



Universitat Autònoma de Barcelona

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

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

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

**Estudi de la freqüència i del pronòstic
d'alteracions citogenètiques a la leucèmia
aguda limfoblàstica de l'adult i en
subtipus específics
(MLL i Philadelphia)**

Tesi presentada per

Cristina Motlló Borrella

Per optar al grau de

Doctora

Programa de Doctorat en Medicina.

Directors:

Professor Josep Maria Ribera Santasusana

Professor Evarist Feliu Frasnado

Universitat Autònoma de Barcelona

Departament de Medicina

Facultat de Medicina

2017

**Estudi de la freqüència i del pronòstic
d'alteracions citogenètiques a la leucèmia
aguda limfoblàstica de l'adult i en subtipus
específics
(MLL i Philadelphia)**

Tesi presentada per

Cristina Motlló Borrella

Per optar al grau de

Doctora

Programa de Doctorat en Medicina

Directors:

Professor Josep Maria Ribera Santasusana

Professor Evarist Feliu Frasnado

Universitat Autònoma de Barcelona

Departament de Medicina

Facultat de Medicina

2017

A la tieta sorda
i a la iaia pilonga.

Al Christian.

.... Nadie quiere soltar el testigo ni ser el primero,
nadie quiere morir ni siquiera quien quiere ir al cielo,
no me gustan los días contados ni voy a contarlos
que en la calle de los imposibles se envuelven milagros...

Mi trozo de cielo, Rosana

Amb el anys aprens que tenir un bon pla
és l'única manera de poder reduir el marge d'error...

L'Arquitecte, Els amics de les arts.

MOTIVACIÓ PERSONAL

El Christian tenia els cabells rossos i els ulls clars que aclucava quan somreia tot tirant el cap a un costat. Tenia 15 anys quan va morir. Recordaré tota la vida quan els meus pares em van dir que el Christian tenia una leucèmia igual que recordaré el dia que em van dir que havia mort. Ja ha deixat de patir. Ràbia. Només ràbia. Ni pena ni impotència. Només ràbia. No era just. Jo ja estudiava medicina i quan em creuava als pares del Christian, un cop mort, sempre els deia on estava fent pràctiques: 'a cardiologia', 'a traumatologia'... però quan vaig estar a hematologia vaig mentir, no vaig ser capaç. No pagava la pena causar records dolorosos. Però després del MIR, un cop vaig escollir plaça, i em van preguntar que faria, tot sent sincera vaig dir que hemato a Can Ruti, l'Ana, sa mare, es va emocionar. Res tornarà al Christian a casa seva, res permetrà que segueixi somrient però cal evitar que a cap casa entri tal pena mai més.

AGRAÏMENTS

A la Raquel i la Marina, per estar sempre i estar 'tan a gusto'.

A la Carla i la Laura i els akelarres incendiariis qualsevol dia i a qualsevol hora.

A la Carol, l'Esther i l'Olga, AC. Per entendre'ns amb només dos lletres.

A la Cris, per les interconsultes per whatsapp i sempre amb resposta.

A la Mireia, sense ella i sense la seva (santa) paciència aquesta Tesi no l'hagués fet mai.

Per tots els swing-outs. Per la caseta de Prats.

Als professionals amb els que he treballat i m'han ensenyat en els tres centres en que he estat.

A la meva família, pels esmorzar sota un llimoner al Casar, per les fotos en moviment a Isòvol i per descobrir-me que Margalef està en un forat.

Als meus pares, per ensenyar-me la importància de la feina ben feta i de la integritat.

ÍNDEX

INTRODUCCIÓ	1
1 Patologia i generalitats de la leucèmia aguda limfoblàstica	3
1.1 Definició i origen clonal de les cèl·lules leucèmiques limfoides	3
1.2 Incidència	4
2 Diagnòstic	5
2.1 Clínica i exploració física	6
2.2 Anàlisi completa	6
2.2.1 Morfologia	6
2.2.2 Hemograma	6
2.2.3 Fase plasmàtica de la coagulació	7
2.2.4 Bioquímica	8
2.3 Proves d'imatge	8
2.3.1 Radiografia de tòrax	8
2.4 Aspirat de moll d'òs	8
2.4.1 Morfologia	8
2.4.2 Citometria de flux	8
2.4.3 Citogenètica	10
2.4.3.1 Estudi	10
2.4.4 Biologia molecular	11
2.5 Altres exploracions	12
2.5.1 Punció lumbar	12
2.5.2 Ecocardiograma o ventriculografia isotòpica	13
3 Classificació	14
3.1 Classificació de la FAB	14
3.1.1 Varietat L1	14
3.1.2 Varietat L2	14
3.1.3 Varietat L3	15
3.2 Classificació de la OMS	15
3.2.1 LAL-B no especificada	15
3.2.2 LAL-B amb anomalies citogenètiques recurrents	15

3.2.3	LAL-T	18
3.2.4	LALA	18
3.3	Classificació per risc citogenètica	20
4	Pronòstic	25
4.1	Edat i sexe	25
4.2	Síndrome limfomatosa	26
4.3	Infiltració del sistema nerviós central	26
4.4	Recòmpte de leucòcits	27
4.5	Immunofenotip / citometria de flux	27
4.6	Citogenètica	28
4.7	Temps en assolir la resposta i estudi de malaltia residual	28
5	Tractament	30
5.1	Esquema	30
5.1.1	Inducció a la remissió	30
5.1.2	Consolidació o intensificació	30
5.1.3	Manteniment	31
5.1.4	Profilaxis del SNC	31
5.1.5	Trasplantament al·logènic de progenitors hematopoètics	31
5.2	Criteris de resposta	32
5.3	Resultats	33
5.4	Tractament de la LAL amb cromosoma Philadelphia (LAL-Ph+)	33
5.5	Tractament de la LAL amb reordenaments KMT2A	34
5.6	Risc de recaiguda	34
5.7	Tractament de les recidives	34
5.7.1	Immunoteràpia	35
5.8	Efectes adversos	38
5.9	Tractament de suport	39
5.9.1	Mesures generals	39
5.9.2	Anitemètics	40
5.9.3	Profilaxis antiinfecciosa	40
5.9.4	Suport transfusional	40

5.9.5 Factors de creixement	41
HIPÒTESI I OBJECTIUS DE L'ESTUDI	43
RESULTATS	49
DISCUSSIÓ	85
CONCLUSIONS	91
BIBLIOGRAFIA	95
APÈNDIX	105

GLOSARI D'ABREVIATURES

ACA: alteracions citogenètiques afegides

BM: biologia molecular

CAR-T cells: chimeric antigen Receptor T cells; limfòcits T amb receptors quimèrics

CID: coagulació intravascular disseminada

CG: citogenètica

CMF: citometria de flux

FAB: grup cooperatiu Franco-Americà-Britànic

FISH: Hibridació Fluorescent in Situ

G-CSF: factor estimulator de colònies granulocítiques

HTLV-1

Ig: immunoglobulina

ITK: inhibidors tirosin cinasa

LAL: leucèmia aguda limfoblàstica

LAL-B: leucèmia aguda limfoblàstica de sèrie B

LALA: leucèmia aguda de línia ambigua

LAL-T: leucèmia aguda limfoblàstica de sèrie T

LAM: leucèmia aguda mieloblàstica

LCR: líquid cefalorraquidi

LDH: làctic-deshidrogenasa

MMR: malaltia mínima residual

OMS: organització mundial de la salut

Ph: Philadelphia

RC: resposta completa

RT-PCR: reacció de la cadena de la polimerasa amb la transcriptasa inversa.

SMD: síndrome mielodisplàstica

SNC: sistema nerviós central.

SP: sang perifèrica

TC: tomografia computeritzada

TCR: receptor de Cèl·lules T

TPH: trasplantament de progenitors hematopoètics

VEB: virus Epstein-Barr

VHB: virus de la hepatitis B

VHC: virus de la hepatitis C

VIH: virus de la immunodeficiència humana

ÍNDIX DE TAULES

Taula 1. Classificació immunofenotípica des les LAL-B

Taula 2. Classificació immunofenotípica de les LAL-T

Taula 3. Alteracions citogenètiques estructurals més freqüents per a la LAL-B

Taula 4. Alteracions citogenètiques estructurals més freqüents per a la LAL-T

Taula 5. Alteracions citogenètiques més freqüents en infants i adults amb LAL: estudi de la freqüència i el pronòstic.

Taula 6. Definició dels grup de risc genètic per a LAL-B pediàtrica.

Taula 7. Factors pronòstics en el moment del diagnòstic d'una leucèmia aguda limfoblàstica.

Taula 8. Recomanacions per la prevenció infecciosa en pacients amb leucèmia aguda limfoblàstica que reben tractament quimoteràpic

ÍNDIX DE FIGURES

Figura 1. Cèl·lules limfoblàstiques a sang perifèrica amb tinció de May-Grünwald-Giemsa.

Figura 2. Principals alteracions cromosòmiques estructurals.

Figura 3. A. Distribució de les alteracions cromosòmiques recurrents en la LAL-B. B. Distribució de les alteracions cromosòmiques recurrents en la LAL-B Ph negativa. C. Co-expressió de les alteracions citogenètiques recurrents.

Figura 4. Supervivència global en funció del subgrup citogenètic en pacients amb LAL.

Figura 5. Supervivència lliure de progressió i supervivència global en pacients amb LAL-B en recaiguda estratificats per grups de risc clínic i citogenètic.

Figura 6. Risc acumulat de recaiguda en funció de la MMR i la citogenètica.

Figura 7. Mecanisme d'acció de l'inotuzumab.

Figura 8. Mecanisme d'acció del blinatumomab.

Figura 9. Esquema de la producció de les CAR-T cells.

INTRODUCCIÓ

1. GENERALITATS DE LA LEUCÈMIA AGUDA LIMFOBLÀSTICA

1.1 Definició i origen clonal de les cèl·lules leucèmiques limfoides.

La leucèmia aguda limfoblàstica (LAL) és una neoplàsia que sorgeix d'un clon cel·lular immadur que ha sofert una lesió genètica que la condueix cap a un creixement sense regulació ni diferenciació completa¹. Aquest creixement clonal s'ha demostrat per estudis citogenètics. No obstant, també s'ha demostrat que existeix un creixement cel·lular heterogeni dels tumors sigui per heterogeneïtat intertumoral (diferents alteracions per a un mateix tipus de càncer en diferents pacients), heterogeneïtat subclonal (diferents clons dins el mateix tumor que pateix un únic pacient) o per l'heterogeneïtat cel·lular (diferències entre cèl·lules del mateix clon)². L'origen d'aquesta heterogeneïtat, encara en estudi, té dues teories principals no excloents entre elles: el model de les cèl·lules mares³ (en que el creixement és jeràrquic i a partir de diferents cèl·lules mares creixen diferents subclons tumorals) i el model de l'evolució clonal⁴ (que es basa en l'acumulació d'alteracions genètiques). Aquesta alteració que afecta a un o diversos protooncogenes els transforma a oncogenes i desenvolupen la leucèmia no sempre és identificable, ara per ara, per l'estudi cromosòmic o genètic que es realitza en el moment del diagnòstic. De la mateixa manera, encara no queda clar quin és o quins són els desencadenants d'aquesta(es) lesió(ns) genètica(ques) que desenvolupa el creixement cel·lular descontrolat. Determinats fets suggereixen factors genètics (el risc d'un germà bessó a patir una leucèmia aguda és més elevat que el de la població general sobretot si són menors d'un any), factors ambientals (la radiació ionitzant de les bombes atòmiques o les centrals nuclears, la radioteràpia...), factors tòxics com determinats fàrmacs (alquilants en general, l'etopòsid) o inclús virus (VEB o HTLV-1, entre altres)⁵.

Segui com sigui, la replicació clonal i descontrolada comporta l'acumulació dels blasts al moll de l'os desplaçant les cèl·lules sanes madures i causant, d'una banda, la simptomatologia clínica per el dèficit de les 3 sèries cel·lulars i d'altra, una infiltració dels diversos òrgans i teixits. Ambdós fet expliquen les manifestacions clíniques de les leucèmies.

1.2 Incidència

La LAL afecta tant a adults com a infants sent el càncer més freqüent en els nens (aproximadament un 30% de tots els càncers infantils). Presenten un pic d'incidència entre els 2 i 5 anys i apareixen en un 75% dels casos en nens menors de 6 anys. Posteriorment la incidència decau i representa menys del 15% de les leucèmies agudes en adults majors de 50 anys. L'edat mediana de presentació és de 25-30 anys i actualment la incidència a l'estat espanyol és de 30 casos/1.000.000 habitants i any⁶, representant el 15-20% de les leucèmies en adults⁷. Es considera que anualment apareixen entre 1-4 casos cada 75.000-100.00 habitants.

2. DIAGNÒSTIC

Els signes i símptomes clínics de la LAL provenen de la insuficiència medul·lar i de la infiltració d'òrgans i teixits, i són inicialment inespecífics (astènia, anorèxia, febre vespertina, pal·lidesa...) motiu pel qual es poden confondre amb una virasi. És l'estudi hematològic el que posa en alerta la sospita diagnòstica per la presència de blasts a la sang perifèrica (SP). Sota la sospita d'una LAL, després de l'anamnesi i l'exploració física, l'estudi diagnòstic s'ha de completar amb proves analítiques i d'imatge complementàries i l'estudi del moll de l'os⁸.

- Anamnesi: simptomatologia B, síndrome tòxica, inici de la clínica.
- Exploració física: estudi d'adenopaties i organomegàlies abdominals, focalitat neurològica.
- Analítica completa:
 - Hemograma amb recompte manual, descripció i recompte absolut i percentual de les cèl·lules blàstiques presents.
 - Fase plasmàtica de la coagulació.
 - Bioquímica sèrica bàsica amb estudi de les proves de funció renal i hepàtica, determinació de la làctic-deshidrogenasa (LDH) i ionograma.
 - Serologies víriques (VHB, VHC i VIH).
 - Determinació del grup sanguini.
- Proves d'imatge:
 - Radiografia de tòrax
 - Tomografia computeritzada (TC), si procedeix.
- Aspirat de moll de l'os
 - Mielograma amb estudi morfològic.
 - Citometria de Flux (CMF) / immunofenotipat.
 - Citogenètica (CG).
 - Biologia Molecular (BM).
- Estudi HLA (un cop confirmat el diagnòstic) del malalt i dels seus germans, ampliable a altres familiars si és precís.
- Altres: punció lumbar per a l'estudi del líquid cefaloraquídi (LCR)

La presència de cèl·lules blàstiques a SP permet sospitar el diagnòstic de leucèmia aguda, però el seu estudi al moll de l'ós és el que dona el diagnòstic i la classificació definitiva del tipus de leucèmia aguda i requereix de totes les tècniques disponibles: morfologia, citoquímica, CMF, CG, BM.

2.1 Clínica i exploració física

Les manifestacions clíniques apareixen habitualment poques setmanes abans del diagnòstic, rarament superen les 10 setmanes, considerant-se, per tant, d'inici agut. La simptomatologia més freqüent és la febre (50% dels casos) que en un 75% d'aquests és vespertina i de causa tumoral⁶ i els dolors ossis o articulars. Rarament consulten per aparició de masses o adenopaties ja que a nivell perifèric només apareixen en un 30% dels casos. Més freqüents són l'esplenomegàlia o l'hepatomegàlia (60 i 40%, respectivament) que s'objectiven en l'exploració física. També és important l'exploració neurològica donat que, tot i ser rara, la infiltració del sistema nerviós central (SNC) té gran importància a l'hora de planificar el tractament.

2.2 Analítica completa

2.2.1 Morfologia

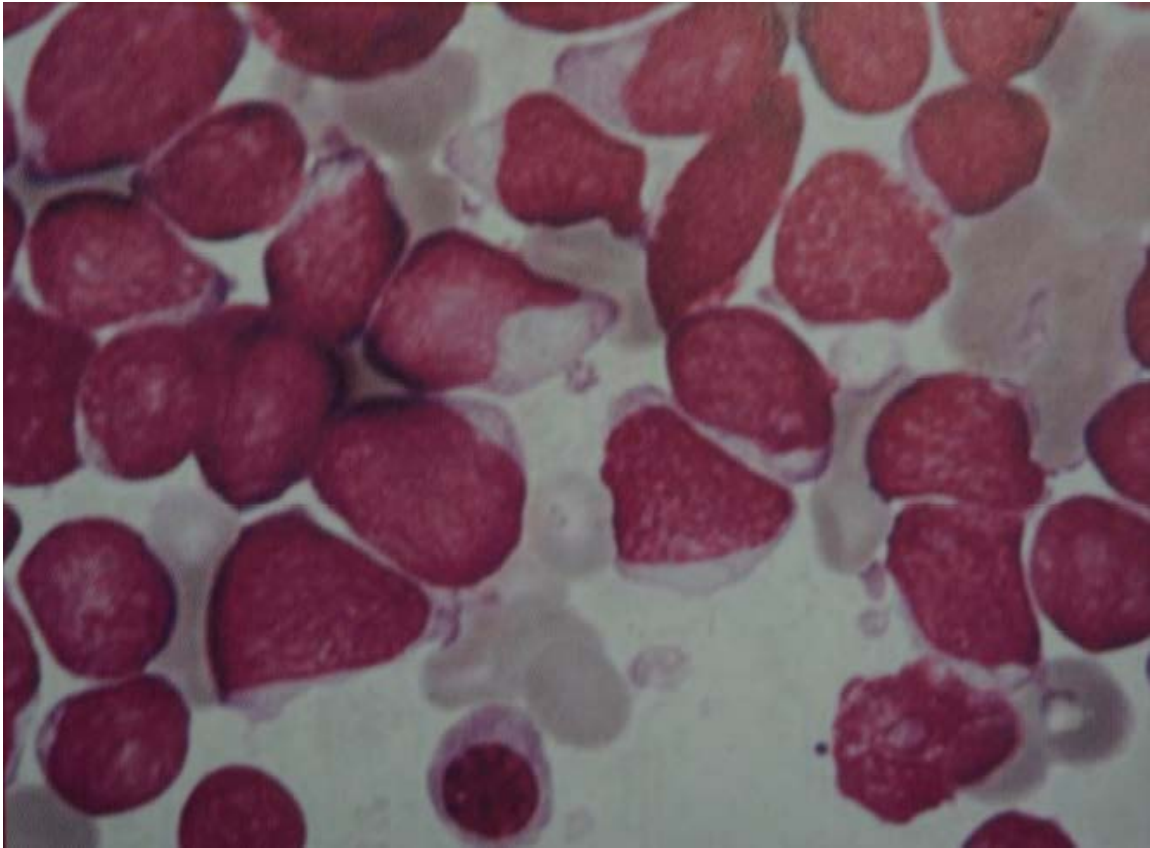
La revisió manual de la fórmula leucocitària i de l'aspirat de moll d'os amb el microscopi és la primera i més important prova per a dur al diagnòstic de la LAL. Els blasts són identificables a SP en el 80-90% de les LAL⁶.

La cèl·lula blàstica limfoide es caracteritza per la immaduresa i la presència d'una cromatina laxa i durant molt anys l'estudi de la seva mida, de les irregularitats del nucli i la seva forma, de l'aspecte de la cromatina, del número i de la mida dels nuclèols, del grau de la basofília i de l'existència de vacuoles en el citoplasma va permetre la classificació de les LAL en 3 subtipus⁷ (veure apartat 3.1)

2.2.2 Hemograma

2.2.2.1 Anèmia: el 80% de les LAL presenten anèmia, generalment normocítica i normocroma però pot esdevenir amb trets megaloblàstics per consum d'àcid fòlic per part de les cèl·lules blàstiques.

Figura 1. Cèl·lules limfoblàstiques a sang perifèrica amb tinció de May-Grünwald-Giemsa⁷.



2.2.2.2 Trombocitopènia: un 65% del casos presenta un recompte plaquetar menor de $50 \times 10^9/L$, però la trombocitopènia sovint és asimptomàtica.

2.2.2.3 Leucocitosi / leucopènia: entre un 15-20% dels pacients amb LAL presenta leucopènia (recompte de leucòcits inferior a $5 \times 10^9/L$) i 75% leucocitosi ($>12 \times 10^9/L$), però només en un 15% de casos la LAL és hiperleucocitòsica ($>100 \times 10^9/L$).

2.2.3 Fase plasmàtica de la coagulació

Tot i que la coagulació intravascular disseminada (CID) és poc freqüent (<5% dels casos), és habitual trobar alteracions en els nivells de fibrinogen no clínicament significatives.

2.2.4 Bioquímica

L'augment de la LDH i la hiperuricèmia són les alteracions més freqüents (40-50% del casos) i cal tenir present que valors elevats de creatinina (>1,5mg/dL) i d'àcid úric augmenten el risc de patir una síndrome de lisi tumoral.

2.3 Proves d'imatge:

2.3.1 Radiografia de tòrax

Previ a qualsevol inici de tractament quimioteràpic en un pacient amb LAL és recomanable realitzar una radiografia de tòrax per descartar la presència d'una massa mediastínica (present en un 10% dels pacients)⁶.

2.4 Aspirat de moll d'ós⁸

2.4.1 Morfologia

El diagnòstic de leucèmia aguda requereix la presència de més del 30% de cèl·lules blàstiques segons els antics criteris del grup cooperatiu Franco-Americà-Britànic (FAB), o d'un 20% seguint els actuals criteris de la Organització Mundial de la Salut (OMS) en el recompte de 500 cèl·lules o més en l'estudi del moll de l'ós per aspirat (la biòpsia de moll d'ós només aporta informació extra en els casos en els quals l'aspirat resulta sec⁷). Aquest recompte es fa per l'observació directa post-tinció amb May-Grünwald-Giemsa de les cèl·lules progenitores. I es complementa amb la citoquímica: mieloperoxidasa, periòdic acid-Schiff (PAS) α -naftil-acetat-estarasa (ANAE), per exemple

2.4.2 Citometria de flux

És un component essencial per al diagnòstic inicial de la LAL i a més permet el seguiment de la resposta durant el tractament a partir de l'estudi de la malaltia mínima residual (MMR). L'estudi immunofenotípic aporta la identificació de la línia cel·lular, l'avaluació de la maduració cel·lular i la valoració de les aberracions fenotípiques.

Les LAL de línia B (LAL-B) representen el 80% de les LAL i poden ser classificades en 4 subgrups en funció de l'expressió dels antígens de diferenciació i de les immunoglobulines (Ig) a nivell citoplasmàtic o en la membrana de superfície.

Tot i que la classificació de la LAL-B o la LAL de línia T (LAL-T) s'ha convertit en sistemàtica, encara hi ha casos que generen molta dificultat per identificar-los com LAL o leucèmia aguda mieloblàstica (LAM) donat que presenten els dos marcadors i cal diferenciar-los entre leucèmia amb marcadors aberrants (marcadors mieloides en LAL), leucèmia bifenotípica (les cèl·lules blàstiques presenten marcadors mieloides i limfoides) i leucèmia híbrida (hi ha dues clones: una mioide i una limfoide). Actualment, i des de la darrera classificació de la OMS, aquest tipus de leucèmies tenen el nom de leucèmies agudes de línia ambigua (LALA) i es desenvolupen més a l'apartat 3.2 d'aquesta Tesi.

Taula 1. Classificació immunofenotípica des les LAL-B⁶

LAL-B	TdT	HLA-DR	CD19	CD79a	CD10	Clg	Slg
ProB	+	+	+	+	-	-	-
B comú	+	+	+	+	+	-	-
Pre-B	+	+	+	+	+	+	-
B madura	-	+	+	+	±	-	+

Taula 2. Classificació immunofenotípica de les LAL-T⁶

LAL-T	citCD3	sCD3	CD7	CD1a	TdT	CD2	CD5	CD4/CD8
Pro-T	+	-	+	-	+ o ±	-	-	- / -
Pre-T	+	±	+	-	+ o ±	+	+	± / ±
Tímica cortical	+	+	+	+	+	+	+ / -	± / ±
Tímica madura	+	+	+	-	±	+	+ / -	± / ±

Paral·lelament, l'avanç científic ha permès poder utilitzar amb finalitat terapèutica anticossos monoclonals quimèrics o humanitzats en contra de determinats antígens de superfície, tals com antiCD19 o antiCD22, entre d'altres. Així doncs, l'estudi immunofenotípic ha passat de ser una tècnica purament diagnòstica i de classificació a ser un element necessari per realitzar el tractament de forma individualitzada.

2.4.3 Citogenètica

L'estudi citogenètic és de gran importància donat que les alteracions citogenètiques representen un factor pronòstic independent en els pacients infantils i adults amb LAL⁹ i es troba desenvolupat en l'apartat 3.3 d'aquesta Tesi Doctoral.

2.4.3.1 Estudi

L'estudi del cariotip i de les seves alteracions són les bases per intentar entendre l'origen de la pròpia malaltia. Aquest estudi sovint es complica per les limitacions pròpies de la tècnica en LAL, amb dificultat per al creixement de metafases que impedeix l'estudi complet dels cromosomes.

Les alteracions citogenètiques es poden classificar com estructurals o numèriques. La hiperdiploidia consisteix en el guany de cromosomes addicionals pel que el número total de cromosomes excedeix els 46 amb la implicació d'informació extra i /o repetida. La hiperdiploidia està present en un 5-10% en adults i 30-35% dels casos a la infància i s'associa amb un pronòstic favorable en aquest darrer grup d'edat. Al contrari, la hipodiploidia, és a dir la pèrdua de cromosomes, té pitjor pronòstic i està present en menys d'un 10% dels casos. Les alteracions citogenètiques més freqüents en la LAL són les estructurals, generalment translocacions, que en la majoria de casos són poc comuns. Al voltant de 30 translocacions són 'freqüents' i algunes d'elles tenen un pronòstic clarament definit com els casos de la t(9;22), t(4;11) i s'han determinat com subtipus específics, totes elles desenvolupades en l'apartat 3.2.2 d'aquesta Tesi. Les alteracions citogenètiques representen un factor pronòstic independent en la LAL¹⁰.

Amb l'intent d'augmentar el número de casos avaluable s'han anat introduint noves tècniques:

- a) Hibridació fluorescent in situ (FISH): es basa en la detecció de seqüències conegudes de DNA tant en metafases com en nucli cel·lular, en interfase, i per tant és una tècnica vàlida quan no s'aconsegueixen metafases viables per a l'estudi citogenètic clàssic.
- b) Hibridació genòmica comparativa: tampoc precisa del cultiu cel·lular. S'utilitza per l'estudi d'una mostra d'ADN en comparació amb una mostra de

referència i permet la identificació de regions cromosòmiques sobre expressades o infraexpressades, és a dir, guanys i pèrdues d'informació (alteracions numèriques) però no identifica alteracions cromosòmiques equilibrades (translocacions, per exemple).

- c) Cariotip espectral: distingeix els 23 parells de cromosomes al mateix temps amb cada parell pintat en un color fluorescent diferent. Aquesta tècnica permet identificar translocacions (inclús aquelles que són críptiques), insercions, reordenaments i cromosomes marcadors.

Aquests estudis complementen l'estudi citogenètic convencional sent aquest el que permet l'anàlisi de tot el cariotip, mentre que les tècniques moleculars són les que permeten detectar alteracions que poden ser difícils d'identificar amb l'estudi convencional.

Les alteracions citogenètiques en la LAL es poden classificar com numèriques o estructurals. Dins de les alteracions numèriques destaca:

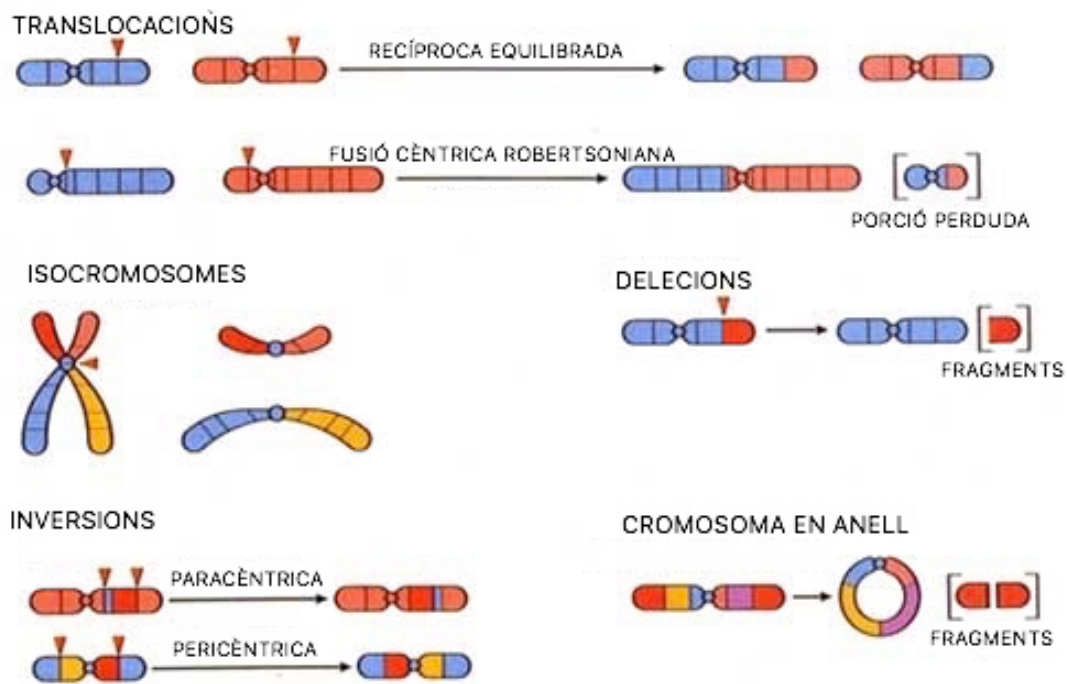
- a) Hiperdiploidia: es refereix al guany de cromosomes (>46 cromosomes) i apareix en el 2-15%^{9,11} dels casos dels pacients adults i en el 25%⁹ dels nens amb LAL. L'impacte pronòstic és clarament molt favorable en els nens però menys evident en els adults.
- b) Hipodiploidia: implica la pèrdua d'un o més cromosomes (<46 cromosomes) amb la seva informació genètica corresponent, el que repercuteix negativament en el pronòstic. Apareix en el 2-9% dels pacients adults amb LAL^{9,11} i en <10% dels nens.

La majoria de les alteracions que es troben en l'estudi citogenètic de les LAL són estructurals, per exemple, delecions, translocacions, duplicacions o inversions entre d'altres. S'han descrit més de 30 translocacions però donat que la gran majoria de les translocacions són infreqüents l'estudi del seu impacte pronòstic és difícil.

2.4.4 Biologia molecular

Des del punt de vista molecular, les LAL poden ser de línia B o T donat que presenten el reordenament clonal del gen de les immunoglobulines (Ig) o del

Figura 2. Principals alteracions cromosòmiques estructurals.



receptor de cèl·lules T (TCR), respectivament. L'estudi de la reacció de la cadena de la polimerasa amb la transcriptasa inversa (RT-PCR) ha permès la identificació tant de la presència leucèmica clonal de Ig o TCR com de la identificació de regions específiques de fusió de gens en reordenaments de cromosomes (translocacions, delecions o inversions). Les alteracions qualitatives són aquelles que generen gens de fusió amb una proteïna quimèrica i les podem trobar expressades en la Taula 3 per la LAL de línia B i en la Taula 4 per la LAL de línia T.

2.5 Altres exploracions

2.5.1 Punció lumbar: un 2-3 % de pacients amb leucèmia aguda presenten infiltració del SNC per estudi del LCR al diagnòstic i requereixen tractament a aquest nivell. Es realitza de forma sistemàtica en el moment del diagnòstic i es va repetint cada vegada que s'administra tractament intratecal com a profilaxis de la leucèmia en el SNC i sempre que hi hagi sospita d'afectació en qualsevol altre període de la malaltia.

Taula 3. Alteracions citogenètiques estructurals més freqüents per a la LAL-B⁸.

Alteració	Gens implicats	Incidència	Test
t(9;22)(q34;q11)	BCR / ABL	Adults 30% Nens 3-5%	RT-PCR
t(12;21)(p13;q22)	TEL / AML1	Adults <1% Nens 20-25%	RT-PCR
t(4;11)(q21;q23)	KMT2A / AF4	Adults 5% Nens 60%	RT-PCR
t(1;q23;p13)	E2A / PBX1	5%	RT-PCR
t(8;14) (q24;q32)	c-MYC / IgH	1%	FISH
t(17;19)(q22;p13)	E2A / HLF	<1%	RT-PCR
t(11;19)	MLL / ENL	<1%	RT-PCR
Mutacions JAK	JAK 1 / 2 / 3	10%	Seqüenciació

Taula 4. Alteracions citogenètiques estructurals més freqüents per a la LAL-T⁸.

Alteració	Gens implicats	Incidència	Test
t(10;14)(q24;q11)	HOX11 / TCR α / δ	Adults 31%	RT-PCR
t(7;19)(q34;q24)	HOX11 / TCR β	Nens 7%	
t(5;14)(q35;q32)	HOX11L2 / TCR α / δ	Adults 13% Nens 20%	RT-PCR / FISH
t(1;14)(p32;q11)	TAL1 TCR α / δ	1-3%	RT-PCR
Mutacions NOTCH	NOTCH1	50%	Seqüenciació
Mutacions JAK1	JAK1	18%	Seqüenciació

2.5.2 Ecocardiograma o ventriculografia isotòpica (si procedeix per edat i/o antecedents) per a determinar una bona funcionalitat contràctil del miocardi (fracció d'ejecció del ventricle esquerre).

3. CLASSIFICACIÓ

Les leucèmies agudes limfoblàstiques s'han anat classificant de forma diferent paral·lelament a la introducció de noves tècniques diagnòstiques. Don ben conegudes són la classificació de la FAB amb tres subtipus (LAL tipus 1, 2 i 3) i que contempla aspectes citològics; la classificació d'EGIL (grup Europeu per a la caracterització immunològica de les leucèmies) que afegeix la citometria de flux a la caracterització dels 4 subtipus de leucèmies B (Pro-B, B comú, Pre-B i B madura) i dels 4 subtipus de leucèmies T (Pro-T, Pre-T, Tímica cortical i Tímica madura). La classificació vigent, del 2008 i revisada al 2016, la va publicar la OMS on a més es tenen en compte les alteracions citogenètiques més recurrents: t(9;22), t(v;11q23), t(12;21), t(5;14), t(1;19), hiperdiploide i hipodiploide a més de les NOS (not otherwise specified)^{12,13}. La classificació per risc on es contempla la citogenètica és de gran rellevància donat que permet ajustar la intensitat del tractament per intentar reduir el fracàs al mateix.

3.1 Classificació de la FAB

La classificació FAB va ser la classificació de referència utilitzada des de la seva creació al 1976 fins a inicis de segle XXI. Dividia les LAL en 3 grups segons la seva morfologia a sang perifèrica i moll de l'ós revisant la mida de la cèl·lula blàstica, la forma dels nuclis, presència i número de nuclèols, la quantitat de citoplasma, vacuolització del mateix i la basofília després de la tinció. Clàssicament es van considerar 3 subgrups: L1, L2 i L3.

3.1.1 Varietat L1

S'observa més freqüentment en nens sent el 85% dels casos de LAL a la infància i menys d'un 30% en adults.

3.1.2 Varietat L2

És la varietat més freqüent en adults (70%) i en nens es fa progressivament més freqüent dels 10 anys en endavant.

3.1.3 Varietat L3

També coneguda com varietat tipus Burkitt, és la menys freqüent de les tres varietats (<5%). En l'estudi medul·lar típicament la infiltració és massiva i s'identifiquen cèl·lules en mitosi.

S'han descrit formes especial i característiques morfològiques tal com la LAL-B en mirall de mà (hand mirror cell leukemia) en que el citoplasma presenta una prolongació que els hi dóna aquest aspecte però no té significat pronòstic; la LAL-B hipergranular o la LAL-B amb maduració que sí es relaciona amb pitjor pronòstic. També s'ha observat relació entre l'observació de micromegacariòcits i la presència del cromosoma Philadelphia.

3.2 Classificació segons la OMS

L'any 2008 la Organització Mundial de la Salut va publicar la classificació que avui serveix per a la classificació de les LAL¹², estratificar el risc i ajustar el tractament. Recentment s'ha realitzat una revisió¹³.

3.2.1 LAL-B no especificada: descrita durant tot el treball.

3.2.2 LAL-B amb alteracions citogenètiques recurrents: tot i que la recurrència d'alteracions citogenètiques associades és alta i molt diversa tant de translocacions balancejades com d'alteracions numèriques com qualsevol altre anomalia cromosòmica. La selecció de les següents entitats genètiques com a 'independents' s'ha fet donat que presenten trets clínics i fenotípics distintius, que tenen impacte pronòstic, que són biològicament diferents i, generalment, són mútuament exclouïbles.

3.2.2.1 LAL-B amb t(9;22)(q34;q11.2); BCR/ABL1: més freqüent en adults (entre l'11 el 29% de les LAL-B segons les sèries podent arribar a més del 35% si el diagnòstic es fa per biologia molecular⁹) que en nens (2-4%) i la translocació equilibrada entre els cromosomes 9 i 22 origina el cromosoma Ph en pràcticament la totalitat dels casos però en aproximadament un 3% s'identifiquen translocacions variants on està implicat un tercer cromosoma⁹. Típicament expressa CD10, CD19, CD34 i TdT, marcadors mieloides com CD13 o CD33, però

CD177 rarament s'expressa. CD25 i CD66c es relacionen freqüentment amb t(9;22). Per la fusió de BCR i ABL es genera una proteïna que tant pot ser de 190kd com de 210kd. La isoforma p190 és la més freqüent tant en nens com en adults tot i que en d'adults es pot identificar en alguns casos la isoforma p210 que és, a la vegada, la isoforma més freqüent en la leucèmia mieloide crònica. L'estudi del cariotip identifica alteracions citogenètiques afegides al voltant del 70% dels casos amb sèries que descriuen entre el 45% i el 80%⁹ i la més freqüent és la monosomia del cromosoma 7^{9,14-15}. El mal pronòstic que aquesta translocació implica és ben conegut, de la mateixa manera que ho és el fet que els inhibidors de la tirosin-cinasa han revertit aquest mal pronòstic¹⁶⁻¹⁸.

3.2.2.2 LAL-B amb t(v;11q23); reordenaments *KMT2A*: aquesta translocació pot aparèixer en fase fetal, el temps entre l'aparició del reordenament i de la leucèmia és curt, per això és l'alteració més freqüent en infants menors d'1 any. És més rara en nens de més edat i a partir de l'edat adulta la incidència creix de nou arribant a ser de fins un 7%. Es relaciona amb recompte de leucòcits molt elevats (>100x10⁹/L) i més risc d'infiltració del SNC. En l'estudi citomètric acostuma a presentar positivitat per CD19 i CD15 i negativitat per a CD10 i CD24 i típicament, però no exclusivament, expressa la condroitín sulfat proteoglicà de la neuroglia2 (NG2). Genèticament l'11q23 pot tenir diferents unions en la translocació i la més freqüent és el cromosoma 4q21 (AF4). Sovint es relaciona amb sobreexpressió del gen *FLT-3*. És una alteració que implica mal pronòstic, sobretot en pacients de menys de 6 mesos.

3.2.2.3 LAL-B amb t(12;21)(p13;q22); *TEL/AML1 (ETV6/RUNX1)*: es considera una lesió en fases inicials de la leucemogènesi i aquesta translocació és necessària però no suficient per desenvolupar la leucèmia. És més freqüent en nens, representant en ells el 25% de les LAL-B. Rarament és veu en nadons i a mesura que augmenta l'edat disminueix la seva incidència, de manera que és rar de veure en l'edat adulta. Des del punt de vista del immunofenotip, presenta en més casos la positivitat de CD34 i sovint són CD9, CD20 i CD66c negatives. El seu pronòstic és favorable, amb curacions superiors al 90% en nens i les recaigudes, si apareixen, són més tardanes. No obstant, si el nen alberga altres factors de

mal pronòstic el desenllaç no serà tan bo, però sí que serà millor que si només tingués els mateixos factors de mal pronòstic.

- 3.2.2.4 LAL-B amb hiperdiploïdies: el cariotip identifica >50 i <66 cromosomes, típicament sense alteracions estructurals associades. És la més comuna en nens (25% dels casos), rara en lactants i adolescents i disminueix la freqüència amb l'edat, de manera que és pràcticament inexistent a l'edat adulta. A l'estudi per citometria de flux rarament expressen CD45 però són CD10, CD19 i CD34 positius. Per citogenètica s'identifica la presència de còpies extres dels cromosomes, còpies que no són aleatòries, i les trisomies X, 4, 6, 10, 14, 17, 18 o 21 representen el 70% dels casos¹⁹. S'ha descrit que més que el número de còpies extres el que és més important és el cromosoma concret que presenta la trisomia, sent de millor pronòstic les trisomies dels cromosomes 4, 10 i 17^{20,21}. Té molt bon pronòstic i presenta taxes de curació de més del 90%, especialment en aquells nens en que la resta de paràmetres també els hi són favorables.
- 3.2.2.5 LAL-B amb hipodiploidies: en aquest cas el cariotip detecta <46 cromosomes i representa el 5% de les LAL tant d'adults com de nens i poden associar-se a alteracions citogenètiques estructurals sense identificar-se cap que tingui més tendència a presentar-se. Si ens limitem a aquells casos amb <45 cromosomes la freqüència baixa a l'1%. Les haploïdies o quasi-haploïdies (23-29 cromosomes) apareixen pràcticament de forma exclusiva en nens. No presenten característiques clíniques, morfològiques ni citomètriques específiques. El pronòstic és pitjor i empitjora de forma directament proporcional al número de cromosomes que falten.
- 3.2.2.6 LAL-B amb t(5;14)(q31;q32); IL3/IGH: molt rara, representa menys de l'1% de les LAL i pot aparèixer tant en adults com en nens. Sovint es presenta amb eosinofília sense blasts a sang perifèrica pel que la sospita de LAL no és tan evident. Els eosinòfils són reactius i no formen part del clon leucèmic. Els blasts són CD10 i CD19 positius i trobar-ne, encara que siguin pocs, en pacients amb eosinofília ha de fer pensar en aquest subtipus de LAL. No sembla tenir un pronòstic diferent que el general de les LAL però la baixa freqüència de presentació fa que no sigui fàcil estudiar-les.

3.2.2.7 LAL-B amb t(1;19)(q23;p13.3); E2A/PBX1 (TCF3/PBX1): relativament freqüent en nens, representa el 6% de les LAL en aquest grup de la població, més rarament apareix en adults. Per citometria de flux es pot sospitar aquesta alteració per expressió intensa de CD9 i negativitat de CD34 i sovint els blasts expressen fenotip de cèl·lula pre-B amb positivitat de cadenes pesades. Els tractaments intensius actuals han aconseguit millorar la supervivència dels malalts afectats per aquesta LAL.

A la revisió realitzada al 2016 s'han afegit dos entitats noves a tenir en compte¹³:

3.2.2.8 LAL-B amb amplificacions intracromosòmiques del cromosoma 21.

3.2.2.9 LAL-B amb translocacions que afecten la tirosin-cinasa o els receptors de citocines (LAL BCR-ABL1-like).

També ha posat l'atenció sobre la relació entre les LAL amb hipodiploidia i les mutacions de *TP53*.

3.2.3 LAL-T: representa el 15% de les LAL de la infància i 25% dels adults. Més freqüent en sexe masculí. Típicament es presenta de forma hiperleucocitòsica i pot preservar la resta de sèries. A l'exploració física i proves complementàries sovint destaquen una gran massa mediastínica, adenopaties de mida gran i hepato-esplenomegàlia per infiltració. A l'estudi de l'immunofenotip generalment són TdT positives i poden expressar CD1a, CD3 i CD3c, CD5, CD7 i CD10 i els blasts poden coexpressar CD4 i CD8. S'identifiquen reordenaments de RT-TCR i, en el 20% dels casos, d'IGH. Tot i que pot presentar diferents alteracions citogenètiques cap es considera prou freqüent per esdevenir una entitat diferent com passa a les LAL-B. Les alteracions més freqüents afecten al TCR als cromosomes 14q11.2, 7p35 i 7p14-15. Un marcador pronòstic important és la persistència de MMR després del tractament d'inducció a la remissió²². D'altra banda, algunes dades genètiques han demostrat associar-se a bon pronòstic, com seria el cas dels reordenaments NOTC1, sobretot en nens.

3.2.4 LALA: acull aquelles leucèmies que no mostren una clara diferenciació a una única línia cel·lular. Això pot ser perquè no presenti antígens específics de cap línia (leucèmies agudes indiferenciades) o be perquè les cèl·lules blàstiques

expressin antigens de més d'una línia cel·lular i no sigui possible assignar cap línia cel·lular amb prou certesa o exactitud (leucèmies agudes de fenotip mixte). Aquest últim subgrup engloba dos tipus de leucèmies que sovint es confonen: la leucèmia bifenotípica i la leucèmia bilineal, sent la primera la que presenta una única població blàstica que expressa antigens de dues línies diferents i la segona la que contén dues poblacions blàstiques cadascuna d'elles de línia diferent. La LALA pot presentar alteracions citogenètiques que apareixen en LAM i LAL però la OMS només contempla la t(9;22) i la t(v;11q23) com a prou importants i freqüents per a esdevenir un subgrup amb entitat en el grup de LALA.

Taula 5. Alteracions citogenètiques més freqüents en infants i adults amb LAL: estudi de la freqüència i el pronòstic²³.

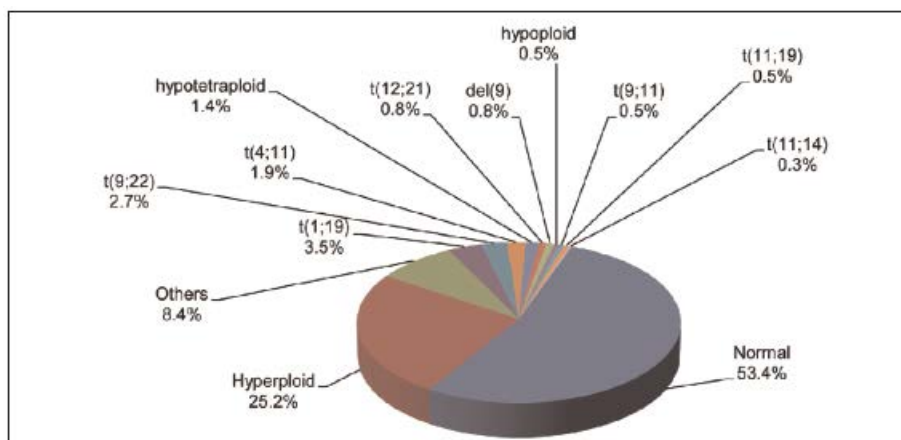
Alteració cromosòmica	Infants		Adults	
	Freqüència	Pronòstic	Freqüència	Pronòstic
Hiperdiploidia alta	23-30%	Favorable	7-8%	Favorable /intermig
Hipodiploidia	65	Intermig si 45 cromosomes Advers si <45 cromosomes	7-8%	Advers
Quasi haploide	0,4-0,7%	Advers	Rar	No determinat
t(12;21)(p13;q22) / ETV6-RUNX1	22-26%	Favorable	0-4%	No determinat
t(9;22)(q34;q11.2)	1-3%	Advers	11-29%	Advers
t(4;11)(q21;q23) / KMT2A-AF4	Fins 55%	Advers	4-9%	Advers
T(1;19)(q23;p13.3) / PBX1-TCF3 (E2A)	1-6%	Favorable	1-3%	Favorable
t(10;14)(q24;q11) / TCRA/TCRD-TLX1 (HOX11)	Rar	No estudiat	<3%	Favorable / intermig
del(6q)	6-9%	Sense rellevància	3-7%	Intermig
Alteracions 9p	7-11%	Advers	5-15%	Favorable
Alteracions 12p	3-9%	Sense rellevància	5%	Favorable
Cariotip normal	31-42%	Favorable (relatiu)	15-34%	Favorable / intermig

3.3 Classificació per risc citogenètic

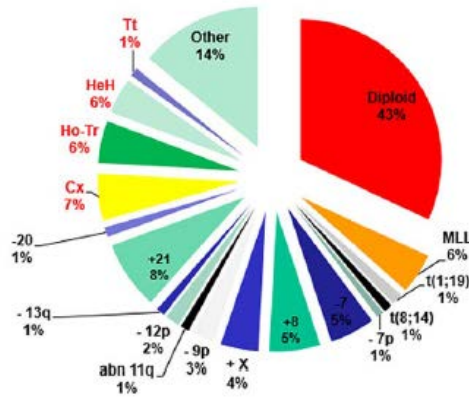
L'estandardització de l'estudi cromosòmic i genètic ha permès la identificació d'alteracions recurrents i la classificació de les leucèmies en funció d'aquestes alteracions. El 'Third International Workshop on Chromosomes in Leukemia'²⁴ va ser el primer estudi que donar a conèixer l'impacte pronòstic independent de determinades alteracions citogenètiques en la LAL de l'adult com són la t(9;22), la t(4;11) i la t(8;14) a més de la hiperdiploidia de >50 cromosomes. En aquest estudi es va demostrar que les alteracions numèriques més freqüents en forma de trisomia eren les +21, +4, +6, +10, +13 i +14 i en forma de monosomia eren -7, -9 i -20. Igualment, des del punt de vista estructural les alteracions més prevalents descrites eren t(9;22), t(4;11), t(8;14), 14q+ i 6q-. Posteriorment s'ha pogut determinar amb més precisió la incidència, l'impacte en el pronòstic (Taula 5 i Figura 3 A i B)^{23,25} i les diferents associacions d'aquestes alteracions entre elles mateixes (Figura 3C)²⁵⁻²⁸.

Figura 3. A. Distribució de les alteracions cromosòmiques recurrents en la LAL-B²⁹. B. Distribució de les alteracions cromosòmiques recurrents en la LAL-B Ph negativa²⁵. C. Co-expressió de les alteracions citogenètiques recurrents²⁵.

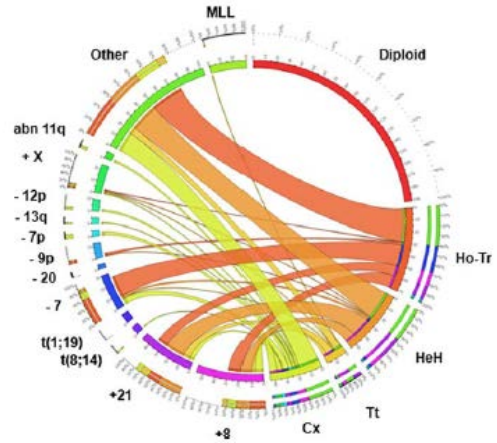
A



B



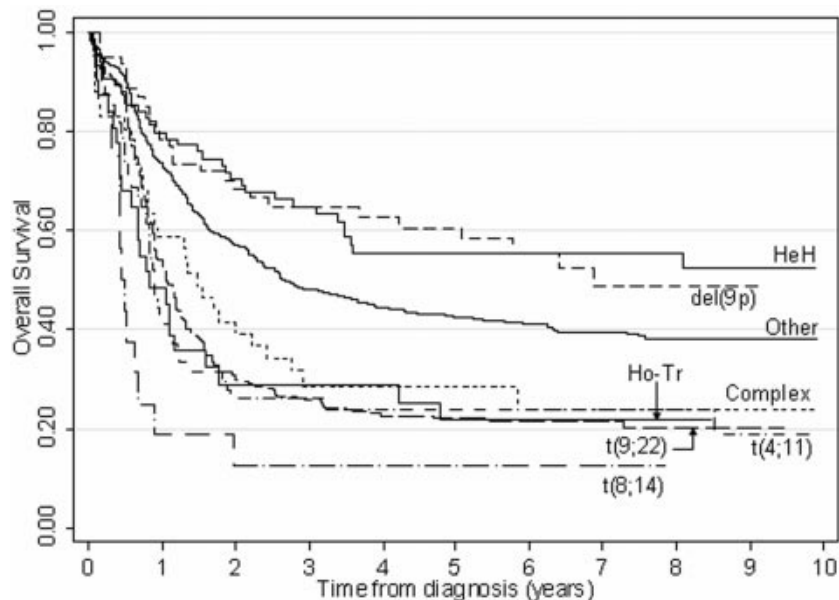
C



Abn: alteracions. Cx Cariotip complexe, HeH high hyperdiploidy, Ho.-Tr low hipodiploidy / near-triploidy, Tt: tetraploidy.

Al 2007 Moorman AV et al van descriure el cariotip complex (CC) dins de les LAL i va analitzar en una població prou àmplia la incidència de les diferents alteracions citogenètiques recurrents i els seu impacte en la supervivència global (SG) i la supervivència lliure de progressió. A la Figura 4 es poden identificar les corbes de SG de les diferents alteracions, podent-se separar en tres grups: Hiperdiploidia i del(9p) com a millor pronòstic, cariotip complex, t(4;11), t(9;22), hipodiploidia baixa / quasi triploïdia i t(8;14) com a pitjor pronòstic i un grup de miscel·lània on s'inclou el cariotip normal amb un impacte pronòstic intermig²⁶.

Figura 4. Supervivència global en funció del subgrup citogenètic en pacients amb LAL²⁶.



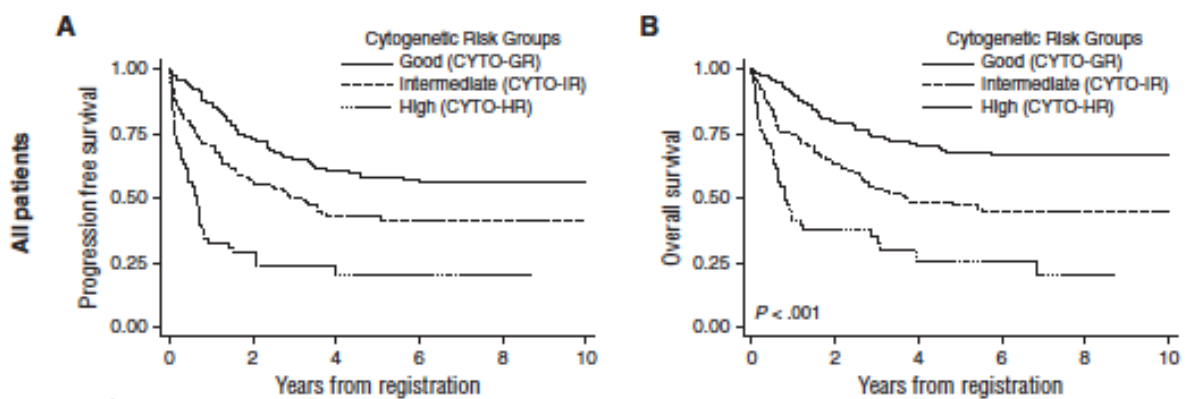
Taula 6. Definició dels grup de risc genètic per a LAL-B pediàtrica³⁰.

Alteracions	Bon pronòstic	Pronòstic intermig	Pronòstic desfavorable
Citogenètica	<ul style="list-style-type: none"> - <i>ETV6-RUNX1</i> / <i>t(12;21)(p13;q32)</i> - Hiperdiploidia alta 	<ul style="list-style-type: none"> - No descrits als altres grups 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>t(9;22)(q34;q11)</i> / <i>BCR-ABL1</i> - <i>MLL/t(v;11q23)</i> - Quasi haplodia (<30 cromosomes) - Hipodiploidia baixa - Quasi triploidia - Amplificacions intracromosòmiques del cromosoma 21 (<i>iAMP21</i>) - <i>t(17;19)(q23;q13)</i> / <i>TCF-HFL</i>
Molecular	<ul style="list-style-type: none"> - Delecions aïllades de <i>ETV6</i>, <i>PAX5</i> o <i>BTG1</i> - Delecions d'<i>ETV6</i> amb delecions aïllades i úniques de <i>BTG1</i>, <i>PAX5</i> o <i>CDKN2A/B</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - No descrits als altres grups 	<ul style="list-style-type: none"> - Qualsevol delecio de <i>IKZF1</i>, <i>PAR1</i>, <i>EBF1</i> o <i>RB1</i>

En el cas de la LAL infantil al 2014 es van descriure 3 grups segons l'expressió genètica i les alteracions citogenètiques: bon pronòstic, pronòstic intermig i pronòstic desfavorable descrits a la taula 6³⁰. En aquest cas les alteracions citogenètiques identificades per l'estudi convencional del cariotip i per FISH s'uneixen amb l'estudi genètic de la presència d'alteracions mitjançant la seqüenciació de mutacions ja conegudes implicades en la diferenciació limfoide. Aquest factor pronòstic és tan important que té impacte tan en la supervivència lliure d'event (SLE), com en el risc de recaiguda i en la SG, només igualable (però amb menys potència estadística) per la MMR³⁰. Igualment afecta en el pronòstic dels pacients en recaiguda/recidiva. A la figura 5 es veu la seva influència en la supervivència global optimitzant la classificació clínica del risc a la recaiguda (que conté l'estudi de l'immunofenotip, la durada de la

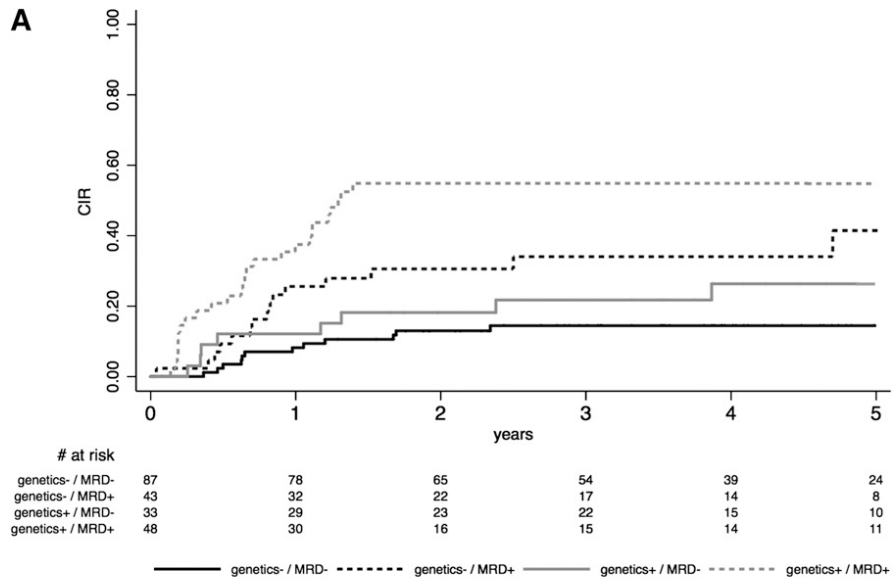
primera RC i la localització de la recaiguda per a determinar el pronòstic)³¹. Amb això s'ha demostrat que la presència d'alteracions citogenètiques d'alt risc confereix una SG i una supervivència lliure de progressió similar en pacients de risc estàndard o alt risc segons la classificació clínica actual.

Figura 5. Supervivència lliure de progressió i supervivència global en pacients amb LAL-B en recaiguda estratificats per grups de risc clínic i citogenètic³¹.



El cariotip al diagnòstic ha esdevingut un dels factors pronòstic més importants²⁷ conjuntament amb el resultat de la MMR en el moment d'assolir la RC, sent en alguns casos tant rellevant el cariotip al diagnòstic que es pot superposar al bon pronòstic de la MMR negativa (Figura 6)³². L'anàlisi inicial del cariotip complet amb l'estudi convencional i FISH permet estratificar per risc als pacient en totes les etapes de la vida i de la malaltia i marcar el pronòstic de la malaltia.

Figura 6. Risc acumulat de recaiguda en funció de la MMR i la citogenètica³².



4. PRONÒSTIC

El pronòstic de la LAL varia de forma significativa segons les característiques del pacient i de la pròpia LAL en el moment del diagnòstic. Actualment, els avenços en el tractament han aconseguit que s'assoleixi curació en el 85% de casos en nens, però quedant-se en una taxa de curació del 45% en adults³³. Clàssicament es tenien en compte l'edat, el sexe, l'exploració física i l'hemograma inicial, però a mesura que la coneixement ha avançat, s'han anat incloent altres factors com l'immunofenotip, l'estudi citogenètic i, més recentment, l'estudi molecular. La rellevància en l'estudi dels factors pronòstics recau en la capacitat de poder ajustar la intensitat del tractament a l'agressivitat de la leucèmia de cada malalt. A la Taula 7 figuren els factors que desenvoluparem a continuació⁸. Cal senyalar que alguns d'aquests factors han perdut el seu significat pronòstic conforme han millorat els resultats del tractament i que darrerament s'ha considerat que el recompte de leucòcits i la citogenètica són el factors pronòstics inicials de risc més importants, afegint-se la determinació de la MMR en el decurs del tractament³³. En la LAL infantil s'han identificat 3 grups: risc estàndard (40% dels casos amb supervivència superior al 90%), risc intermig (40-45% dels casos amb supervivència del 70-80%) i risc alt (10-15%, amb supervivència del 50-60%). En adults hi ha dos grups: risc estàndard (30% dels casos i amb una supervivència del 60-70%) i risc alt (que representa el 70% dels casos amb una supervivència que escassament supera el 40%).

4.1 Edat i sexe

El sexe masculí confereix pitjor pronòstic, encara que això està en discussió en el moment actual. De la mateixa manera l'edat també influeix en el pronòstic. El millor pronòstic el presenten els nens de 1 a 9 anys i a mesura que augmenta l'edat el pronòstic empitjora. A adults majors de 55 anys se'ls hi confereix pitjor pronòstic amb una mediana de supervivència de 0,2 a 3 anys; mentre que els menors de 25 anys presenten molt millor pronòstic de forma independent a altres factors. Els infants menors d'1 anys també presenten molt mala evolució.

Taula 7. Factors pronòstics en el moment del diagnòstic d'una leucèmia aguda limfoblàstica.

Factor	Favorable	Intermig	Desfavorable
Edat	Nens de 1-9 anys Adults de <30 anys		Nens <1 i >10 anys Adults > 35 anys
Sexe	Femení		
Síndrome limfomatosa	-		+
Infiltració del SNC	-		+
Recòmpte de leucòcits	< 30x10 ⁹ /L		≥ 30x10 ⁹ /L (LAL-B) ≥ 100x10 ⁹ /L (LAL-T)
Immunofenotip	Pre-B comú		Pro-B, T
Citogenètica	del(9p) del(12p) t(12;21) hiperdiploidia tetraploidia	t(10;14) alteracions d l'11q del(13q) / -13 cariotip normal	t(9;22) / BCR-ABL t(4;11) / MLL del(7p) / -7 t(1;19) alteracions al 14q23 hipodiploidia cariotip complex
Temps a la resposta			
- Blasts a MO al dia 14	<5%		>25%
- RCC a fi d'inducció	Sí		No
Malaltia mínima residual	Descens ràpid		Descens lent

SNC: sistema nerviós central. del: deleció. MO: medul·la òssia. RCC: remissió citològica completa.

4.2 Síndrome limfomatosa

La presència d'una massa mediastínica, organomegàlies abdominals i/o adenopaties perifèriques confereix pitjor pronòstic per la presència de més massa tumoral, encara que a l'actualitat es considera que té un valor pronòstic molt marginal.

4.3 Infiltració del sistema nerviós central.

La infiltració del SNC apareix en un 5-10%³⁴ de casos al diagnòstic, més freqüentment a les LAL de fenotip B madur i a les LAL-T. Per a algun grup, aquests pacients tenen pitjor pronòstic³⁵. En absència de profilaxis del SNC, la LAL recau a aquest nivell aproximadament en un 30% del casos de pacient adults³⁴. La radioteràpia cranial o cranio-espinal (ja en desús) i la quimioteràpia intratecal

associada a l'administració de quimioteràpia sistèmica que travessa la barrera hemato-encefàlica són mètodes efectius per prevenir la recaiguda al SNC³⁴.

4.4 Recompte de leucòcits

Pràcticament tots els estudis han demostrat que la presència de leucocitosi, amb la consegüent presència de més cèl·lules blàstiques a la medul·la òssia (MO) i a SP presenta pitjor pronòstic independent d'altres factors per presència de més massa tumoral. El valor de tall per definir la diferència entre alt risc (desfavorable) o baix risc (favorable) s'ha establert recentment en 30×10^9 /L leucòcits a SP en LAL de sèrie B i de 100×10^9 /L en LAL de sèrie T, encara que recentment es considera que aquests nivells de tall tenen un valor pronòstic relatiu.

4.5 Immunofenotip / Citometria de flux

Línia B: representa el 80% de les LAL en l'adult. La LAL Pro-B es relaciona amb mal pronòstic a diferència de la B comú i la B madura per presentar més incidència de recaigudes. En tot cas, aquestes últimes presenten més heterogeneïtat pronòstica en funció de l'existència de lesions genètiques i moleculars addicionals (cromosoma Philadelphia, IKZF1, CDKN2A/B, leucocitosi, KMT2A, entre d'altres...). Es disposa de poca informació pronòstica de la LAL Pre-B, però també presenta mal pronòstic quan s'associa l'expressió de KMT2A³⁶. La LAL-B madura ha perdut el mal pronòstic que presentava anys enrere gràcies a la introducció de la immunoquimioteràpia.

Línia T: representa el 20% restant de LAL. Clàssicament s'havia considerat que el pronòstic era pitjor que el de les LAL de precursors B, cosa que no s'ha confirmat en estudis recents³⁷. Encara que el pronòstic és pitjor per si mateix en relació a la línia B, la intensificació del tractament en les LAL-T ha fet desaparèixer el seu significat pronòstic³⁷. De tota manera, els subtipus pro-T, pre-T i tímic madur tenen significativament pitjor pronòstic en comparació amb el subtipus tímic cortical inclús en els casos en que expressa CD56. Un subtipus especial, de recent definició, és LAL *early pre-T*, que es caracteritza per tenir un fenotip molt immadur, proper al de la *stem cell*, i un pronòstic clarament desfavorable³⁸.

Marcadors mieloides: sovint, tant les LAL de sèrie B com T presenten marcadors mieloides (per exemple CD13, CD33, CD117) en l'estudi immunofenotípic. Encara que clàssicament l'expressió d'aquests marcadors conferia pitjor pronòstic això no s'ha demostrat en els estudis més recents.

4.6 Citogenètica

És ben reconegut que el cariotip és un factor pronòstic extremadament important. Hi ha alteracions que de forma clara aporten un significatiu mal pronòstic en totes les sèries presentades, però n'hi ha d'altres que, per baixa freqüència i/o associació amb altres factors, presenten resultats discordants en diferents estudis.

Aquesta part del pronòstic de la LAL, el basat en la citogenètica ja ha estat descrita en aquesta Tesi Doctoral (apartat 3.3).

4.7 Temps en assolir resposta i estudi de la malaltia residual.

És el principal factor determinant pel pronòstic³⁹. Els pacients que assoleixen la remissió completa (RC) a les 4-5 setmanes d'iniciar el tractament d'inducció o s'objectiva la desaparició de blasts a MO en el dia 14 de tractament, tenen un millor pronòstic. Més recentment, en l'estudi de la resposta precoç i intensa s'ha introduït l'estudi de la 'malaltia residual' que permet fer un seguiment temporal i quantitatiu de la massa tumoral (no detectable per estudi al microscopi òptic) mitjançant la citometria de flux o l'estudi molecular, havent-se erigit com el factor pronòstic més important i potent en la gran majoria d'estudis⁴⁰. No obstant, diferents estudis han proposat desiguals nivells de tall de cara a considerar la malaltia mínima residual (MMR) negativa⁴¹, si bé a l'actualitat hi ha consens en definir una remissió molecular quan el nivell de MMR és inferior a 10^{-4} . El concepte de MMR ha generat la necessitat d'introduir nous conceptes tals com la RC molecular, la progressió molecular i la recaiguda molecular desenvolupats en el punt 5.2 de la present tesi. L'estudi de la MMR tant es pot fer per SP com per MO, tot i que la mostra més desitjable és la de MO per falsos negatius a nivell perifèric⁴², sobretot en casos de LAL-B. En infants, els pacients amb MMR positiva després de la inducció tenen un risc de recaiguda molt elevat, superior al 70%, al contrari dels que presenten MRD negativa sent el risc menor al 10%^{43,44}. En adults, la tendència pronòstica és la

mateixa que ens els infants però menys optimista. Aquells pacients amb $MMR < 10^{-4}$ a dia 11 pràcticament no recauen, però només representen el 10% de tots els malalts i, en canvi, els malalts amb MMR positiva recauen a nivell citològic de forma ràpida, igual que els que presenten $MMR < 10^{-4}$ inicial però la positivitzen posteriorment. La recidiva apareix ràpidament, entre 1 i 4 mesos de mediana des de la positivització de la MMR^{45,46}. No obstant és clar l'impacte que té en el pronòstic assolir una MMR negativa tant per a la supervivència global com per a la supervivència lliure de progressió, sigui determinada al moment d'assolir la RC o als 3 o 6 mesos d'haver-la assolit⁴⁷. Així doncs la MMR és una tècnica que permet estratificar per risc en funció de la resposta assolida amb punt de tall a 10^{-4} , de ràpid accés i resultats, reproducible i que permet prendre decisions avançant-nos a la recaiguda cel·lular per tal de millorar la supervivència dels malalts.

5. TRACTAMENT

El tractament de la LAL en l'adult s'ha optimitzat de forma significativa en els darrers anys amb la introducció dels inhibidors de tirosin-cinasa (ITK) en els casos de LAL-Ph positiva i, més recentment, amb la incursió de la immunoteràpia en les teràpies de rescat.

L'objectiu del tractament és assolir la curació, pel que cal fer 3 fases: inducció a la remissió, intensificació o consolidació i tractament de manteniment. S'associa a ells la profilaxis del SNC. La durada del tractament actualment és d'aproximadament 50 mesos, tret de les LAL B madures (LAL Burkitt), en les que els protocols de tractament són diferents. Actualment s'està estudiant la possibilitat de reduir la durada del tractament en aquells malalts de risc estàndard i que presenten MMR persistentment negativa.

5.1 Esquema

5.1.1 Inducció a la remissió:

Es basa en tractament quimioteràpic de 4-5 setmanes amb l'objectiu d'assolir la remissió completa i consta del tractament amb glucocorticoids, vincristina, asparaginasa i daunorubicina o qualsevol altre antraciclina⁴⁸. Amb aquest esquema s'assoleix la remissió completa en més del 95% dels nens i entre el 85 i el 95% dels adults i la mortalitat en aquesta fase (generalment per infeccions) és del 1% en nens i menor del 10% en adults, i és similar a la taxa de resistència al tractament.

En cas de pacients amb LAL d'alt risc es considera, en alguns protocols, una segona inducció amb ciclofosfamida, metotrexat, citarabina o etopòsid.

5.1.2 Consolidació o intensificació

Si s'assoleix resposta completa després de la inducció s'inicia immediatament la consolidació per a reduir la malaltia residual i el risc de recidiva. El tipus de tractament, la intensitat i la durada depenen del risc:

- Baix risc i risc intermig: es donen 3 o 4 cicles de metotrexat a dosis altes (2-5g/m²) o qualsevol altre antimetabòlit amb citarabina a dosis intermitges (1 g/m² o superiors) juntament amb asparaginasa.

- Alt risc: es donen entre 3 i 6 cicles d'intensificació amb metotrexat i citarabina a dosis altes associats a citostàtics presents a la inducció.

Posteriorment, en funció de la presència de MMR (>0,01%) es segueix el tractament amb un trasplantament al·logènic o amb quimioteràpia de manteniment.

5.1.3 Manteniment

Durant 18 – 24 mesos, segons el protocol, el pacient pren diàriament mercaptopurina i s'administra metotrexat setmanalment. En alguns protocols s'administren cicles de reinducció amb prednisona i vincristina, associades o no amb asparaginasa. En aquest període la adherència al tractament és molt important per evitar la recidiva de la malaltia.

5.1.4 Profilaxis del SNC: durant la inducció s'administra tractament intratecal amb metotrexat sovint associat a citarabina i hidro cortisona o dexametasona. Aquesta profilaxis es realitza en les restants fases del tractament, fins a un total de 16-18 administracions, segons els diferents protocols. La radioteràpia holocranial ha caigut en desús.

5.1.5 Trasplantament al·logènic de progenitors hematopoètics: indicat en pacients que no assoleixen la resposta completa (RC) o la MMR resulta positiva amb la quimioteràpia convencional d'inducció o que presenten recidiva de la malaltia un cop assolida la RC. En casos de pacients amb LAL de mal pronòstic (presència de reordenament *BCR-ABL1* o *KMT2A/AF4*, per exemple) i en els pacients amb mala resposta molecular en general, el trasplantament està indicat un cop assolida la RC. La font dels progenitors preferible és la d'un familiar HLA-idèntic tot i que a la seva falta, els resultats actuals amb donants familiars haploideïtics i donants no emparentats són pràcticament iguals.

L'acondicionament ha de ser mieloablatiu en primera opció però en malalts no candidats es pot fer un acondicionament d'intensitat reduïda. Els resultats del trasplantament de progenitors hematopoètics (TPH) difereix en si es realitza en primera RC o en les següents, sent pitjor com més tard es faci.

5.2 Criteris de resposta⁴⁹:

- Remissió completa: absència de signes i símptomes de malaltia amb normalització del recompte cel·lular a sang perifèrica amb $>100 \times 10^9/L$ plaquetes i $>1 \times 10^9/L$ neutròfils i l'estudi medul·lar amb un recompte de blasts igual o menor del 5%.
- Remissió completa amb recuperació hematològica incompleta: absència de signes i símptomes de malaltia però amb recuperació incompleta del recompte cel·lular a sang perifèrica amb $<100 \times 10^9/L$ plaquetes o $<1 \times 10^9/L$ neutròfils i l'estudi medul·lar presenta un recompte de blasts igual o menor del 5%.
- Remissió completa amb recuperació hematològica parcial: quan s'assoleix un recompte de blasts igual o menor al 5% a l'estudi medul·lar, sense assolir la normalització dels recomptes cel·lulars a sang perifèrica però amb $>50 \times 10^9/L$ plaquetes i $>0,5 \times 10^9/L$ neutròfils.
- Moll de l'ós aplàsic o hiploplàsic sense blasts: presenta un recompte de blasts igual o menor al 5% a l'estudi medul·lar però els recomptes cel·lulars a sang perifèrica són $<50 \times 10^9/L$ plaquetes i/o $<0,5 \times 10^9/L$ neutròfils.
- Resposta parcial: entre 6 i 25% de blasts a moll però al menys una reducció del seu nombre del 50% en relació al recompte previ a l'inici tractament.
- Malaltia en progressió: implica un augment del recompte de blasts a MO del 25% o més o un increment absolut de més de $5 \times 10^9/L$ de blasts a SP.
- Malaltia estable: no compleix criteris de remissió completa, remissió completa amb recuperació hematològica incompleta, remissió completa amb recuperació hematològica parcial, moll de l'ós aplàsic o hiploplàsic sense blasts ni malaltia en progressió.
- Reaiguda hematològica: aparició de $>5\%$ de blasts a MO o aparició de blasts a SP després d'haver documentat una remissió completa o una resposta completa o una remissió completa amb recuperació hematològica incompleta.
- Reaiguda extrahematològica: detecció de blasts en qualsevol localització amb $<5\%$ de blasts a MO.
- Resposta completa molecular, malaltia mínima residual negativa: MMR $<10^{-4}$ mesurat per PCR o citometria de flux.

- Malaltia mínima residual no detectable: estudi per PCR o citometria de flux de la MMR sense identificació de la mateixa.
- Recaiguda molecular: reaparició de malaltia mínima detectable $>10^{-4}$ però sense criteris de recaiguda hematològica per estudi morfològic a SP i MO.
- Progressió molecular: augment dels nivells de MMR en comparació al basal igual o superior a un logaritme sense criteris de recaiguda molecular.

També es descriu la malaltia primàriament refractària com aquella en que no s'assoleix remissió completa després de rebre un tractament estàndard d'inducció.

5.3 Resultats:

En nen amb LAL les taxes de supervivència estan al voltant del 90% i els recents resultats dels estudis per a pacients adolescents i adults joves (considerats dels 15 als 39 anys) amb LAL tractats amb esquemes inspirats en els protocols pediàtrics, assolixen taxes de SLE i SG del 70% i 78%, respectivament⁵⁰. En el grup de població d'adults més grans, les taxes de supervivència es situen al voltant del 40%

No obstant, aquest beneficis no s'han reflectit en el grup de població d'adults grans i vells amb estat general conservat, coneguts com 'fit' (considerats per sobre del 55 anys). En aquest grup heterogeni de pacients s'ha confirmat que el tractament orientat i el bon control dels efectes adversos optimitzen el pronòstic⁵¹, assolint taxes de remissió completa al voltant del 70%, però supervivències del 10-20%.

5.4 Tractament de la LAL amb cromosoma Philadelphia (LAL-Ph+)

Des de la introducció dels inhibidors de la tirosin-cinasa (inicialment imatinib, posteriorment la segona generació (dasatinib), i finalment el ponatinib per a resistents per la mutació T315I) associada a la quimioteràpia convencional, el pronòstic dels pacients amb LAL amb positivitat del cromosoma Filadèlfia ha millorat espectacularment, assolint taxes de RC que superen el 95% i en la meitat dels casos són RC moleculars amb SLE del 40-60% i del 80% en nens. En els nens generalment no es realitza consolidació posterior amb TPH, el qual sí és recomanable en adults. En adults no candidats a TPH per edat o comorbiditats, la

taxa de recidiva de la malaltia és elevada. En pacients que progressen durant el tractament o posteriorment a imatinib o dasatinib, es requereix un estudi mutacional per a detectar mutacions, especialment la T315I, a la qual són resistents els 2 fàrmacs però que respon a ponatinib en un 40% del casos. La LAL-Ph+ que recau o és resistent requereix consolidació posterior amb TPH al·logènica, si assoleix resposta.

5.5 Tractament de la LAL amb reordenaments KMT2A

Es tracta d'un subgrup de mal pronòstic, que apareix més freqüentment en infants, en adults representa el 5-11% de les LAL, en funció si s'exclouen les LAL-Ph+ en la població^{52,53}. Es tracta amb quimioteràpia i consolidació posterior amb TPH al·logènica en primera RC amb taxa de SLE del 40-60%. S'associa a mal pronòstic tenir una edat inferior a de 6 mesos i més de 300×10^9 leucòcits/L.

5.6 Risc de recaiguda

Aproximadament un 10% dels nens i un 30% dels adults recauen durant el primer any després d'haver finalitzat el tractament. És el període que presenta més incidència de recaiguda i posteriorment minva de forma progressiva sent molt baixa després de 5 anys d'assolir la resposta completa (3 anys de la finalització del tractament). La recidiva habitualment es presenta a nivell medul·lar i sang perifèrica, rarament afecta aïlladament SNC i altres òrgans com els testicles.

5.7 Tractament de les recidives

La recaiguda és sempre greu però ho és de manera més dramàtica si és sota tractament o en els primers 6-12 mesos després de l'aturada del tractament (recaiguda precoç). S'ha demostrat que les recaigudes apareixen per expansió de clones ja presents en els diagnòstic i que el tractament les ha seleccionat. Per al tractament de la recidives s'utilitzen pautes amb citarabina a altes dosis en combinació amb mitoxantrona i fluradabina, per exemple. En cas de recidives tardanes s'acostuma a repetir l'esquema inicial de la LAL. En cas de recaiguda extramedul·lar els malalts han de rebre, a més del tractament sistèmic, tractament local com la quimioteràpia intratecal en casos de recaiguda a nivell del SNC o

radioteràpia testicular per a la recaiguda en aquest nivell. La millor opció de tractament per als pacients en segona RC és el TPH al·logènic.

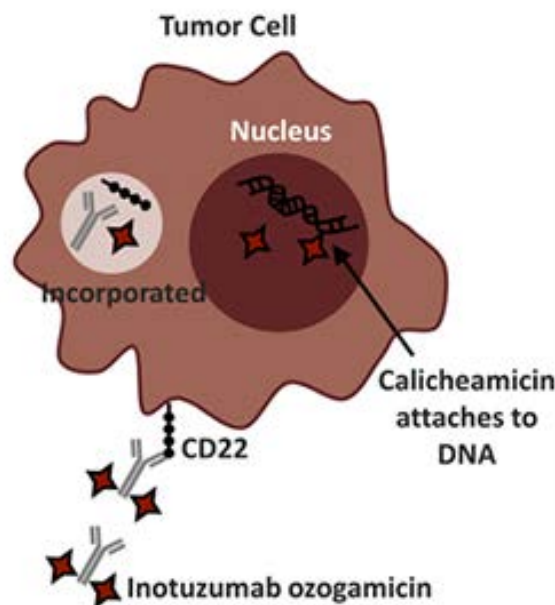
La taxa de remissions completes es del 60-80% en infants i del 40% en adults, però la supervivència perllongada disminueix a 40-50% en infants i menor al 20% en adults. Per aquest motiu sovint s'inclou a aquest tipus de pacients en assaigs clínics per a provar fàrmacs amb nous mecanismes d'acció i noves dianes. Actualment s'han aprovat fàrmacs nous en el seu mecanisme d'acció per a pacients amb LAL en recidiva com són la vincristina liposòmica, la clofarabina, la nelarabina i el blinatumomab. És amb el blinatumomab i altres anticossos monoclonals amb els que s'estan obtenint els resultats més optimistes

5.7.1 Immunoteràpia: es basa en la unió d'una immunoglobulina, quimèrica o humanitzada, generalment de classe G (IgG) que s'uneix específicament a un antigen localitzat a la cèl·lula diana, en aquest cas, al blast. En alguns casos van units a un agent citotòxic (anticossos monoclonals immunoconjugats), en altres son biespecífics (implicant un limfòcit T), amb intenció d'optimitzar els resultats del tractament.

5.7.1.1 Inotuzumab: és un anticòs monoclonal recombinant que resulta de la unió covalent de una IgG4 humanitzada i un derivat semisintètic de la caliqueamicina. La caliqueamicina és un producte natural citotòxic produït per fermentació microbiana que és significativament més potent que els agents citotòxics convencionals, i s'uneix al solc menor de l'ADN, tot causant la mort cel·lular mitjançant el trencament de la doble cadena d'ADN. L'inotuzumab reconeix específicament l'antigen CD22 que s'expressa en la membrana de la majoria dels limfòcits B sans i malignes, en el cas de la LAL es troba present en un 90% dels casos⁵⁴. No s'expressa en les cèl·lules mare de cap estirp. El tractament dirigit de la caliqueamicina unida a l'inotuzumab permet ser alliberada preferentment a les cèl·lules tumorals mitjançant l'associació al marcador CD22. Aquest alliberament selectiu després de la unió de l'inotuzumab al blast minimitza l'exposició de la caliqueamicina als teixits que no expressen el CD22. Amés, CD22 és una diana ideal donada la seva implicació en el trànsit intracel·lular. En l'estudi fase 3 per a pacients amb LAL-B en recaiguda

/ recidiva es van observar millor taxes de RC en pacients que rebien inotuzumab vs. aquells que van rebre la millor teràpia de rescat que considerava l'equip mèdic. També van presentar millor supervivència lliure de progressió i supervivència global. La resposta va ser menys freqüent en pacients amb LAL-Ph+ o amb la t(4;11)⁵⁵. Com a efectes secundaris reportats en aquest estudi i en els previs cal destacar la citopènia i la síndrome d'obstrucció sinusoidal hepàtica. L'inotuzumab s'ha erigit com una teràpia pont per el TPH al·logènica de rescat en el pacient jove amb una LAL que recau o és resistent al tractament de primera línia.

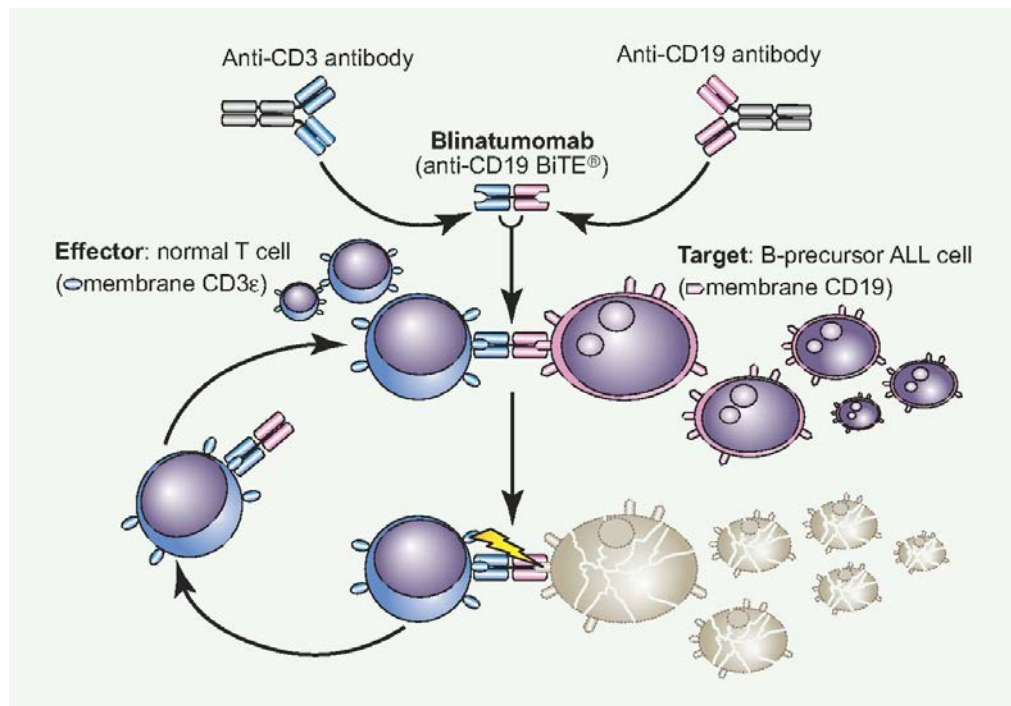
Figura 7. Mecanisme d'acció de l'inotuzumab⁵⁶.



5.7.1.2 Blinatumomab: és un anticòs monoclonal biespecífic que s'uneix a dos dominis diferents: CD3 i CD19, que permet la unió d'un limfòcit T (que expressa CD3) i un limfòcit B (que expressa CD19)^{57,58}. Més d'un 90% dels casos de LAL-B expressen CD19 en més d'un 20% dels seus blats (freqüència mínima necessària per a que l'anticòs sigui efectiu)⁵⁹. Blinatumomab ha demostrat efectivitat en pacients amb LAL en recaiguda o refractaris, en pacients amb LAL amb MMR positiva i en malalts amb LAL Ph+ resistents i en recaiguda⁶⁰. S'han descrit efectes adversos rellevants sobretot a nivell de SNC per un mecanisme no ben

conegut. La clínica inclou encefalopatia, afàsia, tremolor i desorientació de caràcter reversible en molts casos, però que comporten una aturada prematura del tractament en d'altres. En casos de clínica neurològica rellevant (grau 3 o superior) cal aturar la infusió de blinatumomab i iniciar glucocorticoides i, en cas de resolució del quadre, es pot reiniciar la perfusió de blinatumomab a dosis ajustades. És per tot això que el blinatumomab està contraindicat en pacients amb antecedents d'alguna alteració neurològica rellevant o infiltració leucèmia a nivell de SNC. Paral·lelament s'ha descrit la síndrome d'alliberació de citokines que sovint ocorre durant la primera infusió i la simptomatologia pot anar des de un quadre pseudo-gripal fins a un edema pulmonar, coagulopatia i una fallada multiorgànica. El risc de patir una síndrome d'alliberació de citokines és directament proporcional a la massa tumoral determinada per presentar més de $15 \times 10^9/L$ de blasts a SP o que representin més del 50% de la cel·lularitat i es pot prevenir amb tractament citorreductor previ amb glucocorticoides associats o no a ciclofosfamida.

Figura 8. Mecanisme d'acció del blinatumomab⁵⁸.

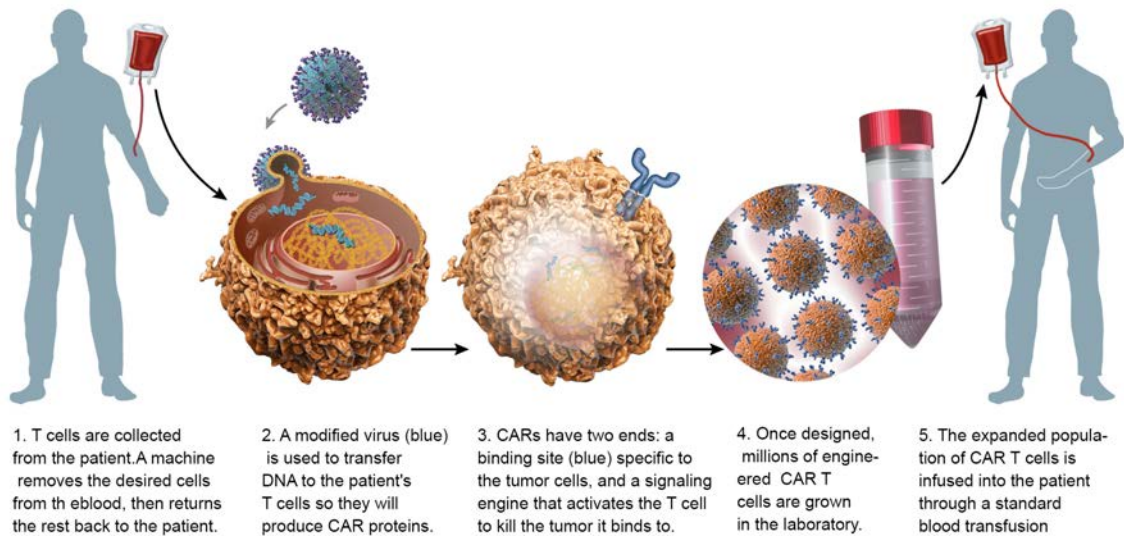


5.7.1.3 CAR-T cells: sigles que deriven de Chimeric Antigen Receptor T cells (limfòcits T amb receptors quimèrics). És una eina molt novedosa, encara en assaig, per al tractament del càncer. Es basa en la modificació genètica de limfòcits T del pacient de manera que apareguin fragments d'anticossos en la superfície de la cèl·lula dirigits contra determinats antigens⁶¹. És una tècnica complexa que requereix temps: s'ha d'extreure els leucòcits totals del pacient, seleccionar els limfòcits T i modificar-los per a que reconeguin l'antigen específic de la cèl·lula tumoral i finalment infondre'ls al pacient⁶². S'estan estudiant en diferents tipus de càncers tant sòlids com hematològics, però els millors resultats s'estan obtenint amb els CD19 CAR T cells per a processos limfoides com els limfomes no hodgkinians, la leucèmia limfàtica crònica o la LAL, donat que CD19 s'expressa en pràcticament totes les hemopaties malignes de cèl·lules B sense expressar-se en cèl·lules mare. Els tractament actuals es basen en CAR T de segona generació si bé s'han desenvolupat CAR T de tercera i quarta generació⁶³. Els efectes adversos més destacables dels CAR T CD19 són *la síndrome d'alliberació de citoquines* amb mateixa clínica i prevenció que l'explicat prèviament amb el blinatumomab (punt 5.7.1.2), però molt més freqüent i intens; *la neurotoxicitat*, en alguns casos mortal, i *la agammaglobulinèmia* per lisi dels limfòcits B normals i que requereix administració periòdica d'immunoglobulines⁶³.

5.8 Efectes adversos

Tot i que més controlables i manejables, les citopènies i les infeccions secundàries a les citopènies són molt incidents durant el tractament, sobretot a la inducció, de la mateixa manera que ho són les nàusees i els vòmits. És per això que s'ha treballat en la optimització de la tolerància al tractament, en la minimització de les citopènies i en la prevenció de les infeccions per a poder completar el tractament adequadament i minimitzar les morts per toxicitat directa. Aquests tractament, considerats de suport, estan desenvolupats en el punt 5.9 de la present tesi. Altres efectes adversos com els relacionats amb la irradiació han disminuït des de

Figura 9. Esquema de la producció de les CAR-T cells.



l'eliminació de la radioteràpia en la profilaxi de la infiltració leucèmica a nivell de SNC. Les dosis altes de glucocorticoides en edats precoces afavoreixen la pubertat precoç, l'osteoporosi, les cataractes i la necrosi òssia avascular, sobretot en el cap de fèmur. Les antraciclins poden generar miocardiopatia crònica i tardana, que és dosi dependent. Finalment, i com efectes indesitjables a mig-llarg període són les segones neoplàsies causades generalment per inhibidors de la topoisomerasa II, més freqüent en infants sovint per sobreviure més i durant més temps la LAL.

5.9 Tractament de suport

Donats els efectes adversos coneguts i que sovint provoquen endarreriments o disminució de les dosis següents, paral·lelament a la quimioteràpia es pauten tractaments que milloren la tolerància i redueixen les complicacions i que ja avui es consideren imprescindibles dins de la pauta protocol·litzada de quimioteràpia.

5.9.1 Mesures generals: no són considerades tractaments però sí que es tracta d'un seguiment que ens indica la tolerància al tractament o el requeriment d'aports en forma d'hemoderivats o hidratació, per exemple. Es recomanen controls d'hemograma cada 48h i bioquímics al menys un cop per setmana. L'estudi de

la fase plasmàtica de la coagulació i l'urianàlisi es recomanen un cop a la setmana i els cultius de sang i orina en quant el pacient presenta febre i abans de qualsevol inici de tractament antibiòtic.

- 5.9.2 Antiemètics: tractament integrat per a qualsevol pauta quimioteràpica. Permet millorar la qualitat de vida del pacient, reduir l'hospitalització i el control ambulatori i s'ha d'iniciar abans del tractament quimioteràpic. S'ha diferenciat entre pautes quimioteràpiques altament emètiques (>90% dels pacients presenten emesi aguda sense prevenció), de risc emètic moderat (30-90% dels pacients), baix (10-30% dels pacients) i mínim (<10% dels pacients que reben el tractament presenten emesi aguda sense profilaxis). Segons aquesta classificació es recomanen associació d'agonistes de la 5-HT3 (ondansetron, granisetron, per exemple), dexametasona, aprepitant i/o olanzapina per als d'alt i moderat risc emètic en pautes diferents, i agonistes de la 5-HT3, dexametasona o metoclopramida per als de baix risc. Per al grup de pacients que reben tractament de mínim risc emètic no es recomana cap pauta profilàctica i s'inicia el tractament en funció de la clínica que presenti el pacient⁶⁴.
- 5.9.3 Profilaxis antiinfecciosa: donada la neutropènia causada per la infiltració medul·lar per la LAL i posteriorment causada per la quimioteràpia, el risc infecció és molt elevat i és causa de mobilitat i mortalitat. També faciliten les infeccions la disrupció de les mucoses i la immunodeficiència causada per la quimioteràpia. El tractament antimicrobià profilàctic ha millorat la supervivència dels pacients i s'ha de mantenir fins a la resolució de la neutropènia. En cas de LAL les profilaxis recomanades són les exposades a la Taula 8⁶⁵. En casos determinats també es recomana la profilaxis en front al *Pneumocystis jirovecci* amb trimetoprim/sulfametoxazol associat a aportos d'àcid fòlic.
- 5.9.4 Suports transfusional: igual que passa amb la neutropènia, l'anèmia i la trombocitopènia inicialment no secundàries a la infiltració medul·lar per blasts i posteriorment per toxicitat de la quimioteràpia. Es recomana mantenir els

Taula 8. Recomanacions per la prevenció infecciosa en pacients amb leucèmia aguda limfoblàstica que reben tractament quimioteràpic^{8,65}.

Profilaxis Infecciosa	
Bactèries	1. Fluoroquinolones (levofloxací)
Fongs	1. Azols (fluconazol, itraconazol voriconazol o posaconazol) 2. Equinocandines (micafungina, caspofungina o anidulafungina) 3. Amfotericina B
Virus	1. Aciclovir, famciclovir o valaciclovir

nivells d'hemoglobina per sobre de 80 g/L tret en casos de pacients que presentin antecedents de cardiopatia, pneumopatia o mala tolerància a l'anèmia amb clínica anginosa requerint mantenir nivells més elevats d'hemoglobina. L'aport d'un o 2 concentrats vindrà determinat per la concentració de l'hemoglobina i pel protocol de cada centre. A nivell de les plaquetes, es recomana mantenir nivells superiors a $10 \times 10^9/L$ i és per sota d'aquets valors que es transfon, generalment, un pool de plaquetes. També és comú l'aport amb valors més elevats en cas de presentar febre donat el consum de plaquetes en aquesta situació, en cas de sagnat agut significatiu o de forma profilàctica davant de qualsevol procediment invasiu.

- 5.9.5 Factors de creixement: des dels inicis de la dècada dels 90 del segle passat s'ha pogut associar anàlegs del factor estimulador de colònies granulocítiques (G-CSF) per a la prevenció i tractament de la neutropènia causada per la quimioteràpia escurçant la durada de la mateixa i, per tant, les seves complicacions infeccioses⁶⁶. La posologia i indicació ve determinada pel grup de tractament: tant es pot donar de forma constant en la inducció i consolidació (grups alemany⁶⁷, francès⁶⁸, i italià⁶⁹, per exemple) o en casos de sospita de neutropènia llarga, en casos d'haver presentat neutropènia grau 4 o neutropènia febril de qualsevol grau en funció (grup espanyol⁷⁰).

HIPÒTESI DE TREBALL I OBJECTIUS

HIPÒTESI DE TREBALL

La LAL en l'adult és una malaltia altament mortal tot i el tractament. La identificació de grups de risc amb intensificació del tractament ha permès optimitzar la supervivència i reduir la toxicitat en pacients amb LAL de risc estàndard. En el cas concret de la LAL amb cromosoma Ph el tractament amb inhibidors de la tirosin-cinasa ha generat una milloria espectacular de la taxa de respostes i de la supervivència global dels pacients.

És ben reconegut i demostrat que l'estudi citogenètic és una eina bàsica per a determinar el pronòstic dels pacients amb LAL. El cariotip complex, el cariotip monosòmic i la t(4;11) han estat molt ben estudiats en la LAM i el seu impacte pronòstic negatiu s'ha confirmat en diferents treballs. No obstant, en la LAL són escassos els estudis que han analitzat la importància d'aquests trets citogenètics en la resposta al tractament i la supervivència del pacient, de igual manera que l'associació d'alteracions citogenètiques afegides al cromosoma Ph en la LAL-Ph. Així doncs, vam hipotetitzar que la presència de qualsevol d'aquestes alteracions en el cariotip en el moment del diagnòstic implicaria pitjor pronòstic, el que permetria seleccionar una subpoblació de pacients de més alt risc, als quals poder recomanar un tractament quimioteràpic més intensiu o diferent.

OBJECTIUS

1. Avaluar l'impacte pronòstic del cariotip complex (CC) i del cariotip monosòmic (CM) en pacients adults amb LAL de nou diagnòstic.
 1. Determinar el número d'alteracions citogenètiques que conformen el CC i analitzar la probabilitat de supervivència en aquests pacients.
 2. A partir de la definició del CM per a LAM i síndrome mielodisplàsica (SMD), identificar el pacients amb LAL que presenten aquest cariotip i analitzar la seva probabilitat de supervivència.
2. Analitzar la freqüència i la implicació en el pronòstic de la $t(v;11q23)$ / KMT2A en pacients adults amb LAL de nou diagnòstic.
 1. Identificar les diferents translocacions que afecten al cromosoma 11q23.
 2. Analitzar l'impacte que té la $t(v;11q23)$ / KMT2A en la supervivència dels malalts amb aquesta alteració citogenètica.
3. Annex. Estudiar la freqüència de les alteracions citogenètiques afegides al cromosoma Ph en adults joves i grans amb LAL Ph positiva de nou diagnòstic, tractats amb quimioteràpia i inhibidors de la tirosin cinasa.
 1. Identificar els pacients amb LAL amb cromosoma Ph i localitzar els que presenten alteracions citogenètiques afegides.
 2. Analitzar l'impacte que té la presència d'altres alteracions citogenètiques afegides en la supervivència.
 3. Analitzar l'impacte que té la presència de monosomies en la supervivència.

RESULTATS

ARTICLE 1

Significat pronòstic del cariotip complex i del cariotip monosòmic en pacients adults amb leucèmia aguda limfoblàstica tractada amb protocols ajustats al risc.

La LAL és una malaltia molt heterogènia des del punt de vista citogenètic. El cariotip és un predictor del pronòstic en pacients amb LAL. L'impacte pronòstic desfavorable del cariotip complex (CC) ha estat escassament descrit, mentre que la rellevància pronòstica del cariotip monosòmic (CM) no ha estat suficientment avaluada. En aquest estudi el nostre propòsit ha estat avaluar el valor pronòstic del cariotip complex i del cariotip monosòmic en malalts adults amb LAL tractats amb protocols adaptats al risc del grup PETHEMA. El CC va ser definit seguint els criteris de Moorman i el CM seguint els criteris de Breems per la LAM.

Vam revisar els cariotips de 881 pacients adults amb LAL tractats amb protocols PETHEMA entre els anys 1993 i 2012, dels quals finalment només van ser avaluables 631 (es van retirar els casos que no presentaven creixement o que presentaven cariotip normals amb menys de 15 metafases analitzades) i vam analitzar la freqüència tant del CC com del CM i el seu impacte pronòstic amb l'anàlisi de la taxa de remissions completes, la seva durada i la supervivència global. Trenta-tres pacients (9,2% dels 364 pacients avaluables) tenien cariotip complex i 68 (12,8% dels 535 pacients avaluables) cariotip monosòmic. No es van identificar diferències en la taxa de RC, en la seva durada ni en la SG en funció de si tenien CC o CM en l'estudi de la sèrie global. Tampoc es van trobar diferències en l'anàlisi del subgrups d'alt risc, en funció l'origen B o T de la LAL, en el subgrup amb t(9;22) (haguessin estat tractats amb imatinib o no, només per a l'anàlisi del CM), ni en funció de si havien rebut quimioteràpia sola o amb posterior consolidació amb TPH.

Per tant, segons el nostre estudi, el CC i el CM no tenen impacte en el pronòstic dels pacients adults amb LAL. La limitació principal d'aquest estudi és el seu caràcter retrospectiu, la heterogeneïtat dels pacients (de risc estàndard i d'alt risc), i els diferents protocols emprats.

Prognostic Significance of Complex Karyotype and Monosomal Karyotype in Adult Patients With Acute Lymphoblastic Leukemia Treated With Risk-Adapted Protocols

Cristina Motlló, MD¹; Josep-María Ribera, PhD¹; Mireia Morgades¹; Isabel Granada, PhD¹; Pau Montesinos, PhD²; José González-Campos, PhD³; Pascual Fernández-Abellán, PhD⁴; Mar Tormo, PhD⁵; Concepción Bethencourt, PhD⁶; Salut Brunet, PhD⁷; Jesús-María Hernández-Rivas, PhD⁸; María-José Moreno, PhD⁹; Josep Sarrà, PhD¹⁰; Eloy del Potro, PhD¹¹; Pere Barba, PhD¹²; Teresa Bernal, PhD¹³; Carlos Grande, PhD¹⁴; Javier Grau, MD¹; José Cervera, PhD²; Evarist Feliu, PhD¹; and the PETHEMA Group, Spanish Society of Hematology

BACKGROUND: The karyotype is a predictor of outcomes in adults with acute lymphoblastic leukemia (ALL). The unfavorable prognostic significance of complex karyotype (CK) has been reported, whereas the prognostic relevance of monosomal karyotype (MK) has not been consistently evaluated. We aimed to assess the prognostic value of CK and MK in adults with ALL treated with risk-adapted protocols of the Spanish PETHEMA Group. **METHODS:** The karyotypes of 881 adult ALL patients treated according to the protocols of the PETHEMA Group between 1993 and 2012 were centrally reviewed. CK and MK were assessed according to Moorman's criteria, and Broom's criteria, respectively. Specific analyses according to the risk groups and to the presence of t(9;22) were performed. **RESULTS:** Of 364 evaluable patients 33 (9.2%) had CK, and 68 of 535 evaluable patients (12.8%) had MK. Complete remission rate, remission duration, and overall survival were not significantly different according to the presence of CK or MK in the whole series, according to the B or T lineage, in the high-risk group, or in patients with t(9;22), regardless of imatinib treatment, and in patients who received chemotherapy alone or chemotherapy followed by stem cell transplantation. **CONCLUSIONS:** Our study shows that CK and MK were not associated with a worse prognosis in adult patients with ALL treated with risk-adapted or subtype-oriented protocols. In patients with Ph+ ALL, MK did not have an impact on prognosis irrespective of imatinib treatment. *Cancer* 2014;120:3958-64. © 2014 American Cancer Society.

KEYWORDS: acute lymphoblastic leukemia, adults, complex karyotype, monosomal karyotype, prognosis.

INTRODUCTION

Cytogenetic abnormalities constitute an important prognostic factor in adult patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL). Some recurrent abnormalities define ALL subgroups and are used for risk stratification in most studies.¹⁻⁶ In

Corresponding author: Cristina Motlló, MD, Clinical Hematology Department, ICO-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Josep Carreras Leukemia Research Institute, Universitat Autònoma de Barcelona, C/Canyet s/n, 08916 – Badalona, Spain; Fax: +34 93 497 89 95; cmotllo@iconcologia.net

¹Department of Hematology, ICO-Hospital Germans Trias i Pujol/Josep Carreras Leukemia Research Institute, Badalona, Spain; ²Department of Hematology, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Spain; ³Department of Hematology, Hospital Virgen Del Rocío, Sevilla, Spain; ⁴Department of Hematology, Hospital General Universitario, Alicante, Spain; ⁵Department of Hematology, Hospital Clínico Universitario, Valencia, Spain; ⁶Department of Hematology, Hospital Carlos Haya, Málaga, Spain; ⁷Department of Hematology, Hospital de Sant Pau, Barcelona, Spain; ⁸Department of Hematology, Hospital Clínico Universitario, Salamanca, Spain; ⁹Department of Hematology, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria, Málaga, Spain; ¹⁰Department of Hematology, ICO-Hospital Duran i Reynals, L'Hospitalet del Llobregat, Spain; ¹¹Department of Hematology, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain; ¹²Department of Hematology, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain; ¹³Department of Hematology, Hospital Universitario Central, Asturias, Spain; ¹⁴Department of Hematology, Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain.

We thank the following Spanish hospitals that have participated in the different PETHEMA protocols and have included patients in this study: ICO-Hospital Germans Trias i Pujol/Josep Carreras Leukemia Research Institute, Badalona; Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia; Hospital Virgen Del Rocío, Sevilla; Hospital General Universitario, Alicante; Hospital Clínico Universitario, Valencia; Hospital Carlos Haya, Málaga; Hospital de Sant Pau, Barcelona; Hospital Clínico Universitario, Salamanca; Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria, Málaga; ICO-Hospital Duran i Reynals, L'Hospitalet del Llobregat; Hospital Clínico San Carlos, Madrid; Hospital Vall d'Hebron, Barcelona; Hospital Universitario Central, Asturias; Hospital Morales Meseguer, Murcia; Hospital 12 de Octubre, Madrid; Hospital Marqués de Valdecilla, Santander; ICO-Hospital Josep Trueta, Girona; Hospital Joan XXIII, Tarragona; Hospital Clínico Universitario, Valladolid; Hospital Xeral, Lugo; Hospital General, Castellón; Hospital General Universitario, Valencia; Hospital Clínico, Barcelona; Hospital Son Espases, Palma de Mallorca; Hospital San Pedro de Alcántara, Cáceres; Hospital Juan Canalejo; A Coruña; Hospital Son Llàtzer, Palma de Mallorca; Hospital Puerta del Mar, Cádiz; Hospital Mútua de Terrassa, Terrassa; Hospital de Fuenlabrada, Madrid; Hospital Gregorio Marañón, Madrid; Hospital Ramón y Cajal, Madrid; Clínica Teknon, Barcelona; Hospital Universitario, Santiago de Compostela; Hospital Universitario, Las Palmas de Gran Canaria; Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza; Hospital Clínico, Málaga; Hospital Sanchinarro, Madrid; Hospital General, Segovia; Hospital Virgen de la Luz, Zamora; Hospital Universitario, Getafe; Hospital Txagorritxu, Vitoria; Hospital Xeral, Vigo; Hospital Dr. Peset, Valencia; Hospital Miguel Servet, Zaragoza; Hospital Nuestra Señora de Sonsoles, Ávila; Hospital Verge de la Cinta, Tortosa; Hospital La Zarzuela, Madrid; Hospital Amau de Vilanova, Lleida; Hospital Parc Taulí, Sabadell; Hospital Universitario, Guadalajara; Clínica Universitaria, Jaén; Hospital Juan Canalejo, A Coruña; Fundación Jiménez-Díaz, Madrid; Clínica Universitaria, Orense; Hospital Infanta Leonor, Madrid; Clínica Hospitalaria, Pontevedra; Hospital de Cruces, Barakaldo; Hospital Clínico, La Laguna, Tenerife; Hospital Reina Sofía, Córdoba; Hospital Río Carrión, Palencia.

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

DOI: 10.1002/ncr.28950, **Received:** March 26, 2014; **Revised:** June 6, 2014; **Accepted:** June 25, 2014, **Published online** August 12, 2014 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com)

TABLE 1. Risk-Adapted and Subtype-Oriented Protocols From the PETHEMA Group Included in the Present Study

Risk Category	Protocol (Reference)	Number of Patients (%)
Standard risk ^a	LAL-RI-96 (12)	86 (9.8)
	LAL-RI-08 ^b	29 (3.3)
High risk, Ph negative ^b	LAL-AR-93 (13)	196 (22.2)
	LAL-AR-03 ^d (14)	348 (39.5)
	LAL-OLD-07 (15)	30 (3.4)
High risk, Ph positive, no TKI	LAL-AR-93 (14)	39 (4.4)
	LAL-Ph-00 ^a	27 (3.1)
High risk, Ph positive, TKI	CSTIBES-02 (16)	5 (0.6)
	LAL-OPh-07 (15)	36 (4.1)
	LAL-Ph-08 (17)	32 (3.6)
Mature B acute lymphoblastic leukemia	LAL-97 (18)	25 (2.8)
	BURKIMAB-08 (19)	28 (3.2)

Abbreviations: PETHEMA, Programa Español de Tratamientos en Hematología; Ph, Philadelphia chromosome; TKI, tyrosine kinase inhibitors.

^aStandard risk criteria: age <30 years, white blood cell count <30 × 10⁹/L and absence of t(9;22) or BCR/ABL, t(4;11) or MLL rearrangements.

^bHigh-risk criteria are any of the following: age ≥30 years, white blood cell count ≥30 × 10⁹/L, presence of t(9;22) or BCR/ABL, t(4;11) or MLL rearrangements.

^cNCT02036489 trial, unpublished results.

^dOne patient with Burkitt's leukemia was erroneously assigned to high-risk Ph-negative acute lymphoblastic leukemia protocol.

^eNCT00526305 trial, unpublished results.

addition, specific therapies have been developed for patients with t(9;22), and immunochemotherapy has proven effective in those with t(8;14), t(8;22), or t(2;8).

A complex karyotype (CK) is currently defined as a karyotype showing more than 3 unrelated chromosomal abnormalities and is a well-recognized prognostic factor in patients with acute myeloid leukemia (AML). However, the impact of CK on the prognosis of ALL patients has been scarcely studied. Moorman et al¹ demonstrated the unfavorable impact of CK (defined as having 5 or more unrelated chromosomal abnormalities) in adults with ALL included in the MRC UKALL XII/ECOG E2993 trial. However, although this prognostic marker has been incorporated into the definition of high-risk (HR) ALL by most groups, its prognostic significance has not been consistently validated in large series. In turn, a monosomal karyotype (MK) is defined as the presence of 2 or more different autosomal chromosome monosomies or a single monosomy in the presence of structural abnormalities. The unfavorable prognosis of MK in AML was first described by Breems et al⁷ and has been validated by other groups.^{8,9} However, to date, its prognostic significance in ALL patients has only been evaluated in a small series of adult patients with Philadelphia chromosome-negative ALL.¹⁰

The aim of this study was to analyze the prognostic significance of CK and MK in a series of adult patients

diagnosed with ALL between 1993 and 2012 and treated according to the risk-adapted protocols of the PETHEMA (Programa Español de Tratamientos en Hematología) Group.

PATIENTS AND METHODS

Patients diagnosed with ALL from 1993 to 2012 in 65 Spanish centers and treated with risk-adapted or subtype-oriented PETHEMA protocols (Table 1)²⁻¹⁹ were included. The study was approved by the Institutional Review Board of the Hospital Germans Trias i Pujol. Diagnosis of ALL was made by morphological, cytofluorometric, and cytogenetic study of bone marrow (BM). Chromosomal analyses of BM and/or peripheral blood (PB) were performed in institutional laboratories, and karyotype reports were reviewed centrally. Specimens were processed using direct methods and unstimulated short-term (24- and 48-hour) cultures with G-banding analysis. A minimum of 20 metaphases was required to define a normal karyotype, whereas no growth was considered in cases with less than 20 normal metaphases. To define monosomy, at least 3 metaphases with this alteration were required. The criteria of the International System for Human Cytogenetic Nomenclatures¹¹ adapted to every year edition were employed for karyotype descriptions. Fluorescent in situ hybridization (FISH) for *BCR-ABL*, *MLL*, and *MYC* was performed in patients with normal karyotypes or without evaluable metaphases. Patients with FISH as the only cytogenetic study were excluded from the analysis of CK and MK.

Definitions of Complex Karyotype and Monosomal Karyotype

A CK was defined as a karyotype showing 5 or more unrelated chromosomal abnormalities in the absence of established translocations (t[9;22], t[v;11q23], t[1;19], t[8;14], and t[14q32])¹ or ploidy subgroups. An MK was defined as the presence of 2 or more distinct autosomal chromosome monosomies or a single autosomal monosomy in the presence of structural abnormalities,⁷ and all abnormal karyotypes were included for the study of MK.

Outcome Measures

Complete remission (CR) was defined as less than 5% marrow blasts, absence of blasts in PB, with recovery of hematopoiesis (neutrophils >1000/μL and platelets >100,000/μL), without extramedullary disease. CR duration was defined as the time from the date of CR until the date of relapse or the last follow-up in CR. Overall

TABLE 2. Acute Lymphoblastic Leukemia Characteristics at Diagnosis in the Whole Series and in the Patients With a Complex Karyotype (CK) and a Monosomal Karyotype (MK)

Characteristic	Whole Series (n = 631) ^c	Patients With CK (n = 33)	Patients Without CK (n = 324)	Patients With MK (n = 68)	Patients Without MK (n = 464)
Age (y), median (range)	34 (15-82)	28 (15-70)	30 (15-69)	34 (15-78)	33 (15-82)
Sex (male), n (%)	349 (55.3)	20 (60.6)	184 (56.8)	40 (58.8)	253 (54.5)
WBC count ($\times 10^9$ L), median (range)	16 (0.1-842)	11.7 (1.9-289.8)	17 (1-842)	13.60 (0-289.8)	18 (1-842)
Mediastinal mass, n (%)	57/570 (10)	5/31 (16.1)	49/319 (15.4)	7/62 (11.3)	48/429 (11.2)
CNS involvement, n (%)	33/595 (5.5)	1/30 (3.3)	13/313 (4.2)	4/62 (6.5)	24/439 (5.5)
B phenotype, n (%) ^a	491 (80.8)	19 (63.3)	218 (69)	50 (80.6)	350 (77.8)
Early pre-B	77 (15.7)	5 (26.3)	44 (20.2)	10 (20)	59 (16.8)
Common	287 (58.4)	10 (52.6)	140 (64.2)	31 (62)	204 (58.3)
Pre-B	72 (14.7)	4 (21.1)	34 (15.6)	8 (16)	52 (14.9)
Mature B	53 (10.8)	0	0	1 (2)	33 (9.4)
B, nonspecified	2 (0.4)	0	0	0	2 (0.6)
T phenotype, n (%) ^a	117 (19.2)	11 (36.7)	98 (31)	12 (19.4)	100 (22.2)
Pre-T/pro-T	21 (17.9)	1 (9.1)	18 (18.4)	1 (8.3)	18 (18)
Cortical T	32 (27.4)	1 (9.1)	29 (29.6)	3 (25)	29 (29)
Mature T	16 (13.7)	3 (27.3)	11 (11.2)	2 (16.7)	13 (13)
T, nonspecified	48 (41)	6 (54.5)	40 (40.8)	6 (50)	40 (40)
Cytogenetic subgroups ^b					
Normal	165 (26.1)	NA	165	NA	165
t(9;22)/BCR-ABL	139 (22)	NA	139	15	124
t(8;14); t(8;22), t(2;8), C-MYC	54 (8.6)	NA	54	1	55
t(v;11q23)	38 (6)	NA	38	6	32
t(1;19)	16 (2.6)	NA	16	4	12
+8	34 (5.4)	3	31	8	26
-7	21 (3.3)	4	17	17	4
del9p	17 (2.7)	2	15	4	13
Hyperdiploidy 47-50	63 (10.0)	3	60	8	55
Hyperdiploidy 51-65	61 (9.7)	6	55	10	51
Hypodiploidy 40-45	36 (5.7)	9	27	27	9
Hypodiploidy 30-39	3 (0.5)	0	0	3	0

Abbreviations: WBC, white blood cell; CNS, central nervous system; NA, not applicable.

No significant differences were observed on comparison of patients with and without CK and with and without MK

^aIn 23 cases, the phenotype was not available.

^bSixty-two patients had FISH as the only cytogenetic study.

^cPatients could have more than 1 cytogenetic abnormality.

survival (OS) was defined as the time from diagnosis to the last follow-up or death.

Statistical Analysis

The primary objectives of the study were CR rate, CR duration, and OS according to the presence of CK (≥ 5 abnormalities) or MK. The study was performed in the whole series, in the subsets of patients with B- or T-lineage ALL, in those with Ph-negative ALL and Ph-positive (Ph+) ALL (including a specific analysis for patients treated with imatinib-based regimens), and separately for patients with HR Ph-negative ALL who received chemotherapy or chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in the first CR. A secondary study defining CK according to the presence of 4 or more unrelated chromosomal abnormalities was performed.

A descriptive study of the main demographic, clinical, hematologic, and cytogenetic variables in the whole

series was performed. The Kruskal-Wallis test (continuous variables) or the Pearson chi-square or Fisher exact test (categorical variables) was used for comparisons between groups. Actuarial curves for CR duration and OS were plotted by the Kaplan and Meier method and were compared by the long-rank test. Ninety-five percent confidence intervals (95% CIs) were calculated for the probabilities. The significance level was fixed at $P < .05$.

RESULTS

Patients and Demographic Data

From 1993 to 2012, a total of 881 patients were diagnosed with ALL in 65 Spanish hospitals. The karyotypes of 631 patients (71.6%) were evaluable after review. Forty-seven of 881 patients (5.3%) were excluded because of the lack of substantial clinical information, and 203 (23%) were not evaluable because of lack of growth and

TABLE 3. Most Frequent Monosomies Observed in the Patients From the Present Study^a

Chromosome Number	n
7	17
9	14
13	13
3	11
17	10
18	9
16	8
14	8
10	6
20	6
5	5
4	5
8	5
15	5
20	5
12	3
21	3
22	3
6	2
11	2
2	1
19	1

^aThirty-nine patients had 1 monosomy and 29 had more than 1.

negativity of the FISH study. The median age of the evaluable patients was 34 years (range, 15-82 years), and 349 patients (55.3%) were male. Four hundred ninety-one patients (80.8%) had B-lineage ALL. The main patient and ALL characteristics at baseline are shown in Table 2.

Cytogenetic Results

One hundred sixty-five of 631 total evaluable patients (26.1%) had a normal karyotype. The most frequent rearrangement was t(9;22), or *BCR-ABL*, observed in 139 patients (22%); see Table 2. Fifty-four patients (8.6%) presented *c-MYC* rearrangement by cytogenetics or FISH, and 38 (6%) showed t(v;11q23). High hyperdiploidy was the most frequent numeric alteration, present in 61 cases (9.7%).

Thirty-three of 357 evaluable patients without t(9;22), t(v;11q23), t(1;19), t(8;14), and t(14q32) rearrangements (9.2%) had CK according to Moorman's criteria.¹ In turn, 59 of 357 evaluable patients (16.5%) presented 4 or more karyotypic alterations. Patients with CK were comparable with those without CK for the main ALL characteristics at baseline (Table 2).

Sixty-eight of 532 evaluable patients (12.8%) showed MK. There were 99 patients who were not evaluable for the study of MK either because the karyotype was only analyzed by FISH or polymerase chain reaction (n = 62) or because the karyotype

information was insufficient for the evaluation of the presence of MK (n = 37). The MK in these 68 patients included 2 or more autosomal monosomies in 29 patients (42.7%) and 1 autosomal monosomy plus 1 or more structural abnormalities in 39 (57.3%). All chromosomes except chromosome 1 had monosomy in at least 1 patient. The most repetitive monosomies involved chromosomes 7 (17 patients), 9 (14 patients), 13 (13 patients), 3 (11 patients), and 17 (10 patients); see Table 3. No significant clinical or biological differences were found on comparison of patients with and without MK (Table 2). Twenty patients who presented CK were classified as also having MK.

Outcome Analyses According to Complex Karyotype and Monosomal Karyotype.

Table 4 shows the outcomes according to the presence of CK and MK in the different study groups. With regard to CK, there were no statistically significant differences in the CR rate, CR duration, or OS for either the whole series or the subgroups of HR ALL patients treated with chemotherapy or with chemotherapy and HSCT in the first CR (Table 4, and Fig. 1A,B). No differences in the outcomes were found when the CK was defined as having 4 or more unrelated chromosomal abnormalities.

No differences in any outcome measure were observed on comparison of patients with MK and without in the whole series (Table 4 and Fig. 2A,B) or in patients with Ph+ ALL (including the subgroup of patients treated with imatinib) in Ph-negative ALL or when patients with mature B-ALL were excluded (Table 4). However, the subgroup of patients with Ph-negative ALL and MK who received HSCT showed a trend toward better OS compared with the transplanted patients without MK, although the number of cases in the first group (n = 10) was very low. No differences were observed in any outcome measure according to the presence of the most prevalent monosomies (chromosomes 3, 7, 9, 13, and 17) or according to the number of monosomies (1 vs more than 1). In addition, patients with monosomies of chromosomes 5 and 7 did not have different outcomes compared with those with the remaining monosomies (Supplemental Table 1).

Finally, there were differences in the probability of CR duration according to B versus T lineage for the patients with CK and MK (Table 4), but the number of patients was too small to draw consistent conclusions. Indeed, these differences were also present on comparison of B versus T patients without CK.

TABLE 4. Outcome Results According to the Presence of a Complex Karyotype (CK) and a Monosomal Karyotype (MK) in the Whole Series and in the Subgroups of Patients Analyzed

Group	n (%)	CR Rate (%)	P	CR Duration Probability (%) at 5 Years (± 95% CI)	P	OS Probability (%) at 5 Years (± 95% CI)	P
CK (≥5 abnormalities)	33 (9.3)	79	.93	55 ± 23	.425	36 ± 18	.256
No CK	324 (90.7)	89		52 ± 7		40 ± 6	
CK (≥4 abnormalities)	41 (11.5)	81	.137	55 ± 21	.463	35 ± 16	.164
No CK	316 (88.5)	89		52 ± 7		40 ± 6	
CK (≥3 abnormalities)	58 (16.2)	81	.093	54 ± 17	.292	31 ± 15	.67
No CK	316 (88.5)	89		52 ± 7		41 ± 6	
MK	68 (12.8)	82	.318	66 ± 15	.462	40 ± 14	.913
No MK	464 (87.2)	87		49 ± 6		35 ± 5	
MK (excluding Burkitt's leukemia)	66 (13.3)	82	.257	65 ± 15	.488	39 ± 14	.987
No MK (excluding Burkitt's leukemia)	430 (86.7)	87		47 ± 7		34 ± 5	
Ph-negative MK	53 (12.3)	83	.389	61 ± 16	.975	44 ± 15	.920
Ph-negative no MK	379 (87.7)	87		51 ± 7		38 ± 6	
Ph-negative MK (excluding Burkitt's ALL)	52 (13.1)	83	.302	60 ± 17	.923	42 ± 15	.982
Ph-negative no MK (excluding Burkitt's ALL)	345 (86.9)	88		50 ± 7		37 ± 6	
Ph-positive MK	15 (15)	79	.446	86 ± 26	.079	22 ± 34	.886
Ph-positive no MK	85 (85)	84		35 ± 17		11 ± 13	
Ph-positive (imatinib) MK	10 (19.6)	89	.560	100	.107	62 ± 35	.715
Ph-positive (imatinib) no MK	41 (80.4)	93		56 ± 24		33 ± 23	
High-risk Ph-negative CK	29 (9.6)	76	.099	50 ± 24	.326	31 ± 19	.345
High-risk Ph-negative no CK	272 (90.4)	87		50 ± 8		36 ± 6	
High-risk Ph-negative MK	46 (13.6)	80	.289	54 ± 18	.630	38 ± 16	
High-risk Ph-negative no MK	293 (86.4)	86		48 ± 8		34 ± 6	
High risk, Ph negative							
– Chemotherapy only	8 (8.4)	100	NA	50 ± 35	.247	63 ± 34	.770
CK	87 (91.6)	100		56 ± 12		58 ± 12	
No CK			NA		.880		.964
– Chemotherapy and HSCT in first CR	8 (9.3)	100		51 ± 40		47 ± 37	
CK	78 (90.7)	100	NA	50 ± 13	.298	36 ± 11	.890
No CK							
– Chemotherapy only	12 (11.1)	100	NA	52 ± 31	.285	67 ± 27	.052
MK	96 (88.9)	100		55 ± 12		55 ± 11	
No MK							
– Chemotherapy and HSCT in first CR	10 (10.9)	100		70 ± 28		66 ± 32	
MK	82 (89.1)	100		47 ± 13		32 ± 11	
No MK							
No CK B lineage	218 (69)	89	.831	53 ± 9	.048	42 ± 8	.367
No CK T lineage	98 (31)	90		47 ± 12		36 ± 10	
CK B lineage	19 (63)	84	.380	67 ± 27	.052	45 ± 26	.130
CK T lineage	11 (37)	73		22 ± 35		18 ± 23	
MK B lineage	50 (81)	86	.305	71 ± 16	.035	40 ± 17	.223
MK T lineage	12 (19)	75		38 ± 34		33 ± 27	
No MK B lineage	349 (78)	87	.978	48 ± 8	.184	35 ± 6	.785
No MK T lineage	100 (22)	87		45 ± 12		34 ± 10	

Abbreviations: CI, confidence interval; ALL, acute lymphoblastic leukemia; CR, complete remission; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; NM, no Moorman criteria OS, overall survival; Ph, Philadelphia chromosome.

DISCUSSION

This study of a large group of adult patients with ALL treated according to risk-adapted protocols from the PETHEMA group shows that CK and MK did not have prognostic significance, in either the whole series or when

specific subgroups (t[9;22], high-risk Ph negative) or treatment strategies (chemotherapy or chemotherapy and HSCT) were considered.

In 2007, Moorman et al¹ defined the CK as that showing 5 or more abnormalities in the absence of

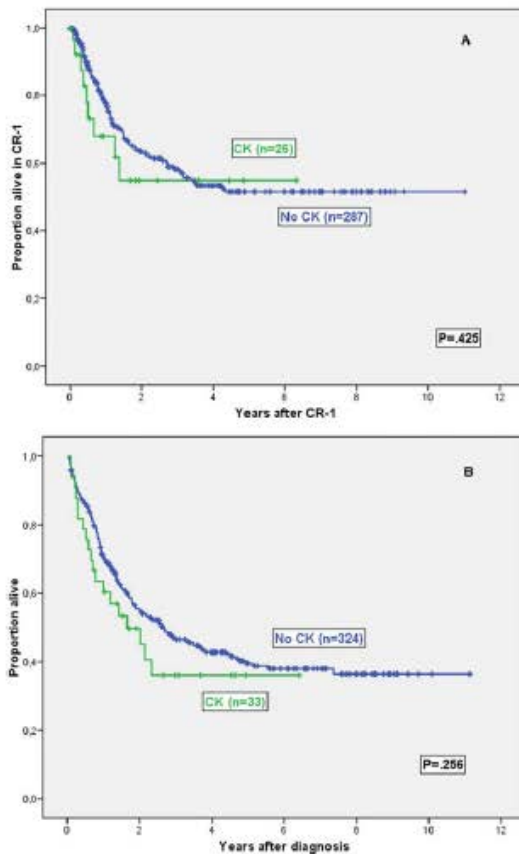


Figure 1. (A) Complete response (CR) duration and (B) overall survival (OS) for patients with acute lymphoblastic leukemia according to the presence of a complex karyotype (CK).

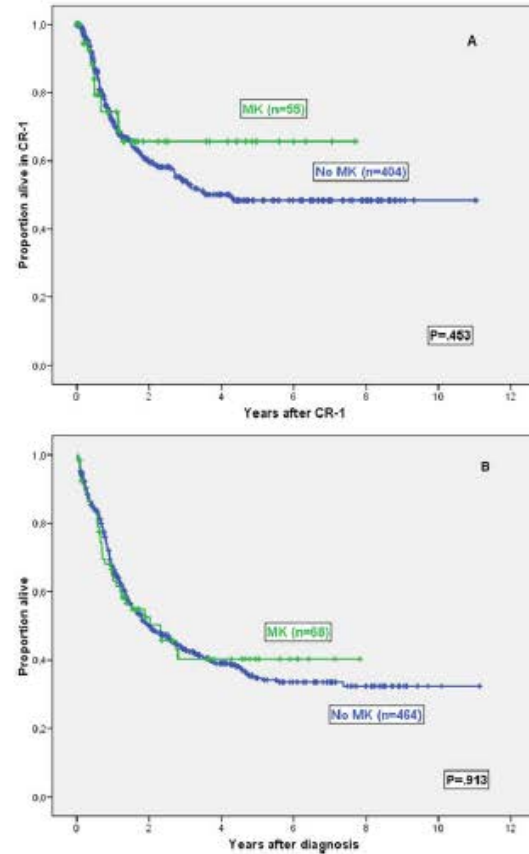


Figure 2. (A) Complete response (CR) duration and (B) overall survival (OS) for patients diagnosed with acute lymphoblastic leukemia according to the presence of a monosomal karyotype (MK).

established translocations. Of 1522 patients enrolled in the MRC UKALLXII/ECOG E2993, 1003 showed evaluable karyotypes, and 41 (5% of Ph-negative patients) had CK. This study showed that patients with CK had a poor outcome in terms of OS and event-free survival, with most of the relapses occurring in the first 2 years after diagnosis.¹ The Southwest Oncology Group³ attempted to validate these results, but analysis of the prognostic value of CK could not be performed because of the small number of patients included in the 9400 Study. However, when the patients with CK were combined with other patients with HR cytogenetic features such as t(4;11), low hypodiploidy, and t(9;22), poor outcome in terms of CR, OS, and relapse-free survival was shown.

The main karyotypic abnormalities observed in our study are similar to those found by other groups in adult ALL.²⁻⁶ The incidence of CK was 9.2%, and no prognostic impact was observed in either the whole series or when

the type of postconsolidation treatment (chemotherapy or HSCT) was considered. The trend for a best OS probability observed in those patients with CK who received HSCT should be considered with caution because of the small number of transplanted patients with CK. When we considered CK as a karyotype with 4 or more abnormalities, as defined in AML, no prognostic impact was shown for any outcome measure.

Breems et al⁷ first described the negative prognostic impact of MK in patients with AML. In that study MK was defined as any karyotype without core-binding factor-associated chromosomal abnormalities that presented 2 or more monosomies or 1 monosomy associated with a structural abnormality. The prevalence of MK in AML is 20%-30% in non-Asian patients^{7,9,20} and less than 20% in Asian patients.²¹ The most frequent monosomies observed in AML involve chromosomes 5 and 7,^{20,21} but all autosomal chromosomes have reportedly been involved.²¹ In the

Original Article

present study, the incidence of MK in adult ALL patients was 12.8%, lower than that found in AML. Different from that in AML patients, the frequency of involvement of chromosomes 5 and 7 was low, and there was no predominance of any specific monosomy. To the best of our knowledge, there is only 1 published study evaluating the prognostic impact of MK. Kenderian et al¹⁰ studied the incidence and prognostic significance of MK in 112 adult patients with Ph-negative ALL. Nineteen (16.9%) showed MK, and no significant differences were found in leukemia-free survival and in OS on comparison with patients without MK, as was found in our study. Our results show that MK was not associated with a worse prognosis in either the whole series or in the different ALL subgroups analyzed, including Ph+ ALL patients. The different prognostic impact of MK in AML versus ALL probably reflects the different prognostic significance of the monosomies of chromosomes 5 and/or 7 in these 2 types of acute leukemia, with a clear negative impact in AML, and no prognostic significance in ALL, as observed in our study.

Different from what was shown in the Moorman study,¹ the main limitation of the present report is the heterogeneity in the treatments administered to the patients. However, the analysis of subgroups of patients with more specific therapeutic approaches confirmed the lack of prognostic impact of CK and MK. Consequently, additional studies in other large series of adult ALL patients are needed to definitively establish the prognostic impact of these cytogenetic categories.

FUNDING SUPPORT

Supported in part with Grants PI10/01417 from FIS and RD12/0036/0029 from RTICC, Instituto Carlos III, Spain.

CONFLICT OF INTEREST DISCLOSURES

The authors made no disclosures.

REFERENCES

- Moorman AV, Harrison CJ, Buck GA, et al. Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial. *Blood*. 2007;109:3189-3197.
- Mancini M, Scapparioci D, Cimino G, et al. A comprehensive genetic classification of adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of the GIMEMEA 0469 protocol. *Blood*. 2005;105:3434-3441.
- Pullatkat V, Slovak ML, Kopecky KJ, Fomman SJ, Appelbaum FR. Impact of cytogenetics on the outcome of adult acute lymphoblastic leukemia: results of Southwest Oncology Group 9400 study. *Blood*. 2008;111:2563-2572.
- Ribeza JM, Ortega JJ, Oriol A, et al. Prognostic value of karyotypic analysis in children and adults with high-risk acute lymphoblastic leukemia included in the PETHEMA ALL-93 TRIAL. *Haematologica*. 2002;87:154-166.
- Secker-Walker LM, Prentice HG, Durrant J, Richards S, Hall E, Harrison G. Cytogenetics adds independent prognostic information in adults with acute lymphoblastic leukemia on MRC trial UKALL XA. *Br J Haematol*. 1997;96:601-610.
- Wetzler M, Dodge RK, Mrózek K, et al. Prospective karyotype analysis in adult acute lymphoblastic leukemia: the Cancer and Leukemia Group B experience. *Blood*. 1999;93:3983-3993.
- Breems DA, Van Putten WL, De Greef GE, et al. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J Clin Oncol*. 2008;26:4791-4797.
- Breems DA, Löwenberg B. Acute myeloid leukemia with monosomal karyotype at the far end of the unfavorable prognostic spectrum. *Haematologica*. 2011;96:491-493.
- Hafelach C, Alpermann T, Schnitzger S, et al. Prognostic value of monosomal karyotype in comparison to complex aberrant karyotype in acute myeloid leukemia: a study on 824 cases with aberrant karyotype. *Blood*. 2012;119:2122-2125.
- Kenderian SS, Al-Kali A, Gangar N, et al. Monosomal karyotype in Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia. *Blood Cancer J*. 2013;3:e122.
- Shaffer LG, Slovak ML, Campbell LJ, eds. *ISCN 2013: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*. Basel, Switzerland: Karger; 2013.
- Ribeza JM, Oriol A, Sanz MA, et al. Comparison of the results of the treatment of adolescents and young adults with standard-risk acute lymphoblastic leukemia with the Programa Español de tratamiento en Hematología pediátrica-based protocol ALL-96. *J Clin Oncol*. 2008;26:1843-1849.
- Ribeza JM, Oriol A, Bethencourt C, et al. Comparison of intensive chemotherapy, allogeneic or autologous stem cell transplantation as post-remission treatment for adult patients with high-risk acute lymphoblastic leukemia. Results of the PETHEMA ALL-93 trial. *Haematologica*. 2005;90:1346-1356.
- Ribeza JM, Oriol A, Morgades M, et al. Treatment of high-risk (HR) Philadelphia chromosome-negative (Ph-) adult acute lymphoblastic leukemia in adolescents and adults according to early cytological response and minimal residual disease after consolidation assessed by flow cytometry: Final results of PETHEMA ALL-HR-03 Trial. *J Clin Oncol*. 2014;32:1595-1604.
- Ribeza JM, García O, Fernández-Abellán P, et al. Lack of negative impact of Philadelphia chromosome in older patients with acute lymphoblastic leukaemia in the tyrosine kinase inhibitor era: comparison of two prospective parallel protocols. *Br J Haematol*. 2012;159:485-488.
- Ribeza JM, Oriol A, González M, et al. Concurrent intensive chemotherapy and imatinib before and after stem cell transplantation in newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Final results of the CSTIBES02 trial*. *Haematologica*. 2010;95:87-95.
- Ribeza JM, García O, Montesinos P, et al. Treatment of young patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia using increased dose of imatinib and deintensified chemotherapy before allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2012;159:78-81.
- Oriol A, Ribeza JM, Esteve J, et al. Lack of influence of human immunodeficiency virus infection status in the response to therapy and survival of adult patients with mature B-cell lymphoma or leukemia. Results of the PETHEMA-LAL3/97 study. *Haematologica*. 2003;88:445-453.
- Ribeza JM, García O, Grande C, et al. Dose-intensive chemotherapy including rituximab in Burkitt's leukemia or lymphoma regardless of human immunodeficiency virus infection status: Final results of a phase 2 study (Burkimab). *Cancer*. 2013;119:1660-1668.
- Medeiros BC, Tohus M, Fang M, Roulston D, Appelbaum FR. Prognostic impact of monosomal karyotype in young adult and elderly acute myeloid leukemia: the Southwest Oncology Group (SWOG) experience. *Blood*. 2010;116:2224-2228.
- Yang XF, Sun AN, Yin J, et al. Monosomal karyotype among 1147 Chinese patients with acute myeloid leukemia: prevalence, features and prognostic impact. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13:5421-5426.

ARTICLE 2

Freqüència i significat pronòstic dels reordenaments t(v;11q23)/KMT2A en pacients adults amb leucèmia aguda limfoblàstica tractats amb protocols adaptats al risc.

El cariotip és factor predictiu un ben conegut del pronòstic dels pacients amb LAL de recent diagnòstic. Els reordenaments de la regió 11q23 inclouen el gen KMT2A (antic MLL) i són causa de mal pronòstic. En el present estudi vam analitzar el pronòstic de la presència d'aquesta translocació en pacients adults tractats amb protocols PETHEMA. Vam identificar 46 pacients i 38 d'ells van assolir una RC després de la inducció, que es va mantenir després de la consolidació en 25 casos. Dotze d'aquets 25 casos van rebre un trasplantament de progenitors al·logènics i els altres 13 van continuar amb tractament quimioteràpic amb intensificació i manteniment.

La probabilitat de mantenir la RC als 5 anys va ser del 37% (IC 95%, 19%-55%) i d'estar viu (SG) del 20% (IC 95%, 5%-35%). En el primer cas vam veure una tendència a millor durada de la RC en aquells casos que es consolidaven amb un trasplantament al·logènic en comparació a aquells que feien quimioteràpia de manteniment. La SG també va ser millor, però sense significat estadístic, en aquells malalts que van assolir una MMR <0,1% després de la inducció.

La nostra sèrie confirma el mal pronòstic dels pacients amb reordenaments del KMT2A descrit en sèries prèvies. Cal buscar tractaments específics per a aquest tipus de malalts que puguin optimitzar el pronòstic. D'altra banda, suggereix que l'estudi de la MMR pot tenir valor pronòstic, fet que no està prou investigat en aquest subtipus de LAL.

ORIGINAL ARTICLE: CLINICAL

Frequency and prognostic significance of t(v;11q23)/KMT2A rearrangements in adult patients with acute lymphoblastic leukemia treated with risk-adapted protocols

Cristina Motlló^a, Josep-Maria Ribera^a, Mireia Morgades^a, Isabel Granada^a, Pau Montesinos^b, Salut Brunet^c, Juan Bergua^d, Mar Tormo^e, Raimundo García-Boyeró^f, Josep Sarrà^g, Eloy del Potro^h, Carlos Grandeⁱ, Pere Barba^j, Teresa Bernal^k, María-Luz Amigo^l, Javier Grau^a, José Cervera^b, Evarist Feliu^a; on behalf of the PETHEMA Group, Spanish Society of Hematology

^aDepartment of Hematology, ICO-Hospital Germans Trias i Pujol, Josep Carreras Leukemia Research Institute, Universitat Autònoma de Barcelona, Badalona, Spain; ^bDepartment of Hematology, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Spain; ^cDepartment of Hematology, Hospital de Sant Pau, Barcelona, Spain; ^dDepartment of Hematology, Hospital San Pedro de Alcántara, Cáceres, Spain; ^eDepartment of Hematology, Hospital Clínico Universitario, Valencia, Spain; ^fDepartment of Hematology, Hospital General, Castellón, Spain; ^gDepartment of Hematology, ICO-Hospital Duran i Reynals, L'Hospitalet del Llobregat, Spain; ^hDepartment of Hematology, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain; ⁱDepartment of Hematology, Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain; ^jDepartment of Hematology, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain; ^kDepartment of Hematology, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Spain; ^lDepartment of Hematology, Hospital Morales Messeguer, Murcia, Spain

ABSTRACT

The karyotype is an important predictor of outcome in acute lymphoblastic leukemia (ALL). Rearrangements of the 11q23 region involving the KMT2A gene confer an unfavorable prognosis. Forty-six adult ALL patients from the PETHEMA Group treated with risk-adapted protocols, with t(v;11q23) were selected for this study. Complete response (CR) was attained in 38 patients; 25 remained in CR after consolidation. Twelve (48%) received allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) and 13 delayed intensification and maintenance. The 5-year CR duration probability was 37% (95% CI, 19%–55%). A trend for a longer CR duration was observed in patients undergoing HSCT vs. those receiving chemotherapy. The 5-year overall survival (OS) probability was 20% (95% CI, 5%–35%). The OS was better, albeit not significant, in patients with a MRD level <0.1% after induction (39% [95% CI, 14%–64%] vs. 13% [95% CI, 0%–36%]). Specific treatment approaches are required to improve the outcome of patients with KMT2A-rearrangements.

ARTICLE HISTORY

Received 28 December 2015
 Revised 21 March 2016
 Accepted 31 March 2016

KEYWORDS



KMT2A/MLL; acute lymphoblastic leukemia; MRD


Introduction

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) preferentially involves children and adolescents, being an infrequent disease in adults. A cytogenetic study is essential for achieving the diagnosis and it is also a powerful prognostic marker. The very high-risk subtype includes patients with t(9;22) and t(4;11) or other 11q23 rearrangements.[1–5] The t(4;11)(q21;q23)/KMT2A-AF1 (now known as KMT2A-AFF1) rearrangement occurs in 8–10% of cases of ALL, having a peak incidence in infants (over 50% of ALL cases for patients aged less than 6 months and 10–20% in older infants), and being infrequent in children (2% of cases) and slightly more frequent in adults (5%).[6,7] While the use of tyrosine kinase

inhibitors has improved the prognosis of patients with t(9;22) ALL, no specific drugs for KMT2A-rearranged ALL are available, although several drugs are currently under investigation in the setting of clinical trials.[8–11]

The depth of response is currently considered as the most important prognostic factor in ALL. Minimal residual disease (MRD) analyzed after induction and after consolidation therapy provides relevant information about the risk of relapse [12], and can help in treatment decision-making involving either chemotherapy or allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). However, recent studies in adult ALL have shown that the KMT2A rearrangement adds independent prognostic information to MRD.[13]

CONTACT Cristina Motlló  cmotllo@iconcologia.net  Department of Clinical Hematology, ICO-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Josep Carreras Leukemia Research Institute, Universitat Autònoma de Barcelona, C/Canyet s/n, 08916 – Badalona, Spain

 Supplemental data for this article can be accessed [here](#).

© 2016 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

As *KMT2A*-rearranged ALL is very infrequent in adults with ALL, scarce studies have analyzed the prognosis of these patients separately. The aim of the present study was to analyze the clinicobiological characteristics and the outcome of adult patients with 11q23/*KMT2A* rearrangements, focusing especially on the impact of allogeneic HSCT and MRD after induction on patient outcome.

Patients and methods

Patients, diagnostic criteria, and treatment

Patients diagnosed with ALL from 1993 to 2014 in 65 Spanish centers and treated with protocols from the PETHEMA (Programa Español de Tratamientos en Hematología) group were included in this retrospective study. The study was approved by the Institutional Review Board of the Hospital Germans Trias i Pujol. The diagnosis of ALL was made by morphological, immunophenotyping, and cytogenetic study of bone marrow (BM), all of which were performed locally.

For the cytogenetic study, specimens of peripheral blood (PB) or BM were processed using direct methods and unstimulated short-term (24 and 48 hours) cultures with G-banding analysis. The criteria of the International System for Human Cytogenetic Nomenclatures [14] adapted to yearly editions were employed for karyotype descriptions. The karyotype reports were reviewed centrally. Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) for *KMT2A* was performed in patients with a normal karyotype or without evaluable metaphases.

All the patients with t(v;11q23)/*KMT2A* rearrangements followed the sequential high-risk protocols of the PETHEMA group ALL-HR-93,[15] ALL-HR-03,[16] ALL-OLD-07,[17] and ALL-HR-11.[18] Briefly, in the ALL-HR-93 [15] protocol patients received induction and consolidation therapy and those with a histocompatible sibling donor were assigned to allogeneic HSCT, whereas those without an HLA-identical sibling were randomized to receive autologous HSCT or delayed intensification and maintenance therapy. In the ALL-AR-03 [16] trial patients with slow response to induction (>10% blasts in BM on day 14 of induction therapy) or with MRD level $\geq 0.05\%$ (assessed by 4-color flow cytometry) at the end of consolidation received allogeneic HSCT, whereas those with standard response to induction and MRD level <0.05% at the end of consolidation received delayed intensification and maintenance therapy. The ALL-OLD-07 [17] protocol included patients older

than 60 years or older than 55 years with comorbidities. These patients received a mild induction therapy with non-genotoxic drugs, followed by 6 cycles of consolidation and maintenance therapy for up to 2 years.[19] Finally, in the ongoing ALL-HR-11 [18] protocol the patients with MRD level $\geq 0.1\%$ (assessed by 8-color flow cytometry) at the end of induction or MRD level $\geq 0.01\%$ at the end of consolidation received allogeneic HSCT either from related or unrelated donors, and the remaining patients continued with delayed intensification and maintenance therapy.[18]

Outcome measures and statistical analysis

Complete response (CR) was defined as less than 5% marrow blasts, absence of blasts in PB with recovery of hematopoiesis (neutrophils >1000/ μL and platelets >100,000/ μL), without extramedullary disease. CR duration was defined as the time from the date of CR until the date of relapse. All patients not known to have relapsed were censored on the date of their last visit. Overall survival (OS) was defined as the time from diagnosis to the last follow-up or death.

The primary objective of the study was to analyze the CR rate, CR duration and the OS in patients with t(v;11q23)/*KMT2A* rearrangements as well as the impact of the type of post-consolidation therapy (chemotherapy or allogeneic HSCT) on the outcome. The secondary objective was to analyze the impact of MRD at the end of induction on outcome. In addition, CR, CR duration, and OS of *KMT2A*-rearranged patients were compared with these outcomes from the remaining high-risk B-precursor, Ph negative ALL patients treated with the same protocols.

A descriptive study was performed of the main demographic, clinical, hematologic, and cytogenetic variables in the whole series. The Kruskal-Wallis test (continuous variables) or the Pearson's chi-square or Fisher's exact test (categorical variables) were used for comparisons between groups. For the comparison of the impact of HSCT and MRD status a time-dependent analysis was performed. For comparison of HSCT vs. no HSCT survival was calculated from the time of HSCT or the end of consolidation, respectively. For the analysis of the impact of MRD on survival, the time was calculated from the time of MRD assessment (after induction therapy). CR duration and OS curves were plotted by the Kaplan and Meier method and were compared by the log-rank test. Ninety-five percent confidence intervals (95% CI) were calculated for the probabilities.

Results

Patients and demographic data

From 1993 to 2014, 1129 patients were diagnosed with ALL in 65 Spanish hospitals. The karyotypes of 794 patients (70.3%) were evaluable after review, and 46 (5.8%) showed t(v;11q23)/KMT2A. This frequency rose to 7.8% after excluding the patients with Philadelphia chromosome-positive ALL ($n=205$). Table 1 shows the main demographic data of the 46 patients with t(v;11q23)/KMT2A. The median age was 33.5 years (range 16–70); 21 patients (46%) were male and the median absolute leukocyte count at diagnosis was $71.1 \times 10^9/L$ (range 2.5–371). Central nervous system (CNS) infiltration was observed in 4/43 cases (9%). A complete immune phenotypic study was available in 42 patients, and 31 (74%) showed an early pre-B (pro-B) phenotype. Myeloid markers were detected in 18 out of the 36 (50%) patients in whom these markers were included in the study.

Cytogenetic results

The t(v;11q23) rearrangement was identified by conventional cytogenetic study in 36 patients (78%) and by FISH in the remaining 10 cases. In 35 out of 46 cases (76%) chromosome 11 was rearranged with chromosome 4, whereas other rearrangements were observed in the remaining 11 cases [Table 2]. In 23/38 (61%) patients t(v;11q23) was the only chromosomal alteration, whereas additional abnormalities were observed in the remaining evaluable cases ($n=15$, 39%).

Outcome results

Six patients (13%) were treated according to the ALL-HR-93 protocol, 27 (59%) to the ALL-HR-03 trial, 3 (6%)

Table 1. Main clinical and biologic characteristics of the 46 patients with t(v;11q23)/KMT2A rearrangements.

Characteristic	N=46
Age, years, median (range)	33.5 [16; 70]
Gender, male, N (%)	21 (46)
ECOG score 0–1, N (%)	30/39 (77)
WBC count, $\times 10^9/L$, median (range)	71,1 [2.5; 371]
CNS infiltration, N (%)	4/43 (9)
Blasts in BM, %, median (range)	90 [30; 99]
Mediastinal mass, N (%)	1/44 (2)
Hepatomegaly, N (%)	5/43 (12)
Splenomegaly, N (%)	9/42 (21)
Immunologic phenotype, N (%)	
Early pre-B	31/42 (74)
Common	2/42 (5)
Pre-B	8/42 (19)
B, non-specified	1/42 (2)
Myeloid markers	18/36 (50)

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; CNS: central nervous system; WBC: white blood cell; BM: bone marrow.

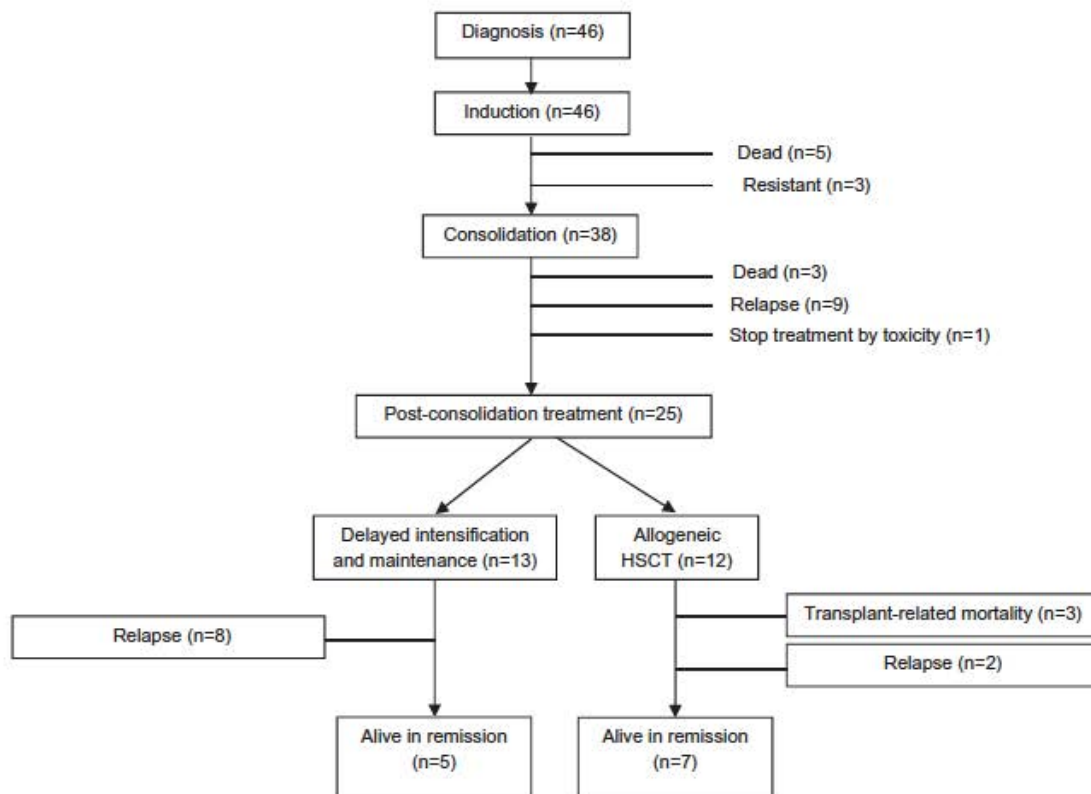
to the ALL-OLD-07 protocol and the remaining 10 (22%) were treated based on the ALL-HR-11 protocol. Figure 1 shows the flow chart with the outcome of the patients. Thirty-eight out of 46 patients (82.6%) patients achieved CR after induction therapy and continued the consolidation treatment; 5 patients died during induction due to infection and the remaining 3 patients were refractory. Early relapses were observed in 9 patients, 3 died due to treatment toxicity and 1 withdrew from the trial. Among the 25 patients in CR after consolidation allogeneic HSCT was performed in 12 (from siblings in 6 cases, from umbilical cord blood in 5 cases and one case from an unrelated donor), and the remaining 13 underwent chemotherapy. The reasons for allogeneic HSCT were poor MRD clearance ($n=10$) or donor availability in cases without MRD data ($n=2$). In turn, chemotherapy was performed in patients with advanced age ($n=1$), adequate MRD clearance ($n=10$) or donor unavailability ($n=2$). Overall 19 patients relapsed (all in BM), with a median duration of CR of 18 months and a probability of CRD at 5 years of 37% (95% CI, 19%–55%) [Figure 2(A)]. A trend for better CR duration was observed on comparison of patients who underwent HSCT vs. those receiving chemotherapy [Figure 2(B) and (C)]. This comparison included all those who were in CR after post-consolidation treatment and were potential candidates to HSCT (25 patients between 16 and 63 years old). Thirty-three patients had died; 11 as a consequence of the therapy (5 in induction, 3 in consolidation, and 3 as a consequence of the HSCT) and 22 due to disease progression. The median OS was 12.1 months and the probability of OS at 5 years was

Table 2. Main results of the cytogenetic study.

Conventional cytogenetic study*	N (%)
t(4;11)(q21;q23)	35 (76)
Other t(v;11q23):	(24)
- t(11;14)(q21;q23;q11q12)	1
- t(10;11)(p12-13;q12q23)	1
- t(v;11q23) with no other	9
- Chromosome identified	
Additional chromosomal alterations**	N (%)
- None	23/38 (61)
- +X	5/38 (13)
- del 6q/6p	1/38 (2.6)
- del 12p	1/38 (2.6)
- del 17p	1/38 (2.6)
- other 11q alterations	1/38 (2.6)
- -7	1/38 (2.6)
FISH study	N (%)
- FISH alone	6 (13.2)
- FISH and PCR	4 (9)

FISH: Fluorescent *in situ* hybridization; PCR: polymerase chain reaction. *Thirty-five (76%) patients were diagnosed by conventional cytogenetics and 11 (24%) were diagnosed by FISH and/or PCR.

**More than one alteration were detected in individual patients.



HSCT: hematopoietic stem cell transplantation.

Figure 1. Flow-chart of the patients. HSCT: hematopoietic stem cell transplantation.

20% [95% CI, 5%–35%]. Twelve patients are currently alive in remission and off treatment [Figure 1].

No prognostic factors for CR, CR duration, and OS were identified in the univariate analysis [Table 3]. The MRD level after induction (with a cutoff value of 0.1%) had no impact on CR duration. In turn, a trend for a longer OS was observed in those patients with a MRD level <0.1% after induction (4-year OS 39% [95% CI, 14%–64%] vs. 13% [95% CI, 0%–36%]) [Figure 2(D)].

On comparison of CR rate, CR duration, and OS between *KMT2A*-rearranged ALL ($n=46$) and the remaining patients with B-cell precursor phenotype, Philadelphia chromosome negative ALL with high-risk features treated according the same PETHEMA protocols ($n=328$) there were no significant differences between both groups. However, a trend for a poorer OS for those with *KMT2A*-rearranged ALL ($p=0.075$) (Supplementary Figure S1).

Discussion

This study of adult ALL patients from the PETHEMA group with $t(v;11q23)/KMT2A$ rearrangement treated

with high-risk protocols confirms the poor outcome of these subgroups of patients and suggests that HSCT may have a favorable effect on their outcome. No clear impact of MRD level after induction was found on survival, although the limited number of cases included does not allow definitive conclusions to be drawn.

The prognosis of ALL in adults remains poor. Despite CR being achieved in 80–90%, [20] the OS at 5 years is about 40–60% in young adults and less than 15% in patients older than 65 years. [21] Rearrangements of the *KMT2A* gene confer a poor prognosis in patients with acute myeloblastic leukemia, [22,23] as well as in pediatric and adult ALL cases. [7,24,25]

The q23 band of chromosome 11 has been described to be rearranged with more than 70 partners, [25,26] with the $t(4;11)(q22;q23)$ rearrangement involving the *KMT2A-AFF1* fusion gene being the most prevalent. Other rearrangements include $t(10;11)(q22;q23)$ with *KMT2A-TEI1* fusion gene and, $t(11;19)(q23;p13.3)$ with *KMT2A-ENL* fusion gene, [27] among others. Meyer et al. [25] studied 1622 patients with acute leukemias (ALL and AML) and showed

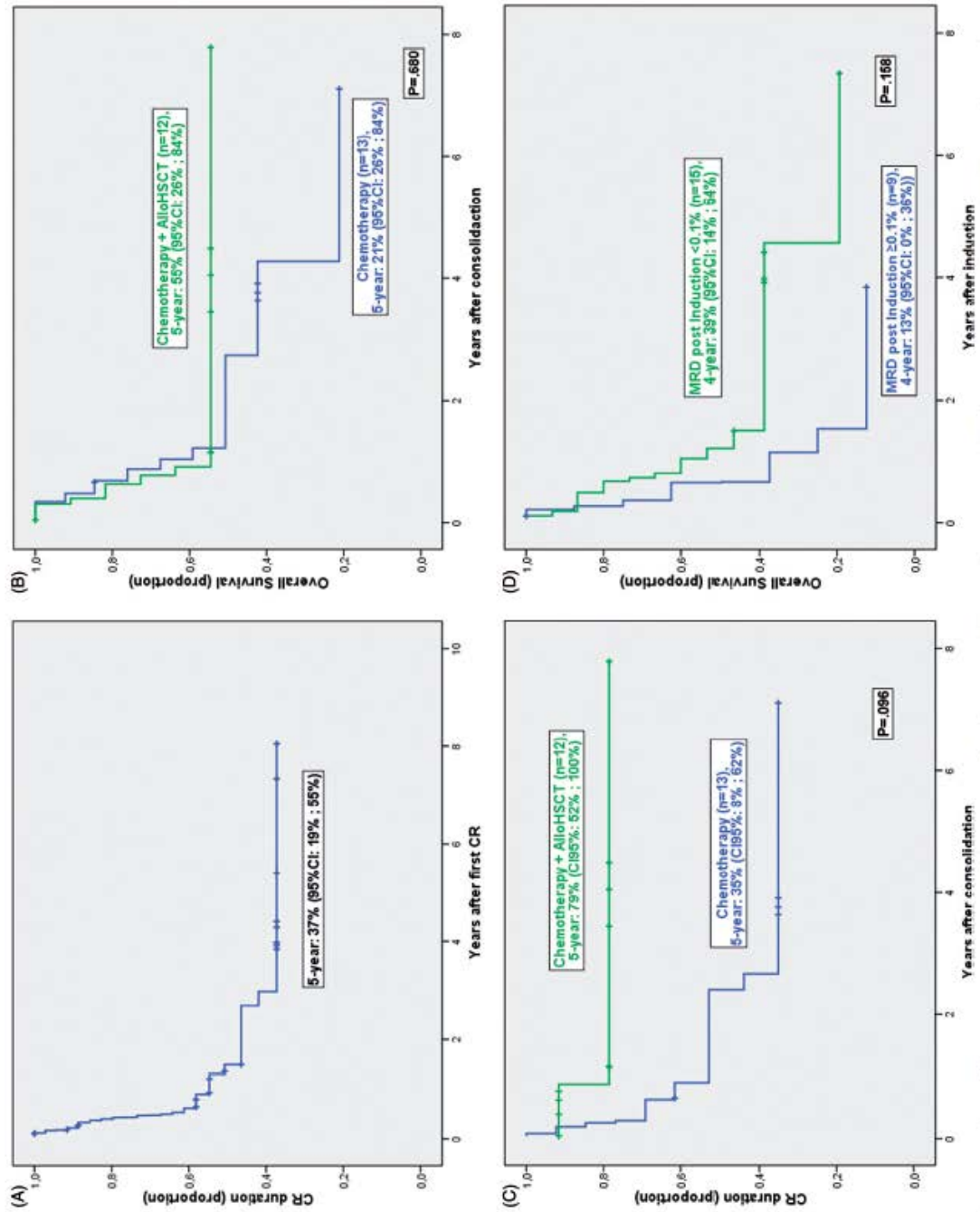


Figure 2. Kaplan-Meier plots of the outcome measures of the patients from the series. (A) complete remission (CR) duration; (B) overall survival (OS) according to the type of post-consolidation therapy: chemotherapy or allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHsCT) analyzed from the start of consolidation treatment; (C) CR duration according to the type of post-consolidation therapy: chemotherapy or allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHsCT) analyzed from the start of consolidation treatment; (D) OS according to the minimal residual disease (MRD) at the end of the induction.

Table 3. Results of the univariate analysis of prognostic factors for complete remission (CR), CR duration (CRD), and overall survival (OS).

Variable	CR		p	OS 4-year prob. (95% CI)	p	CRD 4-year prob. (95% CI)	p
	Yes	No					
Age, year							
≥30 (n = 30)	25	5	0.580	17% (2%; 32%)	0.213	30% (7%; 53%)	0.520
<30 (n = 16)	13	3		43% (18%; 68%)		47% (17%; 77%)	
≥50 (n = 10)	10	0	0.116	13% (0%; 36%)	0.691	22% (0%; 59%)	0.682
<50 (n = 36)	28	8		31% (15%; 47%)		41% (20%; 62%)	
Gender							
M (n = 21)	16	5	0.254	35% (13%; 57%)	0.812	35% (7%; 63%)	0.993
F (n = 25)	22	3		21% (5%; 37%)		38% (13%; 63%)	
WBC, X10⁹/L							
≥30 (n = 29)	26	3	0.166	31% (14%; 48%)	0.064	42% (21%; 63%)	0.954
<30 (n = 15)	11	4		10% (0%; 27%)		0%*	
≥71 (n = 22)	19	3	0.500	32% (12%; 52%)	0.127	40% (16%; 64%)	0.869
<71 (n = 22)	18	4		17% (1%; 33%)		28% (0%; 59%)	
CNS infiltration							
No (n = 39)	33	6	0.523	20% (7%; 33%)	NA	32% (12%; 52%)	NA
Yes (n = 4)	3	1		75% (32%; 100%)		0%	
ACA							
No (n = 26)	22	4	0.314	34% (15%; 53%)	0.294	41% (17%; 65%)	0.674
Yes (n = 15)	11	4		24% (1%; 47%)		51% (14%; 89%)	
Post-induction MRD							
≥0.1% (n = 9)	NA	NA	NA	13% (0%; 36%)	0.158	20% (0%; 54%)	0.320
<0.1% (n = 15)				39% (14%; 64%)		43% (14%; 72%)	
Post-induction MRD							
≥0.01% (n = 13)	NA	NA	NA	25% (0%; 50%)	0.997	33% (3%; 63%)	0.666
<0.01% (n = 11)				36% (7%; 65%)		38% (1%; 75%)	
Post-con-solidation treatment							
CHT (n = 13)	13	0	NA	42% (14%; 70%)	0.680	35% (8%; 62%)	0.096
CHT + AlloHSCT (n = 12)	12	0		55% (26%; 84%)		79% (52%; 100%)	

M: male; F: female; WBC: white blood cell count; CNS: central nervous system; ACA: additional cytogenetic abnormalities; CHT: chemotherapy; AlloHSCT: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; CR: complete remission; OS: overall survival; CRD: complete remission duration; CI: confidence interval; NA: not available.

that 82% of adult patients with ALL had *KMT2A-AFF1* rearrangement. Also, they demonstrated that the prognosis was worse in cases with *KMT2A*-rearranged leukemias in whom the cut off was located in intron 11.

Marks et al. [24] studied 85 adult patients with t(v;11q23) out of 913 patients (9.3%) included in the UKALLXII/ECOG2993 trial. This incidence was slightly higher than that observed in the present study, and the same was found in the study by Wetzler et al. [28] (7% of all leukemias and 11% excluding t(9;22) positive ALL cases). The study by Marks et al. [24] included patients younger than 65 years who received intensive chemotherapy treatment. Patients under 55 years of age with an HLA-identical sibling were assigned to receive an allogeneic HSCT and those without a histocompatible sibling were randomized to receive either maintenance treatment with conventional chemotherapy or autologous HSCT. The CR rate was 93% and 38% of patients (29/77) relapsed after a median follow-up of 3.8 years, and all but one died. The 5-year OS and EFS probabilities were 38% and 34%, respectively, being slightly higher than those observed in our study (20%).

Regarding post-remission therapy, our patients received chemotherapy or allogeneic-HSCT, although the criteria for allocation to either of these therapeutic

options were not homogeneous (availability of HLA identical sibling in patients included in the ALL93 trial, and MRD level in the most recent trial). This is in contrast to the study by Marks et al. [24] in which patients underwent genetic randomization based on the availability of HLA-identical donor. A clear difference was observed in the outcome in favor of allogeneic HSCT in the UKALLXII/ECOG2993 study (5-year OS probability of 24% for QT/autologous HSCT vs. 56% for HSCT from sibling donors and 67% for transplant from unrelated donors) with no differences between chemotherapy and autologous HSCT. Our study also showed better outcomes for patients undergoing allogeneic HSCT, although the level of significance was lower. Outcome of allogeneic-HSCT is also being studied for patients with AML and 11q23/*KMT2A* rearrangement.[29] Few studies have analyzed the impact of MRD as a predictor of prognosis in adult ALL patients with 11q23/*KMT2A*-rearrangement. Beldjord et al. [13] confirmed that MRD was a strong independent predictor of outcome in B-precursor ALL together with *IKZF1* and *KMT2A* rearrangements. Meyer et al. [25] also showed the importance of the study of MRD and its prognostic significance in *KMT2A*-rearranged ALL. In our study MRD was only analyzed in the more recent trials, and a better outcome, albeit not statistically significant,

was observed for patients with low MRD level after induction. The scarce number of patients in whom the MRD was assessed after consolidation did not allow evaluation of the prognostic impact of MRD at that time. A recently published small series from Italy also showed better results in *KMT2A*-rearranged patients who promptly underwent allogeneic HSCT after achieving good molecular remission.[1]

Apart of the low number of patients, this study has some limitations. First, due to the retrospective nature and the long period of time covered, cytogenetic reports were not available for all patients, and some of them were of poor quality after review. These reasons explain why 794 over 1129 patients had valid cytogenetic reports. Second, the MRD assessment was only performed in 24 out of 41 possible patients, and the MRD method employed was flow cytometry instead of RT-PCR, the method that is currently considered as reference.

New drugs are being studied in order to improve the outcome of AML and ALL patients with *KMT2A*-rearrangements. Inhibitors of histone methyltransferase DOT1L are currently under development. This histone has emerged as an important mediator of *KMT2A* fusion-mediated leukemic transformation due to its aberrant activity.[8–11] The EPZ-5676 molecule is highly efficacious as a single agent or combined with chemotherapy in *KMT2A*-rearranged AML, but no results are currently available in ALL cases.[10] New targeted therapies are needed for these patients to reduce the relapse rate and to improve their survival.

Potential conflict of interest: Disclosure forms provided by the authors are available with the full text of this article at <http://dx.doi.org/10.1080/10428194.2016.1177182>.

References

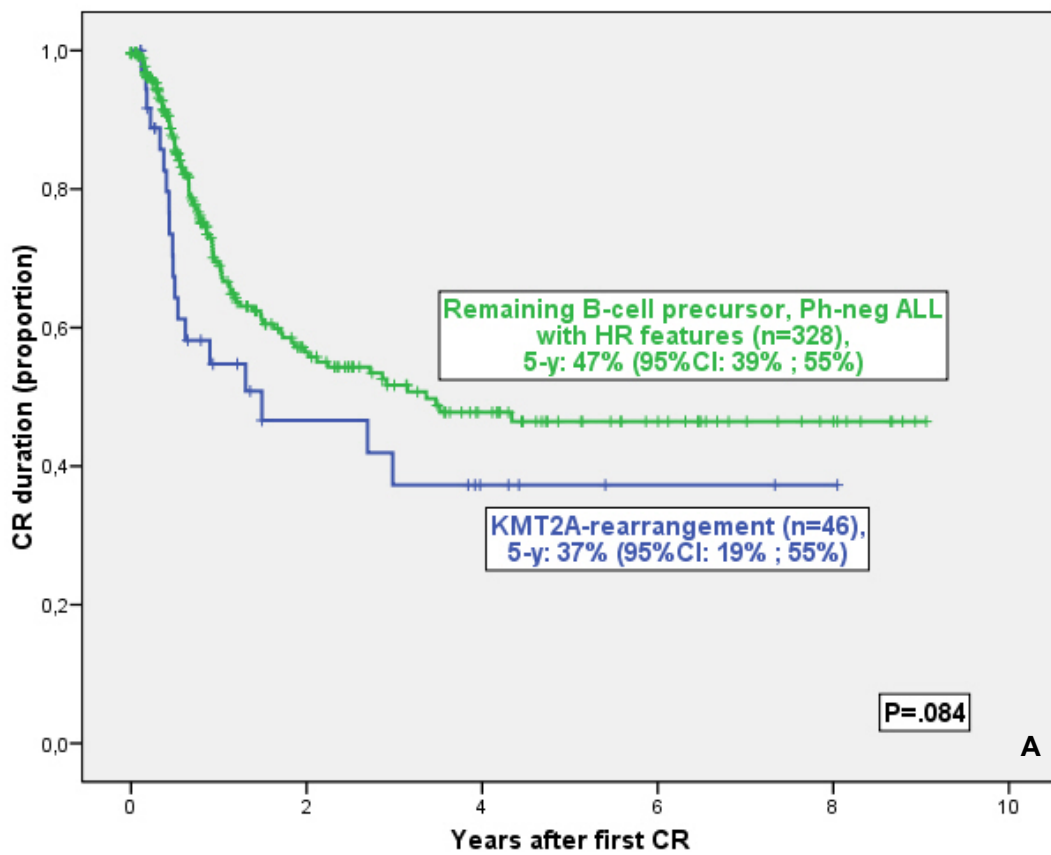
- [1] Parma M, Viganò C, Fumagalli M, et al. Good outcome for very high risk adult B-cell acute lymphoblastic leukaemia carrying genetic abnormalities t(4;11)(q21;q23) or t(9;22)(q34;q11), if promptly submitted to allogeneic transplantation, after obtaining a good molecular remission. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2015;7: e2015041.
- [2] Moorman AV, Harrison CJ, Buck GA, et al. Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial. *Blood*. 2007;109:3189–3197.
- [3] Mancini M, Scappaticci D, Cimino G, et al. A comprehensive genetic classification of adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of the GIMEMA 0496 protocol. *Blood*. 2005;105:3434–3441.
- [4] Pullarkat V, Slovak ML, Kopecky KJ, et al. Impact of cytogenetics on the outcome of adult acute lymphoblastic leukemia: results of Southwest Oncology Group 9400 study. *Blood*. 2008;111:2563–2572.
- [5] Ribera JM, Ortega JJ, Oriol A, et al. Prognostic value of karyotypic analysis in children and adults with high-risk acute lymphoblastic leukemia included in the PETHEMA ALL-93 trial. *Haematologica*. 2002;87: 154–166.
- [6] Marchesi F, Girardi K, Avvisati G. Pathogenetic, clinical, and prognostic features of adult t(4;11)(q21;q23)/MLL-AF4 positive B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Adv Hematol*. 2011;2011:621627. DOI: 10.1155/2011/621627.
- [7] Sanjuan-Pla A, Bueno C, Prieto C, et al. Revisiting the biology of infant t(4;11)/MLL-AF4+ B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2015;126:2676–2685.
- [8] Bernt KM, Armstrong SA. Targeting epigenetic programs in MLL-rearranged leukemias. *Hematology*. 2011;2011:354–360.
- [9] Stein EM, Tallman MS. Mixed lineage rearranged leukaemia: pathogenesis and targeting DOT1L. *Curr Opin Hematol*. 2015;22:92–96.
- [10] Klaus CR, Iwanowicz D, Johnston D, et al. DOT1L inhibitor EPZ-5676 displays synergistic antiproliferative activity in combination with standard of care drugs and hypomethylating agents in MLL-rearranged leukemia cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 2014;350: 646–656.
- [11] Chen CW, Armstrong SA. Targeting DOT1L and HOX gene expression in MLL-rearranged leukemia and beyond. *Exp Hematol*. 2015;43:673–684.
- [12] Vidrales MB, Pérez JJ, López-Berges MC, et al. Minimal residual disease in adolescent (older than 14 years) and adult acute lymphoblastic leukemias: early immunophenotypic evaluation has high clinical value. *Blood*. 2003;101:4695–4700.
- [13] Beldjord K, Chevret S, Asnafi V, et al. Oncogenetics and minimal residual disease are independent outcome predictor in adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2014;123:3739–3749.
- [14] Shaffer LG, Slovak ML and Campbell LJ, eds. *ISCN 2013: an international system for human cytogenetic nomenclatures*. Karger: Spokane; 2009.
- [15] Ribera JM, Oriol A, Bethencourt C, et al. Comparison of intensive chemotherapy, allogeneic or autologous stem cell transplantation as post-remission treatment for adult patients with high-risk acute lymphoblastic leukemia. Results of the PETHEMA ALL-93 trial. *Haematologica*. 2005;90:1346–1356.
- [16] Ribera JM, Oriol A, Morgades M, et al. Treatment of high-risk (HR) Philadelphia chromosome-negative (Ph-) adult acute lymphoblastic leukemia in adolescents and adults according to early cytological response and minimal residual disease after consolidation assessed by flow cytometry: final results of PETHEMA ALL-HR-03 Trial. *J Clin Oncol*. 2014;32:1595–1604.
- [17] Ribera JM, García O, Oriol A, et al. Feasibility and results of subtype-oriented protocols in older adults and fit elderly patients with acute lymphoblastic

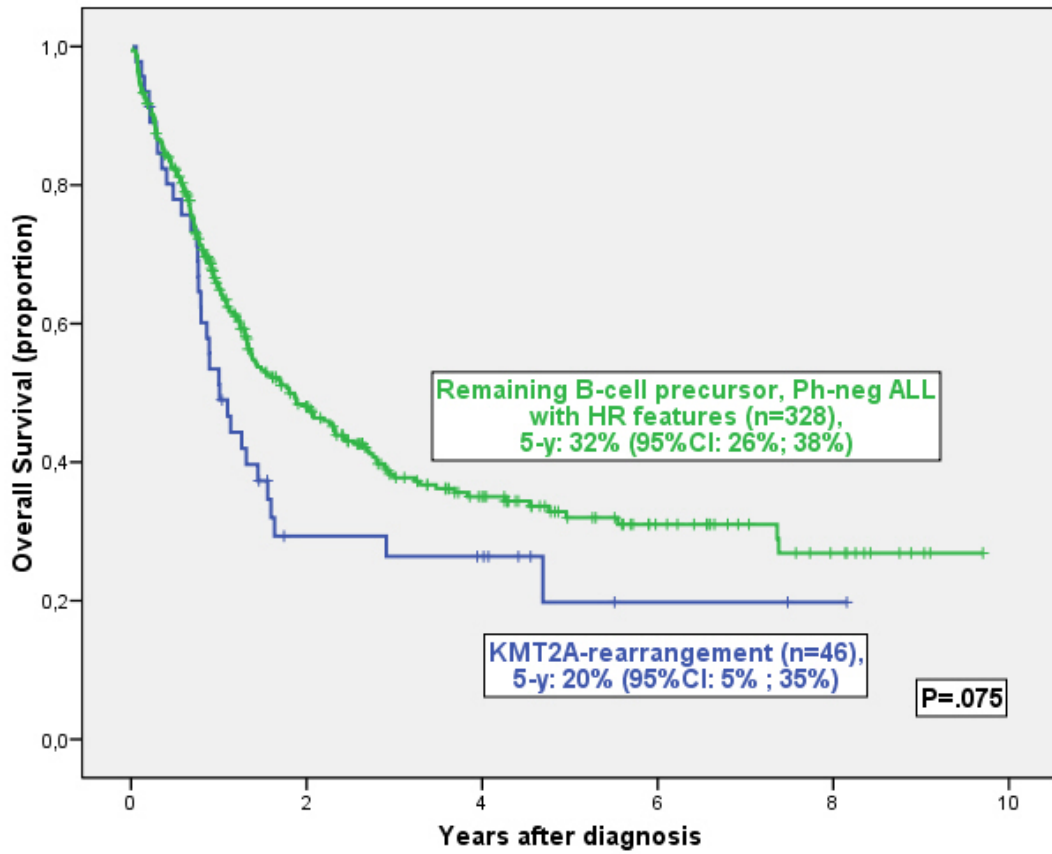
- leukemia: results of three prospective parallel trials from the PETHEMA group. *Leuk Res.* 2016;41:12–20.
- [18] Ribera JM, Morgades M, Ciudad J, Barba P, Martino R, Montesinos P, et al. Post-remission treatment with chemotherapy or allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHSCT) of high-risk (HR) Philadelphia chromosome-negative (Ph-neg) adult acute lymphoblastic leukemia (ALL) according to minimal residual disease (MRD). Preliminary results of the Pethema ALL-HR-11 Trial. *Blood.* 2015;126:Abstract 1333.
- [19] Gokbuget N. How I treat older patients with ALL. *Blood.* 2013;122:1366–1375.
- [20] Motlló C, Ribera JM, Morgades M, et al. Prognostic significance of complex karyotype and monosomal karyotype in adult patients with acute lymphoblastic leukemia treated with risk-adapted protocols. *Cancer.* 2014;120:3958–3964.
- [21] Rowe JM, Goldstone AH. How I treat acute lymphocytic leukemia in adults. *Blood.* 2007;110:2268–2279.
- [22] Yu M, Honoki K, Andersen J, et al. MLL tandem duplication and multiple splicing in adult acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Leukemia.* 1996;10:775–780.
- [23] Sorensen PH, Chen CS, Smith FO, et al. Molecular rearrangements of the MLL gene are present in most cases of infant acute myeloid leukemia and are strongly correlated with monocytic or myelomonocytic phenotypes. *J Clin Invest.* 1994;93:429–437.
- [24] Marks DI, Moorman AV, Chilton L, et al. The clinical characteristics, therapy and outcome of 85 adults with acute lymphoblastic leukemia and t(4;11)(q21;q23)/MLL-AFF1 prospectively treated in the UKALLXII/ECOG2993 trial. *Haematologica.* 2013;98:945–952.
- [25] Meyer C, Hofmann J, Burmeister T, et al. The MLL recombinome of acute leukemias in 2013. *Leukemia.* 2013;27:2165–2176.
- [26] Pieters R, Schrappe M, De Lorenzo P, et al. A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (Interfant-99): an observational study and a multicentre randomised trial. *Lancet.* 2007;370:240–250.
- [27] Burmeister T, Meyer C, Schwartz S, et al. The MLL recombinome of adult CD10-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results from the GMALL study group. *Blood.* 2009;113:4011–4015.
- [28] Wetzler M, Dodge RK, Mrózek K, et al. Prospective karyotype analysis in adult acute lymphoblastic leukemia: the Cancer and Leukemia Group B experience. *Blood.* 1999;93:3983–3993.
- [29] Pigneux A, Labopin M, Maertens J, et al. Outcome of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for adult patients with AML and 11q23/MLL rearrangement (MLL-r AML). *Leukemia.* 2015;29:2375–2381.

SUPPLEMENTAL FIGURES

Kaplan-Meier plots of the outcome measures of the patients from the series.

A: Complete remission (CR) duration comparison between high-risk B-cell precursor ALL according to the presence of *MLL*-rearrangements. B: Overall survival (OS) comparison between high-risk B-cell precursor ALL according to the presence of *MLL*-rearrangements





ANNEXE

ARTICLE 3

Freqüència i significat pronòstic de les alteracions citogenètiques addicionals al cromosoma Philadelphia in pacients adults amb leucèmia aguda limfoblàstica.

Aproximadament el 30% dels pacients adults amb LAL presenten el cromosoma Ph en el seu cariotip. Tot i que és ben conegut el seu mal pronòstic, optimitzat des de la introducció dels ITK, l'impacte que tenen les alteracions citogenètiques afegides (ACA) al cromosoma Ph en la resposta al tractament i supervivència d'aquesta malalts ha estat poc avaluat.

Hem analitzat la freqüència, el tipus i l'impacte pronòstic de les ACA en pacients adults tractats amb el protocol LAL-Ph-08 del grup PETHEMA, que inclou la combinació de quimioteràpia intensiva i imatinib, seguit de trasplantament de progenitors hematopoètics. Vam revisar el cariotips de tots els pacient inclosos, 74 dels quals eren avaluables i 52 tenien ACA. Dinou pacients dels 52 tenien al menys una monosomia associada a la t(9;22), que compliria la definició de CM.

L'anàlisi de la taxa de RC, la seva durada, la SLE i la supervivència global van ser similars per als pacients amb la t(9;22) com a única alteració en comparació amb aquells que presentaven ACA. En canvi, els que presentaven un CM [t(9;22) + monosomia] van presentar una durada de la RC i una supervivència lliure d'event més curtes si es comparaven amb la resta de pacients.

En l'anàlisi multivariant la única variable que va presentar impacte pronòstic va ser la presència del CM.

En la LAL amb cromosoma Philadelphia les ACA són freqüents i no tenen repercussió en el pronòstic, tret del grup de pacients amb monosomies afegides que, en el nostre estudi, presenten una durada més curta de la RC i de la SLE.

Frequency and prognostic significance of additional cytogenetic abnormalities to the Philadelphia chromosome in young and older adults with acute lymphoblastic leukemia

Cristina Motlló^{a,b,c}, Josep-Maria Ribera^{a,b,c}, Mireia Morgades^{a,b,c}, Isabel Granada^{a,b,c}, Pau Montesinos^d, Santiago Mercadal^e, José González-Campos^f, María-José Moreno^g, Pere Barba^h, Marta Cerveraⁱ, Manuel Barrios^j, Andrés Novo^k, Teresa Bernal^l, Jesús-María Hernández-Rivas^m, Eugenia Abellaⁿ, María-Luz Amigo^o, Mar Tormo^p, Rodrigo Martino^q, Esperanza Lavilla^r, Juan Bergua^s, Alfons Serrano^t, Daniel García-Belmonte^u, Ramon Guàrdia^v, Javier Grau^{a,b,c}, Evarist Feliu^{a,b,c} and on behalf of the PETHEMA Group, Spanish Society of Hematology

^aDepartment of Hematology, ICO-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Barcelona, Spain; ^bDepartment of Hematology, Josep Carreras Leukemia Research Institute, Barcelona, Spain; ^cDepartment of Hematology, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain; ^dHospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Spain; ^eICO-Hospital Duran i Reynals, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain; ^fHospital Virgen del Rocío, Sevilla, Madrid, Spain; ^gHospital Virgen de la Victoria, Málaga, Spain; ^hHospital Vall d'Hebrón, Barcelona, Spain; ⁱICO-Hospital Joan XXIII, Tarragona, Spain; ^jHospital Carlos Haya, Málaga, Spain; ^kHospital Son Espases, Palma de Mallorca, Palma, Spain; ^lHospital Central de Asturias, Oviedo, Spain; ^mHospital Clínico Universitario, IBSAL, Salamanca, Spain; ⁿHospital del Mar, Barcelona, Spain; ^oHospital Morales Meseguer, Murcia, Spain; ^pHospital Clínico, Valencia, Spain; ^qHospital de Sant Pau, Barcelona, Spain; ^rHospital Xeral, Lugo, Spain; ^sHospital San Pedro de Alcántara, Cáceres, Spain; ^tHospital Sanchinarro, Madrid, Spain; ^uHospital La Zarzuela, Madrid, Spain; ^vICO – Hospital Josep Trueta, Girona, Spain

ABSTRACT

About 25–35% of adult patients with acute lymphoblastic leukemia show the Philadelphia (Ph) chromosome. Few series have evaluated the prognosis of additional cytogenetic alterations (ACA) to the Ph chromosome. We analyzed the frequency, type and prognostic significance of ACA in adults (18–60 years) treated in the ALL-Ph-08 trial. Fifty-two out of 74 patients (70%) showed ACA and 19 (26%) presented monosomies associated with t(9;22) (monosomal karyotype, MK). Similar complete response (CR) rate, CR duration, overall survival and event-free survival (EFS) were observed in patients with or without ACA, but patients with MK showed shorter CR duration and EFS than the remaining. On multivariate analysis, the only variable with prognostic impact for CR duration and EFS was the presence of MK ($p = .003$ and $p = .036$, respectively). Although ACA associated with the Ph chromosome are frequent, only monosomies were associated with poor prognosis in this group of patients.

ARTICLE HISTORY

Received 24 January 2017
Revised 3 April 2017
Accepted 29 April 2017

KEYWORDS

Acute lymphoblastic leukemia; Philadelphia chromosome; additional cytogenetic alterations; monosomies; prognosis

Introduction

The karyotype is an important predictor of outcome in acute lymphoblastic leukemia (ALL) [1–3]. The very high-risk subtype includes patients with t(9;22) and t(4;11) or other 11q23 rearrangements [1,4–7]. Philadelphia chromosome-positive (Ph+) ALL accounts for 25–30% of adult cases of ALL [8]. The combination of tyrosine kinase inhibitors (TKI) and chemotherapy, usually followed by hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) constitutes the standard therapy for Ph+ALL in young adults [9–11]. The complete response (CR) rates exceed 90%, with a probability of long-term survival of ~40–50% [12]. Similar results have been obtained with the use of imatinib and

dasatinib [13] whereas promising short-term results have been obtained with ponatinib in combination with chemotherapy [14]. The prognosis of elderly patients is poor despite a having similar CR rate as young adults [15]. Recently, immunotherapy with immunoconjugated or bispecific monoclonal antibodies [16] and chimeric antigen receptor (CAR) T-cells [17] has shown promising results in relapsed or refractory patients with Ph+ALL.

Additional cytogenetic abnormalities (ACA) to t(9;22) are frequent in Ph+ALL, ranging from 50 to 65% in the different series [9,18]. Their prognostic significance in patients homogeneously treated with chemotherapy and TKI has been scarcely studied, and

the results have been controversial. The aim of the present study was to analyze the frequency and prognostic significance of ACA to the Ph chromosome in young and older adults with Ph+ ALL included in the ALL-Ph-08 study of the PETHEMA (Programa Español de Tratamientos en Hematología) Group.

Methods

Patients, diagnostic criteria and treatment

We analyzed patients aged 18–60 years with Ph+ ALL included in the ongoing ALL Ph 08 trial (NCT01491763). The study was approved by the Institutional Review Board of Hospital Germans Trias i Pujol.

Bone marrow (BM) or peripheral blood (PB) specimens were processed using direct methods and unstimulated short-term cultures with G-banding analysis. The International System for Human Cytogenetic Nomenclatures criteria [19] was employed for descriptions. The karyotype reports were centrally reviewed. The FISH study for t(9;22) was performed in patients with a normal karyotype or without metaphases. Polymerase chain reaction (PCR) was used to assess BCR-ABL1 isoforms. The BCR-ABL1/ABL ratio was evaluated by quantitative RT-PCR.

The preliminary results of the ALL-Ph-08 protocol have been published elsewhere [20]. Induction therapy consisted of vincristine, daunorubicin, prednisone and imatinib (from Day 1 until the beginning of the consolidation). Consolidation consisted of mercaptopurine, high-dose methotrexate, etoposide, high-dose cytarabine and imatinib. Triple intrathecal therapy (methotrexate, cytarabine and hydrocortisone) was used for central nervous system (CNS) prophylaxis. Allogeneic HSCT (allo-HSCT) from a matched-related donor, matched-unrelated donor, unrelated cord blood or haploidentical donor (according to center decision) was performed after consolidation. The myeloablative conditioning regimen included cyclophosphamide and fractionated total body irradiation and reduced conditioning regimen consisted of fludarabine and melphalan. Patients unfit for allo-HSCT received autologous HSCT followed by maintenance therapy (methotrexate, mercaptopurine and imatinib) for 2 years. The BCR-ABL1/ABL ratio was evaluated at the end of induction, end of consolidation/before HSCT and periodically after HSCT (monthly in the first 6 months, then every 2–3 months).

Cytogenetic definitions and outcome measures

ACA were defined as any extra numeric or structural abnormality associated with the t(9;22). Complex

karyotype (CK) was defined as any karyotype showing five or more unrelated chromosomal abnormalities. Monosomal karyotype (MK) was defined as the presence of two or more autosomal chromosome monosomies or one autosomal monosomy in the presence of structural abnormalities [2,21].

CR was defined as <5% marrow blasts, absence of blasts in PB with recovery of hematopoiesis without extramedullary disease. BCR-ABL1/ABL ratios $\leq 0.1\%$ or $\leq 0.01\%$ (or undetectable) defined major molecular response (MMR) and complete molecular response (CMR), respectively. CR duration was defined as the time from CR until relapse or last follow-up in CR. Overall survival (OS) was defined as the time from diagnosis to the last follow-up or death. Event-free survival (EFS) was defined as the time from diagnosis to induction failure, relapse or death by any cause.

Statistical analysis

A descriptive study was performed in the whole series according to the presence or not of ACA. The Kruskal–Wallis or median test (continuous variables) or Pearson chi-square or Fisher's exact test (categorical variables) were used for comparisons. CR duration, EFS and OS curves were plotted by the Kaplan–Meier method and were compared by the log-rank test. The impact of MMR before HSCT on survival was assessed by landmark analysis. Multivariate analyses of CR duration, OS and EFS were performed using Cox proportional hazards regression models. All *p* values <0.05 were considered significant. Non-relapse mortality (NRM) and relapse incidence (RI) were calculated using cumulative incidence rates by competing risks analysis.

Results

Patients and demographic data

From 2008 to 2016, 95 young and older adults (18–60 years) with Ph+ ALL from 30 Spanish hospitals were included in the ALL-Ph-08 study. No growth was observed in 21 patients in the conventional cytogenetic study and in these patients the diagnosis of Ph+ ALL was made by FISH and/or PCR. The remaining 74 patients were evaluable and constitute the study population. Table 1 shows the main demographic data of these 74 patients. The median age was 39 years (range 19–60) and 44 patients (59%) were male. The median absolute leukocyte count at diagnosis was $17.6 \times 10^9/L$ (range 0.2–390.0). CNS involvement was observed in 8/66 cases (12%). Early pre-B or common phenotype

was observed in 60 out of 70 evaluable patients. Median follow up was 1.89 years (range 0.10–7.38).

Cytogenetic results

Fifty-two out of 74 patients (70%) showed ACA to the Ph chromosome and no differences in frequency were identified in young (≥ 35 years) versus older (> 35 years) adults (70 and 70.5%, respectively). No differences were observed in the main clinical and biologic characteristics on comparison of patients with and without ACA (Table 2). Nineteen patients showed monosomies (defining MK), without differences in frequency in young versus older adults, the most frequent being monosomy 7 (10 cases) and $-9/9p$

(four and seven cases, respectively). Eighteen patients (24%) showed CK. Hyperdiploidy was observed in 22 patients and hypodiploidy in 13. Fifteen patients (20%) presented double Ph chromosome and two of them presented at least one associated monosomy (Table 1). In 18 cases (24%) cases, double Ph chromosome and/or $-9/9p$ was identified in the absence of high hyperdiploidy.

Outcome results and analysis of prognostic factors

Figure 1 shows the flow chart of the study. Sixty-six out of 68 evaluable patients (97%) achieved CR after induction therapy. One was refractory and the remaining patient died due to infection during the induction period. The remaining six patients were under induction therapy at the time of the analysis. Sixty-four out of 66 patients who achieved CR completed the consolidation treatment with chemotherapy and imatinib (two were under consolidation at the time of the analysis). Finally, 56 underwent HSCT while four were waiting for this procedure at the time of the analysis. The remaining four patients in whom HSCT was not performed received maintenance treatment ($n=1$), being withdrawn from the trial due to excess toxicity ($n=1$) or relapsed ($n=2$). Two patients received an autologous HSCT, and in the remaining 54 cases underwent allo-HSCT. In 40 patients, the conditioning regimen was myeloablative and five received a reduced intensity regimen; the remaining conditioning regimens were not informed. The source of allogeneic hematopoietic progenitors was a matched-related donor ($n=17/49$), matched-unrelated donor ($n=16/49$), unrelated cord blood ($n=15/49$) or a haploidentical family donor ($n=1/49$) (in five cases the source of allogeneic progenitors was not informed). After HSCT NRM was observed in 16 patients and relapse in 10. Thirty patients (45%) remained alive and in CR at the time of study completion. The competing risk analysis

Table 1. Main clinical and biologic characteristics of the 74 patients with evaluable karyotype study.

Characteristic	No. of patients
Age, years, median (range)	39 [19; 60]
Gender, male, N (%)	44 (59)
ECOG score 0–1, N (%)	58/70 (83)
WBC count, $\times 10^9/L$, median (range)	17.59 [0.2; 390]
CNS infiltration, N (%)	8/66 (12)
Isophorm, N (%)	
e1a2 (p190)	41/51 (80)
b2a2/b3a2 (p210)	9/51 (18)
Both	1/51 (2)
Immunologic phenotype, N (%)	
Early pre-B/common	60/70 (86)
Pre-B	10/70 (14)
Ph+ALL with ACA	52 (70)
Double Ph+ ^a	15
-7^b	10
del(7p)	1
-9^b	4
del(9p)	6
$+8^a$	6
Monosomal karyotype	19/73 (26)
Complex karyotype (≥ 5 abnormalities)	18/74 (25)
Numeric abnormalities	
Hypodiploid; ≤ 45 chromosomes	13 (18)
Hyperdiploid; 47–50 chromosomes	13 (18)
Hyperdiploid; ≥ 50 chromosomes	9 (12)

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group. CNS: central nervous system; WBC: white blood cell.

^aAssociated monosomies in two patients. ^bMore than one monosomy can be present in the same patient.

Table 2. Main clinical and biologic characteristics of the 74 patients with t(9;22) rearrangement according to the presence of additional cytogenetics abnormalities.

Characteristic	Isolated t(9;22) (N=22)	t(9;22) with ACA (N=52)	p
Age, years, median (range)	39 [19; 60]	40 [19; 60]	.721
Gender, male, N (%)	13	31	.966
ECOG score 0–1, N (%)	18/21	40/49	.485
WBC count, $\times 10^9/L$, median (range)	21.40 [0.2; 307.4]	15.85 [1; 390]	.387
CNS infiltration, N (%)	3/19	5/47	.418
Isophorm			.788
e1a2 (p190)	13/16	28/35	
b2a2/b3a2 (p210)	3/16	6/35	
Both	0/16	1/35	
Immunologic phenotype, N (%)			.656
Early pre-B/common	18/21	42/49	
Pre-B	3/21	7/49	

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group. CNS: central nervous system; WBC: white blood cell; ACA: additional cytogenetic abnormalities; Ph+: Philadelphia chromosome; ALL: acute lymphoblastic leukemia.

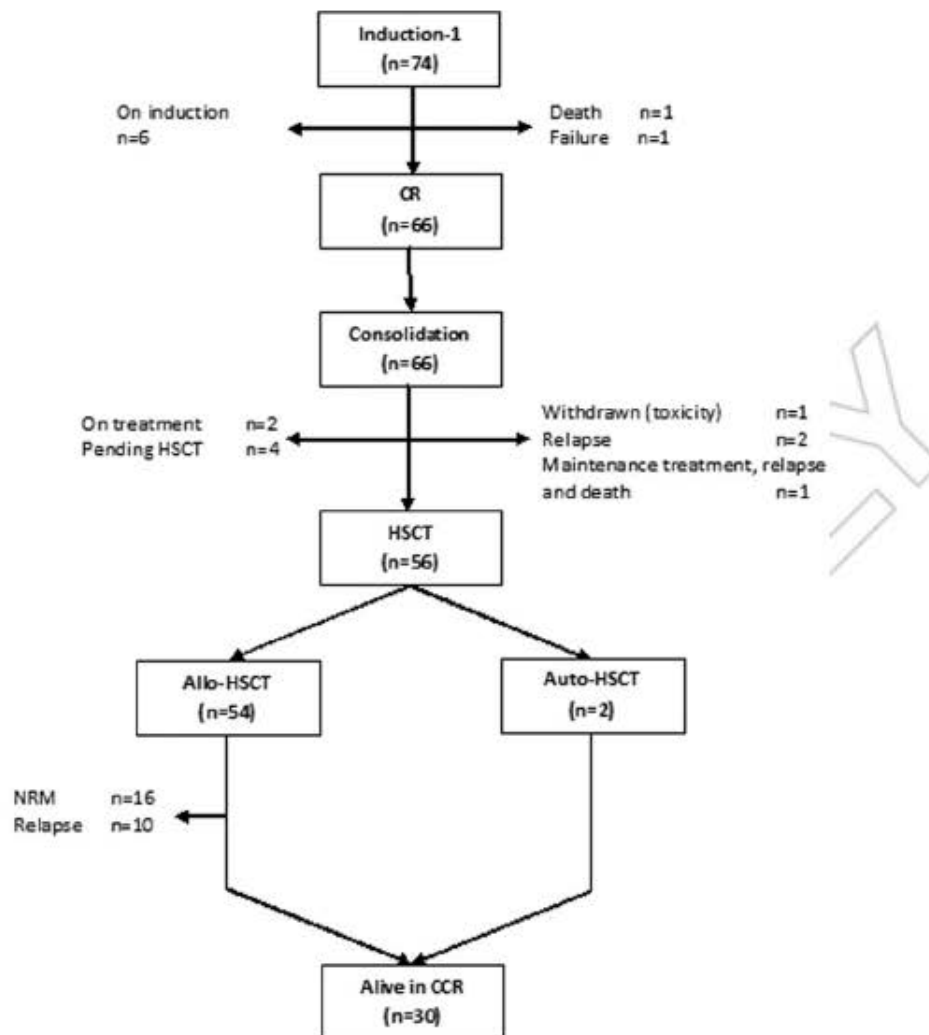


Figure 1. Flow chart of the study. CR: complete response; allo-HSCT: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; auto-HSCT: autologous hematopoietic stem cell transplantation NRM: non-relapse mortality; CCR continuous complete response.

showed incidences of NRM and relapse at 5-years of 36% (95% CI, 21–52%) and 22% (95% CI, 11–34%), respectively.

Table 3 shows the results of the univariate analysis of prognostic factors for CR, CR duration, OS and EFS. No factors were found to influence CR attainment. Regarding CR duration, no differences were observed on comparing patients with isolated Ph chromosome and those with a Ph chromosome with ACA ($p = .902$). Neither did we find differences in the cases of a double Ph compared with a single Ph ($p = .410$) and no differences were found in cases with double Ph + and/or -9/9p in the absence of high hyperdiploidy versus the remaining cases. However, patients with MK showed a worse CR duration than the remaining patients, with probabilities for CR duration at 5 years of 23% (95% CI, 0–49%) versus 88% (95% CI, 77–99%),

respectively ($p < .001$) (Figure 2(A)). The achievement of MMR before HSCT also had a positive impact on CR duration with 5-year probabilities of 79% (95% CI, 64–94%) versus 43% (95% CI, 6–80%), ($p = .024$) (Figure 3). Multivariate analysis showed that the only factor influencing CR duration was the MK (HR 7.95 [95% CI, 2.04–30.95], $p = .003$).

The median OS for the whole series was 2.34 years (95% CI, 0.79–3.89), which was not achieved in patients with isolated t(9;22), and was 2.21 years (95% CI, 0.85–3.57) in patients with ACA. The probability of OS at 5 years was 39% (95% CI, 23–55%) in the whole series, 58% (95% CI, 26–90%) in patients with isolated Ph + and 33% (95% CI, 14–52%) in those with ACA ($p = .551$). The achievement of MMR or CMR previous to HSCT did not impact on the OS neither did

Table 3. Univariate analysis of the most important prognostic factors for complete remission, duration of CR, OS and EFS.

Variable	Group	n	CR rate (%)	p	CR duration (%) at 5 years (±95% CI)	p	OS probability (%) at 5 years (±95% CI)	p	EFS probability (%) at 5 years (±95% CI)	p
Age	>35 years	38	95	.309	65 ± 20	.252	29 ± 21	.174	31 ± 20	.182
	≤35 years	30	100		74 ± 23		54 ± 23		46 ± 22	
WBC count ^a	>30 × 10 ⁹ /L	26	92	.161	65 ± 25	.403	43 ± 24	.628	33 ± 22	.203
	≤30 × 10 ⁹ /L	38	100		75 ± 19		41 ± 20		42 ± 19	
CNS involvement	Yes	7	86	.218	40 ± 58	.210	50 ± 49	.789	23 ± 39	.269
	No	54	98		77 ± 15		38 ± 19		40 ± 18	
BCR-ABL1 isophorm	p190	37	97	.787	65 ± 19	.970	40 ± 21	.191	40 ± 19	.343
	p210	10	100		79 ± 26		29 ± 32		32 ± 33	
MMR pre-SCT	>0.1%	45	-	NA	79 ± 351	.024	43 ± 18	.920	43 ± 17	.531
	≤0.1%	8	-		43 ± 37		36 ± 39		29 ± 34	
t(9;22)	Alone ^b	20	90	.083	71 ± 28	.902	58 ± 32	.551	53 ± 27	.976
	With ACA	48	100		69 ± 17		33 ± 19		34 ± 18	
MK (monosomies)	Yes	16	100	.577	23 ± 26	<.001	14 ± 23	.128	15 ± 19	.032
	No	51	96		88 ± 11		51 ± 19		48 ± 18	
CK	Yes	17	100	.560	55 ± 31	.463	16 ± 27	.619	19 ± 29	.761
	No	51	96		76 ± 15		49 ± 17		45 ± 16	
Double Philadelphia chromosome ^b	Yes	15	100	.605	84 ± 20	.410	54 ± 30	.667	58 ± 29	.412
	No	53	96		65 ± 18		46 ± 16		38 ± 15	
Ploidy	Hyperdiploidy	22	100	.379	80 ± 26	.009	14 ± 24	.212	19 ± 28	.444
	Hypodiploidy	11	100		31 ± 34		25 ± 30		25 ± 29	
	Normal ploidy	35	94		76 ± 19		63 ± 20		55 ± 20	

CR: complete response; OS: overall survival; EFS: event free survival; CNS: central nervous system; WBC: white blood cell; MMR: major molecular response; MK: monosomal karyotype; CK: complex karyotype.

^aFour-year probabilities.^bThree-year probabilities.

the patients that presented double Ph + and/or -9/9p in the absence of high hyperdiploidy.

The median EFS was 1.68 years (95% CI, 0.84–2.52), with a EFS probability at 5 years of 38% (95% CI, 23–53%). The presence of ACA did not influence EFS ($p = .976$), but patients with MK showed a significantly worse EFS probability than the remaining Ph + ALL cases: [15% (95% CI, 0–34%) versus 48% (95% CI, 30–66%), $p = .032$], respectively (Figure 2(B)). No other variable showed influence on EFS. Multivariate analysis showed that MK was the only factor with influence on the probability of EFS [HR 2.18 (95% CI, 1.05–4.51), $p = .036$].

Discussion

This study shows that 70% of young and older adults with Ph + ALL have ACA to the t(9;22). Although ACA did not have prognostic significance, the presence of MK was the only factor associated with poorer CR duration and EFS by multivariate analysis.

The results of the present study are similar to those from other trials in which patients with Ph + ALL were treated with imatinib concurrent with intensive chemotherapy and followed by HSCT [9,11,22–24]. There are scarce studies evaluating the prognostic impact of ACA associated with the t(9;22). Aldoss et al. [18] retrospectively analyzed 130 patients with Ph + ALL who underwent allo-HSCT. ACA were identified in 41 out of 78 patients (53%) in whom the cytogenetic study was available. In the randomized study by the French GRAALL Group [9], the frequency of ACA was 65%, similar to that of our study. Likewise, as in our study, no differences were found in the main clinical data such as age, WBC count or MRD status before HSCT on comparison of patients with and without ACA. In addition, no differences were observed in outcome according to the presence or not of ACA, similar to the present study. To the contrary, in the study by Aldoss et al. [18] significantly poor outcomes (OS and leukemia-free survival) were observed in patients with ACA. Recently, Short et al. [25] have published a study from a single institution including 152 adult Ph + ALL patients with available cytogenetics treated with chemotherapy and TKI [25]. Compared to outcomes of patients without ACA, ACA were not associated with differences in either relapse-free survival (RFS) or OS. In this study, a subgroup of patients with +der(22)t(9;22) and/or -9/9p in the absence of high hyperdiploidy (representing 16% of patients) with a particular worse prognosis was identified. These results were not confirmed in our series.

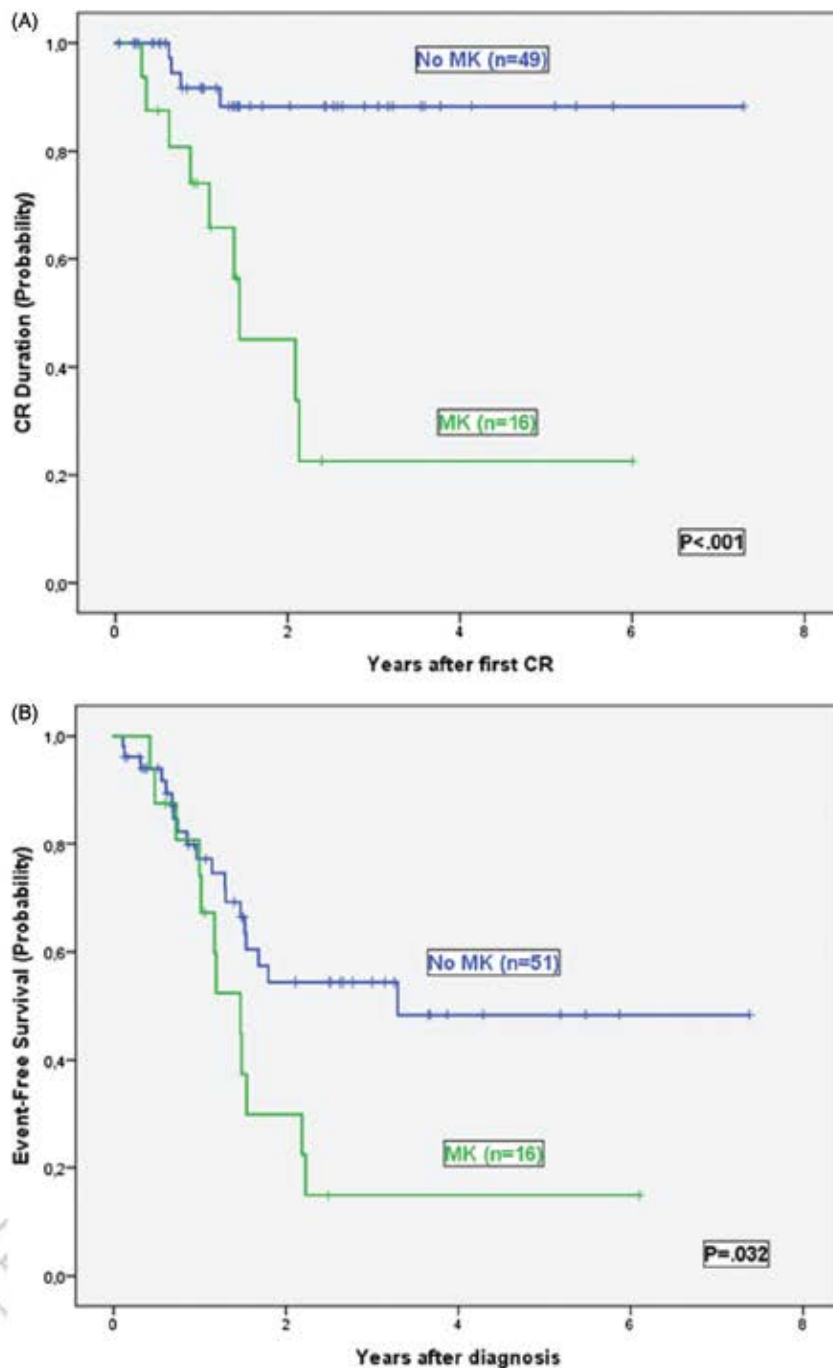


Figure 2. (A) Duration of the complete response (CR) according to the presence of a monosomalkaryotype (MK). (B) Event-free survival according to the presence of a monosomalkaryotype (MK).

The MK is one of the most powerful prognostic factors in acute myeloid leukemia (AML) [21] and in myelodysplastic syndromes [26]. In AML, MK is defined as any karyotype without core binding factor-associated chromosomal abnormalities showing two or more monosomies or one monosomy associated with a structural abnormality. The prevalence of MK in AML is 20–30%, being 10–15% in ALL [1,3]. In the present

study, all the patients showed a structural abnormality [t(9;22)] this meaning that any monosomy in the presence of the Ph translocation will be considered as MK. The frequency of MK in the present study was 24%, with monosomy of chromosome 7 the most frequently involved, as occurs in AML [21]. The frequency of monosomy 7 identified by Aldoss et al. [18] (29%) was similar to that of our study (26%), but these authors

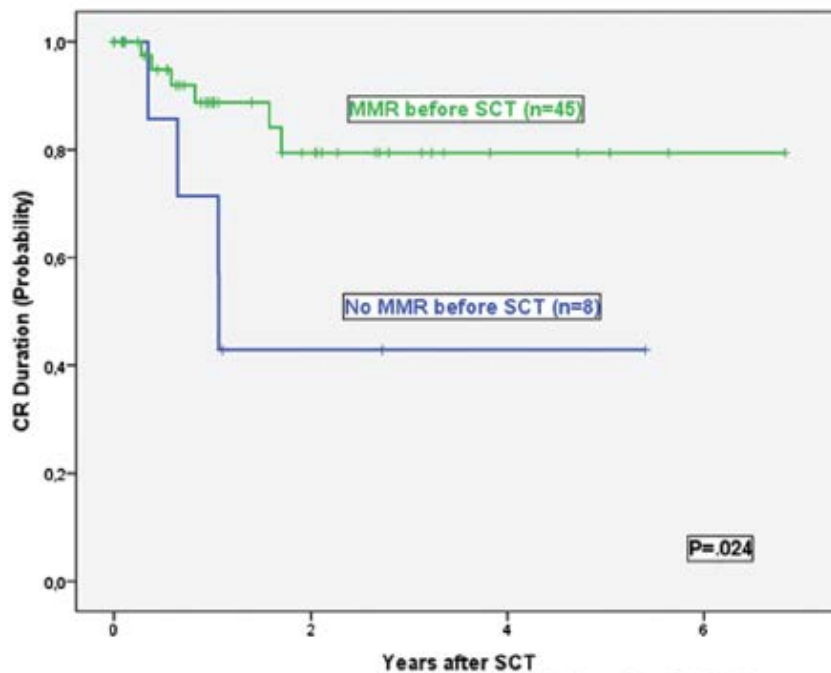


Figure 3. Duration of the complete response (CR) according to achievement of major molecular response (MMR) before hematopoietic stem cell transplantation (SCT).

did not assess its impact as part of MK. Nevertheless, they analyzed the impact of monosomy 7 on HSCT outcome by comparing three groups of patients: isolated t(9;22) ALL versus t(9;22) with monosomy -7 versus t(9;22) with other ACA, and showed that the poorest OS and leukemia-free survival were observed in the latter group. A trend to a worse prognosis for monosomy 7, del(7p) and/or del(9p) was also observed in the French LALA94 trial [27], although in this study the frequency of monosomy 7 was lower (9%) than that observed in our study. Of note, the IKZF1 gene is located in 7p, being deletions of this gene associated with poor prognosis in Ph+ALL patients [28,29].

In our study, the MMR before HSCT showed a prognostic impact for CR duration but not for OS or EFS. Our results are partially concordant with those from Short et al. [30] who show that patients with Ph+ALL who achieved CMR at 3 months from the onset of treatment had better survival compared with those with lesser molecular responses even without HSCT. Different studies have reported conflicting results regarding the effects of molecular response on outcome in Ph+ALL patients [22–24,31–33]. In our study, despite having influence on CR duration, MRD response did not retain its prognostic relevance in the multivariate analysis, with MK remaining as the only unfavorable variable for CR duration.

We analyzed a homogeneous series of young and older adults receiving the same schedule of

chemotherapy and TKI followed by HSCT whenever possible and we consistently found a poor prognosis in patients with monosomies associated with the Ph chromosome. The relatively low number of patients and the fact that some of these patients are still under induction therapy or waiting for HSCT constitute the main limitations of the study. In addition, the frequency of MK can be overestimated given that the presence of one monosomy in these patients with t(9;22) directly defines MK. Furthermore, the MRD and the cytogenetic studies were performed locally although the analysis of the karyotype reports were centralized.

In conclusion, in young patients with Ph+ALL treated with an intensive imatinib-based protocol, the presence of ACA to the Ph chromosome had no impact on the prognosis of these patients. However, among patients with ACA, those with MK showed a poor prognosis, independently of other factors such as the molecular response. This poor prognostic group should be considered when post-remission strategies are going to be planned.

Acknowledgments

We want to thank to the following Spanish hospitals that have participated in the PETHEMA protocols and have included patients in this study. ICO-Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona. Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia. ICO-Hospital Duran i Reynals, L'Hospitalet del Llobregat.

Hospital Virgen Del Rocío, Sevilla. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria, Málaga. Hospital Vall d'Hebron, Barcelona. Hospital Joan XXIII, Tarragona. Hospital Carlos Haya, Málaga. Hospital Son Espases, Palma de Mallorca. Hospital Universitario Central, Asturias. Hospital Clínico Universitario, Salamanca. Hospital del Mar, Barcelona. Hospital Morales Meseguer, Murcia. Hospital Clínico Universitario, Valencia. Hospital de Sant Pau, Barcelona. Hospital San Pedro de Alcántara, Cáceres. Hospital Xeral, Lugo. Hospital de Fuenlabrada, Madrid. Hospital Clínico Universitario, Valladolid. ICO-Hospital Josep Trueta, Girona. Hospital La Zarzuela, Madrid. Hospital Sanchinarro, Madrid. Hospital Xeral Cies, Vigo. Hospital General Universitario, Alicante. Hospital Universitario, Las Palmas de Gran Canaria. Hospital Marqués de Valdecilla, Santander. Hospital Ramón y Cajal, Madrid. Hospital Meixoeiro, Vigo. Complexo Hospital Universitario, Orense, and Hospital del Galdakao, Bizkaia.

Potential conflict of interest: Disclosure forms provided by the authors are available with the full text of this article online at <https://doi.org/10.1080/10428194.2017.1326596>.

Funding

Supported in part by grants PI10/01417 (F.I.S.), RD12-0036-0029 from RTICC, Instituto Carlos III and RD14-SGR225 (GRE), Generalitat de Catalunya, and 'La Caixa'.

References

- [1] Moorman AV, Harrison CJ, Buck GA, et al. Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/Eastern Cooperative Oncology group (ECOG) 2993 trial. *Blood*. 2007;109:3189–3197.
- [2] Motlló C, Ribera JM, Morgades M, et al. Prognostic significance of complex karyotype and monosomal karyotype in adult patients with acute lymphoblastic leukemia treated with risk-adapted protocols. *Cancer*. 2014;120:3958–3964.
- [3] Motlló C, Ribera JM, Morgades M, et al. Frequency and prognostic significance of t(v;11q23)/KMT2A rearrangements in adult patients with acute lymphoblastic leukemia treated with risk-adapted protocols. *Leuk Lymphoma*. 2017;58:145–152.
- [4] Parma M, Viganò C, Fumagalli M, et al. Good outcome for very high risk adult B-cell acute lymphoblastic leukaemia carrying genetic abnormalities t(4;11)(q21;q23) or t(9;22)(q34;q11), if promptly submitted to allogeneic transplantation, after obtaining a good molecular remission. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2015;7:e2015041.
- [5] Mancini M, Scappaticci D, Cimino G, et al. A comprehensive genetic classification of adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of the GIMEMA 0469 protocol. *Blood*. 2005;105:3434–3441.
- [6] Pullarkat V, Slovak ML, Kopecky KJ, et al. Impact of cytogenetics on the outcome of adult acute lymphoblastic leukemia: results of Southwest Oncology Group 9400 study. *Blood*. 2008;111:2563–2572.
- [7] Ribera JM, Ortega JJ, Oriol A, et al. Prognostic value of karyotypic analysis in children and adults with high-risk acute lymphoblastic leukemia included in the PETHEMA ALL-93 trial. *Haematologica*. 2002;87:154–166.
- [8] Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127:2391–2405.
- [9] Chalandon Y, Thomas X, Hayette S, et al. Randomized study of reduced-intensity chemotherapy combined with imatinib in adults with Ph-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2015;125:3711–3719.
- [10] Fieding AK. Treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia in adults: a broader range of options, improved outcomes, and more therapeutic dilemmas. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2015;35:e352–e359.
- [11] Daver N, Thomas D, Ravandi F, et al. Final report of a phase II study of imatinib mesylate with hyper-CVAD for the front-line treatment of adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2015;100:653–661.
- [12] Ribera JM. Optimal approach to the treatment of patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: how to best use all the available tools. *Leuk Lymphoma*. 2013;54:21–27.
- [13] Ravandi F, O'Brien SM, Cortes JE, et al. Long-term follow-up of a phase 2 study of chemotherapy plus dasatinib for the initial treatment of patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*. 2015;121:4158–4164.
- [14] Jabbour E, Kantarjian H, Ravandi F, et al. Combination of hyper-CVAD with ponatinib as first-line therapy for patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia: a single-centre, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2015;16:1547–1555.
- [15] Rousselot P, Coudé MM, Gokbuget N, et al. Dasatinib and low-intensity chemotherapy in elderly patients with Philadelphia chromosome-positive ALL. *Blood*. 2016;128:774–782.
- [16] Martinelli G, Dombret H, Chevallerier P, et al. Complete molecular and hematologic response in adult patients with relapse/refractory (R/R) Philadelphia chromosome-positive B-precursor acute lymphoblastic leukemia (ALL) following treatment with Blinatumomab: results from a phase 2 single-arm, multicenter study (ALCANTARA). *Blood*. 2015;126:679.
- [17] Park JH, Riviere S, Wang X, et al. Implications of minimal residual disease negative complete remission (MRD-CR) and allogeneic stem cell transplant on safety and clinical outcome of CD-19-targeted 19-28z CAR modified T cells in adult patients with relapsed, refractory B-cell ALL. *Blood*. 2015;126:682.
- [18] Aldoss I, Stiller T, Cao TM, et al. Impact of additional cytogenetic abnormalities in adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21:1326–1329.

- [19] Shaffer LG, Slovak ML and Campbell LJ, editors. ISCN 2013: an international system for human cytogenetic nomenclatures. Basel: Karger; 2013.
- [20] Ribera JM, García O, Montesinos P, et al. Treatment of young patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia using increased dose of imatinib and deintensified chemotherapy before allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2012;159:78–81.
- [21] Breems DA, Van Putten WL, De Greef GE, et al. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J Clin Oncol.* 2008;26:4791–4797.
- [22] Bassan R, Rossi G, Pogliani EM, et al. Chemotherapy-phased imatinib pulses improve long-term outcome of adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: Northern Italy Leukemia Group protocol 09/00. *JCO.* 2010;28:3544–3552.
- [23] Kebriaei P, Saliba R, Rondon G, et al. Long-term follow-up of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: impact of tyrosine kinase inhibitors on treatment outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012;18:584–592.
- [24] Tanguy-Schmidt A, Rousselot P, Chalandon Y, et al. Long-term follow-up of the imatinib GRAAPH-2003 study in newly diagnosed patients with *de novo* Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: a GRAALL study. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013;19:150–155.
- [25] Short NJ, Kantarjian HM, Sasaki K, et al. Poor outcomes associated with +der(22)t(9;22) and -9/9p in patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia receiving chemotherapy plus a tyrosine kinase inhibitor. *Am J Hematol.* 2017;92:238–243.
- [26] McQuilten ZK, Sundararajan V, Adrianopoulos N, et al. Monosomal Karyotype predicts inferior survival independently of a complex karyotype in patients with myelodysplastic syndromes. *Cancer.* 2015;121:2892–2899.
- [27] Dombret H, Gabert J, Boiron JM, et al. Outcome of treatment in adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. Results of the prospective multicenter LALA-94 trial. *Blood.* 2002;100:2357–2366.
- [28] Kim M, Park J, Kim DW, et al. Impact of IKZF1 deletions on long-term outcomes of allo-SCT following imatinib-based chemotherapy in adult Philadelphia chromosome-positive ALL. *Bone Marrow Transplant.* 2015;50:354–362.
- [29] Martinelli G, Iacobucci I, Storlazzi CT, et al. IKZF1 (Ikars) deletions in BCR-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia are associated with short disease-free survival and high rate of cumulative incidence of relapse: a GIMEMA AL WP report. *JCO.* 2009;27:5202–5207.
- [30] Short NJ, Jabbour E, Sasaki K, et al. Impact of complete molecular response on survival in patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2016;128:504–507.
- [31] Lee S, Kim DW, Cho BS, et al. Impact of minimal residual disease kinetics during imatinib-based treatment on transplantation outcome in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2012;26:2367–2374.
- [32] Ravandi F, Jorgensen JL, Thomas DA, et al. Detection of MRD may predict the outcome of patients with Philadelphia chromosome-positive ALL treated with tyrosine kinase inhibitors plus chemotherapy. *Blood.* 2013;122:1214–1221.
- [33] Lussana F, Intermesoli T, Gianni F, et al. Achieving Molecular Remission before allogeneic stem cell transplantation in adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: impact on relapse and long-term outcome. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22:1983–1987.

DISCUSSIÓ

DISCUSSIÓ

La LAL és una malaltia molt heterogènia que afecta a pacients a qualsevol edat i que té un pronòstic infaust en cas de no realitzar-se cap mena de tractament. L'estudi del cariotip ha permès estratificar per risc als pacients i ajustar el tractament a l'agressivitat de cada cas. Tot i l'avenç en el coneixement de la fisiopatologia, l'optimització de la metodologia d'avaluació de la resposta al tractament i la introducció de nous tractaments com són els anticossos monoclonals o les CAR-T cells, la citogenètica al moment del diagnòstic segueix sent uns dels principals factors que determina el pronòstic dels malalts.

Tenint en compte aquestes observacions, el propòsit dels treballs de la present Tesi Doctoral va ser l'estudi pronòstic de diferents alteracions citogenètiques: el cariotip complex, el cariotip monosòmic, els reordenaments que afecten al gen *KMT2A* i les alteracions citogenètiques afegides al cromosoma Ph en pacients amb LAL de nou diagnòstic i en subtipus específics de LAL. D'aquestes alteracions, algunes tenen un pronòstic ben establert com els reordenaments del gen *KMT2A*, d'altres es disposa d'alguna informació relativa al pronòstic, com són les ACA al cromosoma Ph en pacients amb LAL-Ph positiva, i finalment, d'altres alteracions que actualment es troben sota estudi amb resultats preliminars com és el cas del CM.

En el primer treball vam estudiar 2 alteracions citogenètiques diferents: el CC i el CM. En el cas del CC, s'han descrit diferents estudis amb un impacte negatiu per a la supervivència. En el nostre estudi, però, no es va evidenciar cap impacte negatiu en el pronòstic dels malalts, tant en la sèrie global com en l'estudi de subgrups de pacients. Les diferències trobades en relació a l'estudi d'en Moorman et al²⁶ podrien trobar-se en que tot i que el nombre de pacients amb CK era similar (33 en el nostre treball vs. 41 en Moorman et al²⁶), en el present estudi els tractaments van ser heterogenis, el que pot haver influït en el pronòstic. La nostra sèrie, tot i ser prou gran (881 pacients avaluable) era menor que la de Moorman et al²⁶ (1366), qüestió que també es podria considerar limitant per a l'estudi. L'edat d'inclusió, diferent per als dos treballs implicava diferències en el tractament. El treball de Moorman et al²⁶ descrivia la citogenètica de dos protocols amb inclusió de pacients entre 15 i 55 anys i entre 15 i 65 anys. En el treball d'aquesta Tesi Doctoral les

edats oscil·laven entre de 15 i 82 anys, donat que es van incloure pacients de 11 protocols diferents de tractament, incloent pacients amb LAL Ph+ de la era prèvia als ITK (LAL-AR-93 i LAL-Ph-00) i de la era posterior (LAL-OPh-07 i LAL-Ph-08) amb franca diferència en el pronòstic i incloïa també pacients dins de protocols per a malalts d'edat avançada com són el LAL-OLD-07 i el LAL-OPh-07 on el pronòstic, per disminució de la intensitat del tractament, sempre és més desfavorable que en sèries de pacients joves candidats a TPH. Un estudi recent procedent de Canadà (Khoral et al⁷¹) en canvi, ha confirmat els nostres resultats en una sèrie de 237 malalts, on no va objectivar cap impacte pronòstic del CK. En el nostre estudi no vam trobar cap grup de pacients on el CK tingués importància en el pronòstic (grup general, grups amb ≥ 3 , ≥ 4 o ≥ 5 alteracions, subgrup d'alt risc, subgrup que va rebre TPH o només quimioteràpia, subgrup de línia B o línia T). Per tant, tot i la heterogeneïtat del grup de pacients, l'anàlisi de subgrups amb intent d'homogeneïtzar la mostra tampoc va objectivar que el CK tingués influència en el pronòstic dels pacients.

En relació al CM, el seu impacte pronòstic en la LAL a penes s'ha estudiat. Emprant els criteris i la definició que serveixen en la LAM, vam analitzar el pronòstic en la sèrie global dels 881 pacients i es va analitzar per subgrups (grup general, grup de pacients amb LAL-Ph negativa, pacients amb LAL d'alt risc Ph negativa, pacients que han rebut TPH i pacients que només havien rebut quimioteràpia) sense identificar cap grup on el CM tingués impacte en el pronòstic. Prèviament al nostre estudi, Kenderian et al⁷² ja havien fet un estudi amb 112 pacients amb LAL-Ph negativa, dels quals 19 tenien CM, sense identificar-se repercussió en la supervivència global ni en la supervivència lliure de leucèmia. El mateix treball de Khoral et al⁷¹ descrit abans tampoc va determinar que el CM tingués influència en el pronòstic del seu grup de malalts. Posteriorment, en el nostre estudi de l'avaluació de la importància de les ACA al cromosoma Ph (Motlló et al^{apèndix}) vam objectivar que el subgrup de pacients amb la t(9;22) i monosomies tenia una pitjor durada de la RC i de la SLE en comparació a la resta de pacients sense monosomies.

El segon treball no pretenia ser un anàlisi de l'impacte pronòstic d'una alteració ben coneguda i amb un impacte en la supervivència clarament identificat com és el de la t(4;11) / reordenament del *KMT2A*; per això només vam fer un estudi descriptiu de la freqüència i el pronòstic d'aquest grup de malalts donat que sovint són alteracions úniques, sense fer

comparacions amb associacions a monosomies (CM) o amb altres ACA que impliquessin un CK donat que per definició són incompatibles. Sí que vam analitzar el tractament (consolidació amb quimioteràpia vs. TPH) i la resposta al mateix amb la determinació de la MMR. La incidència (5,8% de la sèrie global i 7,8% en la sèrie Ph negativa) és similar a les descrites per altres grups. No vam trobar diferència pronòstica entre els grups de pacients que haguessin fet un TPH de consolidació vs. aquells que van rebre només quimioteràpia o aquells que havien assolit MMR negativa en comparació amb la resta de malalts, tot i que la escassa mida de la mostra impedeix treure conclusions absolutament fiables. Finalment, també vam analitzar l'impacte pronòstic dels pacients amb reordenaments de *KMT2A* en comparació a no tenir aquests reordenaments en pacients amb LAL d'alt risc sense cromosoma Ph i només vàrem trobar una tendència a pitjor SG en el grup de pacients amb reordenament *KMT2A*. No vam analitzar si existien diferències pronòstiques entre els malalts amb t(4;11) i els que presentaven la resta d'alteracions que afecten al cromosoma 11q23, donada l'escassa mida de la mostra. El mateix fet ens va impedir analitzar l'impacte del TPH precoç en pacients amb MRD positiva, on s'ha suggerit la seva utilitat (Parma et al³²).

Finalment, i com a treball en apèndix, vam voler analitzar si la presència d'ACA al cromosoma Ph, per la complexitat genètica afegida que implica, tenia alguna influència en el pronòstic dels nostres pacients. En aquest cas vam seleccionar una població molt més homogènia excloent de l'anàlisi aquells pacients que es van tractar abans de l'aparició de l'imatinib o altres ITK i els tractats amb protocols semi-intensius per edat avançada, amb la intenció d'esbiaixar al mínim els resultats. Per tant, vam seleccionar els pacients tractats dins dels protocol LAL-Ph-08, que incloïa malalts entre 18 i 60 anys tractats homogèniament amb quimioteràpia i imatinib. En el nostre estudi no vam identificar que les ACA impliquessin un pitjor pronòstic en comparació amb els pacients que presentaven la t(9;22) com a única alteració en el cariotip. No obstant, al seleccionar els casos que tinguessin al menys una monosomia com a ACA (CM) vam identificar un subgrup de pacients amb pitjor pronòstic al tenir una menor durada de la RC i de la SLE. Curiosament, en el primer treball d'aquesta tesi, vàrem analitzar si la presència de CM en LAL-Ph+ (amb i sense imatinib) tenia impacte pronòstic en comparació amb la LAL-Ph+ sense CM sense identificar-se diferències estadísticament significatives en la taxa de CR, en la seva durada

ni en la SG. Així doncs, la selecció del grups de pacients tractats homogèniament ha permès identificar un subgrup de més risc.

En els tres treballs que componen la Tesi Doctoral l'anàlisi citogenètica es va fer localment (tot i que els resultats es van revisar de forma centralitzada) fet que constitueix una limitació. De fet, la qualitat de la informació sobre els cariotips remesos va limitar la classificació dels pacients, i en un nombre de casos superior al esperat s'informava de cariotips sense creixement. Encara que en alguns d'aquests casos es disposava d'estudi per FISH, no es podia descartar la presència d'altres alteracions cromosòmiques. Aquest fet, juntament amb la ja comentada heterogeneïtat dels tractaments emprats en els estudis corresponents als dos primers treballs de la Tesi Doctoral, constitueixen les principals limitacions de la present Tesi Doctoral.

Finalment, el darrer punt limitant és el nombre de pacients inclosos a cada estudi, tot i que poder analitzar més de 800 malalts és important, pensar que només s'ha pogut obtenir informació de malalts dels quals s'han enviat les dades corresponents als diversos protocols del grup PETHEMA. Desgraciadament, aquesta mostra no representa el total de malalts amb LAL tractats amb els esmentats protocols, el que constitueix una limitació addicional dels estudis que formen part de la present Tesi Doctoral.

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

Primer article

1. Relatiu a l'objectiu 1, no vam trobar diferències en el pronòstic en funció del nombre d'alteracions citogenètiques emprades en la definició de CC (3, 4 o 5) ni impacte pronòstic en la supervivència dels pacients amb CC, tant en la sèrie global com en l'anàlisi de subgrups.
2. Relatiu a l'objectiu 2, un cop identificats els pacients amb CM (definit per la presència d'almenys una monosomia amb una alteració estructural o dues monosomies), tampoc vam trobar diferències en la supervivència d'aquest grup de pacients respecte la resta, tant en la sèrie global com en l'anàlisi de subgrups.

Segon article

4. En relació al primer objectiu del segon treball, vam identificar els pacients adults amb LAL amb $t(v;11q23)$ /reordenaments del KMT2A, amb una freqüència similar a la descrita en altres sèries i el cromosoma més freqüentment implicat en el reordenament 11q23 fou el 4, en concret la $t(4;11)$.
5. En relació al segon objectiu, el pronòstic d'aquests malalts és pobre. En l'anàlisi de subgrups el pronòstic va ser millor, encara que sense significança estadística en aquells malalts que van rebre un TPH o van assolir una MMR negativa.

Annex.

1. Relatiu a l'objectiu 1, la presència d'ACA al cromosoma Ph és un fet freqüent.
2. En relació al segon objectiu d'aquest treball, no vam trobar cap impacte significatiu en la supervivència de la sèrie global.
3. Finalment, en relatiu a l'objectiu 3, els pacients amb monosomies van presentar una durada de la RC i una SLE més curtes. En l'anàlisi multivariant només és va identificar com a variable independent la presència de la $t(9;22)$ associada al menys a una monosomia (criteri de CM), que confereix un pronòstic més dolent.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE et al. Hematology. Basic principles and practice (4th Ed.). Philadelphia, USA. Elsevier; 2005.
2. Lang F, Wojcik B, Rieger MA. Stem cell hierarchy and clonal evolution in acute lymphoblastic leukemia. *Stem Cell Int.* 2015;137164.
3. Navin N, Krasnitz A, Rodgers L, Cook K, Meth J, Kendall J et al. Inferring tumor progression from genomic heterogeneity. *Genome Research.* 2010;20:68-80.
4. Meacham CE and Morrison SJ. Tumour heterogeneity and cancer cell plasticity. *Nature.* 2013;501:328-37.
5. Farreras V, Rozman C. Medicina interna, Sección XIV, Hematología (17th Ed.). Barcelona, Spain. Elsevier; 2012.
6. Sanz MA, Carreras E. Manual práctico de hematología clínica (5th Ed.). Molins de Rei, Spain. Antares; 2015
7. Woessner S, Florensa L. La citología óptica de el diagnóstico hematológico (5th Ed.). Madrid, Spain. FEHH; Acción Médica; 2006.
8. Gökbüget N, Bassan R, Dombret H, Boubeck M, Fielding AK, Foà R et al. Recommendations of the european working group for adult ALL (1st Ed.). Bremen, Germany. ELN; Uni-Med; 2011.
9. Granada I. Citogenética de la leucemia linfoblástica aguda del adulto. *Med Clin.* 2007;127:23-8.
10. Harrison CJ, Foroni. Cytogenetics and molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. *Rev Clin Exp Hematol* 2002;6:91-113.
11. Paul S, Kantarjian H, Jabbour EJ. Adult acute lymphoblastic leukemia. *Mayo Clin Proc.* 2016;91:1645-66.
12. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue (4th Ed). Lyon, France. IARC; 2008.
13. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood.* 2016;127:2391-405.

14. Dombret H, Gabert J, Boiron JM, Rigal-Huguet F, Blaise D, Thomas X et al. Outcome of treatment in adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia--results of the prospective multicenter LALA-94 trial. *Blood*. 2002;100:2357-66.
15. Aldoss I, Stiller T, Cao TM, Palmer JM, Tomas SH, Forman SJ et al. Impact of additional cytogenetic abnormalities in adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21:1326-9.
16. Chalandon Y, Thomas X, Hayette S, Cayuela JM, Abbal C, Huguet F, et al. Randomized study of reduced-intensity chemotherapy combined with imatinib in adults with Ph-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2015;125:3711-9.
17. Fieding AK. Treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia in adults: a broader range of options, improved outcomes, and more therapeutic dilemmas. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2015.e352-9.
18. Daver N, Thomas D, Ravandi F, Cortes J, Garris R, Jabbour E, et al. Final report of a phase II study of imatinib mesylate with hyper-CVAD for the front-line treatment of adult patient with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2015;100:653-61.
19. Paulsson K, High hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia: Chromosomal gains as the main driver event. *Mol Cell Oncol*. 2016;3:e1064555.
20. Sutcliffe MJ, Shuster JJ, Sather HN, Camitta BM, Pullen J, Schultz KR et al. High concordance from independent studies by the Children's Cancer Group (CCG) and Pediatric Oncology Group (POG) associating favorable prognosis with combined trisomies 4, 10 and 17 in children with NCI Standar-Risk B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a Chidren's Oncology Group (CCG) initiative. *Leukemia*. 2005;19:734-40.
21. Wojcek A, Pajor G, Alpár D, Mátics R, Póto L, Szuhai S et al. Conserved hierarchical gain of chromosome 4 is an independent prognostic factor in high hyperdiploid pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res*. 2017;52:28-33.
22. Willemse MJ, Seriu T, Hettinger K, d'Aniello E, Hop WC, Panzer-Grümayer ER et al. Detection of minimal residual disease identifies differences in treatment response between T-ALL and precursor B-ALL. *Blood*. 2002;99:4386-93

23. Mrózek K, Harper DP, Aplan DA. Cytogenetics and molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2009;13:991-1010.
24. Mittelman F. The Third International Workshop on Chromosomes in Leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 1981;4:96-8.
25. Issa GC, Kantarjian HM, Yin CC, Qiao W, Ravandi F, Thomas D et al. Prognostic impact of pretreatment cytogenetics in adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in the era of minimal residual disease. *Cancer.* 2017;123:459-67
26. Moorman AV, Harrison JC, Buck GA, Richards SM, Secker-Walker L, Martineau M et al. Karyotype is an independent prognostic factor in adult lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial. *Blood.* 2007;109:3189-97.
27. Moorman AV. New and emerging prognostic and predictive genetic biomarkers in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica.* 2016;101:407-16.
28. Chiaretti A, Zini G, Bassan R. Diagnosis and subclassification of acute lymphoblastic leukemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2014;6:e2014073. doi:10.4084.
29. Hu YX, Lu J, He HL, Wang Y, Li JQ, Xiao PF et al. A prospective evaluation of minimal residual disease as risk stratification for CCLG-ALL-2008 treatment protocol in pediatric B precursor acute lymphoblastic leukemia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20:1680-90.
30. Moorman AV, Enshaei A, Schwab C, Wade R, Chilton L, Elliott A et al. A novel integrated cytogenetic and genomic classification refines risk stratification in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2014;124:1434-44.
31. Irving JA, Enshaei A, Parker CA, Sutton R, Kuiper RP, Erhom A et al. Integration of genetic and clinical risk factors improves prognostication in relapsed childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2016;128:911-22.
32. Parma M, Viganò C, Fumagalli M, Colnaghi F, Colombo A, Rossi V et al. Good outcome for very high risk adult B-cell acute lymphoblastic leukaemia carrying genetic abnormalities t(4;11)(q21;q23) or t(9;22)(q34;q11), if promptly submitted to allogeneic transplantation, after obtaining a good molecular remission. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2015;7:e2015041. doi 10.4048.

33. Harrison CJ. Targeting signaling pathways in acute lymphoblastic leukemia: new insights. American Society of Hematology, Education Program. Hematology. 2013;118-25.
34. Sancho JM, Ribera JM, Oriol A, Hernandez-Rivas JM, Rivas C, Bethencourt C et al. Central nervous system recurrence in adult patients with acute lymphoblastic leukemia: frequency and prognosis in 467 patients without cranial irradiation for prophylaxis. Cancer. 2006;106:2540-6.
35. Vitale A, Guarini A, Ariola C, Mancini M, Mecucci C, Cuneo A et al. Blood 2006; 107:473-9. Adult T-cell acute lymphoblastic leukemia: biologic profile at presentation and correlation with response to induction treatment in patients enrolled in the GIMEMA LAL 0496 protocol. Blood. 2006 Jan 15;107(2):473-9.
36. Chen D, Zheng J, Gerasimcik N, Lagerstedt K, Sjögren H, Abrahamsson J et al. The expression pattern of the pre-B cell receptor components correlates with cellular stage and clinical outcome in acute lymphoblastic leukemia. PLoS Ones. 2016;11: e0162638. doi: 10.1371
37. Marks DI, Rowntree C. Management of adults with T-cell lymphoblastic leukemia. Blood. 2017;129:1134-42.
38. Chiaretti S, Gianfelici V, O'Brien SM, Mullighan CG. Advances in the Genetics and Therapy of acute lymphoblastic leukemia. Am Soc Clin Oncol Educ Book. 2016;35:e314-22.
39. Ribera JM, Oriol A, Bethencourt C, Parody R, Hernández-Rivas JM, Moreno MJ et al. Comparison of intensive chemotherapy, allogeneic or autologous stem cell transplantation as post-remission treatment for adult patients with high-risk acute lymphoblastic leukemia. Results of the PETHEMA ALL-93 trial. Haematologica 2005;90:1346-56.
40. Davies SM, Borowitz MJ, Rosner GL, Ritz K, Devidas M, Winick N, et al. Pharmacogenetics of minimal residual disease response in children with B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. Blood. 2008;111:2984-90.
41. Ikoma MR1, Beltrame MP2, Ferreira SI3, Souto EX4, Malvezzi M2, Yamamoto M5. Proposal for the standardization of flow cytometry protocols to detect minimal

- residual disease in acute lymphoblastic leukemia.. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2015;37:406–413
42. Coustan-Smith E, Sancho J, Hancock ML, Razzouk BI, Ribeiro RC, Rivera GK, et al. Use of peripheral blood instead of bone marrow to monitor residual disease in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2002;100:2399-402.
 43. Panzer-Grumayer ER, Schneider M, Panzer S, Fasching K, Gadner H.. Rapid molecular response during early induction chemotherapy predicts a good outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2000;95:790-4.
 44. Coustan-Smith E, Sancho J, Behm FG, Hancock ML, Razzouk BI, Ribeiro RC et al. Prognostic importance of measuring early clearance of leukemic cells by flow cytometry in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2002;99:1952-8.
 45. Bruggemann M, Raff T, Flhor T, Gökbuget N, Nakao M, Droese J et al. Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard-risk acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2006;107:1116-23.
 46. Raff T, Gökbuget N, Lüschen S, Reutzel R, Ritgen M, Irmer S, et al. Molecular relapse in adult standard-risk ALL patients detected by prospective MRD monitoring during and after maintenance treatment: data from the GMALL 06/99 and 07/03 trial. *Blood.* 2007;109:910-5.
 47. Ravandi F, Joergensen JL, O'Brien SM, Jabbour E, Thomas DA, Borthakur G et al. Minimal residual disease assessed by multi-parameter flow cytometry is highly prognostic in adult patients with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol.* 2016;172:392-400.
 48. Curran E, Stock W. How I treat acute lymphoblastic leukemia in older adolescents and young adults. *Blood.* 2015;125:3702-10.
 49. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Hornintg SJ et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol.* 2007;25:579-86.
 50. Stock W, Luger SM, Advani AS, Geyer S, Harvey RC, Mullighan CG et al. Favorable outcomes for older adolescents and Young adults (AYA) with acute lymphoblastic leukemia (ALL): early results of U. S. Intergroup Trial C10403. *Blood.* 2014;124:796.
 51. Ribera JM, García O, Oriol A, Gil C, Montesinos P, Bernal T et al. Feasibility and results of subtype-oriented protocols in older adults and fit elderly patients with

- acute lymphoblastic leukemia: results of three prospective parallel trials from the PETHEMA group. *Leuk Res.* 2016;41:12-20.
52. Marks DI, Moorman AV, Chilton L, Paietta E, Enhsaie A, DeWald G et al. The clinical characteristics, therapy and outcome of 85 adults with acute lymphoblastic leukemia and t(4;11)(q21;q23)/MLL-AFF1 prospectively treated in the UKALLXII/ECOG2993 trial. *Haematologica.* 2013;98:945-52
53. Wetzler M, Dodge RK, Mrózek K, Carroll AJ, Tantravahi R, Block AW et al. Prospective karyotype analysis in adult acute lymphoblastic leukemia: the cancer and leukemia Group B experience. *Blood.* 1999;93:3983-93.
54. Boue DR, LeBien TW. Expression and structure of CD22 in acute leukemia. *Blood.* 1988;71:1480-6.
55. Kantarjian HM, DeAngelo DJ, Stelljes M, Martinelli G, Liedtke M, Stoeck W et al. Inotuzumab Ozogamicin versus standard therapy for acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med.* 2016;375:740-53.
56. Jabbour E, O'Brien S, Thomas DA, Sasaki K, Garcia-Manero G, Ravandi F et al. Inotuzumab Ozogamicin in combination with low-intensity chemotherapy (mini-hyper-CVD) as frontline therapy for older patients (≥ 60 years) with acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood.* 2014;124:794.
57. Bargou R, Leo E, Zugmaier G et al. Tumor regression in cancer patients by very low doses of a T cell-engaging antibody. *Science.* 2008;321:974-7.
58. Bassan R. Toward victory in adult ALL: blinatumomab joins in. *Blood.* 2012;120:5094-5.
59. Raponi S, De Propis MS, Intoppa S, Milani ML, Vitale A, Elia L et al. Flow cytometric study of potential target antigens (CD19, CD20, CD22, CD33) for antibody-based immunotherapy in acute lymphoblastic leukemia: analysis of 552 cases. *Leuk Lymphoma.* 2011;52:1098-107.
60. Ribera JM, Ferrer A, Ribera J, Genescà E. Profile of blinatumomab and its potential in the treatment of relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia. *Onco Targets Ther* 2015;8:1567-74.
61. Miller BC, Maus MV. CD19-Targeted CAR T cells: a new tool in the fight against B cell malignancies. *Oncol Res Treat.* 2015;38:683-90.

62. Makita S, Yoshimura K, Tobinal K. Clinical development of anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Sci.* 2017. Doi 10.1111 [Epub ahead of print].
63. Wilkins O, Keeler AM, Flotte TR. CAR T-Cell therapy: progress and prospect. *Hum Gene Ther Methods.* 2017;28:61-6.
64. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology – Antiemesis. v2.2017 (March 28, 2017)
65. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology – Prevention and treatment of cancer-related infections. v2.2017 (Feb 21, 2017)
66. Geisser K, Koller E, Hubmann E, Niederweiser D, Hinterberger W, Geissler D, et al. Granulocyte colony-stimulating factor as an adjunct to induction chemotherapy for adult acute lymphoblastic leukemia – a randomized phase-III study. *Blood.* 1997;90:590-6.
67. GMALL: German multicenter trial for treatment of newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia in adults (07/2003). NCT00198991.
68. Huguet F, Leguay T, Raffoux E, Thomas X, Beldjord K, Delabesse E et al. Pediatric-inspired therapy in adults with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia: the GRALL-2003 study. *J Clin Oncol.* 2009;27:911-8.
69. Bassan R, Masciulli A, Intermesoli T, Spinelli O, Tosi M, Pavoni C et al. Final results of Northern Italy Leukemia Group (NILG) Trial 10/07 combining pediatric-type therapy with minimal residual disease study and risk-oriented hematopoietic cell transplantation in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood.* 2016;128:176.
70. Ribera JM, Oriol A, Morgades M, Montesinos P, Sarrà J, González-Campos J et al. Treatment of high-risk Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in adolescents and adults according to early cytologic response and minimal residual disease after consolidation assessed by flow cytometry: final results of the PETHEMA ALL-AR-03 trial. *J Clin Oncol.* 2014;32:1595-604.
71. Khoral P, Atenafu EG, Craddock KJ, Schimmer A, Chang H. Prognostic effect of complex karyotype, monosomal karyotype, and chromosome 17 abnormalities in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2017;17:215-9.

72. Kenderian SS, Al-Kali A, Gangat N, Letendre L, Hogan WJ, Litzow MR, et al. Monosomal karyotype in Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia. *Blood Cancer J.* 2013;3:e122. doi 10.1038.

APÈNDIX

El tercer estudi del present treball no forma part dels treballs acceptats dins de la Tesi Doctoral per compendi d'articles donada que l'acceptació per part de la revista va ser posterior.

Hem introduït l'article dins dels resultats amb títol d'annex per a unificar i facilitar la comprensió, l'anàlisi i l'avaluació dels resultats de la present Tesi Doctoral.

