

PETHEMA

**PROGRAMA ESPAÑOL PARA EL TRATAMIENTO DE LAS
HEMOPATIAS MALIGNAS**

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE HEMATOLOGIA Y HEMOTERAPIA

**PROTOCOLO PARA EL TRATAMIENTO DE LA
LEUCEMIA AGUDA LINFOBLASTICA DE ALTO RIESGO
BCR/ABL NEGATIVA EN ADULTOS**

CODIGO DEL PROTOCOLO: LAL-AR/2011

Versión del protocolo 12/02/2015

INDICE

1. Introducción
2. Objetivos
3. Criterios de inclusión
4. Criterios de exclusión
5. Pruebas iniciales
 - 5.1. Obligatorias
 - 5.2. Opcionales
6. Definiciones empleadas en el estudio
7. Diseño del estudio y tratamiento
 - 7.1. Normas generales
 - 7.2. Prefase
 - 7.3. Quimioterapia de inducción-1
 - 7.4. Evaluación al final de la inducción-1
 - 7.5. Quimioterapia de inducción-2
 - 7.6. Evaluación al final de la inducción-2
 - 7.7. Tratamiento de consolidación
 - 7.8. Evaluación al final de la consolidación
 - 7.9. Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos
 - 7.10. Tratamiento de consolidación tardía con mantenimiento + reinducciones
 - 7.11. Seguimiento de los pacientes
 - 7.12. Manejo de fármacos
 - 7.13. Tratamientos de soporte
8. Estudio de la enfermedad residual
9. Consideraciones estadísticas
10. Duración estimada del reclutamiento
11. Bibliografía
12. Anexos
13. Cuaderno de recogida de datos

1. INTRODUCCION

En la última década se han efectuado algunos avances en el tratamiento de la LAL del adulto que han determinado un incremento moderado en la probabilidad de supervivencia¹. Entre ellos cabe destacar: 1. La aplicación de pautas de quimioterapia de base pediátrica en el tratamiento de los adolescentes y adultos jóvenes con LAL de riesgo estándar (RE). 2. La asociación de inhibidores de tirosínasa de *ABL* a las pautas de quimioterapia seguida de trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) en el tratamiento de la LAL con cromosoma Filadelfia (LAL Ph+). 3. La administración de inmunoterapia específica para el tratamiento de la LAL B madura. 4. El reconocimiento de la importancia pronóstica de la enfermedad residual (ER) y su empleo creciente en la toma de decisiones terapéuticas, y 5. La utilización de algunos fármacos que han añadido mayor eficacia o menor toxicidad (sobre todo PEG-asparaginasa, anticuerpos monoclonales y análogos de nucleósidos).

En el grupo PETHEMA (Programa Español de Tratamiento en Hematología) se dispone de protocolos específicos de tratamiento para la LAL de RE en adolescentes y adultos jóvenes (LAL-RI-08), la LAL Ph+ (LAL-Ph-08 y LALOPh, para pacientes jóvenes y de edad avanzada, respectivamente) y para la LAL de línea B madura (BURKIMAB) y se ha cerrado el reclutamiento de pacientes para el protocolo para adultos con LAL de alto riesgo sin cromosoma Filadelfia (Ph-) (LAL-AR-03).

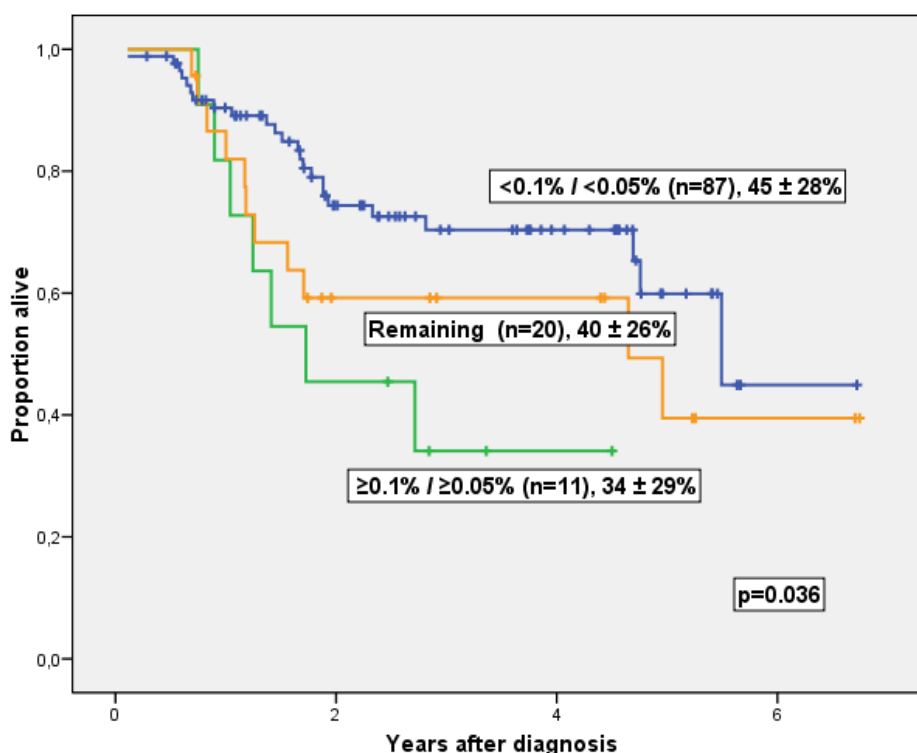
Del análisis del protocolo LAL-AR-03² cabe considerar lo siguiente:

1. El aumento de dosis de daunorubicina en inducción y la intensificación de la quimioterapia de inducción en los pacientes con respuesta lenta ha determinado tan sólo un incremento moderado de la tasa de remisiones completas (RC) (de 82% del protocolo LAL-93 a 86% en el protocolo LAL-AR-03).

2. La mortalidad en la fase de consolidación se ha incrementado notablemente en el protocolo LAL-AR-03 con respecto al LAL-93, sin que haya habido modificación en la pauta de quimioterapia. Ello podría ser consecuencia del empleo de tratamiento de inducción más intensivo en el protocolo LAL-AR-03.

3. El estudio de la ER por citofluorimetría ha sido factible en una buena proporción de casos (aunque ha habido descuidos en su realización en algunos casos) y ha tenido un significado pronóstico independiente de la edad y de la cifra de leucocitos. Sin embargo, el hecho que no se haya determinado de forma centralizada limita en parte su validez científica.

4. El no efectuar un TPH alogénico (alo-TPH) a los pacientes con buen aclaramiento de la ER (<0,05% al final de la consolidación) no parece haber tenido efecto negativo en su probabilidad de supervivencia (64% a 4 años)(figura 1). Resultados similares se han observado en un protocolo del NILG (Grupo Italiano del Norte)³, en el que, igualmente, no se efectuó alo-TPH a los pacientes con respuesta molecular completa después de la consolidación, si bien el citado grupo, a diferencia del protocolo LAL-AR-03, incluyó tanto a pacientes con LAL de riesgo estándar como de alto riesgo.



Entre los fármacos que se están empleando en los modernos tratamientos de la LAL del adulto cabe citar la L-asparaginasa conjugada con polietilenglicol (PEG-ASP)⁴, el anticuerpo monoclonal anti CD20 rituximab (que parece asociarse a mayor supervivencia en los adultos jóvenes con LAL de línea B CD20+ en algún estudio reciente)⁵, otros anticuerpos monoclonales pan B (anti CD19, anti CD22, biespecíficos o no) o activos tanto frente a LAL T como frente a la LAL B (anti CD52), así como otros fármacos como los análogos de los nucleósidos (clofarabina y nelarabina). La PEG-ASP se está empleando cada vez con más frecuencia en protocolos asistenciales de grupos cooperativos europeos⁴ y norteamericanos⁶, y la posible eficacia del rituximab no se ha demostrado en estudios controlados, aunque parece ser más activo en la LAL de riesgo estándar que en la de riesgo elevado⁷. El resto de fármacos se halla en fase de investigación dentro de ensayos clínicos.

Cada vez es más evidente que la ER juega un papel en la toma de decisiones terapéuticas en los pacientes adultos con LAL. Los resultados de los grupos francés (GRALL), alemán (GMALL)⁸ e italiano del norte (NILG)³, además de los del protocolo LAL-AR-03², han demostrado que los pacientes con un bajo nivel de ER al final de la inducción y/o al final de la consolidación tienen una mayor probabilidad de conseguir RC prolongadas, incluso sin necesidad de efectuar alo-TPH. En el momento actual, los protocolos tienden a incorporar la ER a la toma de decisiones terapéuticas, en el sentido de restringir este procedimiento terapéutico a los pacientes tanto de riesgo estándar⁸, como a los de alto riesgo con aclaramiento adecuado de la ER³. En los últimos años se ha estandarizado el nivel de ER necesario para definir la respuesta molecular, que se sitúa en $<0,01\%$ ($<10^{-4}$)⁹.

Por otra parte, la evaluación de la ER en la LAL puede efectuarse mediante biología molecular (análisis de los reordenamientos de las Ig o del receptor T) o citofluorometría⁹. Esta última técnica es la que se ha efectuado tradicionalmente en los estudios del grupo PETHEMA. Aunque va teniendo una creciente estandarización, para su aplicación a las decisiones terapéuticas es preciso que se determine centralizadamente, en laboratorios con un alto grado de estandarización y mediante aplicación de las normas de consenso, como las de Euroflow.

Por último, parece claro que los pacientes que no han entrado en RC o tienen una respuesta molecular inadecuada tras el tratamiento de inducción deben recibir un tratamiento más intensivo (o diferente) que el resto de pacientes con LAL de alto riesgo y, de persistir un nivel de ER inadecuado, deberían recibir un alo-TPH precoz, o, alternativamente, deberían incluirse en ensayos clínicos. No se conoce cuál es el tipo de tratamiento de “rescate” que han de recibir estos pacientes. En un análisis retrospectivo de los pacientes adultos que han recaído en los protocolos de PETHEMA se ha observado que la pauta FLAG-Ida era la que comportaba una mayor tasa de segundas RC con respecto a otros tratamientos como Hiper-CVAD o la administración del mismo tratamiento de inducción¹². Otros grupos también han mostrado resultados esperanzadores con esta pauta¹³. Por ello, parece razonable aplicar esta pauta a los pacientes que no obtienen la RC con la quimioterapia de inducción convencional o tienen un nivel inadecuado de ER tras la misma.

En consecuencia, los **elementos diferenciales del nuevo protocolo LAL-AR-2011** respecto al LAL-AR-03 son:

1. Cambios en el tratamiento de inducción:
 - a. Reducción de la dosis de daunorubicina, ya que estudios recientes han demostrado que el empleo de altas dosis de

antraciclinas no ha comportado mayor tasa de respuestas o mayor duración de las mismas.^{14,15}

- b. Sustitución de la respuesta citológica pobre al día 14 por el nivel de ER al final de la inducción como criterio para decidir el tratamiento ulterior (consolidación o segunda inducción), para disponer así de un único criterio (la ER) a lo largo del estudio para la toma de decisiones.
2. Reducción de los fármacos no esenciales de los bloques de consolidación, para tratar de reducir la toxicidad durante la misma, Asimismo, aumentar la dosis de metotrexato (de 3 a 5 g/m²) en los pacientes con LAL-T, dado que existen evidencias recientes de una mayor tasa de respuesta con esta estrategia.¹⁶
3. Realización de un alo-TPH temprano (tras un ciclo de consolidación) para los pacientes con nivel inadecuado de ER tras dos ciclos de inducción o en aquellos pacientes que han precisado dos ciclos de inducción y han conseguido un ER adecuada tras el segundo.
4. Realización de los estudios de ER mediante citofluorometría de forma centralizada siguiendo las normas de consenso de Euroflow , para evitar los sesgos en la toma de decisiones terapéuticas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general.

Mejorar los resultados globales del protocolo LAL-AR-03 introduciendo modificaciones

a) en la metodología de estudio de la ER: centralizada, con protocolos Biomed y con el nivel de corte (<0,01%) aceptado internacionalmente

b) en el tratamiento de inducción y consolidación, sin modificar el diseño general.

2.2. Objetivos concretos

1. Evaluar si la centralización y estandarización del estudio de enfermedad mínima residual (EMR) permite identificar de forma más precisa los pacientes con un aclaramiento adecuado de enfermedad (60-70%) y si esto tiene un impacto en la supervivencia de esta fracción (60% a 5 años en el protocolo LAL03AR). Evaluar si la proporción de pacientes con aclaramiento de EMR es distinta en las LAL de precursores B y las LAL-T.
2. Evaluar si la reducción de daunorubicina en inducción y los cambios en los fármacos en consolidación reducen la mortalidad de causa tóxica en pacientes en remisión completa (15% en el protocolo LALAR03).
3. Evaluar la proporción de pacientes no respondedores o respondedores lentos rescatables con una segunda inducción (inducción-2) con FLAG-IDA.
4. Evaluar los resultados en términos de supervivencia del TPH alogénico precoz en los pacientes que han precisado dos tratamientos de inducción respecto a los resultados del alo-TPH en el protocolo anterior (35% de SG a los dos años).

3. CRITERIOS DE INCLUSION

- LAL *de novo* con criterios de alto riesgo (ver más adelante).
- Edad de 15-55 años (los pacientes de 55-60 años se incluirán a criterio del equipo médico que les atienda)
- No tratamiento previo, excepto
 - Leucaféresis de urgencia
 - Tratamiento urgente de hiperleucocitosis con hidroxiurea
 - Irradiación craneal urgente (una dosis) por leucostasis del SNC
 - Irradiación urgente del mediastino por síndrome de vena cava superior
- Estado general adecuado (escala de ECOG 0-2), o >2 si es debido a LAL
- Prueba de embarazo negativa para mujeres en edad fértil
- Consentimiento informado por escrito ya que, aunque el protocolo no contempla el empleo de fármacos en fase de investigación, existe envío de muestras biológicas de los mismos.

Definición de LAL de alto riesgo

Presencia de **uno o más** de los siguientes factores:

- Edad 30-55 años. Los pacientes de 55-60 años se incluirán a criterio del equipo médico que les atienda.
- Leucocitos $> 30 \times 10^9/L$ en LAL de precursores B
- Alguna de las siguientes alteraciones citogenéticas o moleculares:
 - o Alteraciones en 11q23, o demostración del reordenamiento *MLL*.
 - o Cariotipo complejo (más de 5 alteraciones cromosómicas)
- LAL Pro-B
- LAL Pro-T/Pre-T o T madura con cualquier cifra de leucocitos
- LAL-T tímica cortical y leucocitos $> 100 \times 10^9/L$

Notas importantes

1. Nótese que se han cambiado ligeramente los criterios de inclusión, para adaptarlos a los aceptados internacionalmente¹⁷
2. Pueden incluirse en este protocolo pacientes adultos con LAL inicialmente de riesgo estándar (tratados con el protocolo LAL-RI-08) con respuesta lenta al tratamiento o mal aclaramiento de ER (ver protocolo LAL-RI-08). **Los pacientes tratados con el protocolo LAL-RI-08 que presenten respuesta lenta a la inducción se incorporarán a este protocolo y recibirán la inducción-2.** Estos pacientes se analizarán por separado.
3. Los pacientes en los que el estudio de ERM al final de la inducción no sea valorable por la razón que sea (p.ej: fenotipo no informativo, motivos técnicos, etc.) se asignarán al grupo de riesgo que les corresponda en función de sus características iniciales y la respuesta medular al día 14, ya que en el protocolo LAL-AR-03 esta determinación guardó buena correlación con el nivel de ER al final de la inducción.

4. CRITERIOS DE EXCLUSION

Cualquiera de los siguientes:

1. LAL tipo L3 o con fenotipo B maduro (slg+) o con las alteraciones citogenéticas características de la LAL-B madura (t(8;14), t(2;8), t(8;22)). Para estos pacientes se dispone del protocolo **BURKIMAB**.
2. LAL Ph (*BCR-ABL*) positiva. Para estos pacientes se dispone del protocolo **LAL-Ph-08** (si son menores de 55 años) o del **LALOPh** (si son mayores de 55 años).
3. Crisis blástica linfóide de la leucemia mieloide crónica.
4. Leucemias agudas bifenotípicas o bilineales según los criterios del grupo EGIL (ver tabla).
5. Leucemias agudas indiferenciadas.
6. Pacientes con antecedentes de enfermedad coronaria, valvular o cardiopatía hipertensiva, que contraindiquen el empleo de antraciclínicos.
7. Pacientes con hepatopatía crónica en fase de actividad.
8. Enfermos con insuficiencia respiratoria crónica grave.

9. Insuficiencia renal no debida a la LAL.
10. Trastornos neurológicos graves, no debidos a la LAL.
11. Antecedentes de pancreatitis.
12. Embarazo o lactancia materna.
13. Enfermedad psiquiátrica o mental que impidan otorgar el consentimiento informado para el envío de muestras o seguir adecuadamente el estudio.
14. Estado general afectado (grados 3 y 4 de la escala de ECOG)(ver más adelante), no atribuible a la LAL.

5. PRUEBAS INICIALES

5.1.Obligatorias

- Anamnesis y exploración física completa.
- Evaluación del estado general (escala de la OMS)
 - Grado 0: actividad normal
 - Grado 1: sintomático pero ambulatorio
 - Grado 2: encamado < 50% del tiempo
 - Grado 3: encamado > 50% del tiempo
 - Grado 4: encamado de forma permanente
- Hemograma completo.
- Estudio básico de la coagulación (plaquetas, actividad de protrombina, TTP, fibrinógeno y PDF o dímeros de fibrina).
- Bioquímica sérica, con pruebas de la función hepática y renal, ionograma, glucemia, uricemia, proteinograma y LDH.
- Serologías frente a VHB, VHC y VIH.
- Radiografía de tórax.
- ECG.
- Fracción de eyección del ventrículo izquierdo mediante ecocardiograma o ventriculografía isotópica a los pacientes de más de 50 años o los que tengan antecedente de cardiopatía.
- **Aspirado medular**, con tinción de May-Grünwald-Giemsa y, a criterio de cada centro, las siguientes reacciones citoquímicas: peroxidasa (o negro Sudán), PAS y fosfatasa ácida.
- Biopsia de medula ósea en caso de aspirado "seco". Se recomienda efectuar improntas con estudio morfológico y por FISH si es posible.
- **Estudio inmunofenotípico** de m.o (preferentemente) o s.p., con los siguientes marcadores:
 - Línea B: CD19, CD20, CD22, CD79a citoplasmático, CD38, cadenas μ intracitoplásmicas y slg.
 - Línea T: CD3 citoplasmático (cCD3), CD3 de superficie (sCD3), CD7, CD2, CD5, CD1a y CD4/CD8.
 - Otros: CD10, TdT, HLA-Dr, CD 34, CD45.
 - Línea mieloide: CD13, CD14, CD15, CD33 y anti-mieloperoxidasa.
- **Citogenética**: se aconseja cultivo corto de 24 horas y análisis según las normas internacionales ISCN 1995. El apartado de recogida de datos citogenéticos será rellenado por el citogenetista responsable o laboratorio que ha realizado la técnica (**Anexo 2**). Se enviará esta información para su análisis centralizado a la Dra I Granada (ICO-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol) y al Dr

Jesús M^a Hernandez-Rivas (Hospital Clínico Universitario. Salamanca)

- Examen citológico del líquido cefalorraquídeo tras citocentrifugación.
 - **Biología molecular o FISH**
 - Reordenamiento *BCR-ABL* en los enfermos con LAL de línea B,
 - Reordenamiento *MLL (ALL1/AF4)* en las LAL con marcadores mieloides y en las alteraciones de 11q23.
 - **Biobanco:** guardar células criopreservadas, DNA y RNA. Disponer de muestras guardadas podría ser de gran utilidad de cara a incluir a los pacientes en futuros ensayos clínicos o en estudios de investigación. A tal fin el material sobrante de los estudios centralizados de la ER se guardará en el Banco Nacional de ADN de Salamanca (ver más adelante)
-
- **5.2. Opcionales**
 - TC craneal.
 - Radiografía seriada esquelética.
 - Ecografía y/o TC torácica y abdominal.
 - Examen del fondo de ojo.
 - Estudio ultraestructural.
 - Determinación del índice mitótico (citometría de flujo).
 - Estudio de los reordenamientos de los genes que codifican la síntesis de cadenas pesadas y ligeras de Ig o del receptor T (TCR).
 - Otros estudios genéticos, a criterio del investigador local.

6 . DEFINICIONES EMPLEADAS EN EL ESTUDIO

6.1.LAL. Presencia de >20% de linfoblastos en la medula ósea (OMS).

6.2. Variedades inmunológicas de LAL

Leucemias linfoblásticas de línea B

	cCD22	CD19	CD79a	CD34	CD10	TdT	sCD22	CD20	CD38	CD45	Cμ	Slg
Pro-B	+	±	+	+	-	+	±	-	++	±	-	-
Común	+	+	+	±	++	+	+	±	+	±	-	-
Pre-B	+	+	+	-	+	+	+	+	±	+	+	- / ±
B madura	+	±	+	-	±	±	±	+	±	+	-	+

Leucemias linfoblásticas de línea T.

	citCD3	sCD3	CD7	CD1a	TdT	CD2	CD5	CD4/CD8
Pro-T	+	-	+	-	+ 0 ±	-	-	-/-
Pre-T	+	±	+	-	+ 0 ±	+	+	-/- 0 +/+
Tímica cortical	+	+	+	+	±	+	+	± / ±
Tímica madura	+	+	+	-	± 0 -	+	+	+/- 0 -/+

LAL con marcadores mieloides.

Aquellas que expresen marcadores mieloides y no sean bifenotípicas según los criterios del grupo EGIL.

PUNTUACION	LINEA B	LINEA T	LINEA MIELOIDE
2	CD79a	CitCD3/CD3s	Anti-MPO
	cit IgM	anti-TcR α/β	
	cit CD22	anti TcR γ/δ	
1	CD19	CD2	CD117
	CD10	CD5	CD13
	CD20	CD8	CD33
		CD10	CD65
0,5	TdT	TdT	CD14
	CD24	CD7	CD15
		CD1a	CD64

Puntuación ≥ 2 para asignación de cada línea (mieloide, linfoide B o linfoide T).

NOTA: se considerará un marcador como positivo cuando se detecte en superficie en $> 20\%$ de los blastos y en citoplasma en $> 10\%$.

6.3. Infiltración del SNC.

- Más de 5 células/ μL y demostración inequívoca de blastos por morfología (se recomienda examen tras citocentrifugación), ó
- Demostración de infiltración leucémica en el SNC o neuroeje mediante TC o RM, ó
- Presencia de manifestaciones clínicas inequívocas, no explicables por otras causas (p.ej.: parálisis de pares craneales).

Nota: Para el presente estudio la demostración de enfermedad oculta en el LCR mediante citofluorometría o PCR no se considera afección del SNC.

Definiciones estandarizadas de infiltración del SNC

- **SNC-1:** sin blastos en LCR
- **SNC-2:** blastos en el LCR y < 5 células/ μL
- **SNC-3:** blastos en el LCR y > 5 células/ μL
- **Punción lumbar traumática con blastos:** blastos en el LCR, > 10 hematíes/ μL (o más de 100 hematíes) y cualquier recuento celular.

6.4. Respuesta lenta al tratamiento de inducción (evaluación al día 14).

Presencia de $\geq 10\%$ blastos en el examen morfológico convencional del aspirado medular al día 14 del tratamiento de inducción.

6.5. Respuesta estándar al tratamiento de inducción (evaluación al día 14).

Presencia de <10% blastos en el examen morfológico convencional del aspirado medular al día 14 del tratamiento de inducción. Los casos con medula hipocelular o acelular al día 14 se considerarán como respuesta estándar.

6.6. Muerte en inducción. Muerte durante el tratamiento de inducción independientemente de la causa y del estado de respuesta de la LAL.

6.7. Remisión completa

- **Morfológica.** Desaparición de las manifestaciones clínicas atribuibles a la LAL, Hb >100 g/L con independencia transfusional, granulocitos $>1 \times 10^9/L$, plaquetas $>100 \times 10^9/L$ (sin necesidad de soporte) y medula ósea normocelular (M0), con menos de un 5% de blastos y sin blastos en el LCR.
- **Morfológica con recuperación incompleta.** Los anteriores criterios pero con neutropenia ($<1 \times 10^9/L$) o plaquetopenia ($<100 \times 10^9/L$) residuales.
- **Citogenética.** RC morfológica con citogenética normal, en el caso de que se hubieran detectado alteraciones.
- **Inmunofenotípica:** $<0,1\%$ células con inmunofenotipo leucémico.

Nota: aunque idealmente los pacientes tendrían que tener una ER $<0,01\%$ al final de la inducción para que se considere que tienen ER negativa (**respuesta inmunológica completa**), en este protocolo se acepta como buena respuesta de ER la existencia de una ER $<0,1\%$ al final de la inducción, habida cuenta de que la dinámica de eliminación de la ER en la LAL del adulto es más lenta que en la LAL infantil.

De todos modos, se efectuará un subanálisis de los pacientes que logren ER $<0,01\%$ al final de la inducción.

6.8. Fracaso. Falta de obtención de la RC morfológica después del tratamiento de inducción-1 y de inducción-2.

6.9. Muerte en RC. Muerte después de alcanzar la RC y después del tratamiento de inducción.

6.10. Recaída. Detección de $>5\%$ de blastos en m.o. en un paciente que había alcanzado la RC, o demostración inequívoca de afección leucémica extramedular.

6.11. Supervivencia global. Intervalo de tiempo entre el diagnóstico y la fecha de muerte por cualquier causa o la fecha del último control.

6.12. Supervivencia libre de recaída/supervivencia libre de leucemia.

Intervalo de tiempo entre la fecha de la RC hasta la recaída, muerte por cualquier causa o último control.

6.13. Duración de la RC. Intervalo de tiempo entre la fecha de la RC y la de la recaída o último control en RC.

6.14. Supervivencia libre de evento. Intervalo de tiempo entre el diagnóstico hasta el fracaso terapéutico, recaída, muerte por cualquier causa o último control del paciente.

6.15. Aclaramiento de la ER

- **Estándar:** ER <0,1% al final de la inducción y <0,01% al final de la consolidación.
- **Desfavorable:**
 - ER >0,1% al final de la inducción, o
 - ER >0,01% al final de la consolidación en pacientes que habían logrado una ER <0,1% al final de la inducción.

7. DISEÑO DEL ESTUDIO Y TRATAMIENTO

En el **anexo 6** figura el diagrama de flujo del estudio.

7.1. Normas generales.

1. Se informará a los pacientes (o sus responsables legales) que cumplan todos los criterios de inclusión y ninguno de los de exclusión.
2. El enfermo deberá firmar en este momento el consentimiento informado para envío de muestras biológicas (**anexo 3**) y el consentimiento para donación voluntaria de muestras biológicas para investigación biomédica (**anexo 4**)
En este momento se **notificarán los enfermos** a los investigadores principales del estudio. Para ello se empleará la primera página del cuaderno de recogida de datos (**anexo 6**) a los gestores de datos del protocolo (mmorgades@iconcologia.net o bien olga.garcia@pethema.es)
3. Mientras se caracteriza por completo la LAL, se administrará la **prefase**
4. **Muy importante:** se efectuará **estudio HLA del paciente y sus hermanos** en el momento del diagnóstico, antes de iniciar el tratamiento. En el caso de que el paciente no tenga hermanos puede aprovecharse este momento para iniciar los trámites de búsqueda de un donante no emparentado. Si ello no fuera posible en el momento del diagnóstico, se efectuará una vez conseguida la RC
5. Una vez caracterizada la LAL, confirmada la inclusión en el protocolo y terminada la prefase, se administrará el **tratamiento de inducción-1**. Si no se logra la RC se administrará el **tratamiento de inducción-2**.
6. Caso de no lograrse la RC con este último tratamiento, se excluirá al enfermo del protocolo.
7. A todos los enfermos en RC se administrará **tratamiento de consolidación**.
8. Se efectuará un **alo-TPH** con acondicionamiento **mieloablatoivo** en pacientes de edad ≤ 50 años con ER >0,1% al final de la inducción-2 o ER >0,01% al final de la consolidación. Se empleará un alo-TPH con acondicionamiento de **intensidad reducida** (AIR) si la edad es >50 años o existe comorbilidad que desaconseje un TPH mieloablatoivo. Se

empleará como donante un hermano HLA idéntico o un donante no emparentado (DNE). Pueden usarse progenitores de sangre periférica, médula ósea o sangre de cordón umbilical.

9. Los Servicios de Hematología que no dispongan de una Unidad de Trasplante remitirán sus pacientes a un centro de referencia, que será cualquier centro acreditado de España siempre y cuando se comprometa a seguir las recomendaciones del presente estudio.
10. En el resto de casos se efectuará **consolidación tardía seguida de mantenimiento.**
11. **Todos los estudios citofluorométricos de ER se efectuarán de forma centralizada en el Servicio de Citometría del Hospital Clínico Universitario de Salamanca (Dr A. Orfao). La no realización del estudio centralizado de la ER supondrá la no evaluación del paciente en el protocolo.**

7.2. Prefase (común en todos los protocolos de LAL del adulto)

- Prednisona (PDN) 60 mg/m², po o iv, hasta la caracterización de la LAL, con un máximo de 7 días.
- **Tratamiento triple intratecal**
 - **Metotrexato (MTX): 12 mg**
 - **ARA-C: 30 mg días**
 - **Hidrocortisona: 20 mg días**
- Durante este periodo se podrá caracterizar perfectamente la LAL y excluir las LAL-Ph+, las LAL-B maduras y las LAL de riesgo estándar, que serán tratadas en el seno de otros protocolos del grupo PETHEMA.

7.3. Quimioterapia de inducción-1

- Vincristina (VCR): 1,5 mg/m² (dosis máxima 2 mg) i.v. días 1, 8, 15 y 22
- Daunorubicina (DNR): 45 mg/m² i.v. días 1, 8, 15 y 22
- PDN:
 - 60 mg/m² y día, i.v. o p.o., días 1 a 14
 - 30 mg/m² y día, i.v. o p.o., días 15 a 21
 - 15 mg/m² y día i.v. o p.o., días 21 a 28
- L-asparaginasa (L-ASA) de *E. coli* (Kidrolase®): 10.000 UI/m², i.v., días 16-20, 23-27.
- (En caso de reacción alérgica se aconsejan dos posibilidades: sustituir la ASP de *E coli* por PEG-Asparaginasa 2.000 UI/m², iv, día 15 (la dosis de PEG-ASP de este día debe administrarse después de la de VCR) o bien por 20.000 U/m² de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* (Erwinase®), iv., con la misma pauta que la ASP de *E Coli*)
- Quimioterapia intratecal

- Profiláctica: se administrará en los pacientes con SNC-1 o punción lumbar traumática sin blastos
 - Metotrexato (MTX): 12 mg días 1 y 22
 - Citarabina (ARA-C): 30 mg días 1 y 22
 - Hidrocortisona: 20 mg días 1 y 22
 - **NOTA: la dosis del día 1 se omitirá si la administración IT de la prefase se ha realizado menos de 7 días**
- Terapéutica: se administrará en casos de SNC-2, SNC-3 o si punción lumbar traumática con blastos
 - Metotrexato (MTX): 12 mg
 - Citarabina (ARA-C): 30 mg
 - Hidrocortisona: 20 mg

Frecuencia: cada 3-4 días, hasta desaparición de los blastos en el LCR, mas 2 administraciones adicionales. No deben administrarse menos de 5 dosis de tratamiento intratecal.

Nota: se evaluará la **respuesta medular y la ER al día 14** con finalidad investigacional, aunque no se tomarán decisiones terapéuticas hasta el final de la inducción-1.

7.4. Evaluación al final de la inducción-1 (día 28 o en el momento en que se constate la recuperación hemoperiférica).

Se efectuara un AMO con **estudio morfológico**, genético y molecular si se precisa, y con **determinación centralizada de la ER mediante citofluorometría**.

SITUACIÓN	ACTITUD
Pacientes en RC y ER <0,1%	Consolidación 1, 2 y 3
Pacientes sin RC morfológica	Inducción-2
Pacientes en RC morfológica pero ER>0,1%	Inducción-2

7.5. Inducción-2.

Consistirá en la pauta **FLAG-IDA**

- **Idarubicina** 12 mg/m², i.v., días 1, 3 y 5
- **Fludarabina** 30 mg/m², i.v., días, 1 a 5
- **Ara-C** 2 g/m², i.v., días 1 a 5
- **G-CSF** 300 µg/d, i.v. o s.c., días 1 a 5

Profilaxis del SNC

- Metotrexato (MTX): 12 mg día 7
- Citarabina (ARA-C): 30 mg día 7
- Hidrocortisona: 20 mg día 7

En los pacientes de más de 50 años se reducirá el ARA-C a la mitad

7.6. Evaluación al final de la inducción-2

Se efectuará un AMO con **estudio morfológico**, genético y molecular si se precisa, y con **determinación centralizada de la ER mediante citofluorometría**.

SITUACION	ACTITUD	OBSERVACIONES
RC morfológica y ER <0,1%	Consolidación-1, seguida de Alo-TPH	Si el alo-TPH se demorara por motivos logísticos, puede administrarse la consolidación-2 mientras se espera la práctica del mismo.
RC morfológica y ER ≥0,1%	Consolidación-1 seguida de alo-TPH.	Estos pacientes, si siguen con ER ≥0,1% después de la consolidación 1, quedan excluidos del protocolo. Se recomienda su inclusión en ensayos clínicos, a criterio del investigador
Sin RC morfológica	Exclusión del protocolo	

7.7. Tratamiento de consolidación

Es común para todos los enfermos y consistirá en la administración de 3 bloques de quimioterapia intensiva, separados 3 semanas entre sí, con la posibilidad de administración de G-CSF para acelerar la recuperación de la granulocitopenia post-quimioterapia (ver más adelante). Estos ciclos incluyen citostáticos con actividad reconocida frente a la LAL, a dosis intermedias o elevadas. Esta fase de tratamiento comenzará a las dos semanas de la administración de la última dosis de citostáticos. Para iniciar cualquiera de los bloques de quimioterapia el enfermo deberá tener una cifra de granulocitos + monocitos $>1,5 \times 10^9/L$ y plaquetas superiores a $100 \times 10^9/L$. En cada bloque se administrará tratamiento triple intratecal.

Consolidación-1

- DXM:
 - 20 mg/m² y día, p.o. o i.v. días 1-5
 - 10 mg/m² y día, p.o. o i.v., día 6
 - 5 mg/m² y día, p.o. o i.v., día 7
 - 2,5 mg/m² y día, p.o. o i.v., día 8
- VCR: 1,5 mg/m² y día, i.v., (máximo 2 mg) días 1 y 8

- MTX:
 - 3 g/m², i.v en 24 horas, día 1 para LAL de línea B y 5 g/m² para LAL de línea T.
 - En pacientes de más de 50 años, reducir el MTX a 1,5 g/m² en ambos tipos de LAL.
 - Para su administración, y la del tratamiento de rescate, deben seguirse las normas que se especifican más adelante.
- L-asparaginasa (L-ASA) de *E. coli* (Kidrolase®): 20.000 UI/m², i.v., día 3. Reducir la dosis a la mitad en pacientes de más de 50 años ya que la toxicidad de cualquier tipo de ASP aumenta con la edad.
Si alergia, se aconsejan dos posibilidades: administrar PEG-ASP 2.000 U/m² día 3 (Reducir la dosis a la mitad en pacientes de más de 50 años) o 20.000 U/m² de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* (Erwinase®), iv, , 3 dosis. Se aconseja una pauta de 3 días a la semana (LMV, MVL o VLM).
(Reducir la dosis a la mitad en pacientes de más de 50 años).
- Tratamiento triple intratecal el día 1.

Consolidación-2

- DXM:
 - 20 mg/m² y día, p.o. o i.v. días 1-5
 - 10 mg/m² y día, p.o. o i.v., día 6
 - 5 mg/m² y día, p.o. o i.v., día 7
 - 2,5 mg/m² y día, p.o. o i.v., día 8
- ARA-C:
 - 2 g/m² cada 12 horas, en 3 horas, días 1 y 2.
 - En pacientes de más de 50 años, reducir el ARA-C a la mitad.
- L-asparaginasa (L-ASA) de *E. coli* (Kidrolase®): 20.000 UI/m², i.v., día 3. Reducir la dosis a la mitad en pacientes de más de 50 años ya que la toxicidad de cualquier tipo de ASP aumenta con la edad.
Si alergia, se aconsejan dos posibilidades: administrar PEG-ASP 2.000 U/m² día 3 (Reducir la dosis a la mitad en pacientes de más de 50 años) o 20.000 U/m² de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* (Erwinase®), iv, , 3 dosis. Se aconseja una pauta de 3 días a la semana (LMV, MVL o VLM). (Reducir la dosis a la mitad en pacientes de más de 50 años).
- Tratamiento triple intratecal el día 4 (se administra este día para separar el tratamiento intratecal del ARA-C a dosis altas).

Consolidación-3

- DXM:
 - 20 mg/m² y día, p.o. o i.v. días 1-5
 - 10 mg/m² y día, p.o. o i.v., día 6
 - 5 mg/m² y día, p.o. o i.v., día 7
 - 2,5 mg/m² y día, p.o. o i.v., día 8
- VCR: 1,5 mg/m², i.v., días 1 y 8
- MTX:
 - 3g/m², i.v., en 24 horas, día 1 para LAL de línea B y 5 g/m² para LAL de línea T.
 - En pacientes de más de 50 años, reducir el MTX a 1,5 g/m² en ambos tipos de LAL.

- Para su administración, y la del tratamiento de rescate, deben seguirse las normas que se especifican más adelante.
- **L-asparaginasa (L-ASA) de *E. coli* (Kidrolase®):** 20.000 UI/m², i.v., día 3. Reducir la dosis a la mitad en pacientes de más de 50 años ya que la toxicidad de cualquier tipo de ASP aumenta con la edad. Si alergia, se aconsejan dos posibilidades: administrar PEG-ASP 2.000 U/m² día 3 (Reducir la dosis a la mitad en pacientes de más de 50 años) o 20.000 U/m² de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* (Erwinase®), iv, , 3 dosis. Se aconseja una pauta de 3 días a la semana (LMV, MVL o VLM). (Reducir la dosis a la mitad en pacientes de más de 50 años).
- Tratamiento triple intratecal el día 1.

7.8. Evaluación del paciente tras la consolidación

Se efectuará un AMO con estudio morfológico y con determinación centralizada de la ER mediante citofluorometría.

SITUACION	ACTITUD	OBSERVACIONES
Tres ciclos consolidación completados		
- RC y ER <0,01%	Consolidación tardía seguida de mantenimiento	
- RC y ER ≥0,01%	Alo TPH	Si no hay posibilidad de alo TPH: consolidación tardía I, II y III, seguido de mantenimiento con reinducciones o, alternativamente, inclusión en protocolos experimentales de tratamiento
Pacientes que han realizado la consolidación-1 tras 2 ciclos de inducción		
- RC y ER <0,1% tras la consolidación-1	Alo-TPH	
- RC y ER >0,1% tras la consolidación-1	Exclusión del protocolo o Alo-TPH, a criterio del investigador	Se recomienda inclusión en ensayos clínicos si se decide no optar por un Alo-TPH

7.9. Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

Se efectuará de forma asignada en el subgrupo de pacientes con aclaramiento inadecuado de la ER, que dispongan de hermano histocompatible o de DNE.

7.9.1. TPH alogénico mieloablativo

La fuente de progenitores hematopoyéticos será la médula ósea, los PHSP movilizados con G-CSF o los PHSP de sangre de cordón umbilical

7.9.1.1. A partir de hermano histocompatible

- *Indicaciones:*
 - Edad \leq 50 años y buen estado general.
- *Acondicionamiento*
 - Ciclofosfamida: 120 mg/kg, repartidos entre los días -6 y -5
 - Irradiación corporal total (ICT) fraccionada (dosis total 13 Gy) días -4 a -1

NOTA: recordar la administración de quimioterapia i.t. los días -7 y -3.

7.9.1.2. A partir de donante no emparentado

- *Indicaciones*
 - Pacientes de edad \leq 50 años, sin hermano histocompatible, y con buen estado general
- *Acondicionamiento*
 - Ciclofosfamida: 120 mg/kg, repartidos entre los días -6 y -5
 - Irradiación corporal total (ICT) fraccionada (dosis total 13 Gy) días -4 a -1.
 - ATG según protocolo de cada institución

NOTA: recordar la administración de quimioterapia i.t. los días -7 y -3

7.9.1.3. A partir de progenitores de SCU

Se aconseja incluir a los pacientes en los protocolos de ámbito nacional vigentes en la actualidad y seguir las especificaciones que figuran en los mismos en cuanto al acondicionamiento y manejo del TSCU.

7.9.2. Alo TPH con acondicionamiento de intensidad reducida.

- *Indicaciones:*
 - Se efectuará en el subgrupo de pacientes con aclaramiento inadecuado de la ER, que dispongan de hermano histocompatible o de DNE y tengan edad $>$ 50 años, o en pacientes de cualquier edad no candidatos a alo-TPH convencional por criterios médicos.
- *Acondicionamiento*
 - *Fludarabina-melfalán (recomendado)*

Fludarabina: Se administrará en los días -8, -7, -6, -5 y -4 en dosis de 30 mg/m² en infusión IV de 30 minutos. Su dosificación se basará en el peso real.

Melfalán: Se administrará en dosis de 70 mg/m² los días -3 y -2, en bolus de 15 minutos. Se empleará la pauta de hidratación estándar que se emplea con el melfalán a dosis intermedias/altas.

7.10. Tratamiento de consolidación tardía con mantenimiento + reinducciones

7.10.1. Indicación

- Se efectuará en el subgrupo de pacientes con aclaramiento adecuado de la ER (<0,01%) después de la consolidación-3.
- También se podrá efectuar a los pacientes a los que, correspondiéndoles efectuar un alo-TPH, éste no se pueda realizar por criterios médicos.

7.10.2. Consolidación tardía

Consistirá en la administración de los tres bloques de quimioterapia intensiva de consolidación (1, 2 y 3) descritos anteriormente, incluyendo tratamiento triple intratecal en cada ciclo.

7.10.3. Mantenimiento + reinducciones

Consistirá en la administración de quimioterapia continua (mercaptopurina y metotrexato) junto a reinducciones hasta completar el primer año desde el diagnóstico.

- *Criterios de inicio:* cifra de granulocitos + monocitos $\geq 1,5 \times 10^9/L$ y plaquetas $\geq 100 \times 10^9/L$.
- Mantenimiento
 - MP 50 mg/m² y día, p.o.
 - MTX 20 mg/m² y semana, i.m.
- Reinducciones
 - VCR: 1,5 mg/m² (dosis máxima 2 mg), i.v., día 1.
 - PDN: 60 mg/m² y día, i.v. o p.o., días 1 a 7

Durante la semana de administración de cada ciclo de reinducción se suspenderá la quimioterapia de mantenimiento.

Las reinducciones se harán mensualmente hasta completar un año desde la RC. En cada ciclo se administrará tratamiento triple intratecal.

- *Modificación de dosis.* A lo largo del tratamiento de mantenimiento debe procurarse mantener recuentos leucocitarios entre 2,5 y 5x10⁹/L y recuentos plaquetares por encima de 100x10⁹/L. Si se disminuye estos límites inferiores deberá reducirse en un 20% las dosis de MP y MTX. Si las cifras de leucocitos

superan los $5 \times 10^9/L$ se aumentará un 20% la dosis de MP (de 50 a 60 mg/m^2). Si bilirrubina $> 1,5 mg/dL$, reducir la dosis de MTX un 20% y si persiste, reducir la de MP un 20%.

7.10.4. Mantenimiento sin reinducciones

Durante el segundo año desde la RC se efectuará únicamente tratamiento de mantenimiento convencional

- Mantenimiento
 - MP 50 mg/m^2 y día, p.o.
 - MTX 20 mg/m^2 y semana, i.m.

- *Modificación de dosis.* A lo largo del tratamiento de mantenimiento debe procurarse mantener recuentos leucocitarios entre 2,5 y $5 \times 10^9/L$ y recuentos plaquetares por encima de $100 \times 10^9/L$. Si se disminuye estos límites inferiores deberá reducirse en un 20% las dosis de MP y MTX. Si las cifras de leucocitos superan los $5 \times 10^9/L$ se aumentará un 20% la dosis de MP (de 50 a 60 g/m^2). Si bilirrubina $> 1,5 mg/dL$, reducir la dosis de MTX un 20% y si persiste, reducir la de MP un 20%.

7.11. Seguimiento de los pacientes

- **Dinámica**
 - Trimestral durante los 2 primeros años desde el fin del tratamiento
 - Semestral durante los años 3º y 4º desde el fin del tratamiento
 - Anual desde el 5º año en adelante
- **Visita de seguimiento.** Incluirá:
 - Anamnesis y exploración física
 - Hemograma y bioquímica elemental
 - Mielograma
 - **ER centralizada**, solo en los siguientes momentos
 - A los 3 meses del TPH alogénico o al acabar los tres bloques de consolidación tardía
 - Al finalizar el primer año desde el diagnóstico
 - A los 1,5 años desde el diagnóstico
 - A los 2 años del diagnóstico (fin de tratamiento para los pacientes que recibieron quimioterapia)

7.12. Manejo de fármacos

- ✓ **Dexametasona:**
 - **Efectos secundarios más importantes**
Gastritis, úlcera gástrica, hiperglucemia, hipopotasemia, hipertensión, miopatía, osteoporosis, alteraciones psíquicas (euforia, depresión, psicosis), inmunodepresión, aumento de la presión intraocular
 - **Consideraciones terapéuticas**

Si hipertensión arterial (presión diastólica ≥ 100 mmHg), disminuir las dosis 1/3 y administrar fármacos antihipertensivos. Si psicosis grave, dosis mitad o cambiar a prednisona. Si hiperglucemia, no debe modificarse la dosis; si es necesario, tratarla con insulina. Si necrosis ósea aséptica, suspenderla definitivamente. Si miopatía grave, reducir la dosis a la mitad hasta que se haya resuelto; si persiste miopatía a pesar de la reducción, suspenderla hasta recuperación de la misma y luego reintroducirla a dosis plenas.

✓ **Vincristina:**

- **Efectos secundarios más importantes:** Alteraciones neuromusculares (neuropatía periférica con parestesias, parestias, dolores neurálgicos, estreñimiento, íleo paralítico), náuseas, vómitos, diarrea, mielodepresión, alopecia, reacciones de hipersensibilidad, convulsiones.
- **Medidas acompañantes**
 - Profilaxis del estreñimiento.
 - Controles neurológicos regulares.
 - Reducción de la dosis en los casos de toxicidad neurológica
 - un 50 % si aparecen parestesias intensas
 - retirada si aparecen parestias invalidantes, íleo o convulsiones
 - Si bilirrubina total >3 mg/dL, reducir la dosis al 50%. Si es >6 mg/dL, suspenderla.
 - En caso de síndrome de secreción inadecuada de ADH no modificar la dosis y tratarlo específicamente.

✓ **Daunorubicina:**

- **Mecanismo de acción**

Derivado de las antraciclinas, intercalación de ADN y lisis del ADN mediante el ciclado redox enzimático con formación de radicales de oxígeno reactivos o inhibición de la topoisomerasa II.
- **Administración**

Intravenosa en embolada durante 15 minutos o con CVC (si está disponible) durante 1 hora (los datos publicados indican una escasa cardiotoxicidad en la administración mediante infusión prolongada).
- **Efectos secundarios más importantes**

Mielodepresión.
Cardiotoxicidad.
Precoz: alteraciones del ritmo cardíaco (aumento de la frecuencia, prolongación del QT, ESSV, ESV, taquicardias supraventriculares y ventriculares)
Tardía: cardiomiopatía irreversible con insuficiencia cardíaca.
Alopecia, náuseas, vómitos, diarrea, lesión hepática, hiperuricemia, dermatitis, estomatitis, flebitis, reacciones alérgicas.

- **Advertencias**
 - No debe superarse una dosis total de 550 mg/m²
 - Modificación en casos de alteración hepática
 - bilirrubina > 2 mg/dl: reducir al 50 %
 - bilirrubina > 5 mg/dl: contraindicada;
 - si la bilirrubina aumenta por la enfermedad de base, reducir la dosis al 50 %
 - Suspenderla si el paciente presenta insuficiencia cardiaca, o descenso de la FEVI por debajo del 35%.

- ✓ **Arabinósido de citosina**
 - **Mecanismo de acción**

Antimetabolito (antagonista de la pirimidina), inhibición de la síntesis de ADN mediante inhibición competitiva de la ADN-polimerasa e inserción en el ADN.
 - **Efectos secundarios más importantes**

Mielodepresión, náuseas, vómitos, alopecia, reacciones cutáneas, alteraciones del sistema nervioso central, estomatitis, toxicidad hepática, fiebre, mialgias, artralgias
 - **Posibles efectos secundarios tras la administración de dosis altas de citarabina**
 - Conjuntivitis, fotofobia, exantema cutáneo máculopapular eritematoso generalizado (principalmente palmar y plantar).
 - Neurotoxicidad: disfunción cerebral con disartria, disdiadococinesis y ataxia, nistagmo (riesgo elevado con una creatinina sérica > 1,2 mg/dl, edad > 40 años, fosfatasa alcalina > 3 veces el valor normal)
 - Edema pulmonar.
 - Mielodepresión intensa.
 - En la conjuntivitis grave refractaria tratamiento, reacción alérgica grave, síntomas neurológicos graves y transaminasas > 5 veces el valor normal, debe **suspenderse el tratamiento con ARAC-AD**.
 - **Consideraciones terapéuticas**
 - Profilaxis de la conjuntivitis: administrar colirio de dexametasona, 1 gota en cada ojo, cada 8 horas durante 3 días.
 - Profilaxis de la neurotoxicidad: Vitamina B6. Si aparece nistagmo/ataxia/disartria/disdiadococinesia, interrumpir la infusión.
 - Si fiebre o erupción cutánea, tratamiento sintomático; no hace falta modificar la dosis del fármaco
 - Suspender si: conjuntivitis grave refractaria tratamiento, reacción alérgica grave, síntomas neurológicos graves y transaminasas > 5 veces el valor normal.
 - En los pacientes de más de 50 años, reducir la dosis a la mitad
 - La citarabina no puede mezclarse con el metrotexato (incompatible)
 - La citarabina puede reducir de forma reversible la concentración plasmática de digoxina; si es necesario, se cambiará el tratamiento a digitoxina.
 - Reducción de la dosis en la insuficiencia renal.

- ✓ **Asparaginasas:**

- **Mecanismo de acción**

Hidroliza la asparagina (y la glutamina) a ácido aspártico y amonio. Los blastos de la LAL no pueden resintetizar asparagina (carecen de asparagina sintetasa) y mueren

- **Preparaciones de L-asparaginasa**

- De *E. coli*. Vida media en suero 1,25 días.
- De *Erwinia chrysanthemi*. Vida media en suero 0,6 días
- PEG-Asparaginasa de *E. coli*. Vida media de eliminación: 6 días. Produce una depleción más sostenida de asparagina y presenta menos reacciones de hipersensibilidad. El resto de toxicidad es similar a la de *E. coli*

- **Consideraciones terapéuticas¹⁷**

- Suspenderla definitivamente si signos clínicos de pancreatitis, o amilasas >3 veces el valor normal. Si la pancreatitis es moderada (amilasas <3 veces el valor normal y dolor abdominal leve o moderado), suspender la Asparaginasa y reiniciarla cuando se haya resuelto por completo el cuadro clínico y analítico. Si hiperamilasemia aislada, sin dolor abdominal, determinar lipasas; si elevadas, suspender la Asparaginasa y reiniciarla cuando se haya resuelto por completo el cuadro analítico.
- Si coagulopatía sintomática, suspender el fármaco hasta la resolución de la misma y efectuar tratamiento de soporte. Si la alteración de las pruebas de coagulación (que deben efectuarse al menos una vez por semana) es asintomática, no suspender la L-ASA. Si fibrinógeno <100 mg/dL, administrar crioprecipitado. Si fibrinógeno <50 mg/dL, suspender L-ASA hasta que ascienda a 100 mg/dL.
- No se recomienda efectuar de forma sistemática profilaxis antitrombótica ni administración de concentrados de antitrombina III, ya que no hay estudios en adultos que hayan evaluado su eficacia de forma concluyente.
- Si trombosis venosa profunda o trombosis de las venas cerebrales, suspender la Asparaginasa e iniciar tratamiento anticoagulante. Reiniciar el tratamiento con Asparaginasa cuando el cuadro esté completamente resuelto

Tipo de tromboembolia	Actitud
Relacionada con catéter venoso central	<p>Aguda y sintomática</p> <ul style="list-style-type: none"> • Retirar catéter si no es preciso o cambiar el lugar de acceso venoso • Considerar tratamiento anticoagulante 3-5 días antes de retirar el catéter • Si catéter es necesario, tratar con heparina de bajo peso molecular (HBPM) <p>Asintomática</p> <ul style="list-style-type: none"> • Asegurar permeabilidad del catéter

	<ul style="list-style-type: none"> • HBPM si no hay contraindicaciones
Trombosis de venas cerebrales	Tratamiento anticoagulante (HBPM x 1 semana seguida de anticoagulantes orales) Considerar ATIII si no hay respuesta al tratamiento anticoagulante Puede efectuarse retratamiento con ASP bajo profilaxis anticoagulante
Tromboembolias cardiacas	Tratamiento anticoagulante durante 6 meses

- En el caso de **reacciones alérgicas a la asparaginasa de *E coli*** se aconseja lo siguiente:
 - Lo fundamental es prevenirlas en lo posible
 - Administrar un glucocorticoide (si el paciente no lo está recibiendo como parte del tratamiento de la LAL) y paracetamol antes de cada dosis de asparaginasa.
 - Si leves (grado 1), como dolor o eritema local, tratar con antihistamínicos
 - Si graves (grado >1):
 - En inducción: Son poco frecuentes. Sustituir cada dosis de ASP por 20.000 U/m² de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* (Erwinase®), iv. Se aconseja una pauta de 3 días a la semana (LMV, MVL o VLM). También puede emplearse una dosis de PEG-ASP (2000UI/m²)
 - En los bloques de consolidación: Sustituir cada dosis de ASP de *E. coli* por 2 dosis 20.000 U/m² de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* (Erwinase®). También puede emplearse una dosis de PEG-ASP (2000 UI/m²)
- Si hiperglucemia, tratarla con dieta e insulina si se precisa
- Si hepatotoxicidad leve, no modificar dosis de ASP. Si hepatotoxicidad de grados 3-4 (bilirrubina > 5 veces el valor normal o transaminasas > 5 veces el valor normal) retrasar la siguiente dosis de ASP hasta resolución de la misma. Si la resolución es lenta y la toxicidad ocurre en inducción, suprimir la ASP del bloque 1 de consolidación (y ajustar la dosis del resto de fármacos potencialmente hepatotóxicos) y procurar reintroducirla en los siguientes.
- Idealmente se deberían monitorizar los niveles séricos de asparaginasa para asegurarse de su actividad y modificar la dosis en consecuencia. Se considera que hay una depleción adecuada de asparagina cuando la actividad enzimática de ASP es >0,1 UI/mL.

✓ **Ciclofosfamida:**

- **Mecanismo de acción**

Alquilación de las bases de ADN (sobre todo, de la guanina) tras la conversión por el sistema enzimático microsomal hepático dependiente del citocromo P₄₅₀ en el compuesto activo 4-hidroxiciclofosfamida (4-OHCP). La 4-OHCP se convierte en una mostaza de fosforamida alquilante y acroleína urotóxica.

- **Administración**

Intravenosa en 1 hora.

- **Efectos secundarios más importantes**

Mielodepresión, cistitis hemorrágica, nefrotoxicidad, estomatitis, alopecia, náuseas, vómitos, dermatitis, neurotoxicidad, lesión hepática, hiperuricemia.

- **Medidas acompañantes**

Aporte suficiente de líquidos (como mínimo, excreción de 2000 ml/24 horas). Mesna (Uromitexan®), correspondiente al 20 % de la dosis de ciclofosfamida administrada i.v. 0, 4 y 8 horas después de administrar la ciclofosfamida. No es necesaria la profilaxis de la cistitis hemorrágica, a las dosis utilizadas, aunque es aconsejable una buena hidratación del enfermo.

✓ ***Mercaptopurina:***

- Modificar la dosis cuando exista hepatotoxicidad grave (transaminasas > 10 veces el valor normal). Recordar que su acción se potencia con la administración simultánea de alopurinol, por lo que este último fármaco no deberá prescribirse cuando se administre la mercaptopurina.

✓ ***Metotrexato***

- **Mecanismo de acción**

Antimetabolito (antagonista del ácido fólico); captación celular mediante transporte activo de membrana y acumulación intracelular en forma de poliglutamatos de MTX; inhibición específica de la hidrofolato reductasa, que inhibe a su vez la síntesis de nuevas purinas. Pueden ser antagonizadas con derivados del ácido tetrahidrofólico. Biodisponibilidad muy variable individualmente tras la administración oral (24-94 %). Prolongación de la semivida plasmática hasta 4 veces en el reservorio del tercer espacio (derrame pleural, ascitis, líquido cefalorraquídeo).

- **Administración de MTX a altas dosis** (3 g/m² y día, en infusión de 24 horas; si edad >50 años, 1,5 g/m²)

- 500 mg/m² en 1/2 hora
- 2500 mg/m² en 23 1/2 horas

- **Condiciones previas:**

- Función renal normal (creatinina < 1,3 mg/dl)
- Bilirrubina sérica < 2mg/dl y transaminasas < 2 veces el valor normal
- Cifra de granulocitos + monocitos >1,5x10⁹/L y de plaquetas >100x10⁹/L.

- **Hidratación y alcalinización urinaria**

- Desde 12 horas antes de la infusión de MTX hasta la finalización del tratamiento de rescate deben administrarse 3000 ml/m² y día, a repartir entre suero glucosalino y suero bicarbonatado, (40 mEq de CO₃HNa por cada 1000 ml de líquido) a fin de mantener un pH de orina >7,5 antes, durante y al menos 48 horas después de la infusión de MTX.
- Se deberá administrar asimismo 10 mEq CLK por cada 1000 ml de líquido y furosemida 1 mg/kg, i.v., 6 y 12 horas después del inicio del MTX.
- **Efectos secundarios más importantes**
 - o Toxicidad mucosa: mucositis oral e intestinal, ulceraciones de la mucosa bucal y del tracto gastrointestinal, hemorragias intestinales y peligro de perforación.
 - o Gastrointestinales: anorexia, náuseas, vómitos, diarrea.
 - o Nefrotoxicidad: alteraciones de la función renal (sobre todo, con un pH urinario < 7 y reducción del flujo de orina en las infusiones de 24 horas), cistitis, ulceraciones de la mucosa vesical.
 - o Toxicidad hepática: aumento de las transaminasas, ictericia, necrosis hepática aguda, hígado graso, fibrosis portal, cirrosis.
 - o Neurotoxicidad: cefaleas, somnolencia, vómitos, vértigo, alteraciones visuales, convulsiones, dolor, parestesias o parestias, debilidad muscular, psicosis (aguda, subaguda o encefalopatía crónica).
 - o Pulmonares: infiltrados pulmonares, fibrosis.
 - o Otros: reacciones cutáneas, alopecia, mielodepresión, alergias, inmunodepresión (reducción del recuento de células CD4+).
- **Tratamiento acompañante con las dosis altas de metrotexato**
 - Hidratación y alcalinización de la orina como se describe anteriormente.
 - Mantenimiento del balance de líquidos. Si aumenta el peso >1 kg, administrar furosemida, 20 mg i.v.
 - Control diario de creatinina, bilirrubina, GOT, GPT.
 - Determinación de los niveles de MTX.
 - Rescate con leucovorin adaptado a los niveles de MTX.
- **Advertencias**
 - Reducción de la dosis en pacientes con el denominado reservorio del tercer espacio (p.ej., derrame pleural, ascitis)
 - Reducción de la dosis en la insuficiencia renal:
 - o Creatinina sérica: 1,5-2 mg/dL reducción de la dosis al 50 %
 - o Creatinina sérica >2 mg/dL: reducción de la dosis al 10 %
 - Reducción de la dosis en la insuficiencia hepática. También cabe recordar que hay elevada incidencia de hepatotoxicidad con el consumo de alcohol.
 - En la sobredosificación intratecal: lavado del espacio ventricular lumbar; carboxipeptidasa.

- Evitar la administración de co-trimoxazol, inhibidores de la bomba de protones¹⁸ (e incluso de antiinflamatorios no esteroideos) los días que se administra metotrexato a dosis altas, porque pueden interferir con la excreción renal del fármaco. Pueden readministrarse si es preciso durante la misma semana desde la finalización del tratamiento.
- **Determinaciones de los niveles de MTX**
 - o Nivel sérico de MTX: **24 y 48** horas después de comenzar la infusión de MTX
 - o El nivel de MTX de las 24 y 48 horas debe determinarse **inmediatamente**.
 - o El nivel de MTX a las 36 y 60 horas debe determinarse también en caso de niveles de alarma a las 24 horas (MTX >150 µmol/l o sospecha clínica de mala eliminación de MTX: aumento significativo de la creatinina, reducción de la diuresis a pesar del tratamiento con furosemida).

- **Rescate con leucovorin**

La primera dosis (60 mg/m²) se administrará a las 12 horas del final de la infusión del MTX. Luego se administrará una dosis de 30 mg/m² a las 3 horas de la anterior y a continuación 15 mg/m² cada 6 horas, hasta que los niveles séricos de MTX sean < 0,2 µmol/L (2 x10⁻⁷ mol/L), momento en el que se administrarán dos dosis suplementarias de ácido folínico (15 mg/m², p.o.).

Ejemplo de evolución correcta de niveles de metotrexato:

<u>Nivel de MTX:</u>	en la hora 24:	MTX < 150,0 µmol/l
	en la hora 36:	MTX < 3,0 µmol/l
	en la hora 42:	MTX < 1,0 µmol/l
	en la hora 48:	MTX < 0,4 µmol/l

Administración de leucovorin:

hora 36: 60 mg/m² i.v.
hora 42: 30 mg/m² i.v.
hora 48: 15 mg/m² i.v.
hora 54: 15 mg/m² i.v.

* Las horas siempre se cuentan después de comenzar la infusión de MTX

7.13. Tratamientos de soporte

Deberán tenerse en cuenta los siguientes aspectos, para los cuales **se emplearán los protocolos institucionales de cada centro participante**.

- ✓ **Medidas generales**
- ✓ **Cuidado de la piel y las mucosas, profilaxis y tratamiento de la mucositis**

- ✓ **Profilaxis y tratamiento de la conjuntivitis**
- ✓ **Profilaxis antimicrobiana, antimicótica y profilaxis de PCP**

En general se aconseja profilaxis con fluoroquinolonas y con antifúngicos azólicos o anfotericina B. Cabe recordar las interacciones de los antifúngicos azólicos con la vincristina, de modo que no debe efectuarse profilaxis con estos antifúngicos cuando se administre la vincristina. Cabe recordar que no se debe administrar co-trimoxazol ni inhibidores de la bomba de protones el mismo día que el metotrexato a dosis altas, pero pueden darse en la misma semana.
- ✓ **Vigilancia microbiológica**
- ✓ **Tratamiento antimicrobiano**
- ✓ **Transfusión de componentes sanguíneos**

Deberá tenerse en cuenta que los hemoderivados celulares deberán ser irradiados en los pacientes que reciban la pauta FLAG-IDA
- ✓ **Hidratación**
- ✓ **Profilaxis de la nefropatía urática.**
 - Se recomienda consultar la guía de tratamiento del síndrome de lisis tumoral aguda en niños y adultos que se acaba de publicar¹⁹
 - Se aconseja administrar profilácticamente rasburicasa (0,2 mg/Kg y día, i.v. en 30 min, durante un mínimo de tres días consecutivos) en los casos con $>100 \times 10^9$ leucocitos/L.
 - También estaría indicada la administración del citado fármaco cuando el enfermo presente, al diagnóstico o durante el tratamiento, igual o más de 4 puntos según el siguiente sistema de puntuación: uricemia >7 mg/dl (2 puntos), leucocitos $>30 \times 10^9$ /L (1 punto), edad 55-60 años (1 punto), LDH superior a 3 veces el normal (1 punto) y creatinina $>1,4$ mg/dL (2 puntos)
 - Es importante recordar que actualmente no se recomienda la alcalinización si se prevé administrar rasburicasa
 - En el resto de casos se recomienda administrar alopurinol¹⁹
- ✓ **Tratamiento antiemético**
- ✓ **Tratamiento con factores de crecimiento**
 - **Administración de G-CSF.**
 - **En inducción.** Puede administrarse con el objetivo de disminución de la duración de la neutropenia. Su administración será muy aconsejable en los casos con pobre respuesta al tratamiento de inducción-1 (no RC o ER $>0,1\%$), en quienes se administrará tratamiento intensivo adicional (inducción-2), que comportará una neutropenia de duración previsiblemente prolongada²⁰.
 - **En los bloques de consolidación.** Se iniciará al día siguiente de

finalizar el bloque de quimioterapia (si en alguno de los anteriores se ha registrado granulocitopenia $< 0,5 \times 10^9/L$).

- **Dosis:** 5 $\mu\text{g/Kg}$ y día, s.c.
 - **Duración del tratamiento:** hasta que la cifra de granulocitos sea $>1 \times 10^9/L$ en dos determinaciones.
- **Administración de agentes eritropoyéticos**
 - Pueden administrarse, según la pauta de cada institución.

8. ESTUDIO DE LA ENFERMEDAD RESIDUAL

En la LAL del adulto el estudio de ER tiene utilidad pronóstica, aunque no está tan bien sistematizado como en la LAL infantil, habida cuenta de que la dinámica de desaparición de la ER parece ser algo más lenta. **Dado que se tomarán decisiones terapéuticas importantes en función de los resultados de la misma, su determinación será centralizada para evitar sesgos.** En el presente protocolo se han establecido unos momentos para su análisis, con un doble objetivo:

1. Conocer la dinámica de eliminación de la ER en la LAL del adulto, determinar en qué momentos tiene una mayor utilidad su determinación y demostrar su posible valor pronóstico.
2. Asignar a los pacientes con persistencia de niveles valorables de ER post-inducción y post-consolidación al grupo de muy mal pronóstico, al que se efectuará un Alo-TPH.

Los estudios de ER deberán realizarse de forma centralizada en el Servicio de Citometría de la Universidad de Salamanca (Laboratorio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca).

8.1. Técnica para el estudio de ER.

Con el fin de unificar criterios, los estudios se basarán en el empleo de la estrategia metodológica y las combinaciones propuestas por el grupo EuroFlow empleando marcajes simultáneos en 8 fluorescencias y se realizarán de forma centralizada en el Servicio General de Citometría de la Universidad de Salamanca, ubicado en el Laboratorio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca.

En todos los casos los estudios de ER se realizarán sobre muestras de médula ósea obtenidas en los diferentes momentos de estudio, según lo previsto en el apartado 8.2 de este protocolo. Para ello se emplearán en paralelo dos combinaciones de 8 anticuerpos diferentes, según se trate de LLA de precursores B o de LLA-T, que serán analizadas mediante citometría de flujo multiparamétrica. En cada caso una de las dos combinaciones será común para todos los casos y estará basada en las combinaciones propuestas por el grupo EuroFlow, mientras que la segunda combinación evaluada en cada caso irá dirigida a la detección de células B CD19+ (LLA de precursores B) o precursores

T (SmCD3-/low y CyCD3+) que muestren características fenotípicas similares a las detectadas en los blastos estudiados al diagnóstico en cada paciente.

Para la preparación y marcaje de las muestras se empleará la técnica de inmunofluorescencia directa y marcaje simultáneo para antígenos de membrana e intracelulares, o en caso únicamente de membrana, siguiendo los protocolos recomendados por el grupo EuroFlow (www.euroflow.org). Las combinaciones de 8 anticuerpos que se emplearán en común para todas LLA de precursores B y las LLA-T consistirán de los siguientes marcadores:

- LLA-B: CD45, CD10, CD20, CD34, CD19, Smlgk+L, CD38, CD123
- LLA-T: CD45, CD45RA, CD7, SmCD3, CyCD3, CD5, CD34, CD99

En cada muestra en la que se investigue la persistencia de ER se analizará un mínimo de 500.000 células con el objetivo de alcanzar de forma sistemática una sensibilidad de 0.01% y un mínimo de 50 células para considerar un caso portador de ER en niveles iguales o superiores a los de la sensibilidad del método (frecuencias $\geq 0.01\%$).

8.2. Momentos de estudio fenotípico y de ER

- o **Estudio inicial.** Para identificación del inmunofenotipo y de las aberraciones o características específicas de los blastos (al menos dos) previo al inicio del tratamiento.
- o **Punto 1.** Al día 14, junto al estudio morfológico del aspirado de medula ósea. Finalidad investigacional, ya que, aunque en la LAL infantil de línea B la ER en este día tiene un alto valor predictivo, se desconoce si esto es aplicable a la LAL del adulto.
- o **Punto 2.** Al finalizar el tratamiento de inducción-1.
- o **Punto 3.** Al final de la inducción-2 (solo para los pacientes que no han conseguido la RC con la inducción-1 o la ER ha sido $>0,1\%$ al final de la inducción-1).
- o **Punto 4.** Al final de la consolidación-1 (solo para los pacientes con $ER > 0,1\%$ al final de la inducción-2)
- o **Punto 5.** Entre 1 y 2 semanas después de finalizado el tercer bloque de consolidación. Este momento servirá para tomar una decisión (TPH alogénico o consolidación tardía + mantenimiento)
- o **Punto 6.** A los 3 meses del TPH alogénico o al acabar los tres bloques de consolidación tardía.
- o **Punto 7.** Al finalizar el primer año desde el diagnóstico
- o **Punto 8.** A los 1,5 años desde el diagnóstico
- o **Punto 9.** A los 2 años del diagnóstico (fin de tratamiento para los pacientes que recibieron quimioterapia)

Procedimiento de envío

Tipo de muestra	Procedimiento de envío	Dirección de envío
-----------------	------------------------	--------------------

<ul style="list-style-type: none">• 3 ml de médula ósea en tubo de EDTA• 5 ml de sangre periférica en tubo de EDTA (soli al diagnóstico y días +14 y fin de la inducción)	<ul style="list-style-type: none">• Mensajería: MRW (Tf 91 5341924)• Código de la Fundación Pethema: 77159• Teléfono de PETHEMA (para dudas en el envío) 915040259	<p>Dr Alberto Orfao/Dr^a Juana Ciudad/ Dr López Servicio de Citometría Edificio Multiusos I+D+i c/ Espejo s/n 37002 Salamanca Fax: 923294795 Tel: 923291375 E-mail: orfao@usal.es o ciudad@usal.es</p>
--	--	---

En el **anexo 1** figura la hoja de solicitud de estudio de ER con las instrucciones de envío de las muestras y en el **anexo 3** figura el modelo de consentimiento por parte del paciente para envío de muestras biológicas.

Está previsto que el material sobrante de los estudios de la ER se almacene en el Banco Nacional de ADN de Salamanca, para lo que se deberá incluir el **anexo 4** firmado por el paciente o su representante legal y su médico.

9. CONSIDERACIONES ESTADÍSTICAS

9.1. Tamaño de la muestra

Al no haber un procedimiento de aleatorización el cálculo del tamaño de la muestra deberá efectuarse mediante criterios clínicos. Según los resultados del protocolo LAL-AR-03, se espera que un 60-70% de pacientes en RC tengan un buen aclaramiento de la ER. Idealmente debería haber 100 pacientes en el grupo de consolidación tardía y mantenimiento y 65 en el de alo-TPH. Se espera que otros 30-35 pacientes reciban un alo-TPH precoz por mala respuesta. Si asumimos una tasa de RC del 85% y sumamos las exclusiones y abandonos del protocolo, el número de pacientes a incluir sería de 250-275. Este reclutamiento podría llevarse a cabo en 8 años, a tenor de la tasa de reclutamiento del protocolo LAL-AR-03.

9.2. Análisis estadístico

Se efectuará una estadística descriptiva de las características demográficas y clínicas basales de los sujetos incluidos, se describirá también la proporción de sujetos excluidos o no evaluables con un listado de los motivos de exclusión o no evaluación. También se realizarán tablas de frecuencias de los resultados del tratamiento incluyendo proporción de remisiones completas, abandonos y recaídas y tablas de toxicidad por grados y órganos empleando las tablas de la NCI CTCAE VERSIÓN 3.0.

Se utilizará el método de Kaplan-Meier para describir gráficamente los tiempos hasta evento (ej. supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global) de la cohorte global y los distintos subgrupos de pacientes. La comparación entre los dos grupos de pacientes aleatorizados se efectuará mediante el test de log-rank. El análisis de la supervivencia de los grupos (alo-TPH y quimioterapia de consolidación tardía) se hará por intención de tratar.

El estudio de factores pronósticos no es un objetivo principal del estudio pero se efectuará con carácter exploratorio para el global de la cohorte y cada subgrupo de tratamiento mediante las técnicas univariantes y multivariantes aplicables. En caso de detección de factores pronósticos significativos no previstos, estos factores deberían incluirse como covariables en la regresión de Cox.

Están previstos estudios intermedios de toxicidad y supervivencia durante el tiempo de vigencia del protocolo. Los resultados de estos análisis intermedios se presentarán en las reuniones de trabajo de PETHEMA.

11. DURACIÓN ESTIMADA DEL RECLUTAMIENTO

El protocolo seguirá en activo hasta que se recluten los 250-275 pacientes previstos o hasta que se juzgue conveniente efectuar modificaciones o exista evidencia científica que obligue a sustituirlo. Se efectuarán análisis semestrales de eficacia y toxicidad con la finalidad de documentar la seguridad y validez del tratamiento. Los resultados de los mismos se comunicarán en las reuniones semestrales de trabajo del grupo PETHEMA. Es responsabilidad de

los investigadores reportar con la máxima precisión los datos de eficacia y toxicidad de la hoja de recogida de datos (**anexo 7**).

11. BIBLIOGRAFIA

1. Pulte D, Gondos A, Brenner H. Improvement in survival in younger patients with acute lymphoblastic leukemia from the 1980s to the early 21st century. *Blood* 2009; 113: 1408-1411.
2. JM Ribera, A Oriol, M Morgades, et al. Treatment of High-Risk (HR) Philadelphia Chromosome-Negative (Ph-) Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) According to Baseline Risk Factors and Minimal Residual Disease (MRD). Results of the PETHEMA ALL-AR-03 Trial. *Blood* 2009; 112: Abstract 3291.
3. Bassan R, Spinelli O, Oldani E, et al. Improved risk classification for for risk-specific therapy based on the molecular study of MRD in adult ALL. *Blood* 2009; 113: 4153-4162.
4. Gokbuget N, Baumann A, Beck J, et al. PEG-asparaginase intensification in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): significant improvement of outcome with moderate increase of liver toxicity in the German Multicenter Study Group for Adult ALL (GMALL) Study 07/2003.. *Blood* 2010; 116: 219a.
5. Thomas DA, O'Brien S, Faderl S, et al. Chemoimmunotherapy with a modified hyper-CVAD and rituximab regimen improves outcome in de novo Philadelphia chromosome-negative precursor B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol.* 2010;28:3880-3889.
6. Wetzler M, Stanford BL, Kurtzberg J, et al. Effective asparagine depletion with pegylated asparaginase results in improved outcomes in adult acute lymphoblastic leukemia: Cancer and Acute Leukemia B Study 9511: *Blood* 2007; 109: 4164-4167.
7. Hoelzer D, Huettmann A, Kaul F, et al. Immunochemotherapy with rituximab improves molecular CR rate and outcome in CD20+ B-lineage standard and high risk patients. Results of 263 CD20+ patients studied prospectively in GMALL study 07/2003. *Blood* 2010; 116: 77-78a.
8. Bruggemann M, Raff T, Flohr T, et al. Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard risk acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2006; 107: 116-1123.
9. Bruggemann M, Schrauder A, Raff T, et al. Standardized MRD quantification in European ALL trials: proceedings of the Second International Symposium on MRD assessment in Kiel, Germany, 18-20 September 2008. *Leukemia.* 2010;24:521-35.
10. Goldstone AH, Richards SM, Lazarus HM, et al. In adults with standard-risk acute lymphoblastic leukemia the greatest benefit is achieved from a matched sibling allogeneic stem cell transplantation in first complete

- remission, and an autologous stem cell transplantation is less effective than conventional consolidation/maintenance chemotherapy in all patients : final results of the international ALL Trial (MRC UKALL XII/ECOG E293). *Blood* 2008; 111: 1827-1833.
11. Giebel S, Stella-Hollowiecka B, Krawczyk-Kulis M, et al. Status of minimal residual disease determines outcome of autologous hematopoietic SCT in adult ALL. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45: 1095-1101.
 12. Oriol A, Vives S, Hernandez-Rivas JM, et al. Outcome after relapse of acute lymphoblastic leukemia (ALL) in adult patients included in four consecutive risk-adapted trials from the PETHEMA Study Group. *Haematologica* 2010; 95: 589-596.
 13. Montillo M, Tedeschi A, Centurioni R, Leoni F. Treatment of relapsed acute lymphoblastic leukemia with fludarabine, cytosine arabinoside and G-CSF. *Leuk Lymphoma* 1997; 25: 579-583.
 14. Thomas D, O'Brien S, Faderl S, et al. Anthracycline dose intensification in adult acute lymphoblastic leukemia: lack of benefit in the context of the fractionated cyclophosphamide, vincristine, doxorubicin, and dexamethasone regimen. *Cancer*. 2010;116:4580-9.
 15. Jinnai I, Sakura T, Tsuzuki M, et al. Intensified consolidation therapy with dose-escalated doxorubicin did not improve the prognosis of adults with acute lymphoblastic leukemia. The JALSG-ALL97 Study. *Int J Hematol* 2010; 92:490-502.
 16. Bassan R, Intermesoli T, Masciulli A, et al. Pediatric type therapy including lineage-targeted methotrexate to improve early minimal residual disease response and survival in adult acute lymphoblastic leukemia: interim analysis of Northern Italy Leukemia Group 10/07. *Blood* 2010;116: 881a.
 17. Rowe J. Prognostic factors in adult acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2010; 150: 389-405.
 18. Earl M. Incidence and management of asparaginase –associated adverse events in patients with acute lymphoblastic leukemia. *Clin Adv Hematol Oncol* 2009; 7: 600-606.
 19. Santucci R, Leveque D, Lescoute A, Kemmel V, Herbrecht R. Delayed elimination of methotrexate associated with co-administration of proton pump inhibitors. *Anticancer Res* 2010; 30: 3807-3810.
 20. Cairo MS, Coiffier B, Reiter A, et al. Recommendations for the evaluation of risk and prophylaxis of tumour lysis syndrome (TLS) in adults and children with malignant diseases: an expert TLS panel consensus. *Br J Haematol*. 2010;149: 578-86.
 21. Giebel S, Thomas X, Hallbook H, et al. The prophylactic use of G-CSF during induction and consolidation of adults with acute lymphoblastic leukemia is associated with reduced risk of relapse and improved leukemia-free survival. A joint analysis of five randomized trials on behalf of the European Working Group for adult ALL (EWALL). *Blood* 2010; 116: 880a.

ANEXOS

- 1. Solicitud centralizada de estudio de enfermedad residual**
- 2. Hoja de envío de datos del estudio citogenético**
- 3. Modelo de consentimiento informado para envío de muestras biológicas**
- 4. Modelo de consentimiento informado de donación voluntaria de muestras biológicas para diagnóstico e investigación biomédica**
- 5. Modelo de consentimiento informado para el registro de datos**
- 6. Diagrama de flujo del estudio**

ANEXO 1. PROTOCOLO PETHEMA LAL-AR-2010 PARA EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA DE ALTO RIESGO SIN CROMOSOMA FILADELFIA EN ADULTOS

SOLICITUD DE ESTUDIO DE ENFERMEDAD RESIDUAL

DATOS DEL SOLICITANTE

Dr.....
Hospital de procedencia.....
Telefono..... Fax.....
E-mail.....

DATOS DEL PACIENTE

Nombre (iniciales).....
Fecha de diagnóstico..... Código de Identificación.....
Diagnóstico: LLA de precursores B
 LLA-T.....
Inmunofenotipo al diagnóstico
.....

DATOS RELATIVOS A LA MUESTRA

Fecha de obtención
Fecha de envío.....

MOMENTO DE ESTUDIO

- Diagnóstico MO
- Día +14 MO
- Fin de la inducción-1 MO
- Fin inducción-2 (si procede) MO
- Tras B1 de Consolidación (solo si ER>0,1% tras inducción-2) MO
- Tras Consolidación-3 MO

Pre Alo-TPH
3 meses post alo-TPH

Pre-consolidación tardía
Post consolidación tardía

- Al finalizar el 1º año tras el diagnóstico MO
- A los 18 meses del diagnóstico MO
- Al finalizar el 2º año tras el diagnóstico MO

Tipo de muestras a enviar en cada punto de seguimiento

- 3 ml de médula ósea en tubo de EDTA
- 5 ml de sangre periférica en tubo de EDTA (días +14 y fin de la inducción)

Procedimiento de envío

- Mensajería: MRW (Tf 91 311 00 51)
- Código de la Fundación Pethema: 15018

Dirección de envío: Dr Alberto Orfao/Drª Juana Ciudad/ Dr López
Servicio de Citometría
Edificio Multiusos I+D+i
c/ Espejo s/n
37002 Salamanca
Fax: 923294795. Tel: 923291375/
E-mail: orfao@usal.es o ciudad@usal.es

ANEXO 2. ESTUDIO CITOGENÉTICO

NOMBRE DEL PACIENTE:

CENTRO ORIGEN DEL PACIENTE:

CITOGENETISTA RESPONSABLE O LABORATORIO DONDE SE HA REALIZADO EL CARIOTIPO:

FECHA DEL ESTUDIO CITOGENÉTICO:

TIPO DE MUESTRA:	MO	SP
TIPO DE CULTIVO:	DIRECTO	24 H

RESULTADO CITOGENÉTICA CONVENCIONAL

SIN DIVISIONES:

METAFASES NO ANALIZABLES:

CARIOTIPO ALTERADO:

CARIOTIPO NORMAL:

FÓRMULA CROMOSÓMICA (ISCN):

Nº METAFASES ALTERADAS:

Nº METAFASES NORMALES:

RESULTADO FISH (SI SE HA REALIZADO)

<i>BCR/ABL</i>	POSITIVO	NEGATIVO	NO REALIZADO
<i>MLL</i>	POSITIVO	NEGATIVO	NO REALIZADO

RESULTADOS DE OTRAS SONDAS UTILIZADAS:

Enviar a:

- Dra Isabel Granada: FAX 93 497 89 95. E-mail: igranada@oncologia.net
- Jesus M^a Hernandez Rivas FAX: 923294624. E-mail: jmhr@usal.es

ANEXO 3. MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA ENVÍO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Nombre del paciente:

Usted sufre una leucemia aguda linfoblástica (LAL). Tras efectuar los estudios pertinentes, su LAL tiene características de alto riesgo. En España el grupo cooperativo PETHEMA (Programa Español de Tratamientos en Hematología) ha desarrollado un protocolo de tratamiento uniforme para todos los pacientes con la misma enfermedad y situación que usted. Este tratamiento consiste en diversas etapas. La primera se llama tratamiento de inducción, y consiste en la administración de quimioterapia por vía intravenosa (a través de una catéter insertado en una vena) e intratecal (mediante punciones lumbares), con el objetivo de lograr una disminución muy notable del número de células leucémicas en la medula ósea, de modo que no sean visibles a través del microscopio. A esta situación se le llama remisión completa.

Aunque se haya logrado la remisión completa (cosa que ocurre en el 85-90%) de casos, persiste en su medula ósea una cantidad de células leucémicas indetectables por observación al microscopio, pero que podemos detectar mediante técnicas especiales, como la citometría de flujo. Ello se conoce como enfermedad residual. Es necesario continuar con el tratamiento de su enfermedad hasta eliminar esta leucemia oculta, porque si no ocurriría de forma segura una recaída de su enfermedad.

Es bien conocido que los enfermos con una cantidad elevada de enfermedad residual, o en los que ésta no se reduce de forma adecuada, tienen una mayor probabilidad de recaída. Por ello a este grupo de enfermos se les efectúa un trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico, es decir, a partir de un hermano histocompatible o de un donante no emparentado.

Para los pacientes que presentan una buena reducción de la enfermedad residual parece que puede evitarse efectuar el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, pero deben continuar recibiendo tratamiento para su enfermedad con quimioterapia de consolidación tardía seguida de mantenimiento.

Dado que el estudio de la enfermedad residual tiene una gran importancia a la hora de decidir el tratamiento que se le efectuará una vez este en remisión completa de su LAL, es muy importante que los resultados tengan la máxima fiabilidad posible. Para ello, este estudio se efectuará en un solo centro de España, el cual ofrece la máxima garantía para asegurar la fiabilidad de los resultados. Este centro es el Laboratorio de Citometría de la Universidad de Salamanca, cuyo responsable es el Dr Alberto Orfao y a dicho centro se enviarán las muestras para estudio de la enfermedad residual que se le vayan extrayendo a lo largo de la evolución de la enfermedad.

La información referente a usted, a su diagnóstico y seguimiento es confidencial y anónima, empleando sólo números de identificación para mantener la total privacidad de sus datos. El material sobrante tras efectuar el estudio se almacenará para realizar, bien al momento o en el futuro, de

acuerdo a los avances científicos, estudios adicionales que permitan profundizar en las causas de la enfermedad y por tanto en la mejora del tratamiento, con un único interés científico. Dichas muestras se almacenarán también a través de códigos, lo cual asegurará su anonimato.

La legislación actual exige que usted sepa que sus datos y muestras biológicas son recogidos y enviados al citado laboratorio, y que dé su consentimiento por escrito para ambas cuestiones.

DECLARO

Que he sido informado por el médico después mencionado de que:

- Mis datos serán registrados en bases de datos locales, nacionales e internacionales,
- Mis muestras biológicas se analizarán de forma centralizada y pueden ser almacenadas y usadas para estudios de investigación actuales o futuros,
- He comprendido la información recibida y podido formular todas las preguntas que he creído oportunas

Nombre: Firma:

Declaración del médico de que ha informado debidamente al paciente

Nombre: Firma:

Declaración del familiar, persona allegada o representante legal, de que ha recibido la información por deseo o incompetencia del paciente

Nombre: Firma:

APARTADO PARA LA REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Yo,revoco el consentimiento de participación en el estudio, arriba firmado, con fecha

Fecha de la revocación.....

Firma:

**ANEXO 4. DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO
PARA DONACIÓN VOLUNTARIA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS
PARA DIAGNÓSTICO e INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA**

Apellidos:
Nombre: Fecha:

Finalidad del proyecto:

Para un adecuado avance en la investigación biomédica sobre el origen y comportamiento de las enfermedades hematológicas es necesario estudiar muestras biológicas (médula ósea, sangre,...), y conocer los datos de salud de los pacientes, para conocer cuales son los factores ambientales, fenotípicos y genéticos (ADN) que se asocian a la enfermedad. Participarán en este proyecto personas de toda España.

Desde el diagnóstico de su enfermedad y durante la evolución de la misma será necesario obtener muestras de las células responsables de su enfermedad con el objeto de realizar un diagnóstico adecuado y evaluar la respuesta a los posibles tratamientos. De esas muestras biológicas obtenidas con el fin de diagnosticar la enfermedad y ofrecerle el mejor tratamiento suele haber una cantidad sobrante que puede ser utilizada para investigación.

En concreto, el Servicio General de Citometría de la Universidad de Salamanca colabora en el Protocolo PETHEMA LAL-AR/2011, que consiste en un estudio diagnóstico multiparamétrico, incluyendo las características fenotípicas, genéticas y moleculares, de las distintas poblaciones de células implicadas en su enfermedad. Además, una parte de sus muestras, excedente del proceso diagnóstico se almacenará en el Banco Nacional de ADN.

El almacenamiento de los excedentes de sus muestras en el Banco Nacional de ADN permite a los científicos disponer de muestras para investigar: 1) qué genes influyen en el desarrollo de determinadas enfermedades o en la protección frente a las mismas en la población, 2) qué enfermedades están influenciadas por el entorno en el que vive el individuo, y 3) qué genes influyen en la eficacia/resistencia a tratamientos específicos.

Toda información personal que se recopile o genere en el estudio quedará protegida de acuerdo con la legislación vigente. Para ello emplearemos las medidas que se detallan más abajo.

Descripción del proceso:

- A) Se le informará sobre los objetivos del proyecto de investigación para el que se emplearán las muestras y se le responderá a las dudas que pueda plantear.
- B) La donación de la muestra, la aportación de los datos y la participación en este proyecto es totalmente voluntaria para usted.
- C) A parte de los resultados diagnósticos que se obtengan de su muestra, no

percibirá ninguna recompensa económica o de otro tipo por los excedentes de la muestra y datos proporcionados y éstas no tendrán valor comercial.

D) La negativa a proporcionar su consentimiento no tendrá ninguna consecuencia negativa para su diagnóstico y tratamiento.

E) Rellenará un **cuestionario de salud** en el que se le pedirán datos relacionados con hábitos de vida, historia médica, medidas corporales, datos genealógicos y ambiente donde habita o trabaja, entre otros.

- Los datos del cuestionario los debe responder de manera sincera y voluntaria.
- La información contenida en el cuestionario una vez completado, será almacenada en un fichero de datos en soporte informático.
- Los datos registrados en dicho archivo serán susceptibles de ser tratados estadísticamente para los fines de investigación científica que se describen más adelante.
- Los datos podrán ser proporcionados y tratados, **de forma codificada** (sin que su identidad pueda ser conocida), por terceras personas, que podrán hacerlo exclusivamente para los fines de investigación científica para los que ha dado su consentimiento.
- En todo momento usted tendrá acceso a los datos registrados, pudiendo ejercer el derecho de rectificación, cancelación u oposición a su uso posterior a través del Hospital en el que se le ha obtenido su muestra para diagnóstico, y se le ha entregado este cuestionario de salud, o a través del Servicio General de Citometría de la Universidad de Salamanca.

F) Una vez haya completado el cuestionario, se le tomará un volumen relativamente pequeño de médula ósea que será utilizado para el diagnóstico y/o seguimiento de su enfermedad. La donación apenas tiene efectos secundarios; lo más frecuente es la aparición de pequeños hematomas en la zona de punción que desaparecen transcurridos 1 ó 2 días. Más raramente, puede provocar desvanecimiento, y excepcionalmente infección en el punto de la punción.

G) A partir de sus muestras se realizarán los análisis inmunofenotípicos y/o moleculares necesarios para el diagnóstico y seguimiento de su enfermedad. Del excedente de esas muestras que ya no son útiles para su diagnóstico, por una parte se extraerán ácidos nucleicos (ADN y/o ARN), y, por otra parte, se obtendrá plasma. En algunos casos se cultivarán células para generar una fuente inagotable de ADN de cada individuo. Los datos obtenidos del análisis del plasma (p.ej. enzimas hepáticas, inmunoglobulina, colesterol, etc.) o de las células se incorporarán al fichero de datos asociado al cuestionario de salud de cada donante.

H) Los productos obtenidos de las muestras serán almacenados y custodiados, por un período mínimo de cinco años, en el Banco Nacional de ADN.

I) Los productos obtenidos de las muestras y los datos asociados a las mismas podrán ser empleados posteriormente para otros estudios de Investigación Biomédica realizados por otros centros, nacionales o extranjeros, de acuerdo con la legislación vigente siempre que: 1) hayan sido considerados de interés científico por el grupo investigador responsable del presente proyecto, 2) que cumplan los requisitos establecidos por los comités externos del Banco Nacional de ADN, Científico y de Éticas.

J) Las muestras estarán **codificadas** de forma que la identidad del donante será desconocida para los investigadores.

K) Los Dres (responsable en el Hospital) y **Alberto Orfao**, del Servicio General de Citometría de la Universidad de Salamanca y del Banco Nacional de ADN, respectivamente, son los responsables de la custodia de las muestras almacenadas y de los datos que se generen a partir de las mismas.

L) Los análisis fenotípicos, genéticos y/o epidemiológicos realizados serán tratados estadísticamente, exclusivamente para fines de investigación biomédica, de acuerdo a lo descrito anteriormente.

M) Las personas responsables de la custodia de este documento y de las muestras y datos asociados a las mismas, garantizarán que la identidad del donante no sea accesible a los investigadores, siempre y cuando los datos o las muestras sean transferidos a un investigador dentro de ese centro o de otro centro.

N) Aunque usted podrá conocer para qué estudios de investigación han sido utilizadas sus muestras y datos personales, no se le podrá comunicar ningún resultado personal obtenido de los estudios de investigación. Sin embargo en el Banco Nacional de ADN quedará un resumen de la información general obtenida de cada proyecto que estará disponible para aquellos donantes que expresamente lo soliciten.

O) En cualquier momento el donante puede revocar su consentimiento, solicitando para ello al Banco Nacional de ADN, a través del Servicio General de Citometría de la Universidad de Salamanca o del médico responsable del hospital y, sin necesidad de especificar el motivo, la eliminación total de las muestras donadas y de la información relacionada con las mismas que en ese momento estén almacenadas en el Banco Nacional de ADN.

P) Para todo lo no previsto en este documento, se aplicará la legislación vigente sobre investigación biomédica (Ley 14/2007, de 3 de julio), protección de datos de carácter personal (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre) y cualquier otra que resultara aplicable.

Recibirá una copia de esta hoja de información y del consentimiento informado firmado por usted.

DECLARACIONES Y FIRMAS

▪ **Declaración del donante:**

He sido informado por el profesional de salud abajo mencionado:

- Sobre la voluntariedad de participar en este proyecto
- Sobre las ventajas e inconvenientes de este procedimiento.
- Sobre el lugar de obtención, almacenamiento y el proceso que sufrirán los datos personales y las muestras.
- Sobre el fin para el que se utilizarán mis muestras y datos personales (análisis diagnóstico y seguimiento de mi enfermedad y otros estudios genéticos, de salud pública o estadísticos, que cumplan todos los requisitos que exigen la ley y los comités externos Científico y de Ética del Banco Nacional de ADN).
- Que mis muestras y datos personales serán proporcionados de forma codificada a los investigadores que trabajen con ellas.
- Que en cualquier momento puedo revocar mi consentimiento y solicitar la eliminación de mis datos personales y muestras que permanezcan almacenados en el Banco Nacional de ADN.
- Que en cualquier momento puedo solicitar información genérica sobre los estudios para los que se han utilizado los productos de mis muestras.
- Que tengo derecho de acceso a mis datos personales archivados en el Banco Nacional de ADN.

He comprendido la información recibida y he podido formular todas las preguntas que he creído oportunas.

Accedo a que el personal del hospital..... y/o del Servicio General de Citometría de la Universidad de Salamanca se ponga de nuevo en contacto conmigo en el futuro, en caso de que se estime oportuno obtener una nueva muestra y/o añadir nuevos datos a los recogidos.

- Sí
 No

Nombre: Firma:

▪ **Declaración del médico de que ha informado debidamente al donante.**

Nombre: Firma:

APARTADO PARA LA REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Yo,revoco el
consentimiento de participación en el estudio, arriba firmado, con fecha
.....

Fecha de la revocación.....

Firma:

ANEXO 5. FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL REGISTRO DE DATOS

Nombre del paciente:

Usted sufre una leucemia aguda linfoblástica (LAL). Tras efectuar los estudios pertinentes, su LAL tiene características de alto riesgo. En España el grupo cooperativo PETHEMA (Programa Español de Tratamientos en Hematología) ha desarrollado un protocolo de tratamiento uniforme para todos los pacientes con la misma enfermedad y situación que usted.

Con el objetivo de conocer los resultados del tratamiento que usted reciba, al igual que ocurre con otras enfermedades, es conveniente disponer de la información relativa a los resultados de la quimioterapia en el mayor número de pacientes en que ésta se aplica. De esta manera se pueden extraer conclusiones válidas que permiten avanzar en el conocimiento acerca de las enfermedades neoplásicas y su tratamiento. La información referente a usted, a su diagnóstico y seguimiento es confidencial y será introducida de forma codificada, para preservar su anonimato, en una base de datos que permita conocer y analizar los resultados de su tratamiento, con un único interés científico.

La legislación actual exige que usted sepa que sus datos son recogidos y registrados, y que dé su consentimiento por escrito.

DECLARO

Que he sido informado por el médico después mencionado de que:

- Mis datos serán registrados en bases de datos locales, nacionales e internacionales,
- He comprendido la información recibida y podido formular todas las preguntas que he creído oportunas

Nombre:

Fecha y firma:

Declaración del médico de que ha informado debidamente al paciente

Nombre:

Fecha y firma:

Declaración del familiar, persona allegada o representante legal, de que ha recibido la información por deseo o incompetencia del paciente

Nombre:

Fecha y firma:

APARTADO PARA LA REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Yo,revoco el
consentimiento de participación en el estudio, arriba firmado, con fecha
.....

Fecha de la revocación.....

Firma:

ANEXO 6. DIAGRAMA DE FLUJO DEL ESTUDIO

