentido, briostatina, FMdC, moduladores del MDR, glicoproteína P170, PS-431.

El desarrollo de estas nuevas modalidades de tratamiento es de máxima importancia en LAL del adulto ya que no se debe olvidar que los pacientes de peor pronóstico son los de mayor edad y por ello, los que peor toleran los protocolos de quimioterapia agresiva y trasplante convencional.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Hoelzer D, Gale RP. Acute lymphoblastic leukemia in adults: recent progress, future directions. *Semin Hematol*, 1987; 24: 27-38.
2. Henderson GS. Acute leukemia: general considerations. En: Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Lichtmann MA, eds. *Hematology*. New York: McGraw-Hill Book Co, 1990; 236-51.
3. Hoelzer DF. Diagnostic and treatment of adult acute lymphocytic leukemia. En: Wiernik PH, Canellos GP, Kyle RA, Schiffer CA, eds. *Neoplastic diseases of the blood*. 2 ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1991; 253-74.
4. Kantarjian HM, Walters RS, Keating MJ, et al. Results of the vincristine, doxorubicin, and dexamethasone regimen in adults with standard and high risk acute lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 1990; 8: 994-1004.
5. Kantarjian HM, O'Brien S, Smith TL, et al. Results of treatment with hiper-CVAD, dose-intensive regimen, in adult acute lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*, 2000; 18: 547-61.
6. Larson RA, Dodge RK, Burns CP, et al. A five drug remission induction regimen with intensive consolidation for adults with acute lymphoblastic leukemia: Cancer an Leukemia Group B Study 8811. *Blood* 1995; 85: 2025-37.
7. Larson RA, Dodge RK, Linker CA, et al. A randomized controlled trial of filgrastim during remission induction and consolidation chemotherapy for adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1998; 92: 1556-64.
8. Auer P, Arlin ZA, Metelsmann R, et al. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults: results of the L-10 and L-10M protocols. *J Clin Oncol* 1983; 1: 462-70.
9. Hoelzer D, Thiel E, Loffler H, et al. Intensified therapy in acute lymphoblastic leukemia in adults with intensive induction, consolidation and maintenance chemotherapy. *Blood* 1989; 73: 57-63.
10. Marcus RE, Catovsky D, Johnson SA, et al. Adult acute lymphoblastic leukemia: a study of prognostic features and response to treatment over a ten year period. *Br J Cancer* 1986; 53: 175-84.
11. Chessells JM, Hall E, Prentice HG, et al. The impact of age on outcome in lymphoblastic leukemia; MRC UKALL and XA compared: a report of the MRC Pediatric and Adult Working Parties. *Leukemia* 1998; 12: 463-73.
12. Hussein KK, Dahlberg S, Head D, et al. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults with intensive induction, consolidation and maintenance chemotherapy. *Blood* 1989; 73: 57-63.
13. Cutter J, Mick R, Budman DR, et al. Phase III trial of brief intensive treatment of adult acute lymphocytic leukemia comparing daunorubicin and mitoxantrone: a CALGB study. *Leukemia* 1991; 5: 425-31.
14. Hoelzer DF. Therapy of the newly diagnosed adult with acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin N Am* 1993; 7: 139-60.
15. Wetzler M, Dodge RK, Mrozek K, et al. Prospective Karyotype analysis in adult acute lymphoblastic leukemia: The Cancer and Leukemia Group experience. *Blood* 1999; 93: 3983-93.
16. Linker CA, Levitt LJ, Odonnell M, et al. Improved results of the treatment of adult acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1987; 69: 1242-8.
17. Raddford JE, Burns CP, Jones NP, et al. Adult acute lymphoblastic leukemia : results of the Iowa HOP-protocol. *J Clin Oncol* 1989; 7: 58-66.
18. Linker CA, Levitt LJ, Odonnell M, et al. Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia with intensive cyclical chemotherapy: a follow up report. *Blood* 1991; 78: 2814-22.
19. Rohatiner AZS, Bassan R, Battista R, et al. High dose cytosine arabinoside in the initial treatment of adults with acute lymphoblastic leukemia. *Br J Cancer* 1990; 62: 454-8.
20. Hoelzer D, Ludwig WD, Thiel, et al. Improved outcome in adult B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996; 87: 495-508.
21. Hoelzer D, Thiel E, Loffler H, et al. Prognostic factor in a multi-center study for treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults. *Blood* 1988; 71: 123-31.
22. Lauer SJ, Pinkel D, Buchanan GR, et al. Cytosine arabinoside/cyclophosphamide pulses during continuation therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: Potential selective effect in T-cell leukemia. *Cancer* 1987; 60: 2366-71.
23. Bloomfield CD, Sewer-Walker LM, Goldman LM, et al. Six-year follow-up of the clinical significance of karyotype in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1989; 40: 171-85.
24. Mandelli F, Annino L, Rotoli B, et al. The GIMEMA ALL0183 trial: analysis of 10-year follow up. *Br J Hematol* 1996; 92: 665-72.
25. Weiss M, Maslak P, Feldman E, et al. Cytarabine with high-dose mitoxantrone induces rapid complete remission in adult lymphoblastic leukemia without the use of vincristine or prednisone. *J Clin Oncol* 1996; 14: 2480-5.
26. Biggs JC, Horowitz MM, Gale RP, et al. Bone marrow transplants may cure patients with acute leukemia never achieving remission with chemotherapy. *Blood* 1992; 80: 1090-3.
27. Weisdorf DJ, Billet AL, Hannan P, et al. Autologous versus unrelated donor allogenic marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1997; 90: 2962-8.
28. Abdallah A, Egerer G, Goldshmith H, et al. Continuous complete remission in adult patients with acute lymphocytic leukemia at a median observation of 12 years after autologous bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 2001; 112: 1012-7.
29. Sebban C, Lepage E, Vernant J, et al. Allogenic bone marrow transplantation in adult acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: A comparative study. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2580-7.
30. Zhang MJ, Hoelzer D, Horowitz MM, et al. Long-term follow-up of adults with acute lymphoblastic leukemia in first remission treated with chemotherapy or bone marrow transplantation. *Ann Intern Med* 1995; 123: 428-31.
31. Faderl S, Kantarjian H, Thomas D, et al. Outcome of Philadelphia chromosome positive adult acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2000; 23: 263-73.
32. Fièvre J, Sebban C, Reiffers J, et al. Comparasion of allogeneic transplantation, autologous transplantation, and chemotherapy as post induction treatment in adult acute lymphoblastic leukemia, long term report of the French Group Treatment of Adult ALL. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998; 17: 14a.
33. Soiffer RJ, Roy DC, Gonin R, et al. Monoclonal antibody-purged autogous bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1992; 80: 1090-5.
34. Sierra J, Storer B, Hansen J, et al. Transplantation of marrow cells from unrelated donors for the treatment of high-risk acute leukemia: The effect of leukemic burden, donor HLA-matching, and marrow cell dose. *Blood* 1997; 89: 4226-36.
35. Khouri IF, Keating M, Korbling K, et al. Transplant-lite: Induction of graf-versus-malignance using fludarabine-based non ablative chemotherapy and allogenic blood progenitor-cell transplantation as treatment for lymphoid malignances. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2817-24.
36. Cassileth PA, Anderson JW, Bennett, et al. Adult acute lymphocytic leukemia: the Eastern Cooperative Oncology Group experience. *Leukemia* 1992; 6 (2): 178.
37. Druker BJ, Sawers C, Kantarjian H, et al. Activity of a specific inhibitor of BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of the chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome. *N Engl J Med* 2001; 344: 1034-42.
38. Ottmann OG, Sawyers C, Druker B, et al. A phase II study to determine the safety and anti-leukemic effects of STI571 in adult patients with Philadelphia chromosome positive acute leukemias. *Blood* 2000; 96 (1): 828a.
39. García-Manero G, Thomas DA. Salvaje therapy for refractory or relapsed acute lymphocytic leukemia. *Hematol and Oncol Clin North Am* 2001; 15: 163-205.

# Leucemia aguda linfoblástica del niño

J. J. ORTEGA ARAMBURU

*Servicio de Hematología y Oncología Pediátrica. Hospital Universitario Materno-Infantil Vall d'Hebrón.  
Universidad Autónoma. Barcelona*

## INTRODUCCIÓN

Las leucemias agudas constituyen el grupo de neoplasias más frecuentes en el niño, con 40 nuevos casos anuales por cada millón de niños (hasta los 15 años). De estos casos, aproximadamente el 80% corresponde a leucemias agudas linfoblásticas (LAL) y el 20% restante a leucemias agudas mieloblásticas (LAM). La incidencia de LAL es algo mayor en niños entre los 3 y los 5 años de edad; la proporción de LAM es mayor en el primer año de vida y en la pubertad. En los últimos veinticinco años se ha registrado un incremento del 10% en la incidencia de LAL que es algo superior en niños respecto a niñas (proporción de 1,2 a 1).

Las LAL son proliferaciones clonales malignas de células precursoras linfoides en distintos grados de diferenciación que dan lugar a una invasión de la médula ósea que abarca más del 25% de la celularidad total y una infiltración de hígado, bazo, ganglios linfáticos y otros órganos y tejidos. A efectos del tratamiento, las LAL y los linfomas no Hodgkin en el niño son considerados como una misma entidad si la infiltración de células blásticas en la médula ósea excede del 25%.

La transformación de un protooncogén en oncogén o la pérdida de un gen supresor determina la transformación de una célula precursora hemopoyética en célula leucémica. Las causas que pueden contribuir a la transformación leucémica de las células incluyen factores genéticos y séricos. Aunque se ha establecido relación entre ciertos defectos genéticos y un mayor riesgo de padecer una leucemia, la mayoría de los pacientes no tienen predisposición conocida. El síndrome de Down (trisomía 21) comporta un riesgo 15 veces superior al de los individuos sin el síndrome durante los 10 primeros años de vida (1). La distribución de LAL y LAM dentro del síndrome de Down sigue la proporción habitual (4 a 1) excepto en los tres primeros años de la vida en los

que son más frecuentes las LAM y en particular la LAM-M7 (2). De los factores ambientales y externos no sólo las radiaciones ionizantes sino también los citostáticos y en particular los agentes alquilantes y los inhibidores de la topo-isomerasa (tenipósido y etopósido) aumentan el riesgo de desarrollo de leucemias secundarias (3). El papel de los virus como agentes causales de leucemia en niños no se ha comprobado hasta el momento actual.

## CLASIFICACIÓN

Las leucemias agudas en el niño se clasifican según criterios morfológicos, primero en LAL y LAM, y luego en diferentes tipos. El estudio de los marcadores celulares por medio de anticuerpos monoclonales y los estudios cromosómicos y de biología molecular completan la clasificación actual de las LAL.

Para las LAL se establecen, según la clasificación FAB, tres tipos citomorfológicos: L1, L2 y L3 (linfoblastos pequeños poco dismórficos, linfoblastos pleomorfos y linfoblastos de tipo Burkitt, respectivamente). En 1981 se redefinieron los criterios para la distinción entre L1 y L2 (4). Por su parte, el *Children's Cancer Study Group* (CCSG) estableció un sistema por el que se identifica a cada célula, individualmente, como L1 o L2 clasificando la LAL de tipo L2 cuando más del 10% de los blastos presentan características de L2 (5). En niños, el 85% de los casos de LAL corresponde al tipo L1, del 12 al 14% al tipo L2 y del 2 al 3% al tipo L3.

La clasificación por *fenotipos inmunológicos* tiene especial relevancia en las LAL y, actualmente, el estudio de los marcadores celulares se considera un requisito indispensable para el diagnóstico de la enfermedad. La clasificación por fenotipos, su correlación con los tipos morfológicos y la frecuencia relativa en niños se

muestran en la tabla I. Entre 80 y 85% de las LAL del niño son de estirpe celular B, es decir, de células neoplásicas derivadas de precursores de linfocitos B. Según el grado de inmadurez celular se distinguen diversos fenotipos: de precursores B escasamente diferenciados o pre-B temprano, "común", pre-B y B-maduro. El fenotipo B expresa una morfología L3. En los restantes fenotipos pueden encontrarse morfologías L1 o L2; esta última es más frecuente en las LAL de estirpe T y en los subtipos más inmaduros.

La LAL de linaje T puede también subclasificarse según el grado de inmadurez pero, con fines terapéuticos, no es necesario diferenciar los casos de células T. En algunos pacientes con LAL se halla una expresión simultánea de algún marcador mielóide. Este hecho no parece tener repercusiones en el pronóstico y debe distinguirse de las leucemias mixtas, híbridas o bifenotípicas, que se definen en la actualidad con arreglo a criterios restrictivos (6). Algunos han señalado que la mayoría de los casos infantiles de este tipo de leucemias se corresponden con ciertas características clínicas: menores de 1 año de edad, elevada leucocitosis, alto riesgo de recidiva, fenotipo precursor B (CD10 negativo) y translocaciones que afectan a 11q23, como por ejemplo la t(4;11). Han sido publicados resultados dispares en relación con la frecuencia de la expresión de antígenos mieloides en LAL en niños, que van desde el 5 hasta el 22% (7-9).

En la última década se ha comprobado una correlación clara entre ciertas *anomalías cromosómicas* clonales, las propiedades biológicas de las células leucémicas y las características clínicas (10). En relación a las anomalías numéricas se observa hiperdiploidia de 50 o más cromosomas en cerca del 25% de los niños con LAL, correspondiendo la mayoría de casos al fenotipo "común" y se suele asociar a un pronóstico más favorable; en el 6-7% se encuentra hipodiploidias y tienen una significación pronóstica desfavorable. Por otra parte, tanto en estudios cromosómicos con técnicas de bandeado como con los métodos de biología molecular se identifica una serie de anomalías estructurales (translocaciones y fusiones y reordenamientos de genes) con alto valor pronóstico (10,11) (Tabla II). Entre ellas figura: la

t(9;22) que constituye el llamado cromosoma Philadelphia y que contiene el gen de fusión BCR-ABL que confiere a los pacientes con LAL portadores de esta alteración un pronóstico desfavorable. Otro ejemplo lo constituye la t(4;11) y otras anomalías que afectan al oncogén MLL que se halla en el cromosoma 11, región q23 y que confiere asimismo un pronóstico desfavorable. Se halla en 70% de los lactantes con LAL. No todas las alteraciones cromosómicas estructurales son indicativas de peor pronóstico. Así la t(12;21), detectable por la fusión de los genes TEL y AML-1 se considera predictiva de una respuesta favorable al tratamiento (11). La t(8;14) se halla en el 3% de casos y junto a las más raras t(8;22) y t(2;8) se hallan en LAL de fenotipo B con tipo morfológico L3.

El estudio cromosómico completa la clasificación junto con la citomorfología y la inmunología añadiendo datos de valor biológico y pronóstico.

#### FACTORES PRONÓSTICOS

Con los esquemas terapéuticos actuales, entre 95 y 98% de los pacientes alcanza con el tratamiento de inducción, a las 4-5 semanas, remisión completa (RC), es decir, regresión de los signos y síntomas y restauración de la actividad medular sin células blásticas detectables al examen con microscopía convencional. Entre 70 y 80% se mantienen durante cinco años en la situación alcanzada después de recibir quimioterapia de consolidación y mantenimiento durante dos años y, aproximadamente, el 95% de estos pacientes curan definitivamente de la enfermedad leucémica. Una pequeña proporción (3%) presenta recidivas muy tardías y otra semejante (2%) presenta segundas neoplasias a lo largo de un periodo comprendido entre 3 y 20 años.

Dada la heterogeneidad de la enfermedad, ha sido posible identificar mediante estudios estadísticos de grandes series de pacientes unos factores de riesgo o *factores pronósticos* (12-14); la identificación de éstos ha permitido en los pacientes con menos factores de riesgo reducir la toxicidad del tratamiento y en los de mayor riesgo intensificar la terapia y ensayar nuevos

TABLA I  
CLASIFICACIÓN DE LAS LAL POR EL INMUNOFENOTIPO E INCIDENCIA EN NIÑOS

<i>Tipo y subtipo</i>	<i>Marcadores</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Tipo FAB</i>
<i>LAL de célula B</i>			
Precursor B poco diferenciado	CD79a+CD19+CD10-CyIg-Smlg-	5%	L1-L2
"Común"	CD79a+CD19+CD10+CyIg-SmIg-	60%	L1 (L-2)
Pre-B	CD19+CD10+CyIg+SmIg-	15%	L1 (L-2)
B	CD19+CD10+CyIg-/+SmIg+	2-3%	L3
<i>LAL de células T</i>			
	citCD3+CD/+CD5+CD2+	15%	L1-L2

CyIg: inmunoglobulinas (cadenas pesadas) en el citoplasma; SM Ig: inmunoglobulinas (cadenas ligeras kappa o lambda) en la superficie de las membranas; citCD3: marcador CD3 intracitoplásmico.

TABLA II  
ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS ESTRUCTURALES, GENES IMPLICADOS,  
FENOTIPO INMUNOLÓGICO Y SUBTIPO MORFOLÓGICO EN LAL

Anomalía	Genes	Frecuencia %	Fenotipo	Tipo FAB
t(8;14) (q24;q23)	MYC /IGH	3	B	L3
t(2;8) (p11;q24)	JGK/MYC	<1	B	L3
t(8;22) (q24, q11)	MYC/IGL	<1	B	L3
t(1;19) (q23,pB)	PBX1/E2A	5-6	pre-B	L1-L2
t(9;22) (q34,q11)	BCR /ABL	3-5	B-común o B-inmaduro y pre-B	L1-L2
t(4;11) (q21; q23)	ALL1/MLL	2	B inmaduro	L2-L1
t(1;14) (p34,q11)	TAL reord	3-4	T	L2-L1
t(12;21) (p13;q22)	TEL/AML1	25	B "común" pre-B	L1-L2

tratamientos. De esta forma, actualmente los protocolos terapéuticos aplicados incluyen tratamientos diferenciados para los grupos de pacientes de menor riesgo de recidivas, de riesgo intermedio y de alto riesgo (15-17).

El tratamiento utilizado ha demostrado ser a lo largo de los años el factor de mayor influencia en el curso de la enfermedad y el responsable de que algunos factores de riesgo hayan perdido su valor con los actuales tratamientos. El ejemplo más claro es el de las LAL de fenotipo B maduro. Este subtipo, poco frecuente (entre 2 y 3%), va ligado a una morfología celular L3 y a unas alteraciones citogenéticas características: t(8;14), t(2;8) o t(8;22). Con los esquemas de tratamiento empleados para el resto de LAL, incluyendo las de alto riesgo, los resultados eran muy pobres y se consideraba como una forma de pronóstico altamente desfavorable. Desde que se emplean tratamientos similares a los del linfoma de

Burkitt, el pronóstico ha pasado a ser similar al del resto de LAL (18).

Los factores que mantienen su valor pronóstico son los siguientes (Tabla III):

1. *Edad*. La edad entre 1 y 9 años es la de mejor pronóstico seguida por la de 10 a 15 años. La edad inferior a 1 año confiere pronóstico más desfavorable.

2. *Nº inicial de leucocitos*. Se considera como criterio de mayor riesgo las cifras por encima de  $50 \times 10^9/l$  si bien es una variable continua.

3. *Características citogenéticas*. Son indicativos de alto riesgo los casos con hipodiploidia (menos de 46 cromosomas), con t(4;11) o reordenamiento del gen MLL y las formas con t(9;21) o fusión de genes BCR/ABL (también llamado cromosoma Ph'). Por el contrario, indican un pronóstico favorable el hallazgo de hiperdiploidia de 50 o más cromosomas y la t(12;21) o fusión

TABLA III  
FACTORES PRONÓSTICOS EN LAL EN NIÑOS

Edad (años)	1-9	<i>menos de 1</i>
Leucocitos ( $\times 10^9/l$ )	<20	<i>&gt;50</i>
Síndrome linfomatoso		<i>+ *</i>
Infiltración del SNC		<i>+ *</i>
Inmunofenotipo	B-común (CD10+)	<i>B**, T*, pro-B (CD10-)</i>
Citogenética	Hiperdiploidia >50 o índice DNA >1.16	<i>hipodiploidia t(9;22) t(4;11)</i>
Sexo	femenino	
Respuesta M.O. día 14	<5% blastos en M.O.	<i>&gt;20% blastos en M.O.</i>
Respuesta sangre periférica día 8		<i>&gt;1 x 10<sup>9</sup> blastos en s.p.</i>

\* No son factores independientes en varios estudios. \*\* El pronóstico del fenotipo B ha mejorado notablemente con tratamiento específico. En cursiva se destacan los factores de riesgo que mantienen su valor en análisis estadísticos de multivariados.

de genes TEL-AML1 (11). Otras alteraciones cromosómicas consideradas hasta hace pocos años como indicativas de mal pronóstico como la t(1;19) y la t(8;14) han dejado de serlo con los tratamientos actuales.

4. *La rapidez de la respuesta al tratamiento* inicial es un importante factor pronóstico y puede evaluarse de dos formas: la desaparición o persistencia de blastos circulantes tras 7 días de monoquimioterapia con prednisona (criterio del grupo alemán BFM) o la persistencia de blastos en aspirado de médula ósea el día 14 desde el inicio del tratamiento (criterio seguido por el grupo americano CCSG y los grupos españoles Pethema y SHOP) (19-21).

5. La presencia de organomegalias abdominales (esplenomegalia y hepatomegalia grandes) adenomegalias, masa mediastínica, infiltración de SNC, así como el fenotipo T, tienen valor pronóstico cuando se realizan análisis univariantes pero pierden este valor cuando se analizan por el sistema de variables múltiples (19).

6. Los estudios de enfermedad residual mínima han añadido, en los últimos años un nuevo y valioso factor pronóstico.

#### GRUPOS DE RIESGO

La evaluación de todos los factores mencionados se utiliza para identificar grupos de pacientes con mayor o menor riesgo de recidivas y, en consecuencia, para emplear distintas estrategias terapéuticas. Los criterios para incluir a los pacientes en distintos grupos de riesgo varían según los centros o grupos cooperativos de tratamiento. En sendas reuniones mantenidas por representantes de diversos grupos cooperativos, la primera en Roma en 1985 y la segunda en Estados Unidos en 1993 se acordó establecer una clasificación en grupos de bajo y alto riesgo de acuerdo a dos factores: edad y número inicial de leucocitos. Los pacientes de edades entre 1 y 9 años y con leucocitos inferiores a 50.000/ $\mu$ l serían considerados como de bajo riesgo y los restantes como de alto riesgo (20). Se han venido empleando sistemas de puntuación y otros, como el BFM, han venido utilizando fórmulas matemáticas simplificadas por nomogramas (21). La finalidad básica es ajustar el tratamiento citostático a las necesidades de cada grupo y dar tratamientos menos intensivos a los grupos con menor riesgo de recidivas y más intensos o especialmente adaptados a grupos con mayor riesgo. Un caso especial de pacientes que precisan de un tratamiento diferenciado es la LAL de fenotipo B como ya ha sido indicado (23). Otro grupo que debe ser tratado de modo específico es el constituido por los menores de un año de edad, cuyo pronóstico continúa siendo sombrío y para el cual se diseñan también esquemas de tratamiento diferenciados.

Con los tratamientos para distintos grupos de riesgo, algunos de los factores mencionados han perdido su valor pronóstico en tanto que otros lo mantienen. Así, aun con los protocolos de quimioterapia más intensiva, los factores individuales más desfavorables y que predicen un riesgo de recidivas precoces en más del 50% de los casos son los siguientes: leucocitosis por encima de

200x10<sup>9</sup>/l a cualquier edad o por encima de 100x10<sup>9</sup>/l en mayores de 10 años, persistencia de más de 1.000 blastos por  $\mu$ l en sangre periférica después de 7 días de tratamiento con prednisona y una dosis intratecal de MTX, infiltración medular con más del 20% de células blásticas el día 14 de tratamiento, los menores de 12 meses de edad y que presentan la translocación t(4;11) o que cursan con reordenamiento del gen MLL, y la t(9;22) con gen de fusión BCR/ABL. A ellos se añaden los que presentan enfermedad residual mínima superior a 1% después del tratamiento de inducción o superior a 0,1% después de los tratamientos de consolidación (semana 12 a 16). Estos pacientes son candidatos a tratamientos con regímenes de intensificación y trasplante de médula ósea.

Clasificados los pacientes en tres grupos de riesgo: bajo, intermedio y alto, se aplican protocolos terapéuticos diferenciados de intensidad progresiva. En la tabla IV se muestra una clasificación actualizada en grupos de riesgo.

TABLA IV  
CLASIFICACIÓN EN GRUPOS DE RIESGO

#### I. Grupo de riesgo bajo

Los pacientes deben cumplir todas las condiciones siguientes:

- Edad 1 a 9 años
- Leucocitos < 50 x 10<sup>9</sup>/l
- Ausencia de infiltración en SNC
- Fenotipo B común o pre-B
- Ausencia de hipodiploidia, t(9;22) o gen de fusión bcr/abl, t(4;11) o reordenamiento MLL
- Menos de 1x 10<sup>9</sup>/l en sangre periférica el día +18
- Menos de 20% blastos en médula ósea el día +14
- Menos de 5% de células blásticas y ERM <1% en médula ósea el día +35

#### II. Grupo de riesgo alto

Los pacientes deben tener una o más de la siguientes condiciones:

- Hipodiploidia
- t(9;22) o gen de fusión bcr/abl
- t(4;11) o reordenamiento MLL
- Respuesta pobre a la quimioterapia (día +8, más de 1x 10<sup>9</sup>/l blastos en sangre periférica, día +14 en médula ósea >20% blastos, día +35 :>5% blastos o ERM >1% en médula ósea)

#### III. Grupo de riesgo intermedio

Todos los restantes a excepción de los menores de 1 año de edad y las LAL de fenotipo B que se tratan con protocolos específicos

LA ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL (ERM), NUEVO FACTOR PRONÓSTICO

El concepto de ERM va más allá que el de remisión citomorfológica y permite identificar la persistencia de células blásticas en médula ósea en número muy inferior al detectable por citomorfología o por métodos citogenéticos convencionales.

Los métodos utilizados para detectar ERM en LAL se basan en técnicas de biología molecular (PCR) y en la caracterización inmunofenotípica de las células blásticas por citometría de flujo. Ambas técnicas tienen sensibilidad para detectar 1 blasto entre  $10^4$  células. Los métodos que utilizan PCR se basan en el estudio del reordenamiento clonal de los receptores de linfocitos B y T (IgH y RCT) que se produce en la mayoría de casos de LAL y en la detección de genes de fusión específicos ( presentes en aproximadamente un tercio de los casos). La detección de ERM por citometría de flujo se basa en estudios multiparamétricos (utilizando 3 ó 4 fluorocromos a la vez) que permiten identificar en el momento del diagnóstico unos inmunofenotipos peculiares en los blastos (inmunofenotipos con infidelidades de línea, asincronismos madurativos, expresión antigénica anómala, fenotipos ectópicos y fenotipos muy infrecuentes en médula ósea normal). Estos métodos son aplicables en 80-90% de los pacientes. Se ha comprobado en diversos estudios que la detección de ERM en diferentes fases del tratamiento permite predecir un alto riesgo de recidivas en un grupo de pacientes en remisión hematológica e independientemente de la presentación de otros factores de riesgo (Tabla V). Así, la comprobación de los niveles de ERM en niveles iguales o superiores a 1% después de la inducción o por encima de 0,1% a las 12-14 semanas permite identificar un nuevo subgrupo de pacientes de alto riesgo que pueden ser candidatos a tratamientos más intensivos (19).

TABLA V  
NIVELES DE ERM AL FIN  
DE LA INDUCCIÓN Y RECAÍDAS

Niveles de ERM	Probabilidad de recidivas
>1%	72%
>0,1% - < 1%	43%
< 0,1%	23%
(-)	10%

Coustan-Smith et al. Blood 2000 (19)

COMPONENTES DEL TRATAMIENTO

Los protocolos de tratamiento de LAL vigentes comprenden cuatro componentes: inducción, consolidación con o sin intensificación, tratamiento sobre SNC y quimioterapia de continuación.

TRATAMIENTO DE INDUCCIÓN

Es común a todos los grupos de riesgo y con él pretende obtenerse, en un plazo de 4 a 5 semanas, una situación de RC. Previamente a su inicio deben instaurarse medidas de soporte como son un tratamiento antiinfeccioso enérgico en caso de que exista evidencia o sospecha de infección y profilaxis con trimetoprim-sulfametoxazol. Asimismo, debe administrarse hidratación intravenosa con alcalinización para asegurar la eliminación de los productos de la lisis tumoral, en especial en los casos con enfermedad tumoral extendida y leucocitosis elevada. El tratamiento de inducción incluye la administración de cuatro citostáticos: prednisona, (prednisolona o dexametasona), vincristina, asparaginasa y daunorrubicina a lo largo de cuatro semanas. Al mismo tiempo, se administran de 2 a 3 dosis intratecales de metotrexato (MTX) solo o asociado con arabinósido de citosina (ARA-C) e hidrocortisona. Con este tratamiento se alcanza RC en un 95% de los pacientes. En diversos protocolos se añade otro u otros fármacos, que suelen ser ciclofosfamida, metotrexato, ARA-C o tenipósido. En la figura 1 se muestra el esquema de tratamiento utilizado en el grupo de riesgo intermedio por el grupo español PETHEMA. El grupo BFM utiliza en todos sus protocolos un tratamiento de inducción prolongado en que, después del tratamiento inicial descrito, se continúa durante cinco semanas con la administración de ciclofosfamida, ARA-C en dosis bajas y repetidas y mercaptopurina. Previamente, al inicio del tratamiento de inducción, se administra sólo prednisolona durante una semana para evaluar la respuesta y usarla como factor pronóstico, según se indicó anteriormente (21).

QUIMIOTERAPIA DE INTENSIFICACIÓN/CONSOLIDACIÓN

La finalidad es reducir la enfermedad mínima residual y ajustar la intensidad del tratamiento en relación con el riesgo de recidiva según la clasificación previa en grupos de riesgo. En la mayoría de protocolos, se administra MTX en altas dosis (de 2 a 5 g/m<sup>2</sup> en infusión de 24 horas) en número de 3 o 4 ciclos (21). En el protocolo Pethema LAL-96 para pacientes de riesgo intermedio se alternan tres ciclos de MTX en altas dosis con dos de la asociación de Ara-C y tenipósido a dosis intermedias (Fig. 1). En los protocolos del Dana Farber Cancer Institute (DFCI) (22) se administran altas dosis de asparaginasa. Camitta y cols. preconizan la administración de doce ciclos de mercaptopurina y MTX a altas dosis (1g/m<sup>2</sup>) de ambos por vía intravenosa (23). En los protocolos BFM se administran, después de la segunda fase del tratamiento de inducción, que de hecho es un tratamiento de consolidación, cuatro dosis de MTX de 5g/m<sup>2</sup> (21). Durante esta fase del tratamiento continúan los tratamientos intratecales.

Tras esta fase del tratamiento, en los grupos de menor riesgo de recidivas, puede pasarse a la quimioterapia de continuación para proseguir, además, con el tratamiento específico sobre SNC. En los grupos de riesgo intermedio y, en algunos protocolos también en

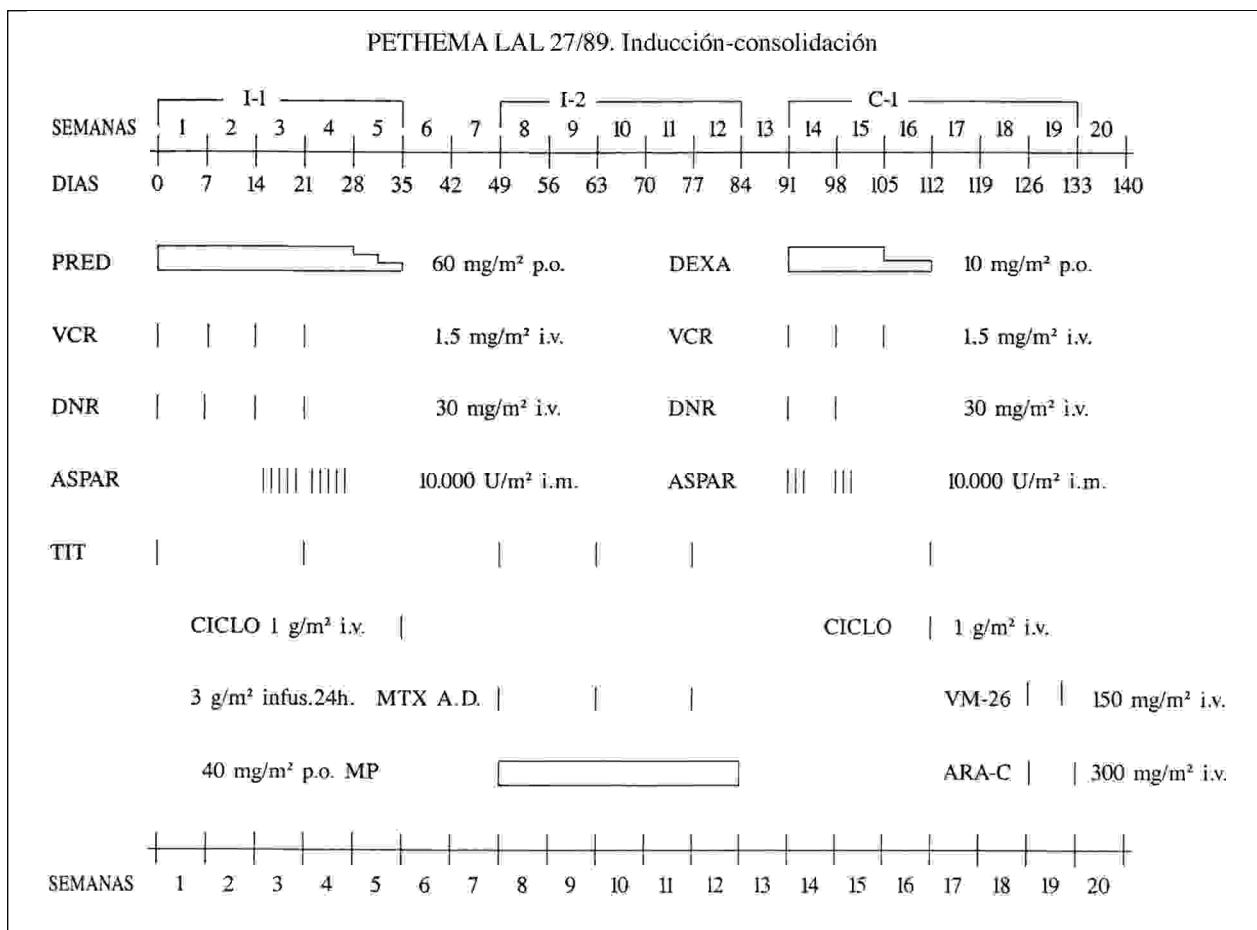


Fig. 1. Esquema de tratamiento de inducción y consolidación del protocolo PETHEMA LAL-96 para niños con LAL de riesgo inter-medio. Parte superior: tratamiento de inducción de 5 semanas de duración. Zona media: tratamiento de consolidación con intensificación. Parte inferior: tratamiento de consolidación II o reinducción. Se sigue con tratamiento de mantenimiento hasta completar dos años.

los de menor riesgo, se añade, después de la fase con MTX a altas dosis, un segundo tratamiento de consolidación, similar al de inducción, con los mismos o similares fármacos, durante un periodo variable según el grupo de riesgo. Así, en el protocolo Pethema LAL 96 (Fig. 1) y en los del grupo BFM, estos tratamientos de consolidación tienen una duración de siete semanas. En el Protocolo Pethema LAL-93 y ALL-BFM-90 para pacientes de alto riesgo se emplea como consolidación bloques de poliquimioterapia de una semana de duración que incluyen altas dosis de MTX, Ara-C y asparaginasa junto a otros fármacos a dosis convencionales.

#### Tratamiento sobre el SNC

Desde 1970 hasta mediados de los años ochenta, el tratamiento convencional sobre SNC consistía en la combinación de irradiación holocraneal (entre 18 y 24 Gy) y 5 o 6 dosis intratecales de MTX administradas inmediatamente después de alcanzada la remisión. Con ello se consiguió disminuir la tasa de recidivas neuro-

menígeas desde el 50% hasta menos del 10%. No obstante, las secuelas neurotóxicas, con efecto sobre las funciones intelectuales, y el aumento de incidencias de segundas neoplasias en el área irradiada llevaron a la búsqueda de métodos de tratamiento alternativos que excluyeran la irradiación craneal (24-26). Actualmente, se ha sustituido, en la mayoría de pacientes, la irradiación craneal por quimioterapia intratecal, asociada o no con MTX en altas dosis. El tratamiento intratecal se inicia ya en el tratamiento de inducción y se prosigue en la fase de intensificación y consolidación para completarse en la quimioterapia de continuación. En nuestra experiencia, un total de 10-12 dosis de quimioterapia intratecal triple (MTX, ARA-C e hidrocortisona) administradas en el curso de los seis primeros meses de tratamiento es suficiente en el grupo de pacientes de menor riesgo (24); el número de dosis debe ser al menos de 12 en los de riesgo intermedio si se administran, además, varias dosis de MTX intravenoso. En las formas de fenotipo T con leucocitosis elevadas y en los grupos de alto riesgo, aún continúan algunos grupos con la administración de irradiación holocraneal después del tratamiento de consolidación aunque no está clara su ventaja



sobre la asociación de quimioterapia intratecal y MTX en altas dosis.

### *Quimioterapia de continuación*

Consiste en la administración de mercaptopurina en dosis diarias (50-60 mg/m<sup>2</sup>) y metotrexato en dosis semanales (15-20 mg/m<sup>2</sup>) durante un periodo comprendido entre 18 y 20 meses, dependiendo de la duración de los tratamientos de inducción y consolidación. En algunos protocolos de tratamiento, como en el Pethema LAL-96 para pacientes con riesgo intermedio, se intercalan tratamientos cortos de "reinducción" con los fármacos utilizados en el tratamiento de inducción (prednisona, vincristina, y asparaginasa) durante los primeros meses de esta fase (Fig. 1). En algunos protocolos se ha ensayado un sistema secuencial, alternando otras parejas de fármacos con la combinación de mercaptopurina y metotrexato (26).

### *Suspensión de la quimioterapia y recaídas tardías*

Con los actuales protocolos de quimioterapia inicial intensiva no es necesario prolongar la quimioterapia más de dos años. Aproximadamente, un 10% de los pacientes presenta recaídas durante el año siguiente a la suspensión del tratamiento y del 3 al 5% en el curso del segundo año. Después de cinco años en RC y tres desde la suspensión de la quimioterapia son raras las recaídas (menos del 5%).

La aparición de recaídas tardías aisladas en SNC es poco frecuente. En cambio, 5-10% de los pacientes varones presentan recaídas en testes al año siguiente de la suspensión del tratamiento.

### *TRATAMIENTO DE LAS RECIDIVAS Y PAPEL DEL TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMOPOYÉTICOS EN LAS LAL DEL NIÑO*

La recurrencia de una LAL siempre es un suceso grave. Los factores que más influyen en el curso posterior son la duración del periodo de remisión, la localización de la recaída (medular, en SNC, en testes o en otro lugar) y el tratamiento que se emplee. Las recaídas en el curso de los primeros 24 meses, incluidas las extramedulares, conllevan un alto riesgo mortal (27-29). Con tratamientos de inducción intensificados pueden obtenerse segundas remisiones en un 70-80% de casos. Con la administración posterior de ciclos alternantes de poli-quimioterapia intensiva puede conseguirse consolidar esta remisión. No obstante, sólo con quimioterapia son contados los casos con recaídas medulares tempranas que alcanzan remisiones prolongadas, por lo que es preferible practicar un trasplante de médula ósea alogénico (TMO) en los pacientes que dispongan de un donante adecuado. En los casos de recaída precoz en SNC, además del tratamiento indicado, es preciso la administración de repetidos tratamientos intratecales (MTX, ARA-C, hidrocortisona) durante las fases de inducción

y consolidación. Si la recaída afecta a los testículos debe aplicarse, además del tratamiento sistémico, irradiación de ambos testes. También en los casos de recaída extramedular precoz preconizamos el TMO, ya sea alogénico o autólogo, en la segunda remisión.

En las recaídas medulares tardías (después de los 30 meses) es posible alcanzar una segunda remisión en un 90% de pacientes. No existe acuerdo sobre si el mejor tratamiento posterior es quimioterapia intensiva con ciclos alternantes o TMO. Con el primer procedimiento pueden alcanzarse remisiones prolongadas en un 30-40% de los pacientes (27-29) aunque mediante el TMO alogénico o autólogo puede reducirse el riesgo de nuevas recaídas. En las recaídas aisladas en SNC que acaecen después de suspender la quimioterapia, nosotros aconsejamos una quimioterapia sistémica de inducción y consolidación seguida de ciclos alternados de poli-quimioterapia durante un año, junto con quimioterapia intratecal de inducción y mantenimiento e irradiación craneoespinal al final del tratamiento. Con este procedimiento hemos alcanzado remisiones prolongadas en más del 60% de pacientes. En las recaídas testiculares aisladas tardías, un tratamiento de inducción e irradiación testicular bilateral, seguido de tratamiento preventivo intratecal sobre SNC y quimioterapia de continuación durante un año, da lugar a segundas RC duraderas en más del 70% de pacientes (30).

### *TRATAMIENTO DE LAS LAL EN LACTANTES*

Las LAL que se presentan en menores de 12 meses suponen aproximadamente un 3% de las LAL en niños y tienen características propias como son la alta frecuencia de:

- Leucocitosis >50.000.
- Manifestaciones extramedulares iniciales.
- Afectación del SNC.
- Inmunofenotipo muy inmaduro (CD10-) con expresión frecuente de marcadores mieloides.
- Traslocación del gen MLL en la banda 11q23, en particular en la t(4;11) (31).

Las quimioterapias estándar para LAL han dado pobres resultados con supervivencia sin recaída (SLE) inferior a 30% y el empleo de regímenes intensivos han dado resultados inferiores a los obtenidos en pacientes de otras edades. La SLE obtenida en diversas series publicadas en los años noventa oscilan entre el 24 y el 54% con un promedio del 35% siendo los mejores resultados los obtenidos en los estudios DFCEI-C8501 (SLE de 54% a los 4 años) (31) y BFM-90 (SLE de 51% a los 4 años) (33). El empleo de Ara-C y MTX en altas dosis en tratamientos de consolidación ha demostrado ser eficaz. Actualmente se halla en curso un estudio cooperativo (Protocolo Interfant-99) en el que se incorporan elementos de los tratamientos de LAM a los esquema de LAL.

A partir de los estudios publicados ha quedado bien establecida la existencia de factores de pronóstico desfavorable (SLE inferior al 20%) dentro de este grupo de edad. Dichos factores son (31-33):

- Edad menor de 6 meses.

- Reordenamiento MLL, básicamente t(4;11).
- Fenotipo muy inmaduro (CD10-).
- Respuesta pobre a la prednisona tras 7 días de tratamiento.

Existen escasos datos acerca de los resultados del trasplante de progenitores hemopoyéticos (TPH) en LAL en lactantes. En un reciente trabajo del Grupo Español de Trasplantes de Médula Ósea en Niños (GETMON) que incluía 11 lactantes con LAL, seis recibieron un TMO autólogo, 4 un TMO de familiar histocompatible y 1 de sangre de cordón umbilical (SCU) de donante no emparentado. La supervivencia sin recidiva fue del 56% (34). En nuestra experiencia personal, entre 1990 y 2000 realizamos TPH en 10 lactantes, siete de ellos con reordenamiento MLL. Seis recibieron un TPH autólogo y 4 de ellos siguen vivos y en remisión. Otros dos recibieron un trasplante de SCU; uno presentó recidiva y falleció y el restante también falleció por adenovirus sistémica. De los dos restantes uno recibió un TPH de sangre periférica del padre haploidéntico con depleción T y el otro un TMO de un hermano histocompatible: ambos siguen vivos y en remisión. En resumen 60% de los niños seguían vivos tras un seguimiento medio de 82 meses.

A partir de los datos expuestos y la experiencia personal opinamos que son candidatos a recibir un tratamiento quimioterápico mieloablativo seguido de TPH los lactantes con LAL que presenten al menos uno de los factores pronósticos desfavorables, es decir, edad inferior a 6 meses, fenotipo pro-B (CD10-), reordenamiento MLL o t(4;11) o pobre respuesta al tratamiento con prednisona durante siete días. Los estudios de ERM pueden añadir un criterio pronóstico añadido. El TPH autólogo en nuestra experiencia puede dar resultados comparables al alogénico. La indicación de TPH en los restantes casos sería opcional en función de los resultados que se obtengan en los actuales ensayos cooperativos de quimioterapia.

#### TRATAMIENTO DE LAS LAL DE CÉLULAS B

Las LAL de células B, con morfología L3 y t(8;14) o variantes según se ha repetido anteriormente constituye sólo un 2-3% de las LAL del niño. Clínicamente se caracteriza por la frecuencia con que se asocian con masas tumorales abdominales, infiltración del SNC y una ocupación incompleta de la médula ósea al diagnóstico. Las células blásticas tienen una alta tasa de proliferación con acortamiento del ciclo celular. Las LAL de fenotipo B y los linfomas de Burkitt aparecen como distintas formas de una misma enfermedad. Hasta los años ochenta era una forma de LAL con pobre respuesta al tratamiento y tendencia a presentar recidivas tempranas. En los últimos veinte años con el empleo de tratamientos diseñados para linfomas de Burkitt en estadios III y IV que incluyen el empleo precoz de metotrexato y ciclofosfamida en altas dosis junto a prednisolona, arabinósido de citosina, vincristina, etopósido y adriamicina en forma de bloques se ha conseguido alcanzar remisiones duraderas en más de 80% de los pacientes tanto con los protocolos BFM (18-35) como los del grupo francés (36).

#### TMO EN LAS LAL DEL NIÑO

El TMO alogénico de un donante hermano compatible es, actualmente, el mejor tratamiento para los pacientes en segunda remisión después de una recidiva precoz. Entre un 30-50% alcanza remisiones prolongadas frente a menos del 10% de los tratados exclusivamente con quimioterapia (37,38).

En los pacientes con recidivas tardías, la indicación del TMO es más controvertida. Creemos que cada caso debe analizarse individualmente. En particular, somos partidarios del TMO en pacientes mayores de 10 años con recidivas medulares en el curso del primer año después de la suspensión de la quimioterapia. También, en nuestra opinión, en las recidivas medulares aisladas tardías, el TMO de un hermano HLA-idéntico mejora los resultados de la quimioterapia.

En fases avanzadas (tercera remisión o pacientes que no se hallan en remisión) se alcanzan resultados favorables sólo en un 10% de los pacientes.

La indicación del TMO en primera remisión en niños debe restringirse a aquellos casos en que las probabilidades de presentar recidivas sean superiores al 50%. Se incluyen los casos con leucocitosis superiores a  $200 \times 10^9/l$ , las t(9;22), t(4;11), los menores de 12 meses con otros factores de riesgo y los casos con pobre respuesta inicial o refractarios al tratamiento de inducción.

Las indicaciones del TMO autólogo en LAL en niños no han sido establecidas. Los resultados en casos de muy alto riesgo en primera remisión, en segunda remisión después de recidiva precoz y en fases avanzadas son inferiores a los obtenidos con el TMO alogénico. Por el contrario, los resultados son equiparables en pacientes en 2ª remisión después de recidiva extramedular precoz y tras recidivas medulares después de transcurridos 24 meses desde el diagnóstico (37).

#### EFFECTOS SECUNDARIOS, SECUELAS Y SEGUNDAS NEOPLASIAS

Alrededor del 70% de los niños con LAL tratados con protocolos de los años ochenta han curado de la enfermedad leucémica. Aunque la mayoría de ellos goza de buena salud y no presenta secuelas aparentes, otros padecen alteraciones causadas por toxicidad tardía de los tratamientos recibidos. De los efectos tóxicos tardíos, los más preocupantes son los que afectan al SNC y las segundas neoplasias. Entre los primeros existen casos de encefalopatías con grave afectación de las capacidades intelectuales y alteraciones psicomotrices; otros, más frecuentes, sólo se traducen en discapacidades más moderadas para el aprendizaje. Aunque, en buena parte se han atribuido a la irradiación craneal, no debe olvidarse la potencial toxicidad de las quimioterapias intratecales. La población más joven (menores de 5 años) es más vulnerable a los tratamientos combinados sobre el SNC (39,40).

La aparición de segundas neoplasias, entre los 2 y los 20 años del diagnóstico de la leucemia, ha sido objeto de varios estudios (41,42). Se calcula que el riesgo de desarrollar segundas neoplasias puede afectar al 5-10%

de los pacientes curados de la leucemia. Es de destacar, especialmente, entre las segundas neoplasias, los tumores de SNC, LAM, carcinomas de parótida y de tiroides y osteosarcomas. De todos ellos, los de mejor pronóstico parecen ser los carcinomas, siempre que se practique de manera precoz un tratamiento quirúrgico correcto.

*RESULTADOS OBTENIDOS CON LOS TRATAMIENTOS ACTUALES EN LAS LEUCEMIAS AGUDAS DEL NIÑO Y FUTURAS DIRECCIONES DEL TRATAMIENTO*

Actualmente, 80% de los niños diagnosticados de LAL puede curar de su enfermedad con tratamientos adaptados a cada situación. Aunque la mayoría de curaciones de la enfermedad representa también curaciones completas de los enfermos, no debe olvidarse que algunos sufren secuelas y que presentan un mayor riesgo de nuevas neoplasias.

Es importante que los niños sean estudiados, tratados y controlados en unidades pediátricas hemato-oncológicas que dispongan de profesionales médicos y de enfermería adiestrados en las diversas modalidades de tratamiento.

Los resultados mencionados se consiguen en centros que apliquen las modalidades de tratamiento más eficaces y con los medios adecuados. La situación es muy distinta cuando no se dan estas circunstancias.

Las futuras direcciones van en el sentido de:

1. Detectar mejor la enfermedad residual mínima y en función de ello adaptar la intensidad y duración del tratamiento.

2. Disminuir la toxicidad de los tratamientos.

Entre los actuales temas de estudio figuran los siguientes:

—La influencia de los estudios de enfermedad mínima residual aplicada a cambios de estrategia en el tratamiento.

—La adaptación de los llamados factores de riesgo a los resultados obtenidos con los nuevos protocolos.

—El empleo o no de fármacos potencialmente oncogénicos como la ciclofosfamida y los derivados de epipodofilotoxina o de mayor toxicidad a largo plazo como los antraciclínicos.

—El papel del TMO autólogo y el TMO de donantes no emparentados incluyendo los procedentes de sangre de cordón umbilical y de donantes familiares no histocompatibles.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Linnet MS. The leukemias: epidemiological aspects. En: Lilienfeld AM ed. Monographs Epidemiology and Biostatistics. Oxford: Oxford University Press, 1985; 1-239.
- Fong CT, Brodeur GM. Down's syndrome and leukemia: epidemiology, genetic, cytogenetics and mechanism of leukomogenesis. *Cancer Genet Cytogen* 1987; 28: 55-76.
- Pui Ch, Relling MC, Rivera G, et al. Epipodophyllotoxin related acute myeloid leukemia: a study of 35 cases. *Leukemia* 1985; 9: 1990-6.
- Bennett JM, Catobvsky D, Daniel MT, et al. The morphological classification of acute lymphoblastic leukemia: concordance among observers and clinical correlations. *Br J Haematol* 1981; 47: 523-61.
- Miller DR, Leikin S, Albo V, et al. Prognostic importance of morphology (FAB classification) in Childhood Acute leukaemia: a report from the Children's Cancer Study Group. *Cancer Treat Rep* 1985; 85: 1211-21.
- Catovsky D, Matutes E. The classification of acute leukaemia. *Leukemia* 1992; suppl 2: 1-6.
- Ludwig WD, Bartram CR, Ritter J, et al. Ambiguous phenotypes and genotypes in 16 children with acute leukemia as characterized by multiparameter analysis. *Blood* 1988; 71: 1518-38.
- Pui Ch, Behm FG, Sing B, et al. Myeloid associated expression lacks prognostic value in childhood acute lymphoblastic leukemia treated with intensive chemotherapy. *Blood* 1990; 75: 198-202.
- Wiersma SR, Ortega J, Sobel E, Weinberg K. Clinical importance of myeloid-antigen expression in acute lymphoblastic leukemia in childhood. *N Engl J Med* 1991; 324: 800-8.
- Pui ChH, Crist WM, Look AT. Biology and clinical significance of cytogenetic abnormalities in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood* 1990; 76: 1449-63.
- Pui Ch. Recent advances in the biology and treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Current Opinion in Hematology* 1998; 5: 292-301.
- Hammond D, Sather H, Nesbit M, et al. Analysis of prognostic factors in acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol* 1986; 14: 124-34.
- Crist W, Shuster J, Look T, et al. Current results of studies of immunophenotype-, age- and leukocyte-based therapy for children with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1992; 6 suppl 2: 162-5.
- Kersey Jh. Fifty years of studies of the Biology and Therapy of Childhood Leukemia. *Blood* 1997; 90: 4243-51.
- Hammond GD, Sather H, Bleyer WA, Coccia P. Stratification by prognostic factors in the design and analysis of clinical trials for Acute Lymphoblastic Leukemia. *Haematology and Blood Transfusion* 1987; 30: 161-6.
- Gaynon PS, Steinherz PG, Bleyer W, et al. Improved therapy for children with acute lymphoblastic leukemia and unfavourable presenting features: a follow-up report of the Children's Cancer Group Study CCG-106. *J Clin Oncol* 1993; 11: 2234-42.
- Ortega JJ. Factores pronósticos en las leucemias agudas del niño. *Sangre (Barc)* 1991; 36 suppl 3: 97-107.
- Reiter A, Schrappe M, Ludwig WD, et al. Favorable outcome of B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia in Childhood: A report of three consecutive studies of the BFM group. *Blood* 1992; 80: 2471-8.
- Coustan-Smith E, Sancho J, Hancock ML, et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2000; 96: 2691-2.
- Smith M, Arthur D, Camitta B, et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1996; 14: 18-21.
- Schrappe M, Reiter A, Zimmermann M, et al. Long-term results of four consecutive trials in childhood ALL performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 1995. *Leukemia* 2000; 14: 2205-22.
- Clavell LA, Gelber RD, Cohen HJ, et al. Four-agent induction and intensive asparaginase therapy for treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1986; 315: 657-63.
- Camitta B, Leventhal S, Lauer S, et al. Intermediate-dose intravenous methotrexate and mercaptopurine therapy for non-T non-B Acute Lymphocytic Leukemia of Childhood: a Pediatric Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1539-44.

24. Ortega JJ, Javier G, Olivé T. Treatment of standard and high-risk childhood acute lymphoblastic leukaemia with two CNS prophylaxis regimens. En: Büchner T, Schellong G, Hiddeman W, Urbanitz D, Ritter J eds. *Acute Leukemias. Prognostic factors and treatment strategies*. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag, 1987; 483-92.
25. Pullen J, Boyett J, Shuster J, et al. Extended triple intrathecal chemotherapy trial for prevention of CNS relapse in good-risk and poor-risk patients with B-progenitor acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 1993; 11: 839-49.
26. Pui Ch-H, Mahmoud HH, Rivera GK, et al. Early intensification of intrathecal chemotherapy virtually eliminates central nervous system relapse in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1998; 92: 411-5.
27. Henze G. Chemotherapy for relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Ped Hemat/Oncol* 1998; 5: 199-213.
28. Lawson SE, Harrison G, Richards S, et al. The UK experience in treating relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia: a report on the Medical Research Council UKALLR1 Study. *Br J Haemat* 2000; 108: 531-43.
29. Schroeder H, Garnicz S, Kristinsson J, et al. Outcome after first relapse in children with acute lymphoblastic leukemia: a population based study of 315 patients from the Nordic Society of Pediatric Hematological Oncology (NOPHO). *Med Ped Oncol* 1995; 25: 372-8.
30. Ortega JJ, Javier G, Torán N. Testicular infiltrates in children with acute lymphoblastic leukemia: a prospective study. *Med Pediat Oncol* 1984; 12: 383-96.
31. Biondi A, Cimino G, Pieters R, Pui ChH. Biological and therapeutic aspects of infant leukemia. *Blood* 2000; 96: 24-33.
32. Reaman GH, Spoto R, Sensel MG, et al. Treatment outcome and prognostic factors for infants with acute lymphoblastic leukemia treated on two consecutive trials of the Children's Cancer Group. *J Clin Oncol* 1999; 17: 445-55.
33. Dördelmann M, Reiter A, Borkhardt A, et al. Prednisone response in the strongest predictor of treatment outcome in infant acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1999; 94: 1209-17.
34. Marco F, Bureo E, Ortega JJ, et al. High survival rate in infant acute leukemia treated with early high-dose chemotherapy and stem-cell support. *J Clin Oncol* 2000; 18: 3256-61.
35. Reiter A, Schrappe M, Tiemann M, et al. Improved treatment results in childhood B-cell neoplasms with tailored intensification of therapy: a report of the Berlin-Frankfurt-Münster Group Trial NHL-BFM 90. *Blood* 1999; 94: 3294-306.
36. Pathé C. B-Acute Lymphoblastic Leukemia. The European experience. *Int J Ped Hematol/Oncol* 1998; 5: 81-8.
37. Barrett AJ, Horowitz MM, Pollok KB, et al. Bone marrow transplants from HLA-identical siblings as compared with chemotherapy for children with acute lymphoblastic leukemia in second remission. *N Eng J Med* 1994; 331: 1253-8.
38. Ortega JJ, Olivé T. Haematopoietic progenitor cell transplants in acute leukaemias in children. Indications, results and controversies. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21 (suppl 2): 11-6.
39. Ochs J. Neurotoxicity due to central nervous system therapy for childhood leukemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1989; 11: 93-105.
40. Bleyer WA, Fallavollita J, Robinson L, et al. Influence of age, sex and concurrent intrathecal methotrexate therapy on intellectual function after cranial irradiation during childhood: a report from the Children's Cancer Study Group. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1990; 7: 329-38.
41. Neglia JP, Meadow AT, Robinson L, et al. Second neoplasias after acute lymphoblastic leukemia in childhood. *N Eng J Med* 1991; 325: 1330-6.
42. Pui ChH, Ribeiro RC, Hancock ML, et al. Acute myeloid leukemias in children treated with epipodophyllotoxins for acute lymphoblastic leukemia. *N Eng J Med* 1991; 325: 1682-7.

# Tratamiento de la leucemia aguda mieloide

J. DÍAZ MEDIAVILLA, A. M. ÁLVAREZ CARMONA

*Servicio de Hematología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid*

## INTRODUCCIÓN

La leucemia aguda mieloide (LAM) es una proliferación de precursores mieloides incapaces de madurar, reconocibles morfológicamente (blastos), que se acumulan en la médula ósea (MO) y evitan que la hemato-poyesis normal ocurra adecuadamente. Ello produce trastornos de la producción de hematíes (síntomas de anemia), de plaquetas (hemorragias) y de leucocitos funcionantes (infecciones). Además las células leucémicas salen de la MO y circulan por la sangre periférica (SP) provocando leucocitosis moderadas o intensas. Raramente los blastos se acumulan en cantidades importantes en diferentes órganos, produciendo verdaderos tumores que tradicionalmente se denominan cloromas. Los blastos circulantes pueden provocar liberación de sustancias que causan alteraciones metabólicas o coagulación intravascular diseminada. Si la cifra de blastos es muy elevada, se pueden producir trastornos de la circulación capilar con manifestaciones relacionadas con afectación preferente en pulmón y sistema nervioso central. Desde que comienzan, las manifestaciones de la LAM, son rápidamente progresivas y si no se controlan con el tratamiento, producen la muerte en un plazo de pocos días o semanas.

Por la morfología, histoquímica e inmunocitometría, las LAM se clasifican en ocho subgrupos que se conocen como M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6 Y M7, según los criterios establecidos por la FAB (1). Esta clasificación ha sido útil para homogenizar terminología y para identificar algunos tipos con peculiaridades clínicas y evolutivas. La M3 (promielocítica) cursa con coagulación intravascular diseminada y requiere un tratamiento específico, la M4 y M5 tienen mayor tendencia a infiltrar órganos y producir organomegalias y la M7 suele cursar con fibrosis de la MO. Sin embargo, la mayoría de los pacientes, según esta clasificación entran en grupos

carentes de personalidad clínica o predicen mal la respuesta al tratamiento. Más importante es una clasificación muy reciente auspiciada por la Organización Mundial de la Salud (2), que incorpora la citogenética a la clasificación y distingue cuatro subgrupos con relevancia de presentación clínica, de evolución y de respuesta al tratamiento (Tabla I). Las asociadas a t(8;21), Inv(16) y t(16;16), afectan predominantemente a jóvenes, responden bien a tratamiento y evolucionan más favorablemente. La promielocítica con t(15;17) cursa con CID y tiene un tratamiento específico. Las asociadas a displasia multilineal afectan a pacientes de edad más avanzada y tienen citogenética desfavorable, como -7/del(7q), y -5/del(5q), una mayor frecuencia de resistencia a fármacos (MDR-1) y mala respuesta a tratamiento. El grupo de pacientes con LAM secundaria a tratamiento quimioterápico es muy semejante en todo al grupo anterior. El último grupo constituye una mezcla que conserva la terminología de la FAB. Son subtipos en los que todavía no se han identificado marcadores que permitan agruparlas con arreglo a criterios clínicos y evolutivos específicos.

El tratamiento de LAM tiene dos aspectos bien diferenciados, el específico antileucémico y las medidas de soporte encaminadas a controlar las complicaciones derivadas de la propia leucemia y de la quimioterapia administrada. De estas últimas no nos vamos a ocupar en este capítulo (4). Las medidas antileucémicas consisten básicamente en la aplicación de combinaciones quimioterápicas (QT), a las que se van incorporando otros fármacos, como retinoides, anticuerpos monoclonales y otros compuestos.

Desde el punto de vista terapéutico existen tres grupos de pacientes bien diferenciados: a) los niños y adultos jóvenes; b) los ancianos y c) la leucemia aguda promielocítica, que tiene un tratamiento específico.

En todos los casos el tratamiento se aplica en dos o tres fases. La primera se conoce como "Inducción a la

TABLA I  
CLASIFICACIÓN DE LA LAM. ORGANIZACIÓN MUNDIAL  
DE LA SALUD (2)

1. <i>LAM con anomalías citogenéticas recurrentes</i>
AML1/ETO con t(8;21)
Con eosinófilos anormales en MO con Inv(16) o t(16;16)
Promielocítica con t(15;17)
LAM con anomalías 11q23 (MLL)
2. <i>LAM con displasia multilineal</i>
Secundaria a SMD o SMPC
Sin antecedente de hemopatía previa
3. <i>LAM secundaria a otros tratamientos (quimioterapia)</i>
Relacionada con agentes alquilantes
Relacionada con inhibidores de topoisomerasa tipo II
Otras
4. <i>LAM que no entran en los grupos citados (3)</i>
Resto de variantes clasificadas según FAB
Sarcoma granulocítico

remisión”, se aplica inmediatamente después del diagnóstico, cuando existe “cantidad de leucemia”, dura unas pocas semanas y tiene por objeto eliminar más del 90% del volumen de la neoplasia y restaurar la hematopoyesis normal a expensas de las células residuales no leucémicas. Tras esa fase se aplica la “intensificación”, cuyo objetivo es eliminar la población residual que provocaría la recaída de la leucemia a corto o medio plazo y tiene una duración de 2-6 meses. Por último, en ocasiones se aplica una fase prolongada de “mantenimiento” que tiene por objeto evitar la recaída a largo plazo y cuyo fundamento podría ser evitar la aparición de nuevas clonas leucémicas o mantenerlas controladas mientras el sistema inmune del huésped es capaz de eliminar los últimos vestigios de enfermedad. Su aplicación se mantiene durante uno o dos años.

#### CONCEPTOS DE REMISIÓN, ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL Y CURACIÓN

El estudio morfológico de la sangre periférica y MO, tras el tratamiento de inducción, permite establecer el concepto clásico de “remisión completa morfológica” (RC) que consiste en la desaparición de blastos de SP, reducción de éstos a menos de 5% en MO y recuperación de las cifras de sangre periférica, con más de 1500 neutrófilos por microlitro, más de 100.000 plaquetas por microlitro y más de 10 g/dL de Hb. Sin RC no hay ninguna posibilidad de curación de la enfermedad. Este concepto es de fácil aplicación en todos los laboratorios

de hematología y está muy arraigado en la práctica, siendo la base de las decisiones terapéuticas en el momento actual. Sin embargo es incapaz de detectar cantidades de enfermedad menores de 5 blastos por cada 100 células de MO, lo cual puede representar una masa tumoral o enfermedad mínima residual (EMR) de hasta 100 millones de blastos.

En los últimos años se han desarrollado sistemas para evaluar con más precisión la cantidad de EMR y se ha comprobado que cuanto menor es ésta, las posibilidades de curación aumentan considerablemente. Dos líneas de investigación atraen la máxima atención, la detección de alteraciones citogenéticas y moleculares por un lado y la identificación de patrones inmunofenotípicos específicos de cada población leucémica. Para ambos existen técnicas muy sensibles, como la PCR y la citometría, que permiten detectar cantidades muy pequeñas de células tumorales entre muchas normales. Desafortunadamente ninguno de los dos procedimientos es de aplicación universal, ya que desconocemos la lesión genético-molecular de muchas leucemias y algunas carecen de aberraciones antigénicas que permitan su detección por inmunofenotipaje. Un estudio, sobre valor de citogenética, de Bloomfield (5) identifica claramente tres grupos pronósticos, uno favorable, con t(8;21), Inv (16), t(16;16) y del(16), otro intermedio, con cariotipo normal y otro de mal pronóstico, con cualquier otra alteración citogenética, en los que la supervivencia libre de enfermedad a 5 años es 50, 32 y 15% respectivamente. Posiblemente la medición de la cantidad de EMR por métodos moleculares, más sensibles que la citogenética convencional, permitirá perfeccionar el valor pronóstico de este dato. San Miguel (6) ha establecido recientemente el valor pronóstico de la cuantificación de EMR por Inmunofenotipo en MO en el momento en que se documenta la RC, demostrando que la posibilidad de recaer a los tres años es de 0% en los pacientes con menos de 0,01 células leucémicas por cada 100 células normales, de 14% si menos de 0,1, de 45% si se detecta entre 0,1 y 1 y de 85% si se detectan más de 1.

No se sabe qué grado de reducción de la población tumoral es necesario para lograr la curación. Es posible que cada tipo de leucemia requiera una erradicación diferente y que en cada paciente exista un umbral máximo de capacidad de su sistema inmune para eliminar los últimos vestigios de EMR. La curación al final habrá de establecerse en términos clínicos independientemente de la persistencia de “alguna” célula tumoral, ya que se conocen casos de persistencia de pequeña población detectable por métodos moleculares en los que pasan los años sin que se produzca la esperada recaída de la enfermedad.

#### FACTORES PRONÓSTICOS

Con los datos disponibles en el momento del diagnóstico y tras la respuesta al tratamiento inicial se puede predecir con bastante aproximación las posibilidades de curación de cada paciente. Son bien conocidos una serie de factores pronósticos, si bien se desconoce hasta qué

punto son independientes entre sí (Tabla II). De todos ellos, probablemente la edad, la citogenética y la respuesta inicial al tratamiento, sean los más valorables.

TABLA II

## FACTORES PRONÓSTICOS EN LAM

<i>Favorables</i>	<i>Desfavorables</i>
Leucemia de novo	Leucemia secundaria
Edad <50 años	Edad >60 años
Leucopenia	Hiperleucocitosis
Subtipos FAB M3 y M4Eo	Subtipos M0, M5, M6, M7
T(8;21), t(15;17), Inv(16), t(16;16)	Otras anomalías citogenéticas
Cariotipo normal	RC con 2 o más ciclos QT
RC con 1 ciclo de QT	Alta expresión de MDR

## LAM EN NIÑOS Y ADULTOS NO ANCIANOS

## INDUCCIÓN A LA REMISIÓN

Tras muchos años de experiencia clínica se ha ido imponiendo una combinación de antraciclina y arabinósido de citosina (AraC). Las antraciclina más empleadas son la Idarrubicina y la Daunorrubicina, administradas en bolo los tres primeros días de tratamiento. Entre ellas se han realizado estudios comparativos que parece se decantan favorablemente sobre la primera, porque produce más RC, de forma más rápida y probablemente más duraderas (7-10). El AraC es un fármaco obligado, empleándose dosis variables entre 100 y 200 mg por metro cuadrado y administrado en infusión continua durante 7 días. La adición de otros fármacos o de dosis mayores de éstos incrementa la toxicidad sin aumentar significativamente el número de RC.

Con esta inducción se obtiene 75% RC en pacientes con buen pronóstico y 50% o menos en los que acumulan factores de mal pronóstico. La mortalidad en inducción es del 10-20% de casos y la resistencia de la enfermedad es de menos del 10%. De cada 3 RC, dos se obtienen con el primer ciclo y una requiere más de un ciclo de quimioterapia.

Tras obtenerse la RC es costumbre administrar un ciclo adicional de QT de consolidación con los mismos fármacos y dosis empleados al comienzo. Algunos autores prefieren administrar dosis algo menores en esta fase.

## INTENSIFICACIÓN

Tras la RC el paciente suele estar en muy buena situación clínica, pero en su organismo persiste la pre-

sencia de EMR difícil de erradicar y capaz de producir la recaída de la enfermedad. La eliminación de la EMR requiere QT más intensiva que la empleada en la inducción.

Existen dos modalidades de intensificación, la QT intensiva a dosis no mieloablativa, en la que la MO es capaz de recuperarse merced a la reserva propia de células hematopoyética primitivas (CHP) propias, y la mieloablativa en que la aplasia post QT es de tal magnitud, que es absolutamente necesaria la infusión de CHP.

La QT no mieloablativa se hace con AraC a intermedia o alta dosis, entre 0,5 y 3 g por m<sup>2</sup> por 3 o 4 días. Se administra en forma de uno a tres ciclos y logra que el 30-50% de los pacientes no vuelvan a recaer de la leucemia.

La QT mieloablativa se hace con lo que se denomina QT de acondicionamiento que suele consistir en la administración de alta dosis de Ciclofosfamida asociada, bien a Busulfán, o bien a radioterapia corporal total. Tras el acondicionamiento se infunden las CHP y pasados unos 10-15 días se produce la recuperación de la hematopoyesis. Si las CHP infundidas son autólogas, la recuperación es más precoz y sin complicaciones de enfermedad injerto contra huésped (EICH). Si proceden de un donante HLA compatible, a pesar de la identidad, existe el riesgo de EICH pero el beneficio de que esta reacción tiene actividad antileucémica prolongada que evita en mayor medida la recaída de la leucemia. El riesgo de recaída tras el trasplante es de 50% en autólogos y 30% en alogénicos, pero la mortalidad a medio plazo es mayor en los últimos.

En el momento actual se desconoce qué tipo de intensificación es más aconsejable, a pesar de que se han realizado importantes estudios randomizados con intención de aclarar esta cuestión (11-15) (Tabla III). En general

TABLA III

## ESTUDIOS COMPARATIVOS ENTRE QT, AUTOTRASPLANTE Y ALO TRASPLANTE EN LAM EN 1ª RC

<i>Estudio (Ref.)</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>N ptes</i>	<i>% Superv</i>
GOELAM (11)	QT	78	54
	AUTO	86	50 (4 años)
	ALO	73	33
BGMT (12)	QT	38	55
	AUTO	39	56 (3 años)
	ALO	36	65
MRC (13)	QT	177	46
	AUTO	178	56 (5 años)
	ALO	299	59
EORTC/GIMENA (14)	QT	126	46
	AUTO	128	56 (4 años)
	ALO	168	59
ECOG (15)	QT	118	54
	AUTO	111	47 (3 años)
	ALO	120	46

existen dos tendencias de opinión, los que se inclinan por el trasplante alogénico si edad y existencia de donante lo permiten, tras obtener la 1ª RC y los que opinan que es preferible reservar el trasplante alogénico para aquellos pacientes que recaen tras haber recibido intensificación no mieloablative o trasplante autólogo. Respecto a si es preferible el trasplante autólogo con CHP de MO o la QT no mieloablative, los resultados también son muy equilibrados, pero como el autotrasplante que se hace actualmente es con CHP de SP y éste es menos tóxico, parece razonable decantarse por esta modalidad.

#### MANTENIMIENTO

Se ha empleado durante muchos años, con diversas pautas de QT o inmunoterapia. En el momento actual está en desuso, salvo en la M3, que se comentará más adelante.

#### LAM EN ANCIANOS

Los pacientes con edad avanzada se caracterizan por tener mayor intolerancia a la toxicidad de la QT, con mayor morbilidad y mortalidad y porque en ellos se acumulan factores pronósticos desfavorables de esta enfermedad, como citogenética, antecedente de mielodisplasia o QT previas, etc. Además los pacientes con más de 60 años, suponen más de la mitad de los casos de LAM que se ven en la clínica, lo que da idea de la magnitud del problema.

Se han intentado tratamientos menos agresivos usando AraC a baja dosis (5-20 mg/m<sup>2</sup>/día por 7-21 días) con cierto éxito inicial que no ha sido confirmado ulteriormente. Se invocaba un efecto inductor de maduración del fármaco sobre las células leucémicas del anciano (16), a través del cual se lograba la remisión de la enfermedad. La realidad es que para obtener RC en los ancianos es necesario aplicar QT agresiva como en los jóvenes.

Por eso los pacientes con enfermedades asociadas no controlables deben recibir únicamente tratamiento paliativo. En los demás, si la leucemia es rápidamente progresiva, cosa que no ocurre siempre, cabe intentar inducción a la remisión por métodos convencionales, ya que la alternativa es asistir sin esperanza a la progresión de la enfermedad.

Si se obtiene la RC y el paciente no presenta complicaciones que lo impidan, debe hacerse algún tratamiento de intensificación bien con AraC a intermedia dosis o con autotrasplante. En todo caso las posibilidades de curación de estos pacientes no llegan al 10% si se consideran sólo a los mayores de 65-70 años (17). Por eso es muy conveniente que estos pacientes sean tratados en el seno de estudios clínicos que permitan obtener información que pueda ser útil para adquirir más conocimiento.

#### LEUCEMIA AGUDA PROMIELOCÍTICA (LAP)

La LAP es una leucemia aguda muy especial por su morfología, presentación clínica (edad, cuadro hemorrá-

gico, leucopenia frecuente, etc.) y respuesta al tratamiento. Desde hace más de 20 años se conoce su especial sensibilidad a antraciclinas (18,19), con las que se obtenía 70-80% RC sin necesidad de otros fármacos. En 1988 Huang en Shangai aportó los primeros datos del uso de Ácido Trans Retinoico (ATRA) en esta enfermedad con 90% de RC sin quimioterapia (20). Se trataba de remisiones transitorias. Posteriormente se ha combinado ATRA con diversas formas de QT. El grupo italiano con su protocolo AIDA en el que Idarrubicina se asocia a ATRA, logra producir más de 90% de RC morfológicas con muy escasa toxicidad.

El uso de consolidación con tres ciclos de antraciclina consigue la remisión molecular en el 93 y 79% de supervivencia libre de eventos a los dos años (21). Un estudio de factores pronósticos realizado por Sanz con datos procedentes de las series italiana (GIMEMA) y española (PETHEMA) (22) ha identificado que la leucocitosis y la trombopenia son desfavorables para la curación de la enfermedad.

La administración de tratamiento de mantenimiento durante dos años parece que evita la recaída de algunos pacientes.

El progreso y la especificidad de tratamiento de este tipo de leucemia aguda, en la que estamos próximos a lograr la curación de más del 90% de los pacientes, constituye el modelo que se persigue para los otros subtipos, con las nuevas formas de tratamiento que están empezando a emplearse en la clínica.

#### NUEVAS FORMAS DE TRATAMIENTO DE LAM

El trasplante alogénico con acondicionamiento no mieloablative ("minialotrasplante") parece que va a reducir la toxicidad y por lo tanto va a ver incrementado el número de indicaciones.

Por otro lado, nuevas sustancias ofrecen perspectivas esperanzadoras (Tabla IV). Casi todos ellos tienen toxicidad moderada, diferente mecanismo de acción a los quimioterápicos habituales y por lo tanto amplias posibilidades de ser combinados entre sí y con los fármacos tradicionales.

TABLA IV

#### NUEVOS COMPUESTOS PARA EL TRATAMIENTO DE LAM

Anticuerpo Anti CD33 (Gentuzumab)

Ciclosporina

Talidomida

Decitabina

Trióxido de Arsénico

STI 571

Topotecan

Fludarabina

Inhibidores de Farnesil Transferasa



## BIBLIOGRAFÍA

1. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985; 103: 620-5.
2. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JV (Eds.). *World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. IARC Press: Lyon 2001.
3. Cheson BD, Cassileth PA, Head DR, Schiffer CA, Bennett JM, Bloomfield CD, et al. Report of the National Cancer Institute-sponsored workshop on definitions of diagnosis and response in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 1990; 8: 813-9.
4. Díaz Mediavilla J. Cuidados básicos en el paciente inmunocomprometido. *Revisión en Cáncer* 1991; 5: 66-77.
5. Bloomfield CD, Lawrence D, Byrd JC, Carroll A, Pettenati MJ, Tantravahi R, et al. Frequency of prolonged remission duration after high-dose cytarabine intensification in acute myeloid leukemia varies by cytogenetic subtype. *Cancer Res* 1998; 58: 4173-9.
6. San Miguel JF, Vidriales MB, López-Berges C, Díaz-Mediavilla J, Gutierrez N, Canizo C, et al. Early immunophenotypical evaluation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia identifies different patient risk groups and may contribute to postinduction treatment stratification. *Blood* 2001; 15 (98): 1746-51.
7. Berman E, Heller G, Santorsa J, McKenzie S, Gee T, Kempin S, et al. Results of a randomized trial comparing idarubicin and cytosine arabinoside with daunorubicin and cytosine arabinoside in adult patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia. *Blood* 1991; 77: 1666-74.
8. Wiernik PH, Banks PL, Case DC Jr, Arlin ZA, Periman PO, Todd MB, et al. Cytarabine plus idarubicin or daunorubicin as induction and consolidation therapy for previously untreated adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 1992; 79: 313-9.
9. Reiffers J, Huguet F, Stoppa AM, Molina L, Marit G, Attal M, et al. A prospective randomized trial of idarubicin vs daunorubicin in combination chemotherapy for acute myelogenous leukemia of the age group 55 to 75. *Leukemia* 1996; 10: 389-95.
10. Vogler WR, Velez-Garcia E, Weiner RS, Flaum MA, Bartolucci AA, Omura GA. A phase III trial comparing idarubicin and daunorubicin in combination with cytarabine in acute myelogenous leukemia: a Southeastern Cancer Study Group Study. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1103-11.
11. Harousseau JL, Cahn JY, Pignon B, Witz F, Milpied N, Delain M, et al. Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as postremission therapy in adult acute myeloid leukemia. The Groupe Ouest Est Leucemies Aigues Myeloblastiques (GOELAM). *Blood* 1997; 90: 2978-86.
12. Reiffers J, Stoppa AM, Attal M, Michallet M, Marit G, Blaise D, et al. Allogeneic vs autologous stem cell transplantation vs chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia in first remission: the BGMT 87 study. *Leukemia* 1996; 10: 1874-82.
13. Burnett AK, Kell J, Rowntree C. Role of allogeneic and autologous hematopoietic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia. *Int J Hematol* 2000; 72: 280-4.
14. Zittoun RA, Mandelli F, Willemze R, de Witte T, Labar B, Resegotti L, et al. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) and the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) Leukemia Cooperative Groups. *N Engl J Med* 1995; 26-332: 217-23.
15. Cassileth PA, Harrington DP, Appelbaum FR, Lazarus HM, Rowe JM, Paietta E, et al. Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission. *N Engl J Med* 1998; 339: 1649-56.
16. Tilly H, Castaigne S, Bordessoule D, Casassus P, Le Prise PY, Tertian G, et al. Low-dose cytarabine versus intensive chemotherapy in the treatment of acute nonlymphocytic leukemia in the elderly. *J Clin Oncol* 1990; 8: 272-9.
17. Buchner T, Hiddemann W, Schoch C, Haferlach T, Sauerland MC, Heinecke A. Acute myeloid leukaemia (AML): treatment of the older patient. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001 Mar; 14: 139-51.
18. Bernard J, Weil M, Boiron M, Jacquillat C, Flandrin G, Gemon MF. Acute promyelocytic leukemia: results of treatment by daunorubicin. *Blood* 1973; 41: 489-96.
19. Sanz MA, Jarque I, Martin G, Lorenzo I, Martinez J, Rafecas J, et al. Acute promyelocytic leukemia. Therapy results and prognostic factors. *Cancer* 1988 Jan 1; 61: 7-13.
20. Huang ME, Ye YC, Chen SR, Chai JR, Lu JX, Zhou L, et al. Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1988; 72: 567-72.
21. Sanz MA, Martin G, Rayon C, Esteve J, Gonzalez M, Diaz-Mediavilla J, et al. A modified AIDA protocol with anthracycline-based consolidation results in high antileukemic efficacy and reduced toxicity in newly diagnosed PML/RARalpha-positive acute promyelocytic leukemia. PETHEMA group. *Blood* 1999; 94: 3015-21.
22. Sanz MA, Lo Coco F, Martin G, Avvisati G, Rayon C, Barbui T, et al. Definition of relapse risk and role of nonanthracycline drugs for consolidation in patients with acute promyelocytic leukemia: a joint study of the PETHEMA and GIMEMA cooperative groups. *Blood* 2000 Aug 15; 96 (4): 1247-53.

# Trasplante de progenitores hematopoyéticos en la leucemia mieloblástica aguda

A. ALEGRE, A. FIGUERA, J. M. FERNÁNDEZ-RAÑADA

*Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid*

## INTRODUCCIÓN

La leucemia aguda mieloblástica (LMA), también llamada no linfoblástica, es una neoplasia hematológica muy heterogénea originada por la transformación clonal de una célula de estirpe mieloide que prolifera y madura de forma anómala, conllevando el acúmulo medular y sanguíneo de precursores mieloides inmaduros (1-4).

Las manifestaciones de la enfermedad están causadas tanto por la proliferación neoplásica como por el fracaso de la hematopoyesis normal, que se ve desplazada e inhibida por dicha proliferación. Sin un tratamiento adecuado, la enfermedad es mortal en el plazo de unas semanas. En las últimas dos décadas se han producido grandes avances en su tratamiento, basados fundamentalmente en el empleo de quimioterapia combinada intensiva y en el trasplante de médula ósea, también denominado trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH). Ambas estrategias persiguen evitar las recaídas que suelen ser habituales tras los tratamientos de inducción. Con estos avances se puede establecer que en la actualidad unas expectativas de curación cercanas al 50% en casos seleccionados (1-10). Recientemente, diversos trabajos, incluyendo estudios randomizados, han contribuido a definir la mejor terapia disponible para subgrupos específicos de pacientes con LMA y analizar el papel del TPH en esta patología. En este sentido es relevante conocer los principales factores pronósticos de los pacientes con LMA que quedan reflejados en la tabla I.

## CONCEPTOS GENERALES SOBRE EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA

El tratamiento de la LAM comprende dos fases netamente diferenciadas, tanto conceptualmente como a efectos prácticos (2-4):

- Fase de Obtención de la Remisión Completa (RC).
- Fase de Tratamiento Postremisión.

Se considera que al diagnóstico, o en lo que se puede denominar fase visible, una leucemia implica una carga tumoral en el organismo de, aproximadamente, un billón de células. El tratamiento citorreductor inicial tiene como objetivo la desaparición de al menos 3 logaritmos de dicho número de células, entrándose entonces en la fase invisible de la enfermedad, o en lo que Ellison (1) definió, en 1968, como “remisión completa” (RC), definida como médula ósea no hipocelular sin exceso de blastos (<5% de blastos) al menos durante un mes. La utilidad clínica de esta definición se ha mantenido a lo largo de los años, ya que marca una inflexión crucial en la evolución, tratamiento y pronóstico de una leucemia aguda. A pesar de estos conceptos, cada vez conocemos con mayor profundidad la gran heterogeneidad de la enfermedad invisible residual, en esta fase del tratamiento. Se sabe, sin embargo, que en la mayoría de los casos se produciría un recrecimiento hasta fase visible, por lo que el tratamiento postremisión es esencial para lograr la erradicación de la leucemia y por tanto la curación (3-7).

Clásicamente se consideran tres términos descriptivos de las fases del tratamiento: inducción, consolidación e intensificación.

### 1. Tratamiento de inducción:

Por tratamiento de inducción se conoce a la quimioterapia que se administra al diagnóstico de la enfermedad para conseguir la remisión completa (RC).

### 2. Tratamiento postremisión:

El tratamiento postremisión es aquel que se administra una vez lograda la RC para evitar la recaída de la enfermedad. Este tratamiento puede clasificarse a su vez en dos etapas:

—*Consolidación*: la consolidación consiste en la repetición de la misma quimioterapia que en la induc-

TABLA I  
FACTORES PRONÓSTICOS DE LA LEUCEMIA AGUDA  
MIELOBLÁSTICA

<i>Factores Desfavorables (LAM de alto riesgo)</i>
Edad >60 años
LAM secundaria
Hiperleucocitosis (>100.000 leucocitos/mm <sup>3</sup> ) (para otros autores > 20.000/mm <sup>3</sup> )
Subtipo de la clasificación FAB: M0, M5, M6, M7
Presencia de coagulación intravascular diseminada
Anomalías Citogenéticas: del 5,7,8 o t (9;22)
Ausencia de bastones de Auer
Médula Osea con fibrosis
Citorreducción lenta con el tratamiento
Más de un curso de quimioterapia requerido para obtener la remisión completa.
<i>Favorables (LAM de bajo riesgo o intermedio)</i>
Edad < 60 años
LAM de novo
Leucocitos < 20.000/mm <sup>3</sup>
Subtipo de la clasificación FAB M2 o M4 Eo
Ausencia de coagulación intravascular diseminada
Citogenética: t(15;17), inv 16, cariotipo normal
Presencia de bastones de Auer
Citorreducción rápida con la quimioterapia
Un solo curso de quimioterapia para alcanzar la remisión completa

ción e inmediatamente a continuación de ésta, una vez obtenida la RC.

—*Intensificación*: la intensificación consiste en la Quimioterapia con drogas distintas y generalmente a altas dosis y muy mielosupresora, con la idea de eliminar el resto de enfermedad mínima residual que pueda quedar tras la inducción y/o consolidación. Puede ser precoz, cuando se administra en los primeros 6 meses del diagnóstico, por tanto, a continuación de la consolidación, o tardía, cuando se administra después de esos primeros 6 meses, tras un periodo de mantenimiento. La intensificación puede consistir en Quimioterapia aislada sin Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos o en Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos que puede ser de un donante HLA compatible (Trasplante Alogénico) o con células hematopoyéticas del propio paciente (Trasplante Autólogo).

Por *mantenimiento* se entiende una quimioterapia a bajas dosis, generalmente poco mielosupresoras, y prolongada en el tiempo (12 - 18 meses) para evitar recurrencia leucémica.

Estos fundamentos generales del tratamiento de la LAM se reflejan en la tabla II.

TABLA II  
TÉRMINOS GENERALES EMPLEADOS SECUENCIALMENTE  
EN EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA AGUDA  
MIELOBLÁSTICA

Inducción
Consolidación
Intensificación
Quimioterapia
Trasplante de progenitores hematopoyéticos: alogénico (aloTPH) o autólogo (auto TPH)
Mantenimiento

#### FUNDAMENTO DE LOS TRATAMIENTOS POST-REMISIÓN

El 90% de los pacientes en RC recaerían en el plazo de 4 a 6 meses si el tratamiento no continuase. En diversos estudios publicados en los 80, se demostró que cualquier tipo de tratamiento postremisión (consolidación, mantenimiento o intensificación) prolonga la duración de la RC, pero hay diferencias importantes entre ellos en cuanto a la capacidad de curación definitiva (1-10).

Se ha demostrado que los tratamientos más agresivos concentrados en un tiempo no superior a 6 meses son los más eficaces y pueden curar un número significativo de enfermos (jóvenes) si sobreviven a su gran toxicidad. Incluso los factores de riesgo de la leucemia al diagnóstico, pierden su valor ante la potencia del tratamiento, si el enfermo puede recibirlo.

Con tratamientos menos intensivos, el porcentaje de supervivientes a largo plazo va disminuyendo progresivamente con la menor intensidad del tratamiento y vuelven a tener más importancia los factores pronósticos. Por tanto, hoy por hoy, lo crucial en el tratamiento de esta enfermedad, como en cualquier neoplasia quimiosensible, es dirigirla a un tratamiento adecuado, según el riesgo identificado lo más precozmente posible.

#### INTENSIFICACIÓN

Este concepto apareció por primera vez definido por Bloomfield en 1985 (4), como un tratamiento altamente mielosupresor, en el que se emplean las drogas que sean (iguales o no a la inducción) a dosis máximas tolerables. Se utiliza con fines erradicativos de la leucemia en fase mínima residual tras un tratamiento previo lo más citorreductor posible (generalmente inducción + consolidación + mantenimiento). Con uno o dos ciclos de intensificación se acaba el tratamiento, que ha necesitado unos 6 meses de duración total para administrar la inducción, los 2 ó 3 ciclos de consolidación y 1 o 2 de intensificación.

Los tratamientos de *intensificación* en la LMA postremisión pueden ser con *quimioterapia a dosis no mielo-*

blativa o bien con *quimioterapia a dosis mieloablativa y trasplante hematopoyético* (11-18).

#### INTENSIFICACIÓN DE LA LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA CON QUIMIOTERAPIA

Se han ensayado relativamente pocas drogas ya que tienen que cumplir dos características: producir más respuestas al intensificar la dosis y tener un amplio margen de toxicidad.

El primer medicamento empleado en la LAM en este sentido fue el ARA-C, desde el inicio de su empleo en 1984 (5), empleando 3 g/m<sup>2</sup>/12h x 6-8 dosis, como intensificación precoz y que según sus autores produjo una supervivencia libre de enfermedad (SLE) de casi el 50% a los 3,5 años. Varios estudios posteriores con diversas pautas y dosis, mantienen en alrededor de un 40% la SLE a los 3 años, pero la mayor parte de ellos no son randomizados, y seleccionan pacientes jóvenes. En general parece apuntarse que no es necesario dar dosis tan altas como las inicialmente descritas para producir el mismo efecto, con mucha menor toxicidad, y que 1-0,5 g/m<sup>2</sup>/12h x 3-5 días combinados con una antraciclina, MTZ, AMSA o VP-16 en uno o dos ciclos pueden ser suficiente (18).

Un esquema habitual que puede ser empleado como intensificación quimioterápica consiste en una combinación de ARA-C a dosis intermedias y Mitoxantrone, según la siguiente pauta:

—Esquema de Intensificación:

ARA-C: 05-1 g /m<sup>2</sup>/ 12 h x 4 días

MTZ : 12 mg /m<sup>2</sup>/ 24 h x 3 días

#### TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS (TPH)

El fundamento del trasplante de médula ósea, también denominado Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos (TPH), se basa en la posibilidad de administrar quimioterapia antileucémica a dosis máximas y rescatar al enfermo de la mielotoxicidad que conlleva con la infusión de células madre hemopoyéticas bien de un donante sano (generalmente un hermano HLA idéntico) en el TPH alogénico (aloTPH), bien del propio enfermo en RC en el TPH autólogo (autoTPH) (7-20).

Los primeros TPH alogénicos que se realizaron en LAM, fueron en casos de leucemia resistente o muy avanzada, donde se demostró que hasta un 10% de enfermos podían curarse incluso cuando habían fracasado todos los tratamientos anteriores. Posteriormente se pudo comprobar que la potencia curativa del TPH era mayor cuanto menos masa leucémica y menos recidivas tuviera el enfermo, por lo que el TPH fue avanzando de posición hasta que se consideró como una pauta adecuada intensificación para pacientes que se encontraban en 1ª RC tras la inducción y la consolidación con la idea de erradicar todo el resto de leucemia mínima residual tras un tratamiento completo de primera línea. Habitualmente hoy en día, la mayor parte de los TPH en LAM se realizan como esquema de tratamiento de intensificación

en pacientes en RC, preferiblemente en 1ª RC, aunque tiene un papel muy importante para conseguir curaciones en los pacientes en 2ª RC, como ya comentaremos.

En el auto TPH, la potencia erradicativa de la leucemia radica exclusivamente en la quimioterapia que se emplee en el esquema de acondicionamiento. En el TPH alogénico se añade además un efecto inmunoreactivo del injerto medular contra la leucemia "efecto injerto contra leucemia", que mejora considerablemente la capacidad curativa de éste a pesar de la mayor toxicidad por las consecuencias somáticas de esta misma reacción injerto contra huésped.

—*Esquemas de Acondicionamiento en el TPH para la LAM:*

Se han investigado sólo unos pocos agentes quimioterápicos útiles para el TPH que cumplan las características requeridas de dosis-respuesta y no toxicidad extrahemopoyética. Los más populares son la Ciclofosfamida, el Busulfán, el ARA-C y el VP-16, que combinados entre ellos o con *radioterapia corporal total* (TBI) constituyen los acondicionamientos standard en la LAM 18.

Los esquemas de acondicionamiento para TPH en la LAM más habituales se reflejan en la tabla III.

TABLA III

#### ESQUEMAS DE ACONDICIONAMIENTO MÁS HABITUALES PARA TPH EN LA LAM

##### *Esquema CY+TBI*

Ciclofosfamida: 60 mg/kg/día x 2 días iv

Radioterapia corporal total (TBI): 1200 cGy fraccionada en 6 fracciones de 200 cGy/12 h x 3 días

##### *Esquema BUCY*

Busulfan: 1 mg/kg / 6 h x 4 días vía oral

Ciclofosfamida: 60 mg/kg / día x 2 días iv

##### *Esquemas CBA*

Ciclofosfamida: 1,5 g/ m<sup>2</sup> iv x 3 días (con MESNA)

BCNU: 300 mg / m<sup>2</sup> iv x 1 día

ARA-C: 100 mg / m<sup>2</sup>/N12 h iv x 4 días

#### *Trasplante Autólogo de Progenitores Hematopoyéticos (auto TPH)*

Tiene la ventaja de que cualquier enfermo que alcance una remisión completa puede someterse a él aunque se pone un límite de edad de 60 años por considerarse inaceptablemente tóxico por encima de esa edad (20).

La médula ósea se extrae en RC (1ª o 2ª) y se criopreserva generalmente después de al menos 2 meses de tratamiento (inducción y al menos un ciclo de consolidación). La posibilidad de contaminación medular invisible con células leucémicas se puede combatir teóricamente de dos maneras: prolongando el tiempo y la

intensidad de la quimioterapia antes de recoger las células (se puede considerar que a los 6 meses de tratamiento la masa residual leucémica está en su mínima expresión), o manipulando éstas *in vitro* ("purging"), incubándolas nada más extraerlas con agentes antileucémicos (anticuerpos monoclonales anti CD mieloides o quimioterápicos con acción *in vitro* como el ASTA-Z, la hidroxociclofosfamida o el VP-16). Esta mayor "limpieza" medular hay que contraponerla al agotamiento de la población de precursores medulares normales que conlleva cualquiera de los dos procedimientos con el consiguiente compromiso para el injerto post TPH autólogo.

Una recomendación adecuada sería el realizar la recolección de progenitores y posteriormente proceder a realizar el trasplante en 1ª RC inmediatamente después de la consolidación en enfermos menores de 60 años que no tengan donante HLA compatibles.

Los resultados del trasplante autólogo (TAMO) empleado como intensificación en 1ª RC (Tablas IV y V) ofrecen alrededor de un 40% de supervivencia libre de enfermedad a los 3 años, con una toxicidad del 10-15% y un porcentaje de recaídas del 40%, aproximadamente la misma SLE que la intensificación quimioterápica, con mayor toxicidad, y mayor límite de aplicabilidad debido a la restricción de edad y necesidad de un buen estado general.

TABLA IV

## RESUMEN DE INDICACIONES DE TRASPLANTE HEMATOPOYÉTICO EN LA LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA

<i>Indicación de TPH en 1ª RC</i>
<i>LAM de alto riesgo</i>
Tipo FAB M0 y M4 a M7, excluyendo M4 con eosinofilia e Inv del Cromosma 16
Cualquier LAM que haya tardado más de 1 ciclo en conseguir la RC
Leucocitosis > 100.000/mm <sup>3</sup>
Afectación extramedular al diagnóstico
Cualquier alteración citogenética que no sea de buen pronóstico
LAM secundaria
<i>Sin indicación de TPH en 1ª RC</i>
<i>LAM de bajo riesgo</i>
Tipo FAB M1 y M2 con t(8,21) o M4-Eo con inv.16 con ninguno de los anteriores datos
M3 negativa t(15,17) por PCR tras tratamiento completo con ATRA + Quimioterapia
Contraindicación general por estado sistémico o por edad > 45 años aloTPH y > 65 años autoTPH
<i>Indicaciones dudosas en 1ª RC</i>
Todos las situaciones diferentes a los dos puntos anteriores (a discutir individualmente)
<i>Indicaciones en 2ª RC</i>
Todas las que no tengan contraindicación por edad o estado sistémico
<i>LAM en Remisión &gt; 2ª RC</i>
Sólo en casos excepcionales y con carácter paliativo
<i>LAM con enfermedad activa</i>
Alotrasplante si existe un donante apropiado HLA idéntico (familiar o no) y no existe contraindicación general por enfermedad sistémica
Recidiva resistente. Sólo si es la 1ª recidiva: alotrasplante si hay donante; autotrasplante si existen progenitores criopreservados
Recidiva no tratada. Sólo si es la 1ª y no es masiva (>25% de blastos en médula ósea)

TABLA V

RESUMEN DE RESULTADOS SEGÚN EL TIPO DE TRATAMIENTO EN LA LAM Y LA FASE DE LA ENFERMEDAD

	<i>Quimioterapia</i>	<i>autoTPH</i>	<i>aloTPH</i>
LAM en 1ªRC			
SLE	20-40%	40-50%	40-60%
RR	20-40%	40-50%	40-60%
Toxicidad	5-10%	10%	20%
LAM en 2ªRC			
SLE	0%	20-40%	30-40%
RR	100%	50-70%	40-60%
Toxicidad	–	20%	30%
LAM Resistente			
SLE	–	–	20-25%
RR	–	–	60-80%
Toxicidad	–	–	30%

SLE supervivencia Libre de Enfermedad. RR Riesgo de Recidiva. Toxicidad: % de muertes por toxicidad

#### *Trasplante Alogénico de Progenitores Hematopoyéticos (alo-TPH)*

El TPH alogénico (alo-TPH) constituye en teoría la máxima esperanza de curación definitiva de la LAM (21) ya que además de la quimioterapia intensiva proporciona un efecto injerto contra leucemia efectivo en la LAM. El límite de edad es aquí hasta 35-40 años. Sólo un 25-30% de los enfermos tienen un donante hermano HLA idéntico. La posibilidad de encontrar un donante se puede ampliar si se incluyen familiares no completamente HLA idénticos, aunque la morbi-mortalidad del trasplante aumenta exponencialmente con la disparidad HLA. Hoy en día, dada la alternativa del auto-TPH, sólo se consideran aceptables hermanos o padres fenotípicamente idénticos o con un solo locus no compatible (A, B o región D). Asimismo está cada vez más en expansión el uso de donantes HLA idénticos no familiares procedentes de bancos de donantes altruistas. Los resultados de estos trasplantes son sólo moderadamente peores que los familiares HLA idénticos, y están mejorando a medida que se va incrementado la experiencia mundial y expandiéndose el número de donantes para permitir identidades más ajustadas. Sin embargo, la búsqueda añade incremento del coste y problemas logísticos.

El TPH alogénico se complica por los efectos inmunoreactivos del trasplante de un órgano inmunocompetente a un huésped inmunosuprimido por el acondicionamiento. Algunos son beneficiosos, como el efecto injerto contra leucemia ya mencionado, pero en general se contraponen a la morbi-mortalidad que puede producir la enfermedad injerto contra huésped (EICH). Aún

administrando profilaxis con Ciclosporina y Metotrexato en TMO HLA idéntico, la incidencia de EICH es del 30-40% contribuyendo al menos a un 70% de la mortalidad global del TMO (que es de alrededor del 25%).

El trasplante alogénico en 1ª RC (TMO) produce una supervivencia libre de enfermedad a los 3 años que puede ser de hasta el 50-60% con menor porcentaje de recidivas que el TPH autólogo, alrededor del 20%, pero una mortalidad tóxica peritrasplante superior, que puede llegar al 25%.

#### POLÉMICA ENTRE LA QUIMIOTERAPIA Y EL TRASPLANTE HEMATOPOYÉTICO COMO INTENSIFICACIÓN EN 1ª RC EN LA LMA

La polémica sobre la mejor modalidad de intensificación: Quimioterapia sin trasplante, Trasplante alogénico (alo-TPH) o Trasplante Autólogo (auto-TPH) en pacientes en situación de primera remisión completa (1ª RC) sigue sin resolverse en la actualidad (13-19). A pesar de los aparentes mejores resultados con el TPH, si se tiene en cuenta el sesgo introducido por la selección de “buenos pacientes” y el del tiempo transcurrido entre la RC y el momento en que se hace el TPH (que elimina para TPH a todos los que recaen precozmente), para algunos autores los resultados son probablemente los mismos en las tres modalidades de tratamiento (20-36).

Algunos estudios randomizados publicados recientemente dan en general una ventaja de un 10% al alo-TPH sobre el autoTPH, y de otro 10% a éste sobre la quimioterapia de intensificación (Tablas V y VI).

En la práctica clínica habitual, sin embargo, el factor determinante más importante sobre la elección de la modalidad de tratamiento: quimioterapia o trasplante son las circunstancias particulares que rodean a cada caso y que permiten o no que el trasplante se pueda realizar (1,3,7,10,38).

Las razones más habituales que limitan la aplicabilidad del TPH en la Leucemia Aguda Mieloblástica pueden resumirse en las siguientes:

1. *La edad*: se puede considerar que una edad máxima para el aloTPH sería la de 40-45 años y para el autoTPH la de 65 años.

2. *Existencia de donante HLA compatible*: sólo un 25% de los hermanos son teóricamente HLA histocompatibles. Se puede no obstante activar la búsqueda de un donante HLA en los registros internacionales aunque la mortalidad es mayor y añade coste y complejidad al tratamiento.

3. *Hepatopatía*: muchos pacientes desarrollan hepatopatía en algún momento a partir del primer ciclo de inducción. Algunas son tóxicas y/o reversibles, pero la mayoría se cronifican con facilidad, sean o no virales, y obligan a retrasos diversos en la quimioterapia o el trasplante, llegándose en muchos casos a contraindicarse ante el miedo de reactivación de dicha hepatopatía en el TMO como enfermedad venoclusiva severa.

4. Pueden ocurrir *otras contraindicaciones médicas* para el TMO que incluyen por ejemplo: infecciones de órganos vitales con secuelas invalidantes (por ejemplo neumonías fúngicas o virales, endocarditis o pericarditis), insuficiencia renal por nefrotoxicidad previa (muy frecuente tras la administración de antibióticos nefrotóxicos y anfotericina B), infecciones o toxicidad del sistema nervioso central, insuficiencia cardíaca por antraciclina, etc.

5. *Razones logísticas de aplicabilidad del TMO*: en un gran número de Servicios de Hematología, que tratan habitualmente leucemias agudas, no existe un programa de TPH, y el paciente tiene que ser derivado a un centro de referencia para trasplante. Esto suele requerir un tiempo que en ocasiones, debido a la recidiva, puede suponer un sesgo muy importante a la hora de evaluar los resultados del TPH

En el auto-TPH, no se aplica obviamente la razón nº 1, pero si las 3 restantes, además de por las siguientes:

6. *Imposibilidad de recolección de la médula ósea autóloga*: bien por cierta persistencia de enfermedad o por hipocelularidad post quimioterapia. Como ya hemos comentado se debate el momento de la recolección en relación a la quimioterapia previa. En un 10-15% de enfermos resulta imposible conseguir precursores hemopoyéticos medulares suficientes para un TAMO.

Por todas estas razones, añadidas a la continua pérdida de enfermos por recidivas precoces o muertes tóxicas en cada fase de tratamiento, el número de enfermos que finalmente llega al alo-TPH o auto-TPH es del 10-15% de todas las LAM los que alcanzan la RC.

Una estrategia que puede considerarse en nuestra opinión adecuada sería realizar alo-TPH o auto-TPH (si no hay donante o tiene más de 3-40 años) a todos los enfermos en 1ª RC. Se pueden, por tanto aceptar, y

varios estudios lo demuestran, que la capacidad curativa del trasplante es mayor que la de una intensificación quimioterápica, sobre todo la del TMO alogénico. Los mayores esfuerzos se dedican hoy en día a delimitar factores de riesgo diferenciales para cada modalidad de intensificación, pero suele demostrarse que los rasgos adversos son comunes en los tres casos. La edad puede ser uno de los factores más determinantes, ya que incluso en enfermos con donante HLA idéntico, puede ser más ventajoso un auto-TPH o la quimioterapia si la edad es superior a 40 años, dado el incremento exponencial de la mortalidad que se produce en el TMO, casi siempre por la mayor incidencia y gravedad de la EICH a partir de los 35-40 años.

Varios estudios cooperativos han intentado definir el papel de TPH autólogo en la LAM durante la 1ª RC respecto a la quimioterapia sin trasplante o frente al TPH alogénico 20-36. Los resultados han sido muy variables: desde algunos estudios mostrando ventajas estadísticamente significativas para el TPH hasta otros en los no hay resultados favorables para ninguna de las opciones siendo similar el resultado con las tres opciones. En la tabla VI se reflejan estos estudios siendo alguno de ellos randomizados (20-26). En algunos de los análisis el fallo de un número importante de los pacientes de recibir el tratamiento planificado hacen difícil interpretar los resultados. Siempre teniendo en cuenta las reservas señaladas respecto al diseño de estos estudios, parece que el TPH es la opción más favorable respecto a SG y SLP. No obstante, el hecho de que se continúen mejorando los esquemas mieloblásticos y existan nuevas estrategias de TPH junto a la mejora esperada en el empleo de quimioterapia hacen previsible que este debate continúe durante los próximos años.

#### TRATAMIENTO DE RESCATE (POST RECIDIVA O RESISTENCIA)

En la LAM, la incidencia acumulativa de recidiva tras la 1ª RC, es de aproximadamente un 60-80% cuando el enfermo se trata convencionalmente sólo con esquema de inducción y consolidación. Si se supera la fase de intensificación, en cualquiera de sus tres modalidades, el riesgo de recidiva disminuye, pero sigue siendo muy alto, del 50-60% tras intensificación quimioterápica, de un 40% tras un TPH autólogo y aproximadamente de un 20% tras un TPH alogénico (1-7,37,38.)

En el subgrupo de enfermos que experimenta recidivas precoces durante el tratamiento, suele existir resistencia a nuevos intentos de quimioterapia. A medida que aumenta la intensidad del tratamiento, las recidivas son más tardías. En general, el riesgo es máximo durante el primer año después de finalizar el tratamiento, y disminuye significativamente tras el tercer año, aunque hay recidivas tardías, en algunos casos hasta después de hasta 8 años de remisión ininterrumpida. Por otra parte un 20% de los enfermos son resistentes al tratamiento de inducción inicial.

Con todo ello, el número de enfermos que van a necesitar un tratamiento de segunda línea, es por tanto

TABLA VI  
COMPARACIÓN DE TPH ALOGÉNICO, TPH AUTÓLOGO Y QUIMIOTERAPIA EN LA LMA EN 1º RC

Estudio (fecha)	Referencia	Tratamiento	Nº Pacientes	SLE	valor de P	SG	valor de P	Recaída	P value
Reiffers Francia † (1989)	[20]	AloTPH AutoTPH Quimioterapia	20 12 20	66% 41% 16%	<0,004			18% 50% 83%	<0,0002
Lowenberg Holanda † (1990)	[21]	AloTPH AutoTPH	23 32	51% 35%	NS	66% 37%	0,05	34% 60%	0,03
Mitus Boston † (1995)	[22]	AloTPH AutoTPH AloTPH AutoTPH	23 27 31 53	62% 62% 56% 45%	NS NS 2			0% 38% 20% 50%	Signific. 0,04
GOELAM ‡ (1997)	[23]	AloTPH AutoTPH Quimioterapia	88 86 78	44% 44% 40%	NS NS	53% 55%		50%	NS
Zitoun EORTC/ GIMEMA ‡ (1995)	[24]	AloTPH AutoTPH Quimioterapia	168 128 126	55% 48% 30%	Signific.	59% 56% 46%	NR	27% 41% 57%	NR
Casileth Intergroup USA ‡ (1998)	[25]	AloTPH AutoTPH Quimioterapia AloTPH AutoTPH	113 116 117 92 63	43% 34% 34% 47% 48%	NS NR	46% 43% 52% 45% 55%	0,04 0,05 NR	29% 48% 62%	
Burnett Grupo Británico MRC ‡ (1998)	[26]	AutoTPH Quimioterapia	190 191	53% 40%	0,04	57% 45%	0,2	37% 58%	<0,01

AloTPH: Trasplante Alogénico de Progenitores Hematopoyéticos, AutoTPH: Trasplante Autólogo de Progenitores Hematopoyéticos. Quimioterapia: Quimioterapia sin soporte de TPH. NS: no significativa; NR: no reportado, SLE Supervivencia Libre de Progresión, SG supervivencia Global.

† Resultados analizados basados en el tratamiento real recibido.

‡ Pacientes asignados a Trasplante basados en la disponibilidad de donante HLA compatible o asignados a quimioterapia, y analizados según intención de tratamiento.



muy alto. Hay una serie de factores de riesgo para recidiva que ya hemos señalado, pero quizá el más importante sea por parte de la leucemia la sensibilidad que muestre la enfermedad al tratamiento de inducción y por parte del enfermo el que éste sea capaz de recibir el plan completo de tratamiento programado.

Una vez producida la primera recidiva las posibilidades de curación se reducen drásticamente con la quimioterapia convencional, y sólo existen posibilidades de supervivencia a largo plazo si se alcanza una 2ª RC y se somete entonces al enfermo a un trasplante hematopoyético alogénico o autólogo como intensificación.

#### TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EN 2ª RC

Una vez alcanzada una 2ª RC, se puede realizar una consolidación con el mismo ciclo con el que se obtuvo la 1ª RC y realizar todos los preparativos para un alo-TPH o auto-TPH inmediatos.

Si el paciente tiene un donante HLA idéntico y menos de 40-45 años se puede realizar un TPH alogénico, con uno de los acondicionamientos mencionados anteriormente. Los resultados son naturalmente peores, con mayor toxicidad (mortalidad tóxica > 30%) y alta incidencia de recaídas (> 40%), lo que da una posibilidad de SLE a largo plazo máxima del 30%, que dadas las opciones del paciente es un % no despreciable. Hay autores que no recomiendan la inducción previa a 2ª RC, sino que realizan TPH alogénico directamente como inducción en 1ª recidiva, si ésta no es "masiva". Este último concepto está mal definido. Los resultados aparentemente son iguales que en 2ª RC, con la ventaja de que no se elimina de esta oportunidad a los enfermos que no alcanzan la 2ª RC con la quimioterapia convencional. Uno de los aspectos a discutir es el que para algunos autores el TPH en 2ª RC podría rescatar un número suficiente de enfermos para no tener que realizar TPH en 1ª RC en ningún caso. Para estos autores esto se basaría en que consideran que hasta un 40% de los enfermos candidatos a TPH podrían estar curados con intensificación sin trasplante.

El auto-TPH en 2ª RC es la segunda opción tras la recidiva. La recolección medular debe hacerse tras un ciclo o dos de consolidación, pero preferentemente con purificación *in vitro* (30). Los resultados ofrecen un 20% de posibilidades de SLE a largo plazo y hasta un 60-70% de recidivas.

Estos resultados de trasplante para 2ª RC son más o menos los mismos que se pueden obtener en leucemias resistentes a primera línea si se consigue una 1ª RC con inducciones más intensas. Si no se consigue una RC, la única posibilidad de curación (<10%) es con un TPH alogénico inmediato en caso de disponerse de donante. Por último las recidivas después de autoTPH o aloTPH se consideran incurables. Se puede intentar una nueva reinducción y conseguirse, pero suele ser de muy corta duración. Hay un escasísimo número de casos publicados de segundos trasplantes en esta situación, por lo que los resultados no son significativos, pero se puede apli-

car a enfermos jóvenes y en buen estado, que recaen más de un año después del trasplante.

#### NUEVAS ESTRATEGIAS EN EL TRATAMIENTO DE LA LAM

Existen en la actualidad nuevas estrategias terapéuticas que pueden abrir perspectivas en el tratamiento postremisión de la LAM con quimioterapia o nuevas modalidades de TPH (37,38). El uso generalizado de factores de crecimiento hemopoyéticos (G-CSF, GM-CSF, IL-6) contribuirá a reducir muy considerablemente la morbimortalidad de estos tratamientos intensivos. Igualmente, el desarrollo clínico de esquemas inmunoterapia adoptiva eficaz, por medio de citoquinas (IL-2, TNF, IFN) y/o células específicas, puede llevar a mimetizar el efecto injerto contra leucemia fuera del contexto del alo-TPH y mejorar así los resultados.

Referente a la quimioterapia se puede plantear el uso de la Ciclosporina A para modular el gen de multiresistencia a drogas (MDR) o bien utilizar nuevos anticuerpos monoclonales como el anti-CD33 que puede incrementar la tasa de RC con aceptable toxicidad. Respecto al TPH, una opción nueva sería el empleo de Antic. Monoclonales (ej anti-CD45) conjugados con radioisótopos (I-131) para emitir efectos radioterápicos selectivo a las células leucémicas. Otras estrategias novedosas relacionadas con el TPH son el empleo de tratamientos no mieloblásticos para reducir la mortalidad peritrasplante ("Minialotrasplantes") o el empleo de técnicas de selección CD34+ para reducir la morbilidad al reducir el riesgo de EICH por depleción de linfocitos T reactivos. Es previsible que el conjunto de estas nuevas estrategias contribuyan a mejorar los resultados alcanzados en la LAM, para lo cual se precisa el proseguir estudios multicéntricos con una adecuada estratificación de los pacientes según su grupo de riesgo (37,38).

#### CASOS ESPECIALES DE LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA

##### LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA PROMIELOCÍTICA (M3)

Esta subvariedad de LAM tiene unas características muy definidas que la distinguen tanto por su presentación clínica como por su patofisiología y su tratamiento. Se presenta generalmente en enfermos más jóvenes que la media y se acompaña casi universalmente de un síndrome de coagulopatía de consumo (CID) asociado. Citogenéticamente, casi en el 100% de los casos se presenta la translocación t(15;17) en la que hay un intercambio recíproco de material cromosómico entre los brazos largos de ambos cromosomas. Resulta que en el punto de ruptura del Cr 17 reside el intrón de la cadena A del receptor del ácido retinoico, lo que seguramente está relacionado con la respuesta diferenciadora que se produce en esta leucemia al tratamiento oral con el ácido trans-retinoico (ATRA).

La inducción a la remisión se complica con episodios hemorrágicos severos, dando un porcentaje final del 60-

70%. Esta leucemia es muy sensible al uso de antraciclinas, que algunos autores han utilizado como monoterapia en la inducción con éxito. Otra peculiaridad es la no necesidad de conseguir una aplasia total para entrar en RC, sino que a menudo la médula puede permanecer hiper celular durante el nadir de la inducción y se "diferencia" hacia una hemopoyesis normal. Recientemente se ha utilizado el ácido transretinoico en la inducción demostrándose que se puede conseguir RC hasta en el 80% de los enfermos (ATRA). No se produce en absoluto aplasia y en unas semanas revierte el bloqueo de diferenciación desapareciendo incluso la translocación (39). Este tratamiento ha mostrado mejores resultados asociado a esquemas de quimioterapia (esquema AIDA). En este tipo de leucemia sólo se indicaría el TPH en caso de persistir enfermedad molecular y no lograrse la RC con el tratamiento indicado (39).

#### LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA EN PERSONAS DE EDAD AVANZADA

El tratamiento de la LAM en el anciano ha sido objeto de diversas revisiones. Con la mejora de la terapia de soporte, citoquinas etc., se recomienda tratar según el estado orgánico hasta bien avanzada la edad, incluso pacientes de hasta 80 u 85 años, aunque con esquemas ajustados de dosis. Respecto al TPH se ha intentando extender la edad del TPH autólogo hasta los 65-70 años y se han presentado trabajos de la tolerancia al TPH alo-

génico hasta los 50-55 años con un riesgo de mortalidad peritransplante asumible (40).

#### CONSIDERACIONES FINALES

Con los estudios y los resultados disponibles, resulta complejo establecer una pauta definitiva respecto al papel del TPH en el tratamiento de la LAM. Las conclusiones son contradictorias, debido a la heterogeneidad de los pacientes incluidos en los diferentes estudios, a las diferencias de edad y a las diferencias entre pacientes elegibles y los realmente tratados. A pesar de estas reservas, en un número importante de estudios se objetiva una ventaja favorable al TPH. Por este motivo, en nuestra opinión, el trasplante hematopoyético tiene un papel importante y ha de ofrecerse como tratamiento postremisión de la LMA sobre todo en los pacientes más jóvenes en 1<sup>o</sup> RC. La excepción posible serían algunos casos de muy buen pronóstico (M0 y M1 con inv 16,t 8-21, M3 en RC). En caso de disponer de un donante HLA emparentado, el tratamiento de elección es el TPH alogénico. Para los que carecen de donante HLA idéntico se puede indicar la búsqueda de DNE hasta los 35-40 años según la política de cada centro o bien hay que plantear el TPH autólogo hasta los 60-65 años de edad en 1<sup>o</sup> RC (37,38). A pesar de esta afirmación, dadas las reservas comentadas, creemos que cada centro ha de tener su propia estrategia según sus resultados y su experiencia.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Bishop JF. The treatment of adult acute leukemia. *Semin Oncol* 1997; 24: 57-69.
2. Rai KR, Holland JR, Glidewell OJ, et al. Treatment of acute myelocytic leukemia: a study by Cancer and Leukemia Group. *Blood* 1981; 58: 1203-12.
3. Lowenberg B, Downing JR, Burnett A. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999; 341: 1051-62.
4. Bloomfield CD. Postremission therapy in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 1985; 3: 1570-2.
5. Ellison RR, Holland JF, Weil M, et al. Arabinosyl cytosine, a useful agent in the treatment of acute leukemia in adults. *Blood* 1968; 32: 507-23.
6. Buchner T, Urbanitz D, Hiddeman W, et al. Intensified induction and consolidation with or without maintenance chemotherapy for AML: two multicenter studies of the German AML Cooperative Group. *J Clin Oncol* 1985; 3: 1583-9.
7. Figuera Álvarez A, Tomás Martínez JF, Gómez García de Soria V. Tratamiento de la Leucemia Mielobástica Aguda. En: *Terapia en Oncohematología*. J.M. Fernández-Rañada Ed. Harcourt Brace de España S.A. Madrid, 2<sup>a</sup> ed. 1998; 29-50.
8. Appelbaum FR, Fisher LD, Thomas ED, et al. Chemotherapy versus bone marrow transplantation for adults with acute non lymphoblastic leukemia: a five year follow up. *Blood* 1988; 72: 179-84.
9. Clarkson B, Berman E, Little C, Andreef M, Kempin S, et al. Update on clinical trials of chemotherapy and bone marrow transplantation in acute myelogenous leukemia in adults at Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC) 1966 to 1989. *Acute Myelogenous Leukemia: Progress and controversies*. Wiley-Liss, Inc, 1990; 239-72.
10. Gale RP. Acute Myelogenous Leukemia: Recent advances in the rapy. *Current Hematol Oncol* 1987; 5: 1-44.
11. Clift RA, Buckner CD, Thomas ED, Kopecky KJ, Appelbaum FR, Tallman M, et al. The treatment of acute non lymphoblastic leukemia by allogeneic marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1987; 2: 243-58.
12. Champlin RE, Jacobs A, Gale RP, et al. Prolonged survival in acute myelogenous leukemia without maintenance therapy. *Lancet* 1984; i: 894-6.
13. Champlin RE, Jacobs A, Gale RB, et al. Treatment of AML: a prospective controlled trial of bone marrow transplantation versus consolidation chemotherapy. *Ann Int Med* 1985; 102: 285-91.
14. Gorin NC, Aegerter P, Auvert for the EBMT. Autologous bone marrow trasplantatiohn (AMBT) for acute leukemia in remission: an analysis on 1322 cases. *Bone Marrow Transplant* 1989; 4 (Suppl 2): 3-5.
15. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, Goldman J, Kersey J, et al (IBMTR). Graft versus leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood* 1990; 75: 555-62.
16. Keating S, Suci S, De Witte T, et al. for the EORTC and the GIMEMA Leukemia cooperative groups. Prognostic factors of patients with acute myeloid leukemia (AML) allografted in first complete remission: an analysis of the EORTC-GIMEMA AML 8<sup>a</sup> trial. *Bone Marow Transplant* 1996; 17: 993-1001.
17. Powlles RL, Morgerstein G, Clink HM, Hedley D, Bandini G, Lumley H, et al. The place of bone marrow transplantation in AML. *Lancet* 1980; i: 1047.
18. Preisler HD, Davies RB, Krishner J, et al. Comparison of three remission induction regimens and two pos tinduction strategies for the treatment of acute nonlymphocytic. leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *Blood* 1987; 69, 1441-9.

19. Gorin NC: Autologous stem cell transplantation in acute myelocytic leukemia. *Blood* 1998; 92: 1073.
20. Reiffers J, Gaspard H, Maranchini D, et al. Comparison of allogeneic or autologous BMT and chemotherapy in patients with acute myelogenous leukemia in first remission: a prospective controlled trial. *Br J Haematol* 1989; 72: 57-63.
21. Lowenberg B, Verdonk LJ, Dekker AW, et al. Autologous bone marrow transplantation in acute myelogenous leukemia in first complete remission: results of a Dutch prospective study. *J Clin Oncol* 1990; 8: 287-294.
22. Mitus AJ, Miller KB, Schenkein DP, et al. Improved survival for patients with acute myelogenous leukemia. *J Clin Oncol*. 1995; 13: 560.
23. Harousseau JL, Cahn JY, Pignon B, et al. Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as postremission therapy in adult acute myeloid leukemia. *Blood* 1997; 90: 2978.
24. Zittoun RA, Mandelli F, Willemze R, et al. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1995; 332: 217.
25. Cassileth PA, Harrington DP, Appelbaum FR, et al. Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission. *N Engl J Med*. 1998; 339: 1649.
26. Burnett AK, Goldstone AH, Stevens RM, et al. Randomised comparison of addition of autologous bone-marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. *Lancet*. 1998; 351: 700.
27. Rohatiner AZS, Gregory WM, Bassa R et al. Short term therapy for acute myelogenous leukemia. *Journal of Clinical Oncology* 1988; 6: 218-26.
28. Tallman M, Kopecky K, Amos D, Dahlberg S, Hewlett J, et al. Analysis of prognostic factors for the outcome of marrow transplantation or further chemotherapy for patients with acute nonlymphocytic leukemia in first remission. *Journal of Clinical Oncology* 1989; 1: 326-37.
29. Wolff SN, Herzig RH, Fay JW, et al. High dose cytarabine and daunorubicin as consolidation therapy for AML in 1st remission: long term follow up and results. *Journal of Clinical Oncology* 1989; 7: 1260-7.
30. Laporte JP, Douay L, López M, et al. One hundred twenty-five adult patients with primary acute leukemia autografted with marrow purged by mafosfamide: a 10-year single institution experience. *Blood* 1994; 84: 3810.
31. Stein AS, O'Donnell MR, Chai A, et al. In vivo purging with high-dose cytarabine followed by high-dose chemoradiotherapy and reinfusion of unpurged bone marrow for adult acute myelogenous leukemia in first complete remission. *J Clin Oncol* 1994; 14: 2206.
32. Linker CA, Ries CA, Damon LE, Rugo HS, Wolf JL. Autologous bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia using 4-hydroperoxycyclophosphamide purged bone marrow and the busulfan/etoposide preparative regimen. A follow-up report. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 865.
33. Ferrant A, Labopin M, Frasson F, et al. Karyotype in acute myeloblastic leukemia. Prognostic significance for bone marrow transplantation in first remission: a European Group for Blood and Marrow Transplantation Study. *Blood* 1997; 90: 2931.
34. Stockerl-Goldstein KE, Blume KG. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult patients with acute myeloid leukemia. In: Thomas ED, Blume KG, Forman SJ, eds. *Hematopoietic Cell Transplantation*. 2<sup>nd</sup> ed. Malden, MA: Blackwell Science; 1999.
35. Kersey JH, Weisdorf D, Nesbit ME, et al. Comparison of autologous and allogeneic bone marrow transplantation for treatment of high-risk refractory acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1987; 317: 461.
36. Sierra J, Brunet S, Graña A, et al. Feasibility and results of bone marrow transplantation after induction and intensification chemotherapy in the novo acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 14; 1353-63.
37. Brunet S, Martín J (coordinadores). Tratamiento Postremisión de la Leucemia Mieloide Aguda. Simposium del XLII Reunión de la AEHH. Estratificación del Tratamiento de la LMA según factores clínico-biológicos (Dr JF San Miguel); Tratamiento postremisión de la LAM: experiencia española con TPH (Dr J Sierra); Tratamiento postremisión de la LAM: Resultados Internacionales Recientes (Dr MA Sanz); New Perspective in Postremission Treatment for AML (Dr FR Appelbaum); *Hematológica* 2000; 85: supl 2, 217-36.
38. Mandelli F, Petti MC, Lo Coco F. Therapy of acute leukemia: towards a patient-oriented approach. *Haematologica* 1998; 83: 1015-23.
39. Sanz MA, Lo Coco F, Martín G, et al. Definition of relapse risk and role of non-anthracycline drugs for consolidation in patients with acute promyelocytic leukemia. A joint study of the PETHEMA and GIMMEMA cooperative groups *Blood* 2000; 96.
40. Hiddemann W, Kern W, Schoch C, et al. Management of acute myeloid leukemia in elderly patients, *J Clin Oncol* 1999; 17: 3569-76.

# Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica en leucemia mieloblástica aguda

S. SAAVEDRA, J. DE LA RUBIA, M. A. SANZ

*Servicio de Hematología. Hospital Universitario La Fe. Valencia*

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, dos tercios de los pacientes con leucemia mieloblástica aguda (LMA) de novo alcanzan remisión completa (RC) con la administración de quimioterapia intensiva, generalmente basada en la combinación de una antraciclina y arabinósido de citosina con o sin etopósido (1). Sin embargo, sin un tratamiento postremisión la mayoría de los pacientes recaerían. Por lo que se han concebido diferentes tratamientos postremisión para conseguir supervivencias libre de enfermedad (SLE) prolongadas. Esquemáticamente, en los últimos años, tres son los esquemas de tratamiento postremisión más empleados en los pacientes con LMA: quimioterapia intensiva con altas dosis de citarabina ( $1-3 \text{ g/m}^2 \times 6-12$  dosis), autotrasplante de progenitores hematopoyéticos (sangre periférica o médula ósea) y trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.

En este trabajo revisaremos los resultados del empleo del autotrasplante de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica (ATSP) en la terapia postremisión de los pacientes con LMA, así como la situación actual del ATSP respecto al trasplante autólogo de médula ósea (TAMO).

La experiencia inicial empleando TAMO en pacientes con LMA en primera RC mostró una SLE del 40-50% a los cuatro años (2,3) lo que llevó a la realización de numerosos estudios no controlados con TAMO como tratamiento postremisión en pacientes LMA en primera RC. Sin embargo, en estas series se evidenciaba un importante sesgo de selección, por lo que fue necesario confirmar estos resultados preliminares con estudios prospectivos aleatorizados. No obstante, determinadas ventajas sobre el trasplante alogénico pronto se hicieron evidentes. Así, la no necesidad de un donante y la menor toxicidad generalizó su empleo

en pacientes con LMA de más edad (hasta 70 años) y que carecían de donante HLA idéntico (4). Actualmente se han realizado varios estudios prospectivos que demuestran la eficacia del autotrasplante como terapia postremisión en los pacientes con LMA comparándolo con diferentes tratamientos de quimioterapia intensiva (5-8).

## FUENTE DE LOS PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

El interés inicial de utilizar progenitores hematopoyéticos (PH) obtenidos de sangre periférica en lugar de médula ósea surge de la hipótesis de una posible menor contaminación de células leucémicas en la sangre (9,10). Aunque este postulado no ha sido demostrado, el ATSP presenta otras ventajas probadas frente al TAMO, entre las que destaca la más rápida recuperación hematopoyética, lo que se asocia a una menor morbilidad peritrasplante. Otras ventajas adicionales son la facilidad de obtención de los progenitores, evitando someter al paciente a anestesia general, una probable reducción de costos y la posibilidad de realizar el ATSP en pacientes de edad avanzada (11,12).

El número de pacientes con LMA que han recibido un TPH en los últimos años ha aumentado de forma considerable. Así, según datos del Grupo Español de Trasplante Hematopoyético, entre 1988 y 1999 se realizaron 1.013 trasplantes en estos pacientes (358 alo-TPH y 655 auto-TPH). En el grupo del autotrasplante, la fuente de progenitores hematopoyéticos fue médula ósea en 376 pacientes y sangre periférica en 236, 43 pacientes recibieron la combinación de SP y MO (13). En la figura 1, se muestra la actividad de TPH de SP y MO en España en un período de cinco años (datos obtenidos de la Organización Nacional de Trasplantes).

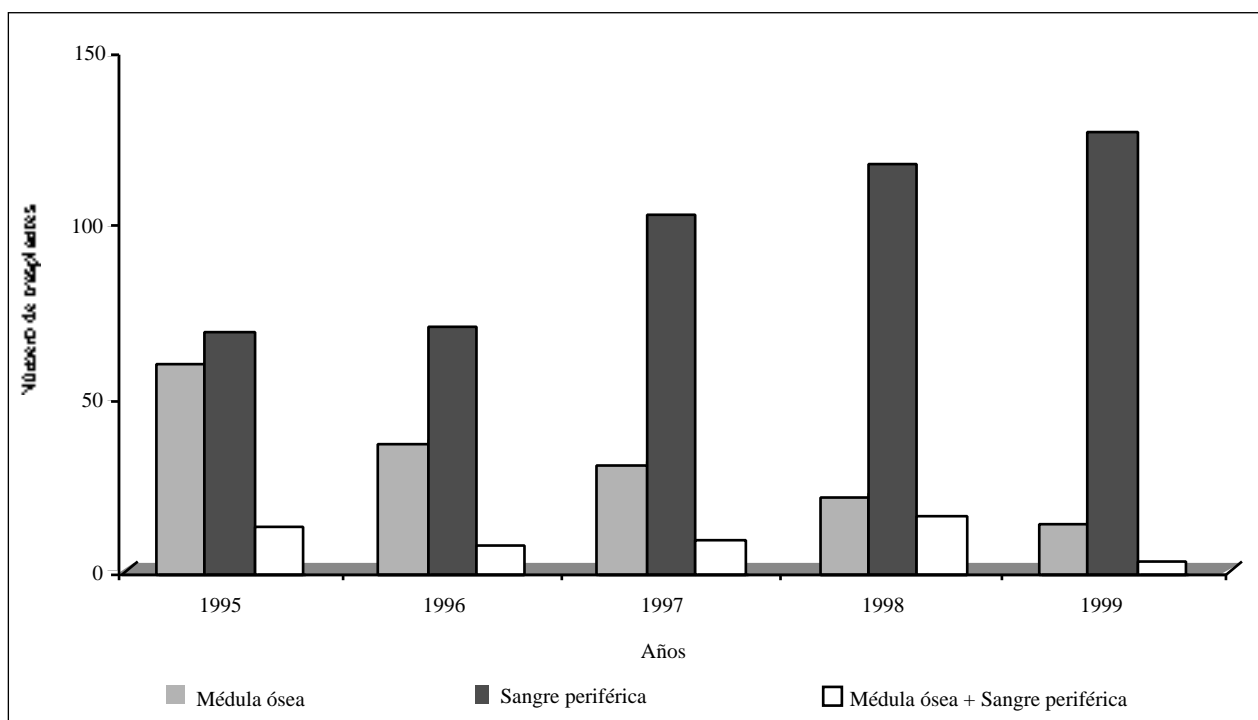


Fig. 1. Número de autotrasplantes de sangre periférica y médula ósea en pacientes con LMA en España entre 1995 y 1999. Datos de la Organización Nacional de Trasplantes.

#### ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La recolección de PH en pacientes con LMA fue comunicado por primera vez por el Hanson Centre for Cancer Research en Adelaida, Australia (14). Estos autores demostraron un incremento de las unidades formadoras de colonias granulocítico-macrofágicas (CFU-GM) en sangre 15 a 35 días tras la administración de quimioterapia de inducción, durante la fase de recuperación hematopoyética, y comprobaron que una gran cantidad de CFU-GM ( $15-60 \times 10^4/\text{kg}$ ) podía ser recolectada por medio de leucaféresis. Un año después, este mismo grupo comunica la realización de ATSP en dos pacientes con LMA en recaída (15). En estos pacientes, las células progenitoras se recolectaron durante la fase de recuperación hematopoyética posterior a la quimioterapia de inducción. En ambos casos se observó un prendimiento precoz de las tres series hematopoyéticas post-trasplante, aunque los dos pacientes fallecieron en recaída a los 21 días y 12 semanas tras el trasplante. El primer ATSP con éxito a largo plazo fue comunicado por Reiffers y cols. (16) en un paciente con LMA en primera recaída. En este caso, se realizaron siete leucaféresis, como en los casos anteriores, durante la fase de recuperación hematopoyética post-inducción. Posteriormente se infundió una dosis de  $23 \times 10^4$  CFU-GM/kg tras acondicionamiento con etopósido, ciclofosfamida e irradiación corporal total (ICT). El paciente mantuvo una recuperación hematopoyética completa durante seis meses hasta la aparición de la recaída. Posteriormente, otros grupos comunicaron resultados similares en dos pacientes con leucemia mieloblástica aguda (17) y en un paciente con leucemia promielocítica en primera remisión (18).

A partir de estos estudios iniciales varias series confirmaron la posibilidad de realizar ATSP en pacientes con LMA empleando progenitores obtenidos tras la administración de quimioterapia, de factores de crecimiento hematopoyético o de una combinación de ambos.

#### ESTUDIOS CLÍNICOS DEL ATSP EN PACIENTES CON LMA EN PRIMERA REMISIÓN

En las primeras series publicadas de pacientes con LMA en primera RC sometidos a ATSP, los progenitores fueron recolectados durante la fase de recuperación hematológica rápida tras la quimioterapia de inducción, de consolidación o en ambas. Los trabajos más representativos incluyen dos estudios multicéntricos y otras dos series de otros tantos centros. Las tablas I y II muestran las principales características de los pacientes y los resultados de estas series.

En general, los pacientes presentan características similares en todos los estudios, aunque existen algunas diferencias que impiden una adecuada comparación entre las mismas. La mediana de edad es similar en los cuatro estudios, pero cabe destacar que en las series de Körbling y cols. (19) y Szer y cols. (20) se incluyen tanto adultos como niños. El intervalo de tiempo entre la remisión completa y el trasplante fue similar en todos los estudios. Asimismo, los progenitores fueron recolectados durante la recuperación hematopoyética después de recibir tratamiento de inducción y consolidación o sólo después de la consolidación, en todos los casos sin el empleo de factores de crecimiento. Todos

TABLA I  
ESTUDIOS CLÍNICOS INICIALES DE ATPS EN LMA

<i>Características</i>	<i>Körbling y cols. (9)</i>	<i>Szer y cols. (20)</i>	<i>Reiffers y cols. (22)</i>	<i>Sanz y cols. (21)</i>
Pacientes	20	36	28	24
Edad (años)	41 (5-48)	41 (10-68)	38 (18-50)	40 (14-62)
Sexo (hombre/mujer)	12/8	19/17	ND	16/8
Intervalo RC-TPH (días)	105 (60-365)	90 (22-188)	159 (ND)	120 (60-150)
Leucocitos al diagnóstico ( $\times 10^9/L$ )	5,3 (0,5-268)	6,8 (0,5-475)	ND	42 (1-186)
Recolección de progenitores				
Tras remisión	-	+	+	+
Tras consolidación	+	+	+	+
CFU-GM administrada ( $\times 10^4/kg$ )	2,4 (0,4-4,1)	77 (25-257)	ND	11 (1,5-142)
Acondicionamiento	ICT-CY	BUCY2	ND	BUCY4
Días RAN $> 0,5 \times 10^9/L$	14 (ND)	11 (9-16)	15,5 (9-60)	13 (10-17)
Días plaquetas $> 20 \times 10^9/L$	30 (ND)	ND	ND	ND
Días plaquetas $> 50 \times 10^9/L$	ND	13 (9-337)	58,5 (11-173)	19 (12-213)
Días de hospitalización	45 (ND)	27 (22-69)	ND	28 (19-90)

RC= remisión completa; TPH= trasplante de progenitores hematopoyéticos; RAN= recuento absoluto de neutrófilos; CFU-GM= unidades formadoras de colonias granulocítico-macrofágicas; ICT= irradiación corporal total; CY= ciclofosfamida; BU= busulfan; ND= no disponible. Los valores están expresados en mediana (extremos).

TABLA II  
RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS CLÍNICOS INICIALES DE ATSP EN LMA

<i>Autor</i>	<i>Pacientes</i>	<i>MRT (%)</i>	<i>SLE (años)</i>	<i>Recaída (años)</i>
Körbling y cols. (19)	20	0	35% (3)	ND
Szer y cols. (20)	36	2 (5,5)	28% (2)	ND
Sanz y cols. (21)	24	2 (8)	35% (2,5)	60%
Reiffers y cols. (22)	38	ND	39% (3)	57%

MRT= mortalidad relacionada con el trasplante; SLE= supervivencia libre de enfermedad; ND= no disponible.

Los pacientes fueron trasplantados sin recibir tratamiento de intensificación y en ningún caso se utilizaron factores de crecimiento tras el trasplante. Entre las diferencias de las series cabe destacar: la cifra de leucocitos al diagnóstico (más alta en la serie de Sanz y cols. (21)) y el acondicionamiento pretrasplante que consistió en quimioterapia sólo (BUCY2 y BUCY4) en los trabajos del grupo español (21) y australiano (20), a diferencia de la serie de Körbling (19) que consistió en ICT y ciclofosfamida y en el estudio retrospectivo del registro europeo (EBMT) (22), en el que habían utilizado distintos tipos de acondicionamiento. El prendimiento fue rápido en todas las series, con una mediana de 15 días hasta alcanzar  $0,5$  neutrófilos  $\times 10^9/L$ . La cinética de recuperación hematopoyética más rápida observada en el estudio australiano (20) probablemente guarde relación con el mayor número de progenitores (medidos como CFU-GM) infundidos en esta serie.

El procedimiento fue bien tolerado, con una mortalidad precoz entre el 0 y el 8%. La SLE a los dos años fue similar en las cuatro series, siendo la recaída la causa más frecuente de fallo de tratamiento, oscilando entre el 49-60%.

#### ESTUDIOS RECIENTES

Recientemente se han utilizado diversos cambios en la estrategia terapéutica con el objetivo de reducir la tasa de recaídas postrasplante y mejorar los resultados clínicos observados en los estudios previos (23-28). Entre estos cambios, destaca el incremento en el número de ciclos de quimioterapia administrados antes de la recolección de PH, así como en la intensidad del acondicionamiento administrado antes del trasplante. Estas modificaciones van dirigidas a disminuir la contamina-

ción leucémica en los progenitores y a reducir la carga tumoral pretrasplante. Un dato común en estos estudios es la administración de dosis intermedias o altas de citarabina (ara-C), bien como terapia de consolidación o en el régimen de acondicionamiento. Las principales características de las series que han empleado estos tratamientos se resumen en las tablas III y IV.

#### CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES, MOVILIZACIÓN Y MOMENTO DE LA RECOLECCIÓN DE PROGENITORES

Todas estas series son comparables con respecto a las características principales de los pacientes e intervalo entre la RC y el trasplante. Las principales diferencias radican en el momento de recolección de los progenitores y en la dosis de ara-C administrada pretrasplante. En nuestro estudio (25), la recolección se realizó tras un ciclo de quimioterapia de consolidación convencional, administrando posteriormente un curso adicional de dosis intermedias de ara-C ( $1 \text{ g/m}^2/12 \text{ h} \times 3 \text{ días}$ ) y mitoxantrone (MTZ,  $12 \text{ mg/m}^2/\text{día} \times 3 \text{ días}$ ). En la serie japonesa (23), los progenitores fueron recolectados después de cada curso de consolidación convencional sin dosis intermedias o altas de ara-C. En los restantes estudios los progenitores fueron recolectados tras administrar altas dosis de ara-C. En todas las series se emplearon factores de crecimiento hematopoyético postquimioterapia para la movilización.

A pesar de la administración de dosis más altas de quimioterapia antes de las aféresis y el trasplante, la recuperación hematológica tras el ATSP fue similar a la observada en los estudios iniciales, con una mediana de 12 a 15 días hasta alcanzar  $0,5 \text{ PMN} \times 10^9/\text{L}$  y de 11 a 16 días hasta recuperar  $20 \text{ plaquetas} \times 10^9/\text{L}$ .

El procedimiento fue bien tolerado. Así, la mortalidad peritrasplante fue del 0% en las series de Gondo y cols. (23) y Martín y cols. (24) y del 8% en el estudio de De la Rubia y cols. (25). En la tabla IV podemos ver la SLE y tasa de recaída (RR) en las diferentes series. En el estudio de Martín y cols. (24), hay que destacar que la SLE fue significativamente más alta en los pacientes que recibieron un curso de intensificación previo a la aféresis y al ATSP comparado con aquellos que no lo recibieron ( $68,8 \text{ vs } 35,5\%$ ;  $p=0,04$ ) (24). Por último, los buenos resultados obtenidos en la serie de Gondo y cols. (23) (SLE y RR a los tres años del 78,6 y 21,4% respectivamente) se pueden explicar en parte por la presencia de un 40% de pacientes con alteraciones citogenéticas de buen pronóstico (23).

#### ATSP VS TAMO EN PACIENTES CON LMA

La fuente de progenitores podría tener potenciales implicaciones en los resultados a largo plazo del auto-trasplante en los pacientes con LMA. Las diferencias entre estas determinarían la elección de una u otra modalidad de trasplante, y hacen referencia a los siguientes aspectos: a) la rapidez del prendimiento observada en el ATSP con la consiguiente reducción de

la mortalidad relacionada con el procedimiento (menor índice de infección y sangrado; b) diferencias en la tasa de recaídas debido a la diferente contaminación leucémica de los progenitores, aunque no se dispone de resultados concluyentes a este respecto; y c) las diferencias económicas tendrían un papel relevante si ambos procedimientos presentaran similares resultados.

Todos los estudios mencionados en este trabajo demuestran claramente la mayor rapidez de prendimiento del ATSP frente al TAMO y que estas diferencias son más notables en la recuperación de la serie plaquetar. Esta más rápida recuperación hematopoyética disminuye el riesgo asociado a la trombocitopenia y granulocitopenia, por lo que este procedimiento sería más seguro que el TAMO (29). Además, aunque los estudios iniciales sugerían una baja viabilidad en los progenitores obtenidos de sangre periférica (15), hasta la fecha no se ha descrito ningún caso de fallo de implante. Finalmente, la menor duración de la hospitalización observada en algunos estudios tras el ATSP se asociaría a una reducción de costos (30).

El único estudio prospectivo disponible hasta la actualidad que compara la eficacia del ATSP frente al TAMO en pacientes con LMA muestra que ambos procedimientos son igual de eficaces en cuanto a SLE y recaída. No obstante, el ATSP se asocia a una mayor rapidez de la recuperación hematopoyética, menor duración de la hospitalización y de los requerimientos trasfusionales (31). Aunque se necesitan estudios más amplios que confirmen de modo definitivo estas ventajas, parece claro que en la LMA el ATSP es un procedimiento mejor tolerado que el TAMO y tan eficaz como éste.

#### ATSP EN FASES AVANZADAS DE LA ENFERMEDAD

Después del estudio inicial de Reiffers y cols. (32), en el que se analizaban 11 pacientes en segunda RC sometidos a ATSP, varios autores investigaron el papel del ATSP en pacientes con LMA en recaída o en segunda o posteriores remisiones (23,33). Demirer y cols. (33) publicaron un estudio de 23 pacientes en primera recaída no tratada (8 casos) y en segunda remisión completa (15 casos) sometidos a ATSP con progenitores obtenidos tras movilización con G-CSF con o sin quimioterapia. En el estudio de Gondo y cols. (23), los progenitores se obtuvieron durante la fase de recuperación hematopoyética tras cada curso de consolidación, con o sin G-CSF. Al igual que los pacientes trasplantados en primera remisión, la recuperación hematopoyética fue rápida, con una mediana de 12 días hasta alcanzar  $0,5 \text{ PMN} \times 10^9/\text{L}$  (extremos 8-27) y 15 días (extremos 8-44) hasta alcanzar las  $20 \text{ plaquetas} \times 10^9/\text{L}$ . Si bien en el estudio japonés (23) no hubo mortalidad relacionada con el prendimiento (MRT), en el estudio de Demirer y cols. (33) fue del 14%. En ambas series, el índice de recaída fue de 65% a los tres años. La SLE a los tres años en el estudio de Gondo y cols. (23) fue del 30% en los pacientes trasplantados en segunda o posterior remisión y del 11% en los pacientes trasplantados en recaída.

TABLA III

CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES, MOMENTO DE LA RECOLECCIÓN DE PROGENITORES Y ACONDICIONAMIENTO

<i>Características</i>	<i>Gondo y cols. (23)</i>	<i>Martín y cols. (24)</i>	<i>De la Rubia y cols. (25)</i>	<i>Schiller y cols (26)</i>	<i>Linker y cols. (27)</i>	<i>Reichle y cols. (28)</i>
Pacientes	42	35	25	43	82	16
Edad (años)	40 (18-66)	45 (9-61)	40 (18-66)	43 (17-69)	ND	ND
Sexo (H/M)	24/18	16/19	13/12	ND	ND	ND
RC-ATSP (días)	ND	150 (60-270)	135 (90-300)	ND	100 (ND)	ND
Leucocitos al diagnóstico	ND	32,7 (1.5-111)	14 (2-168)	ND	ND	ND
Ciclos de consolidación previos	2	1 (N=10)				
		2 (N=14)	2	1	1	3
Intensificación con ara-C previa a recolección	No	Sí	No	Sí	Sí	Sí
Dosis ara-C (g/m <sup>2</sup> /día)	No	3 x 6 días	No	4 x 8 días	4 x 8 días	ND
Aféresis	Post Consolidación	Post Intensificación	Post Consolidación	Post Intensificación	Post Intensificación	Post Intensificación
Acondicionamiento	BEA+G-CSF	ICT-CY/BU CY	BU CY4	ICT-CY	BU-VPI6	ND

RC= remisión completa; ND= no disponible; BEA= busulfan, VP-16, ara-C. Valores expresados en mediana (extremos).

TABLA IV

SERIES RECIENTES DE ATSP EN LMA EN PRIMERA RC. RESULTADOS

<i>Características</i>	<i>Gondo y cols. (23)</i>	<i>Martín y cols. (24)</i>	<i>De la Rubia y cols. (25)</i>	<i>Schiller y cols (26)</i>	<i>Linker y cols. (27)</i>	<i>Reichle y cols. (28)</i>
Días RAN > 0,5 x 10 <sup>9</sup> /L	15 (8-44)	12 (8-28)	12 (10-23)	15 (11-135)	ND	ND
Días plaquetas > 20 x 10 <sup>9</sup> /L	ND	ND	11 (6-199)	16 (8-153)	11 (ND)	ND
Días plaquetas > 50 x 10 <sup>9</sup> /L	ND	30 (11-345)	ND	ND	ND	ND
Hospitalización (días)	ND	29,5 (17-50)	17 (10-63)	ND	ND	ND
MRT (%)	0	0	1 (4)	2 (4,6)	1 (1)	1 (6)
SLE (años)	78,6 (3)	57 (2)	18 (4)	47 (2)	55 (2)	57 (2)
Recaída (años)	21,4 (3)	42,6 (2)	81 (4)	ND	44	ND

RAN= recuento absoluto de neutrófilos, ND= no disponible, MRT= mortalidad relacionada con el trasplante, SLE= supervivencia libre de enfermedad.



Estos datos sugieren que los pacientes trasplantados en fases avanzadas de la enfermedad presentan un prendimiento rápido y una mortalidad peritrasplante aceptable. No obstante son necesarias nuevas estrategias que permitan disminuir el índice de recaídas y aumentar la SLE en este grupo de pacientes.

#### DIRECCIONES FUTURAS

Una vez demostrada la posibilidad de obtener PH de sangre periférica y su uso posterior como tratamiento de soporte tras la administración de quimioterapia a altas dosis en los pacientes con LMA, las investigaciones futuras deben determinar cual es la cantidad óptima de quimioterapia a administrar antes del trasplante, así como desarrollar nuevas combinaciones quimioterápicas que permitan mejorar la eficacia de este procedimiento.

Como hemos visto, actualmente, es común el uso de tratamientos de intensificación pretrasplante para disminuir la carga leucémica. Aunque los resultados clínicos apoyan esta estrategia, hay que considerar también que la recolección de PH (medida como células CD34+) podría verse comprometida por el aumento de toxicidad sobre la médula ósea (34). Además, la cinética de recuperación hematológica es variable de acuerdo a la cantidad (35) de células progenitoras infundidas y una excesiva carga de quimioterapia previa podría dañar la capacidad regenerativa de los progenitores, lo que se traduciría en una recuperación hematopoyética más lenta (36,37). Por otra parte, el momento de la recolección parece un hecho crucial, siendo el objetivo principal realizarlo con la mayor depleción leucémica in vivo, pero manteniendo una reserva medular óptima para un prendimiento adecuado.

Aunque la dosis mínima de células CD34+ recomendada para realizar un ATSP es de  $1 \times 10^6/\text{kg}$ , en general se recomiendan dosis más altas para garantizar un prendimiento rápido y estable, sobre todo de la línea plaquetar (38). En el caso de la LMA, en la mayoría de los estudios revisados se recolecta una cifra suficiente de células CD34+ después de la terapia de consolidación con altas dosis de ara-C (39,40). Además, en estos estudios, el número de ciclos de quimioterapia administrados no parece tener una influencia definitiva en la recolección de progenitores ni en la recuperación hematológica postrasplante. Este hallazgo podría deberse a que la mayoría de los fármacos utilizados en la LMA son menos tóxicos sobre las células progenitoras que los empleados en el tratamiento de otras neoplasias, lo que permitiría aumentar la dosis de quimioterapia para disminuir la carga leu-

cémica residual sin afectar significativamente la capacidad regenerativa medular.

Otra alternativa para mejorar los resultados podría ser la utilización de nuevos regímenes de acondicionamiento con mayor actividad antileucémica. Al igual que en el trasplante alogénico, en el autotrasplante las combinaciones más empleadas en el acondicionamiento son las de busulfán y ciclofosfamida o ciclofosfamida e ICT. Sin embargo recientemente se han comunicado resultados alentadores con el empleo de BCNU, amsacrina, VP-16 y citarabina (BAVC). Así, Meloni y cols. (41,42) evaluaron este régimen en 60 pacientes con LMA en 2ª RC, observando una MRT del 5% y una tasa de recaídas y SLE del 42 y 56%, respectivamente. Este régimen ha sido también evaluado con resultados prometedores en pacientes que recibieron TAMO en recaída tras un ATSP (43). Por último, la combinación de citoquinas con efecto de "priming" y de altas dosis de ara-C parecen haber contribuido a los buenos resultados obtenidos en el estudio de Gondo y cols. (23).

#### CONCLUSIONES

En los pacientes con LMA, la obtención de PH de sangre periférica resulta fácil tras la administración de quimioterapia, de factores de crecimiento o de ambos. A pesar de la duda inicial sobre la capacidad de estos progenitores para mantener de forma permanente la hematopoyesis, no se han comunicado fallos de injerto secundarios en los pacientes con LMA sometidos a ATSP, lo que garantiza la seguridad del procedimiento.

Asimismo, ha quedado ampliamente demostrado la mayor rapidez de la recuperación hematológica en el ATSP que en el TAMO, lo que reduce el riesgo asociado a granulopenia y trombocitopenia. Los resultados clínicos a largo plazo de supervivencia global, SLE y MRT son similares con TAMO y con ATSP lo que sugiere que el uso de PH de sangre periférica es al menos tan efectivo como el TAMO. Sin embargo, son necesarios estudios prospectivos y aleatorizados comparando ambas modalidades de autotrasplante para aclarar el papel real del ATSP como tratamiento post-remisión en la LMA.

Como en el TAMO, la causa más frecuente de fallo de tratamiento tras el ATSP es la recaída de la leucemia. En este sentido, el desarrollo de nuevos ensayos clínicos con ATSP deberían incluir la recolección de PH después de la administración de altas dosis de ara-C y el uso de nuevos esquemas de acondicionamiento con mayor eficacia antileucémica (44).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bishop JF. The treatment of adult acute myeloid leukemia. *Semin Oncol* 1997; 24: 57-69.
2. Burnett AK, Tansley P, Watkins R, et al. Transplantation of unpurged autologous bone marrow in acute myeloid leukemia in first remission. *Lancet* 1984; 2: 1068-70.
3. Cahn JY, Herve P, Flesch M, et al. Autologous bone marrow transplantation for acute leukemia in first remission: A pilot study of 33 cases. *Br J Hematol* 1986; 63: 457-70.
4. De la Rubia J, Sanz GF, Sanz MA. Avances en el trasplante de progenitores hematopoyéticos en las leucemias. *Leucemias: Progresos biológicos y terapéuticos*. You & Us Ed. 189-211.
5. Zittoun RA, Mandelli F, Willemze R, et al. For the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) and the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne Dell'Adulto (GIMEMA) Leukemia Cooperative Groups. Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1995; 332: 217-23.
6. Reiffers J, Stoppa AM, Attal M, et al. Allogeneic versus autologous stem cell transplantation versus chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia in first remission: The BGMT 87 study. *Leukemia* 1996; 10: 1874-82.
7. Cassileth P, Harrington D, Paietta E, et al. Comparison of autologous bone marrow transplant (AUTOBMT) with high-dose cytarabine (HDAC) in adult acute myeloid leukemia (AML) in first remission (CR1): An ECOG intergroup study. *Proceedings of the American Society of Clinical Oncology* 1997; 16: 89a.
8. Burnett AK, Godstone AH, Stevens RM, et al. Randomised comparison of addition of autologous bone marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. *Lancet* 1998; 351: 700-8.
9. To LB, Juttner CA. Peripheral blood stem cell autografting- a new therapeutic option for ANLL? *Br J Haematol* 1987; 66: 285-9.
10. To LB, Russell J, Moore S, Juttner CA. Residual leukemia cannot be detected in very early remission peripheral blood stem cell collection in acute non-lymphoblastic leukemia. *Leuk Res* 1987; 11: 327-30.
11. Gorin NC, Labopin P, Pichard P, et al. Feasibility and recent improvements of autologous stem cell transplantation for acute myelocytic leukaemia in patients over 60 years of age: importance of the source of stem cells. *Br J Haematol* 2000; 110: 887-93.
12. De la Rubia J, Saavedra S, Sanz GF, et al. Transplant-related mortality in patients older than 60 years undergoing autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 21-6.
13. Sierra J, Canals C. Tratamiento postremisión en la leucemia mieloide aguda: Experiencia española con trasplante hematopoyético. Simposio de la XLII Reunión Nacional de la AEHH y XVI Congreso de la SETH. *Haematologica* 2000 (ed. esp.); 85, supl. 2: 225-30.
14. To LB, Haylock DN, Kimber RJ, Juttner CA. High levels of circulating haemopoietic stem cells in very early remission from acute non-lymphoblastic leukaemia and their collection and cryopreservation. *Br J Haematol* 1984; 58: 399-410.
15. Juttner CA, To LB, Haylock DN, et al. Circulating autologous stem cells in very early remission from non-lymphoblastic leukaemia produce prompt but incomplete haemopoietic reconstitution after high dose melphalan or supraletal chemoradiotherapy. *Br J Haematol* 1985; 6: 739-45.
16. Reiffers J, bernard P, David P, et al. Successful autologous transplantation with peripheral blood hemopoietic cells in a patient with acute leukaemia. *Exp Hematol* 1986; 14: 312-5.
17. Tilly H, Bastit D, Lucet JC, et al. Haemopoietic reconstitution after autologous peripheral blood stem cell transplantation in acute leukaemia. *Lancet* 1986; i: 154-55.
18. Castaigne S, Calvo F, Douay L, et al. Successful haematopoietic reconstitution using autologous peripheral mononucleated cells in a patient with acute promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1986; 63: 209-11.
19. Körbling M, Fliedner TM, Holle R, et al. Autologous blood stem cell (ABSCT) versus purged bone marrow transplantation (pABMT) in standard risk AML: influence of source and cell composition of the autograft on hemopoietic reconstitution and disease-free survival. *Bone Marrow Transplant* 1991; 7: 343-9.
20. Szer J, Juttner CA, To LB, et al. Post-remission therapy for acute myeloid leukemia with blood-derived stem cell transplantation. Results of a collaborative phase II trial. *Int J Cell Cloning* 1992; 10 (suplemento I); 114-6.
21. Sanz MA, de la Rubia J, Sanz GF, et al. Busulphan plus ciclophosphamide followed by autologous blood stem-cell transplantation for patients with acute myeloblastic leukemia in first complete remission: a report from a single institution. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1661-7.
22. Reiffers J, Körbling M, Labopin M, et al. Autologous blood stem cell transplantation versus autologous bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission. *Int J Cell Cloning* 1992; 10 (suplemento I); 111-3.
23. Gondo H, Harada M, Miyamoto T, et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1997; 20: 821-6.
24. Martín C, Torres A, León A, et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT) mobilized with G-CSF in AML in first complete remission. Role of intensification therapy in outcome. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21: 375-82.
25. De la Rubia J, Sanz GF, Martín G, et al. Autologous blood stem cell transplantation (ABSCT) for acute myeloblastic leukemia in first remission. Intensification therapy before transplant does not prolong disease-free survival. *Haematologica* 1999; 84: 125-32.
26. Schiller G, Miller T, Lee M, et al. Transplantation of autologous peripheral blood progenitor cells procured after high-dose cytarabine/G-CSF-based consolidation for adults with acute myelogenous leukemia in first complete remission. *Blood* 1996; 88 (suplemento I): 127a.
27. Linker CA, Ries CA, Damon LE, et al. Autologous stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first remission. *Blood* 1997; 90 (suplemento I): 113a.
28. Reichle A, Hennemann B, Meidenbauer N, et al. Peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT) during consolidation treatment of de novo acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1997; 19 (suplemento I): 369a.
29. Pendry K, Alcorn MJ, Burnett AK. Factors influencing haematological recovery in 53 patients with acute myeloid leukaemia in first remission after autologous bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 1993; 83: 45-52.
30. To LB, Roberts MM, Haylock DN, et al. Comparison of haematological recovery times and supportive care requirements of autologous recovery phase peripheral blood stem cell transplants, autologous bone marrow transplants and allogeneic bone marrow transplants. *Bone Marrow Transplant* 1992; 9: 277-84.
31. Visani G, Lemoli RM, Tosi P, et al. Use of peripheral blood stem cells for autologous transplantation in acute myeloid leukemia patients allows faster engraftment and equivalent disease-free survival compared with bone marrow cells. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24: 467-72.
32. Reiffers J, Marit G, Rice A, et al. Peripheral blood stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukaemia. In Dicke KA, Armitage JO, Dicke-Evinger MJ (eds). *Autologous Bone Marrow Transplantation*, pp 823-837. *Proceedings of the Fifth International Symposium, 1991. Omaha, Nebraska: University of Nebraska*.
33. Demirer T, Petersen FB, Besinger WI, et al. Autologous transplantation with peripheral blood stem cells collected after colony-stimulating factor in patients with acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1996; 18: 29-34.
34. Glapsy JA, Shpall EJ, Le Maistre RA, et al. Peripheral blood progenitor cell mobilization using stem cell factor combination with filgrastim in breast cancer patients. *Blood* 1997; 90: 2939-51.
35. Dunbar CE, Seidel EN, Doren S, et al. Improved retroviral gene transfer into murine and rhesus peripheral blood or bone marrow repopulating cells primed in vivo with stem cell factor and granulocyte colony stimulating factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 1996; 93: 11871-6.

36. Orlic D, Girard LJ, Anderson SM, et al. Identification of human and mouse hematopoietic stem cell populations expressing high level of mRNA encoding retrovirus receptors. *Blood* 1998; 91: 3247-54.
37. Zandstra PW, Conneally E, Piret JM, Eaves CJ. Ontogeny associated changes in the cytokines responses of primitive human hemopoietic cells. *Br J Haematol* 1998; 101: 770-8.
38. Siena S, Schiavo R, Pedrazzoli P, Carlo-Stella C. Therapeutic relevance of CD34+ cell dose in blood cell transplantation for cancer therapy. *J Clin Oncol* 2000; 18: 1360-77.
39. Shah AJ, Smogorzewska EM, Hannun C, Crooks GM. Flt-3 ligand induces proliferation of quiescent human bone marrow CD34+ CD38- cells and maintains progenitor cells in vitro. *Blood* 1996; 87: 3563-70.
40. Petzer AL, Zandstra PW, Piret JM, Eaves CJ. Differential cytokine effects on Primitive (CD34+ CD38-) human hematopoietic cells: novel responses to Flt-3 ligand and thrombopoietin. *J Exp Med* 1996; 183: 2551-8.
41. Dick JE, Magli MC, Huszar D, et al. Introduction of a selectable gene into primitive stem cell capable of long-term reconstitution of the hematopoietic system of W/W<sup>v</sup> mice. *Cell* 1985; 42: 71-9.
42. Keller G, Paige C, Gilboa E, Wagner EF. Expression of foreign gene in myeloid and lymphoid cells derived from multipotent hematopoietic precursors. *Nature* 1985; 318: 149-54.
43. Lemischka IR, Raulet DH, Mulligan RC. Developmental potential and dynamic behavior of hematopoietic stem cells. *Cell* 1986; 45: 917-27.
44. de la Rubia J, Sanz MA. Autologous peripheral blood stem cell transplantation for acute leukaemias. *Baillière's Clinical Haematology* 1999; 12, 139-50.