



# LEUCEMIA AGUDA DE FENOTIPO MIXTO

Estudio multicéntrico de supervivencia a largo plazo, factores  
pronósticos y resultados de tratamiento

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Cristina Gil Cortés

Dirigida por:

Dr. Pascual Fernández Abellán

Dr. Ernesto Cortés Castell

Alicante 2017





D. Francisco Javier Fernández Sánchez, Director del Departamento de Medicina Clínica de la Universidad Miguel Hernández

AUTORIZA:

La presentación y defensa como Tesis Doctoral del trabajo “LEUCEMIA AGUDA DE FENOTIPO MIXTO. Estudio multicéntrico de supervivencia a largo plazo, factores pronósticos y resultados de tratamiento“, realizado por D<sup>a</sup> Cristina Gil Cortés bajo la dirección del Prof. Dr. D. Pascual Fernández Abellán y D. Ernesto Cortés Castell.

Lo que firmo en Sant Joan d’ Alacant a 12 de junio de Dos Mil Diecisiete.

Prof. Francisco Javier Fernández Sánchez  
Director del Departamento de Medicina Clínica





D. Pascual Fernández Abellán y Ernesto Cortés Castell, como Directores de Tesis Doctoral

CERTIFICAN:

Que el trabajo “LEUCEMIA AGUDA DE FENOTIPO MIXTO. Estudio multicéntrico de supervivencia a largo plazo, factores pronósticos y resultados de tratamiento“, realizado por D<sup>a</sup>. Cristina Gil Cortés ha sido llevado a cabo bajo nuestra dirección y se encuentra en condiciones de ser leído y defendido como Tesis Doctoral en la Universidad Miguel Hernández.

Lo que firman para los oportunos efectos en Sant Joan d’ Alacant a doce de junio de dos mil diecisiete.

D. Pascual Fernández Abellán.  
Director de Tesis Doctoral.

D. Ernesto Cortés Castell.  
Director de Tesis Doctoral.





*A mis padres, mi ejemplo*

*A mis 3 soles*



## **AGRADECIMIENTOS**

A los pacientes, porque todo lo que hacemos es por y para ellos.

Al grupo PETHEMA por el minucioso trabajo de recogida de datos y por permitirme utilizarlos para llevar a cabo este trabajo. En especial al Dr. Montesinos, que fue quien “metió” esta idea en mi cabeza.

A mis directores de tesis: el Dr. Ernesto Cortés que me ha guiado en los entresijos de la Universidad y el Dr Pascual Fernández que además de ser mi jefe es sobretodo mi maestro y mi compañero.

A mis correctores oficiales (Dr. Verdú, Dr. Bergua, Dr. Montesinos) y “extraoficiales” (Sergi, Ana y Elena), porque 4 ojos siempre ven más que 2.

A todos mis compañeros del Servicio de Hematología del Hospital General de Alicante, porque somos un equipo tan heterogéneo como estas leucemias pero a pesar de todo conseguimos que la máquina funcione. ¡Gracias por hacer que las sesiones de la mañana sean tan divertidas!.

En especial a Carmen. Mi compañera y mi amiga, que a veces tira de mí y otras me empuja. Sin ella no habría sido posible terminar este proyecto. ¡Espero que nos jubilemos juntas Dra. Pon!.

A mis amigos, porque siempre tienen mejores planes que quedarse en casa a estudiar...¡Gracias!.

Y por supuesto a mi familia. A mis padres, porque les debo todo. Y a mis 3 chicos, porque me dan más de lo que me piden. ¡A ellos les debo muchos fines de semana de bici y playa!.



## ÍNDICE

LISTA DE TABLAS.....	13
LISTA DE ILUSTRACIONES.....	15
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	16
1. INTRODUCCIÓN .....	19
1.1 Hematopoyesis.....	21
1.2 Definición de Leucemia Aguda.....	23
1.3 Clasificación de las Leucemias Agudas.....	23
1.4 Importancia del Inmunofenotipo.....	27
1.5 Importancia del cariotipo y Biología Molecular .....	28
1.6 Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto .....	29
1.7 Justificación del estudio .....	44
2. HIPÓTESIS .....	45
3. OBJETIVOS.....	49
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	53
4.1 POBLACIÓN A ESTUDIO.....	55
4.2. DISEÑO DEL ESTUDIO Y PARTICIPANTES .....	55
4.3. VARIABLES .....	55
4.4. MEDIDAS .....	57
4.5. TIPOS DE TRATAMIENTO .....	58
4.6. TIPOS DE TRASPLANTE.....	60
4.7. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL .....	61
4.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	61
4.9. CUESTIONES ÉTICAS.....	62
5. RESULTADOS.....	63

5.1 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA.....	65
5.2 DESCRIPCIÓN DE VARIABLES.....	65
5.3 ANALISIS DE RESPUESTA A TRATAMIENTO DE INDUCCIÓN .....	73
5.4. ANÁLISIS DE LA SUPERVIVENCIA.....	76
5.5 ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE FACTORES PRONÓSTICOS .....	87
5.6 LEUCEMIAS AGUDAS DE FENOTIPO MIXTO CON $t(9;22)$	88
6. DISCUSIÓN.....	93
6.1 RESUMEN .....	95
6.2 FORTALEZAS Y LIMITACIONES.....	96
6.3 COMPARACIÓN CON OTROS ESTUDIOS .....	97
6.4 IMPLICACIONES PARA LA INVESTIGACION .....	103
7. CONCLUSIONES.....	105
8. BIBLIOGRAFIA .....	109

## LISTA DE TABLAS

- Tabla 1. Clasificación FAB de las leucemias agudas (Bennet et al, 1976)
- Tabla 2. Clasificación WHO de 2016. (Arber et al, 2016)
- Tabla 3. Criterios de Catovsky para el diagnóstico de leucemias bifenotípicas. (Weinberg and Arber, 2010)
- Tabla 4. Score diagnóstico para leucemias agudas bifenotípicas del Grupo Europeo para la Caracterización Inmunológica de las Leucemias (EGIL), versión 1998. (Steensma, 2011).
- Tabla 5. Criterios diagnósticos de MPAL según la clasificación WHO 2016 (Arber et al, 2016).
- Tabla 6. Clasificación WHO 2016. (Arber et al, 2016).
- Tabla 7. Medianas de supervivencia según distintas series de pacientes en función de la edad y el tipo de tratamiento. (Shi and Munker, 2015).
- Tabla 8. Parámetros analíticos al diagnóstico.
- Tabla 9. Clasificación EGIL.
- Tabla 10. Clasificación WHO.
- Tabla 11. Cariotipos.
- Tabla 12. Otros cariotipos.
- Tabla 13. Tipos de tratamientos de inducción.
- Tabla 14. TPH según tipo de donante.
- Tabla 15. Respuesta al tratamiento según grupos de edad.
- Tabla 16. Respuesta a inducción según el tipo de tratamiento.
- Tabla 17. Respuesta a inducción según tratamiento en <65 años.
- Tabla 18. Pacientes trasplantados en función de la respuesta al tratamiento de inducción.
- Tabla 19. Supervivencias medianas según inmunofenotipo.
- Tabla 20. Supervivencias medianas según cariotipo.
- Tabla 21. SG Mediana en <65 años según tipo de tratamiento.
- Tabla 22. SG Mediana según tipo de TPH.
- Tabla 23. Análisis multivariante mediante modelo de regresión de Cox
- Tabla 24. Parámetros cuantitativos en pacientes con MPAL Ph+.

Tabla 25. Parámetros cualitativos de los pacientes con MPAL Ph+ (frecuencia absoluta, n; frecuencia relativa, %).

Tabla 26. Respuesta a inducción según administración de ITK.



## LISTA DE ILUSTRACIONES

Figura 1. Hematopoyesis desde la célula stem pluripotente (www.eBioscience.com © 2012 eBioscience).

Figura 2. Distribución de alteraciones cromosómicas en pacientes con MPAL (Manola, 2013)

Figura 3. Supervivencia Global de los 4 tipos de leucemia (Shi and Munker, 2015)

Figura 4. Supervivencia Global según la edad (Shi and Munker, 2013).

Figura 5 Distribución de los pacientes estudiados según el año del diagnóstico.

Figura 6. Distribución según cariotipo.

Figura 7. Distribución según tipo de TPH.

Figura 8. Respuesta según esquema de tratamiento.

Figura 9. Curva de Supervivencia Global.

Figura 10. Curva de SG según el grupo de edad.

Figura 11. Curva de SG según el sexo.

Figura 12. Curva de SG según clasificación EGIL.

Figura 13. Curva de SG según clasificación WHO.

Figura 14. Curva de SG según cariotipo.

Figura 15. Curva de SG según tipo de tratamiento.

Figura 16. Curva de SG según tipo de tratamiento en <65 años.

Figura 17. Curva de SG en pacientes con FLAG-IDA vs resto de tratamientos.

Figura 18. Curva de SG según respuesta a inducción.

Figura 19. Curva de SG según TPH.

Figura 20. Curva de SG según tipo de TPH.

Figura 21. Curva de SG en pacientes con TPH autólogo vs alogénico.

Figura 22. Curva de SG en pacientes Ph+.

Figura 23. Curva de SG en pacientes Ph+ según tratamiento con ITK.

## ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

BCR-ABL: Breakpoint Cluster Region-Abelson

CD: Cluster de diferenciación

CI: Intervalo de Confianza

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

EGIL: European Group for the Immunologic Characterization of Leukemias

FAB: French-American-British

G-CSF: Factor Estimulante de Crecimiento de Colonias Granulocíticas

HLA: Human Leucocyte Antigen

IgM: Inmunoglobulina M

INE: Instituto Nacional de Estadística

IQ: Rango Intercuartílico

ITK: Inhibidores de la tirosín-kinasa

ALL/LAL-B: Leucemia Aguda Linfoblástica B

ALL/LAL-T: Leucemia Aguda Linfoblástica T

LAM/AML: Leucemia Aguda Mieloide

LMC: Leucemia Mieloide Crónica

LNH: Linfoma No Hodgkin

MLL: Mixed-Lineage Leukemia

MM: Mieloma Múltiple

MO: Médula Ósea

MPAL: Mixed henotype Acute Leukemia.

MPO: Mieloperoxidasa

MTX: Metotrexate

NK: Natural Killer

OMS: Organización Mundial de la Salud

PETHEMA: Programa español para el Tratamiento de Hemopatías Malignas

Ph: Cromosoma Philadelphia

PML-RARA: Promyelocytic Leukemia/Retinoic Acid Receptor Alpha

RC: Respuesta Completa

SG: Supervivencia Global

SLE: Supervivencia libre de Enfermedad

SMD: Síndrome Mielodisplásico

SMPc: Síndrome Mieloproliferativo Crónico.

TdT: terminal deoxynucleotidyl transferasa

TPH: Trasplante de Progenitores Hematopoyeticos

WHO: World Health Organization

TCR: Receptor de la Célula T







# **1. INTRODUCCIÓN**



## 1.1 Hematopoyesis

La hematopoyesis es el mecanismo fisiológico responsable de la formación continuada de los distintos tipos de elementos formes sanguíneos, que los mantiene dentro de los límites de la normalidad en la sangre periférica. [Fig 1]

En el ser humano adulto, la hematopoyesis se desarrolla en la médula ósea, debido a su capacidad de permitir el anidamiento, crecimiento y diferenciación de las células germinales hemopoyéticas. Éstas hallan en la médula ósea el lecho y el microambiente adecuados para su desarrollo y diferenciación hacia células maduras.

El tejido hematopoyético está situado en los espacios extravasculares dentro de la médula ósea. En dichos espacios se produce la diferenciación de los diferentes linajes celulares hasta que finalmente, las células hematopoyéticas maduras pasan desde los cordones medulares hacia la circulación en los senos, que drenan hacia la vena central a través de los capilares intracorticales.

Este proceso está regulado por mecanismos muy complejos en los que las células interaccionan entre sí, con su microambiente, con factores de crecimiento y con la matriz extracelular.

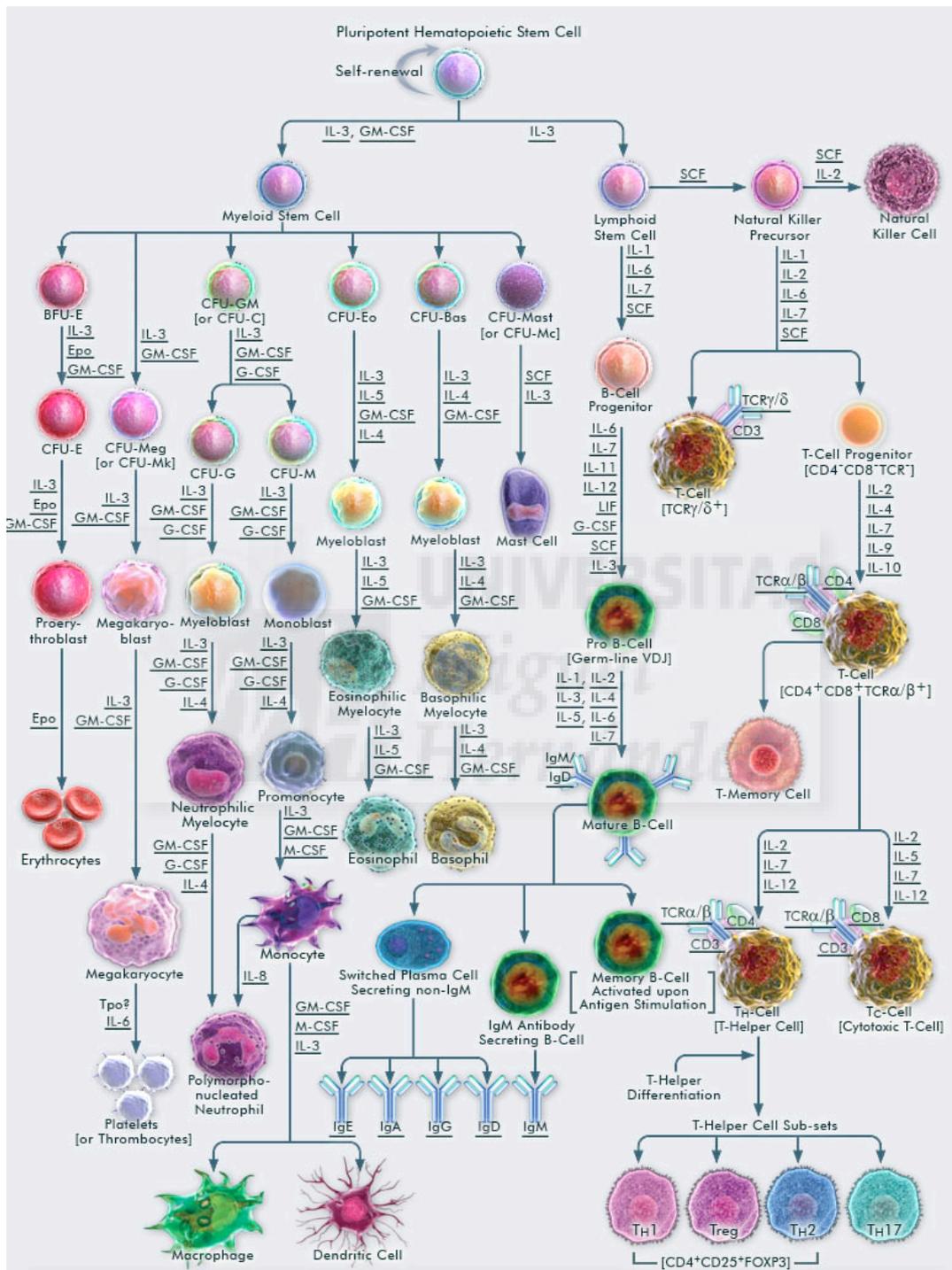
Cualquier factor que altere este equilibrio podrá dar lugar a la aparición de una Leucemia Aguda.

Sin embargo, la leucemia aguda es de etiología desconocida y en la mayoría de los casos, aparece de forma esporádica.

Existen algunos agentes etiológicos descritos que pueden estar relacionados como virus, exposición a radiaciones ionizantes, quimioterapia y benceno (WHO Classification of tumors, 2008).

**Figura 1: Hematopoyesis desde la célula stem pluripotente.**

www.eBioscience.com © 2012 eBioscience



## **1.2 Definición de Leucemia Aguda**

La Leucemia Aguda es una proliferación neoplásica de células hematopoyéticas inmaduras, que se van acumulando de forma progresiva en el interior de la médula ósea. Estos precursores inmaduros tienen capacidad de replicación pero no de diferenciación hacia células hematopoyéticas maduras por lo que su acumulación provoca una insuficiencia medular y las consecuencias clínicas que de ello se derivan.

En conjunto constituyen menos del 5% del total de tumores malignos y comprenden un conjunto de subtipos diferentes desde el punto de vista clínico y biológico. La biología molecular y la inmunología han permitido caracterizar mejor la enfermedad, pero la investigación epidemiológica de los factores de riesgo para los distintos subtipos de leucemias está dificultada por la baja frecuencia de cada uno de ellos y las limitaciones derivadas de los distintos sistemas de clasificación empleados.

## **1.3 Clasificación de las Leucemias Agudas**

Durante muchos años han existido diferentes clasificaciones de la leucemia en base a características etiológicas, morfológicas, inmunofenotípicas y genéticas.

En 1976, un grupo de médicos franceses, americanos y británicos (FAB) propuso un sistema de clasificación y nomenclatura basada en las características morfológicas de las células blásticas en frotis teñido con Romanowsky y en los resultados de las tinciones histoquímicas. Se conoce como la clasificación FAB. (Bennett et al. 1976) [Tabla 1].

**Tabla 1. Clasificación FAB de las Leucemias agudas. (Bennet et al, 1976)**

Clasificación FAB de la leucemia aguda
1.- Leucemias no linfocíticas agudas
M0 Leucemia mieloblástica aguda sin diferenciación
M1 Leucemia mieloblástica aguda con diferenciación mínima
M2 Leucemia mieloblástica aguda con maduración
M3 Leucemia promielocítica, hipergranular
M3v Leucemia promielocítica, variante hipogranular (microgranular)
M4 Leucemia mielomonocítica aguda
M4eo Leucemia mielomonocítica aguda con eosinófilos anormales
M5a Leucemia monoblástica aguda sin diferenciación
M5b Leucemia monoblástica aguda con diferenciación
M6 Eritroleucemia aguda
M7 Leucemia megacariocitaria
2.- Leucemia linfoblástica aguda
L1 Leucemia linfoblástica con homogeneidad
L2 Leucemia linfoblástica con heterogeneidad
L3 Leucemia linfoblástica tipo Burkitt

En 2001 se publicó la primera edición de la Clasificación de tumores hematopoyéticos y del tejido linfoide de la WHO (Jaffe et al, 2001), que posteriormente se modificó en 2008 (Vardiman et al, 2009). Esta clasificación estaba basada en hallazgos citogenéticos y alteraciones moleculares. Con esto se pretendía incorporar estos aspectos de la enfermedad e interrelacionarlos con la morfología, buscando ser no sólo una herramienta útil desde el punto de vista diagnóstico sino también en la vertiente clínica al correlacionarse de forma más precisa con el pronóstico.

Recientemente, en 2016, se ha publicado la última revisión de esta clasificación. (Arber et al, 2016) [Tabla 2].

**Tabla 2 . Clasificación WHO de 2016. (Arber et al, 2016)**

<b>Acute myeloid leukemia (AML) and related neoplasms</b>
AML with recurrent genetic abnormalities
AML with t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>
AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i>
APL with <i>PML-RARA</i>
AML with t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i>
AML with t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i>
AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2, MECOM</i>
AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13.3;q13.3); <i>RBM15-MKL1</i>
<i>Provisional entity: AML with BCR-ABL1</i>
AML with mutated <i>NPM1</i>
AML with biallelic mutations of <i>CEBPA</i>
<i>Provisional entity: AML with mutated RUNX1</i>
AML with myelodysplasia-related changes
Therapy-related myeloid neoplasms
AML, NOS
AML with minimal differentiation
AML without maturation
AML with maturation
Acute myelomonocytic leukemia
Acute monoblastic/monocytic leukemia
Pure erythroid leukemia
Acute megakaryoblastic leukemia
Acute basophilic leukemia
Acute panmyelosis with myelofibrosis
Myeloid sarcoma
Myeloid proliferations related to Down syndrome
Transient abnormal myelopoiesis (TAM)
Myeloid leukemia associated with Down syndrome

Tabla 2 (Cont.)

<b>Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm</b>
<b>Acute leukemias of ambiguous lineage</b>
Acute undifferentiated leukemia
Mixed phenotype acute leukemia (MPAL) with t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>
MPAL with t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> rearranged
MPAL, B/myeloid, NOS
MPAL, T/myeloid, NOS
<b>B-lymphoblastic leukemia/lymphoma</b>
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma, NOS
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with recurrent genetic abnormalities
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> rearranged
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(12;21)(p13.2;q22.1); <i>ETV6-RUNX1</i>
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with hyperdiploidy
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with hypodiploidy
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(5;14)(q31.1;q32.3) <i>IL3-IGH</i>
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(1;19)(q23;p13.3); <i>TCF3-PBX1</i>
<i>Provisional entity: B-lymphoblastic leukemia/lymphoma, BCR-ABL1–like</i>
<i>Provisional entity: B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with iAMP21</i>
<b>T-lymphoblastic leukemia/lymphoma</b>
<i>Provisional entity: Early T-cell precursor lymphoblastic leukemia</i>
<i>Provisional entity: Natural killer (NK) cell lymphoblastic leukemia/lymphoma</i>

## 1.4 Importancia del Inmunofenotipo

La citometría de flujo es una técnica en la cual se miden simultáneamente múltiples parámetros de una célula o partícula (previamente marcadas con fluorocromos) en suspensión dentro de una población heterogénea. Para ello se hacen pasar dichas células a velocidad constante de varios miles por segundo y dentro de un flujo laminar, a través de una cámara de flujo sobre la que incide un haz de luz coherente a una longitud de onda específica. Como consecuencia del impacto, se produce una dispersión de luz policromática generada por los diferentes fluorocromos que es captada por diversos detectores de gran sensibilidad. Los datos generados se analizan estadísticamente mediante varios softwares específicos que nos dan una gran información acerca de las características intrínsecas y/o extrínsecas, así como estructurales y/o funcionales de las células.

La importancia del análisis por citometría de flujo, es que las medidas se hacen individualmente sobre cada partícula de la suspensión, y no como valor medio de la población total.

El desarrollo de la citometría de flujo en las décadas de los 80 y 90 supuso un nuevo enfoque en el diagnóstico y la clasificación de las neoplasias hematológicas (Ortuño et al, 2002). Hoy en día, junto con la citomorfología y los hallazgos citogenéticos y moleculares, el inmunofenotipo es esencial para la caracterización de las leucemias.

La comparación de los perfiles inmunofenotípicos de las células patológicas con los de las células normales nos permite asignar dichas células a una determinada línea hematopoyética y un estadio madurativo, así como identificar inmunofenotipos aberrantes.

Para la realización del inmunofenotipo es preciso una cuidadosa selección de combinaciones únicas de marcadores individuales basados en el grado de especificidad para la identificación de una determinada línea celular, estadio madurativo y fenotipo aberrante, así como la correcta selección de anticuerpos y fluorocromos para ser utilizados en combinaciones multicolor. En la actualidad el

proceso se realiza en 2 pasos. En un primer momento se aplica un test de screening rápido basado en un número limitado de anticuerpos para realizar la identificación de las células patológicas y asignarles una línea concreta. A continuación, se recomienda el uso de un panel de anticuerpos completo para la caracterización y clasificación diagnóstica.

En las últimas décadas ha habido múltiples propuestas de paneles que incluían largas listas de clusters de diferenciación (CD). Una de estas propuestas la llevó a cabo el grupo EuroFlow, un consorcio científico de Empresas y Grupos de investigación cuyo objetivo es el desarrollo y la estandarización de los test de citometría de flujo. Sus fines son el diagnóstico y la clasificación pronóstica de enfermedades hematológicas, así como la evaluación de la eficacia del tratamiento durante el seguimiento de la enfermedad. Dicho grupo desarrolló una serie de paneles de anticuerpos para el diagnóstico y la clasificación inmunofenotípica de neoplasias hematológicas (Kalina et al, 2012). Estos paneles fueron inicialmente diseñados basándose en la experiencia y conocimientos acumulados en la literatura, así como en cada uno de los laboratorios pertenecientes al grupo EuroFlow. Están diseñados de una forma flexible para cubrir las necesidades de cada laboratorio y pueden ser aplicados en uno o en múltiples pasos secuenciales. (Van Dongen et al, 2012).

Más adelante hablaré más detalladamente de los paneles necesarios para el diagnóstico de las leucemias de línea ambigua.

## **1.5 Importancia del cariotipo y Biología Molecular**

Los análisis citogenéticos son una herramienta indispensable para el diagnóstico y manejo de las hemopatías malignas. Los avances en este campo permitieron identificar subgrupos clínicos asociados a cambios cromosómicos y moleculares específicos (Solé, 1991).

Las Leucemias Agudas son entidades con una compleja diversidad genética. La identificación de alteraciones específicas está permitiendo el desarrollo de fármacos dirigidos contra dianas moleculares que nos permitirán, en un futuro

próximo, mejorar la supervivencia de estos pacientes (Medinger, Lengerke & Passweg, 2016).

## **1.6 Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto**

### **Introducción**

El diagnóstico y clasificación de las Leucemias Agudas requiere un abordaje multidisciplinar que incluye morfología, inmunofenotipo, cariotipo y estudios moleculares. Con todo esto, la mayoría de leucemias se pueden clasificar como mieloides, linfoides B o linfoides T.

Sin embargo, existe un pequeño subgrupo de leucemias que no pueden ser fácilmente clasificadas. Históricamente se han denominado de múltiples formas: Leucemias Agudas de Línea Mixta, Leucemias Bifenotípicas, Leucemias Híbridas, Leucemias Indiferenciadas y, más recientemente, Leucemias de Línea Ambigua. Éstas últimas incluyen las Leucemias Agudas de Fenotipo Mixto (MPAL) y las Leucemias Indiferenciadas. (Weinberg et al. 2010)

En ocasiones, este subtipo de leucemias tiene células con características citológicas y/o inmunofenotípicas de ambas líneas (Bifenotípicas) o bien 2 poblaciones de blastos distintas (Bilineal). En cualquiera de los casos, la distinción entre una y otra es poco clara y no afecta al diagnóstico ni al tratamiento. (Wolach et al. 2015).

### **Clasificación**

La infidelidad de línea no pudo ser descrita hasta la aparición de los marcadores por citometría de flujo. Por tanto, el reconocimiento de las diferentes variedades de leucemias agudas se ha desarrollado de manera relativamente reciente. Este desarrollo ha ido ligado a la evaluación histoquímica de rutina en la década de los 70, la introducción de los anticuerpos monoclonales a principios de los años 80 y el incremento del uso de la citometría de flujo multiparamétrica a finales de los 80 y principios de los 90.

Las primeras publicaciones sobre leucemia bifenotípica aparecieron en la década de los 80. En una de estas primeras publicaciones (Mc Graw et al, 1981) se describía la expresión de la enzima terminal deoxynucleotidyl transferasa (TdT) en aproximadamente el 20-30% de los casos de LAM. Hasta ese momento, se pensaba que la expresión de TdT era una característica exclusiva de la línea linfóide. De la misma manera, en los años 80 los morfológicos describieron la expresión de mieloperoxidasa (MPO), considerado un marcador específico de línea mieloide desde la década de los 40, en más de un 20% de los casos de LAL-B tanto por histoquímica como por citometría.

También durante esos años se publicaron pequeñas series de pacientes en las que los investigadores describían bien 2 poblaciones distintas de blastos en el mismo paciente (leucemia bilineal) o una población homogénea que expresaba marcadores de más de una línea (leucemias bifenotípicas). La relación entre estos 2 tipos de leucemias sigue sin estar clara. (Steensma et al, 2011)

En 1985 Mirro et al publicaron una de las series más largas hasta el momento. Analizaron una serie de 123 niños con leucemia aguda con características linfoides y mieloides. En este estudio la definición de leucemia aguda de línea mixta incluía blastos que expresaban marcadores de más de una línea. Se determinaron usando anticuerpos asociados a línea linfóide como anti-CALLA (CD10), T-11 (CD2) o T101 (CD5) y anticuerpos mieloides como MY-1 (CD15), MCS.2 (CD13) y Mo1 (CD11b). En base a estos marcadores el 20% de los 123 casos fueron clasificados como leucemia de línea mixta. Sin embargo, ninguno de estos marcadores se considera hoy en día específico de línea.

### **Criterios de Catovsky**

A medida que aparecían nuevos monoclonales, parecía claro que un porcentaje significativo de LAM y LAL demostraban inmunofenotipos aberrantes y eran necesarios criterios específicos para identificar las auténticas leucemias de fenotipo mixto.

En 1991 Catovsky et al propusieron un score diagnóstico para leucemias bifenotípicas. Los criterios de Catovsky se basaban en el número y en la

importancia dada a los marcadores diagnósticos según la especificidad aceptada en aquel momento. [Tabla 3].

**Tabla 3. Criterios de Catovsky para el diagnóstico de leucemias bifenotípicas. (Weinberg and Arber, 2010)**

Points	B lineage	T lineage	Myeloid lineage
2	cCD22	cCD3	MPO
1	c $\mu$ chain	CD2	CD33
	CD10	CD5	CD12
	CD19	TCR rearrangement	CD14
	CD24	( $\beta$ or $\delta$ chain)	AML morphology or cytochemistry (other than MPO)
0.5	TdT		CD11b
	IgH		CD11c
	rearrangement		CD15

*Abreviaturas: AML, leucemia mieloide aguda; MPO, mieloperoxidasa; TCR, receptor de la célula T; TdT, terminal deoxynucleotidil transferasa. Se requieren  $\geq 2$  puntos para asignar una línea*

Los marcadores más específicos y con más peso incluían el CD3 citoplasmático, CD22 citoplasmático y mieloperoxidasa (MPO). Para clasificar una leucemia como bifenotípica eran necesarios 2 o más puntos en 2 líneas diferentes. (Weinberg and Arber, 2010).

### **Criterios EGIL**

En 1995 el Grupo Europeo para la caracterización Inmunológica de las Leucemias (EGIL) refinó el sistema de Catovsky haciéndolo más riguroso. Según estos criterios, eran necesarios más de 2 puntos en cada línea para definir una leucemia como bifenotípica. Además, excluyeron algunos marcadores que Catovsky y colaboradores consideraban específicos de línea (como el reordenamiento de las cadenas pesadas para línea B o el CD11b/c y CD12 para línea mieloide) y añadieron otros como el CD20 y CD79a para línea B; TdT, CD11a, CD7, CD8 y CD10 para línea T o CD13, CD64 y CD65 para línea mieloide. (Bene et al. 1995).

En 1998 se añadió el CD117 como marcador específico de línea mieloide [Tabla 4].

**Tabla 4. Score diagnóstico para leucemias agudas bifenotípicas del Grupo Europeo para la Caracterización Inmunológica de las Leucemias (EGIL), versión 1998. (Steensma, 2011)**

Score	B Lineage	T Lineage	Myeloid Lineage
2 points	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cytoplasmic CD79a</li> <li>• Cytoplasmic IgM</li> <li>• Cytoplasmic CD22</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CD3 (cytoplasmic or membrane)</li> <li>• T cell receptor (<math>\alpha/\beta</math> or <math>\gamma/\delta</math>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Myeloperoxidase</li> <li>• Lysozyme</li> </ul>
1 point	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CD19</li> <li>• CD10</li> <li>• CD20</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CD2</li> <li>• CD5</li> <li>• CD8</li> <li>• CD10</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CD13</li> <li>• CD33</li> <li>• CD65</li> <li>• CD117</li> </ul>
0.5 point	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TdT</li> <li>• CD24</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TdT</li> <li>• CD7</li> <li>• CD1a</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CD14</li> <li>• CD15</li> <li>• CD64</li> </ul>

Más de 2 puntos en 2 líneas diferentes definen la leucemia aguda bifenotípica. Abreviaturas: CD, cluster de diferenciación/designación; IgM, inmunoglobulina M; TdT terminal deoxynucleotidyl transferasa.

#### **Inmediatamente surgieron limitaciones a este sistema:**

- La falta de especificidad de ciertos marcadores, como el CD79a para línea B (también positivo en un porcentaje significativo de LAL-T) (Hashimoto et al, 2002) y la MPO para línea mieloide (se ha encontrado positividad hasta en un 23% de las LAL-B del adulto) (Arber et al, 2001)
- Los diferentes y arbitrarios dinteles de positividad (10% para MPO, CD3, TdT y CD79a y 20% para el resto).
- No hacían distinción entre leucemia bilineal y bifenotípica.
- No evaluaba la intensidad de la expresión antigénica.
- Tampoco tenían en cuenta la citogenética. Esto era importante ya que existían varios subtipos de leucemia bien definidos por el cariotipo (como la leucemia promielocítica o con t(8;21)) que a menudo mostraban marcadores aberrantes.

## Crterios WHO

En la tercera edici3n de la clasificaci3n de la WHO de los tumores hematopoy3ticos y de tejido linfoide publicada en 2001, se incluía una clasificaci3n de leucemias agudas de lnea ambigua, compuesta por 3 categorías: bilineal, bifen3tica e indiferenciadas. En esta edici3n se hacía referencia a la clasificaci3n EGIL de 1995, pero se incluy3 un error tipogr3fico en la tabla, indicando que eran necesarios tan s3lo 2 puntos en lugar de m3s de 2 para asignar una determinada lnea. Esto hizo que en algunas series publicadas se triplicaran el n3mero de casos definidos como leucemia bifen3tica.

Quiz3 debido a este error, en la cuarta edici3n de la clasificaci3n de la WHO en 2008, cambi3 el sistema de score a favor de criterios m3s descriptivos pero relativamente específcos para asignar m3s de una lnea a una poblaci3n de blastos. (Steensma, 2011). Estos criterios se han mantenido en la revisi3n de 2016 [Tabla 5] (Arber et al, 2016).

**Tabla 5. Criterios diagn3sticos de MPAL seg3n la clasificaci3n WHO 2016 (Arber et al, 2016)**

<b>Lineage assignment criteria</b>
<b>Myeloid lineage</b>
MPO* (flow cytometry, immunohistochemistry, or cytochemistry)
or
Monocytic differentiation (at least 2 of the following: nonspecific esterase cytochemistry, CD11c, CD14, CD64, lysozyme)
<b>T-lineage</b>
Strong† cytoplasmic CD3 (with antibodies to CD3 $\epsilon$ chain)
or
Surface CD3
<b>B-lineage</b>
Strong† CD19 with at least 1 of the following strongly expressed: CD79a, cytoplasmic CD22, or CD10
or
Weak CD19 with at least 2 of the following strongly expressed: CD79a, cytoplasmic CD22, or CD10

*†Fuerte se define como igual o de mayor fluorescencia que las células B o T normales de la muestra*

La clasificación del 2008 mantenía el concepto de leucemia de línea ambigua, aunque incorporaba 5 grandes cambios con respecto a las anteriores clasificaciones:

1. Englobaba en el término “Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto” (MPAL) a lo que hasta ahora se había considerado bilineal o bifenotípica.

2. Se simplificaron los criterios que definen la línea mieloide, linfoide B y linfoide T.

3. Se excluyeron los casos incluidos en el apartado de leucemia aguda con alteraciones citogenéticas recurrentes, incluso aunque presenten un inmunofenotipo mixto, con la excepción de aquellas entidades provisionales como las NPM1 o CEBPA positivas. También excluyen las Leucemias Mieloides Crónicas (LMC) en crisis blástica, LAM relacionadas con el tratamiento o las LAM secundarias a Síndromes Mielodisplásicos (SMD).

4. Incluía 2 categorías definidas por un diagnóstico molecular: leucemias agudas BCR-ABL1 positivas y Leucemias Agudas con reordenamiento MLL. Sin embargo, estas categorías rápidamente causaron confusión, ya que también están clasificadas como “LAM con  $t(9;11)(p22;q23)$ ; *MLLT3-MLL*” y “LAL con  $t(v;11q23)$ ; *reordenamiento MLL*” aquellas leucemias con la alteración molecular pero sin un fenotipo mixto. Además, no es fácil distinguir las leucemias BCR-ABL1 positivas *de novo* de las LMC que se presentan con crisis blástica al diagnóstico.

5. El quinto cambio con respecto a las ediciones anteriores fue la introducción de la categoría “Otras Leucemias de línea ambigua”. En este apartado entran todas aquellas leucemias que no cumplen los criterios de las categorías anteriores. Por ejemplo leucemias que expresan marcadores de línea T pero CD3 citoplasmático negativo o aquellas que expresan varios marcadores mieloides pero no MPO. Estos casos hay que diferenciarlos de las Leucemias Indiferenciadas que son aquellas que no presentan marcadores específicos de línea. En la versión de 2008 también se incluía en esta categoría de Otras Leucemias de Línea Ambigua la entidad provisional de *Leucemia Linfoblástica/Linfoma de células natural killer (NK)*. Sin embargo en la última revisión de 2016 aparece como una entidad provisional independiente. [Tabla 6] (Arber et al, 2016)

Tabla 6. Clasificación WHO 2016 (Arber et al, 2016)

<b>Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm</b>
<b>Acute leukemias of ambiguous lineage</b>
Acute undifferentiated leukemia
Mixed phenotype acute leukemia (MPAL) with t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>
MPAL with t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> rearranged
MPAL, B/myeloid, NOS
MPAL, T/myeloid, NOS
<b>B-lymphoblastic leukemia/lymphoma</b>
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma, NOS
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with recurrent genetic abnormalities
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> rearranged
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(12;21)(p13.2;q22.1); <i>ETV6-RUNX1</i>
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with hyperdiploidy
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with hypodiploidy
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(5;14)(q31.1;q32.3) <i>IL3-IGH</i>
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(1;19)(q23;p13.3); <i>TCF3-PBX1</i>
<i>Provisional entity: B-lymphoblastic leukemia/lymphoma, BCR-ABL1-like</i>
<i>Provisional entity: B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with iAMP21</i>
<b>T-lymphoblastic leukemia/lymphoma</b>
<i>Provisional entity: Early T-cell precursor lymphoblastic leukemia</i>
<i>Provisional entity: Natural killer (NK) cell lymphoblastic leukemia/lymphoma</i>

En la edición del 2016 no ha habido grandes cambios, excepto para aquellos casos en los que es posible distinguir 2 poblaciones de blastos diferentes. En estos pacientes el diagnóstico no se basa en la presencia de marcadores específicos sino en que cada población individual cumpla criterios para definirla como leucemia de línea B, T o mieloide. (Pomerantz et al, 2016)

### Hallazgos Moleculares y Citogenéticos

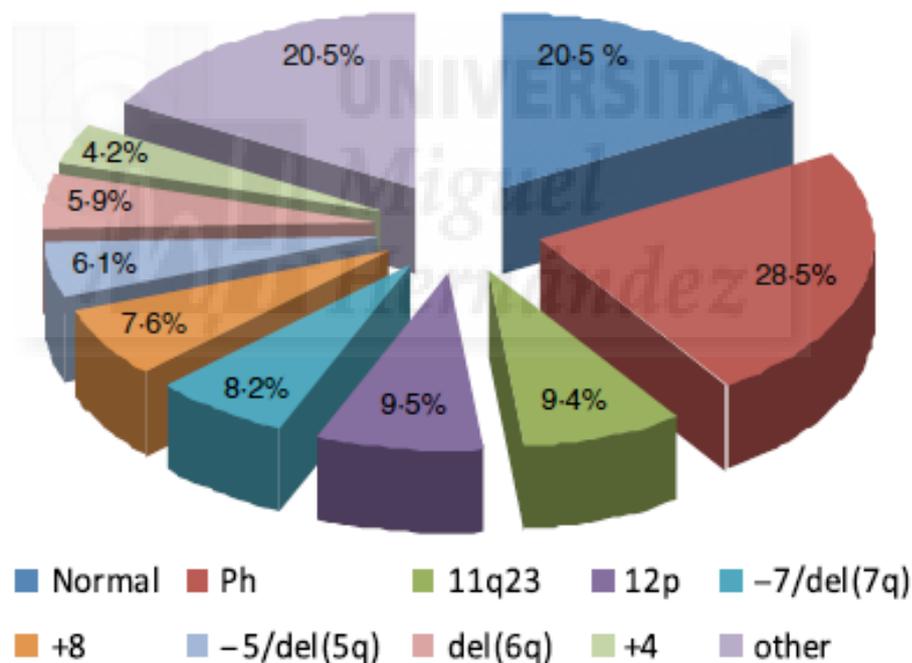
En la mayoría de leucemias los hallazgos citogenéticos y moleculares son de gran importancia en el diagnóstico, el pronóstico e incluso en el tratamiento.

En el caso de las leucemias de línea ambigua este papel no está bien definido debido a la baja incidencia y la falta de criterios diagnósticos uniformes.

Aunque la clasificación de la WHO 2008 parece haber mejorado el anterior score de la EGIL, no es suficiente como para homogeneizar el manejo clínico de estos pacientes.

En las MPAL, el 59-91% de los casos según las series, presentan alteraciones cromosómicas clonales (Lee et al, 2008; Atfy et al, 2011; Matutes et al, 2011; Yan et al, 2012). Se trata de alteraciones numéricas, estructurales o ambas, pero la importancia pronóstica de la mayoría de las alteraciones cromosómicas todavía no ha sido determinada debido a la rareza de la enfermedad, los distintos sistemas de clasificación y los protocolos de tratamiento variables utilizados en diferentes grupos de estudio. [Figura 2].

**Figura 2. Distribución de alteraciones cromosómicas en pacientes con MPAL. (Manola, 2013)**



*Normal: 20,5%, Ph: 28,5%, 11q23: 9,4%, 12p: 9,5%, -7: 8,2%, +8: 7,6%, -5/del(5q): 6,1%, del(6q): 5,9%, +4: 4,2% y otras alteraciones: 20,5%.*

La importancia de la citogenética en las MPAL queda patente en la clasificación de la WHO 2008, donde las leucemias con t(9;22) y t(v;11) se consideran entidades separadas. (Manola, 2013).

La incidencia del cromosoma Philadelphia es mayor en adultos con MPAL si

la comparamos con la LAM (15,2-38,8 vs 1,6-1,99) (Xu et al, 2009; Afty et al, 2011). La mayoría de los casos tienen un fenotipo B-Mieloide (Wang et al, 2011) aunque se han descrito algunos pacientes con fenotipo T-Mieloide o Trilineal (Afty et al, 2011; Matutes et al, 2011; Wang et al, 2011; Zhang et al, 2011).

Las translocaciones asociadas al gen MLL ocurren con frecuencia en las MPAL, especialmente en niños (12-18,2%) (Al-Seraihy et al, 2009; Park et al, 2009) si las comparamos con la frecuencia en adultos (4,3-10%) (Legrand et al, 1998; Lee et al, 2008; Xu et al, 2009; Yan et al, 2012).

Ambas translocaciones tiene un pronóstico desfavorable, como veremos más adelante cuando profundicemos en los cambios citogenéticos asociados a estas leucemias y sus implicaciones.

## **Prevalencia**

La prevalencia de la MPAL varía en las series publicadas en función de la clasificación utilizada. De esta manera, cuando se utiliza el score de la EGIL las leucemias bifenotípicas representan en torno a un 5% del total de las leucemias agudas, mientras que con los criterios de la WHO suponen incluso menos (en torno a un 3%) (Weinberg et al, 2010).

La incidencia de Leucemia Aguda Mieloblástica en España se estima en 3-4 casos nuevos por cada 100.000 habitantes y año, y la de Leucemia Aguda Linfoblástica en 1-2 casos nuevos por cada 100.000 habitantes y año. Teniendo en cuenta que según las series publicadas las MPAL suponen entre un 2 y un 5% del total de leucemias diagnosticadas, estaríamos hablando de una incidencia de en torno a 0,2 casos nuevos por cada 100.000 habitantes y año. Puesto que la población en España a fecha de 1 de Julio de 2016 se sitúa en torno a 46.468.102 de habitantes (INE, 2016), se diagnosticarían unos 90 casos de MPAL al año.

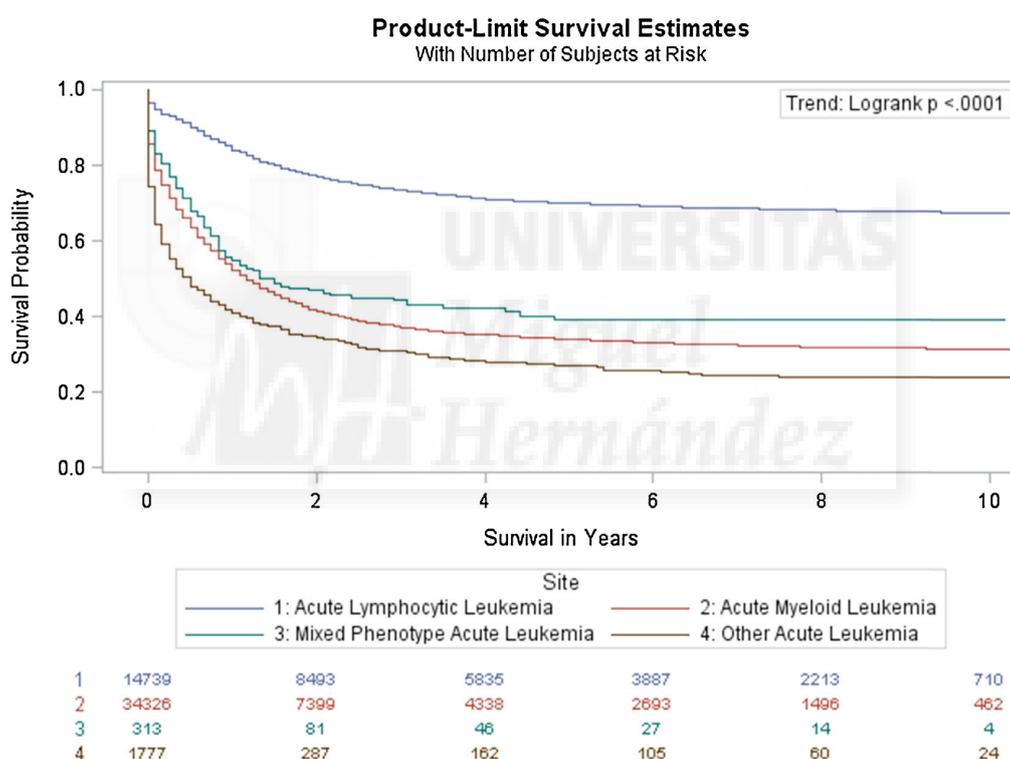
Tiene una distribución bimodal según la edad, con un pico en menores de 19 años y otro en mayores de 60. (Shi & Munker, 2015).

La frecuencia relativa entre los diferentes subtipos de MPAL varía en las diferentes series, así como entre niños y adultos. En 2009 Xu et al reportaron 21 casos nuevos (según criterios EGIL) y revisaron 9 series publicadas entre los años 1996 y 2007. Como conclusión, el subtipo más frecuente fue el B/Mieloide (59-

72%) seguido del T/Mieloide (21-32%), siendo los B/T y B/T/Mieloide muy poco frecuente (casos aislados). Sin embargo, en una serie pediátrica publicada por Rubnitz et al. también en 2009, los casos T/Mieloide fueron mucho más frecuentes que los B/Mieloide.

### Pronóstico

Independientemente de la clasificación utilizada las MPAL parecen tener un peor pronóstico que las leucemias mieloblásticas o linfoblásticas. [Figura 3]



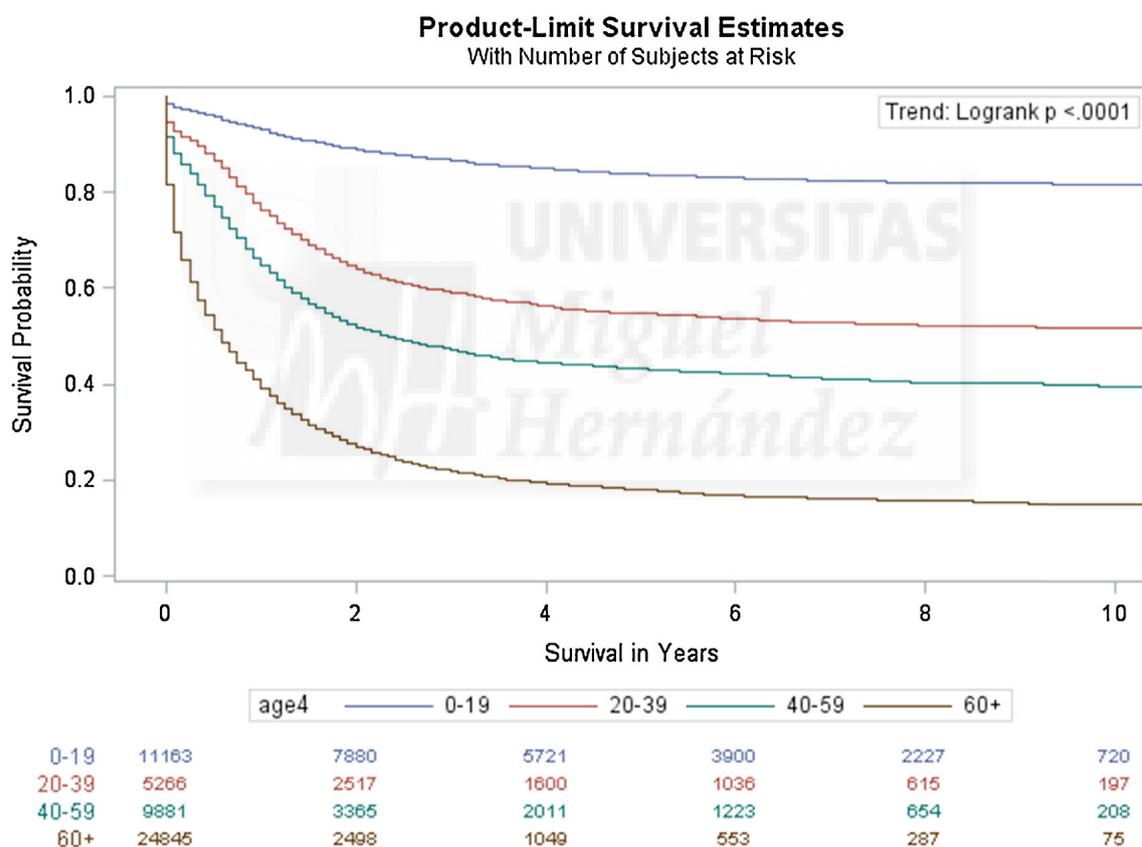
**Figura 3. Supervivencia global de los 4 tipos de leucemia (Shi and Munker, 2015)**

En las diferentes series publicadas las medianas de supervivencia varían entre los 7 meses y los 6 años, en función de la edad y los tipos de tratamientos utilizados [Tabla 7]. El riesgo de muerte en los pacientes mayores de 60 años es 5.3 veces mayor que en pacientes más jóvenes [Figura 4]. (Shi and Munker, 2015).

**Tabla 7. Medianas de supervivencia según distintas series de pacientes en función de la edad y tipo de tratamiento. (Shi and Munker, 2015)**

**Table 6**  
Published case series of MPAL.

Authors, year of publication	Number of patients	Age median (years)	% male	SCT?	Median survival
Killick et al., 1999 [14]	25	≈28	≈65	36.0%	≈7 months
Aribi et al., 2007 [7]	31	47	67	12.9%	≈2.4 years
Rubnitz et al., 2009 [8]	35	10	60	34.3%	≈3 years
Al-Seraihy et al., 2009 [9]	24	8.7	54	45.8%	>6 years
Gerr et al., 2010 [10]	92	8.9	54	35.9%	≈4 years
Matutes et al., 2011 [11]	100	28 pts ≤ 15 68 pts > 15	62	20.0%	18 months
Yan et al., 2012 [15]	117	35	51	6.8%	≈9–10 months
Heesch et al., 2013 [12]	26	57	65	34.8%	≈21 months
Deffis-Court et al., 2014 [16]	27	33	63	11.1%	14.8 months
Weinberg et al., 2014 [17]	61 (only 31 with follow-up)	32	59	19.0%	≈3.5 years
Shimizu et al., 2014 [18]	13	52	38	61.5%	≈35 months



**Figura 3. Supervivencia Global según la edad. (Shi and Munker, 2015).**

Otros factores que influyen en el pronóstico de este tipo de leucemias son el recuento leucocitario al diagnóstico, t(9;22),reordenamiento MLL, creatinina o ácido úrico elevados al diagnóstico, afectación extra-medular, inmunofenotipo (peor T/Mieloide), refractariedad al tratamiento de inducción, tipo de tratamiento

de inducción y tipo de tratamiento post-remisión (mejor si trasplante y acondicionamiento intensivo) (Wolach et al. 2015).

Sin embargo, al igual que en otras leucemias, el pronóstico de las MPAL ha mejorado en los últimos años. Probablemente debido al mejor reconocimiento de esta entidad, al diagnóstico precoz, al uso del trasplante alogénico y los inhibidores de la tirosina-kinasa en pacientes bcr-abl positivos.

## **Tratamiento**

No existen ensayos prospectivos que apunten a una estrategia de tratamiento óptima. Los casos descritos está incluidos en series heterogéneas que describen resultados de forma retrospectiva.

Es importante evaluar al paciente al diagnóstico teniendo en cuenta diversos factores como la edad, comorbilidades, morfología e histoquímica de los blastos, inmunofenotipo, citogenética y estudios moleculares.

Los estudios citogenéticos pueden ser de gran ayuda ya que pueden categorizar al paciente. La MPAL con reordenamiento 11q23 se considera una entidad separada en la clasificación de la WHO 2008, aunque el tratamiento no difiere del resto. Sin embargo es crítico definir a los pacientes Ph+ lo antes posible ya que estos pacientes deben ser tratados con inhibidores de la tirosin-kinasa (ITK).

Las publicaciones realizadas en los últimos 10 años referentes al tratamiento de las leucemias de línea ambigua son limitadas. Las series más largas descritas contienen en torno a 100 pacientes, y la mayorías de ellas con datos incompletos en lo referente al tratamiento. En general se centran en describir las características inmunofenotípicas y citogenéticas de las MPAL y su implicación como factores pronósticos.

La baja frecuencia de este tipo de leucemia y su heterogeneidad biológica hacen difícil no sólo su diagnóstico y clasificación sino también la elección del tratamiento. Además, para alcanzar un número significativo de casos, en la mayoría de series se incluyen pacientes adultos y pediátricos, lo que contribuye aún más a la falta de homogeneidad y por lo tanto a la dificultad para comparar y analizar los resultados obtenidos.

Dos de las series más largas descritas son las publicadas por Matutes et al en 2011 y Yan et al en 2012 con 100 y 117 pacientes respectivamente.

Matutes y colaboradores, en un estudio multicéntrico retrospectivo, analizaron 100 pacientes diagnosticados de MPAL según los criterios de la WHO 2008. Se incluían niños (28) y adultos (68) y se describían las características de inmunofenotipo y citogenética. En cuanto al tratamiento, disponían de información de 67 pacientes, de los cuales 27 recibieron tratamiento tipo LAL, 34 fueron tratados con esquemas tipo LAM (más Imatinib en 2 casos), 5 con una combinación de fármacos para LAM y LAL y 1 paciente recibió sólo Imatinib. 20 pacientes fueron llevados a trasplante (autólogo o alogénico). Obtuvieron una Supervivencia Global (SG) Mediana de 18 meses y una probabilidad de SG a los 5 años del 37%. La edad, la presencia de cromosoma Ph y el tipo de tratamiento de inducción fueron predictores significativos de supervivencia. La supervivencia mediana en niños fue de 139 meses vs 11 meses en adultos ( $p < 0.001$ ), 8 meses para los Ph+ vs 139 meses para pacientes con cariotipo normal y 28 meses para otras alteraciones citogenéticas ( $p = 0.002$ ), y 11 meses para aquellos tratados con protocolos de LAM vs 139 meses para los tratados con esquemas tipo LAL ( $p = 0.003$ ). Concluyen por tanto que, a pesar de la heterogeneidad de los pacientes y el número limitado incluido en el estudio, los esquemas de quimioterapia utilizados para tratar la LAL parecen más efectivos y con una mayor tasa de respuesta comparados con los protocolos de LAM o mixtos.

En 2012 Yan y colaboradores publicaron 117 casos de adultos con MPAL (según criterios de WHO). Tan sólo analizan datos en cuanto a tratamiento en 34 pacientes, de los cuales 24 recibieron tratamiento combinado (fármacos activos frente a LAL y LAM) y 10 recibieron tratamiento de inducción tipo LAM (Antraciclina + Citarabina). 8 pacientes fueron llevados a trasplante alogénico. En este caso no encontraron diferencias significativas en cuanto a tasas de RC ni SG, a excepción de los pacientes trasplantados que sí que tuvieron una mayor supervivencia (22 vs 9 meses;  $p = 0.004$ ).

En la misma línea están la mayoría de las publicaciones, donde se describen series más cortas. Algunas incluyen pacientes pediátricos desde 23 a 61 pacientes (Owaidah, 2006; Zhang et al, 2011; Weinberg et al, 2014) y otras sólo adultos

desde 12 a 36 pacientes (Wang et al, 2005; Aribi et al, 2007; Lee et al, 2008; Heesch 2013; Deffis-Court et al, 2014).

Algo más de consenso hay, en cambio, cuando se trata de indicar la realización de un Trasplante en estos pacientes. Aunque en las primeras publicaciones se incluyeron pacientes trasplantados, el número era pequeño y los detalles en cuanto a los procedimientos, escasos. (Matutes et al, 2011; Yan et al, 2012). Como he indicado antes, los objetivos iban más dirigidos a la descripción y caracterización de la leucemia que a los tratamientos utilizados. La falta de un tratamiento estándar y el mal pronóstico de estos pacientes hace que sea difícil recabar datos homogéneos de tratamiento.

Sin embargo, en los últimos 2 años parece que las publicaciones se están orientando más hacia el tipo de tratamiento y más concretamente hacia el papel del Trasplante Alogénico (Alo-TPH) en esta patología.

La serie más larga publicada hasta el momento de pacientes con MPAL y Alo-TPH es la de Munker et al en 2016. En ella incluyen 95 pacientes (niños y adultos) con MPAL según criterios de WHO, que se realizaron Alo-TPH en 1ª (78 pacientes) o 2ª (17 pacientes) RC. Ellos encuentran una SG a los 3 años del 67% y una SLE a los 3 años del 56%, sin hallar diferencias significativas en función del inmunofenotipo, el cariotipo o si los pacientes se trasplantaron en 1ª o 2ª RC.

En ese mismo año, Tian et al., aunque con menos pacientes (66 pacientes con MPAL, 29 trasplantados), corroboran la mejor SG y SLE de los pacientes trasplantados vs aquellos tratados exclusivamente con quimioterapia (SG 77% vs 16%; SLE 68% vs 11%).

Shimizu et al. (2015) obtienen resultados similares en 18 pacientes trasplantados, no encontrando diferencias al compararlos con pacientes de características similares diagnosticados de LAM y LAL.

Por lo tanto el Trasplante Alogénico se posiciona como una opción a tener en cuenta en pacientes con MPAL. Los datos publicados hasta la fecha sugieren que los resultados son independientes de las características biológicas de la leucemia o el tratamiento de inducción utilizado (Shimizu et al, 2015), siempre y cuando se realice con remisión de la enfermedad. Al igual que con los tratamientos de inducción, parece que hay una mejor supervivencia en pacientes más jóvenes (Munker et al, 2016) y destacan como predictores de mal pronóstico la

enfermedad refractaria o en recaída, el tratamiento sólo con quimioterapia y la t(9;22). (Tian et al, 2016).

Por último, dentro de esta patología poco frecuente hay un subgrupo que por su frecuencia y significado pronóstico, ha merecido constar como entidad independiente dentro de las MPAL. Se trata de las MPAL Ph+. Como hemos visto anteriormente, la incidencia de la t(9;22) en adultos es mayor en las MPAL que en las LAM (Xu et al, 2009; Afty et al, 2011) y su pronóstico peor (Killick et al, 1999; Afty et al, 2011; Miculik et al, 2008). Sin embargo, esto ha cambiado con la aparición de los ITK (Malagola et al, 2016). La introducción del Imatinib en el tratamiento de la LAL-Ph positiva supuso una mejoría evidente en la supervivencia de estos pacientes (Daver et al, 2015; Fielding et al, 2014; de Labarthe et al, 2007). Por tanto es de suponer que este mismo efecto se pueda trasladar a las MPAL Ph positivas. En 2014 Shimizu y colaboradores publicaron una serie de 42 pacientes adultos con leucemias Philadelphia positivas tratados con quimioterapia + Imatinib. Entre ellas había 13 MPAL, 27 LAL y 2 LAM. Éstas últimas se excluyeron del análisis por ser un número muy bajo, y compararon los resultados de los otros 2 grupos, no encontrando diferencias significativas en cuanto a SG ni SLE entre ambos (Shimizu et al, 2014). La indicación del uso de ITK en este subgrupo de pacientes parece lógica, aunque por supuesto serán necesarios estudios multicéntricos y un mayor número de pacientes para llegar al grado de evidencia que tenemos en la LAL.

Las conclusiones comunes de los datos publicados hasta el momento son que no existe un tratamiento estándar puesto que la rareza de la enfermedad y su dificultad diagnóstica hacen difícil conseguir series de pacientes homogéneas, por lo que es necesario realizar estudios multicéntricos cooperativos.

Los pacientes con MPAL tienen una mayor tasa de recaídas y refractariedad que las LAL o LAM (Xu et al, 2009), además de mayor frecuencia de infiltración extramedular (Zixing et al, 2014), por lo que parece razonable considerarlos de alto riesgo desde el diagnóstico y optar por tratamientos intensivos.

En este sentido se podría considerar el TPH alogénico como una opción de tratamiento de primera línea, si las condiciones del paciente lo permiten, y a ser posible en RC.

También habrá que tener en cuenta las últimas publicaciones que comparan los resultados de Alo-TPH vs Auto-TPH en pacientes con LAL Ph+, sin encontrar diferencias significativas en cuanto a supervivencia (Giebel et al, 2012; Wetzler et al, 2014). Esto, unido al creciente uso de los ITK de segunda y tercera generación (Dasatinib y Ponatinib) como tratamiento de primera línea (Foa et al, 2011; Ravandi et al, 2010; Sasaki et al, 2016) probablemente hará que las MPAL Ph+ también lleguen a ser una entidad independiente en lo que al tratamiento se refiere.

Otro punto importante en el que habrá que centrar la atención es en la aparición de nuevos fármacos dirigidos contra dianas moleculares. En este sentido es importante la correcta identificación de la leucemia en cuanto al inmunofenotipo y sobretodo a la detección de alteraciones cariotípicas y moleculares, ya que en un futuro puede suponer un cambio importante en cuanto al pronóstico y el tratamiento de la enfermedad.

## **1.7 Justificación del estudio**

Aunque en las últimas clasificaciones la MPAL aparece como entidad bien definida, sigue siendo una enfermedad biológicamente muy heterogénea. Esto, junto con su baja frecuencia, hace que las series de pacientes publicadas no sean homogéneas y las conclusiones no tengan un grado de evidencia elevado, sobre todo en lo que a tratamientos se refiere.

No hay consenso en cuanto a cuál es el mejor esquema (LAM vs LAL vs Combinado), aunque si parece que estos pacientes se podrían beneficiar de quimioterapias intensivas y del Alo-TPH en primera línea.

Un mejor conocimiento de los resultados actuales puede ayudar en la confección de un protocolo de tratamiento estándar que nos permita en un futuro obtener datos homogéneos y fiables.

## **2. HIPÓTESIS**





Dado que:

- Las MPAL son leucemias con un mal pronóstico y generalmente asociadas a cariotipos desfavorables.

- La mortalidad en adultos es elevada con independencia del tipo de tratamiento utilizado, aunque parece que el trasplante alogénico podría asociarse a un aumento en la supervivencia de estos pacientes.

Se plantea como hipótesis que:

- El estudio de una detallada y amplia serie de pacientes con esta rara variedad de leucemia aguda podría ayudar a desvelar:

- Las características clínicas y biológicas asociadas a la enfermedad.
- El pronóstico de la enfermedad.
- El tratamiento óptimo para esta población.



## **3. OBJETIVOS**





En el presente estudio se han planteado como objetivos:

1. Analizar las características de las MPAL en nuestro medio.
2. Analizar la SG de los pacientes con MPAL.
3. Analizar la influencia del tipo de tratamiento en la SG
4. Analizar la influencia del TPH en la SG
5. Analizar los resultados terapéuticos, incluyendo la realización o no de trasplante, en pacientes con Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto.





# 4. MATERIAL Y MÉTODOS





## **4.1 POBLACIÓN A ESTUDIO**

Se incluyen pacientes mayores de 16 años diagnosticados de MPAL en todo el territorio nacional.

## **4.2. DISEÑO DEL ESTUDIO Y PARTICIPANTES**

Se trata de un estudio observacional retrospectivo de los pacientes reportados como leucemia de línea ambigua al registro multicéntrico y multinacional PETHEMA entre los años 1990 Y 2017, con independencia del tratamiento recibido.

Los criterios de inclusión fueron:

- Edad mayor de 16 años
- Diagnóstico de Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto (según criterio de EGIL o WHO).

## **4.3. VARIABLES**

1. Fecha de diagnóstico.
2. Edad al diagnóstico.
3. Sexo.
4. Recuento de leucocitos al diagnóstico.
5. Cifra de hemoglobina al diagnóstico.
6. Recuento de plaquetas al diagnóstico.
7. Subtipo según la clasificación EGIL [Tabla 4].
  - a. Linfoide B + Mieloide
  - b. Linfoide T + Mieloide
  - c. Linfoide B + Linfoide T
  - d. Linfoide B + Linfoide T + Mieloide
8. Subtipo según la clasificación WHO [Tabla 5].

- a. Linfoide B + Mieloide
  - b. Linfoide T + Mieloide
  - c. Linfoide B + Linfoide T
  - d. Linfoide B + Linfoide T + Mieloide
9. Inmunofenotipo al diagnóstico.
10. Cariotipo en médula ósea por técnicas convencionales y/o FISH.
- a. Cariotipo normal
  - b. Presencia de t(9;22)
  - c. Presencia de t(v;11)
  - d. Otros
  - e. No disponible/no valorable
11. Tipo de tratamiento de inducción.
- a. Tipo LAM
  - b. Tipo LAL
  - c. Combinados
  - d. FLAG-IDA (FLUDA+IDA+ARA-C)
  - e. PALIATIVO: soporte transfusional y si hiperleucositosis, Hydroxiurea o ARA-C a dosis bajas
12. Uso de Inhibidores de Tirocin Kinasa.
- a. Imatinib
  - b. Dasatinib
13. Respuesta tras inducción (Cheson et al, 2003).
- a. Respuesta completa (RC) : Blastos en MO <5%; ausencia de blastos circulantes y blastos con bastones de AUER; ausencia de enfermedad extramedular; recuento absoluto de neutrófilos  $\geq 1.5 \times 10^9/L$  (1,000/ $\mu L$ ); recuento de plaquetas  $\geq 100 \times 10^9/L$  (100,000/ $\mu L$ ).
  - b. Refractariedad: persistencia de blastos en un porcentaje >5% en MO tras el tratamiento de inducción. Se excluyen pacientes con muerte en aplasia o muerte por causa indeterminada.
14. Fecha de RC
15. Trasplante de médula ósea.
16. Tipo de Trasplante
- a. Hermano HLA idéntico

- b. Donante no emparentado
  - c. Cordón Umbilical (SCU)
  - d. Haploidéntico
  - e. Autotrasplante
17. Recaída: blastos en MO  $\geq$  5%; o reparación de blastos en sangre; o desarrollo de enfermedad extrameular (Cheson et al, 2003).
18. Fecha de recaída.
19. Éxito.
20. Fecha de Éxito.
21. Fecha del último seguimiento.
22. Supervivencia al año, a los tres años y a los cinco años del diagnóstico. Se define como el tiempo transcurrido entre el diagnóstico y el fallecimiento en los pacientes fallecidos, y en los supervivientes entre la fecha del diagnóstico y la del último seguimiento.

#### **4.4. MEDIDAS**

##### **Citometría de Flujo**

La caracterización citomorfológica se realizó al diagnóstico en muestras de MO, según la práctica habitual de cada centro, ya fuera de forma local o centralizada en laboratorios de referencia. El análisis del inmunofenotipo por citometría de flujo se realizó usando diferentes citómetros, dependiendo del momento del diagnóstico de cada paciente y su disponibilidad en cada laboratorio. Para ello, se utilizaron anticuerpos monoclonales contra los antígenos de superficie CD79a, IgMc, CD22c, CD19, CD10, TdT, CD24, CD3c, CD3s, receptor de célula T ( $\alpha/\beta$  o  $\gamma/\delta$ ), CD2, CD5, CD8, CD7, CD1a, MPO, lisozima, CD13, CD33, CD65, CD117, CD14, CD15, CD64 y CD11c, según los procedimientos estándar de inmunofluorescencia.

##### **Análisis citogenético**

Al igual que la caracterización citomorfológica, los estudios citogenéticos al

diagnóstico y durante el seguimiento se realizaron siguiendo los procedimientos estándar según la práctica habitual de cada centro, ya fuera de forma local o centralizada en laboratorios de referencia, previamente establecidos.

## **4.5. TIPOS DE TRATAMIENTO**

### **Tipo leucemia aguda mieloblástica.**

El tratamiento estándar de la leucemia aguda mieloblástica sigue siendo los regímenes basados en antraciclinas y citarabina. La combinación habitual es el 3 + 7: citarabina en infusión continua a dosis de 100 o 200 mg/m<sup>2</sup>/día los días 1 a 7 + daunorrubicina 60 mg/m<sup>2</sup>/día o idarrubicina 12 mg/m<sup>2</sup>/día los días 1 a 3 (Dombret and Gardin, 2016).

Los esquemas utilizados en pacientes mayores de 65 años incluyen dosis reducidas de antraciclinas y citarabina o el protocolo FLUGA: Fludarabina 40 mg/m<sup>2</sup>/día vo ó 25 mg/m<sup>2</sup>/día iv los días 2 a 6 (se suprime el día 6 en pacientes de edad ≥75 años) + citarabina 75 mg/m<sup>2</sup>/día sc ó iv los días 2 a 5 + priming con G-CSF 5 µg/kg/día sc los días 1 a 3 (sólo día 1 si leucocitos >10x10<sup>9</sup>/L, no dar si >25x10<sup>9</sup>/L) (Montesinos et al, 2013).

### **Tipo leucemia aguda linfoblástica.**

El tratamiento de inducción de la LAL Ph negativa se basa en el uso de corticoides, antraciclinas (daunorrubicina es la más utilizada), L-asparaginasa y vincristina. Según los protocolos, como el hyper-CVAD o los utilizados por el grupo PETHEMA, se incluyen también fármacos como la ciclofosfamida, metotrexato y citarabina a altas dosis.

Aunque no es muy frecuente al diagnóstico, hasta el 50% de los pacientes pueden presentar afectación del sistema nervioso central si no se realiza un tratamiento dirigido. Dicho tratamiento consiste en quimioterapia intratecal (corticoides + MTX + citarabina), quimioterapia sistémica a altas dosis (MTX, citarabina y peg-asparaginasa) o radioterapia (menos utilizada debido a la

importante neurotoxicidad secundaria). La profilaxis del SNC habitualmente se administra a lo largo de las diferentes fases del tratamiento.

Las LAL Ph positivas suponen un 20-30% de las LAL del adulto. Se caracterizan por la expresión de la t(9;22)(q34;q11.2) y la expresión de la proteína de fusión Bcr-Abl1. Históricamente los pacientes con LAL Ph positiva tenían un riesgo de recaída del 100% y una baja supervivencia cuando se trataban sólo con quimioterapia. En la actualidad los ITK imatinib y más recientemente dasatinib, se han incorporado de manera rutinaria a los esquemas de quimioterapia anteriormente mencionados, consiguiendo elevadas tasas de respuesta y supervivencia global (Al Ustwani et al, 2016).

Los esquemas utilizados en pacientes de edad avanzada con LAL se basan en el uso de los mismos fármacos con reducción de dosis y de intensidad de tratamiento.

### **Combinado**

Como en la actualidad no existen protocolos específicos para el tratamiento de la MPAL y puesto que estas leucemias presentan características tanto de LAM como de LAL, resulta habitual que para su tratamiento se opte en ocasiones por combinaciones de los fármacos anteriormente mencionados, en función de las características del paciente o de la experiencia de cada centro.

### **FLAG-IDA**

Este esquema se ha demostrado eficaz en el tratamiento de leucemias agudas (LAM y LAL) en recaída o refractarias, así como en el tratamiento de primera línea en LAM (Guolo et al, 2016).

Consiste en:

- Fludarabina 30 mg/m<sup>2</sup> en infusión de 30 minutos los días 1 a 5.
- Citarabina 2 g/m<sup>2</sup> 4 horas después de la fludarabina los días 1 a 5.
- Idarrubicina 10 mg/m<sup>2</sup> los días 1, 3 y 5.
- G-CSF (300 µg) los días 1 a 5.

## Tratamiento paliativo

En aquellos pacientes que por su edad o comorbilidades no son candidatos a quimioterapia intensiva, se opta por tratamientos de soporte con transfusiones, hidroxiurea, corticoides o citarabina a dosis bajas.

## Otros

Bajo esta denominación se incluye sólo un paciente que no recibió tratamiento quimioterápico y se realizó directamente trasplante alogénico.

## 4.6. TIPOS DE TRASPLANTE

### Alogénico

Aquel en el que las células progenitoras proceden de un sujeto sano diferente del enfermo. Según la procedencia del donante puede ser:

- **Donante HLA idéntico familiar:** un hermano que comparte los 2 haplotipos con el paciente: los mismos antígenos de clase I (A, B y C) y de clase II (DR).
- **Donante No Emparentado:** el donante no tiene ninguna relación genética con el paciente y procede de donantes inscritos en los registros de donantes.
- **Sangre de Cordón Umbilical:** los progenitores se obtienen de la sangre del cordón umbilical, los cuales tras recolectarlos, se criopreservan y almacenan en los bancos de cordón umbilical.
- **Haploidéntico:** donantes emparentados que sólo comparten un haplotipo con el paciente.

## **Autólogo**

Aquel en el que las células progenitoras proceden del propio paciente y han sido extraídas y criopreservadas días o semanas antes de iniciar el acondicionamiento.

### **4.7. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL**

Dado que la muestra ha sido recogida sin cálculo de tamaño muestral previo, y son la totalidad de los casos diagnosticados, se ha determinado a *posteriori* si la muestra empleada es adecuada para los objetivos planteados.

### **4.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se describieron las variables empleando frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas, mientras que para las cuantitativas se utilizaron medianas e intervalos intercuartílicos.

Para analizar las diferencias en la distribución de variables cualitativas entre los diferentes grupos de pacientes, se usó el test de Chi-cuadrado, aplicando la corrección de Yates cuando era necesario (si la frecuencia esperada en alguna de las casillas de la tabla de contingencia era inferior a 5).

La supervivencia global (SG) se calculó desde la fecha de inicio de tratamiento hasta la fecha de muerte, incluida a causa de la enfermedad o por la toxicidad del tratamiento.

Todos los análisis se realizaron con un error tipo I del 5% y de cada parámetro relevante se calculó su intervalo de confianza asociado (CI).

Todos los cálculos se realizaron con Microsoft Office Excel 2007, IBM SPSS Statistics 22.0 y Epidat versión 3.1.

## 4.9. CUESTIONES ÉTICAS

El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético para la investigación clínica del Hospital General de Alicante con fecha 22 de Febrero de 2017 según las recomendaciones de la Conferencia de Helsinki 2008 y las regulaciones institucionales.

La recogida de datos de los pacientes ha sido posible gracias a la revisión de la base de datos del registro PETHEMA de leucemias agudas mieloblásticas y linfoblásticas y de la historia clínica del paciente, informatizada o en formato papel. Los datos recogidos fueron obtenidos de las pruebas que forman parte de la rutina clínica habitual y protocolizada en el diagnóstico, seguimiento y evaluación clínica de los pacientes durante el ingreso y seguimiento en consultas externas y han sido usados de forma totalmente anónima.



# 5. RESULTADOS





## 5.1 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Se recogieron 103 pacientes entre Febrero de 1990 y Enero de 2017 según la distribución que se muestra en el siguiente gráfico:

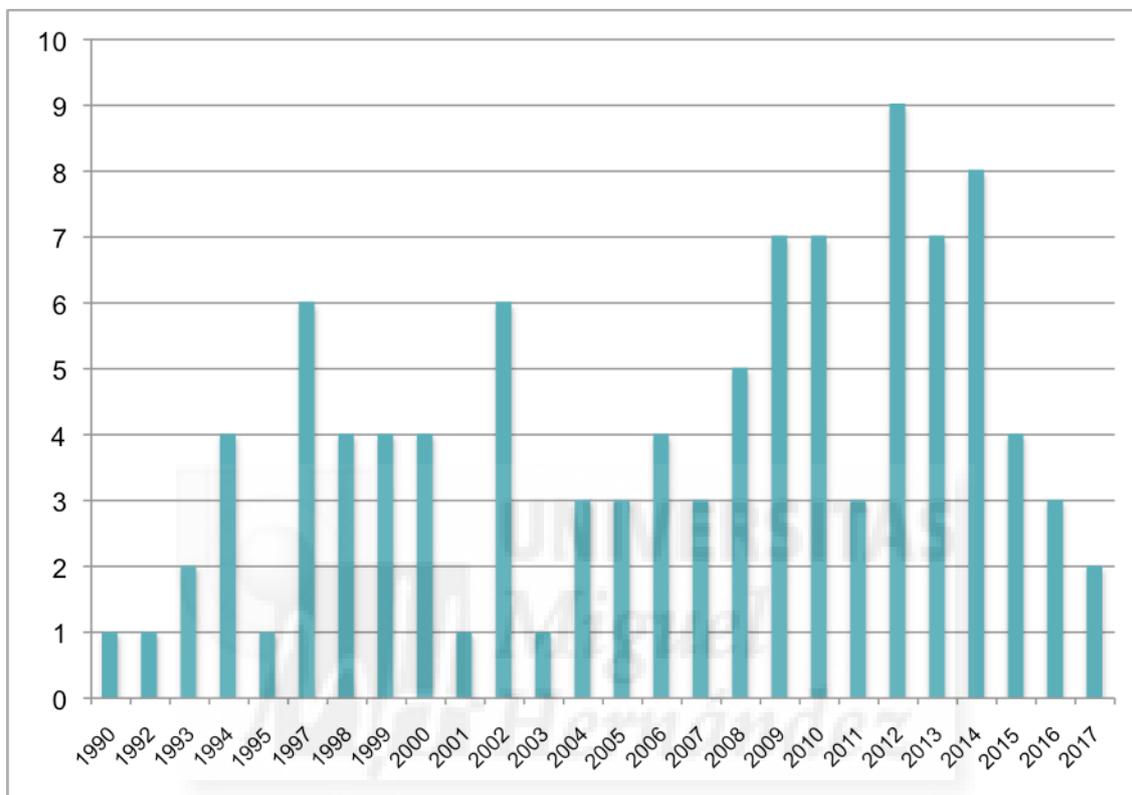


Figura 5 . Distribución de los pacientes estudiados según el año del diagnóstico.

## 5.2 DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

### Sexo

La muestra estaba compuesta por 70 hombres (68,6%) y 32 mujeres (31,4%). No disponemos de los datos del sexo en 1 paciente.

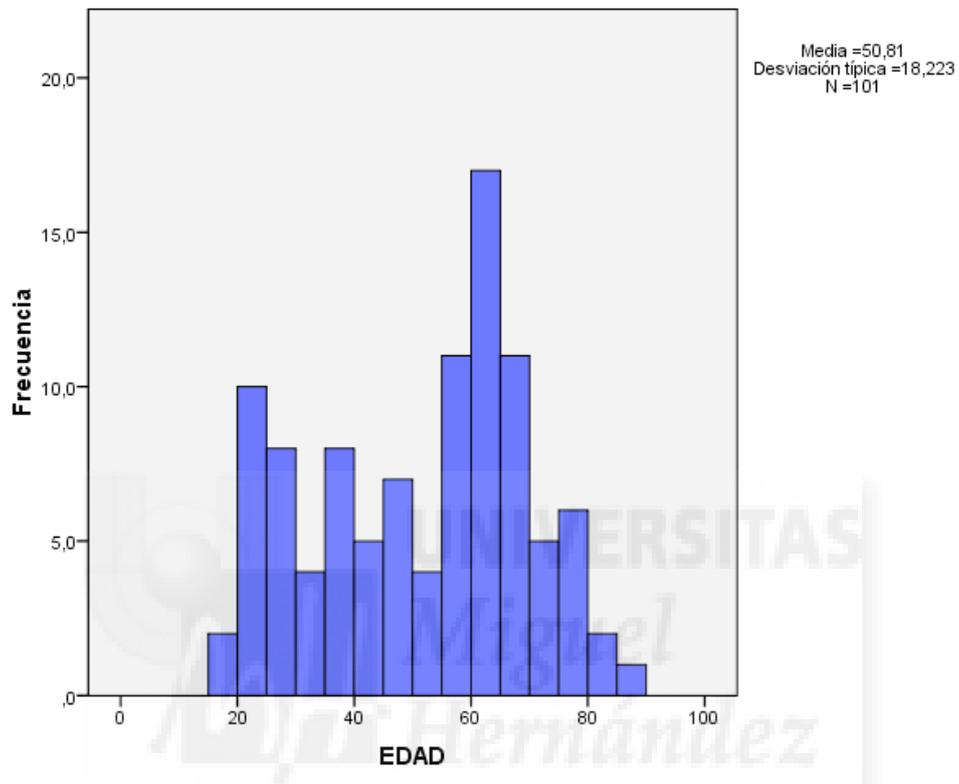
### Edad

De 101 pacientes en los que estaba disponible la edad, la mediana fue de 55,2 años (IQ 30,3).

El margen de edades estuvo entre los 17 y los 86 años.

Separados por grupo de edad para su evaluación como posible factor de riesgo, 76 pacientes (75,2%) eran menores de 65 años.

La distribución por edad se muestra en el siguiente gráfico:



**Figura 6. Distribución por edad al diagnóstico**

## Valores analíticos al diagnóstico

Los parámetros analíticos disponibles al diagnóstico se muestran en la siguiente tabla:

**Tabla 8. Parámetros analíticos al diagnóstico**

<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Mediana (meses)</b>	<b>IQ</b>
<b>Leu</b> ( $\times 10^9/L$ )	85	11,3	36,4
<b>Hb</b> (g/dl)	67	8,8	2,5
<b>Plaq</b> ( $\times 10^9/L$ )	67	64	84

## Clasificación por inmunofenotipo según criterios EGIL

Del total de pacientes disponemos de datos en cuanto a la clasificación inmunológica según los criterios EGIL en 75 de ellos, según se muestra en la siguiente tabla:

**Tabla 9. Clasificación EGIL**

<b>EGIL (n=75)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>B-M</b>	33	44,0
<b>T-M</b>	35	46,7
<b>B-T</b>	1	1,3
<b>B-T-M</b>	6	8,0

## Clasificación por inmunofenotipo según criterios WHO

La clasificación según los criterios de la WHO estaba disponible en 80 de los 103 pacientes, según la siguiente distribución:

**Tabla 10. Clasificación WHO**

WHO (n=80)	n	%
<b>NO CRITERIO</b>	12	14,8
<b>B-M</b>	18	22,2
<b>T-M</b>	33	40,7
<b>B-T</b>	1	1,2
<b>B-T-M</b>	3	3,7
<b>Ph+</b>	14	17,3

12 pacientes no cumplían criterios de MPAL según la clasificación de la WHO por los siguientes motivos:

- 2 secundarias a Síndrome Mielodisplásico (SMD)
- 2 secundarias a Linfoma No Hodgkin (LNH)
- 2 secundarias a Síndromes Mieloproliferativos Crónicos (SMPC),
- 1 secundaria a Mieloma Múltiple (MM)
- 3 secundarias a neoplasias sólidas
- 2 presentaban la t(8;21).

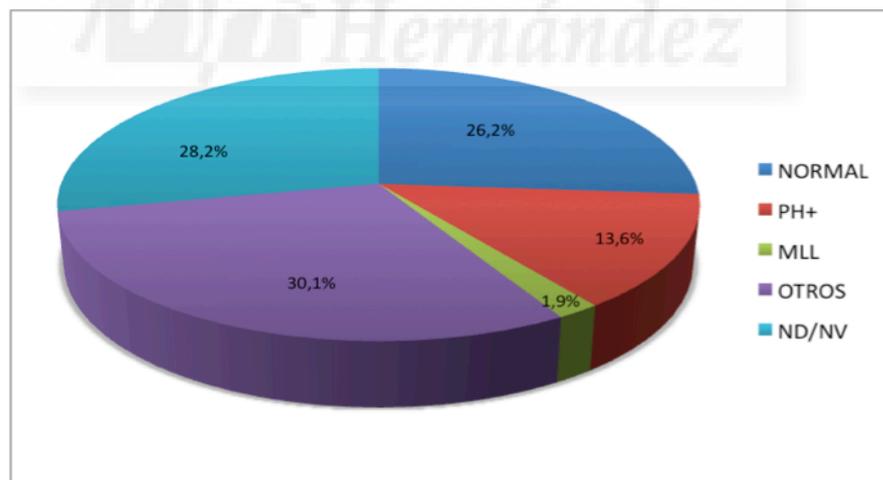
2 pacientes presentaban una t(9;11) (reordenamiento MLL) pero no se han clasificado como MPAL con t(v;11q23.3) por ser secundarias a neoplasia sólida.

## Cariotipo

La distribución según el cariotipo al diagnóstico se muestra en la siguiente tabla:

**Tabla 11. Cariotipos**

CARIOTIPO (n=103)	n	%
<b>NORMAL</b>	27	26,2
<b>t(9;22)</b>	14	13,6
<b>MLL</b>	2	1,9
<b>Otros</b>	31	30,1
<b>ND/NV</b>	29	28,2



**Figura 6. Distribución según cariotipo**

En el grupo **otros** se incluían los siguientes cariotipos:

**Tabla 12. Otros cariotipos**

Cariotipo	Número pacientes
47,XY,+8[13]/46,XY[7]	1
-7	2
?46,XY,add(1)(p36),+2mar[cp3]/46,XY[19]	1
44 XY -3, -7, -9, +21 (6) / 46 XY(14)	1
44, XY, -7, + mar (cp 6) / 46, XY (14).	1
44,X,-Y,-1,t(1;11)(q42;q13), der(2)t(1;2)(q21;q?24), der(3) (3;5)(q21;q13), -5,del(9)(q22q33),add(19)(q13),+21 [cp13] / 88,idemx2 [cp2]	1
45, X,-Y,t(8;21)(q22;q22),?del(9)(q13),	1
45,X,-X,t(7;21)(q21;q22),del(8)(q22),del(17)(p11p13) (22)	1
45,XX,inv(3)(q21q26),-7[20]	1
46 XX, inv9(p13q13)[20]	1
46 XY,t(8;20)[18]/46 XY[2]	1
46, XX, t(1,4)	1
46, XX, t(8;21)(q22;q22), 9qh+ [18] / 46, XX, 9qh+ [2].	1
46, XY [9]/ 46, XY, der(9)?add(9)(p24) or mar [1].	1
46, XY, t(2;7)(p11;q?[11]	1
46,XX,del(12)(p13)	1
46,XX,der(6)t(1;6)(q12;q27)[17]/46,XX[3]	1
46,XX,t(X;7)(p21.1;p22),(t3;7)(q26;p15),del(5)(q13q?31),-14[18]/46,XX[2]	1
46,XY (12) / 46,XY,del(3)(q13) (1)	1
46,XY,del(11)(p13)[20]	1
46,XY,del(5)(q15q34) (2) / 45,idem,-Y (3) /46,idem,-Y,+9 (3) / 47,idem,+9,+11 (1)/47,idem,+9,+19 (2) / 44,idem,-Y,add(9)(q34),-22 (1) / 49,idem,+1,+9,+11 (1) / 45,idem,del(4)(q28q35),+8,-13,-14 (1)	1
46,XY,t(8;12)(p12;p13)[20]	1
46,XY/51,XY,+6,+11,+18,+21,+mar/69-0,XY,+X,+1,+1,+2,+4,+6,+6,+8'+10,+11,+11,+12,+12,+14,+18,+18,+19,+19,+21,+21,+22,+22,+2mar	1
46XX, t(4;6), t(7;14)	1
48,XY,+1,?add(3)(q27),del(5)(q13),+21[cp17]/49,idem,+3,+10[cp3]	1
56,XY,+2,+3,+5,+6,+6,+8,+13,-14,+18,-19,+21,+21,+2Enar[15/115].	1
66~69>, XX ,+X, +1x2,+2,+3,+6x2,+10,+11x2,+12x2, +add(14)(p13), +15, -17x2,+18x2,+19,+ 20,+21,+22,+2 -5mar[48/50 ó 96%]/ 46,XX[2/50 ó 4%]	1
94, XY +13, +20, -21 (17/92), XY(3)	1
COMPLEJO (no especificado)	1
Monosomia cr. 7, perdida cr. Y, delecc. 20q (20)	1

Dentro de **otros** encontramos 13 pacientes (12,6%) con cariotipos complejos.

En el grupo **ND/NV** se incluían 6 pacientes con cariotipo no valorable por muestra insuficiente o de mala calidad y 23 pacientes en los cuales no están disponibles los datos.

### ***Tipo de tratamiento de inducción***

De los 103 pacientes disponemos de datos de tratamiento en 97 de ellos, según la siguiente distribución:

**Tabla 13. Tipos de tratamiento de inducción**

<b>TIPO (97)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>LAM</b>	49	50,5
<b>LAL</b>	26	26,8
<b>COMB</b>	4	4,1
<b>FLAG-IDA</b>	12	12,4
<b>PALIATIVO</b>	5	5,2
<b>OTROS</b>	1	1,0

### **Respuesta al tratamiento de inducción**

Se dispone de información sobre la respuesta al tratamiento de inducción en 90 pacientes, de los cuales 53 (58,9%) alcanzaron RC y 37 (41,1%) fueron refractarios.

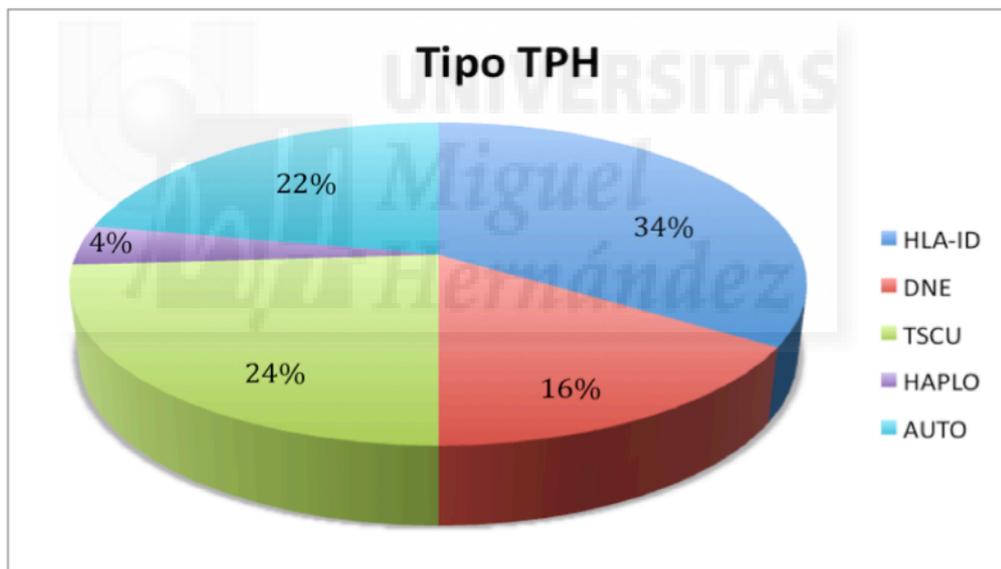
### **Trasplante de médula ósea**

De 96 pacientes de los cuales disponemos de la información 50 (52,1%) recibieron un TPH y 46 (47,9%) no.

El tipo de donante en los 50 pacientes trasplantados se detalla en la siguiente tabla:

**Tabla 14. TPH según tipo de donante**

TIPO TPH (50)	n	%
HLA-ID	17	34,0
NO EMPARENTADO	8	16,0
TSCU	12	24,0
HAPLOIDENTICO	2	4,0
AUTÓLOGO	11	22,0



**Figura 7 . Distribución según tipo de TPH**

Del total de pacientes trasplantados, 48 (96%) eran menores de 65 años y 2 (4%) eran mayores ( $p=0,001$ ) y se realizaron un trasplante autólogo.

## Mortalidad

A fecha de último seguimiento (27/02/17) 14 pacientes seguían vivos y en 8 se perdió el seguimiento (más de 1 año sin controles).

## 5.3 ANALISIS DE RESPUESTA A TRATAMIENTO DE INDUCCIÓN

### Edad

Aunque se observa una mayor tasa de RC en los pacientes menores de 65 años, con la muestra disponible, esta diferencia no llega a ser estadísticamente significativa ( $p=0.091$ )

Tabla 15. Respuesta al tratamiento según grupos de edad

n=88	<65 (64)	>65 (24)
RC	42 (65,6%)	11 (45,8%)
REFRACTARIOS	22 (34,3%)	13 (54,1%)

*Test Chi<sup>2</sup>=2,854 p=0,091*

### Sexo, inmunofenotipo y cariotipo

No se observaron diferencias significativas en la respuesta al tratamiento de inducción en función del sexo ( $n=89$ ;  $p=0,971$ ), el subtipo inmunológico EGIL ( $n=71$ ;  $p=0,516$ ) o WHO ( $n=77$ ;  $p=0,577$ ) ni el cariotipo ( $n=90$ ;  $p=0,409$ ).

## Tipo de inducción

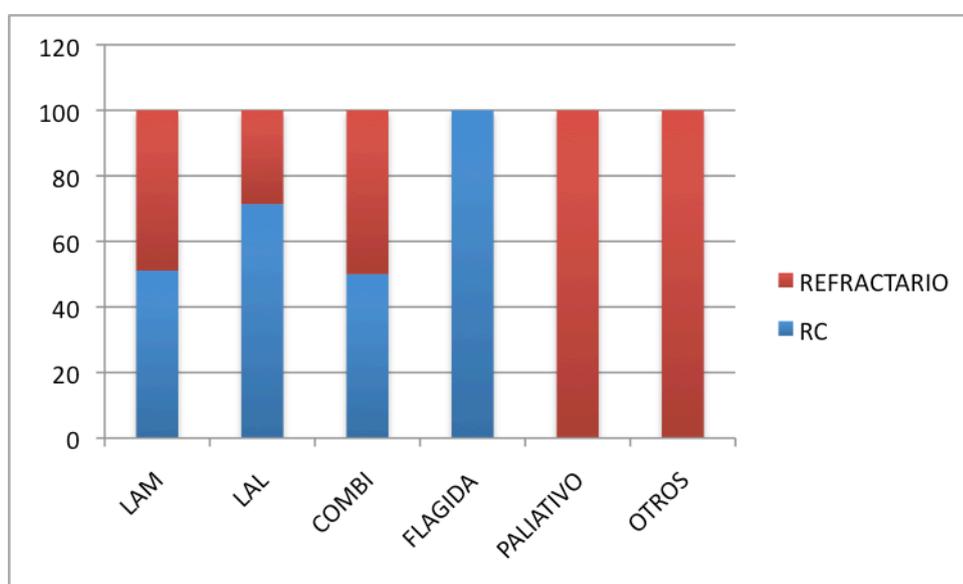
En nuestra muestra los pacientes que recibieron tratamiento según el esquema FLAG-IDA o LAL alcanzaron una tasa de RC significativamente mayor que el resto.

La respuesta en función del esquema de tratamiento utilizado se distribuyó según se muestra en la siguiente tabla:

**Tabla 16. Respuesta a inducción según el tipo de tratamiento**

n=90	LAM n(%)	LAL n(%)	COMBINADO n(%)	FLAG-IDA n(%)	PALIAT n(%)	OTROS n(%)
<b>RC</b>	25 (51,1%)	15 (71,4%)	2 (50,0%)	11 (100,0%)	0	0
<b>Refractario</b>	24 (48,9%)	6 (28,6%)	2 (50,0%)	0	5 (100%)	1

*Test Chi<sup>2</sup>= 17,589 p=0,001*



**Figura 8 . Respuesta según esquema de tratamiento**

Puesto que estos resultados podrían estar influidos por la presencia de pacientes tratados de forma paliativa, que lógicamente no alcanzaron respuesta, hemos analizado por separado el subgrupo de pacientes jóvenes que recibieron tratamientos más intensivos, excluyendo aquellos que recibieron tratamiento paliativo. Vemos que se sigue manteniendo la misma proporción, con una tasa de RC significativamente mayor en los pacientes tratados con FLAG-IDA y esquemas tipo LAL ( $p=0,048$ ). [Tabla 17]

**Tabla 17. Respuesta a inducción según tratamiento en <65 años**

<b>n=63</b>	<b>LAM n(%)</b>	<b>LAL n(%)</b>	<b>COMBINADO n(%)</b>	<b>FLAG-IDA n(%)</b>
<b>RC</b>	18 (54,5)	13 (76,5%)	2 (50,0%)	9 (100%)
<b>Refractario</b>	15 (45,5%)	4 (23,5%)	2 (50,0%)	0

*Test Chi<sup>2</sup>= 7,917 p=0,048*

## TPH

La tasa de trasplante fue significativamente mayor entre aquellos pacientes que alcanzaron RC (66,0%) con el tratamiento de primera línea que en los que fueron refractarios (22,8%) con una  $p<0,001$ .

**Tabla 18. Pacientes trasplantados en función de la respuesta al tratamiento de inducción**

<b>n=88</b>	<b>TPH</b>	<b>NO TPH</b>
<b>RC</b>	35 (66,0%)	18 (33,9%)
<b>REFRACTARIOS</b>	8 (22,8%)	27 (77,1%)

*Test Chi<sup>2</sup>= 31,612 p<0,001*

## 5.4. ANÁLISIS DE LA SUPERVIVENCIA

### Análisis de la supervivencia global en el total de la muestra

La mediana de supervivencia global fue de 12,0 meses (IC95% 10,34-13,65). La probabilidad de SG al año, a los 3 años y a los 5 años fue del 33%, 21% y 18% respectivamente.

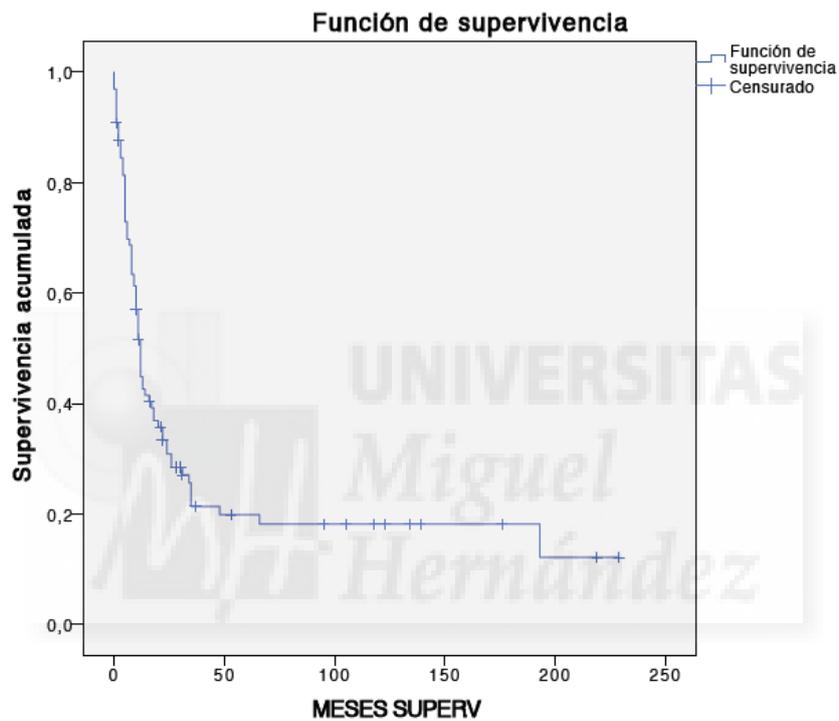


Figura 9. Curva de Supervivencia Global

## Relación de resto de variables con la supervivencia global

### - Edad

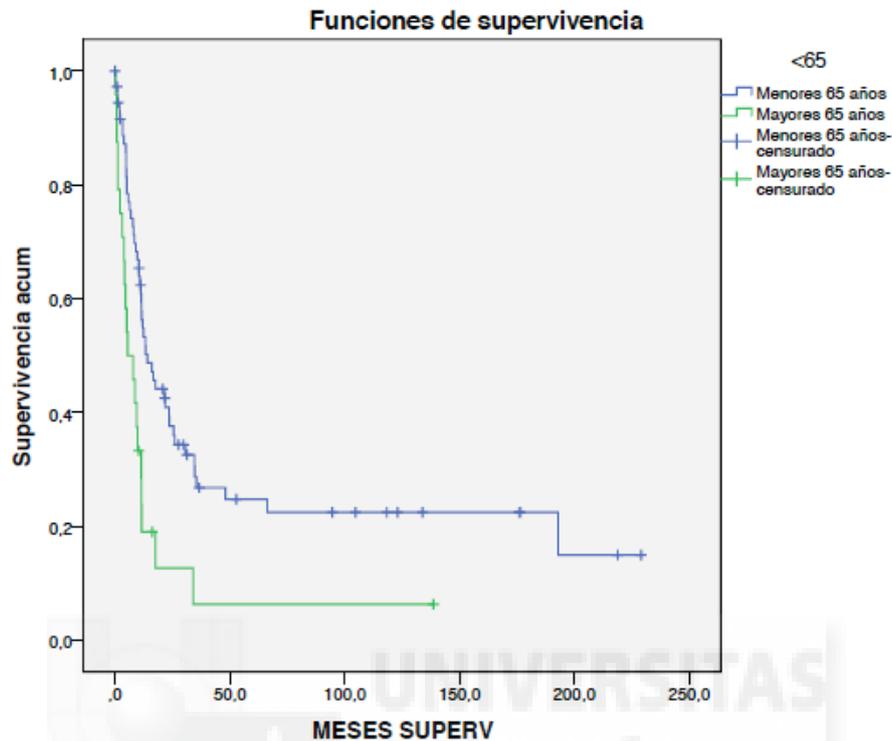


Figura 10. Curva de SG según el grupo de edad

Se observaron diferencias significativas en la supervivencia ( $p=0,001$ ) en función de la edad, con una mediana de 14,1 meses (IC95% 11,4-25,6) en menores de 65 años frente a 6,7 meses (IC95% 4,17-11,6) en mayores.

- Sexo

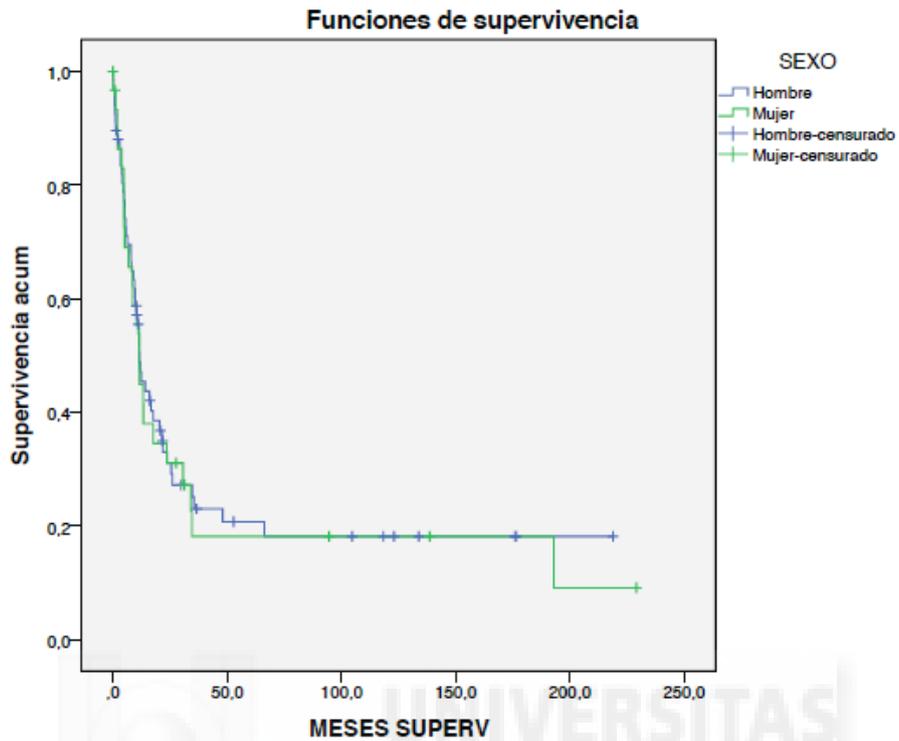


Figura 11. Curva de SG según el sexo

No hubo diferencias significativas en la mediana de supervivencia entre hombres y mujeres: 11,63 (IC95% 8,28-14,97) vs 11,5 (IC95% 9,51-13,49) meses respectivamente con una  $p=0,825$ .

- Inmunofenotipo

EGIL

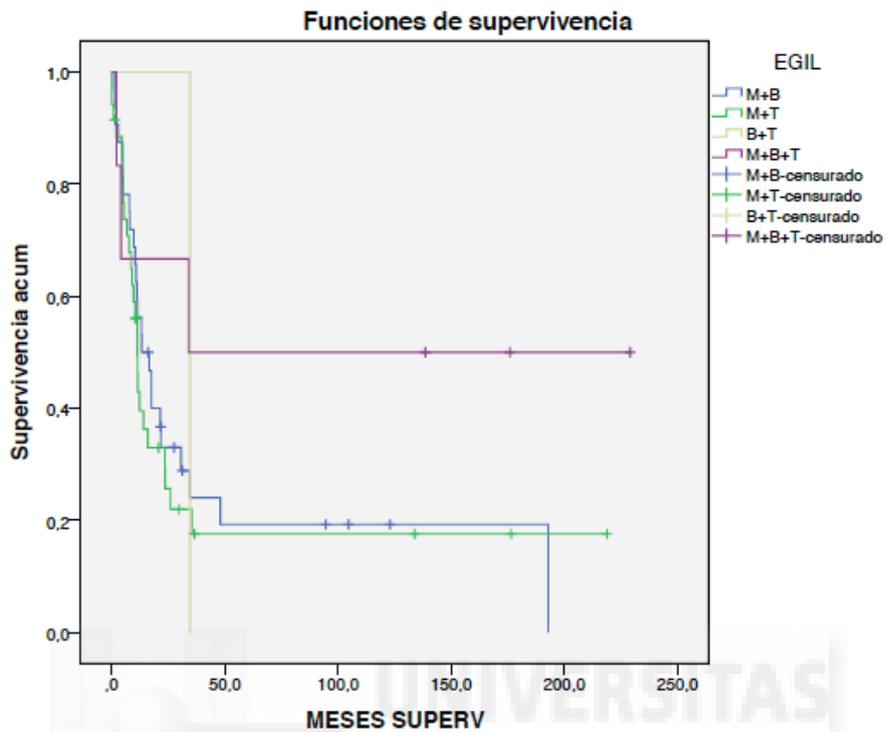


Figura 12. Curva de SG según clasificación EGIL

WHO

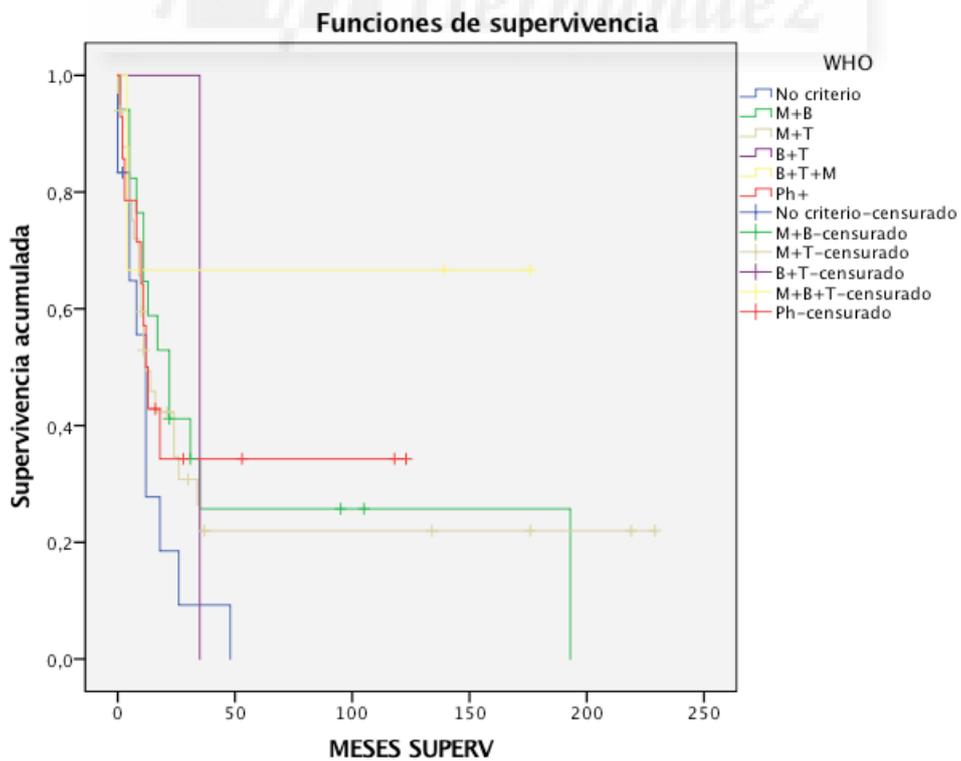


Figura 13. Curva de SG según clasificación WHO

Tampoco hubo diferencias en la supervivencia en función del subtipo inmunológico, tanto en la clasificación según el grupo EGIL ( $p=0,446$ ) como en la WHO ( $p=0,376$ )

Las medianas de supervivencia para cada subtipo se detallan en la siguiente tabla:

**Tabla 19. Supervivencias medianas según inmunofenotipo**

	EGIL			WHO		
	n	Med (meses)	IC95%	n	Med (meses)	IC95%
<b>M-B</b>	32	15,0	10,9-34,7	17	21,6	10,9-NA
<b>M-T</b>	35	11,4	9,0-23,7	33	11,5	9,77-34
<b>B-T</b>	1	34,7	NA-NA	1	34,7	NA-NA
<b>B-T-M</b>	6	34,0	4,17-NA	3	NA	4,17-NA
<b>No Criterio</b>	-			12	11,6	5,23-NA
<b>Ph+</b>	-			14	12,5	9,83-NA

- Cariotipo

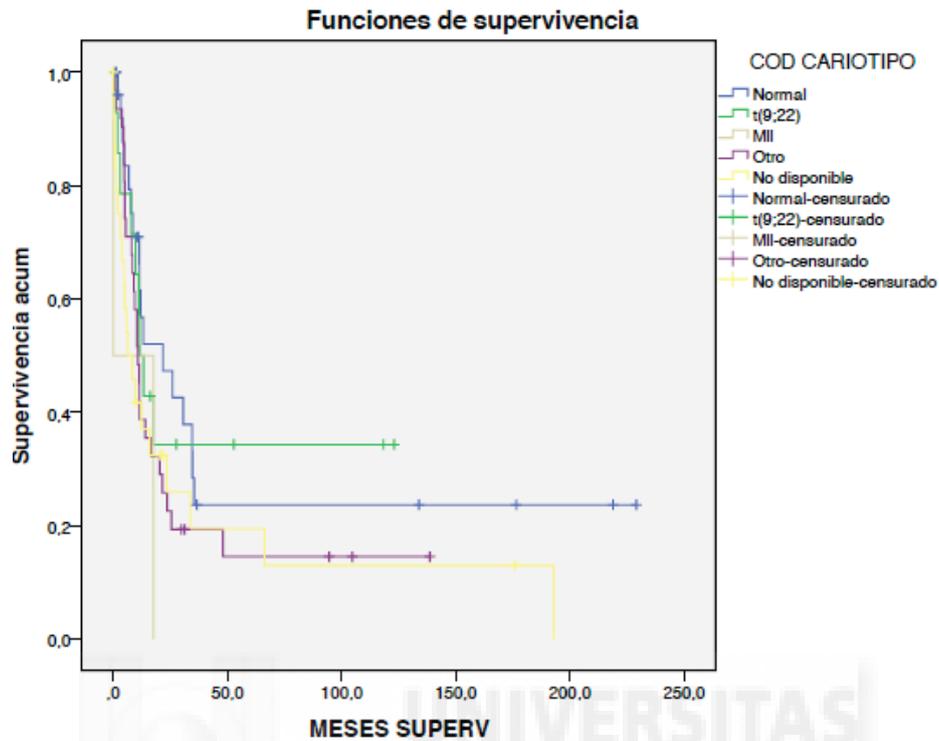


Figura14. Curva de SG según cariotipo

No se observaron diferencias en la SG en función del cariotipo ( $p=0,263$ ). Las medianas de supervivencia en cada grupo se reflejan en la siguiente tabla:

Tabla 20. Supervivencias medianas según cariotipo

	n	Med (meses)	IC95%
Normal	27	21,83	11,4-NA
t(9;22)	14	12,48	9,8-NA
MLL	2	8,88	0,13-NA
Otros	31	10,90	8,4-21,6
ND/NV	25	7,35	4,8-34,0

## - Tipo de tratamiento de inducción

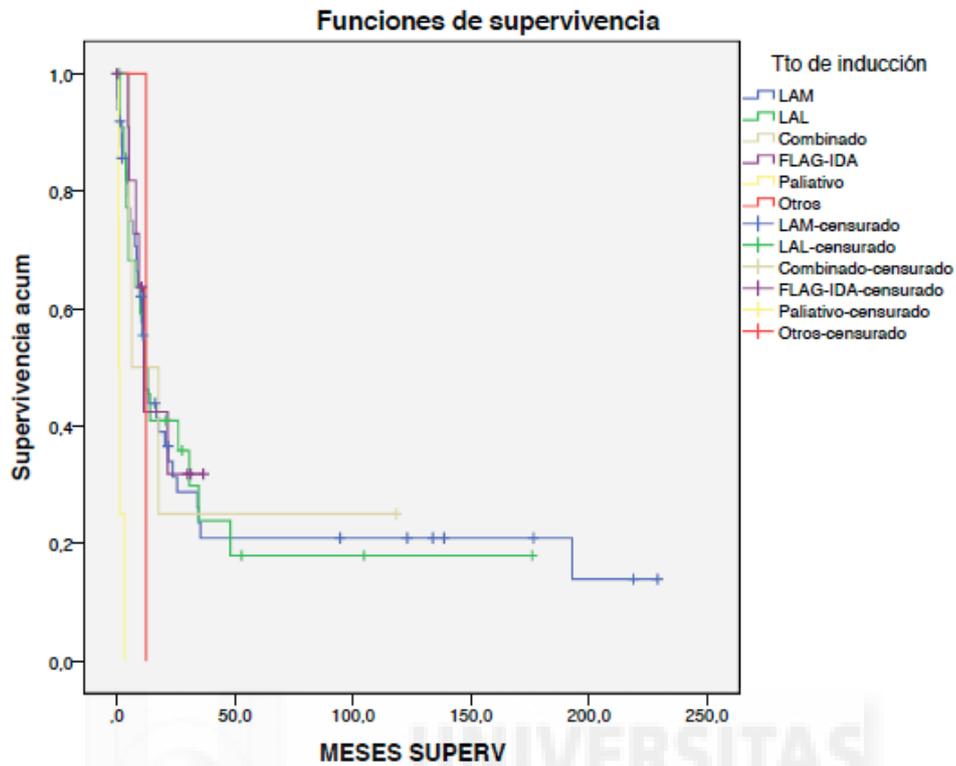
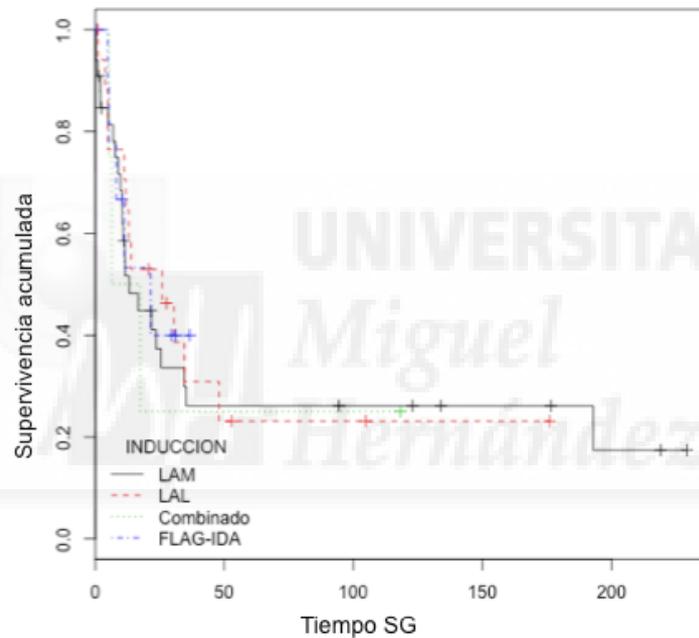


Figura 15. Curva de SG según tipo de tratamiento

En cuanto al tipo de esquema utilizado en la inducción se observa, como es lógico, una mayor supervivencia en aquellos pacientes tratados con quimioterapia intensiva/semi-intensiva frente a los pacientes tratados de forma paliativa ( $p < 0,01$ ). Sin embargo, si analizamos por separado al grupo de menores de 65 años que recibieron tratamientos intensivos, vemos que no existen diferencias significativas en la SG independientemente del esquema utilizado ( $p = 0,964$ ). [Tabla 21]

**Tabla 21. SG Mediana en <65 años según tipo de tratamiento**

	n	Med (meses)	IC95%
LAM	33	13,3	10,5-35,4
LAL	18	26,0	12,03-NA
Combinado	4	12,0	5,23-NA
FLAG-IDA	10	21,6	8,13-NA



**Figura 16. Curva de SG según tipo de tratamiento en <65 años**

A pesar de la elevada tasa de RC que alcanzaron los pacientes tratados con FLAG-IDA, tampoco se observan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a SG al compararlos con los demás grupos (Mediana 11,43 meses en FLAG-IDA vs 11,56 meses, con  $p=0,596$ )

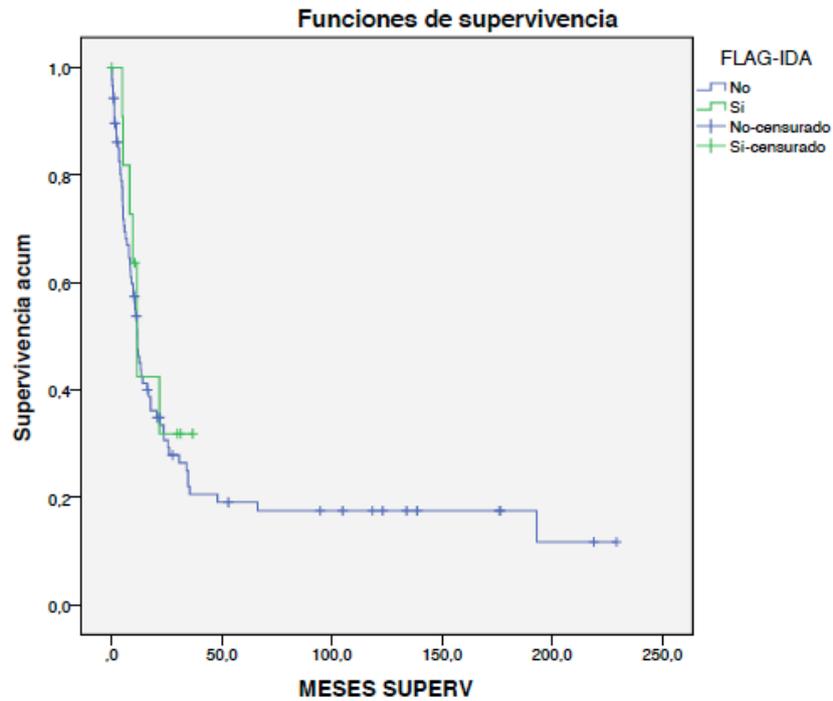


Figura 17. Curva de SG en pacientes con FLAG-IDA vs resto de tratamientos

**- Respuesta a tratamiento de inducción**

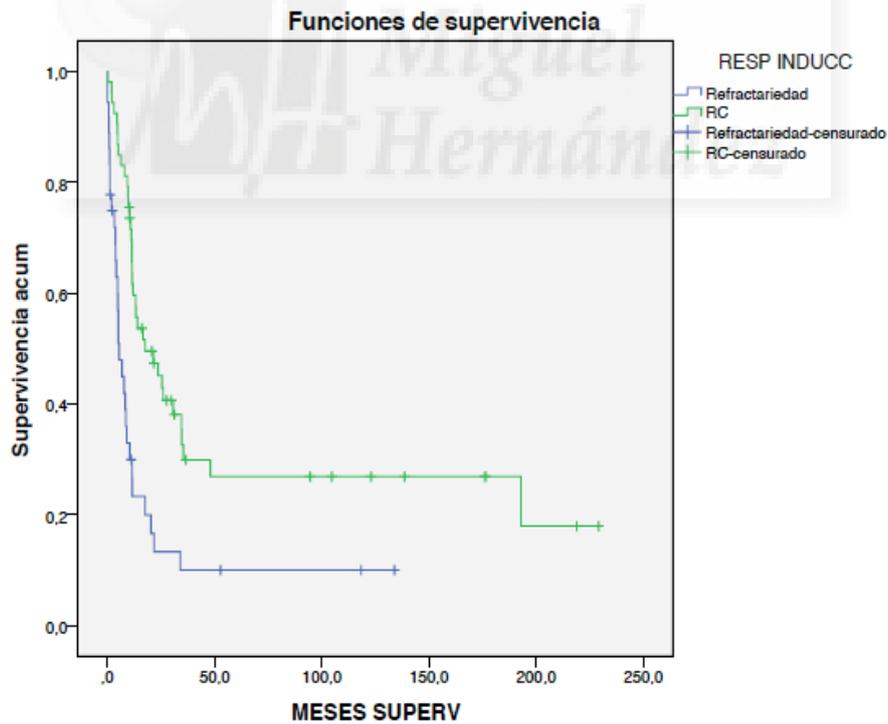
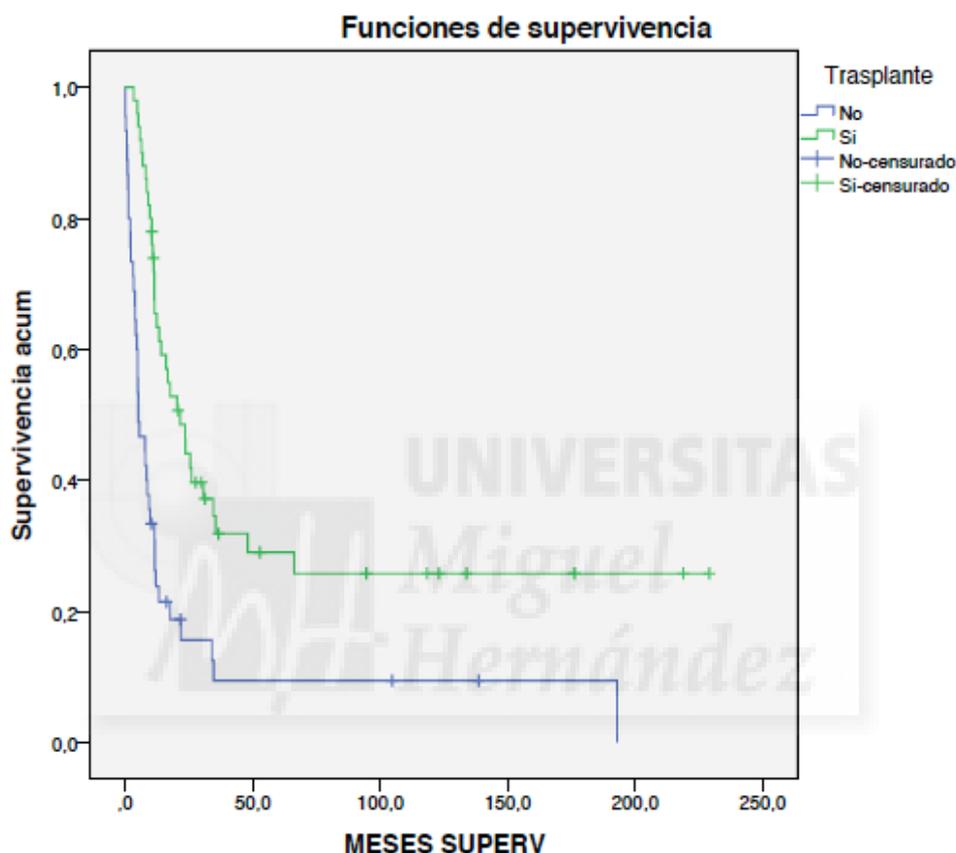


Figura 18. Curva de SG según respuesta a inducción

Aquellos pacientes que entraron en RC tras el primer ciclo de inducción presentaron una mediana de SG significativamente mayor (17,63 meses; IC95%

4,44-30,81) que aquellos que fueron refractarios (5,53 meses; IC95% 2,82-8,23), con una  $p < 0,001$ . La probabilidad de SG en los pacientes con RC al año, a los 3 y a los 5 años fue de 47%, 30% y 27% frente a 14%, 10% y 10% en los pacientes refractarios.

**- Trasplante de médula ósea**



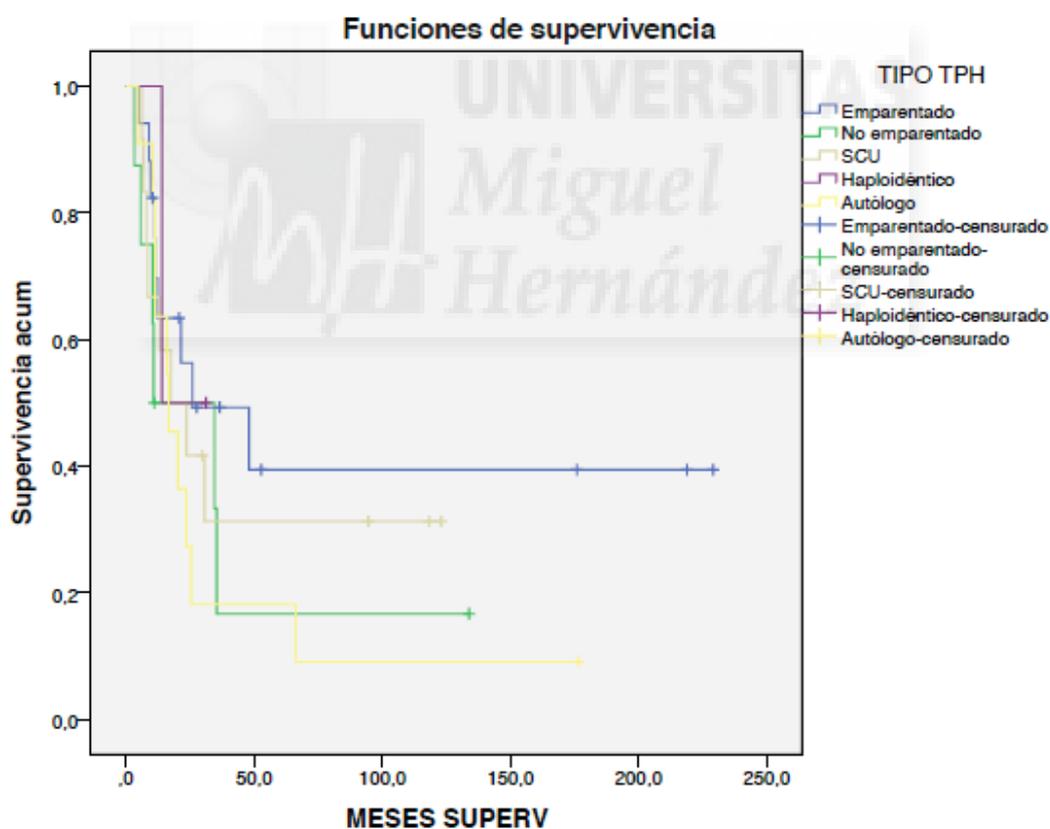
**Figura 19. Curva de SG según TPH**

También fue significativa la mayor supervivencia en aquellos pacientes que se realizaron un trasplante de médula ósea (21,63 meses; IC95% 13,29-29,97) frente a los que no fueron trasplantados (5,23 meses; IC95% 1,37-9,08), con una  $p < 0,001$ . La probabilidad de SG en los pacientes trasplantados al año, a los 3 y a los 5 años fue de 48%, 32% y 25% frente a 15%, 9% y 9% en los no trasplantados.

Sin embargo, no se observaron diferencias en función del tipo de trasplante realizado ( $p = 0,576$ ) [Tabla 22] ni al comparar el trasplante autólogo (16,73 meses; IC95% 7,05-26,40) con los alogénicos (11,33 meses; IC95% 9,30-13,35), con una  $p = 0,836$ .

**Tabla 22. SG Mediana según tipo de TPH**

	n	Med (meses)	IC95%
Emparentado	17	26,0	0-65,2
DNE	8	10,9	0-39,6
SCU	12	17,63	0-35,2
Haploidéntico	2	14,1	NA-NA
Autólogo	11	16,7	7,0-26,4



**Figura 20. Curva de SG según tipo de TPH**

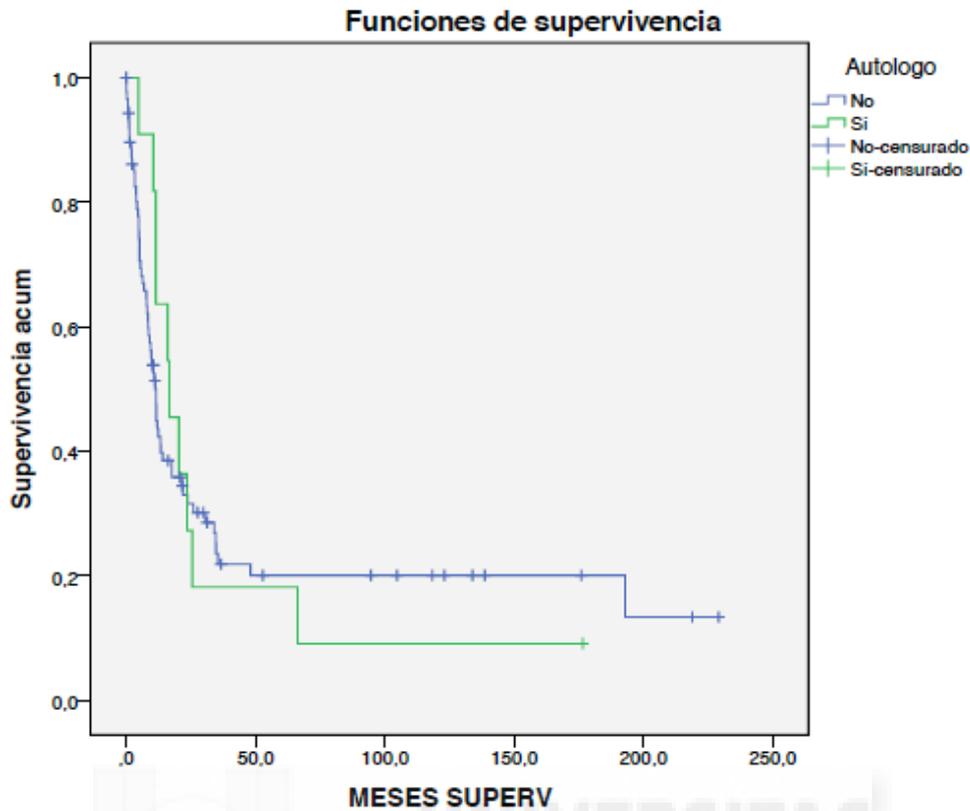


Figura 21. Curva de SG en pacientes con TPH autólogo vs alogénico

## 5.5 ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE FACTORES PRONÓSTICOS

Para determinar qué variables podrían considerarse factores pronóstico independientes para la supervivencia, se llevó a cabo un análisis multivariante mediante el modelo de regresión de Cox considerando como variables a estudio: edad  $\leq 65$  años, tipo de tratamiento (no paliativo vs paliativo), respuesta a la inducción y TPH. Siendo el modelo claramente significativo, obtenemos los siguientes resultados:

Tabla 23. Análisis multivariante mediante modelo de regresión de Cox.

VARIABLE	Exp(B) (IC95%)	p*
<65 años	0,902 (0,477-1,707)	0,752
No paliativo	0,172 (0,0051-0,587)	0,005
Respuesta inducción	0,555 (0,321-0,961)	0,035
TPH	0,446 (0,242-0,821)	0,010

\* Test Chi <sup>2</sup>= 44,302 p<0,001

En el análisis multivariante de la serie global, la edad pierde la significación como factor protector, mientras que el tratamiento activo, la RC tras inducción y la realización de TPH se confirman como factores pronósticos independientes de mejor supervivencia.

## 5.6 LEUCEMIAS AGUDAS DE FENOTIPO MIXTO CON t(9;22)

Del total de pacientes, 14 presentaban la t(9;22). Aunque es un número pequeño, por la relevancia de esta alteración citogenética tanto en la clasificación como en el tratamiento, los hemos analizado por separado.

Las características de las variables cuantitativas se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 24. Parámetros cuantitativos en pacientes con MPAL Ph+

Variable	n	Mediana (meses)	IQ
Edad	14	58	39,75
Leu (x10 <sup>9</sup> /L)	13	40	115,65
Hb (g/dl)	9	9,3	5,55
Pla <sub>q</sub> (x10 <sup>9</sup> /L)	9	47	76,5

Las frecuencias absolutas y relativas de las variables cualitativas se detallan en la siguiente tabla:

**Tabla 25. Parámetros cualitativos de los pacientes con MPAL Ph+  
(frecuencia absoluta, n; frecuencia relativa, %)**

Variable		n	%
Edad	<65	10	71,4
	>65	4	28,6
Sexo	H	11	78,6
	M	3	21,4
Inmunofenotipo	M-B	11	78,6
	M-T	1	7,1
Tratamiento inducción	LAM	5	35,7
	LAL	7	50,0
	Combi	2	14,3
ITK	NO	4	28,6
	SI	6	42,9
Respuesta inducción	Refract	5	35,7
	RC	8	57,1
TPH	NO	7	50,0
	SI	7	50,0
Tipo TPH	HLA-ID	3	21,4
	SCU	4	28,6

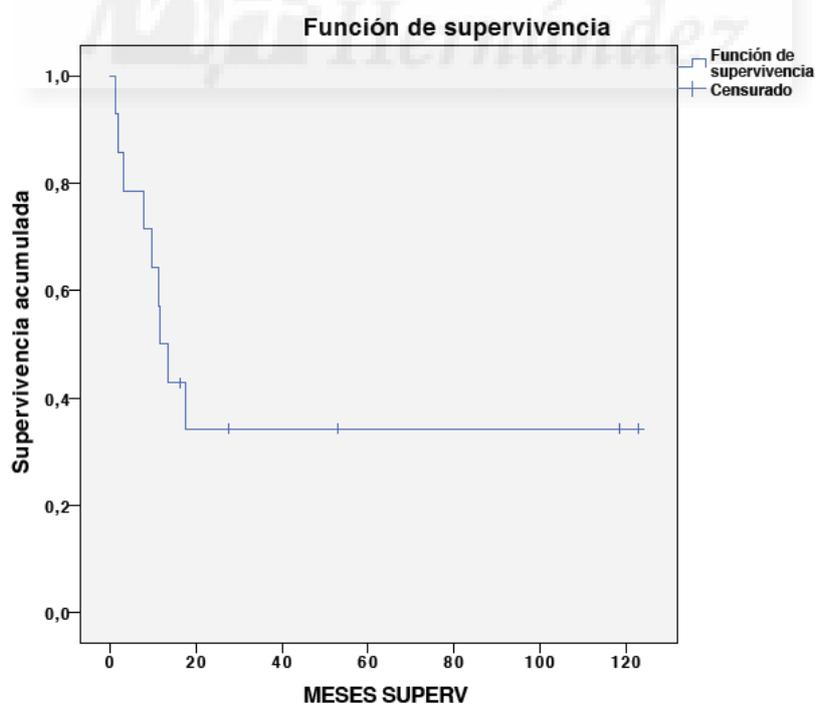
No se observaron diferencias significativas en la tasa de RC entre los pacientes con MPAL Ph+ que tomaron Imatinib y los que no lo tomaron.

**Tabla 26. Respuesta a inducción según administración de ITK**

n=9	NO ITK	SI ITK
<b>REFRACT</b>	2 (66,6%)	2 (33,3%)
<b>RC</b>	1 (33,3%)	4(66,6%)

*Test Chi<sup>2</sup>= 0,900 p=0,343*

La mediana de SG en los pacientes Ph+ fue de 11,63 meses (IC95% 7,96-15,30) [Fig. 22]. Se observa una tendencia hacia una mejor SG en aquellos pacientes que tomaron ITK (mediana no alcanzada) que en aquellos que no lo hicieron (7,86 meses; IC95% 0-17,89) aunque no llega a la significación estadística (p=0,067). [Fig. 23]



**Figura 22. Curva de SG en pacientes Ph+**

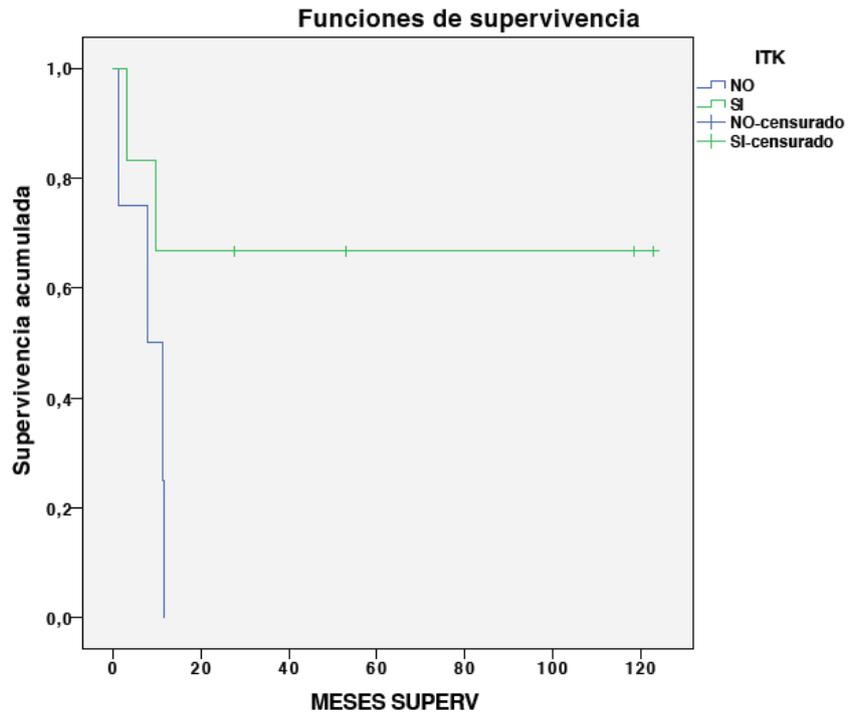


Figura 23. Curva de SG en pacientes Ph+ según tratamiento con ITK





## 6. DISCUSIÓN





## 6.1 RESUMEN

La MPAL es un subtipo de leucemia muy poco frecuente y de diagnóstico complejo. A lo largo de los años, con el desarrollo de las técnicas de citometría de flujo y citogenética, se ha ido refinando la caracterización de estas leucemias. Aún así, continúa siendo un grupo muy heterogéneo y complejo, y sigue sin haber consenso en cuanto a cuál es el mejor tratamiento.

En este estudio hemos recopilado información de 103 pacientes adultos diagnosticados entre febrero de 1990 y enero de 2017 en diferentes hospitales de España.

Hemos determinado las características biológicas en cuanto a distribución por edad, sexo, clasificación inmunofenotípica y cariotipo. También hemos analizado los diferentes esquemas de tratamiento utilizados en inducción así como la realización o no de TPH.

Hemos calculado la tasa de RC y la SG en la totalidad de la muestra y la tasa de RC y SG en función de las variables descritas anteriormente.

Aunque el número de pacientes es pequeño, por su especial relevancia hemos analizado por separado las MPAL Ph+ y su tasa de RC y SG en función del tratamiento con o sin ITK.

Nuestros resultados se asemejan a los reportados hasta el momento en la literatura. La baja frecuencia de esta patología hace que dispongamos de una de las series más largas descritas hasta el momento.

Aunque en este trabajo no hemos podido comparar la supervivencia de las MPAL con la del resto de leucemias agudas, en la literatura está confirmado el peor pronóstico en cuanto a SG y tasa de recaídas (Shi and Munker, 2015).

El alcanzar RC tras la inducción y el TPH son 2 factores asociados a una mejora de la SG. Aunque en nuestro estudio (y en la mayoría de publicaciones al respecto) el tipo de tratamiento de inducción utilizado no se asocia a una mayor SG, sí parece que se alcanzan tasas más altas de RC con esquemas tipo LAL y especialmente con FLAG-IDA.

## 6.2 FORTALEZAS Y LIMITACIONES

A favor de nuestro estudio tenemos:

- Incluye pacientes de todo el territorio nacional.
- Comparado con los estudios publicados en los últimos años, nuestra serie de pacientes es una de las más largas descritas hasta el momento.
- La mayoría de estudios realizados hasta el momento están centrados en las características biológicas de la enfermedad, con pocos datos en cuanto a los tratamientos utilizados. En nuestra muestra se han recogido datos de los tratamientos y trasplantes realizados en casi la totalidad de los pacientes.
- En nuestro estudio el total de la población son adultos. En muchas de las publicaciones la muestra incluye pacientes en edad pediátrica. Dado que la leucemia en niños suele tener un comportamiento diferente (más “benigno”) que en adultos, pensamos que este hecho puede aportar más homogeneidad a los resultados obtenidos.

Entre sus limitaciones:

- No podemos calcular la incidencia puesto que nuestra muestra está compuesta por casos comunicados esporádicamente.
- Debido a la antigüedad de muchos de los casos, ha sido imposible disponer de las características biológicas de aproximadamente un tercio de los pacientes.
- Las técnicas diagnósticas (citometría, citogenética...) han ido evolucionando a lo largo del período de recogida de los pacientes, por lo que puede que haya discrepancias en cuanto al diagnóstico. En muchos casos conocemos el subtipo inmunológico porque así está registrado en la base de datos, pero no tenemos información detallada por lo que no ha sido posible revisar el diagnóstico para confirmar que los criterios se cumplen.
- No ha sido posible calcular la Supervivencia Libre de Enfermedad ni la tasa de recaídas al no disponer de las fechas en un gran número de casos.
- Aunque en España los protocolos de tratamiento de leucemias están bastante estandarizados (guías PETHEMA o CETLAM), los tratamientos en este estudio son variados y heterogéneos, no sólo en función del centro sino también del año del diagnóstico y la edad del paciente. No obstante, esto es una constante en la leucemia de fenotipo mixto.

- El número de pacientes con presencia de t(9;22) es escaso para poder sacar conclusiones. Sin embargo, la tendencia de los resultados obtenidos es similar a lo reportado en la literatura.

## 6.3 COMPARACIÓN CON OTROS ESTUDIOS

### Descripción de la muestra

Los datos han sido recogidos a través del registro PETHEMA.

La mayoría se diagnosticaron a partir del año 2003. Este hecho probablemente esté en relación con la mejoría de las técnicas diagnósticas por citometría que han permitido reconocer como MPAL leucemias que anteriormente habrían sido clasificadas como indiferenciadas, LAM o LAL. También debemos tener en cuenta que los registros de PETHEMA son específicos para LAM y LAL, por lo que en la mayoría de los casos las MPAL quedan sin reportar.

En nuestra población la frecuencia de MPAL es mayor en hombres (68,6%) que en mujeres (31,4%), al igual que en muchas series publicadas (Weinberg et al, 2014; Owaidah et al, 2006; Heesch et al, 2013).

La edad mediana es de 55,2 años, similar a lo publicado por Heesch et al en 2013 (edad mediana 57 años) aunque superior a lo descrito en otras series que incluyen sólo adultos: Aribi et al, 2007 (47 años), Defis-Court et al, 2014 (33 años), Yan et al, 2012 (35 años).

Los valores analíticos al diagnóstico tampoco difieren con respecto a la literatura existente.

En cuanto al subtipo inmunológico, disponemos de datos en aproximadamente 2/3 de los pacientes. En nuestro caso la proporción de pacientes clasificados como M-T según criterios de EGIL es similar a los M-B o mayor si utilizamos los criterios WHO (Tablas 2 y 3. Material y Métodos), al contrario que en la mayoría de las publicaciones (Zhang et al, 2011; Weinberg et al, 2014; Owaidah et al, 2006; Matutes et al, 2011) donde es más frecuente el fenotipo M-B.

Tal y como está descrito (van den Ancker et al, 2010; Weinberg et al, 2014) si utilizáramos los criterios de la WHO en nuestra muestra se excluiría un 14,8% de los pacientes diagnosticados, que serían considerados Leucemias Agudas

asociadas a alteraciones citogenéticas recurrentes, secundarias a tratamiento o a Síndrome Mielodisplásico.

La distribución de los cariotipos analizados es también similar a lo descrito en la literatura, con cariotipos normales en el 26,2% y alteraciones numéricas y estructurales en aproximadamente un 50% de los casos. (Yan et al, 2012; Tian et al, 2016; Munker et al, 2016). En nuestro caso hay un porcentaje elevado de pacientes en los que no disponemos de cariotipo (28,2%), bien porque no se realizó o porque no fue valorable.

El porcentaje de t(9;22) (13,6%) y MLL (1,9%) también coincide con lo publicado en otros estudios que incluyen pacientes adultos (Yan et al, 2012; Tian et al, 2016, Deffis-Court et al, 2014). Los estudios donde se incluyen pacientes pediátricos pueden encontrar porcentajes de MLL más elevados (5-11%) (Weinberg et al, 2014; Matutes et al, 2011; Munker et al, 2016).

En nuestra muestra, disponemos de datos de tratamiento en 97 pacientes, de los cuales aproximadamente el 50% se trataron con esquemas de Leucemia Aguda Mieloblástica. El resto recibieron tratamientos de Leucemia Aguda Linfoblástica (26,8%), combinaciones de fármacos para ambos tipos (4,1%) o FLAG-IDA (12,4%). Un 5,2% de los pacientes no fueron candidatos a tratamiento activo y un paciente se realizó un TPH directamente, sin recibir ningún tratamiento de inducción.

Esta amplia variedad coincide con la literatura, donde la heterogeneidad en cuanto a los tipos de tratamiento utilizados es habitual. No obstante, la mayoría de estudios presentan un mayor porcentaje de pacientes tratados con esquemas combinados o de LAL (Aribi et al, 2007; Yan et al, 2012).

El 58,9% de nuestros pacientes alcanzaron RC. Más adelante analizaremos la relación con el tipo de esquema utilizado así como los resultados publicados hasta el momento.

En nuestra muestra disponemos de datos de 96 pacientes, de los cuales 50 (52,1%) se realizaron algún tipo de TPH. Los datos de la literatura referentes al TPH en pacientes con MPAL son muy recientes. Las publicaciones anteriores al 2014 están centradas sobretudo en las características biológicas y generalmente no disponen de información completa con respecto al tratamiento de la totalidad de la muestra. En 2016, Tian et al. (66 pacientes) y Munker et al. (95 pacientes)

publicaron las 2 series probablemente más completas de pacientes con MPAL centradas en los resultados del tratamiento y trasplante. La distribución según el tipo de donante en nuestro caso fue como sigue: 34% donante familiar HLA idéntico, 16% donante no emparentado, 24% sangre de cordón umbilical, 4% haploidéntico y 22% autólogo. Los porcentajes descritos en las series de Tian y Munker son bastantes similares a los nuestros: 44% Familiar HLA idéntico, 25% DNE y 31% SCU (Munker et al, 2016) y 35% Familiar HLA idéntico, 31% DNE, 10% SCU y 24% haploidéntico (Tian et al, 2016), teniendo en cuenta que en sus estudios no se realizaron trasplantes autólogos.

### **Análisis de respuesta a la inducción**

La importancia de alcanzar respuesta completa en los pacientes con leucemia aguda es un hecho probado y documentado. La peor supervivencia en pacientes refractarios así como los mejores resultados del TPH cuando éste se realiza en RC (y a ser posible con EMR negativa) están ampliamente descritos en la literatura (Schlenk, 2016; Dombret and Gardin, 2016; Guolo et al, 2016). Estas premisas también se cumplen en el caso de las leucemias de fenotipo mixto. En la publicación de Tian et al. en 2016, la SG estimada a los 3 años en los pacientes refractarios frente a los que alcanzaron RC fue de  $20\pm 9\%$  y  $64\pm 9\%$  respectivamente con  $p=0,001$ . Además, aquellos pacientes que se trasplantaron en RC obtuvieron resultados más favorables (SG acumulada a los 5 años: 71,8%) mientras que no hubo ningún superviviente entre aquellos que lo hicieron con enfermedad activa (Munker et al, 2016).

En nuestra serie hemos analizado la tasa de RC y las variables que influyen en ella.

No observamos diferencias significativas en la tasa de respuesta al tratamiento de inducción en función del sexo, el subtipo inmunológico ni el cariotipo.

En cuanto a la edad, parece que los pacientes menores de 65 años tienen tendencia a alcanzar RC con mayor frecuencia, aunque no llegamos a obtener significación estadística ( $p=0,091$ ). Este hecho podría estar en relación con la

administración de tratamientos más intensivos en el grupo de edad más joven, como veremos más adelante.

La tasa de respuesta varía de forma significativa según el esquema de inducción utilizado ( $p=0,001$ ). Como es lógico los pacientes que recibieron tratamiento paliativo en ningún caso obtuvieron respuesta. Pero si analizamos por separado el grupo de menores de 65 años, que recibieron esquemas de quimioterapia intensiva y excluimos por tanto a los pacientes con tratamientos paliativos y quimioterapias de menor intensidad, se sigue manteniendo la significación ( $p=0,045$ ).

De esta manera, en nuestra muestra los pacientes tratados con protocolos tipo LAL y FLAG-IDA obtuvieron una mayor tasa de RC (76,5% y 100%) que aquellos que fueron tratados con protocolos de LAM o combinados (54,5% y 50%). Estos resultados coinciden con la mayoría de estudios publicados (Heesch et al, 2013; Zhang et al, 2011; Aribi et al, 2007).

En nuestro caso, aunque el número es pequeño (12 pacientes), llama la atención la elevada tasa de RC alcanzada con el esquema FLAG-IDA. En la extensa revisión realizada para este trabajo no hemos encontrado datos de pacientes con leucemias de línea ambigua tratados específicamente con este protocolo. Sin embargo, su uso como tratamiento de rescate para recaídas/refractariedad tanto de LAL (Specchia et al, 2005: 39,1% RC; Oriol et al, 2010: 45% RC) como de LAM (Pastore et al, 2003: 52% RC; Domínguez Senín, 2012: 50% RC) está probado desde hace tiempo. El esquema FLAG-IDA está consolidado como una quimioterapia altamente efectiva con una toxicidad aceptable y que permite optar a un trasplante como tratamiento de rescate en este tipo de pacientes.

Además, aunque no ha desplazado al clásico “3+7” (3 días de Idarrubicina + 7 días de citarabina) en el tratamiento de primera línea de la LAM, también se ha utilizado como esquema de inducción en este tipo de leucemias, con similar tasa de RC que el tratamiento convencional (Guolo et al, 2016: 83% RC; Burnett et al, 2013: 85% RC) y un perfil de toxicidad aceptable.

En nuestra población, de 43 pacientes que se realizaron TPH, 35 (81,3%) lo hizo tras alcanzar RC con la primera línea de tratamiento. Los 8 restantes (18,6%) lo hicieron tras alcanzar RC con algún tratamiento de rescate. No disponemos de datos del status al trasplante en 7 pacientes.

## **Análisis de supervivencia**

La mediana de SG en nuestra muestra fue de 12 meses, con una probabilidad de SG al año, a los 3 y a los 5 años de 33%, 21% y 18% respectivamente. Estos resultados son similares a los obtenidos por Heesch et al en 2013, cuya muestra, aunque con menor número de pacientes, tenía características similares a la nuestra. Sin embargo en otras publicaciones alcanzan medianas de supervivencia ligeramente superiores (Zhang et al, 2011: 14 meses; Deffis-Court et al, 2014: 14,8 meses; Matutes et al, 2011: 18 meses). Esto probablemente esté en relación con la menor edad mediana de estas cohortes. De hecho, en la serie de Matutes et al la mediana de supervivencia en adultos es de 11 meses vs 139 meses en niños.

Lee et al en 2008 encuentran, en el análisis de 43 pacientes diagnosticados de Leucemia Aguda Bifenotípica, que el inmunofenotipo Mieloide-T es un factor pronóstico desfavorable. Nosotros, al igual que la mayoría de la literatura revisada (Zhang et al, 2011; Weinberg et al, 2014; Aribi et al, 2007), no encontramos diferencias significativas en la SG en función del inmunofenotipo, tanto si utilizamos la clasificación EGIL como la WHO. Tampoco vemos diferencia en la SG según el sexo ni en función del cariotipo, a diferencia de algunos autores que encuentran peores supervivencias en pacientes con cariotipos complejos o MLL (Zhang et al, 2011) o en los Ph+ (Matutes et al, 2011: Ph+ 8 meses vs cariotipo normal 139 meses vs otros cariotipos 28 meses).

La edad avanzada es un factor pronóstico de menor supervivencia confirmado en la totalidad de los estudios revisados y mencionados con anterioridad. También en nuestro trabajo se reproducen estos resultados (SG 14,1 meses en <65 años vs 6,7 en mayores).

Otro importante factor pronóstico relacionado con la supervivencia es la respuesta a la inducción (Tian et al, 2016). Los pacientes que obtuvieron RC con el primer ciclo de tratamiento en nuestro estudio alcanzaron supervivencias significativamente más largas que aquellos que fueron refractarios (17,63 meses vs 5,53 meses).

Sin embargo, a pesar de que las tasas de RC fueron superiores en los pacientes tratados con FLAG-IDA y esquemas de LAL, esto no se tradujo en un

aumento de la SG en estos pacientes, posiblemente en relación con la elevada tasa de recaídas tanto pre como post-TPH (Zixing and Shujie, 2014). Varios autores obtienen resultados similares a los nuestros (Heesch et al, 2013; Aribi et al, 2007; Yan et al, 2012), todos con series de pacientes adultos. En otros casos, generalmente si incluyen niños en la población a estudio, la SG es mejor cuando se utilizan esquemas de tratamiento tipo LAL (Matutes et al, 2011).

La realización de un TPH también resulta un factor pronóstico favorable en nuestro estudio. Aquellos pacientes que fueron trasplantados alcanzaron supervivencias significativamente mayores que los que no lo fueron (21,63 vs 5,23 meses). Esto reproduce los resultados de la totalidad de publicaciones, en las que el trasplante se asocia a una mejor SG y SLE, al igual que la edad y la respuesta a la inducción. En el reciente estudio de Munker et al en 2016, no encontraron diferencias en la SG de pacientes trasplantados con MPAL comparados con los pacientes trasplantados con LAM o LAL.

#### **MPAL Ph+**

Aunque el número de pacientes es pequeño, por su trascendencia clínica hemos analizado por separado el subgrupo de pacientes con t(9;22).

A excepción del inmunofenotipo (más frecuente M-B: 78,6%) y el tratamiento de inducción utilizado (más frecuente tipo LAL: 50%), el resto de variables coinciden con las de la muestra total, incluida la SG (11,63 meses).

A diferencia de otras publicaciones, generalmente de la era pre-Imatinib (Killick et al, 1999; Legrand et al, 1998), en nuestro estudio los pacientes Ph+ no parecen tener un peor pronóstico. Esto quizá sea debido al uso de ITK en el 42,9% de los casos.

Aunque parece que hay una mayor tendencia a alcanzar RC entre aquellos pacientes que tomaron ITK, así como una mejor SG, no se alcanza la significación estadística, probablemente por el escaso tamaño muestral (n=9).

La rareza de este subtipo de leucemia (<1% del total de leucemias agudas) dificulta en gran medida su comprensión y la realización de estudios prospectivos necesarios para establecer un tratamiento estándar. Las escasas publicaciones que existen al respecto están compuestas por series muy cortas (Shimizu et al, 2014:

13 pacientes; Bhatia et al, 2012: 4 pacientes Ph+ de un total de 10 MPAL) o casos aislados (Kawajiri et al, 2014).

No obstante, parece lógico extrapolar los resultados obtenidos con las LAL-Ph+ y establecer como tratamiento la administración conjunta de Imatinib y quimioterapia intensiva. Serán necesarios más estudios para decidir cuál es el esquema de inducción más apropiado, así como la indicación de TPH en estos pacientes.

## **6.4 IMPLICACIONES PARA LA INVESTIGACION**

En resumen, parece que nuestros datos son similares en gran medida a los publicados hasta el momento.

La estandarización de las técnicas diagnósticas sigue siendo un objetivo primordial, así como la realización de técnicas de citogenética y biología molecular, puesto que una estrategia de futuro en estos pacientes podrían ser los fármacos dirigidos contra dianas moleculares.

La decisión de qué tratamiento utilizar es uno de los principales problemas a los que nos enfrentamos cuando se diagnostica un paciente de estas características. La elaboración de unas guías de tratamiento sería de utilidad a la hora de tomar dicha decisión y nos permitiría en un futuro poder obtener una muestra homogénea para su análisis.

En nuestro estudio se observa una alta tasa de remisiones con el esquema FLAG-IDA. Puesto que es un tratamiento con una aceptable toxicidad y que puede ser aplicado a pacientes candidatos a trasplante de hasta 65-70 años, consideramos que podría ser una buena opción de tratamiento de primera línea para intentar alcanzar RC y realizar posteriormente un TPH.

Sin embargo, los datos recogidos en este estudio probablemente sean insuficientes para la toma de decisiones. Queda mucho trabajo por hacer y mucha información por recoger. En este sentido sería interesante disponer de un registro a nivel nacional de este tipo específico de leucemia que en un futuro nos permitiera disponer de datos fiables.

El análisis de la Supervivencia Libre de Enfermedad, las tasas de recaída y refractariedad y los tratamientos de rescate utilizados son puntos importantes que no hemos podido recoger debido a las limitaciones mencionadas anteriormente.

Por tanto, confirmamos la necesidad de realizar estudios multicéntricos cooperativos para establecer los tratamientos más adecuados y el papel del TPH, tal y como concluyen la totalidad de las publicaciones que hay hasta el momento.



## **7. CONCLUSIONES**





1. En nuestro estudio, la edad mediana de los pacientes es algo superior a la reportada en otras series de pacientes adultos.

2. En nuestra muestra, el subtipo M-T es similar al M-B si utilizamos la clasificación EGIL pero superior si utilizamos la clasificación WHO.

3. Más de la mitad de los pacientes presentan alguna alteración citogenética, siendo la más frecuente la t(9;22) y los cariotipos complejos.

4. Los esquemas de tratamiento más utilizados fueron los de tipo LAM (50,5%).

5. El 58,9% de los pacientes con tratamiento alcanzaron RC, con una tendencia a una mayor tasa de respuesta en los pacientes menores de 65 años (65,6% vs 45,8%). No se observaron diferencias significativas en la respuesta en función del sexo, inmunofenotipo ni cariotipo.

6. El porcentaje de respuesta fue significativamente mayor en los pacientes tratados con esquemas de LAL (71,4%) y con FLAG-IDA (100%).

7. La mayoría de pacientes que alcanzaron RC en primera línea se realizaron un TPH (81,3%).

8. El tratamiento intensivo, el alcanzar RC tras la inducción y la realización de un TPH se confirman como predictores de mayor supervivencia.

9. Serán necesarios estudios con un mayor tamaño muestral para poder establecer un tratamiento estándar en las MPAL Ph+. Parece que el uso de ITK en estos pacientes mejora el pronóstico de la enfermedad.

10. Los pacientes con MPAL menores de 65 años deberían ser tratados con esquemas de quimioterapia intensivos (probablemente tipo FLAG-IDA) que les permitiera alcanzar RC en primera línea y realizarse un TPH.



## **8. BIBLIOGRAFIA**





- Al-Seraihy, A.S., Owaidah, T.M., Ayas, M., El-Solh, H., Al-Mahr, M., Al-Ahmari, A. & Belgaumi, A.F.* Clinical characteristics and outcome of children with biphenotypic acute leukaemia. *Haematologica*, 2009. 94, 1682–1690.
- Al Ustwani O, Gupta N, Bakhribah H, Griffiths E, Wang E, Wetzler M.* Clinical updates in adult acute lymphoblastic leucemia. *Critical Reviews in Oncology and Hematology*. 2016 Mar;99:189-99
- Atfy, M., Al Azizi, N.M. & Elnaggar, A.M.* Incidence of Philadelphia-chromosome in acute myelogenous leukaemia and biphenotypic acute leukaemia patients: and its role in their outcome. *Leukaemia Research*, 2011; 35, 1339–1344.
- Arber DA, Snyder DS, Fine M, Dagis A, Niland J, Slovak ML.* Myeloperoxidase immunoreactivity in adult acute lymphoblastic leukemia. *American Journal of Clinical Pathology* 2001; 116: 25–33.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, Bloomfield CD, Cazzola M and Vardiman JW.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 127, 2391–2406 (2016).
- Aribi A, Bueso-Ramos C, Estey E, Estrov Z, O'Brien S, Giles F.* Biphenotypic acute leukaemia: a case series. *British Journal of Haematology* 2007;138:213-216.
- de Labarthe A, Rousset P, Huguet-Rigal F.* Imatinib combined with induction or consolidation chemotherapy in patients with de novo Philadelphia chromosomepositive acute lymphoblastic leukemia: results of the GRAAPH-2003 study. *Blood*. 2007; 109(4): 1408-1413.
- Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, Van't Veer MB.* Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995;9:1783- 1786.
- Bennett JM., Catovsky D., Daniel M. T., Landrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C.* Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *British Journal of Haematology* 33 (4): 451-458, agosto de 1976.
- Bhatia P, Binota J, Varma N, Bansal D, Trehan A, Marwaha RK, Malhotra P and Varma S.* A study on the expression of BCR-ABL transcript in mixed phenotype acute leukemia (MPAL) cases using the reverse transcriptase polymerase reaction assay (RT-PCR) and its correlation with hematological remission status post initial induction therapy. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases* 2012, 4(1).
- Burnett AK, Russel NH, Hills RK, Hunter AE, Kjeldsen L, Yin J, Gibson B, Wheatley K, and Milligan D.* Optimization of Chemotherapy for Younger Patients With Acute Myeloid Leukemia: Results of the Medical Research Council AML15 Trial. *Journal of Clinical Oncology*. Volume 31, number 27, september 20 2013.
- Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, Büchner T, Willman CL, Estey EH, Schiffer CA, Doehner H, Tallman MS, Lister TA, Lo-Coco F, Willemze R, Biondi A, Hiddemann W, Larson RA, Löwenberg B, Sanz MA, Head DR, Ohno R, Bloomfield CD.* Revised recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 2003 Dec 15;21(24):4642-9.

*Daver N, Thomas D, Ravandi F, Cortes J, Garris R, Jabbour E, Garcia-Manero G, Borthakur G, Kadia T, Rytting M, Konopleva M, Kantarjian H, and O'Brien S.* 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(5); 653-681.

*Deffis-Court M, Alvarado-Ibarra M, Ruiz-Argüelles GJ, Rosas-López A, Barrera-Lumbreras G, Aguayo-González A, López-Karpovitch X, López-Hernández M, Velázquez-Sánchez de Cima S, Zamora-Ortiz G, Crespo-Solís E.* Diagnosing and treating mixed phenotype acute leukemia: a multicenter 10-year experience in México. *Annals of Hematology* (2014) 93:595–601.

*Dombret H and Gardin C.* An update of current treatments for adult acute myeloid leukemia. *Blood*, January 2016. Vol 127, number 1.

*Domínguez Senín L, Rodríguez Rodríguez JN, Garrido Martínez MT, Sánchez Argáiz M y Martín Chacón E.* Efectividad y seguridad del régimen FLAG-IDA en leucemias agudas resistentes o recidivantes. *Farmacia Hospitalaria*. 2012;36(4):261-267

*Fielding AK, Rowe JM, Buck G, Foroni L, Gerrad G, Litzow MR, Lazarus H, Luger SM, Marks DI, McMillan AK, Moorman AV, Patel B, Paietta E, Tallman MS, Goldstone AH.* UKALLXII/ECOG2993: addition of imatinib to a standard treatment regimen enhances long-term outcomes in Philadelphia positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2014;123(6):843-850.

*Foà R, Vitale A, Vignetti M, Meloni G, Guarini A, De Propriis MS, Elia L, Paoloni F, Fazi P, Cimino G, Nobile F, Ferrara F, Castagnola C, Sica S, Leoni P, Zuffa E, Fozza C, Luppi M, Candoni A, Iacobucci I, Soverini S, Mandelli F, Martinelli G, Baccarani M; GIMEMA Acute Leukemia Working Party.* Dasatinib as first-line treatment for adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2011;118(25):6521-8.

*Giebel S, Labopin M, Gorin NC, Caillot D, Leguay T, Schaap N.* Autologous HSCT for Ph-Positive Adult Acute Lymphoblastic Leukemia: A Curative Option in the Era of Tyrosine Kinase Inhibitors? an Analysis From the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2012;120(21):233-.

*Guolo F, Minetto P, Clavio M, Miglino M, Di Grazia C, Ballerini F, Pastori G, Guardo D, Colombo N, Kunkl A, Fugazza G, Rebesco B, Sessarego M, Lemoli RM, Bacigalupo A, Gobbi M.* High feasibility and antileukemic efficacy of fludarabine, cytarabine, and idarubicin (FLAI) induction followed by risk-oriented consolidation: A critical review of a 10-year, single-center experience in younger, non M3 AML patients. *American Journal of Hematology*. 2016 Aug;91(8):755-62

*Hashimoto M, Yamashita Y, Mori N.* Immunohistochemical detection of CD79a expression in precursor T cell lymphoblastic lymphoma/leukemias. *Journal Pathology* 2002; 197: 341–347.

*Haixia Tong H, Liu Z, Lu C and Wang Q.* Clinical and laboratory features of adult biphenotypic acute leukemia. *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology* 2012.

*Heesch S, Neumann M, Schwartz S, Bartram I, Schlee C, Burmeister T, Hänel M, Ganser A, Heuser M, Wendtner CM, Berdel WE, Gökbuget N, Hoelzer D, Hofmann WK, Thiel E, Baldus CD.* Acute leukemias of ambiguous lineage in adults: molecular and clinical characterization. *Annals of Hematology* 2013;92:747-758.

INE 2016. Población Española (Revisado enero 2017). Disponible en:  
[http://www.ine.es/inebaseDYN/cp30321/cp\\_inicio.htm](http://www.ine.es/inebaseDYN/cp30321/cp_inicio.htm). Acceso el 17/12/16

*Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW.* World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC Press; Lyon, France; 2001.

*Kalina T, Flores-Montero J, van der Velden VH, Martin-Ayuso M, Böttcher S, Ritgen M, Almeida J, Lhermitte L, Asnafi V, Mendonça A, de Tute R, Cullen M, Sedek L, Vidriales MB, Pérez JJ, te Marvelde JG, Mejstrikova E, Hrusak O, Szczepański T, van Dongen JJ, Orfao A.* EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. *Leukemia*, 2012 Sep;26(9):1986-2010

*Kawajiri C, Tanaka H, Hashimoto S, Takeda Y, Sakai S, Takagi T, Takeuchi M, Ohwada C, Sakaida E, Shimizu N, Nakaseko C.* Successful treatment of Philadelphia chromosome-positive mixed phenotype acute leukemia by appropriate alternation of second-generation tyrosine kinase inhibitors according to BCR-ABL1 mutation status. *Internal Journal of Hematology* (2014) 99: 513-518.

*Killick S, Matutes E, Powles RL, Hamblin M, Swansbury J, Treleaven JG, Zomas A, Atrá A, Catovsky D.* Outcome of biphenotypic acute leukemia. *Haematologica* 1999;84:699-706.

*Lanham GR, Bollum FJ, Williams DL, Stass SA.* Simultaneous occurrence of terminal deoxynucleotidyl transferase and myeloperoxidase in individual leukemia blasts. *Blood* 1984;64(1):318-20.

*Lee J-H, Yoo Hong Min, Chung CW, Kim BK, Yoon HJ, Jo DY, Shin HJ, Bang SM, Won JH, Zang DY, Kim HJ, Chi HS, Lee KH, Cheong JW, Kim JS, Kim SH, Park SY, Chung JS, Lee JH, Park CJ; THE KOREAN SOCIETY OF HEMATOLOGY AML/MDS WORKING PARTY.* Prognostic implications of the immunophenotype in biphenotypic acute Leukemia. *Leukemia & Lymphoma*, April 2008; 49(4): 700 - 709

*Legrand, O., Perrot, J.Y., Simonin, G., Baudard, M., Cadiou, M., Blanc, C., Ramond, S., Vigui\_e, F., Marie, J.P. & Zittoun, R.* Adult biphenotypic acute leukaemia: an entity with poor prognosis which is related to unfavourable cytogenetics and P-glycoprotein over-expression. *British Journal of Haematology*, 1998. 100, 147-155.

*Lingzhi Yan, Nana Ping, Mingqing Zhu, Aining Sun, Yongquan Xue, Changgeng Ruan, Hans G. Drexler, Roderick A. F. MacLeod, Depei Wu and Suning Chen.* Clinical, immunophenotypic, cytogenetic, and molecular genetic features in 117 adult patients with mixed-phenotype acute leukemia defined by WHO-2008 classification. *Haematologica* 2012; 97(11)

*Maha Atfy, Nashwa M.A. Al Azizi, Amina M. Elnaggar.* Incidence of Philadelphia-chromosome in acute myelogenous leukemia and biphenotypic acute leukemia patients: And its role in their outcome. *Leukemia Research* 35 (2011) 1339- 1344

*Malagola M, Papayannidis C, Baccarani M.* Tyrosine kinase inhibitors in Ph+ acute lymphoblastic leukaemia: facts and perspectives. *Annals of Hematology*. 2016 Apr;95(5):681-93.

*Manola KN.* Cytogenetic abnormalities in acute leukaemia of ambiguous lineage: an overview. *British Journal of Haematology*, 2013, 163, 24-39

*Matutes E, Winfried FP, van't Veer M, Morilla R, Swansbury J, Strobl H, Attarbaschi A, Hopfinger G, Ashley S, Bene MC, Porwit A, Orfao A, Lemez P, Schabath R and Ludwig WD.* Mixed-phenotype acute leukemia: clinical and laboratory features and outcome in 100 patients defined according to the WHO 2008 classification. *Blood*, 17 March 2011 Vol. 117, number 11.

*McCaffrey R, Smoler DF, Baltimore D.* Terminal deoxynucleotidyl transferase in a case of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1973;70(2):521-5.

*Medinger M, Lengerke C, and Passweg J.* Novel Prognostic and therapeutic mutations in acute myeloid leukemias. *Cancer Genomics & Proteomics* 13: 317-330 (2016).

*Mikulic M, Batinic D, Sucic M, Davidovic-Mrsic S, Dubravcic K, Nemet D, Serventi-Seiwerth R, Sertic D, Labar B.* Biological features and outcome of biphenotypic acute leukemia: a case series. *Hematology Oncology Stem Cell Therapy*. 2008 Oct-Dec;1(4):225-30.

*Mirro J, Zipf TF, Pui CH, Kitchingman G, Williams D, Melvin S, Murphy SB, Stass S.* Acute mixed lineage leukemia: clinicopathologic correlations and prognostic significance. *Blood* 1985;66:1115- 1123.

*Montesinos P, Martínez-Cuadrón D, Lavilla E.* Tratamiento con quimioterapia intensiva (2+5) o semi-intensiva (FLUGA) en pacientes de 65 a 69 años con leukemia mieloblástica aguda. Comunicación oral. LV congreso nacional de la SEHH. Sevilla, Octubre 2013.

*Munker R, Brazauskas R, Wang HL, de Lima M, Khoury HJ, Gale RP, Maziarz RT, Sandmaier BM, Weisdorf D, Saber W.* Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Patients with Mixed Phenotype Acute Leukemia. *Biology of Blood Marrow Transplant*. 2016 Jun;22(6):1024-9.

*Oken, M.M., Creech, R.H., Tormey, D.C., Horton, J., Davis, T.E., McFadden, E.T., Carbone, P.P.* Toxicity And Response Criteria Of The Eastern Cooperative Oncology Group. *American Journal of Clinical Oncology* 5:649-655, 1982.

*Ortuño F.J y Orfao A.* Aplicación de la citometría de flujo al diagnóstico y seguimiento inmunofenotípico de las leucemias agudas. *Medicina Clinica (Barc)* 2002;118(11):423-36

*Owaidah TM, Beihany A, Iqbal MA, Elkum N and Roberts GT.* Cytogenetics, molecular and ultrastructural characteristics of biphenotypic acute leukemia identified by the EGIL scoring system. *Leukemia* (2006) 20, 620-626.

*Park, J.A., Ghim, T.T., Bae, K.w., Im, H.J., Jang, S.S., Park, C.J., Chi, H.S. & Seo, J.J.* Stem cell transplant in the treatment of childhood biphenotypic acute leukaemia. *Paediatric Blood & Cancer*, 2009. 53, 444-452.

*D. Pastore, G. Specchia, P. Carluccio, A. Liso, A. Mestice, R. Rizzi, G. Greco, C. Buquicchio, V. Liso.* FLAG-IDA in the treatment of refractory/relapsed acute myeloid leukemia: single-center experience. *Annals of Hematology* (2003) 82:231-235

*Pomerantz A, Rodriguez-Rodriguez S, Demichelis-Gomez R, Barrera-Lumbreras G, Barrales-Benitez O, Lopez-Karpovitch X, Aguayo-Gonzalez A.* Mixed-phenotype acute leukemia: suboptimal treatment when the 2008/2016 WHO classification is used. *Blood Research*. 2016 Dec;51(4):233-241.

Ravandi F, O'Brien S, Thomas D, Faderl S, Jones D, Garris R, Dara S, Jorgensen J, Kebriaei P, Champlin R, Borthakur G, Burger J, Ferrajoli A, Garcia-Manero G, Wierda W, Cortes J, Kantarjian H. First report of phase 2 study of dasatinib with hyper-CVAD for the frontline treatment of patients with Philadelphia chromosome-positive (Ph+) acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2010;116(12):2070-7.

Rubnitz JE, Onciu M, Pounds S, Shurtieff S, Cao X, Raimondi SC, Behm FG, Campana D, Razzouk BI, Ribeiro RC, Downing JR, Pui CH. Acute mixed lineage leukemia in children: the experience of St Jude Children's Research Hospital. *Blood* 2009;113(21):5083-9.

Schlenk R.F. Is there justification for 4 cycles of consolidation therapy in AML?. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 29 (2016) 341-344.

Sasaki K, Jabbour EJ, Ravandi F, Short NJ, Thomas DA, Garcia-Manero G, Daver NG, Kadia TM, Konopleva MY, Jain N, Issa GC, Jeanis V, Moore HG, Garris RS, Pemmaraju N, Cortes JE, O'Brien SM, Kantarjian HM. Hyper-CVAD plus ponatinib versus hyper-CVAD plus dasatinib as frontline therapy for patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: A propensity score analysis. *Cancer*. 2016 Dec 1;122(23):3650-3656.

Shi R, Munker R. Survival of patients with mixed phenotype acute leukemias: A large population-based study. *Leukemia Research* 39 (2015) 606-616

Shimizu H, Yokohama A, Hatsumi N, Takada S, Handa H, Sakura T, Nojima Y. Philadelphia chromosome-positive mixed phenotype acute leukemia in the imatinib era. *European Journal of Haematology* 93 (297-301).

Shimizu H, Saitoh T, Machida S, Kako S, Doki N, Mori T, Sakura T, Kanda Y, Kanamori H, Miyawaki S and Okamoto S. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult patients with mixed phenotype acute leukemia: results of a matched-pair analysis. *European Journal of Haematology*. 2015 Nov;95(5):455-60

Solé, F. Aportación de la citogenética al estudio de las neoplasias hematológicas. *Revista de la Real Acadèmia de Medicina de Barcelona*. 1991. Vol. 6 Num. 3: 85-94

Specchia G, Pastore D, Carluccio P, Liso A, Mestice A, Rizzi R, Ciuffreda L, Pietrantuono G, Liso V. FLAG-IDA in the treatment of refractory/relapsed adult acute lymphoblastic leukemia. *Annals of Hematology* (2005) 84: 792-795.

Steensma D, MD Oddballs: Acute Leukemias of Mixed Phenotype and Ambiguous Origin. *Hematology Oncology Clinics of North America* 25 (2011) 1235-1253

Tian H, Xua Y, Liua L, Yana L, Jina Z, Tanga X, Hana Y, Fua Z, Qiu H, Suna A, Wua D. Comparison of outcomes in mixed phenotype acute leukemia patients treated with chemotherapy and stem cell transplantation versus chemotherapy alone. *Leukemia Research* 45 (2016) 40-46.

Van den Ancker W, Terwijn M, Westers TM, Merle PA, van Beckhoven E, Dräger AM, Ossenkoppele GJ and van de Loosdrecht AA. Acute leukemias of ambiguous lineage: diagnostic consequences of the WO2008 classification. *Leukemia* (2010) 24, 1392-1396

Van Dongen JJM, Lhermitte L, Bottcher S, Almeida J, van der Velden VHJ, Flores-Montero J,

Rawstron A, Asnafi V, Le´ crevisse Q, Lucio P, Mejstrikova E, Szczepanski T, Kalina T, de Tute R, Bruggemann M, Sedek L, Cullen M, Langerak AW, Mendonca A, MacIntyre E, Martin-Ayuso M, Hrusak O, Vidriales MB and Orfao A. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia* (2012) 26, 1908–1975

Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, Lee Harris N, Le Beau MM, Hellstrom-Lindberg E, Tefferi A, and Bloomfield CD. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*, 30 July 2009, Vol 114 Number 5.

Wang SJ, Wang X, Ge CW, Zhu TN, Zhou DB, Zhang W. Analysis of twelve patients with hybrid acute leukemia. *Journal of Leukemia and Lymphoma (Chin)* 2005;14:201-204.

Wang, Y., Gu, M., Mi, Y., Qiu, L., Bian, S. & Wang, J. Clinical characteristics and outcomes of mixed phenotype acute leukaemia with Philadelphia chromosome positive and/or bcrabl positive in adult. *International Journal of Hematology*, 2011. 94, 552–555.

Weinberg OK and Arber DA. Mixed-phenotype acute leukemia: historical overview and a new definition. *Leukemia* (2010) 24, 1844–1851

Weinberg OK, Seetharam, M, Ren L, Alizadeh A, and Arber DA Mixed Phenotype Acute Leukemia A Study of 61 Cases Using World Health Organization and European Group for the Immunological Classification of Leukaemias Criteria. *American Journal of Clinical Pathology* December 2014; 142:803-808

Wetzler M, Watson D, Stock W, Koval G, Mulkey FA, Hoke EE, McCarty JM, Blum WG, Powell BL, Marcucci G, Bloomfield CD, Linker CA, and A. Larson RA. Autologous transplantation for Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia achieves outcomes similar to allogeneic transplantation: results of CALGB Study 10001 (Alliance). *Haematologica* 2014; 99(1): 111-115.

Wolach O. and Stone R.M. How I treat mixed-phenotype acute leukemia. *Blood*, 16 april 2015. Vol. 125, Lumber 16.

Xu XQ, Wang JM, Lü SQ, Chen L, Yang JM, Zhang WP, Song XM, Hou J, Ni X, Qiu HY. Clinical and biological characteristics of adult biphenotypic acute leukemia in comparison with that of acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia: a case series of a Chinese population. *Haematologica* 2009;94(7):919–27.

Zhang Y , Wu D, Sun A, Qiu H, He G, Jin Z, Tang X, Miao M, Fu Z, Han Y. Clinical Characteristics, Biological Profile, and Outcome of Biphenotypic Acute Leukemia: A Case Series. *Acta Haematologica* 2011;125:210–218

Zixing Y and Shujie W. Mixed phenotype acute leukemia. *Chinese Medical Journal* 2014;127 (16)

INE 2016. Población Española (Revisado enero 2017). Disponible en: [http://www.ine.es/inebaseDYN/cp30321/cp\\_inicio.htm](http://www.ine.es/inebaseDYN/cp30321/cp_inicio.htm). Acceso el 17/12/16