

Evolución en el tratamiento de la Leucemia Mieloide Aguda: Resultados en vida real e Impacto de la biología en el pronóstico en el momento del diagnostico y durante el tratamiento

Carlos Jiménez Vicente

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (**www.tdx.cat**) i a través del Dipòsit Digital de la UB (**diposit.ub.edu**) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (**www.tdx.cat**) y a través del Repositorio Digital de la UB (**diposit.ub.edu**) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (**www.tdx.cat**) service and by the UB Digital Repository (**diposit.ub.edu**) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

Evolución en el tratamiento de la Leucemia Mieloide Aguda: Resultados en vida real e Impacto de la biología en el pronóstico en el momento del diagnóstico y durante el tratamiento

Memoria de tesis doctoral presentada por **Carlos Jiménez Vicente**

para optar al grado de doctor por la Universidad de Barcelona

Dirigida por:

Dr. Jordi Esteve Reyner

Jefe del servicio de Hematología, Hospital Clínic de Barcelona; Lider del Grupo de Neoplasias Mieloides, Institut d'Investigacions Biomèdiques Agustí Pi i Sunyer; Profesor asociado, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona, Barcelona

Dra. Marina Diaz Beyá

Especialista senior del servicio de Hematología, Hospital Clínic de Barcelona; Grupo de Neoplasias Mieloides, Institut d'Investigacions Biomèdiques Agustí Pi i Sunyer; Colaboradora docente, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona, Barcelona

Tutorizada por:

Dr. Álvaro Urbano Ispizua

Servicio de Hematología, Hospital Clínic de Barcelona; Lider del grupo de trasplante de progenitores hematopoyéticos, Institut d'Investigacions Biomèdiques Agustí Pi i Sunyer; Catedrático de Medicina, Universidad de Barcelona, Barcelona

Programa de Doctorado: Medicina e Investigación Traslacional

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud

Abril 2025

AGRADECIMIENTOS

Antes de concretar en unas pocas personas que han contribuido de manera especial durante estos últimos años de mi vida, si estás leyendo esto, gracias a ti, independientemente de quien seas, por abrir esta tesis doctoral.

A los directores de esta tesis. A Jordi, gracias por haber intentado en algún momento ponerle control a la velocidad con la que me explico en la mayoría de las ocasiones. A Marina, gracias por las charlas, por el apoyo, y por haberme impulsado en todas las ocasiones en las que me ha costado ver el horizonte durante este proceso. Sin ti, no podría estar escribiendo estas líneas.
A todos los facultativos y compañeros que me han formado en el Hospital Clinic durante los últimos siete años de mi vida y han despertado en mí la ambición de querer ayudar más y mejor, y la humildad de saber que siempre se puede mejorar en cada paso. A Tycho, por ser la primera persona que confió en darme una responsabilidad académica. A Alexandra, por ser la primera persona que me hizo creer que era capaz de hacer cosas bien.
A los pacientes, por ser el motor fundamental que hace que esto merezca la pena.
A Sandra, por ser mi compañera desde que llegué, mi amiga desde el día 1, y convertirse un miembro indispensable de mi equipo.
A Laia, porque eres la mejor amiga que podría haber deseado cuando llegué a Barcelona, y no sé cómo agradecerte el cariño recibido durante todo este tiempo.
A Alberto, por los consejos, los conciertos y por ser simplemente el mejor pilar en el que poder apoyarme.

A mi familia. A Agustín y Carolina, mis padres, porque espero que veáis reflejados en esta tesis los valores en los que me habéis criado, y entendáis que son la base fundamental de todo lo que hago a día de hoy. Que, sin vosotros, no podría haber llegado hasta aquí. A Antonio, Saleta y María, porque no podría haber tenido más suerte con vuestra compañía, y porque hacéis que la distancia no signifique nada. A Tommi, por el amor más fiel que puedo esperar, por la eterna alegría, y por enseñarme lo simple que deben ser las cosas buenas.

A Amanda, mi compañera de vida. Por estar siempre, por no querer marcharte, por el futuro. Por querer dar las gracias por cada día que pasa por tenerte a mi lado, y demostrarme lo bonito que es vivir. Porque cada palabra se queda corta.

“Nothing behind me, everything ahead of me, as is ever so on the road.”

— Jack Kerouac, On the Road

FINANCIACIÓN

Esta tesis se ha financiado mediante dos proyectos FIS cofinanciados por la Unión Europea:

- PI19/01476 titulado “Caracterización clínico-biológica de la leucemia mieloide aguda no definida molecularmente: perfil mutacional y de expresión génica, arquitectura clonal, pronóstico y sensibilidad a nuevos tratamientos”.

- PI22/01660 titulado “Análisis de la enfermedad residual medible (MRD), los mecanismos de progresión y dianas terapéuticas en la leucemia mieloide aguda tratada con nuevos regímenes de baja intensidad”.

Estos proyectos han sido concedidos por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) a través del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica de Innovación (FEDER).

Adicionalmente esta tesis ha sido respaldada por:
- La Convocatòria d'Intensificació Interna per als professionals de l'HCB 2023 concedida a Marina Díaz Beyá
- Beca de la Fundació Marató TV3 sobre el Cáncer 201 201930-31

INDICE

INDICE DE TABLAS. 10

INDICE DE FIGURAS 11

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS 13

ENUMERACIÓN DE LOS ARTÍCULOS DE LA TESIS 15

RESUM DE LA TESI 18

INTRODUCCIÓN 22

1. Leucemia Mieloide Aguda 22

1.1. Definición de Leucemia Mieloide Aguda 23

1.2. Etiopatogenia de la LMA 23

1.2.1. Hematopoyesis clonal y LMA 26

1.2.2. Neoplasias mieloides con predisposición germinal 28

1.3. Epidemiología 31

1.4. Diagnóstico 34

1.4.1. Morfología 34

1.4.2. Citometría de Flujo Multiparamétrica 36

1.4.3. Análisis biológico: Citogenética y secuenciación génica mediante paneles comerciales de nueva generación (NGS) 37

1.5. Clasificación 54

1.5.1. Clasificaciones diagnósticas de LMA en el momento actual 55

1.5.1.1. 5ª clasificación de la Organización Mundial de la Salud de neoplasias mieloides y linfoproliferativas: 55

1.5.1.2. Clasificación ICC 2022 para neoplasias mieloides 58

1.5.1.3. Comparativa entre la 5ª clasificación de la OMS y la clasificación ICC 2022 63

2. Tratamiento de la Leucemia Mieloide Aguda 65

2.1. Tratamiento de primera línea 65

2.1.1. Pacientes tributarios a tratamiento intensivo 66

2.1.1.1. Quimioterapia intensiva y agentes adicionales. 66

2.1.1.2. Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos 70

2.1.2. Tratamientos de baja intensidad 73
2.1.2.1. Venetoclax en combinación con agentes hipometilantes 73
2.1.2.2. Ivosidenib en combinación con azacitidina 75
2.1.2.3. Otras opciones terapéuticas 76
2.2. Tratamiento de la enfermedad refractaría o en recaída 78
2.3. Criterios de respuesta al tratamiento de acuerdo a la European LeukemiaNet 2022 80
3. Factores pronósticos 83
3.1. Factores pronósticos dependientes del paciente 83
3.1.1. Edad, comorbilidades y fragilidad 83
3.1.2. Factores socioeconómicos 85
3.2. Anomalías biológicas en el diagnóstico inicial 87
3.2.1. Tratamiento con quimioterapia estándar 87
3.2.1.1. Del valor de la citogenética a las escalas de la European LeukemiaNet (ELN) 87
3.2.1.2. Clasificación de riesgo de la ELN 2022 90
3.2.2. Tratamientos de baja intensidad 95
3.2.2.1. Clasificación de riesgo de la ELN 2024 para tratamientos de menor intensidad 96
3.2.2.2. Clasificación de riesgo refinada Beat-AML de la ELN 2022 para tratamientos de menor intensidad 98
3.2.2.3. Clasificación de riesgo Mayo Genetic Model para tratamientos de menor intensidad 99
3.3. Marcadores dinámicos: Enfermedad Residual Medible (ERM) 101
3.3.1. Citometría de flujo multiparamétrica 103
3.3.2. Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa medida en tiempo real 104
3.3.3. Secuenciación génica (NGS) 105
3.3.4. Droplet-digital PCR 106
3.3.5. Valor clínico de la ERM en tratamiento con quimioterapia estándar 108
3.3.6. Valor clínico de la ERM en tratamientos de baja intensidad 112

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS 113
1. Hipótesis 114
2. Objetivos 115
MATERIALES, MÉTODOS Y RESULTADOS 116
1. Primera publicación 117
2. Segunda publicación 139
3. Tercera publicación 156
4. Cuarta publicación 170
5. Quinta publicación 178
6. Sexta publicación 189
DISCUSIÓN 212
CONCLUSIONES 227
BIBLIOGRAFÍA 229

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Alteraciones físicas y químicas relacionadas con el desarrollo de LMA 26

Tabla 2. Neoplasias mieloides con predisposición germinal de acuerdo a la clasificación de la ICC 2022 30

Tabla 3. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con vías de señalización y proliferación mieloide 40

Tabla 4. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con supresión tumoral 43

Tabla 5. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con la modificación de la cromatina 46

Tabla 6. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con la metilación de DNA 47

Tabla 7. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con splicing 48

Tabla 8. Alteraciones en gen de NPM1 en la LMA 49

Tabla 9. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con el complejo de la cohesina 50

Tabla 10. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con factores de transcripción mieloide 51

Tabla 11. Clasificación de LMA de acuerdo con la clasificación FAB 53

Tabla 12. Clasificación de leucemia mieloide aguda (LMA) según la 5ª clasificación de la OMS con el umbral de blastos necesario para el diagnóstico de cada entidad 55

Tabla 13. Clasificación de LMA según la ICC 2022, con el umbral de blastos necesario para el diagnóstico de cada entidad 58

Tabla 14. Terapias dirigidas en pacientes diagnosticados de LMA en situación de enfermedad refractaria o en recaída en el momento actual 79

Tabla 15. Criterios de respuesta de acuerdo a la European LeukemiaNet 2022 81

Tabla 16. Criterios consensuados de Ferrara para la definición de comorbilidades que contraindican el tratamiento intensivo en pacientes diagnosticados de LMA 84

Tabla 17. Clasificación del riesgo genético de LMA en el momento del diagnóstico según la ELN 2022 94

Tabla 18. Clasificación del riesgo genético de LMA en el momento del diagnóstico en pacientes tratados con regímenes de baja intensidad según la ELN 2024 97

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de transformación de los progenitores hematopoyéticos en progenitores leucémicos	24
Figura 2. Fish plot que muestra el proceso evolutivo de un paciente desde que se detecta una hematopoyesis clonal de significado incierto hasta el desarrollo posterior de LMA secundaria con paso previo de síndrome mielodisplásico	28
Figura 3. Incidencia de LMA según los registros sueco, de países nórdicos y estadounidense por rango de edad en las últimas dos décadas	32
Figura 4. Supervivencia relativa en pacientes diagnosticados de LMA en EE.UU. de 2000 a 2018	33
Figura 5. Promielocitos atípicos presentes en una extensión de sangre periférica teñida con la tinción de May-Grünwald-Giemsa, característicos de la LPA	35
Figura 6. Análisis de una LMA mediante citometría de flujo en la que se observa una población blástica en un panel de orientación de leucemia aguda	37
Figura 7. Imagen que muestra una prueba de FISH con una sonda de hibridación para el gen BCL6 que muestra un reordenamiento del mismo	38
Figura 8. Algoritmo diagnóstico de LMA según la 5ª clasificación de la OMS	57
Figura 9. Algoritmo diagnóstico de LMA y SMD/LMA según la ICC 2022	62
Figura 10. Impacto de la adición de gemtuzumab-ozogamicina fraccionada asociado a quimioterapia en pacientes con LMA de novo	67
Figura 11. Eje cronológico de la aprobación de fármacos para pacientes diagnosticados de LMA según la FDA hasta 2022	68
Figura 12. Supervivencia global en pacientes en los que se añadió midostaurina respecto a los que recibieron placebo según el ensayo clínico RATIFY	69
Figura 13. Supervivencia de pacientes tratados con venetoclax y azacitidina comparada con azacitidina y placebo en el ensayo clínico fase III VIALE-A	75
Figura 14. Supervivencia de pacientes tratados con ivosidenib y azacitidina comparada con azacitidina y placebo en el ensayo clínico fase III AGILE	76
Figura 15. Supervivencia en pacientes diagnosticados de LMA según anomalías citogenéticas al diagnóstico (clasificación OMS 2008)	89
Figura 16. Comparativa de la estratificación de la supervivencia en pacientes de baja intensidad según ELN 2022 vs. Beat-AML	99

Figura 17. Comparativa de la estratificación de la supervivencia en pacientes de baja intensidad según ELN 2024 (derecha) vs. Mayo Genetic Risk Model (izquierda) 101

Figura 18. Algoritmo de seguimiento temporal tras inicio de tratamiento de la Enfermedad Residual Medible según recomendaciones ELN 2021 107

Figura 19. Algoritmo de puntos de corte de la Enfermedad Residual Medible según LeukemiaNet 2021 109

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AloTPH: Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

Ara-C: Citarabina

CBF: Core-binding factor

CFM: Citometría de Flujo Multiparamétrica

CHIP: Hematopoyesis clonal de significado incierto (*Clonal hematopoiesis of indeterminate potential*)

CIR: Incidencia acumulada de recaída

DA: Daunorrubicina

ddPCR: Reacción en cadena de la polimerasa droplet digital

DNA: Ácido desoxirribonucleico

EAC: Europe Against Cancer Group

ELN: European LeukemiaNet

ERM: Enfermedad Residual Medible

FDA: Food and Drug Administration

FISH: Hibridación In Situ Fluorescente (*Fluorescent In Situ Hybridation)*

FSC: Patrón de dispersión frontal (*Frontal Scatter*)

GO: Gemtuzumab-ozogamicina

HR: Razón de riesgos (Hazard Ratio)

LAIP: Inmunofenotipo asociado a la leucemia (*Leukemia-associated immunophenotype*)

LFS: Supervivencia libre de leucemia

LMA: Leucemia Mieloide Aguda

LMC: Leucemia Mieloide Crónica

LPA: Leucemia Promielocítica Aguda

LSC: Célula madre de leucemia (*Leukemia-stem cell*)

MO: Médula ósea

NGS: Secuenciación génica de nueva generación (*Next-generation sequencing*)

NMPC: Neoplasia Mieloproliferativa Crónica

OMS: Organización Mundial de la Salud

OS: Supervivencia global

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

PTCY: Ciclofosfamida post trasplante

RC: Respuesta completa

RCi: Respuesta completa sin recuperación hemoperiférica completa

RNA: Ácido Ribonucleico

RT-qPCR: Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa medida en tiempo real

R/R: Refractario o en Recaída

SMD: Síndrome mielodisplásico

SP: Sangre periférica

SSC: Patrón de dispersión lateral (*Side scatter*)

TBI: Tratamiento de baja intensidad

VAF: Frecuencia de variante alélica (*Variant allele frequency*)

VenAza: Venetoclax en combinación con azacitidina

VenHMA: Venetoclax en combinación con agentes hipometilantes

Enumeración de los artículos de la tesis:

Tesis en formato de compendio de publicaciones. La tesis consta de 5 objetivos y de 6 publicaciones originales, incluyendo 3 artículos originales, que se enumeran a continuación:

1. **Jimenez-Vicente C**, Charry P, Castaño-Diez S, Guijarro F, López-Guerra M, Pérez-Valencia AI, Martínez-Roca A, Cortés-Bullich A, Munárriz D, Solano MT, Rosiñol L, Carreras E, Urbano-Ispizua A, Fernández-Avilés F, Martinez C, Suarez-Lledó M, Diaz-Beyá M, Rovira M, Salas MQ, Esteve J. Evaluation of European LeukemiaNet 2022 risk classification in patients undergoing allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukaemia: Identification of a very poor prognosis genetic group.
   Nombre de la revista, año, volumen y páginas: British Journal of Haematology, 2024, 205(1), 256-267.
   Factor de impacto y cuartil: 5.1, Q1

2. **Jimenez-Vicente C**, Esteve, J, Baile-González, M, Pérez-López, E, Martín Calvo, C, Aparicio, C, Oiartzabal Ormategi, I, Esquirol, A, Peña-Muñóz, F, Fernández-Luis, S, Heras Fernando, I, González-Rodríguez, AP, López-García, A, López-Lorenzo, JL, Torrado, T, Sáez Marín, AJ, Acosta Fleytas C, García, L, Villar, S, Filaferro, S, Basalobre, P, Pascual Cascón, M. J, Salas, MQ. Allo-HCT Refined ELN 2022 Risk Classification: Validation of the Adverse-Plus Risk Group in AML Patients Undergoing Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation Within the Spanish Group for Hematopoietic Cell Transplantation (GETH-TC).
   Nombre de la revista, año, volumen y páginas: Blood Cancer Journal. 2025, 15, Articulo 42
   Factor de impacto y cuartil: 12.9, Q1, D1

3. **Jimenez-Vicente C**, Guardia-Torrelles A, Pérez-Valencia AI, Martínez-Roca A, Castaño-Diez S, Guijarro F, Cortés-Bullich A, Merchán B, Triguero A, Hernández I, Brillembourg H, Munárriz D, Zugasti I, Fernández-Avilés F, Diaz-Beyá M, Esteve J. Clinical management of patients diagnosed with acute myeloid leukemia treated with venetoclax in combination with hypomethylating agents after achieving a response: a real-life study.
Nombre de la revista, año, volumen y páginas: Annals of Hematology, 2024, 103, 4033-4043
Factor de impacto y cuartil: 3.0, Q2

4. **Jimenez-Vicente C**, Martínez-Roca A, Pomares H, Castaño-Diez S, Guijarro F, López-Guerra M, Bataller A, Esteban D, Cortés-Bullich A, Pérez-Valencia AI, Guardia-Torrelles A, Zugasti I, Rovira M, Fernández-Avilés F, Colomer D, Arnan M, Diaz-Beyá M, Esteve J. Venetoclax with hypomethylating agents might lead to eradication of measurable residual disease (MRD) persisting after intensive chemotherapy in acute myeloid leukemia (AML) patients with mutated NPM1 and rearranged CBF.
Nombre de la revista, año, volumen y páginas: Leukemia Research. 2023, 135, 107403. Carta al editor
Factor de impacto y cuartil: 2.1, Q3

5. **Jimenez-Vicente C**, Arribas I, Pomares H, Ramil G, Castaño-Diez S, Pérez-Valencia AI, Sturla AL, López-Guerra M, Martinez-Roca A, Zugasti I, Guijarro F, Cortés-Bullich A, Merchán B, Triguero A, Monge I, Tuca A, Oñate G, Garrido A, Sierra J, Arnan M, Esteve J*, Díaz-Beyá M*. Real-Life Outcome After Failure to Venetoclax and Hypomethylating-Based Therapy for Acute Myeloid Leukemia.
Nombre de la revista, año, volumen y páginas: Haematologica, 2025, Early view. Doi:10.3324/haematol.2024.286589. Carta al editor
Factor de impacto y cuartil: 8.2, Q1

6. **Jimenez-Vicente C**, Cardus A, Castaño-Diez S, Ramil G, Garcia-Avila S, Gomez-Perez L, Esteban D, Arribas I, Sturla AL, Lopez-Guerra M, Martinez-Roca A, Cortes-Bullich A, Perez-Valencia AI, Zugasti I, Monge I, Carcelero E, Vall-Llovera F, Vives S, Sierra J, Nomdedeu J, Oñate G, Garrido A, Pratcorona M, Pomares H, Arnan M, Guijarro F, Diaz-Beya M, Esteve J; on behalf of the Spanish CETLAM Group. Prognostic value of measurable residual disease (MRD) for venetoclax in combination with hypomethylating agents in patients diagnosed with acute myeloid leukemia: validation of the ELN-2021 MRD recommendations

   Nombre de la revista, año, volumen y páginas: Blood Cancer Journal, 2025, aceptado, pendiente de publicación. Correspondencia

   Factor de impacto y cuartil: 12.9, Q1, D1

Resum de la tesi:

Titol: Evolució en el tractament de la Leucèmia Mieloide Aguda: Resultats en vida real i Impacte de la biologia al pronòstic en el moment del diagnòstic i durant el tractament

Introducció:

La leucèmia mieloide aguda (LMA) és una malaltia caracteritzada per una elevada heterogeneïtat biològica que es tradueix en opcions terapèutiques poc efectives en subgrups de risc advers. Per tot això, la malaltia comporta actualment una supervivencia curta a la majoria dels pacients en el moment actual.
L'European LeukemiaNet (ELN) va publicar el 2022 una nova estratificació de risc per a la LMA, però aquestes escales caldrà validar-les en cohortes àmplies, i especialment en pacients que reben un trasplantament al·logènic de progenitors hematopoiètics com a consolidació. D'altra banda, els tractaments de baixa intensitat han demostrat una alta eficàcia antileucèmica, però en la pràctica clínica real el seguiment i el maneig a llarg termini de les efectes adverses són encara un repte, donat que els pacients que responen mantenen el tractament fins a la progressió si es pot.

Hipòtesis:

1. Resulta necessari verificar l'ELN 2022 en una població àmplia, amb especial atenció als pacients sotmesos a trasplantament al·logènic.
2. Els pacients que no són candidats a quimioteràpia intensiva i reben tractament amb combinacions de venetoclax presenten major risc de complicacions durant els cicles inicials, previ a la resposta hematológica.
3. Els règims de baixa intensitat amb venetoclax podrien constituir una alternativa terapèutica en pacients amb malaltia residual persistent o recaiguda molecular després de quimioteràpia intensiva.
4. El monitoratge de la malaltia residual mesurable en combinacions de venetoclax podria influir significativament en la supervivència i contribuir a la identificació de

pacients amb major risc de recaiguda. La recidiva després d'aquests esquemes terapèutics s'associa amb una supervivència notablement reduïda.

Objectius:

1. Avaluar la capacitat predictiva de l'escala ELN 2022 respecte als resultats post-trasplantament al·logènic, tant en pacients de l'Hospital Clínic de Barcelona com en el col·lectiu del grup GETH-TC.
2. Identificar les alteracions genètiques específiques dins la classificació ELN 2022 que modifiquen el perfil de risc en pacients trasplantats.
3. Determinar l'impacte del monitoratge seqüencial de la malaltia residual mesurable (MMR) en la supervivència dels pacients sotmesos a tractaments de baixa intensitat amb venetoclax.
4. Quantificar i caracteritzar els efectes adversos associats a l'assoliment de remissió completa mitjançant tractaments de baixa intensitat.
5. Avaluar l'eficàcia terapèutica i l'impacte en la supervivència de l'administració precoç de règims de baixa intensitat amb venetoclax en pacients amb recaiguda o persistència de malaltia residual molecular després de quimioteràpia intensiva.

Mètodes:

S'ha dut a terme un estudi retrospectiu en pacients diagnosticats de LMA, incloent l'anàlisi de dades clíniques, citogenètiques i moleculars, tant de pacients candidats a tractaments de baixa intensitat com de pacients sotmesos a trasplantament al·logènic. S'han utilitzat tècniques de seqüenciació massiva per identificar mutacions rellevants al diagnòstic, y el seguiment de la MMR s'ha dut a terme següent les indicacions de l'ELN al 2021. El valor pronòstic de les caracteristiques analitzadas s'ha fet mitjançant models estadístics per avaluar la supervivència global i la supervivència lliure de malaltia.

Resultats principals:

L'escala de risc de ELN 2022 estratifica de manera adequada en tres grups als pacients sotmesos a trasplantament al·logènic de progenitors hematopoètics amb diferencies clares en la supervivencia. A més, s'evidencia un subgrup de molt alt risc (Adverse Plus, AdvP) que inclou pacients diagnosticats amb cariotip complex, mutació de *TP53* i/o reordenaments de *MECOM* que tenen un pronòstic ominós, amb una supervivencia inferior a 1 any. La separació daquesta categoria del risc advers estratifica de manera més adequada a aquests pacients segons la validació d'aquesta hipótesis amb pacients transplantats à Espanya.

Els pacients diagnosticats de leucèmia mieloide aguda que reben tractaments de baixa intensitat basats en combinacions de venetoclax presenten una baixa taxa d'efectes adversos després de la resposta hematològica. A més, la reducció de dosis i les mesures de suport ajuden a millorar la qualitat de vida i reduir aquesta taxa d'efectes adversos en aquests pacients. Aquests pacients presenten més supervivència si presenten durant el seguiment una negativització de la MMR, seguint per a la seva anàlisi les mesures establertes per l'ELN al any 2021. En els pacients analitzats al grup CETLAM, aquest factor va ser l'únic que va tenir impacte pronòstic en l'anàlisi multivariada. Aquests pacients presenten una supervivència molt curta, inferior als 3 mesos, després de la recaiguda morfològica degut a la limitada oferta d'opcions terapèutiques.

Finalment, les combinacions basades en venetoclax poden servir com a opció terapèutica eficaç de rescat molecular en els pacients del grup favorable de l'escala ELN 2022 tractats amb quimioteràpia estàndard que presenten una persistència de la malaltia a nivell molecular o una recaiguda a aquest nivell després del tractament amb quimioteràpia inicialment.

Conclusions:

La incorporació del subgrup AdvP refina encara més l'estratificació biològica, identificant els que requereixen estratègies específiques per prevenir actualment la recaiguda postrasplantament i millorar-ne la supervisió. Després d'assolir la resposta hematológica amb VenHMA, la majoria dels pacients continúen presentant citopènies que es poden controlar eficaçment mitjançant ajustaments de dosi i suport transfusional. La monitorització de la MMR mostra un impacte pronòstic notable sobre la supervivència global i lliure de leucèmia, subratllant-ne el valor fins i tot en teràpies de baixa intensitat. Tot i això, després de la recaiguda morfològica, la supervivència en pacients tractats amb VenHMA continua sent ominosa per la manca d'opcions efectives. Per finalitzar, VenHMA també resulta eficaç com a tractament de rescat en pacients de risc biològic favorable que presenten malaltia molecular residual o recaiguda després de quimioteràpia estàndard

Paraules clau: Leucemia mieloide aguda, estratificació pronòstica, transplantament al·logènic, malaltia residual mesurable, baixa intensitat.

Introducción

1. Leucemia Mieloide Aguda: Epidemiología, diagnóstico y clasificación

1.1. Definición de Leucemia Mieloide Aguda

La leucemia mieloide aguda (LMA) se define como una neoplasia hematológica originada en los precursores hematopoyéticos mieloides de la médula ósea, que experimentan un conjunto de eventos genéticos hasta adquirir un fenotipo leucémico (1).

Se caracteriza por una expansión clonal anómala asociada al bloqueo en la maduración. Estos hechos conducen a una insuficiencia medular adquirida de rápida instauración en la mayoría de casos. En sangre periférica, la LMA se manifiesta con leucocitosis con presencia de blastos leucémicos, y citopenias graves, que pueden comprometer la vida del paciente.

Las manifestaciones clínicas en el momento del diagnóstico pueden variar de manera ostensible debido a la heterogeneidad biológica que caracteriza a la LMA. Muchos de los signos y síntomas clínicos, como la fiebre, la astenia o la diátesis hemorrágica, pueden ser inespecíficos, si bien se relacionan con las características más destacadas de la enfermedad. Debido a la posibilidad de infiltración desde la sangre periférica, pueden aparecer síntomas localizados debidos a la infiltración tisular en prácticamente cualquier órgano del paciente (2).

A nivel biológico, la LMA se define como una expansión clonal originada a partir de una célula madre hematopoyética, inicialmente sana, que adquiere mutaciones somáticas específicas para el desarrollo de la entidad y posee capacidad de autorrenovación (3,4).

Por otra parte, la población leucémica posee una estructura jerárquica, que remeda la arquitectura hemopoyética normal, dentro de la que es esencial la subpoblación de células madres de leucemia (*leukemia-stem cell o LSC,* en inglés) (5),. La LSC es la célula precursora sobre la que se desarrolla la enfermedad. Además de estas

características, las LSC poseen otras características funcionales como la quiescencia celular y la resistencia al tratamiento con quimioterapia, y se ha hipotetizado que adquieren de manera progresiva nuevas mutaciones que transforman su naturaleza, confiriéndoles cada vez mayor agresividad (4). Esta modificación progresiva explicaría la variabilidad en la respuesta al tratamiento, y la posible recaída de la enfermedad a posteriori.

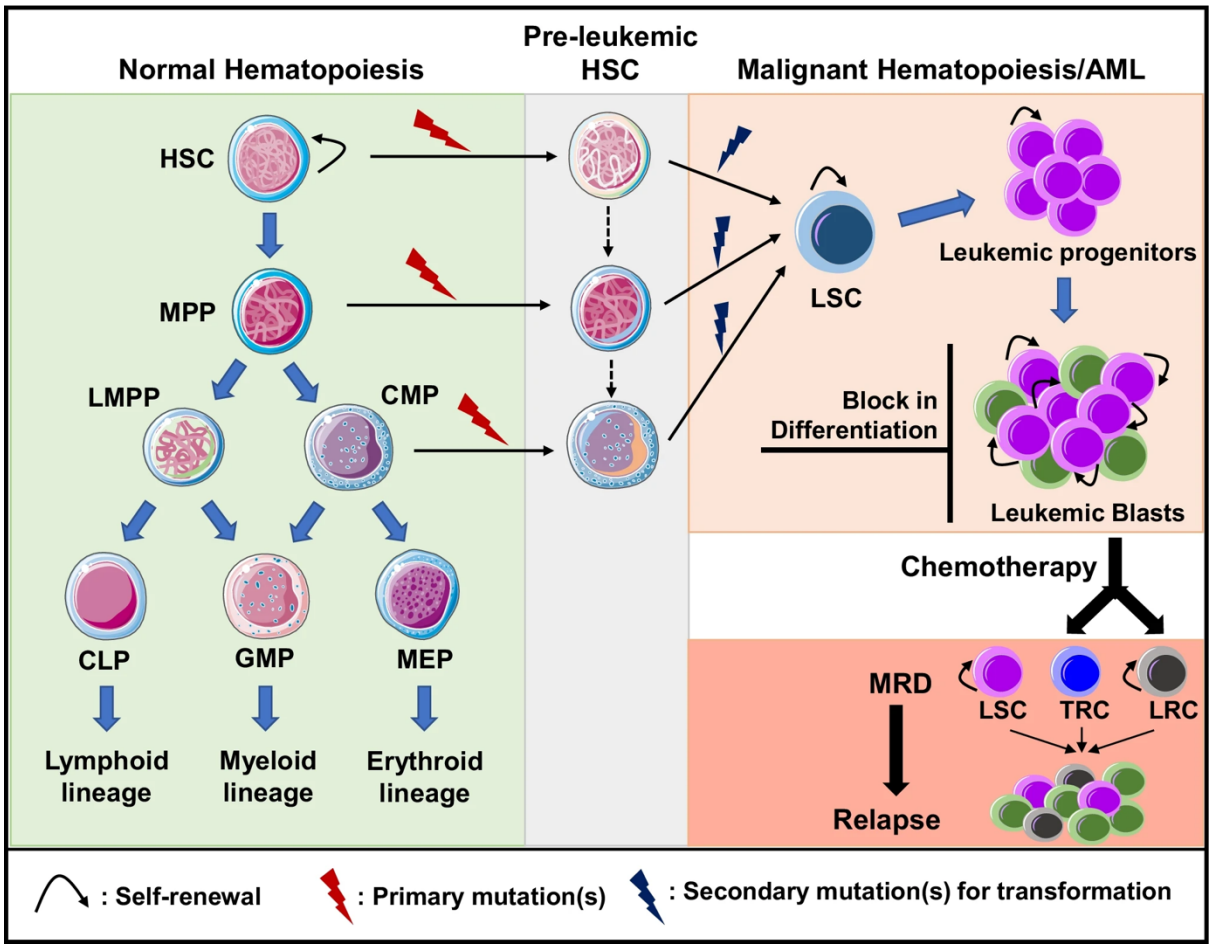


Figura 1. Proceso de transformación de los progenitores hematopoyéticos en progenitores leucémicos. En la hematopoyesis normal (verde), las células madre hematopoyéticas (HSC) dan lugar a progenitores multipotentes (MPP), que pueden diferenciarse en linfoides (LMPP), mieloides comunes (CMP), linfoides comunes (CLP), progenitores de granulocitos y macrófagos (GMP) y progenitores de megacariocitos (MEP). Las mutaciones primarias en LSC dan lugar a células madre preleucémicas, que, con el tiempo, pueden transformarse aún más en células madre leucémicas (LSC), que desarrollan la enfermedad. Tras quimioterapia, existen células

resistentes (TRC), LSC que son quimiorresistentes y células con capacidad autorregenerativa transitoria (LRC), que pueden ser las células efectoras de la recaída de la enfermedad. Extraída de Long NA et al., Stem Cells Reviews and Reports 2022 (3).

1.2. Etiopatogenia de la LMA

En la mayoría de los casos, las alteraciones biológicas que desencadenan la LMA se desarrollan de manera espontánea, sin antecedentes hematopoyéticos clínicamente evidentes (*"de novo"*). En la actualidad, se han descrito un gran número de alteraciones genéticas diferentes con potencial patogénico gracias al estudio de cohortes con un número elevado de pacientes (6, 7).

Además de las numerosas mutaciones que conducen al desarrollo de la enfermedad, se ha demostrado que existe una interacción entre las diferentes mutaciones que se pueden hallar en el paciente, estableciéndose una jerarquía mutacional en el blasto. Inicialmente, se formuló una teoría inicial que se denominó *"teoría de los dos impactos"* (8, 9).

Esta hipótesis establecía una jerarquía mutacional simple entre mutaciones que se incluían en dos clases en función del impacto de la mutación en el desarrollo de la enfermedad. Actualmente, se sabe que estas interacciones responden a un sistema jerárquico mucho más complejo, que varía en función de las mutaciones presentes en cada paciente.

Pese a que la mayoría de eventos patogénicos son considerados como esporádicos, existen factores de riesgo para desarrollar LMA como la edad, el uso de productos químicos (benceno, pesticidas), incluyendo tratamiento con quimioterapia previo (10, 11), la radiación (12, 13) o el consumo de tabaco (14). También se incluyen como

factores de riesgo síndromes hereditarios y mutaciones con predisposición germinal para el desarrollo de LMA.

La relevancia de la edad y el incipiente descubrimiento de nuevos mecanismos patológicos relacionados con la predisposición germinal merecen un breve comentario específico dentro de este apartado.

Procesos físicos y productos químicos
Benceno
Fumar cigarrillos
Pesticidas
Fluidos de embalsamamiento
Radiación
Radioterapia
Terapia con yodo radiactivo (I-131)
Agentes alquilantes
Inhibidores de la topoisomerasa II
Azatioprina y otros fármacos

Tabla 1. Alteraciones físicas y químicas relacionadas con el desarrollo de LMA. Tabla realizada por el doctorando para la presente tesis.

1.2.1. Hematopoyesis clonal y LMA

Se estima que hasta un 20% de los diagnósticos de LMA pueden ser secundarias a tratamientos o enfermedad previas(15). La causa más frecuente de LMA secundaria es la progresión desde otras neoplasias mieloides previas, como síndromes mielodisplásicos o neoplasias mieloproliferativas crónicas previas que han presentado una evolución clonal(16, 17).

Con el envejecimiento, se adquieren de manera frecuente mutaciones somáticas en las células progenitoras hematopoyéticas de personas sin LMA. Estos eventos favorecen el crecimiento clonal de la hematopoyesis relacionada con la enfermedad, produciéndose una ventaja proliferativa respecto a la hematopoyesis normal. Este evento se considera el primer paso para el posterior desarrollo de LMA.

A este concepto se le denomina en la actualidad hematopoyesis clonal relacionada con la edad (*age-related clonal hematopoiesis* o *ARCH*, en inglés) (18,19). Dada la alta prevalencia de mutaciones somáticas en este contexto, se necesita de una frecuencia de la variante alélica mínima (VAF) para poder considerar la mutación relevante, que se ha establecido en un 2%.

Si esta mutación relacionada con hematopoyesis clonal no se acompaña de ninguna aberración clínica se conoce actualmente como hematopoyesis clonal de significado incierto (*Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential, CHIP*) (20).

La presencia de CHIP se ha relacionado con una supervivencia menor por un riesgo hasta 13 veces superior de desarrollo hematopatías malignas por un riesgo de transformación a LMA que se encuentra en torno a un 1% (21). Además, las personas portadoras de CHIP tienen una esperanza de vida inferior respecto a las personas de misma edad y sexo sin CHIP. El impacto en la supervivencia de la CHIP se debe, en parte, a una mayor incidencia de riesgos cardiovasculares (18)

Los factores que diferencian la CHIP de un estado preleucémico establecido incluyen un número mayor de mutaciones presentes, una mayor VAF de estas mutaciones y la presencia de mutaciones en genes característicos de CHIP como *DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1,* relacionados con la regulación epigenética, *SF3B1* o *SRSF2* con función de *splicing* o genes que intervienen en la reparación del ácido desoxirribonucleico (DNA) como *TP53* o *PPM1D* (22,23)

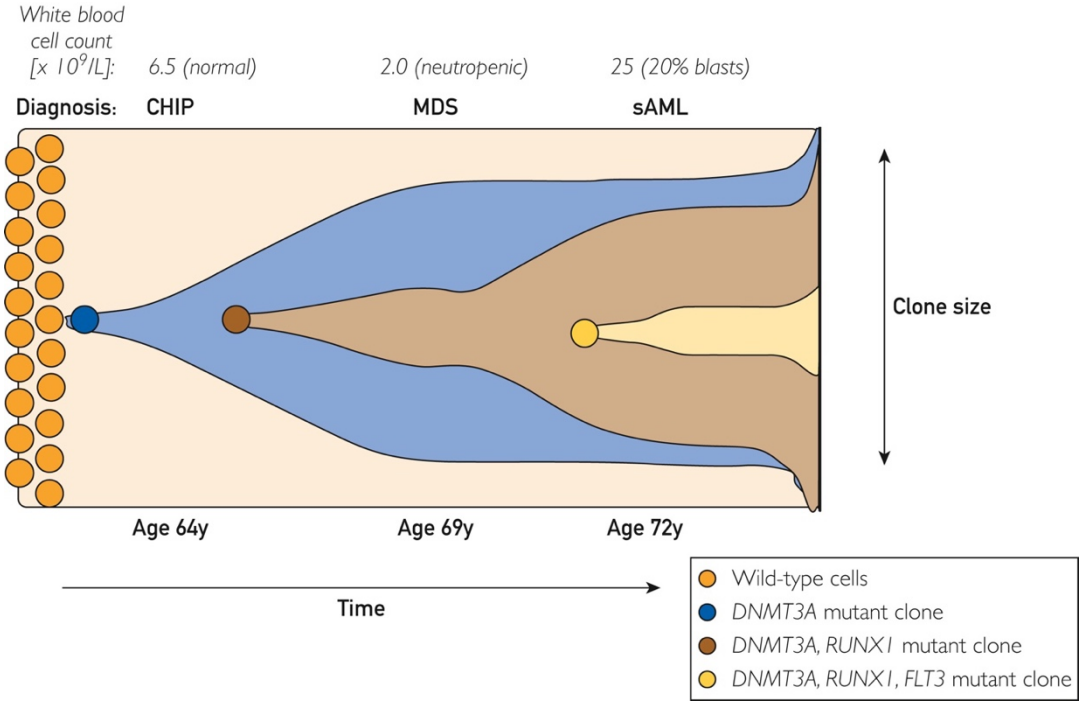


Figura 2. Fish plot que muestra el proceso evolutivo de un paciente desde que se detecta una hematopoyesis clonal de significado incierto (CHIP) hasta el desarrollo posterior de LMA secundaria (sAML) con el paso previo de SMD (MDS). Durante la evolución, los colores representan la ganancia progresiva de mutaciones relacionadas con neoplasias mieloides. Extraído de Steensma D.P. et al., *Mayo Clinic Proceedings* 2018 (24)

1.2.2. Neoplasias mieloides con predisposición germinal

Se estima que, según estudios recientes, hasta un 10% de los casos de LMA pueden derivar de una predisposición germinal (25). Este elevado porcentaje obliga a descartar un origen germinal en todos los nuevos diagnósticos de LMA, pero es especialmente relevante en pacientes jóvenes y en aquellos con mutaciones con una elevada VAF en el momento del diagnóstico (26).

Nuevos descubrimientos como las neoplasias mieloides con predisposición germinal por mutaciones en *DDX41*, con un tiempo largo de latencia que puede llegar a ser superior a las seis décadas (27–29), o la detección de nuevas mutaciones con predisposición germinal como *ATM* (30) constituyen ejemplos de la necesidad de explorar con mayor detenimiento el papel de la predisposición germinal en la LMA, una enfermedad generalmente asociada a una patogenia derivada de mutaciones somáticas esporádicas.

En este contexto, las nuevas clasificaciones han ampliado el número de genes y categorías que predisponen tanto a leucemias agudas de estirpe mieloide como linfoide (incluyendo genes como el ya mencionado *DDX41*, *SAMD9*, *SAMD9L*, *IKZF1*, *PAX5* o *TP53*).

Conocer el posible origen germinal de la neoplasia mieloide es relevante para poder establecer un diagnóstico preciso, orientar el tratamiento de la enfermedad, y de manera crucial, identificar donantes emparentados para el trasplante de progenitores hematopoyéticos para evitar el desarrollo de nuevas neoplasias mieloides derivadas del donante (26,31,32). Por último, el perfil mutacional adquirido asociado a la mutación germinal, el hallazgo de rasgos displásicos o fenotípicos específicos del individuo en el momento del desarrollo de la LMA pueden ayudar al seguimiento estrecho de los familiares que puedan estar también predispuestos al desarrollo de las

Neoplasias mieloides con predisposición germinal
Neoplasias hematológicas con predisposición germinal sin trastorno constitucional que afecte múltiples sistemas de órganos
Neoplasias mieloides o linfoides con mutación germinal en *DDX41*
Neoplasias mieloides o linfoides con mutación germinal en *TP53*
Neoplasias hematológicas con predisposición germinal asociada a un trastorno constitucional de plaquetas
Neoplasias mieloides o linfoides con mutación germinal en *RUNX1*
Neoplasias mieloides con mutación germinal en *ANKRD26*
Neoplasias mieloides o linfoides con mutación germinal en *ETV6*
Neoplasias hematológicas con predisposición germinal asociada a un trastorno constitucional que afecta múltiples sistemas de órganos
Neoplasias mieloides con mutación germinal en *GATA2*
Neoplasias mieloides con mutación germinal en *SAMD9*
Neoplasias mieloides con mutación germinal en *SAMD9L*
Neoplasias mieloides asociadas a síndromes de falla de médula ósea
Anemia de Fanconi
Síndrome de Shwachman-Diamond
Trastornos de la biología de los telómeros, incluyendo disqueratosis congénita
Neutropenia congénita grave
Anemia de Diamond-Blackfan
Leucemia mielomonocítica juvenil asociada a neurofibromatosis
Leucemia mielomonocítica juvenil asociada a un trastorno similar al síndrome de Noonan
Neoplasias mieloides o linfoides asociadas al síndrome de Down

Tabla 2. Neoplasias mieloides con predisposición germinal de acuerdo a la clasificación de la ICC 2022. Adaptada de (31)

1.3. Epidemiología

La LMA representa la leucemia más frecuente en el mundo actual con una incidencia y prevalencia en aumento, debido fundamentalmente al envejecimiento de la población y al crecimiento del número total de habitantes a nivel mundial. En nuestro país, se calculó según los últimos registros actualizados que cada año se realizan aproximadamente unos 2000 nuevos diagnósticos de LMA en España(33)

Para 2040, se esperan unas 350000 muertes a nivel global por la enfermedad de acuerdo a las estadísticas (2), con una prevalencia total en EEUU superior a 60000 personas, con una tendencia a una edad más joven de casos prevalentes, por el efecto nocivo de la edad en el pronóstico de la enfermedad (34).

Los registros poblacionales más destacados que estudian la LMA son el SEER americano y los estudios NORDCAN de países escandinavos, aunque existen registros importantes como el francés, el suizo o el británico(35, 36). Estos estudios muestran una mediana de edad entre 68 y 70 años, con un pico de incidencia entre los 60 y los 80 años.

La incidencia de LMA varía de manera notable según la localización del registro. En Suecia, la incidencia cruda entre 2012 y 2016 de 2.9/100000 hombres y 2.6/100000 mujeres, mientras que esta fue mayor en Estados Unidos en ese periodo de tiempo (5.4 en el caso de los hombres y 4.6 en el caso de las mujeres. Además, esta incidencia también varía en función de la entidad y de factores dependientes del paciente, como la edad y el sexo, siendo más frecuente en hombres que en mujeres, aunque existen entidades más frecuentes en mujeres entre las que destacan la LMA con duplicación interna en tándem de *FLT3*, independientemente del estado mutacional de *NPM1*(36).

Como características especial en nuestro país, España presenta una incidencia mayor de leucemia promielocítica aguda (0.26/100000) que la mayoría de países europeos, según los registros de los últimos años (34)

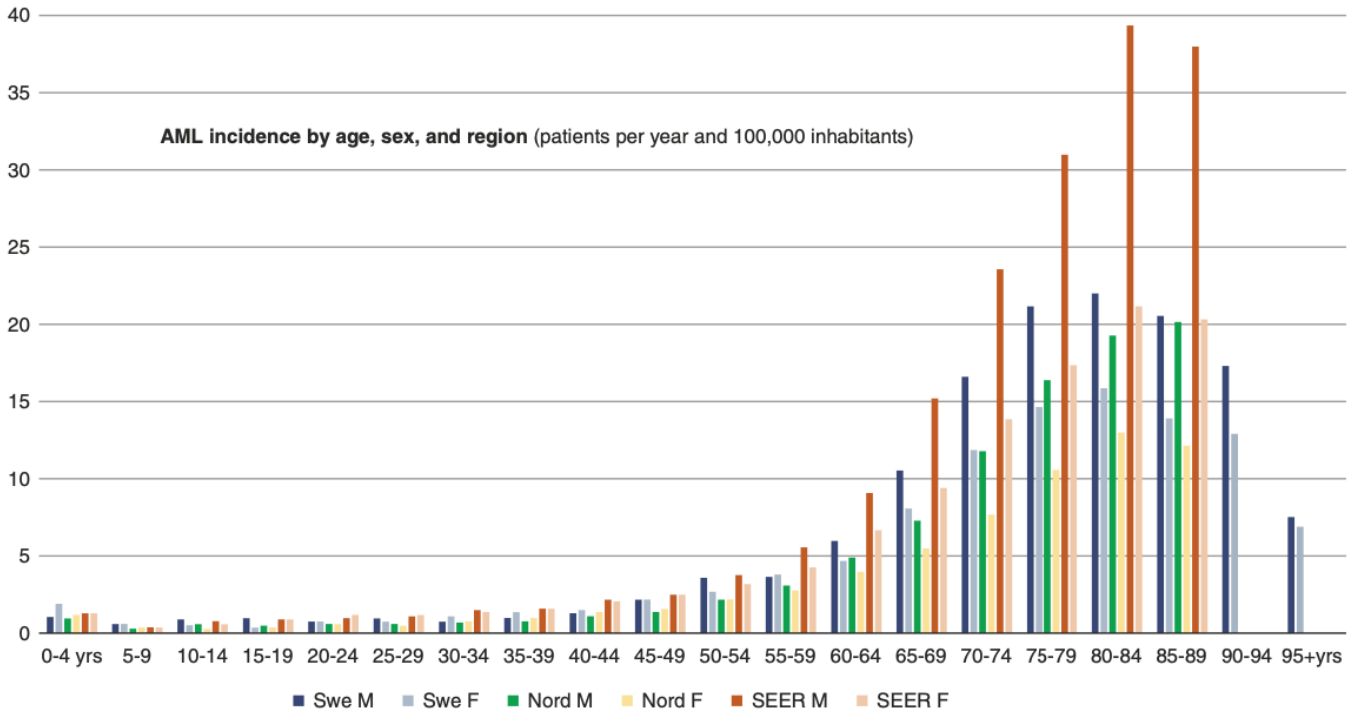


Figura 3. Incidencia de LMA según los registros sueco, de páises nórdicos (NORDCAN) y estadounidense (SEER) por rango de edad en las últimas dos décadas. Extraído de Röllig y Ossenkopele, Springer 2021 (Capítulo escrito por Juliusson G.) (37)

Respecto a la supervivencia en pacientes diagnosticados de LMA, esta ha aumentado en las últimas décadas debido al impacto de las nuevas terapias y el uso expandido de manera progresiva del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (AloTPH). En el registro americano del SEER, la tasa de supervivencia relativa a los 3 años del diagnóstico ha incrementado del 22.3% en el año 2000 al 37.9% en 2018, con diferencias marcadas en función del rango de edad, como se observa debajo en la figura 4.

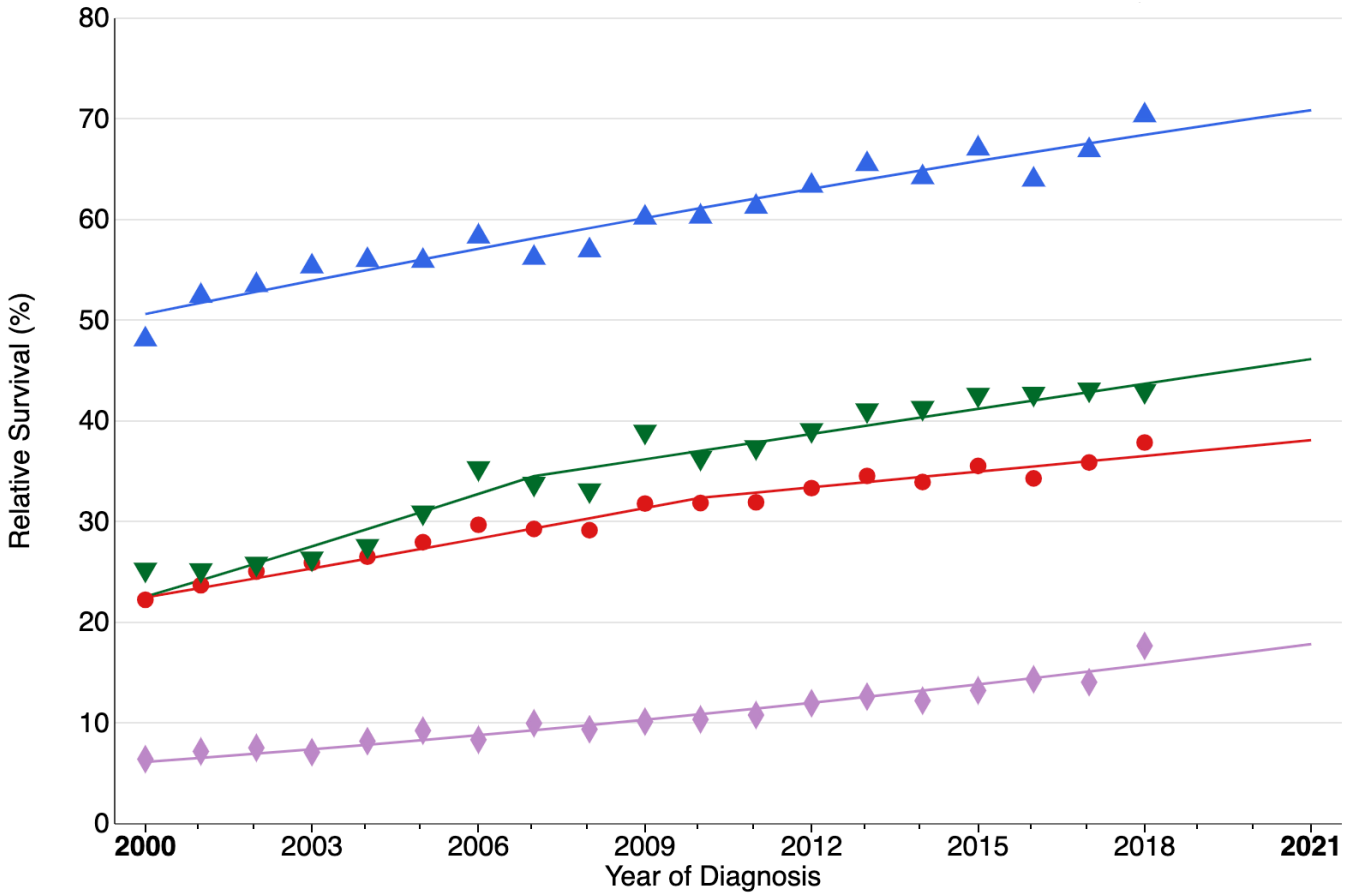


Figura 4. Supervivencia relativa en pacientes diagnosticados de LMA en EEUU de 2000 a 2018. Morado: pacientes >75 años, Rojo: todos los pacientes, Verde: pacientes entre 50 y 64 años, Azul: <50 años. Extraído del registro SEER(34)

1.4. Diagnóstico

1.4.1. Morfología

La evaluación morfológica de tejidos con infiltración de la enfermedad, fundamentalmente basada en aspirados de médula ósea (MO) o frotis de sangre periférica (SP), sigue siendo el primer paso para diagnosticar la LMA.

Algunas de las características comunes de los blastos incluyen una alta relación núcleo-citoplasma, cromatina fina o abierta, nucléolos prominentes y capacidad proliferativa. Sin embargo, los blastos pueden presentar diferentes apariencias morfológicas, lo que hace que sea difícil distinguirlos de otros precursores normales en la práctica diaria utilizando de manera exclusiva la morfología (38).

Para fines diagnósticos, es fundamental analizar todos los equivalentes de blastos, incluyendo monoblastos y megacarioblastos, los cuales en función del subtipo de LMA, se incluyen en el recuento final. Las tinciones de May-Grünwald-Giemsa o Wright-Giemsa, las más actualizadas en la práctica clínica, permiten analizar en detalle la morfología celular, incluidos los contornos nucleares, los gránulos citoplasmáticos y la presencia de bastones de Auer (39).

Ante la sospecha de un nuevo diagnóstico de LMA, es fundamental realizar el análisis morfológico lo antes posible por las posibles repercusiones clínicas inmediatas que pueda suponer para el paciente.

La sospecha de LPA es el ejemplo más claro, donde el hallazgo de promielocitos atípicos, con abundantes bastones de Auer en muchos casos, obliga a iniciar tratamiento inmediato con ácido *all*-trans retinoico, por el riesgo hemorrágico vital asociado a esta enfermedad y el impacto que el inicio temprano de ATRA tiene en la supervivencia (40).

Clásicamente, la presencia de ≥20% de blastos en SP o MO era necesaria para el diagnóstico de LMA en las clasificaciones previas. Sin embargo, las últimas clasificaciones de 2022 han cambiado este paradigma, y actualmente un 10% de blastos es necesario para el diagnóstico de LMA si existen anomalías biológicas recurrentes según la ICC 2022(31), mientras que no existe un límite mínimo de blastos para la última clasificación de la OMS en este caso(41). En el resto de entidades también existen diferencias porcentuales entre ambas clasificaciones (ver sección 1.5).

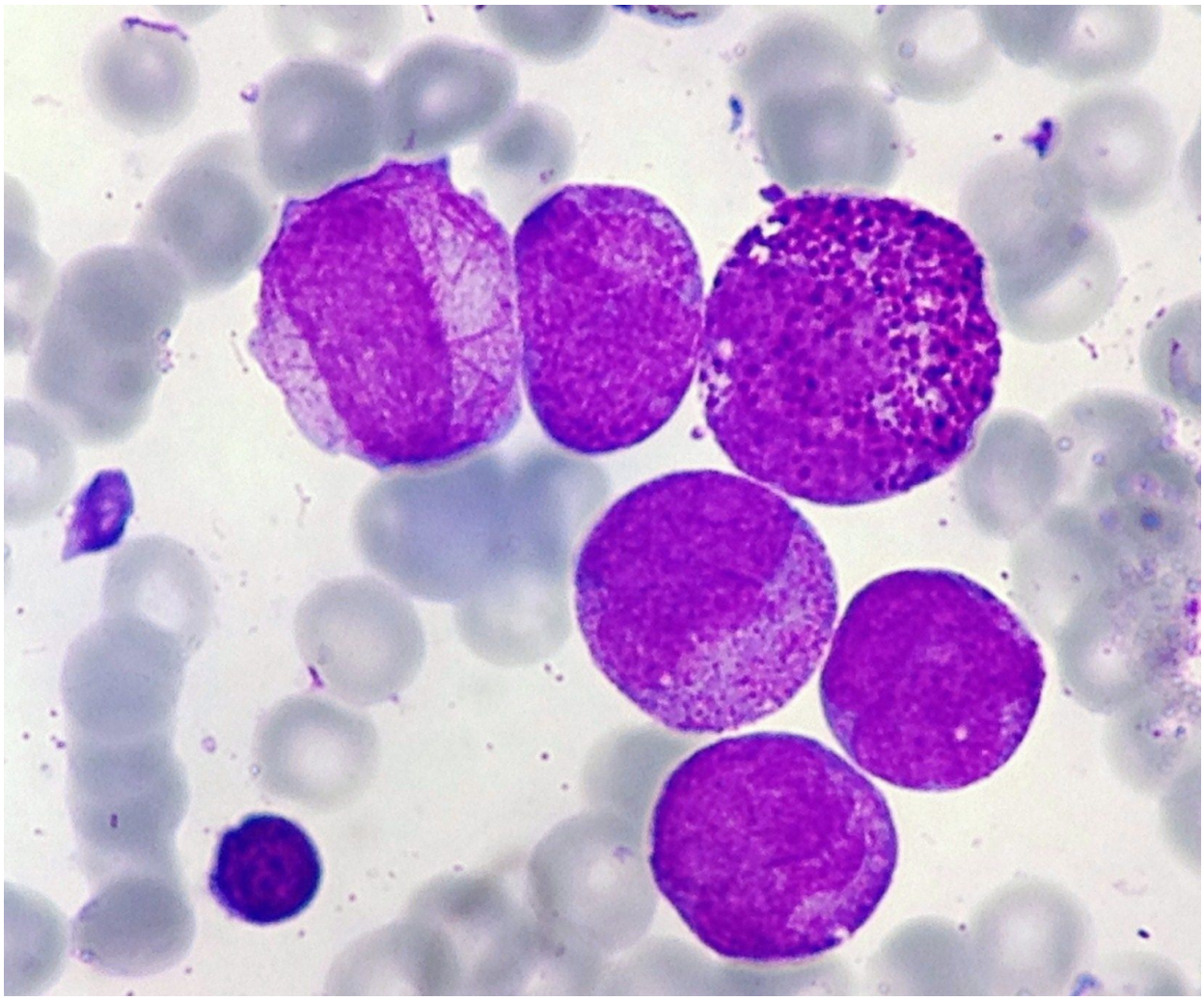


Figura 5. Promielocítos atípicos presentes en una extensión de sangre periférica teñida con la tinción de May-Grünwald-Giemsa, característicos de la LPA. Imagen extraída del archivo del Hospital Clinic de Barcelona

1.4.2. Citometría de Flujo Multiparamétrica

La citometría de flujo multiparamétrica (CFM) consiste en el reconocimiento de células a partir de la detección de antígenos mediante una combinación de anticuerpos monoclonales marcados con fluorocromos, lo que permite la caracterización fenotípica y la cuantificación de una población celular específica(42)

Para el diagnóstico de LMA, el análisis de los marcadores de superficie y citoplásmicos de los blastos complementando la información morfológica. Este conjunto de marcadores expresados constituye las anomalías inmunofenotípicas relacionadas con las células leucémicas en el momento del diagnóstico (en inglés: *Leukemia-associated immunophenotype, LAIP*).

Inicialmente, la expresión de CD45 y el patrón de dispersión frontal/lateral (FSC/SSC) ayudan a identificar la población de blastos en un gran porcentaje de los casos(43).

Dentro de los marcadores de superficie y citoplásmicos relevantes para el diagnóstico de LMA destacan marcadores de células precursoras y progenitores (CD117, CD34,HLA-DR, CD38, CD133, y CD123), de estirpe mieloide (CD33, CD13 y mieloperoxidasa (MPO) citoplásmica), de maduración mieloide (CD11b, CD15, CD64, CD14 y CD65, así como de diferenciación monocítica (CD4, CD14, CD36, CD64), eritoide (CD71, CD235a (glucoforina A) y CD36) y megacariocítica (CD36, CD41 (glucoproteína IIb), and CD61 (glucoproteína IIIa).

Por último, este análisis también puede servir para el diagnóstico de leucemias agudas de linaje ambiguo, que expresan tanto marcadores mieloides como linfoides B y/o T.

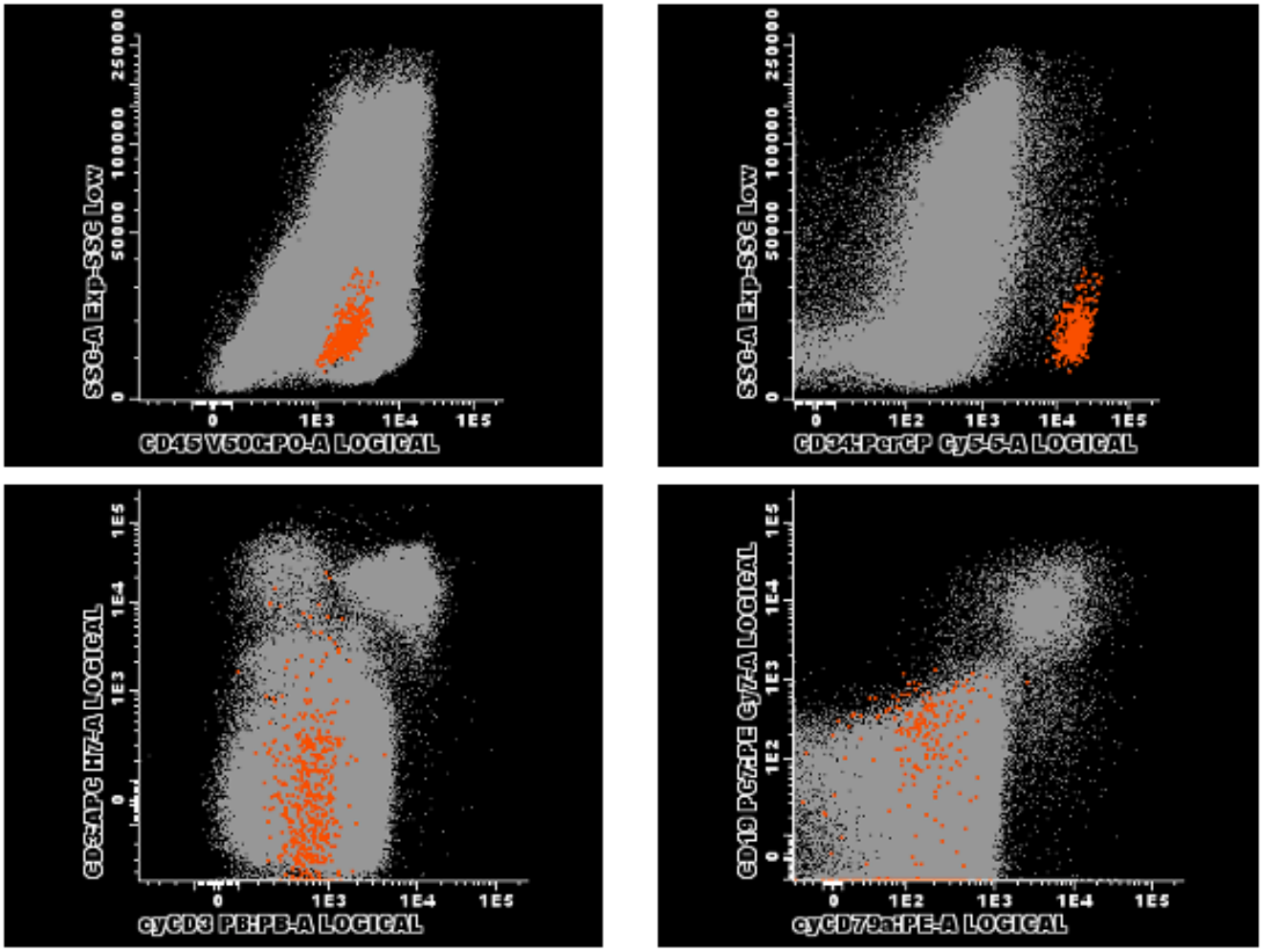


Figura 6. Análisis de una LMA mediante citometría de flujo en la que se observa una población blástica en un panel de orientación de leucemia aguda. Imagen extraída del archivo del Hospital Clinic de Barcelona

1.4.3. Análisis biológico: Citogenética y secuenciación génica mediante paneles comerciales de nueva generación (NGS)

La evaluación citogenética, que incluye el estudio del cariotipo convencional mediante técnicas como el G-Banding y la hibridación in situ fluorescente (en inglés: *Fluorescent In Situ Hybridation, FISH*), es obligatoria en el diagnóstico inicial de la LMA dadas las implicaciones en términos de pronóstico y clasificación que tienen las

anomalías en LMA. Para poder determinar de manera precisa si existen alteraciones citogenéticas, se recomienda analizar un mínimo de 20 metafases. (44, 45)

La técnica de FISH suele emplearse cuando existe menor cantidad de material y, por tanto, la escasez de metafases impide el análisis rutinario convencional, para poder tener conocimiento sobre las alteraciones citogenéticas con mayor valor pronóstico como reordenamientos de *KMT2A* o pérdidas en brazos y monosomías de los cromosomas 5, 7 o 17.

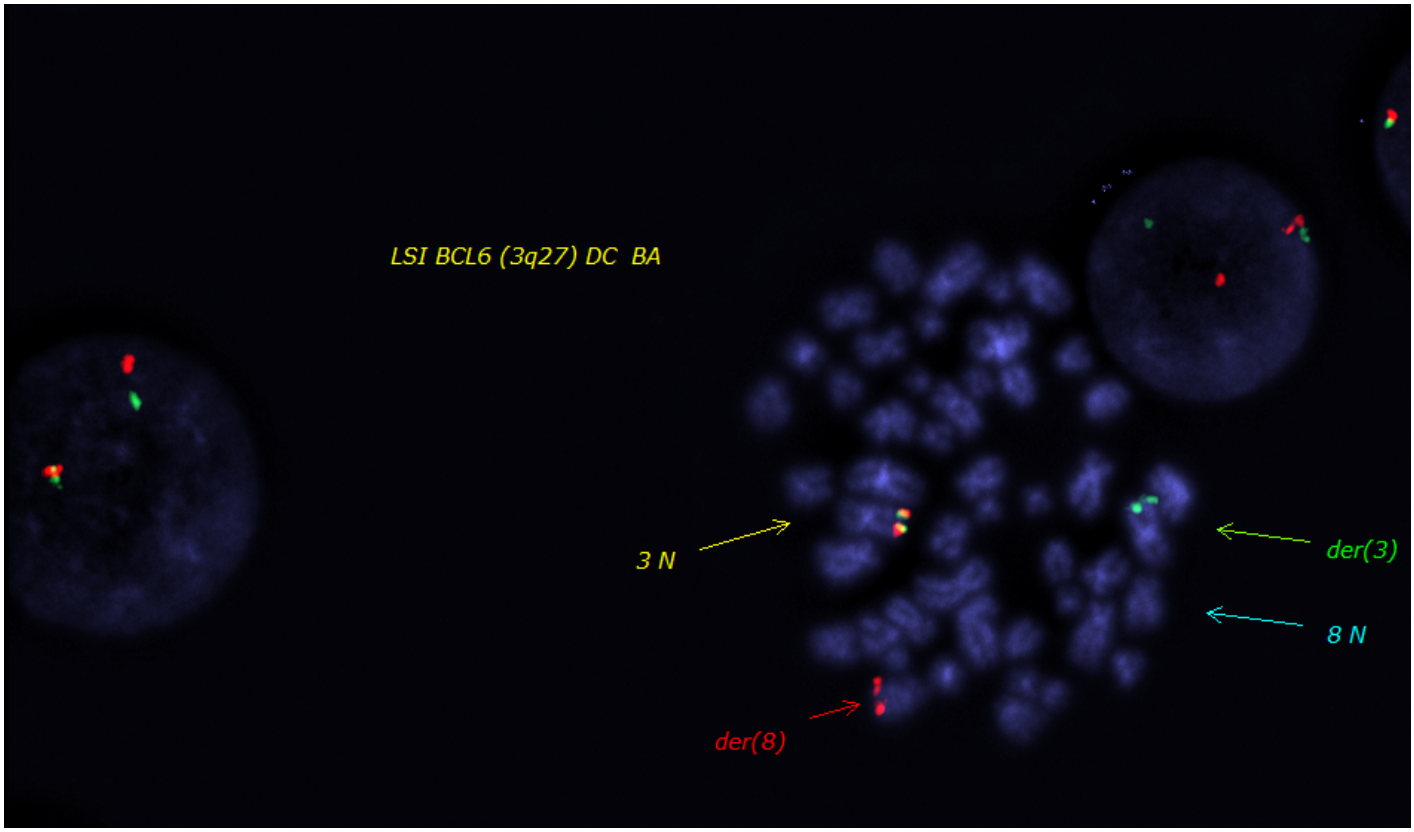


Figura 7. Imagen que muestra una prueba de FISH con una sonda de hibridación para el gen *BCL6* que muestra un reordenamiento del mismo. Imagen extraida del archivo del Hospital Clinic de Barcelona

Además del análisis citogenético, se necesita conocer el perfil mutacional del paciente para poder diagnosticar al paciente de manera adecuada de acuerdo a las últimas clasificaciones. Hasta un 50% de los pacientes diagnosticados de LMA presenta un cariotipo sin alteraciones en el momento del diagnóstico y el tratamiento y pronóstico del paciente varían en función de las mutaciones somáticas que conducen al desarrollo de la enfermedad(8).

La aparición en los últimos años de tecnologías avanzadas, como la reacción en cadena de polimerasa para la detección de anomalías en genes determinados. con valor pronóstico en LMA como *NPM1* o *FLT3* o genes de fusión derivados de algunos de los reordenamientos cromosómicos previamente descritos (*PML::RARA*, *CBFH::MYH11*, *RUNX1::RUNX1T1* o reordenamientos de *KMT2A*) ha permitido tener resultados rápidos para entidades relevantes con un coste asequible.

Sin embargo, la innovación más relevante en los últimos años se ha producido con la introducción en la clínica de la secuenciación génica de nueva generación usando paneles comerciales (NGS).

El uso de paneles comerciales permite la secuenciación directa de regiones específicas de genes con relevancia clínica en el ámbito de las neoplasias mieloides, mediante técnicas de enriquecimiento como la hibridación de regiones o la amplificación de las mismas por PCR (amplicon). Esta estrategia mejora la comprensión del análisis, abarata costes, y permite obtener resultados en periodos relativamente cortos que oscilan entre una y dos semanas.

Para una mayor sensibilidad, se analiza DNA para la detección de las mutaciones más frecuentes y RNA para el análisis de genes de fusión derivados de las anomalías cromosómicas que se han podido detectar mediante el análisis cromosómico, así como de alteraciones citogenéticas en regiones crípticas y que el resto de técnicas

previamente descritas no son capaces de detectar, como por ejemplo el gen de fusión *NUP98::NSD1*, derivado de la traslocación t(5;11)(q35;p15).

Por ello, en el momento del diagnóstico, todos los pacientes con LMA de nuevo diagnóstico deben sistemáticamente examinados para detectar mutaciones recurrentes mediante NGS utilizando un panel con las alteraciones más frecuentes en las patologías mieloides. (32, 41)

A continuación, se describen las anomalías biológicas somáticas de las que se recomienda tener estudio en el momento del diagnóstico actualmente, sin tener en cuenta las mutaciones que predisponen a neoplasias mieloides de manera germinal, y clasificadas según su categoría funcional:

Gen	Características
FLT3 **(13q12.2)**	Receptor de tirosina quinasa transmembrana normalmente expresado en células progenitores hematopoyéticas. Se trata de la mutación más frecuentemente encontrada en series amplias de pacientes(7,8,46) Produce la activación de diferentes vías de señalización como PI3K y RAS-MAPK tras la activación de su ligando extracelular. Las mutaciones tipo ITD (entre 20 y 25% de LMA) están asociadas a mal pronóstico, las mutaciones en el dominio tirosin quinasa (TKD) tienen pronóstico incierto. Mutación sobre la que existen inhibidores específicos que mejoran supervivencia, tanto en combinación con

	quimioterapia(47,48), terapia de baja intensidad(49,50), como en monoterapia(51)
***NRAS* (1p13.2) / *KRAS* (12p11.1)**	Genes encargados de la regulación negativa de una proteína GTPasa, que, al mutarse el gen, constituye la activación de las vías de proliferación PI3K y MAPK, derivando en proliferación celular y aumento de la supervivencia(52). Mutaciones identificadas hasta en un 11% de los pacientes diagnosticados de LMA en NRAS, hasta 5% en KRAS, que es el más frecuente en otras neoplasias sólidas(53). Impacto pronóstico incierto en tratamiento con quimioterapia estándar, mal pronóstico en tratamientos de baja intensidad basados en venetoclax por activación de *MCL-1* como mecanismo antiapoptótico(54,55).
***KIT* (4q11)**	Receptor tirosina kinasa activado por el stem cell factor que induce activación de vías de señalización múltiples (JAK-STAT, MAPK, PI3K). Su expresión disminuye con la diferenciación de las células hematopoyéticas, y su desregulación se asocia a neoplasias mieloides, y, especialmente, a mastocitosis(56). Mutaciones en exones 8, 10-11 y 17 (dominio tirosin kinasa). Mutaciones en exón 17 se han asociado con peor pronóstico en LMA CBF tratada con quimioterapia(57).
***CSF3R* (1p34.3)**	Miembro del a superfamilia del receptor de la hematopoetina que permite diferenciación, crecimiento y supervivencia de los granulocitos. A través de su unión al G-CSF realizar cambios conformacionales del mismo, lo que activa diferentes vías de señalización como RAS-MAPK o JAK-STAT.(58) La mutación más recurrente es la T618I, canónica para la leucemia neutrofílica crónica. Se encuentra asociada a otras

	mutaciones en LMA, especialmente relacionada con mutaciones en *CEBPA*. Pronóstico no definido en LMA.(59)
PTPN11 **(12q24.13)**	Codifica SHP2, una tirosin fosfatasa autoinhibida en estado natural que regula vías de señalización. Mutaciones en PTPN11 inhiben la autoinhibición, provocando activación de las vías de señalización que regulan(60). Peor pronóstico si mutaciones no asociadas a *NPM1*, no presentes normalmente si otras mutaciones en vías de señalización presentes(61).
NF1 ***(17q11.2)***	Codifica la proteína neurofibromina, que regula la vía RAS-MAPK. Supresor tumoral que inactiva RAS.(62) Mutaciones en *NF1* activan la vía por desactivación de la proteína. Posible mal pronóstico asociado a la mutación en LMA.(63)
JAK2 ***(9p24)***	*JAK2 V617F* es la mutación más característica de numerosas neoplasias mieloproliferativas crónicas Philadelphia-negativas(64). Más frecuente en LMA secundaria, pero también se puede ver en LMA, donde se asocian más frecuentemente con genes relacionados con la metilación del DNA. Mal pronóstico por asociación con LMA secundaria.(65)

Tabla 3. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con vías de señalización y proliferación mieloide. Realizada por el doctorando para la presente tesis doctoral.

Gen	Características
EVI1 ***(3q26.2)***	EVI1 controla la expresión del ERG, cuya activación interviene en procesos de transcripción. La activación anómala de ERG conlleva un bloqueo en la diferenciación mieloide y hace que la célula adquiera capacidad de autorrenovación.(66) Los reordenamientos cromosómicos como inv(3)(q21.3q26.2) o t(3;3)(q21.3;q26.2) yuxtaponen a GATA2 distal con el promotor EVI1 que impulsa la expresión aberrante de EVI1 a través del reclutamiento de factores de transcripción hematopoyéticos como RUNX1, por ejemplo(67). Asociado a resistencia a quimioterapia, pronóstico ominoso.
DEK::NUP214 ***(6p22.3::9q34.13)***	Las translocaciones cromosómicas que involucran el locus NUP214 son recurrentes en la leucemia aguda. SET::NUP214 frecuente en LLA. Alteran la exportación nuclear de proteínas mediante la inhibición del receptor de exportación nuclear, con acúmulo tóxico intranuclear. (68) Asociado a mal pronóstico
SETBP1 ***(18q12.3)***	Actúa como regulador transcripcional en la leucemia, confiriendo mayor capacidad de autorrenovación al mejorar la expresión de HOXA9, HOXA10, MYB y EVI1 y reprimir RUNX1 de una manera dependiente del contexto celular. (69) Las mutaciones oncogénicas de SETBP1 impiden su degradación proteasomal.

	Tanto la mutación de SETBP1 como su sobreexpresión están asociadas a mal pronóstico en LMA.
PPM1D ***(17q23.2)***	Regulador de la vía celular de p53 promoviendo la apoptosis por inducción de estrés tóxico genómico. Además, regula otras vías como MAPK y mTORC1, también relacionadas con expansión de la hematopoyesis. (70,71) Mutaciones truncantes en el exón final del gen asociadas con LMA relacionadas con mal pronóstico si están relacionadas con tratamiento ionizante previo. (72)
TP53 ***(17p13.1)***	Gen supresor que codifica para el factor de transcripción *p53*, supresor tumoral involucrado en apoptosis, reparación del ADN y metabolismo. Alteraciones en el gen incluyen mutaciones, anomalías cromosómicas que conllevan la pérdida física del gen y *copy-neutral loss of heterozygosity (cn-LOH).* (73, 74) Se pueden encontrar alteraciones en *TP53* entre el 5 y 20% de LMA de novo, siendo más elevada la frecuencia en relación con cariotipo complejo y hasta el 30% en LMA relacionada con terapia. Por otro lado, es el gen más mutado en relación con neoplasias malignas de cualquier estirpe. (75–78) La pérdida de función promueve fallo para la apoptosis celular, vinculada resistencia a la terapia y a muy mal pronóstico. (79)
WT1 ***(11p13)***	El mecanismo de leucemogénesis parece estar relacionado con hipermetilación del DNA en relación con vías epigenéticas con otras mutaciones como *TET2* e IDH, por mutaciones truncadas que producen una pérdida de función. Entre 6-15% de pacientes con LMA jóvenes, se asocia con presencia de *FLT3-ITD* y *CEBPA*. (80)

	Su sobreexpresión por otro lado, se encuentra en un porcentaje muy elevado de pacientes diagnosticados de LMA. Mecanismo paradójico. (81) Pronóstico individual no determinado, mal pronóstico si asociado a NPM1. (85)
PHF6 ***(Xq26.2)***	No se conoce exactamente su función, con diferentes funciones atribuidas, desde regulación de ciclo celular a regulación de la transcripción Mutaciones en PHF6 inactivan su función, permitiendo autorrenovacion de LSC que estén reguladas por HOXA9 Supresor tumoral que regula la transcripción. Mutaciones frameshift o nonsense sin hotspot identificado. Presente entre el 3 y el 6% de LMA, más frecuente en hombres. Mutaciones inactivan PHF6, favoreciendo leucemogénesis. (83,84) Asociado a mal pronóstico en ciertos subgrupos de LMA.

Tabla 4. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con supresión tumoral. Realizada por el doctorando para la presente tesis doctoral.

Gen	Características
KMT2A (MLL) **(11q23)**	A través de su dominio SET realiza metilación de histonas que codifican transcripción epigenética mediante formación de complejos multiproteicos que regulan la transcripción de genes diana específicos como muchos de los genes HOX.(85) Más de 100 genes de fusión derivados de traslocaciones balanceadas. Clásicamente asociados a mal pronóstico, el gen de fusión puede tener relación con el pronóstico, aunque nuevos estudios destacan el valor del perfil mutacional asociado.(86,87). Diana de nuevas terapias dirigidas(88, 89)
ASXL1 **(20q11.21)**	Las mutaciones en ASXL1 inactivan su función, que es la de aumentar transcripción de unos genes y silenciar otros. Perteneciente al grupo de proteínas Polycomb.(90) Relacionado con hematopoyesis clonal relacionada con la edad, asociada a mal pronóstico.(91)
EZH2 **(7q36.1)**	Parte del complejo Polycomb, interviene en la transcripción de genes a través de la regulación de la metilación de histonas. En la hematopoyesis, regula la balanza entre diferenciación, maduración y autorrenovación de las LSC.(92, 93) Relacionado con mal pronóstico en pacientes tratados con quimioterapia estándar.
BCOR **(Xp11.4)**	Forma parte del complejo Polycomb. Presenta función reguladora de proteínas que normalmente están reprimidas por ubiquitina en diversos tejidos, como el complejo BCL.(94) Mal pronóstico asociado a tratamiento con quimioterapia.

Tabla 5. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con la modificación de la cromatina. Realizada por el doctorando para la presente tesis doctoral.

Gen	Características
DNMT3A **(2p23.3)**	Proteina encargada de la metilación de DNA que regula la expresión génica en perfiles específicos relacionados con la hematopoyesis. R882 es la más mutación más frecuente, hasta en un 60% de los casos.(95) Mutaciones muy frecuentes en LMA, entre 20 y 30% de todos los casos, con una incidencia que aumenta con la edad. Relacionado con hematopoyesis clonal relacionada con la edad. (96–98). Su asociación con mutaciones concomitantes de *FLT3-ITD* y NPM1 tiene mal pronóstico.(99)
IDH1 **(2q34)** ***IDH2*** **(15q26.1)**	Mutaciones en IDH1 (R132) e IDH2 (R140 y R170) confieren un cambio enzimático la vía del ácido cítrico, reduciendo α-cetoglutarato (αKG) al oncometabolito R-2-hidroxiglutarato (2HG). El 2HG inhibe competitivamente las enzimas dependientes de αKG, lo que conduce a bloqueo en la diferenciación mieloide. (100–102) Dianas terapéuticas en pacientes no candidatos a terapia intensiva (103–107). Impacto pronóstico depende de mutaciones concomitantes en tratamiento con quimioterapia estándar, buen pronóstico en terapia de baja intensidad.
TET2 **(4q24)**	Enzima que cataliza la hidroxilación de 5-metilcitosina que regula la metilación del DNA. Este hecho desempeña un papel central en la regulación de la expresión genética a nivel transcripcional. (108) Relacionado con hematopoyesis clonal relacionada con la edad. Sin pronóstico individual en LMA.

Tabla 6. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con la metilación de DNA. Realizada por el doctorando para la presente tesis doctoral.

Gen	Características
SF3B1 **(2q33.1)**	SF3B1 es el gen de *splicing* más frecuentemente mutado en neoplasias malignas, incluyendo numerosas entidades mieloides como SMD con sideroblastos en anillo o LMC. Su mutación produce un empalme incorrecto de numerosos mRNA debido al reconocimiento aberrante de secuencias. La mutación más frecuente es la K700E. (109) Mal pronóstico en tratamiento con quimioterapia estándar.
SRSF2 **(17q25.2)**	Codifica una proteína con función de splicing del mRNA mediante unión a otras constituyendo parte del spliceosoma. Alteraciones displásicas variables si presenta mutaciones, sin fenotipo concreto, aunque se ha descrito tendencia a línea monocítica. Mutaciones más frecuentes en P95. (110,111) Mal pronóstico en tratamiento con quimioterapia estándar.
U2AF1 **(21q22.3)**	Relacionado con splicing con función esencial en intrones de tipo U2. Mutaciones en S34 y Q157 alteran la selección de los sitios de splicing, produciendo secuencias aberrantes. (112) Mal pronóstico en tratamiento con quimioterapia estándar.
ZRSR2 **(Xp22.2)**	Factor del spliceosoma relacionado con *U2AF1* aunque con aparentes funciones diferentes según estudios bioquímicos. *ZRSR2* parece tener funciones para el splicing en intrones tipo U2 y U12. (112) Mal pronóstico en tratamiento con quimioterapia estándar.

Tabla 7. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con *splicing.* Realizada por el doctorando para la presente tesis doctoral.

Gen	Características
NPM1 **(5q35.1)**	Proteína intranuclear con múltiples funciones, como la biogénesis ribosómica (procesamiento y transporte RNA), función de chaperona (transporte, plegamiento de proteínas e histonas), reguladora de la vía supresora de tumores ARF-p53, y estabilizadora y reparadora de DNA Las mutaciones canónicas de NPM1 producen una pérdida del residudo triptófano 290 (W290) por inserción neta de 4 nucleótidos en los Tryptophan 290 (W290), que produce la localización anómala de la proteína en el citoplasma, característica de la enfermedad(113,114) La acumulación tóxica de *NPM1c* se traduce en la sobreexpresión de genes *HOX/MEIS* que puede ser revertida mediante inhibición de la menina o inhibición de *XPO1* y la inhibición de caspasas. Todo ello produce desregulación del ciclo celular y bloqueo en la diferenciación mieloide. A pesar de este conocimiento, la función específica de NPM1c todavía no está completamente descifrada. Representa un tercio aproximadamente de todos los casos de LMA en adultos (>50% de LMA con citogenética normal). (115–118) El pronóstico está relacionado con el perfil mutacional concomitante. Peor pronóstico si se encuentra asociada a *DNMT3A*, *FLT3-ITD, WT1* y anomalías citogenéticas de riesgo adverso. (82,99) Si no hay anomalías biológicas asociadas, buen pronóstico tanto en tratamiento con quimioterapia estándar, como en baja intensidad.

Tabla 8. Alteraciones en LMA en el gen *NPM1.* Realizada por el doctorando para la presente tesis doctoral.

Gen	Características
STAG2 **(Xq25)**	Gen que codifica la proteína del mismo nombre, la cual forma parte del complejo cohesina al igual que *RAD21*. Hasta un 12% de los pacientes diagnosticados de LMA pueden tener mutaciones en el complejo de la cohesina. La cohesina es un complejo multimérico que regula la replicación de DNA regulando la separación de las cromátidas hermanas y, por otro lado, tiene función de reparación de la doble cadena de DNA. Es decir, regula la integridad genómica de la célula a este nivel. (118–121) Mal pronóstico en relación con tratamiento con quimioterapia estándar.
RAD21 **(8q24.11)**	Parte del complejo de cohesina, al igual que STAG2. Valor pronóstico no determinado de manera individual, aunque hay estudios que sugieren una envaluación independiente por las características morfológicas y fenotípicas que asocian. (122)

Tabla 9. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con el complejo de la cohesina. Realizada por el doctorando para la presente tesis doctoral.

Gen	Características
RUNX1::RUNX1T1 **(21q22.12::8q21.3)**	Este gen de fusión resulta de la translocación t(8;21)(q22;q22.1). *RUNX1* codifica la subunidad alfa del factor de transcripción CBF, siendo un involucrado en la diferenciación hematopoyética. *RUNX1T1* codifica un correpresor transcripcional. Al producirse la fusión, se produce un bloqueo en la diferenciación mieloide y en factores de transcripción hematopoyéticos, además de inhibir genes supresores de tumores como *RUNX3* y *NF1* (123–125) Asociado a buen pronóstico en tratamiento con quimioterapia estándar
CBFB::MYH11 **(16q22.1::16p13.11)**	Aproximadamente observado en 12% de LMA pediátrica y 7% adultos. CBFB es la subunidad beta del CBF, crucial para la diferenciación hematopoyética. MYH11 codifica una cadena pesada de miosina de músculo liso. La fusión resulta de inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22), pero el mecanismo de acción de *MYH11* sobre *CBFB* aún no es del todo conocido. El gen de fusión bloquea el factor de transcripción *RUNX1*, alterando proliferación, diferenciación y apoptosis por disregulación de factores de transcripción. Además, presenta exclusividad mutua con DNMT3A, lo que hipotetiza un posible papel epigenético. (125,126) Buen pronóstico en pacientes tratados con quimioterapia estándar

PML::RARA **(15q24.1::17q21.2)**	Constituye el gen de fusión determinante en el desarrollo de la LPA. Actúa desregulando el control transcripcional. *PML::RARA* actúa como un modulador de la expresión de genes diana específicos de *RAR* relacionados con la diferenciación mieloide, aunque estos no se reprimen de manera uniforme, sino que también pueden ser regulados positivamente o permanecer inalterados. (128) Muy buen pronóstico, tratamientos con esquemas libres de quimioterapia basados en trióxido de arsénico. (40,129)
RUNX1 **(21q22.12)**	Se encuentra en el 10% de los casos de LMA *RUNX1* codifica la subunidad alfa del factor de transcripción CBF, que es fundamental en la diferenciación hematopoyética. (130) Las mutaciones pueden ser mono o bialélicas, afectando los exones 3 al 8. Se asocia con mal pronóstico en quimioterapia estándar, aunque su implicación varía en función de las diferentes clasificaciones de LMA en la actualidad. En general, pacientes con edad avanzada.
ANKRD26 **(10p12.1)**	Relacionada con predisposición germinal a neoplasias mieloides y trombocitopenia relacionada con ANKRD26(131) La gran mayoría de las variantes que causan enfermedades se encuentran en la región no traducida 5'. La sobreexpresión de ANKRD26 implica la pérdida del control inhibitorio por los factores de transcripción *RUNX1* y *FLI1* que se unen al gen en la región 5’ mutada(132,133) Existen casos de LMA, SMD y LMMC relacionados con mutaciones somáticas asociadas a mutaciones en *ANKRD26*

CEBPA **(19q13.11)**	Codifica el factor de transcripción CCAAT/enhancer binding protein alfa (C/EBPα), que regula la diferenciación mieloide. Mutaciones en dos sitios claves: sitio N-terminal donde se encuentran los dominios de activación de transcripción, que pueden tener origen germinal, y en la cremallera básica de leucina que se describen como inserciones y deleciones de pequeño tamaño. (134,135) Mutaciones en el marco bZip asociadas a pronóstico favorable en tratamiento con quimioterapia estándar. (136–138)
DDX41 **(5q35.3)**	Relacionado con predisposición germinal a neoplasias mieloides que se desarrollan en edades similares a las LMA esporádicas. (28–30) La proteína que codifica el gen pertenece al miembro de la familia DEAD box, que están implicados en una serie de procesos celulares que implican la alteración de la estructura del RNA, como ensamblaje y alteración de ribosomas. Buen pronóstico, de manera especial en tratamientos de baja intensidad
GATA2 **(3q21)**	Factor de transcripción clave en la hematopoyesis. Mutaciones en el exón 4 afectan la diferenciación mieloide. La deficiencia de GATA2 predispone al desarrollo de SMD y LMA, asociado con mal pronóstico.

Tabla 10. Genes que pueden presentar alteraciones en LMA relacionados con factores de transcripción mieloide. Realizada por el doctorando para la presente tesis doctoral.

1.5. Clasificación

Desde que se conoce la heterogeneidad biológica de la LMA, se han intentado categorizar las anomalías biológicas en función del valor pronóstico que confieren al paciente.

La primera clasificación diagnóstica propuesta data de 1976, cuando el grupo francés-americano-británico propuso un sistema basado en características morfológicas e inmunofenotípicas (clasificación FAB)(139), diferenciando 8 tipos de neoplasias mieloides (de M0 a M7).

Subtipo FAB	Nombre
M0	Leucemia mieloblástica aguda indiferenciada
M1	Leucemia mieloblástica aguda con maduración mínima
M2	Leucemia mieloblástica aguda con maduración
M3	Leucemia promielocítica aguda (LPA)
M4	Leucemia mielomonocítica aguda
M4eo	Leucemia mielomonocítica aguda con eosinofilia
M5	Leucemia monocítica aguda
M6	Leucemia eritroide aguda
M7	Leucemia megacarioblástica aguda

Tabla 11. Clasificación de LMA de acuerdo con la clasificación FAB. Adaptada de (139).

1.5.1. Clasificaciones diagnósticas de LMA en el momento actual

Desde la aparición de la primera clasificación en 1976, diferentes clasificaciones que resumían un esfuerzo internacional cooperativo liderado desde la Organización Mundial de la Salud (OMS)(140–142) aparecieron de manera periódica hasta 2016 cuando se publicó la cuarta clasificación, aumentando de manera progresiva la relevancia de los factores biológicos conforme se iban descubriendo nuevos mecanismos patogénicos que permiten el desarrollo de la enfermedad.

En el momento actual, desde la aparición de ambas en 2022, existen dos clasificaciones para LMA que se utilizan de manera concomitante en el ámbito clínico: La quinta clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS 5)(41) y la Clasificación del Consenso Internacional (ICC 2022)(31).

1.5.1.1. 5ª clasificación de la Organización Mundial de la Salud de neoplasias mieloides y linfoproliferativas:

Respecto a previas ediciones, destaca la definición de un sistema jerárquico para el diagnóstico, donde se elimina el clásico umbral del 20% de blastos en las entidades relacionadas con anomalías recurrentes salvo mutaciones de *CEBPA* y reordenamiento *BCR::ABL1*, y se mantiene fijo en el resto de entidades, incluyendo alteraciones biológicas relacionadas con la mielodisplasia.

Además, las entidades relacionadas con entidades emergentes, que han comenzado a ser diagnosticadas por la utilización de nuevas técnicas diagnósticas con mayor sensibilidad se encuentran localizadas en una categoría específica denominada “otras alteraciones genéticas definidas”. Esta categoría sustituye el concepto de clasificaciones previas de entidades provisionales. Por último, se debe destacar la relevancia que tiene el reconocimiento de la CHIP y las citopenias clonales de significado incierto como entidades precursoras de neoplasias mieloides

Categoría	Blastos
Leucemia promielocítica aguda (LPA) con fusión *PML::RARA*	Sin umbral
LMA con fusión *RUNX1::RUNX1T1*	Sin umbral
LMA con fusión *CBFB::MYH11*	Sin umbral
LMA con reordenamiento de *KMT2A*	Sin umbral
LMA con fusión *DEK::NUP214*	Sin umbral
LMA con reordenamiento *MECOM*	Sin umbral
LMA con reordenamiento *NUP98*	Sin umbral
LMA con fusión *RBM15::MRTFA*	Sin umbral
LMA con fusión *BCR::ABL1*	≥20%
LMA con mutación de *NPM1*	Sin umbral
LMA con mutación de *CEBPA*	≥20%
LMA relacionada con mielodisplasia: - Definido por una o más alteraciones citogenéticas o moleculares: - Mutaciones somáticas en *ASXL1, BCOR, EZH2, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1* o *ZRSR2* - Anormalidades citogenéticas: cariotipo complejo (≥3 anormalidades), del(5q) o pérdida de 5q, -7, del(7q) o pérdida de 7q, del(11q), del(12p) o pérdida de 12p, -13 o del(13q), del(17p) o pérdida de 17p, i(17q), idic(X)(q13)	≥20%
LMA con otras alteraciones genéticas definitorias	Sin umbral
LMA sin anormalidades genéticas definitorias	≥20%
LMA definido por diferenciación	≥20%

Tabla 12. Clasificación de leucemia mieloide aguda (LMA) según la 5ª clasificación de la OMS con el umbral de blastos necesario para el diagnóstico de cada entidad. Adaptado de (41).

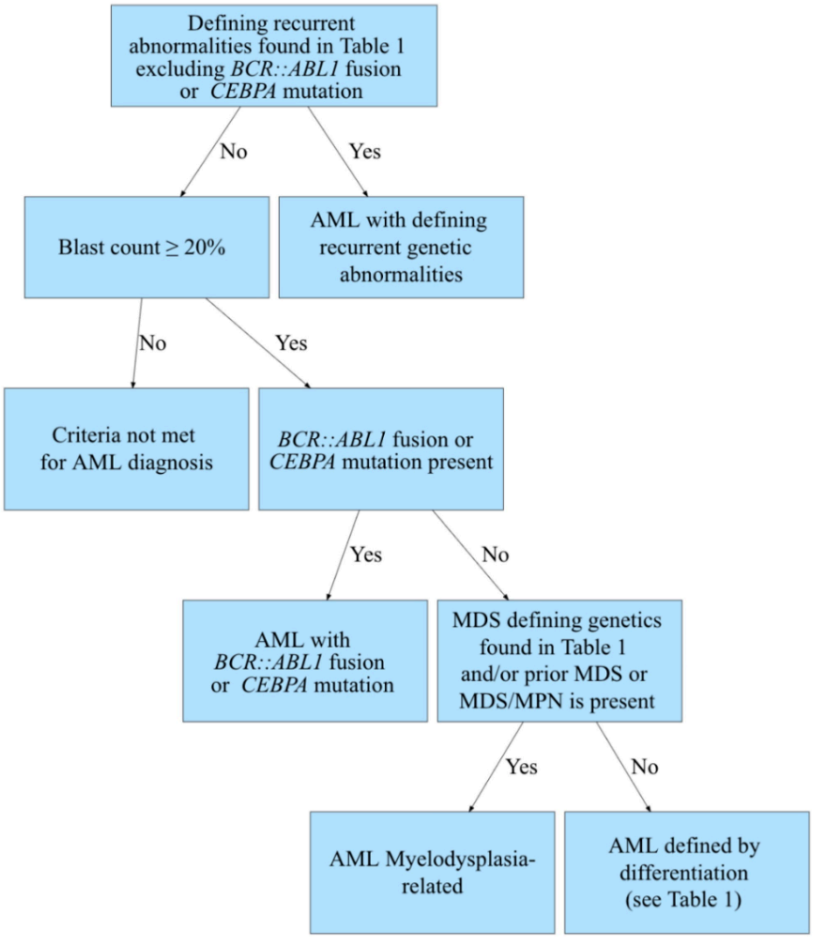


Figura 8. Algoritmo diagnóstico de LMA según la 5ª clasificación de la OMS. Extraído de texto de Chang C-C. y Kuzu A., CAP 2022 (143).

1.5.1.2. Clasificación ICC 2022 para neoplasias mieloides:

Esta clasificación también toma como base la 4ª clasificación de la OMS, buscando mejorar la precisión diagnóstica y el pronóstico respecto a la misma, actualizando los diagnósticos en función de los avances científicos desde 2016, así como adaptar la clasificación a poder mejorar el tratamiento de los pacientes, incluyendo facilitar la inclusión en ensayos clínicos.

Como características destacadas de esta nueva clasificación, se definen nuevas entidades relacionadas con anomalías recurrentes, y mutaciones específicas, como la LMA con mutación de *TP53* y la LMA con mutaciones con genes relacionados con mielodisplasia, se optimiza la definición de determinadas acepciones como el cariotipo complejo, y, al igual que la 5ª clasificación de la OMS, presenta una ruptura con el umbral clásico del 20% de blastos, si bien el enfoque es diferente.

En las entidades con anomalías recurrentes, aún existe un umbral delimitado en el 10% de blastos, excepto en la LMA con reordenamiento *BCR::ABL1*, donde se necesita un 20% de blastos para el diagnóstico.

En el resto de entidades, se establece una entidad de nueva aparición denominada SMD/LMA, que remarca el continuo en las neoplasias mieloides y permite la inclusión de pacientes en esquemas terapéuticos y ensayos clínicos de ambas entidades.

Entidad y Reordenamiento/Mutación	**Blastos**
LPA con t(15;17)(q24.1;q21.2)/*PML::RARA*	≥10%
LPA con otros reordenamientos de *RARA*	≥10%
LMA con t(8;21)(q22;q22.1)/*RUNX1::RUNX1T1*	≥10%
LMA con inv(16)(p13.1q22) t(16;16)(p13.1;q22)/*CBFB::MYH11*	≥10%

LMA con t(9;11)(p21.3;q23.3)/*MLLT3::KMT2A*	≥10%
LMA con otros reordenamientos de *KMT2A*	≥10%
LMA con t(6;9)(p22.3;q34.1)/*DEK::NUP214*	≥10%
LMA con inv(3)(q21.3q26.2) o t(3;3)(q21.3;q26.2)/*GATA2*; MECOM(*EVI1*)	≥10%
LMA con otros reordenamientos de *MECOM*	≥10%
LMA con otras translocaciones recurrentes raras	≥10%
LMA con t(9;22)(q34.1;q11.2)/*BCR::ABL1*	≥20%
LMA con mutación de *NPM1*	≥10%
LMA con mutaciones in-frame de *CEBPA*	≥10%
LMA y SMD/LMA con mutaciones de *TP53*	10–19% (SMD/LMA) ≥20% (LMA)
LMA y SMD/LMA con mutaciones de genes relacionados con mielodisplasia: - Mutaciones en: *ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1 o ZRSR2*	10–19% (SMD/LMA) ≥20% (LMA)
LMA con anormalidades citogenéticas relacionadas con mielodisplasia: - Definido por un cariotipo complejo (≥3 anormalidades cromosómicas clonales no relacionadas en ausencia de otras anormalidades genéticas), del(5q)/t(5q) /add(5q), –7/del(7q), +8, del(12p)/t(12p)/add(12p), i(17q), –17/add(17p) o del(17p), del(20q) y/o anormalidades clonales idic(X)(q13)	10–19% (SMD/LMA) ≥20% (LMA)
LMA no especificada (NOS)	10–19% (SMD/LMA) ≥20% (LMA)
Sarcoma mieloide	≥20%

Tabla 13. Clasificación de LMA según la ICC 2022, con el umbral de blastos necesario para el diagnóstico de cada entidad. Adaptada de (32)

Todas estas modificaciones se han integrado en un sistema jerárquico que permite la adoptación rápida de esta clasificación (Figura 10):

El criterio inicial para comenzar a plantear el diagnóstico de LMA es la presencia de al menos un 10% de blastos mieloides o equivalentes en la médula ósea o en la sangre.

1. Si se identifican anomalías genéticas recurrentes específicas, se clasifica como LMA con anomalía genética recurrente.

2. Si no se identifican anomalías genéticas recurrentes, pero se encuentra una mutación en *TP53* con VAF ≥10%, se diferencia el diagnóstico dependiendo del porcentaje de blastos:

    a. 10-19% de blastos: SMD/LMA con mutación de *TP53*.
    b. ≥20% de blastos: LMA con mutación de *TP53*.

3. Posteriormente, se analiza la presencia de mutaciones en genes relacionados con mielodisplasia: *ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1 o ZRSR2*:

    a. 10-19% de blastos: SMD/LMA con mutaciones en genes relacionados con mielodisplasia.
    b. ≥20% de blastos: LMA con mutaciones en genes relacionados con mielodisplasia

4. Por último, se busca la presencia de anomalías citogenéticas relacionadas con mielodisplasia: Cariotipo complejo (≥3 anormalidades cromosómicas clonales no relacionadas en ausencia de otras anormalidades genéticas), del(5q)/t(5q) /add(5q), −7/del(7q), +8, del(12p)/t(12p)/add(12p), i(17q), −17/add(17p) o del(17p), del(20q) y/o anormalidades clonales idic(X)(q13)

a. 10-19% de blastos: SMD/LMA con anomalías citogenéticas relacionadas con mielodisplasia
b. ≥20% de blastos: LMA con anomalías citogenéticas relacionadas con mielodisplasia

5. Si no se ha cumplido ninguno de estos criterios, se diagnostica al paciente con LMA no especificada (*not otherwise specified*, NOS):

    a. 10-19% de blastos: SMD/LMA no especificada.
    b. ≥20% de blastos: LMA no especificada.

Calificadores Diagnósticos: Además de la jerarquía, se deben tener en cuenta los siguientes aspectos que no condicionan la entidad al diagnóstico, pero se deben especificar si se encuentran presentes en el momento del diagnóstico: relación con tratamiento previo (quimioterapia o radiación), SMD o SMD/MPN previos y predisposición germinal.

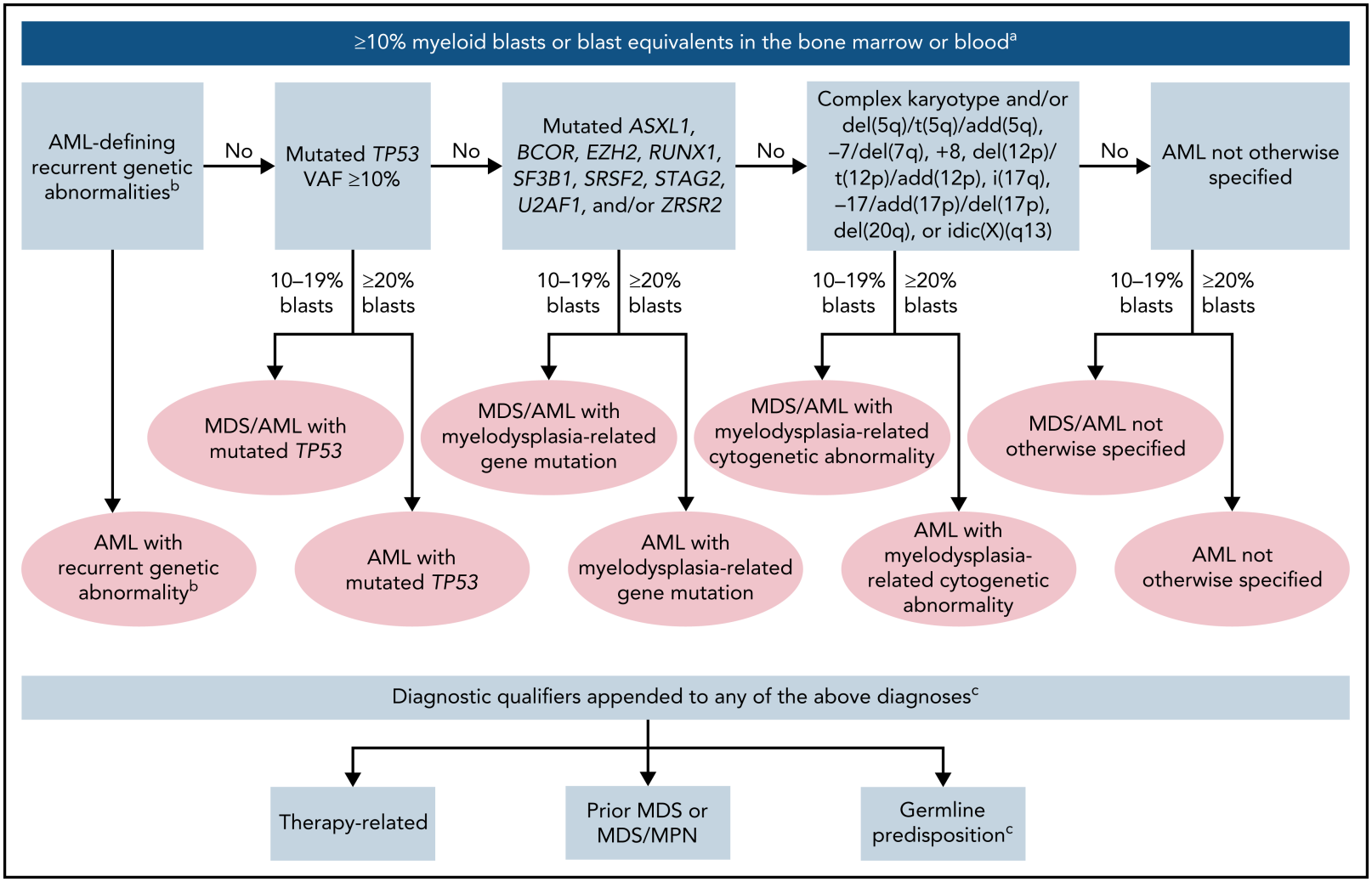


Figura 9. Algoritmo diagnóstico de LMA y SMD/LMA según la clasificación ICC 2022. Extraído de Arber D. et al, Blood, 2022(41).

1.5.1.3. Comparativa entre la 5ª clasificación de la OMS y la clasificación ICC 2022.

En ambas clasificaciones, el aspecto más relevante a la hora de diagnosticar a un paciente es la biología molecular al diagnóstico, lo que determina cada una de sus jerarquías diagnósticas. En comparación con clasificaciones previas, ha habido una reducción significativa de casos definidos por hallazgos morfológicos o fenotípicos, que han quedado reducidos a menos del 5% desde 2022.

Este hecho permite que haya una confluencia en el diagnóstico en la mayoría de los casos, como se observó en el estudio de Sandra Huber y colaboradores en 2023(144), donde un 86% de los más de 1400 pacientes diagnosticados de LMA incluidos en el estudio tenían el mismo diagnóstico según las dos clasificaciones.

A pesar de ello, existen diferencias clave en el diagnóstico en ciertos subtipos, que se resumen en los siguientes puntos:

1. Existe diferencia en la definición de la enfermedad, entendida como el límite de blastos requeridos para el diagnóstico de LMA. Así, en la OMS 5 no existe en la categoría con anomalías genéticas recurrentes una cantidad de blastos necesaria para titular la entidad de LMA mientras que en la clasificación de la ICC 2022 se necesita un 10% de blastos en estas entidades.

2. Dentro de las anomalías genéticas recurrentes, la OMS 5 incluye dentro de las mutaciones de *CEBPA* tanto las mutaciones bialélicas como las mutaciones en el marco de la cremallera de leucina (*in-frame bZIP*), mientras que la clasificación de la ICC 2022 restringe la inclusión en una entidad propia a estas últimas, dado que son las que confieren un mejor pronóstico en el momento del diagnóstico(136–138).

3. En las categorías no definidas por anomalías recurrentes, en el caso de la OMS 5, se mantiene la necesidad de un 20% de blastos para el diagnóstico de LMA. En cambio, en la ICC 2022 aparece la entidad denominada SMD/LMA, que comprende diagnósticos entre un 10 y un 20% de blastos. Esta medida intenta abarcar un mayor número de pacientes que puedan beneficiarse de la inclusión de ensayos clínicos diseñados para LMA y de estrategias terapéuticas similares a los pacientes diagnosticados de LMA.

4. En la clasificación de ICC 2022, aparecen las entidades de LMA con mutación de *TP53*, que requiere una mutación somática del gen con una VAF mayor del 10% y más de un 20% de blastos en el momento del diagnóstico, y SMD/LMA con mutación de *TP53* para pacientes que presenten entre un 10 y un 20% de blastos. Los pacientes diagnosticados con esta mutación según la OMS 5 quedan clasificados en función del resto de anomalías concomitantes en el momento del diagnóstico. Por otro lado, mutaciones de *RUNX1* se incluyen dentro de las mutaciones con genes relacionados con mielodisplasia en la ICC 2022, mientras que no se clasifican en ningún grupo específico en la OMS 5.

5. Por último, aquellas LMA que tengan relación con exposición a terapia previa, síndrome de Down o predisposición germinal constituyen entidades categóricas según la OMS 5 mientras que de acuerdo con la ICC 2022, constituyen calificadores de LMA, pero no categorizan a la misma en entidades diferentes

Estas diferencias hacen fundamental que en la práctica clínica se deba clasificar al paciente de acuerdo con cada una de ellas para un manejo adecuado del paciente.

2. Tratamiento de la Leucemia Mieloide Aguda

2.1. Tratamiento de primera línea

2.1.1. Pacientes tributarios a tratamiento intensivo

De manera clásica, el tratamiento de LMA en pacientes jóvenes candidatos a tratamiento intensivo se ha basado en regímenes de quimioterapia basados en citarabina y antraciclinas desde la aprobación de este tipo de regímenes en 1973, con una excepción, la LPA, dadas las características especiales de esta entidad y que le confieren un excelente pronóstico con el tratamiento adecuado.

El tratamiento de los pacientes diagnosticados de LPA está basado en esquemas que combinan el trióxido de arsénico (ATO) y el ácido trans-retinoico (ATRA) con la posible adición puntual de quimioterapia en aquellas LPA que se consideren de alto riesgo, el cual está determinado por la cantidad de leucocitos presentes en sangre periférica en el momento del diagnóstico. (132,145).

2.1.1.1. Tratamiento para candidatos a quimioterapia intensiva.

En los pacientes candidatos a quimioterapia intensiva, el primer aspecto relevante que se ha modificado en los últimos años es el momento de inicio del tratamiento. Siempre que no sea necesario por complicaciones graves asociadas al diagnóstico, este debe posponerse hasta conocer el perfil biológico de la LMA dado que el algoritmo terapéutico dependerá del mismo. Así, el perfil mutacional del paciente determina el tratamiento elegido.

Este cambio de planteamiento a la hora de iniciar tratamiento se ha producido por los avances en el desarrollo de fármacos que potencian el efecto de la quimioterapia intensiva, la introducción de formulaciones especiales de la misma quimioterapia, y una nueva capacidad de adaptación a la respuesta para poder tomar decisiones de manera dinámica durante el seguimiento. Todos estos avances continúan teniendo como objetivo no solo alcanzar la respuesta completa del paciente, sino evitar una recaída morfológica, dado el mal pronóstico que presentan los pacientes tras la misma.

En la gran mayoría de protocolos establecidos por los diferentes grupos de investigación, los pacientes con pronóstico favorable según la ELN 2022 realizan tratamiento de inducción basada en citarabina (Ara-C) a dosis de 200 mg/m² al día en infusión continua desde el día 1 hasta el día 7, asociada a una antraciclina (por ejemplo, daunorrubicina (DA) a 60 mg/m² al día los días 1, 2 y 3 en una infusión durante 60 minutos).

En función del protocolo, se continúa el tratamiento con una segunda inducción incluyendo antraciclicinas o consolidaciones basadas en dosis alta de citarabina Tras la segunda tanda de quimioterapia, se debe reevaluar la enfermedad a las 4 semanas. El paciente que consiga RC con enfermedad residual medible (ERM) negativa continúa tratamiento con quimioterapia.

Tras finalizar las consolidaciones vuelve a reevaluarse la enfermedad. En pacientes con pronóstico favorable, si el paciente presenta ERM positiva en cualquiera de las reevaluaciones o persiste con enfermedad activa, se consideran los tratamientos de rescate con quimioterapia intensiva, la inclusión del paciente en un ensayo clínico o el tratamiento con venetoclax en combinación con azacitidina (VenAza), para intentar negativizar la ERM y poder valorar de manera individual en cada caso la consolidación de la respuesta a este tratamiento con un AloTPH.

A este esquema se le puede añadir gemtuzumab-ozogamicina (GO) a 3 mg/m² al día (con un máximo de 5 mg) los días 4 y 7, si la LMA es $CD33^+$. La introducción de GO ha supuesto un avance terapéutico en pacientes con LMA que presentan un riesgo favorable según la ELN 2022. GO es un anticuerpo monoclonal anti-CD33 conjugado con calicheamicina, un antibiótico enodiino que provoca daño en el DNA. Pese a que estudios iniciales realizados con GO no mejoraron la supervivencia de los pacientes y además supusieron un aumento en la mortalidad relacionada con el tratamiento por diferentes causas entre las que destacó una elevada tasa de síndrome de obstrucción sinusoidal hepático.

El fraccionamiento del fármaco, en dosis como el que se ha adoptado en el protocolo, supuso un aumento en la supervivencia global y supervivencia libre de evento por una reducción del riesgo de recaída, lo que conllevó la aprobación por las agencias reguladoras americana y europea(146,147).

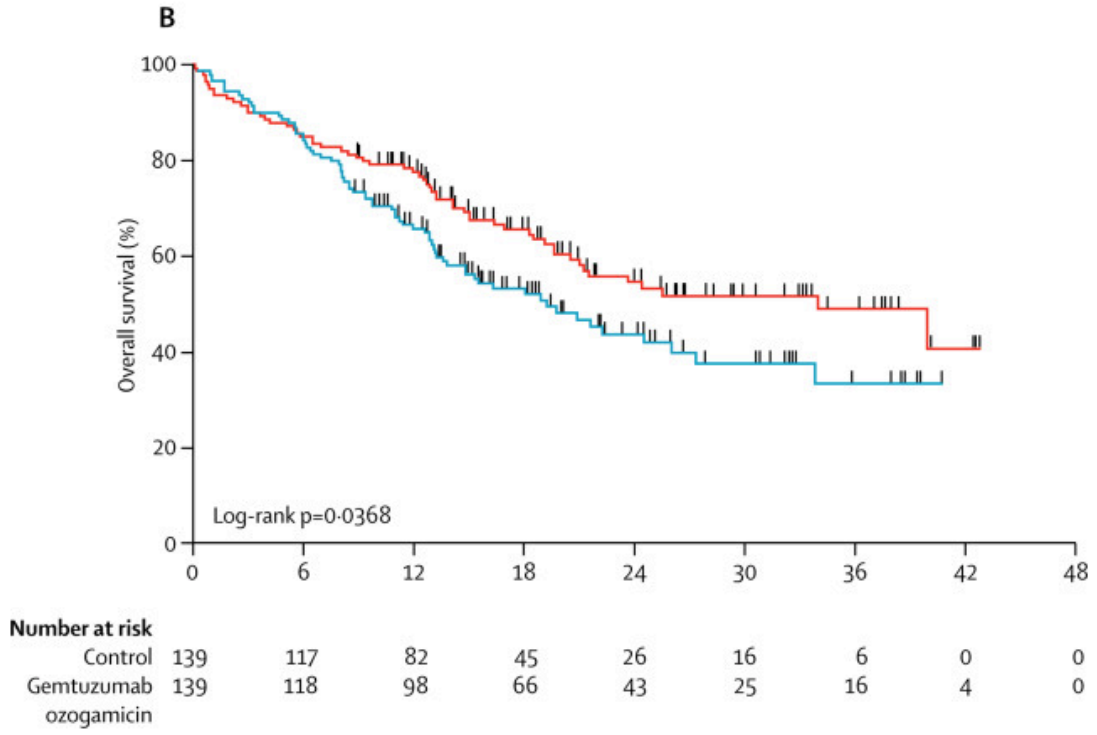


Figura 10. Impacto de la adición de gemtuzumab-ozogamicina fraccionada asociado a quimioterapia en pacientes con LMA de novo. Extraido de Castaigne S et al., The Lancet, 2012(146).

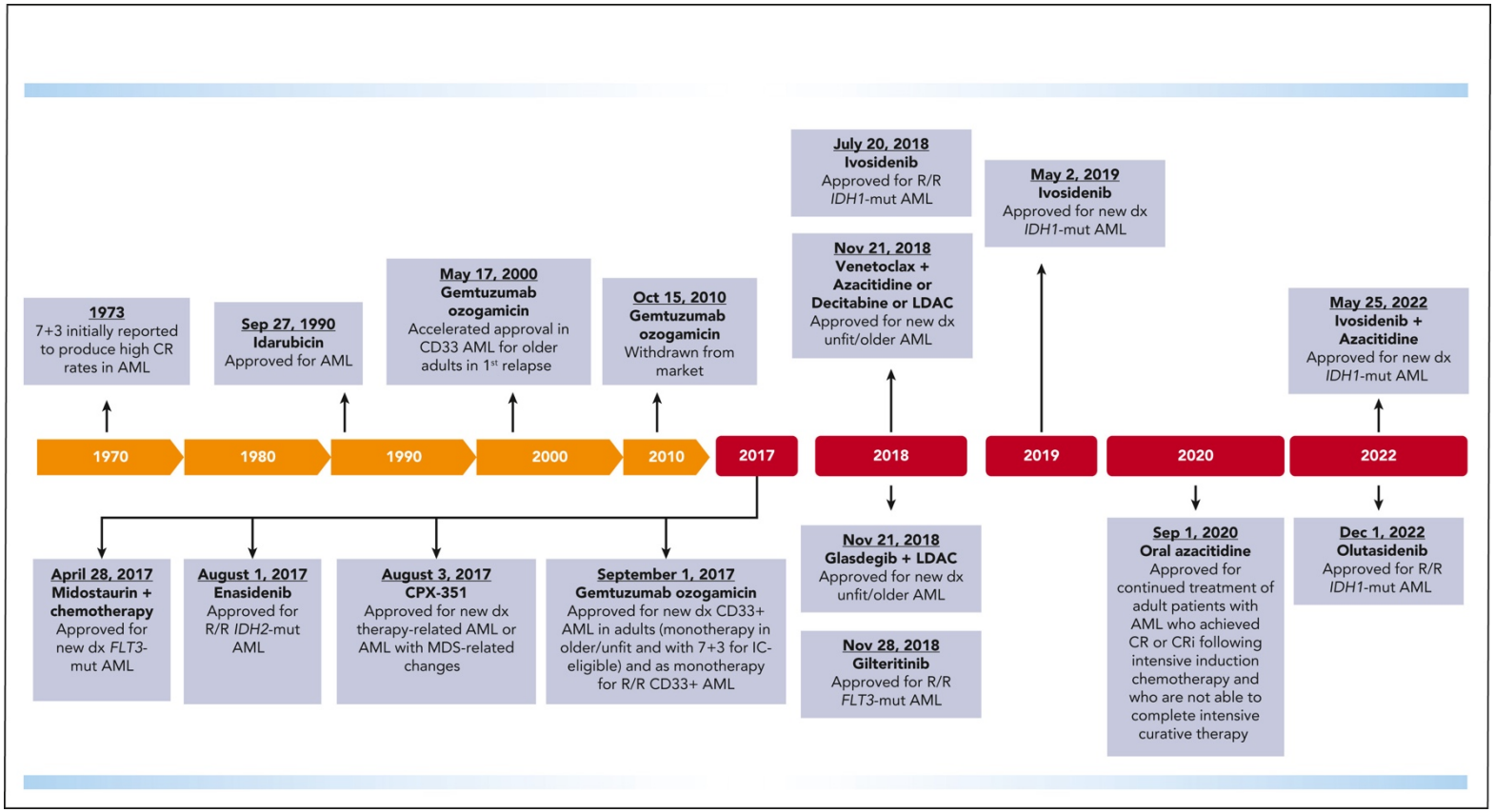


Figura 11. Eje cronológico de la aprobación de fármacos para pacientes diagnosticados de LMA según la agencia de medicamentos de EEUU hasta 2022 (FDA). Desde entonces, Revumenib (inhibidor de menina aprobado para pacientes R/R con reordenamiento de *KMT2A* o mutación de *NPM1*) y Quizartinib (inhibidor de FLT3 aprobado para pacientes con nuevo diagnóstico de LMA con mutación de *FLT3* en combinación con quimioterapia) se han incorporado a la lista de fármacos aprobados en este contexto. Extraído de El Chaer F et al., Blood, 2023 (148)

En los pacientes con mutación de *FLT3*, situados en el riesgo intermedio de la ELN 2022, se añade midostaurina 50 mg cada 12 horas a los esquemas de a la quimioterapia previamente descrita desde el día 8 de ciclo hasta el día 21, sin la posibilidad de añadir GO. Midostaurina es un inhibidor de FLT3 de primera generación, que tiene un efecto no específico con capacidad de inhibir otras tirosin kinasas, que demostró mejorar la supervivencia en pacientes con LMA con mutación de *FLT3* si se asociaba a quimioterapia en el estudio RATIFY(47) (HR: 0.78, p = 0.009). Si el paciente alcanza la remisión completa, se debe valorar la consolidación del tratamiento con un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.

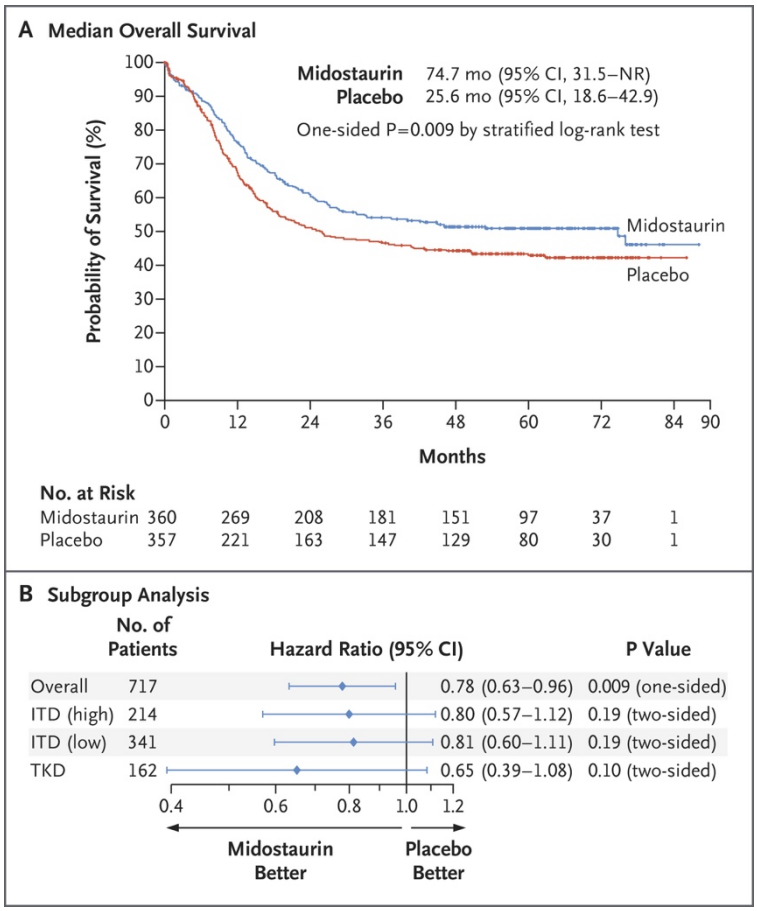


Figura 12. Supervivencia global en pacientes en los que se añadió midostaurina (azul) respecto a los que recibieron placebo (rojo) de acuerdo con el ensayo clínico RATIFY. Extraído de Stone R. et al., New England Journal of Medicine, 2017(47).

En el resto de pacientes con pronóstico intermedio o adverso se debe valorar el riesgo de recaída de cara a consolidar el tratamiento con un AloTPH. Por otro lado, si el paciente paciente presenta LMA secundaria o mutaciones relacionadas con mielodisplasia se debe utilizar la formulación liposomal CPX-351.

CPX-351 combina DA (44 mg/m²) y Ara-C (100 mg/m²) contenidos en liposomas, administradas los días 1, 3 y 5 en infusiones de 90 minutos durante la primera inducción y en días 1 y 3 durante las consolidaciones.

Esta presentación permite mayor disponibilidad de la quimioterapia en la médula ósea y una relación molar fija intracelular 1:5 entre ambos fármacos, lo cual parece optimizar su efecto sinérgico, y ha demostrado superioridad en la supervivencia global y supervivencia libre de evento en pacientes entre 60 y 75 años con LMA secundaria comparado con los esquemas convencionales de quimioterapia en los diferentes ensayos clínicos realizados (149-153).

Si el paciente no es candidato a consolidación con aloTPH y ha alcanzado una respuesta completa morfológica con o sin recuperación hemoperiférica (RC o RCi), se puede valorar administrar azacitidina en formulación oral (CC-486) a una dosis de 300 mg al día, los días 1 a 14 de cada ciclo de 28 días, como terapia de mantenimiento.

2.1.1.2 Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos

En el momento actual, la LMA constituye la primera indicación de AloTPH a nivel mundial(154). Según la ELN 2022, el procedimiento está indicado en función de las características biológicas de la enfermedad cuando la probabilidad de recaída sin someter al paciente al trasplante supera el 35-40%.

Esta predicción incluye a todos los pacientes en una segunda o sucesiva respuesta completa y a la mayoría de los pacientes de riesgo intermedio y adverso en la primera RC (RC1), aunque existen discrepancias dentro del riesgo intermedio entre la mejor terapia de consolidación de la respuesta de estos pacientes en función del grupo investigador que desarrolle el protocolo de tratamiento (ver sección 3.2.1.2.)

El efecto de los linfocitos T alogénicos, que reconocen las células residuales de la enfermedad del receptor y las eliminan, impidiendo la recaída de la enfermedad, constituye la base del potencial curativo del procedimiento. Este mecanismo es conocido como efecto injerto contra leucemia (EICL).

Conocer el mecanismo del EICL, resulta clave a la hora de realizar el procedimiento encontrar un equilibrio adecuado entre evitar un efecto del injerto contra el propio receptor por alorreactividad, y que el EICL sea efectivo para poder evitar una recaída de la enfermedad o pueda ser terapéutico en caso de una recaída precoz, retirando la inmunosupresión del paciente.

Desde que se realizó por primera vez el procedimiento por el profesor E Donell Thomas en 1957(155), con el caso de un paciente que recibió tratamiento mieloablativo basado en radioterapia, y posterior injerto de médula ósea de su hermano gemelo, se han optimizado de manera sustancial todos los aspectos clave del procedimiento, comenzando por ampliar la posibilidad de donantes y la fuente de los posibles progenitores, siendo la sangre periférica la fuente más ampliamente utilizada en adultos en la actualidad(156).

Por un lado, la introducción de nuevos fármacos en el régimen de acondicionamiento y la introducción de esquemas de acondicionamiento de intensidad reducida ha permitido ampliar el número de pacientes tributarios al AloTPH y demuestra que una de las hipótesis iniciales sobre la efectividad del procedimiento, que se basaba en que el efecto estaba determinado por la administración de dosis altas de quimioterapia y radioterapia no es correcta, ya

que una inmunosupresión correcta que permita un balance adecuado entre EICL y , es suficiente para evitar la recaída del paciente(157).

Además, las mejoras en la profilaxis del efecto injerto contra huésped, como la introducción de esquemas de profilaxis basados en ciclofosfamida tras el trasplante alogénico, que inicialmente se utilizó en el trasplante haploidéntico(158), pero que se ha extendido a todos los donantes(159), la posibilidad de utilizar diferentes donantes y fuentes de progenitores y los avances en la profilaxis antimicrobiana, como la profilaxis de CMV con letermovir(160), han mejorado progresivamente la supervivencia de los pacientes alotrasplantados en los últimos años.

A pesar de ello, continúa existiendo un riesgo elevado de mortalidad relacionada con el trasplante de manera directa(161,162) y, también, de morbilidad relacionada con el procedimiento de manera específica(163). Estas complicaciones abarcan desde procesos autoinmunes hasta consecuencias derivadas de la EICR crónica, y pueden afectar tanto a corto como largo plazo.

Todo ello impacta de manera sustancial en la calidad de vida de los pacientes tras el procedimiento por lo que confirmar de manera objetiva que el paciente es candidato e intentar mejorar su condición previo a trasplantarle es básico y aporta información relevante al hematólogo trasplantador. Para ayudar a las decisiones clínicas se han desarrollado escalas específicas tanto relacionadas con la valoración de las comorbilidades(164,165), como con la fragilidad del paciente(166,167) en el momento de la necesidad de realizar el AloTPH.

2.1.2. Tratamientos de baja intensidad

Los pacientes que, bien por edad avanzada o por comorbilidades que no pueden ser tratados en primera línea con esquemas de quimioterapia endovenosa basados en antraciclinas, reciben tratamientos denominados de baja intensidad por el menor número de efectos adversos relacionados con estas terapias. En estos pacientes, la aparición de nuevas terapias dirigidas ha supuesto un cambio de paradigma, pese a que el arsenal terapéutico aún es limitado(168).

Inicialmente, en décadas previas, la actitud en estos pacientes consistía en tratamiento paliativo de soporte, lo cual se modificó con la introducción de los agentes hipometilantes, como azacitidina(169) y decitabina(170) en monoterapia que aumentaron la supervivencia en este subgrupo de pacientes, pero con una esperanza de vida aún menor a los 12 meses desde el diagnóstico.

Pese al desarrollo activo de nuevos compuestos en el momento actual, de manera general, la supervivencia de estos pacientes es más corta dado que los tratamientos establecidos actualmente no suponen una opción curativa en la mayoría de los pacientes.

2.1.2.1. Venetoclax en combinación con agentes hipometilantes

El cambio más relevante en la última década, que se ha modificado la primera opción de tratamiento en la gran mayoría de los pacientes, ha sido la introducción de la combinación de venetoclax, inhibidor de BCL-2, con agentes hipometilantes.

BCL-2 es un conocido regulador antiapoptótico de la vía intrínseca de la apoptosis. Su sobreexpresión en neoplasias mieloides se ha relacionado con quimiorresistencia, consecuentemente afectando al pronóstico de la enfermedad (171–173).

Venetoclax en monoterapia para LMA produce una mejora discreta en términos de respuesta, pero la combinación con agentes hipometilantes promueve un efecto antileucémico sinérgico, combinando la expresión de proteínas proapoptóticas como BH-3 y NOXA por parte de la azacitidina y la inhibición de BCL-2 por parte de venetoclax (174,175).

Tanto el estudio de fase 1b, con una tasa de RC global (incluyendo RC sin recuperación hemoperiférica) del 61% y una tolerabilidad adecuada como posteriormente el ensayo clínico pivotal fase 3 VIALE-A (176), que comparó la combinación de azacitidina y venetoclax con azacitidina más placebo en pacientes de nuevo diagnóstico. Tanto la tasa de RC global como la mediana de supervivencia global (14,7 versus 9,6 meses) fueron superiores en el grupo experimental (66% vs 28%), con una tolerabilidad aceptable que se ha visto posteriormente, traducida en bajas tasas de mortalidad relacionada con el tratamiento durante los primeros ciclos.

En comparación con la terapia con el grupo control, las citopenias y las complicaciones relacionadas con estas, como la fiebre neutropénica, fueron más frecuentes en el grupo experimental con venetoclax y azacitidina, especialmente en los primeros dos ciclos.

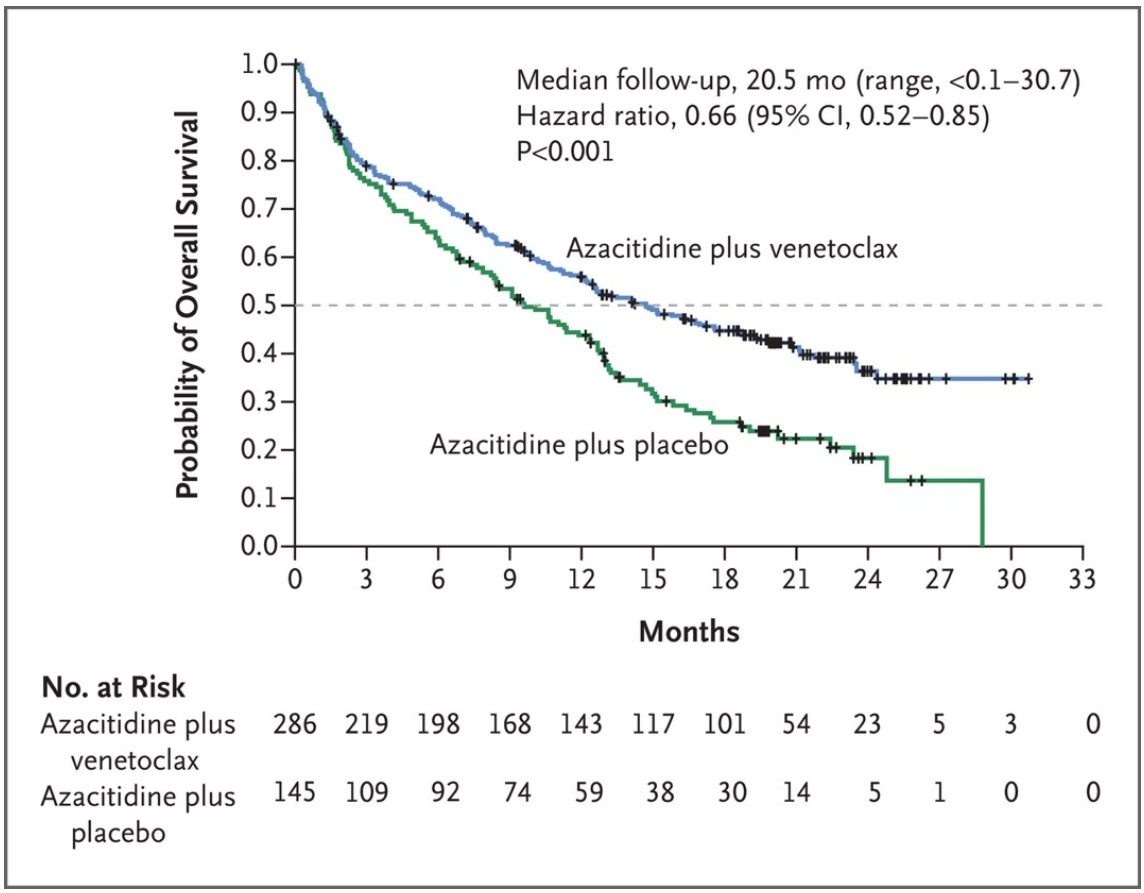


Figura 13. Supervivencia de pacientes tratados con venetoclax y azacitidina comparada con azacitidina y placebo en el ensayo clínico fase III VIALE-A. Extraído de DiNardo C. et al., NEJM 2020(176).

2.1.2.2. Ivosidenib en combinación con azacitidina

Alrededor de un 10 por ciento de los pacientes presentan mutación del gen de la deshidrogenasa isocítrica 1 (*IDH1*) en el momento del diagnóstico de LMA. Para estos pacientes, la combinación de ivosidenib, inihibidor de *IDH1*, con el agente hipometilante azacitidina, se tradujo en una mejora en la tasa de RC global en los pacientes tratados con el grupo experimental versus pacientes tratados con azacitidina en monoterapia (53% frente a 18%) (104).

Los resultados también fueron superiores en supervivencia global (24 meses versus 8, p = 0.002). Los efectos secundarios relacionados con el tratamiento incluyeron el síndrome de diferenciación desencadenado por ivosidenib y la prolongación de QTc en torno a un 10% en ambos casos.

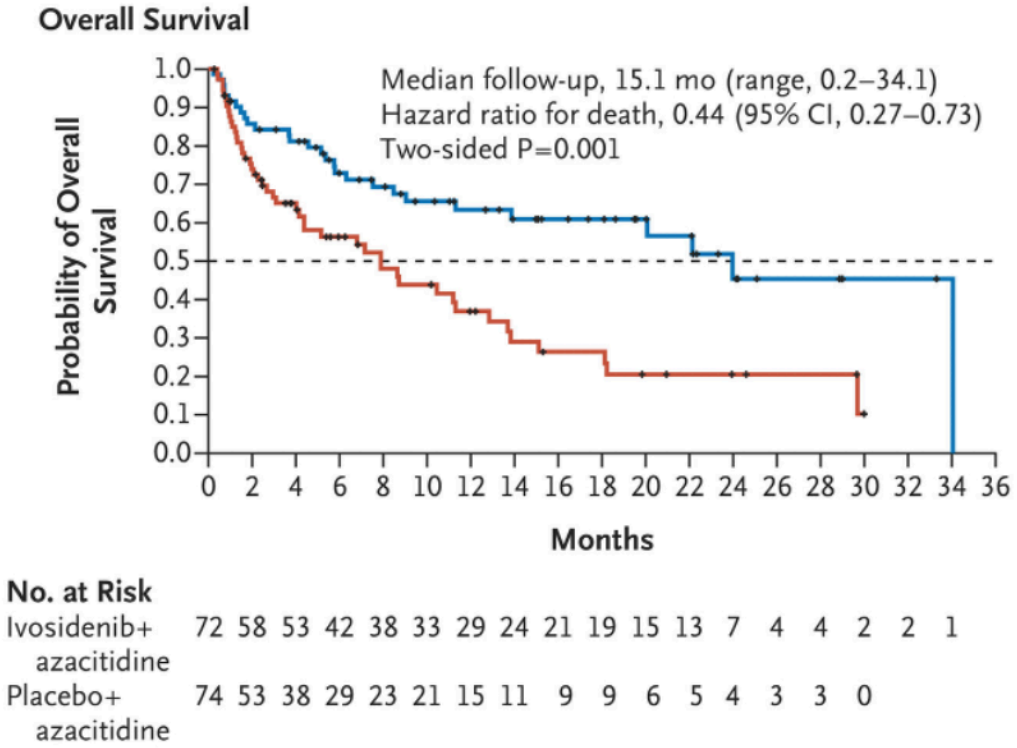


Figura 14. Supervivencia de pacientes tratados con ivosidenib y azacitidina comparada con azacitidina y placebo en el ensayo clínico fase III AGILE. Extraído de Montesinos P.. et al., NEJM 2022(104).

2.1.2.3. Otras opciones terapéuticas

Existen, por otro lado, otras combinaciones que sugieren la utilización de regímenes de baja intensidad basados en dosis bajas de citarabina, incluyendo glasdegib, inhibidor de la vía hedgehog que en combinación demostró resultados positivos con una tasa de respuesta acumulada del 26.9% y mediana de supervivencia global de 8 meses, por lo que se le concedió la aprobación por la FDA en primera línea de tratamiento para paciente unfit(177), o la introducción

de inhibidores de FLT3(52) o IDH(178) en primera línea, en combinación con regímenes basados en venetoclax, si bien los tripletes se encuentran en fase experimental y no están aprobados en el momento actual para LMA.

2.2. Tratamiento de la enfermedad refractaría o en recaída

El pronóstico de los pacientes continúa siendo malo en pacientes refractarios a tratamiento o en recaída, dada la limitada variedad de opciones terapéuticas disponibles en el momento actual(2).

De acuerdo con guías establecidas en este contexto, en el momento actual, antes de considerar cualquier opción terapéutica, se debe valorar la inclusión en ensayos clínicos, dado que se continúa considerando prioritario el desarrollo de nuevos fármacos en este contexto (179).

Una vez establecida la recaída, en el momento actual, se debe estudiar el perfil mutacional del paciente en ese momento. Este estudio resulta básico en el momento actual, dado que las terapias dirigidas que han aparecido en los últimos años constituyen la mejor opción terapéutica en el momento actual.

Si el paciente no presenta dianas moleculares tributarias de tratamiento dirigido, y es candidato a terapia intensiva, la modificación de los agentes quimioterápicos recibidos inicialmente, con esquemas como HAM o FLAG-IDA, incluyendo nuevas moléculas como venetoclax estarían indicadas en este tipo de pacientes, aunque los resultados son subóptimos(180).

En todos los pacientes candidatos a tratamiento tras la recaída es importante determinar lo antes posible si el paciente es candidato a un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, dado que todos estos pacientes tienen indicación del mismo como terapia de consolidación si alcanzan ¡ respuesta tras la recaída.

Por último, el paciente que no es candidato a terapia activa contra la enfermedad se beneficiará de un tratamiento de soporte transfusional, seguimiento estrecho de las complicaciones derivadas por un equipo de paliativos y tratamiento citorreductor a discreción clínica en función de los valores de la hemoperiferia.

Agente	Diana terapéutica	Aprobación EMA	Aprobación FDA	Edad estudio (años)	N	ORR (%)	CR (%)	SG (meses)
Gilteritinib (53)	*FLT3*	Si	Si	20-84	247	54	21	9,3
Ivosidenib (181)	*IDH1*	No	Si	18-89	258	42	22	8,8
Olutasidenib (106)	*IDH1*	No	Si	32-87	153	48	32	11,6
Enasidenib (182)	*IDH2*	No	Si	19-100	109	40	19	9,3
Gemtuzumab Ozogamicina (183)	$CD33^{+}$	No	Si	20-87	277	26	13	4,9
Revumenib (184)	*KMT2Ar* *NPM1*	No	Si	1-79	68	53	30	9,6

Tabla 14. Terapias dirigidas en pacientes diagnosticados de LMA en situación de enfermedad refractaria o en recaída en el momento actual. Adaptado por el doctorando con adición de información sobre el artículo de Thol F. et al., Blood, 2024(179)

Categoría de respuesta	**Criterios definitorios**
Respuesta completa	Blastos en médula ósea < 5% Ausencia de blastos circulantes Ausencia de enfermedad extramedular Recuento de neutrófilos >1x10^9/L Recuento de plaquetas ≥ 100× 10^9/L
Respuesta completa sin recuperación hemoperiférica	Recuento de neutrófilos ≥ 0.5×10^9/L Recuento de plaquetas ≥ 50×10^9/L Se cumplen todos los demás criterios de RC
Respuesta completa incompleta	Todos los criterios de CR salvo: Neutropenia residual < 1x10^9/L o Trombocitopenia < 100×10^9/L
Estado libre de leucemia morfológica	Blastos en médula ósea < 5% (MO valorable) Ausencia de blastos circulantes Ausencia de enfermedad extramedular No se requiere recuperación hematológica
Respuesta parcial	Se cumplen todos los criterios hematológicos de CR Disminución del porcentaje de blastos en médula ósea al 5%-25%

	Disminución de al menos el 50% del porcentaje de blastos en médula ósea respecto al valor previo al tratamiento
Enfermedad refractaria	Ausencia de CR, CRh o CRi en el punto de tras 2 ciclos de tratamiento de inducción intensivo o en un hito definido (por ejemplo, 180 días después de iniciar una terapia menos intensiva).
RC con ERM negativa	Remisión morfológica completa, y ERM negativa en todas las tecnologías de ERM que se hayan utilizado: a. ERM por CFM - en médula ósea**,** b. ERM por qPCR - en sangre periférica y/o médula ósea c. ERM por NGS - si se utilizó ERM basada en NGS
RC con ERM positiva	Remisión morfológica completa, y ERM positiva en: a. ERM por CFM en médula ósea b. ERM por qPCR en sangre periférica y/o médula ósea c. ERM por NGS si se utilizó MRD basada en NGS

RC con ERM molecular positiva a bajo nivel	Remisión morfológica completa, y ERM por qPCR a nivel bajo, detectable por debajo del nivel de positividad, monitorizada por qPCR o NGS.
Recaída de MRD	Conversión de MRD negativa a MRD positiva con un incremento de ≥1log^{10} entre dos muestras positivas en sangre periférica y/o médula ósea o Pacientes con ERM por qPCR o NGS a nivel bajo monitorizada por qPCR o NGS El resultado de estas situaciones debe confirmarse rápidamente en una segunda muestra consecutiva, preferiblemente de médula ósea.

Tabla 15. Criterios de respuesta de acuerdo a la European LeukemiaNet 2022. Adaptado de (185).

3. Factores pronósticos en Leucemia Mieloide Aguda

Para poder establecer un pronóstico pacientes diagnosticados de LMA se deben tener en cuenta numerosos factores relacionados con el paciente, las manifestaciones clínicas en el momento del diagnóstico inicial, y las características biológicas propias de la enfermedad, cuyo valor varía en función del tratamiento de inducción elegido. Además, tanto la respuesta inicial al tratamiento como, posteriormente, el seguimiento de la respuesta y de la enfermedad residual medible (ERM), modifican el pronóstico de manera dinámica.

3.1. Factores pronósticos dependientes del paciente

3.1.1. Edad, comorbilidades y fragilidad

La edad es un factor pronóstico muy relevante a la hora de analizar la supervivencia en pacientes diagnosticados de LMA. Por un lado, las características biológicas de la enfermedad se modifican con el paso de los años, con mayor frecuencia de biologías relacionadas con mal pronóstico en pacientes, especialmente a partir de los 60 años de edad(186).

Dentro de estas entidades destacan alteraciones citogenéticas y moleculares relacionadas con la mielodisplasia(6, 7,187), como mutaciones relacionadas con hematopoyesis clonal que se relaciona con mayor frecuencia con incidencia de neoplasias(16–19,21,188).

Por otro lado, los pacientes más ancianos también presentan más frecuentemente un mayor número de comorbilidades y un peor estado general en el momento del diagnóstico.

Derivado de todo ello, de manera clásica, los pacientes mayores de 75 años no se consideran tributarios de poder recibir regímenes de quimioterapia basados en antraciclinas, por la elevada toxicidad que este tratamiento supone en

pacientes de edad avanzada, y que se traduce en una mayor tasa de mortalidad relacionada con el tratamiento intensivo(189,190).

Además de la edad y las comorbilidades del paciente, se deben tener en cuenta a la hora de elegir el tratamiento más adecuado el estado general del paciente, cuya valoración en la práctica clínica en se realiza utilizando la escala desarrollada por el *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG)(191), y las toxicidades específicas relacionadas con la terapia, sobre todo si el paciente ya ha estado expuesto a tratamientos oncológicos previamente.

Para unificar estos criterios de elección de tratamiento, se utilizan de manera habitual los criterios de Ferrara(168), sobre todo en el contexto de los ensayos clínicos, aunque no existe una herramienta estandarizada para determinar la elegibilidad.

Criterio	**Descripción**
Edad avanzada	Edad mayor de 75 años
Insuficiencia cardíaca congestiva o miocardiopatía	Fracción de eyección del ventrículo izquierdo ≤50%
Enfermedad pulmonar	DLCO ≤65% o FEV1 ≤65%, disnea en reposo o que requiere oxígeno
Insuficiencia renal	Paciente en diálisis y mayor de 60 años o carcinoma renal incontrolado
Enfermedad hepática	Cirrosis hepática estadio Child B o C, enfermedad hepática con transaminasas elevadas, carcinoma de vías biliares o hepático incontrolado, hepatitis viral aguda
Infección activa	Infección resistente a la terapia antiinfecciosa
Enfermedad mental	Enfermedad mental activa que requiere hospitalización psiquiátrica, institucionalización o

	manejo intensivo ambulatorio, o dependencia (confirmado por un especialista) no controlada por el cuidador
Estado funcional	Estado funcional ≥3 en la escala ECOG, no relacionado con leucemia
Otras comorbilidades	Cualquier otra comorbilidad incompatible

Tabla 16. Criterios consensuados de Ferrara para la definición de comorbilidades que contraindican el tratamiento intensivo en pacientes diagnosticados de LMA. Extraído de Ferrara F et al., Leukemia 2013 (168). DLCO, capacidad de difusión pulmonar de monóxido de carbono; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; FE. fracción de eyección; FEV1, volumen espiratorio forzado en 1 segundo.

Además, también existen escalas de fragilidad y comorbilidad adecuadas al paciente hematológico que tienen una gran relevancia en la práctica clínica, sobre todo cuando se debe determinar si el paciente es tributario de un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos como terapia de consolidación tras la quimioterapia inicial(169,192).

3.1.2. Factores socioeconómicos

Tanto la situación social como económica repercuten en la supervivencia de los pacientes diagnosticados de LMA (193). Existen múltiples factores relevantes para el pronóstico del paciente diagnosticado de LMA entre los que destacan el acceso tanto a tratamiento adecuado específico para la enfermedad (194), como a ensayos clínicos, dada la limitada cantidad de opciones terapéuticas con indicación aprobada por las agencias farmacológicas en el momento actual (195), y la complejidad de las medidas de soporte asociadas a la terapia, como el soporte transfusional mantenido o la profilaxis de complicaciones infecciosas

A nivel global, la importancia de estos factores se ha demostrado en estudios demográficos, donde se ha objetivado una supervivencia global menor en regiones menos desarrolladas, además de una probable infraestimación de la incidencia de la enfermedad, lo cual podría incrementar aún más la disparidad entre diferentes regiones. (196)

Por otro lado, dentro de estudios poblacionales nacionales, se ha observado el impacto positivo en la supervivencia de un mejor nivel socioeconómico en el momento del diagnóstico, con una tendencia a la equidad entre estratos socioeconómicos en los últimos años estudiados, y de la convivencia con otras personas en el mismo domicilio en el momento del diagnóstico. (197, 198)

3.2. Factores pronósticos dependientes de la enfermedad

3.2.1. Tratamiento con quimioterapia estándar

3.2.1.1. Del valor de la citogenética a las escalas de la European LeukemiaNet (ELN)(185)

La heterogeneidad intrínseca de la LMA se traduce en una gran variabilidad en los mecanismos fisiopatológicos que conducen al desarrollo de la LMA. Desde que se conoce este hecho, se ha estudiado si el pronóstico depende de cómo se ha desarrollado la enfermedad, para así poder estratificarlo en diferentes grupos en función de las diferentes anomalías biológicas recurrentes.

El tratamiento de la enfermedad se ha basado mayoritariamente en esquemas de quimioterapia basados en citarabina y antraciclinas hasta la última década, ya que era la única combinación con evidencia de mejorar la supervivencia global de los pacientes diagnosticados de LMA (no LPA), por lo que todas las estratificaciones de riesgo se realizaron en función de la respuesta a este tipo de esquemas terapéuticos. En la actualidad, la introducción de nuevos fármacos en la práctica clínica ha hecho necesaria la aparición de nuevas estratificaciones específicas, dado que las escalas para tratamiento intensivo no se adecuan a los pacientes tratados con baja intensidad.

Desde qué en 1973 la profesora Janet D. Rowley descubriera que existían anomalías somáticas a nivel cromosómico en las células leucémicas que definían a la LMA como una enfermedad genética(199,200) (estas alteraciones citogenéticas fueron las traslocaciones balanceadas de t(8;21) en LMA y t(9;22) en LMC, además de la posterior descripción de la t(15;17) en la LPA en 1977), diversos estudios confirmaron en la década de los 80 el valor pronóstico de las alteraciones citogenéticas presentes en el diagnóstico de pacientes diagnosticados de LMA(201–205).

5Posteriormente, con el descubrimiento de nuevas anomalías citogenéticas y la verificación del valor pronóstico de las mismas, se publicó la primera clasificación de riesgo basada del grupo británico MRC(44), donde David Grimwade y colaboradores analizaron 1612 pacientes en 1998.

Esta clasificación sirvió de referencia hasta su actualización en 2010 con más de 5000 pacientes analizados y donde se establecían tres grupos de riesgo citogenético(206).

El grupo de riesgo favorable lo componían pacientes que presentaran t(15;17)(q22;q21), t(8;21)(q22;q22) o inv(16)(p13q22) / t(16;16)(p13;q22) y el grupo adverso estaba compuesto por anomalías en (3q) (salvo t(3;5)(q25;q34)), inv(3)(q21q26) / t(3;3)(q21;q26), add(5q) / del(5q), monosomías de cromosomas 5 y 7, add(7q) / del(7q), t(6;11)(q27;q23), t(10;11)(p11~13;q23), otras t(11q23) (salvo t(9;11)(p21~22;q23) o t(11;19)(q23;p13)), t(9;22)(q34;q11), monosomía del cromosoma 17, anomalías en (17p) y cariotipo complejo definido como 4 o más anomalías citogenéticas.

Finalmente, el grupo intermedio estaba compuesto por pacientes con cualquier anomalía citogenética que no pudiera incluirse en los dos grupos previamente mencionados.

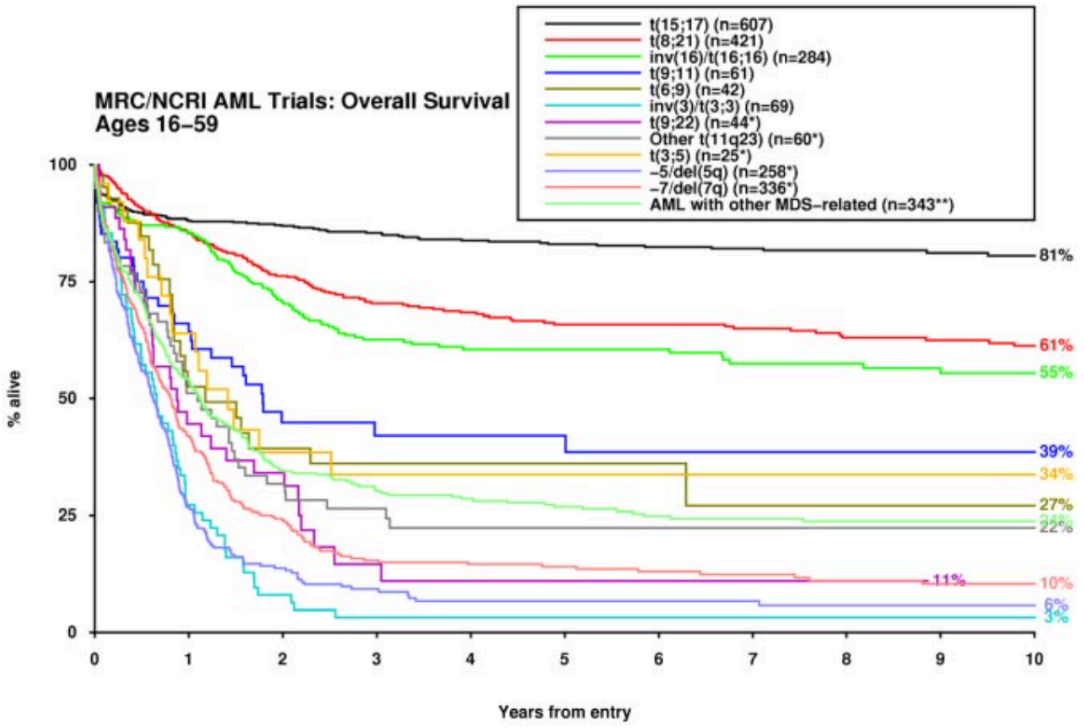


Figura 15. Supervivencia en pacientes diagnósticados de LMA en función de las anomalías citogenéticas al diagnóstico según las entidades adoptadas en la clasificación de la OMS de 2008. Adaptado de Grimwade D et al., Blood 2010 (206)

Pese a que el riesgo citogenético posee un gran valor pronóstico independiente en LMA, existen limitaciones técnicas e intrínsecas a la enfermedad para poder estratificar a todos los pacientes en función del mismo exclusivamente. Este hecho se pone de manifiesto sabiendo que hasta un 50% de los pacientes pueden tener un cariotipo normal en el momento del diagnóstico(7, 45, 207).

Por ello, el avance en la tecnología ha permitido conocer en las últimas décadas los mecanismos moleculares que subyacían en estos pacientes y explicaban el desarrollo de la enfermedad, pudiendo diagnosticar de manera más adecuada a los pacientes en función de la respuesta al tratamiento con quimioterapia estándar.

En este contexto, desde la tercera clasificación de la OMS (2008)(141), la European LeukemiaNet (ELN) ha confeccionado guías con recomendaciones que establecen un riesgo pronóstico en función de la biología molecular conocida, actualizándose de manera paralela con las clasificaciones diagnósticas (208, 209).

Si bien no son las únicas clasificaciones de riesgo válidas para estratificar a los pacientes y han existido esfuerzos de gran valor intentando unificar la clasificación y la estratificación del riesgo, llegando en el caso del estudio del grupo de Elli Papaemmanuil a poder discriminar al 100% de los pacientes (7, 207), nos centraremos en la última actualización de las guías de la ELN, en el año 2022, dado que son las clasificaciones de riesgo más utilizadas en la práctica clínica a nivel global y, por tanto, las más relevantes en la actualidad.

3.2.1.2. Clasificación de riesgo de la ELN 2022(201)

La última actualización de las directrices de la ELN, publicada en el 2022, utiliza las características genéticas cruciales para el pronóstico de la enfermedad identificadas en el momento del diagnóstico, tomando como referencia la clasificación del ICC descrita previamente y publicada el mismo año(31).

Dada la adecuación del riesgo de manera paralela a la aparición de las nuevas clasificaciones, las recomendaciones son publicadas sin haber sido validadas en diferentes cohortes de pacientes, por lo que desde su aparición se ha validado su factor pronóstico para pacientes diagnosticado tratados con quimioterapia estándar en diferentes cohortes de gran tamaño(210–212).

Al igual que en su predecesor inmediato(209), se distinguen tres grupos de riesgo molecular en el diagnóstico:

Favorable:

Dentro de esta categoría, se incluyen las translocaciones que afectan al CBF, las mutaciones de NPM1 sin *FLT3-ITD*, y las mutaciones de CEBPA en el marco de lectura de la región bZIP.

Las anomalías que afectan tanto al CBF, t(8;21)(q22;q22.1) y inv(16)(p13.1q22), como al bZIP de CEBPA están claramente asociadas a un buen pronóstico si no se asocian con anomalías citogenéticas pertenecientes a otros grupos de riesgo, con tasas elevadas de respuesta completa y supervivencia prolongada en pacientes tratados intensivamente, tanto así que en un estudio de refinamiento de la ELN 2022 se colocaron dentro de un subgrupo al que llamaron “muy favorable”, con supervivencia y tasas de respuestas superiores al resto de pacientes dentro de este grupo. (211)

Las mutaciones de NPM1 continúan representando una proporción significativa de los casos de LMA (aproximadamente el 30-40%). En la nueva clasificación, se especifica que el pronóstico favorable se aplica únicamente en ausencia de *FLT3-ITD*, sin considerar el ratio alélico. lo cual es un cambio significativo respecto a las guías ELN 2017. (213)

Por otro lado, las mutaciones de CEBPA se consideran de riesgo favorable, única y exclusivamente si se encuentran localizadas en el marco de lectura de la región bZIP de CEBPA. Esto afecta a la gran mayoría de mutaciones bialélicas, pero no a todas, y a un porcentaje de las monoalélicas, lo que también representa una modificación clave de la ELN 2022 respecto a su predecesora(136–138).

Intermedio:

Esta categoría ahora incluye a todos los pacientes con mutaciones de *FLT3-ITD,* independientemente de su codependencia con mutaciones de *NPM1* y de la ratio alélica si ambas mutaciones están presentes en el diagnóstico.

Esta inclusión de todas las mutaciones de FLT3-ITD en el grupo intermedio supone un cambio dado que en la clasificación previa los pacientes con *NPM1* mutado, la ratio alélica de *FLT3-ITD* diferenciaba de manera dicotómica a los pacientes en los grupos favorable o intermedio, con un punto de corte de 0.5, mientras que pacientes sin mutación asociada de *NPM1* eran categorizados en el grupo adverso.

Esta unificación de todas las LMA con *FLT3-ITD* se justifica por la introducción de la midostaurina como inhibidor de FLT3 en la primera línea de tratamiento con quimioterapia estándar, lo cual ha demostrado una mejora en supervivencia independientemente de la categorización previa de los pacientes(47), y por la falta de estandarización en la manera de realizar el ratio alélico, lo que según ellos, impide poder tomar decisiones universales en función de este.

Si bien se ha tomado esta adaptación, existen grupos de investigación como CETLAM que siguen adecuando el tratamiento y la indicación del trasplante alogénico en primera respuesta completa en función del mismo aunque todos los pacientes estén ahora comprendidos dentro del riesgo intermedio.

Además, el subtipo t(9;11)(p21.3;q23.3)/*MLLT3::KMT2A* permanece en la categoría de riesgo intermedio debido a su mejor supervivencia respecto a otros reordenamientos de KMT2A(86), si bien estudios recientes hipotetizan que la diferencia en la supervivencia observada en los pacientes con KMT2A reordenado está determinada por las mutaciones somáticas acompañantes y no por la variabilidad en el reordenamiento como tal(87).

Finalmente, las anomalías citogenéticas o moleculares que no encajan en los grupos favorable o adverso, permanecen categorizadas aquí, con énfasis en la necesidad de analizar mutaciones específicas recurrentes para una mejor asignación de riesgo.

Adverso:

La categoría de riesgo adverso de la ELN 2022 es la más heterogénea, incluyendo diversas mutaciones somáticas y translocaciones cromosómicas asociadas a mal pronóstico de manera independiente. Como anomalías citogenéticas recurrentes se encuentran t(6;9)(p23;q34.1) / *DEK::NUP214*, t(9;22)(q34.1;q11.2) / *BCR::ABL1*, t(8;16)(p11;p13) / *KAT6A::CREBBP.* reordenamientos de *KMT2A* salvo *MLLT3::KMT2A* y reordenamientos de *MECOM(EVI1)*, así como anomalías en los cromosomas 5, 7 y 17.

Además, se ha refinado la definición de cariotipo complejo: ≥3 anomalías cromosómicas no relacionadas en ausencia de otras anomalías genéticas recurrentes que definan una clase, excluyendo cariotipos hiperdiploides con tres o más trisomías (o polisomías) sin anomalías estructurales) y de cariotipo monosómico: presencia de dos o más monosomías distintas (excluyendo la pérdida de los cromosomas X o Y), o una monosomía autosómica única en combinación con al menos una anomalía cromosómica estructural, salvo LMA CBF).

Respecto al espectro molecular de este grupo, se han considerado como riesgo adverso las nueve mutaciones relacionadas con la mielodisplasia (*ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1 y ZRSR2*) que ahora forman parte de la entidad, si no presentan alteraciones asociadas al riesgo favorable(214-215) y se ha incorporado de manera definitiva a los pacientes que presenten LMA o SMD/LMA con mutación de *TP53*, siempre que la VAF somática sea >10%, independientemente del estado alélico (73, 74).

Categoría	Anomalías Genéticas
Favorable	t(8;21)(q22;q22.1) / *RUNX1::RUNX1T1* inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22) / *CBFB::MYH11* *NPM1* mutado sin *FLT3-ITD* (sin anomalías citogenéticas de alto riesgo) Mutación en el marco bZIP de *CEBPA*
Intermedio	*NPM1* mutado con *FLT3-ITD* *NPM1* no mutado con *FLT3-ITD* (sin anomalías citogenéticas de alto riesgo) t(9;11)(p21.3;q23.3) / *MLLT3::KMT2A* Anomalías citogenéticas o moleculares no clasificables como favorables o adversas
Adverso	t(6;9)(p23;q34.1) / *DEK::NUP214* t(v;11)(v;q23.3) / *KMT2A* reordenado t(9;22)(q34.1;q11.2) / *BCR::ABL1* inv(3)(q21.3q26.2) o t(3;3)(q21.3;q26.2) / *GATA2*, *MECOM(EVI1)* reordenado t(8;16)(p11;p13)/*KAT6A::CREBBP* t(3q26.2;v) / *MECOM(EVI1)* reordenado –5 o del(5q); –7; –17 / abn(17p) Cariotipo complejo; cariotipo monosómico *ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1 o ZRSR2* mutados *TP53* mutado (VAF > 10%, independientemente del estado alélico)

Tabla 17. Clasificación del riesgo genético de LMA en el momento del diagnóstico según la ELN 2022. Adaptado de Döhner H. et al, Blood, 2022 (185)

3.2.2. Tratamientos de baja intensidad

Las escalas de riesgo biológico establecidas para tratamientos con quimioterapia han demostrado no ser adecuadas a la hora de analizar el valor pronóstico de las anomalías biológicas en pacientes diagnosticados de LMA tratados con regímenes de baja intensidad, tanto en pacientes tratados con hipometilantes en monoterapia, como en pacientes tratados con combinaciones basadas en venetoclax (216, 217). A la hora de analizar el por qué no son adecuadas, se deben tener en cuenta varios factores:

Primero, la diferencia en el mecanismo de acción de los tratamientos, dado que las clasificaciones de riesgo están basadas en el pronóstico de pacientes tratados con quimioterapia intensiva y, por tanto, los mecanismos de resistencia que se presentan en este contexto son diferentes (ver punto 2.2)(218).

Por otro lado, la población tratada con estos esquemas difiere en edad, y por tanto, como se ha mencionado previamente, en el espectro de alteraciones genéticas que definen su LMA. Este hecho, se muestra de manera clara a la hora de estudiar la proporcionalidad dentro de los grupos de las clasificaciones de riesgo de la ELN 2022 en los pacientes tratados con regímenes de baja intensidad, ya que la mayoría de pacientes mayores de 65 años son clasificados categoría de riesgo adverso dentro de la ELN 2022, debido a la elevada frecuencia de pacientes con LMA relacionada con mielodisplasia (104, 176, 181, 219–221).

Pese a que en la gran mayoría de los pacientes los TBI no tienen un potencial efecto curativo, dado que la mayoría de los pacientes recaerán tras un tiempo determinado de tratamiento mantenido (104, 221), las características moleculares impactan de manera fundamental en la duración de la respuesta y supervivencia global.

Para poder estratificar el valor pronóstico de la biología molecular al diagnóstico en pacientes tratados en primera línea con TBI se han propuesto diferentes modelos biológicos en los últimos años. Entre ellos, destacan dos que se explican a continuación, que restringen su validez a pacientes tratados con hipometilantes en monoterapia, en combinación con venetoclax o con ivosidenib si el paciente presenta mutación de *IDH1,* y serán necesarias actualizaciones de las mismas dada la incipiente aparición de nuevas terapias dirigidas, como los inhibidores de menina por ejemplo.

La otra característica común que comparten es la ausencia de criterios citogenéticos para la estratificación en el momento actual, dada la falta de conocimiento actual por la baja incidencia de entidades con anomalías cromosómicas definitorias de enfermedad en población tributaria de TBI.

3.2.2.1. Clasificación de riesgo de la ELN 2024 para tratamientos de menor intensidad(222).

Aunque esta nueva clasificación de la ELN también distingue a los pacientes en tres grupos de riesgo en función de las anomalías biológicas en el momento del diagnóstico, a diferencia de la clasificación de la ELN 2022 para pacientes tratados con quimioterapia intensiva, las mutaciones más relevantes son aquellas que confieren un peor pronóstico a los pacientes estudiados. Esto a efectos prácticos presenta una mutación que lo incluya en un grupo de riesgo determinado, esta mutación prevalece sobre el resto del espectro mutacional que pueda presentar el paciente.

Los pacientes que se encuentran categorizados en la categoría de riesgo adverso son aquellos que presentan mutaciones de *TP53*, con una mediana de supervivencia estimada alrededor de los 6 meses tras iniciar tratamiento (74, 221, 223).

Para pacientes con enfermedad de riesgo intermedio, la supervivencia estimada se encuentra entre los 6 y los 24 meses, y dentro de esta categoría se incluyen pacientes que tengan mutaciones relacionadas con vías de señalización, estando incluidas *NRAS*, *KRAS* y *FLT3-ITD*, así como mutaciones en *IDH1* en los pacientes tratados con azacitidina en combinación con venetoclax.en lugar de ivosidenib (224).

Estas mutaciones confieren un peor pronóstico por resistencia adquirida al tratamiento, independientemente de si el paciente presenta otras mutaciones que se han asociado con mejor pronóstico como *NPM1*, *IDH2* o mutaciones relacionadas con mielodisplasia (225–227).

Finalmente, el resto se estima una mediana de supervivencia superior a 24 meses. En este grupo se encuentran los pacientes que no presenten mutaciones que puedan categorizar a los pacientes en cualquiera de los otros dos grupos de riesgo, y, de manera adicional, a los pacientes tratados con ivosidenib y que presentan mutación de IDH1 en el momento del diagnóstico(107,224).

Categoría de riesgo	**Anomalía genética**
Favorable	- Mutación en *NPM1* (*FLT3-ITD* no mutado, *NRAS* no mutado, *KRAS* no mutado, *TP53* no mutado) - Mutación en *IDH2* (*FLT3-ITD* negativo, *NRAS* no mutado, *KRAS* no mutado, *TP53* no mutado) - Mutación en *IDH1* si ivosidenib-azacitidina (*TP53* no mutado) - Mutación en *DDX41* - Otras anomalías citogenéticas y/o moleculares (*FLT3-ITD* no mutado, *NRAS* no mutado, *KRAS* no mutado, *TP53* no mutado)

Intermedio	- Otras anomalías citogenéticas y moleculares (*FLT3-ITD* positivo y/o *NRAS* mutado y/o *KRAS* mutado; TP53 no mutado)
Adverso	- Mutación en *TP53*

Tabla 18. Clasificación del riesgo genético de LMA en el momento del diagnóstico en pacientes tratados con regímenes de baja intensidad según la ELN 2024. Adaptado de Döhner H. et al, Blood, 2024 (222)

3.2.2.2. Clasificación de riesgo refinada Beat-AML de la ELN 2022 para tratamientos de menor intensidad. (228)

Esta escala propone un modelo diferente de valoración de los pacientes tratados con TBI, tomando como base la estratificación de la ELN 2022 para quimioterapia estándar. Dada la alta proporción de pacientes categorizados en el riesgo adverso en los pacientes tratados con TBI, unificaron los pacientes en el riesgo favorable e intermedio según la ELN 2022 en la categoría Beat-AML favorable.

Posteriormente, dentro de los pacientes en el riesgo adverso, clasificaron a estos pacientes en los grupos Beat-AML intermedio y Beat-AML adverso en función del perfil mutacional de la siguiente manera: se asignó –1 punto al paciente si presentaba mutación de *IDH2* y +1 punto si presentaba mutación de *KRAS*, *MLL2* y *TP53*.

Una vez realizado esto, una puntuación de cero o menos clasificó al paciente como Beat-AML intermedio y una puntuación de uno o más Beat-AML adverso. Este modelo mejorado tuvo un mejor índice de concordancia (0.6) respecto a la clasificación según la ELN 2022.

Las tasas de supervivencia general a dos años de este modelo fueron del 48% en riesgo favorable, 33% en riesgo intermedio y 11% en riesgo adverso.

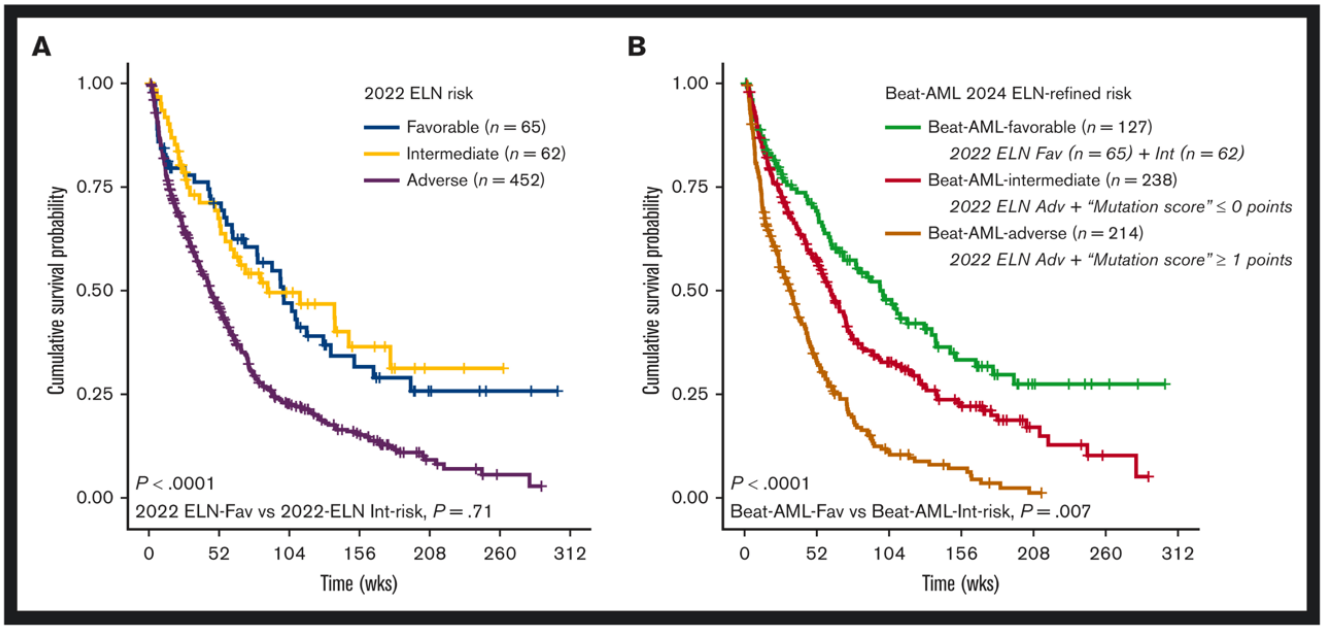


Figura 16. Comparativa de la estratificación de la supervivencia en pacientes tratados con baja intensidad según la clasificación de riesgo de la ELN 2022 y la clasificación de riesgo adaptado Beat-AML. Extraído de Hoff FW et al., Blood Adv. 2024 (228).

3.2.2.3. Clasificación de riesgo Mayo Genetic Model para tratamientos de menor intensidad(229).

En el modelo de Mayo Clinic, la respuesta al tratamiento se clasifica según la presencia de mutaciones favorables (*NPM1*, *IDH2* o *DDX41*) y desfavorables (*TP53*, *FLT3-ITD* y *RUNX1*).

Se observaron cuatro grupos de pacientes con tasas de CR/CRi claramente distintas en el estudio según el modelo de la Mayo Clinic: 87% en aquellos con mutaciones solo favorables, sin mutaciones desfavorables (n = 75); 73% en

pacientes sin mutaciones favorables ni desfavorables (n = 108); 63% en aquellos con una combinación de mutaciones favorables y desfavorables (n = 24); y 44% en pacientes con solo mutaciones desfavorables (n = 171). Comparando con el grupo estudiado mediante el modelo de Döhner et al. (217), la distinción entre el grupo intermedio y el de menor beneficio es más marcada en los pacientes analizados según el modelo Mayo.

Respecto al modelo pronóstico de supervivencia, cariotipo adverso, reordenamiento de *KMT2A*, mutaciones de *KRAS* y ausencia de mutación en *IDH2*, se relacionaron con peor pronóstico en el análisis multivariado y *TP53* en el univariado. Con estos hallazgos, se realizó un modelo asignando un punto a cada una de las variables salvo a los reordenamientos de *KMT2A*, a los que se les asignó 2 puntos.

Se separó a los pacientes en alto riesgo (≥2 puntos), con una mediana de supervivencia de 11.9 meses y supervivencia a 3 años del 0%, riesgo intermedio (1 punto) con una mediana de supervivencia de 24.3 meses y supervivencia a 3 años del 44% y bajo riesgo (0 puntos) con una mediana de supervivencia no alcanzada y supervivencia a 3 años del 80% ($p < 0.01$). Además, se observó impacto pronóstico en consolidar la respuesta con un AloTPH en los pacientes de alto riesgo, con una tendencia a una mejor supervivencia en los de riesgo intermedio, mientras que los pacientes de bajo riesgo no se beneficiaron del procedimiento

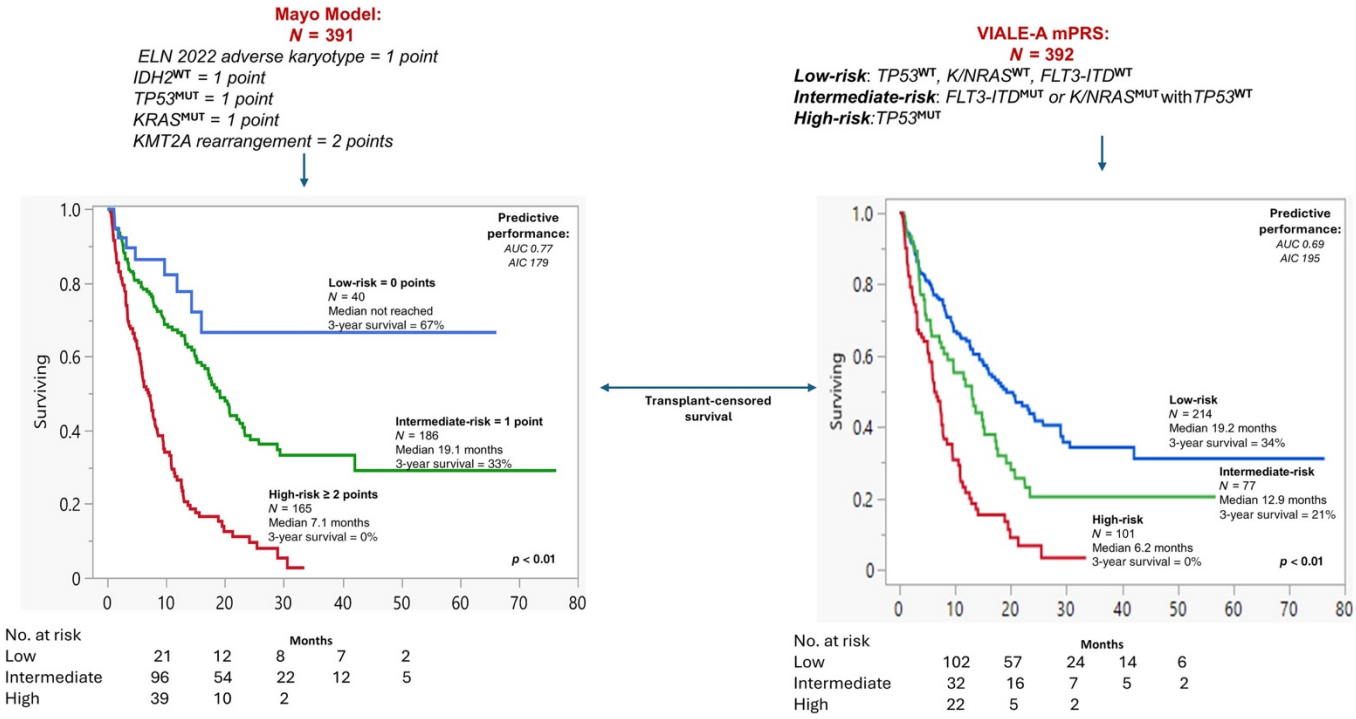


Figura 17. Comparativa de la estratificación de la supervivencia en pacientes tratados con baja intensidad según la clasificación de riesgo de la ELN 2024 (derecha) y la clasificación de riesgo genético Mayo Genetic Risk Model (izquierda) . Extraído de Gangat N et al., American Journal of Hematology, 2025 (229).

3.3. Marcadores dinámicos: Enfermedad Residual Medible (ERM)

La detección de la enfermedad residual medible (ERM) consiste en el seguimiento sistemático de una enfermedad hematológica en pacientes que han alcanzado una respuesta completa morfológica tras el tratamiento mediante técnicas con una mayor sensibilidad que el estudio morfológico de médula ósea. Estas técnicas ofrecen una evaluación más precisa de la profundidad de la respuesta y permiten un análisis detallado de la evolución del paciente tras el tratamiento.

En el caso de la LMA, el valor negativo de la ERM se ha correlacionado con un aumento en la supervivencia global en diversos análisis y meta-análisis en pacientes tratados con quimioterapia estándar, independientemente de la técnica que se utilizara para su medición (230). Aunque esto último es cierto, hay que tener en cuenta que la consideración de valor negativo varía en función de la técnica que es utilizada.

Según la última actualización de las recomendaciones para la ERM de la ELN en LMA, las funciones de la ERM se resumen en poder establecer una cuantificación adecuada y más profunda de la respuesta de la enfermedad al tratamiento, definir el riesgo de recaída de la enfermedad tras un tratamiento, identificar aquellos pacientes cuya respuesta ha sido insuficiente o cuya respuesta se ha perdido, anticipándose a una posterior recaída morfológica de la enfermedad, y, por último, a nivel académico, poder actuar como valor subrogado en ensayos clínicos, pudiendo mejorar así el acceso a nuevas terapias (231, 232).

Como se ha mencionado previamente, existen diferentes técnicas para la medición de la ERM en función de la entidad de LMA de la que esté diagnosticado el paciente. Además, existen recomendaciones específicas para los pacientes tratados con quimioterapia estándar y pacientes tratados con baja intensidad, aunque el conocimiento en este último subgrupo de pacientes es limitado en el momento actual (232, 233).

3.3.1. Citometría de flujo multiparamétrica

El análisis de la ERM mediante CFM se basa, siempre que sea posible, en la combinación de dos estrategias: el seguimiento del LAIP obtenido en el diagnóstico y el análisis de aquellos marcadores fenotípicos aberrantes que difieren con los blastos mieloides no clonales durante el seguimiento del tratamiento (En inglés: *Different from Normal, DfN*), para lo cual no es necesario conocer el fenotipo del blasto en el momento del diagnóstico.

Para poder realizar un seguimiento basado en estas dos estrategias, la ELN propone el estudio de los siguientes marcadores esenciales en todas las muestras analizadas durante el seguimiento: CD34, CD117, CD45, CD33, CD13, CD56, CD7 y HLA-DR.

Además, si es posible, puede asociarse el estudio de LSC, que poseen un inmunofenotipo característico ($CD34^+$, $CD38^-$) y que ha demostrado tener valor pronóstico para la detección precoz de recaída de la enfermedad, independiente durante el seguimiento (234).

Estas estrategias combinadas pueden discriminar el fenotipo leucémico con una sensibilidad teórica que se sitúa entre 10^{-3} y 10^{-5}, siendo aplicables a prácticamente todos los pacientes diagnosticados de LMA, con la ventaja añadida de poderse apreciar cambios fenotípicos en los blastos durante la evolución del paciente.

Utilizando estas estrategias, se ha objetivado el valor predictivo de la CFM en diferentes puntos de corte tras tratamiento (234–237), incluyendo el periodo peri-trasplante (238).

Sin embargo, existen limitaciones técnicas como la necesidad de células frescas, extraídas en un periodo menor de 3 días para un análisis óptimo y donde la hemodilución puede tener un efecto nocivo para la valoración de la muestra (239), la poca reproducibilidad de los resultados, la complejidad de la interpretación de los resultados, que requiere de una educación del facultativo o el análisis a través de sistemas automatizados, que reducen el umbral clínicamente validado propuesto por las recomendaciones de la ELN a 10^{-3}.

Esta sensibilidad es inferior en el momento actual al de la mayoría de técnicas moleculares, y se espera que el desarrollo de nuevas técnicas moleculares incremente aún más esta diferencia en la sensibilidad.

3.3.2. Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa medida en tiempo real

La RT-qPCR se ha convertido en la técnica de análisis molecular más utilizada para el seguimiento de pacientes diagnosticados de LMA tras tratamiento. La estandarización de la metodología y su interpretación realizadas por el Consorcio del Europe Against Cancer Group (EAC) (240, 241). así como el bajo costo han permitido su rápida adaptación a la práctica clínica en la mayoría de los centros a nivel internacional.

Además, se trata de la técnica más sensible que disponemos en la actualidad, con una sensibilidad que oscila entre 10^{-4} y 10^{-6}, que puede realizarse tanto en MO como en SP (según las guías de la ELN está recomendado en SP en algunos momentos del seguimiento), y con la posibilidad de medir en tiempo real las amplificaciones, lo que garantiza una evaluación rápida.

Pese a todas estas ventajas, solo aproximadamente el 50% de los pacientes tratados de LMA puede beneficiarse de esta técnica, dado que las sondas deben ser específicas para el gen de fusión o mutación a estudiar.

Además, para realizar la técnica es más sensible utilizar RNA en el caso de los genes de fusión, si bien esto puede ser un inconveniente por la mayor posibilidad de degradación del RNA comparado con el DNA, lo que puede dificultar tanto la realización de la prueba como la interpretación de los resultados.

En el momento actual, se ha constatado que la negativización de ERM analizada mediante RT-qPCR tiene valor pronóstico para la LMA con mutación de *NPM1*, tanto para pacientes tratados con quimioterapia estándar como en pacientes tratados con baja intensidad con regímenes basados en venetoclax (242–244), y en los siguientes genes de fusión: *PML::RARA* (148), *RUNX1::RUNX1T1* y *CBFB::MYH11* (245–247). Además, otros genes de fusión como aquellos derivados de reordenamientos de *KMT2A* también pueden ser analizados mediante esta técnica.

3.3.3. Secuenciación génica mediante paneles comerciales (NGS)

El análisis mutacional mediante paneles de secuenciación génica (NGS) puede utilizarse no solo en el momento del diagnóstico inicial de la LMA, sino que su capacidad para poder analizar, en principio, cualquier mutación somática, puede ser utilizada para conocer el estado de la ERM tras iniciar tratamiento.

Sin embargo, la baja sensibilidad de la técnica, con una sensibilidad en torno al 2% de VAF en el momento del diagnóstico, hace necesario recurrir a la amplificación previa mediante PCR para poder analizar ERM, lo que puede limitar la validez de la prueba por las alteraciones que esto puede conllevar en la propia secuencia.

Para corregir este error y aumentar la sensibilidad de la técnica se han utilizado diferentes métodos como la identificación de la secuencia mediante oligonucleótidos específicos (*Unique Molecular Identifier oligonucleotides, UMI*) (258) o duplicación de la secuenciación utilizando ambas cadenas de DNA (*Duplex Sequencing, DS*) (248, 249). Además, se ha optado por utilizar métodos bioinformáticos para la corrección mutacional, con el fin de descartar el análisis de mutaciones relacionadas con la ARCH (las conocidas como mutaciones DTA: *DNMT3A*, *TET2* y *ASXL1*) (250). Con todo ello, los análisis mediante NGS muestran que aquellos pacientes con persistencia de ERM presentan con un mayor riesgo de recaída, siendo especialmente sensible el análisis en pacientes que presentan mutaciones con inserciones o deleciones en la secuenciación génica, como *NPM1* o *FLT3* (251, 252).

Aunque estos resultados son prometedores, la correlación con métodos estandarizados, como la RT-qPCR en el caso de *NPM1*, o entre muestras en SP y MO aún está pendiente de ser verificada, por lo que, de momento, no está recomendado el análisis en la práctica clínica si no se acompaña de otro método de análisis, para poder disminuir el riesgo de no detectar recaídas morfológicas incipientes

3.3.4. Droplet-digital PCR

La droplet-digital PCR (ddPCR) es un tipo de PCR que permite un análisis que presumiblemente es más sensible respecto a técnicas más antiguas de PCR. Utiliza la partición de la muestra de DNA en miles de partes diferentes, las cuales se analizan de manera independiente. Tras la corrección mediante el modelo de distribución de Poisson, que se modifica en función de la dilución de la muestra, permite una cuantificación absoluta de la muestra, sin necesidad de corrección por análisis previos, como ocurre con la RT-qPCR.

Pese a estas ventajas, y la aparente mejoría teórica respecto a otros métodos basados en PCR, especialmente en la precisión de la ddPCR, no existen estudios en series con un gran número de pacientes y se necesita del desarrollo de sondas específicas y validadas para cada mutación patológica.

3.3.5. Valor clínico de la ERM en tratamiento con esquemas de quimioterapia estándar

De acuerdo con las últimas recomendaciones de la ELN (232) el análisis de la ERM para la toma de decisiones clínicas en pacientes tratados con quimioterapia debe realizarse mediante RT-qPCR en pacientes diagnosticados de LMA con mutación de *NPM1* o que presenten genes de fusión estandarizados (LPA (*PML::RARA*) y LMA CBF (*RUNX1::RUNX1T1*, *CBFB::MYH11*)), y mediante CFM para el resto de entidades. Los puntos de seguimiento adecuados de ERM dependen de la entidad de LMA que queremos seguir, y la técnica que se utiliza en función de la misma. Estos se establecen antes de empezar el tratamiento, tanto para el tratamiento, como para su seguimiento a posteriori.

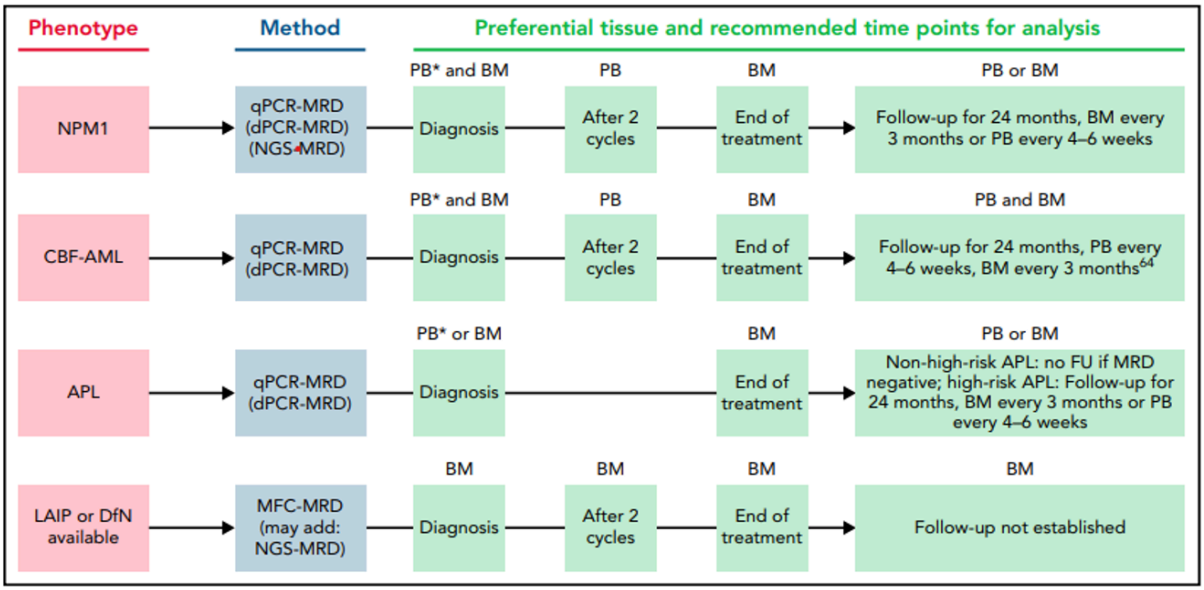


Figura 18. Algoritmo de seguimiento temporal tras inicio de tratamiento de la Enfermedad Residual Medible según las recomendaciones actualizadas de la European LeukemiaNet de 2021. Extraído de Heuser M. et al, Blood, 2021 (232).

Para pacientes con mutación de *NPM1,* el primer punto relevante se considera tras los primeros dos ciclos de quimioterapia, donde un valor positivo de ERM (>2% de la carga inicial o una reducción menor de 3-4 logaritmos) se correlaciona con mayor riesgo de recaída y peor supervivencia global (242, 244). Esta correlación es igual de relevante tanto al finalizar el tratamiento como antes del trasplante alogénico, si este está indicado por el perfil mutacional asociado del paciente.

En todos los puntos establecidos, las modificaciones en la terapia están indicadas si se detecta una persistencia de ERM o una recaída molecular (ver punto 1.6) para revertir su efecto negativo en la supervivencia. Esta adecuación terapéutica puede consistir en la inclusión del paciente en ensayos clínicos, tratamientos de baja intensidad basados en venetoclax (253), hipometilantes en monoterapia, o inhibidores de FLT3 tras la indicación de un trasplante alogénico.

En todos los pacientes con mutación de *NPM1*, se aconseja mantener el seguimiento durante al menos 24 meses, en intervalos fijos de entre 2 y 3 meses. Tras 2 ciclos de quimioterapia y tras finalizar la quimioterapia, este seguimiento se puede realizar en SP si la técnica esta optimizada para ello en el laboratorio.

A pesar de la necesidad de este seguimiento por la relevancia de la ERM, se sabe que su correlación con la recaída morfológica no es totalmente precisa. Hasta un 40% de los pacientes con mutación de *NPM1* pueden persistir con cargas bajas de EMR tras el tratamiento y, sin embargo, no presentar una recaída morfológica (254).

En este subgrupo de pacientes, un seguimiento exhaustivo es imprescindible, ya que la evolución de la misma será el factor determinante a la hora de indicar un tratamiento de rescate si se constata la recaída molecular.

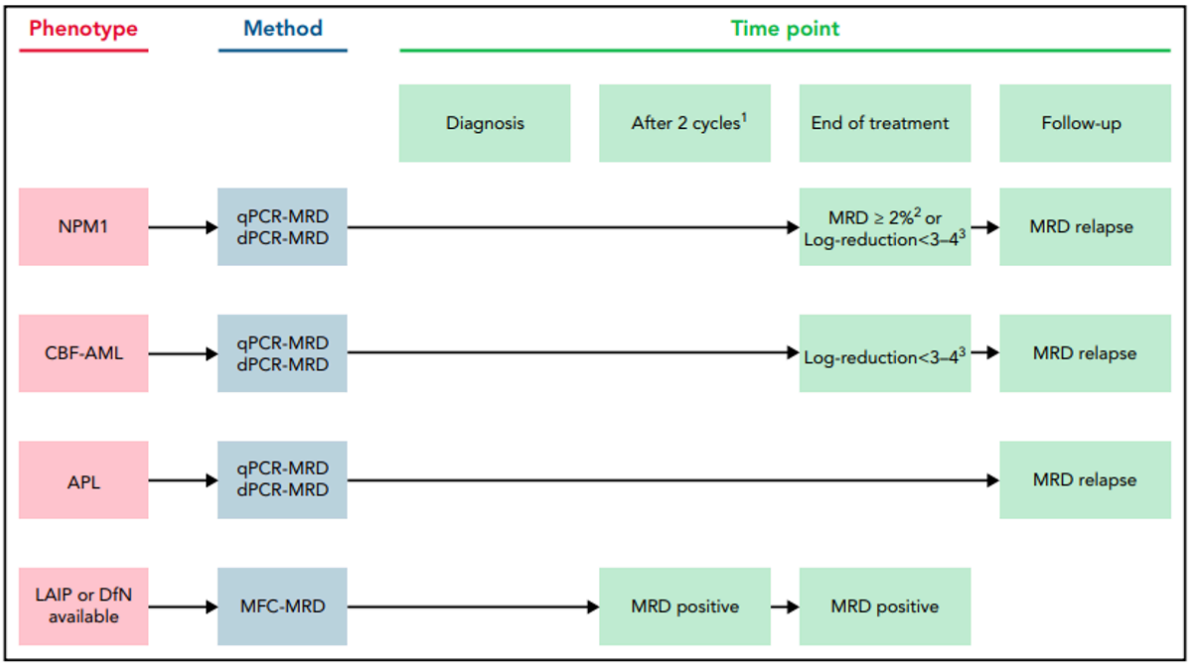


Figura 19. Algoritmo de puntos de corte de la Enfermedad Residual Medible en función.de la entidad de LMA según las recomendaciones actualizadas de la European LeukemiaNet. Extraído de Heuser M. et al, Blood, 2021(242)

Estas pautas de monitorización también se aplican a las LMA determinadas por genes de fusión: LMA CBF y LPA. En la LPA lograr la negatividad para la fusión *PML::RARA* al finalizar las consolidaciones es el objetivo principal. En los casos de riesgo bajo o intermedio, es suficiente continuar con el seguimiento hasta que se confirme la negatividad molecular, mientras que en pacientes de alto riesgo se aconseja extender la monitorización cada tres meses en médula ósea o seis semanas en sangre periférica durante, al menos, dos años. Más allá de los 24 meses, la decisión de continuar el seguimiento se deja a la elección del facultativo.

Por otro lado, en las LMA CBF, en las que se realiza seguimiento de los genes de fusión *RUNX1::RUNX1T1* y *CBFB::MYH11*, los criterios de seguimiento son más estrictos, indicándose un seguimiento trimestral de MO y de SP cada 4-6 semanas. Esta recomendación está basada en el conocimiento de que estas LMA presentan un tiempo de latencia corto entre la recaída molecular y la

recaída morfológica, en muchos casos menor a los 3 meses (246, 247), por lo que se deben realizar controles intermedios.

El resto de los pacientes, seguidos mediante CFM en MO, deberán ser reevaluados tras la inducción y las consolidaciones, mientras dure el tratamiento, sin que exista consenso sobre cuándo es adecuado dejar de realizar análisis de ERM tras la finalización del mismo. De manera complementaria, resultados de NGS-ERM o ddPCR-ERM pueden ser valorados, aunque no deben ser utilizados de manera individual según las recomendaciones.

Si bien esta afirmación era necesaria en el momento de la publicación, desde la última actualización en 2021 existen determinados perfiles mutacionales, como las duplicaciones internas en tándem de *FLT3*, donde la NGS específica ha demostrado alta sensibilidad y valor predictivo para la supervivencia en pacientes tratados con quimioterapia, como demostraron tanto el grupo holandés HOVON, que definía como punto de corte determinante el análisis tras dos ciclos de quimioterapia con una sensibilidad mínima de la técnica de 10^{-4} (supervivencia a 4 años del 31% en pacientes con ERM positiva versus 57% en pacientes que alcanzaran ERM negativa) (254), como el grupo británico que mostraba el mal pronóstico de pacientes con ERM positiva antes del aloTPH, independientemente del acondicionamiento administrado (255).

Dada la relevancia de los avances en el campo en los últimos años, se espera que las futuras recomendaciones actualizadas las recojan para homogeneizar el análisis en los diferentes centros.

Además de estos puntos de seguimiento durante la evolución, el valor de la ERM tiene especial relevancia antes del aloTPH en aquellos pacientes en los que esté indicado (ver sección 3.2.1.). La relevancia clínica en el momento actual reside en la indicación de un acondicionamento de mayor intensidad, si se puede en aquellos pacientes con ERM positiva antes del trasplante.

En estos pacientes se ha observado una mayor supervivencia global si el acondicionamiento es mieloablativo, tanto analizando la ERM tras el aloTPH mediante CFM (35% versus 21% a los 3 años tras el procedimiento) (248) como con NGS ultrasensible con corrección de errores (264) (59% versus 34% a los 3 años del aloTPH; p = 0.01). En ambos casos, la intensidad del acondicionamiento no tuvo efecto en la supervivencia en los pacientes que llegaron al aloTPH con ERM negativa.

3.3.6. Valor clínico de la ERM en tratamientos de baja intensidad

La evidencia de la relevancia de la EMR en pacientes tratados con regímenes clásicos de menor intensidad está menos constatada que en los pacientes tratados con quimioterapia intensiva.

Inicialmente, estas opciones terapéuticas se limitaban a hipometilantes en monoterapia. En este contexto, se esperaban bajas tasas de respuesta y una corta supervivencia(169, 170), lo que limitaba el beneficio del seguimiento de la ERM.

Desde la introducción de los regímenes de baja intensidad basados en venetoclax, se ha estudiado la evolución de la EMR durante el tratamiento, de cara a poder anticipar el momento de la recaída morfológica que se espera en la mayoría de estos pacientes tras la respuesta inicial

En pacientes analizados con CFM, la ERM ha mostrado valor pronóstico tanto en combinaciones con azacitidina (221, 257) (supervivencia a los 2 años de 78% en pacientes con ERM negativa versus 40%), como con decitabina (258). Por otro lado, en pacientes con mutación de *NPM1*, el estudio de la ERM mediante RT-qPCR mostró que pacientes que tuvieran una ERM negativa tras el cuarto ciclo presentaban una tasa de supervivencia del 84% a los dos años versus un

46% en aquellos con persistencia de ERM, pudiendo descontinuar tratamiento en 22 pacientes, con solo dos recaídas tras finalizar tratamiento (259).

Todos estos estudios muestran limitaciones tanto en el diseño retrospectivo, como en el número de pacientes analizados por lo que en el momento actual se recomiendan nuevos estudios prospectivos y con una mayor cantidad de pacientes incluidos que puedan corroborar el valor predictivo de la ERM en este subgrupo de pacientes no candidatos a terapias intensivas (260)

Hipótesis

y

Objetivos

1. Hipótesis

La evolución de las terapias y el conocimiento biológico ha permitido el avance en la supervivencia en pacientes diagnosticados de leucemia mieloide aguda en los últimos años. En este contexto, planteamos las siguientes hipótesis:

1. Las escalas de riesgo de la European LeukemiaNet, publicadas para leucemia mieloide aguda en 2022, necesitan una validación en poblaciones extensas y, analizar la relevancia específica de las anomalías biológicas en poblaciones especialmente sensibles, como pacientes que reciben un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos como consolidación de la respuesta, permitirá refinar con mayor exactitud los diferentes grupos de riesgo en función de las anomalías biológicas al diagnóstico.

2. En pacientes tratados con regímenes de baja intensidad basados en venetoclax en pacientes no candidatos a quimioterapia, el riesgo de complicaciones derivadas del tratamiento es mayor durante los primeros ciclos de tratamiento, antes de obtener una respuesta al tratamiento.

3. El uso de combinaciones de baja intensidad basadas en venetoclax es eficaz en pacientes tratados con quimioterapia intensiva que persisten con enfermedad residual medible tras el tratamiento como rescate terapéutico, siendo efectivos y con adecuada tolerancia por los pacientes.

4. El análisis de la enfermedad medible residual en pacientes tratados con esquemas de baja intensidad basados en venetoclax tiene impacto en la supervivencia y permite identificar grupos de riesgo dentro de este

contexto, lo cual tiene especial relevancia dada la corta supervivencia tras la recaída morfológica tras estos esquemas de tratamiento

2. Objetivos

1. Validar el papel pronóstico para diferentes estimadores de supervivencia de la escala de European LeukemiaNet 2022 en pacientes alotrasplantados en una institución única (Hospital Clinic de Barcelona) y en un grupo de investigación clínica cooperativo (Grupo Español de Trasplante Hematopoyético y Terapia Celular, GETH-TC).

2. Analizar las anomalías biológicas dentro de la escala de riesgo de la European LeukemiaNet para una mejor estratificación del riesgo en el contexto de los pacientes que recibieron un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.

3. Analizar el impacto en la supervivencia de la determinación secuencial de la enfermedad medible residual en pacientes diagnosticados de leucemia mieloide aguda tratados con regímenes de baja intensidad basados en venetoclax.

4. Estudiar las tasas de efectos adversos durante el seguimiento de los pacientes tratados con regímenes de baja intensidad tras alcanzar una respuesta completa morfológica.

5. Estudiar el impacto del tratamiento precoz en recaída o persistencia molecular de enfermedad tras tratamiento quimoterápico previo con regímenes de baja intensidad: Conocer la tasa de respuesta y análisis de la supervivencia global y libre de evento de los pacientes.

Materiales, Métodos Y Resultados

1. Primera publicación

Título: Evaluación de la clasificación de riesgo de European LeukemiaNet 2022 en pacientes sometidos a trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas para leucemia mieloide aguda: Identificación de un grupo genético de muy mal pronóstico.

Introducción:

En 2022, la European LeukemiaNet (ELN) actualizó su clasificación de riesgo para la leucemia mieloide aguda (LMA), con el fin de mejorar la estratificación pronóstica de los pacientes diagnosticados de la enfermedad. Estas escalas se basan en datos obtenidos en diferentes estudios publicados durante los años previos, por lo que necesitan validación en cohortes amplias. En el contexto del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (AloTPH), estas validaciones son aún más relevantes dadas las complicaciones derivadas del procedimiento y sus implicaciones pronósticas.

Objetivos:

El propósito de este estudio fue evaluar retrospectivamente el valor pronóstico de la clasificación ELN 2022 en una cohorte de 120 pacientes con LMA sometidos a AloTPH en nuestro centro entre 2011 y 2021, incluyendo 99 pacientes en primera remisión completa.

Métodos:

Se estratificó a los 120 pacientes según los grupos de riesgo ELN 2022: favorable, intermedio y adverso. y se analizaron las tasas de supervivencia global (OS) y supervivencia libre de leucemia (LFS) mediante análisis uni y multivariado. Posteriormente se realizó un subanálisis estratificando los pacientes del grupo adverso según sus anomalías biológicas para analizar el impacto pronóstico de las mismas.

Resultados:

Los pacientes clasificados como riesgo adverso presentaron una supervivencia global y una supervivencia libre de leucemia significativamente inferiores (OS, p = 0,003; LFS p = 0,02), hallazgos que se mantuvieron en el análisis multivariado (HR para OS = 2,00; p = 0,037). Además, se identificó un subgrupo "adverso-plus" (AdvP) compuesto por pacientes con cariotipo complejo, reordenamientos MECOM(EVI1) o mutaciones en *TP53*, que mostró un pronóstico aún peor (HR para OS = 3,14; p < 0,001; HR para LFS = 3,36; p < 0,001) y una mayor incidencia de recaída a los dos años (p < 0,001), mientras que aquellos de riesgo adverso sin características AdvP y los de riesgo intermedio tuvieron resultados comparables.

Conclusiones:

La clasificación ELN 2022 conserva su poder predictivo en pacientes con LMA sometidos a AloTPH. Sin embargo, la identificación del subgrupo AdvP dentro del riesgo adverso permite afinar aún más la predicción de resultados, detectando a los pacientes con peor pronóstico donde existe la necesidad de mejores opciones terapéuticas

Received: 12 March 2024 | Accepted: 26 April 2024

DOI: 10.1111/bjh.19518

BJHaem
BRITISH JOURNAL OF HAEMATOLOGY

ORIGINAL PAPER

Transplantation

Evaluation of European LeukemiaNet 2022 risk classification in patients undergoing allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukaemia: Identification of a very poor prognosis genetic group

Carlos Jiménez-Vicente[1,2] | **Paola Charry**[3] | **Sandra Castaño-Diez**[1,2] | **Francesca Guijarro**[2,4] | **Mònica López-Guerra**[2,3,5] | **Amanda Isabel Pérez-Valencia**[1,2] | **Alexandra Martinez-Roca**[1,2] | **Albert Cortés-Bullich**[1,2] | **Daniel Munárriz**[1] | **Maria Teresa Solano**[1] | **Laura Rosiñol**[1,2] | **Enric Carreras**[6] | **Álvaro Urbano-Ispizua**[1,2,6] | **Francesc Fernández-Avilés**[1,2,6] | **Carmen Martinez**[1,2] | **María Suárez-Lledó**[1,2] | **Marina Díaz-Beyá**[1,2] | **Montserrat Rovira**[1,2,6] | **María Queralt Salas**[1,2] | **Jordi Esteve**[1,2,6,7]

[1]Hematology Department, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain

[2]Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

[3]Apheresis and Cellular Therapy Unit, Hemotherapy and Hemostasis Department, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain

[4]Hemopathology Unit, Pathology Department, Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona, Spain

[5]Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer (CIBERONC), Madrid, Spain

[6]University of Barcelona, Barcelona, Spain

[7]Josep Carreras Leukemia Research Institute, Barcelona, Spain

Correspondence
Jordi Esteve, Hematology Department, Hospital Clínic de Barcelona. Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain.
Email: jesteve@clinic.cat

Funding information
Fundació la Marató TV3 sobre Càncer, Grant/Award Number: 201201930-31; Instituto de Salud Carlos III, Grant/Award Number: FIS PI19/01476 and FIS PI22/01660

Summary

European LeukemiaNet refined their risk classification of acute myeloid leukaemia (AML) in 2022 (ELN 2022) according to the two new myeloid classifications published the same year. We have retrospectively assessed the prognostic value of the ELN 2022 in 120 AML patients undergoing allogeneic haematopoietic cell transplantation (allo-HCT), including 99 in first complete response (CR1) from 2011 to 2021 in our centre. Adverse risk patients (Adv) presented inferior outcome in terms of overall survival (OS) and leukaemia-free survival (LFS) (OS [$p = 0.003$], LFS [$p = 0.02$]), confirmed in multivariate analysis (hazard ratio [HR] for OS = 2.00, $p = 0.037$). These results were also seen in patients allografted in CR1. Further analysis identified a subgroup named adverse-plus (AdvP), including complex karyotype, *MECOM(EVI1)* rearrangements and *TP53* mutations, with worse outcomes than the rest of groups of patients, including the Adv (HR for OS: 3.14, $p < 0.001$, HR for LFS: 3.36, $p < 0.001$), with higher 2-year cumulative incidence of relapse ($p < 0.001$). Notably, within this analysis, the outcome of Adv and intermediate patients were similar. These findings highlight the prognostic value of ELN 2022 in patients undergoing allo-HCT, which can be improved by the recognition of a poor genetic subset (AdvP) within the Adv risk group.

KEYWORDS
acute leukaemia, classifications, clinical cytogenetics, HSC transplantation

INTRODUCTION

Acute myeloid leukaemia (AML) stands as the predominant indication for allogeneic haematopoietic cell transplantation (allo-HCT), serving as a curative option worldwide.[1]

In 2022, the European LeukemiaNet updated their guidelines (ELN 2022)[2] for risk allocation among AML

María Queralt Salas and Jordi Esteve contributed equally in this article.

© 2024 British Society for Haematology and John Wiley & Sons Ltd.

patients, focusing on crucial genetic features of the disease identified at diagnosis, as outlined in the newest classifications.[3,4] The most relevant changes provided by this revision are the reclassification of *FLT3-ITD* mutational status into the intermediate-risk group independently of the allelic ratio and the *NPM1* mutational status, the restriction to the bZIP region in-frame mutations in *CEBPA* as abnormality within the favourable risk group,[5–7] the definition of a more refined categorization of complex karyotype, excluding hyperdyploid karyotypes, and the consideration of nine recurrent mutations in the presence of myelodysplasia-related biological abnormalities at the time of the AML diagnosis, defining these subtype of patients.[8]

According to the ELN 2022, allo-HCT should be contemplated when the relapse probability without allo-HCT exceeds 35%–40%.[2] This prediction includes almost all patients in a second or beyond complete response (CR) and most of the patients in the intermediate and adverse risk in first CR (CR1), with response to treatment and measurable residual disease (MRD) as dynamic prognostic modifiers during the disease follow-up.[2]

Recent studies have successfully validated the predictive ability of this new risk stratification in large AML patient populations[9–11] demonstrating its strength as a prognostic tool for the prediction of disease relapse. However, whether the prognostic value of this new risk classification in adults with AML is equivalent when patients achieve a CR before allo-HCT has not been extensively investigated yet.[12] Considering that the ELN 2022 risk stratification has been implemented in clinical practice in many institutions and that a notorious proportion of patients achieving response after induction therapies would undergo an allo-HCT to further consolidate the response of the disease, the present study investigates the power of the ELN 2022 risk classification for predicting overall survival and disease remission in a cohort of adults with AML who underwent allo-HCT from a single institution, and additionally identifies a specific subgroup of patients with specially worse prognosis after transplantation.

PATIENTS AND METHODS

Patient selection

We performed a retrospective, single-centre study with patients older than 18 years diagnosed with AML who underwent their first allo-HCT from January 2011 to December 2021 at the Hospital Clinic of Barcelona, Barcelona, Spain. Only patients undergoing allo-HCT in CR (CR1/CR2) were eligible for the study. Clinical information was collected from retrospective chart review and updated in June 2023.

The primary endpoint of the study was to validate the ELN 2022 risk classification in patients undergoing allo-HCT using overall survival (OS). Secondary objectives were analysing leukaemia-free survival (LFS), cumulative incidence of relapse (CIR), non-relapse mortality (NRM) and graft and relapse-free survival (GRFS) in the different molecular subgroups within the ELN 2022 risk groups.

For the study conduction, all patients included in the study were retrospectively classified into favourable, moderate and adverse risk-groups according to the ELN 2022 classification and based on cytogenetic and mutational information documented at the time of the AML diagnosis.[2] Twenty-two patients could not be classified through NGS assessment before 2016 and presented no cytogenetical abnormalities, thus, they were excluded from the study.

AML diagnosis, genetic risk assessment and pre-transplant treatment

Acute myeloid leukaemia was retrospectively classified after data collection according to the updated 2022 AML classification, that is, the ICC 2022 classification of myeloid neoplasms[3] and the 5th classification of the WHO. Response criteria followed ELN 2022 recommendations.[13] Mutational analysis for allocation to ELN 2022 risk category was based on a double approach, including standard polymerase chain reaction-based analysis of recurrent abnormalities (*NPM1*, *FLT3*-ITD, *FLT3-TKD*, *IDH1* and *IDH2*) and targeted NGS, using the Oncomine Myeloid GX Assay® panel from ThermoFisher Inc.

All patients were treated following the CETLAM-12 protocol.[14] To highlight, all patients received a common induction regimen with a 3 + 7 scheme with idarubicin and cytarabine. Additionally, a subsequent consolidation course with high-dose of cytarabine, with an ulterior allo-HCT if possible after these two courses of treatment if patients were allocated in the intermediate or adverse risk group according to the ELN 2017 classification. In patients allocated in the favourable risk group, a consolidation in the first CR was only recommended if patients persisted with positive MRD after finishing all the protocol.

Allo-HCT information and main outcome definitions

Eligible criteria for allo-HCT and donor selection are detailed in Supporting Information. The intensity of the conditioning regimen was tailored according to chronological age and comorbidities. With some exceptions, patients older than 55 and clinically relevant comorbidities received reduced intensity conditioning (RIC) regimens. The intensity of the conditioning regimen was defined using classical criteria.

In 2013, the use of post-transplant cyclophosphamide (PTCY)-based prophylaxis was implemented in allo-HCT performed from haploidentical donors. During the subsequent years, its use was progressively extended to allo-HCT performed from all donor types, becoming our institutional GVHD prophylaxis for all allo-HCT in 2019.[15]

Peripheral blood was the most prevalent stem cell source. However, bone marrow stem cell grafts were accepted as per donor preference or occasionally in the haploidentical-HCT setting.

Leukaemia-free survival was calculated until the date of first relapse, death from any cause or the last follow-up for patients in morphological CR. NRM was defined as death from any cause other than relapse. GRFS composite was defined as survival without any of the following events: disease relapse, stage II–IV acute graft-versus-host disease (aGVHD) and moderate or severe chronic graft-versus-host disease (cGVHD) incidence according to standard criteria.[16,17]

Statistical analysis

The three risk categories included in the ELN 2022 risk classification (favourable, intermediate and adverse) were considered the main variable of interest of the present study. The main outcome variables were OS and LFS. LFS was calculated until the date of first relapse, death from any cause or the last follow-up for patients in morphological CR.

Descriptive statistical analysis on all patients was performed. Median and range were used for continuous variables and frequency and percentage for categorical variables. Fisher's exact test or χ^2 test was used for univariate analysis in categorical variables and Wilcoxon rank-sum test was used for continuous variables.

Overall survival and LFS were estimated using Kaplan–Meier method. CIR, NRM, aGVHD and cGVHD were estimated using cumulative incidence and competing risk analyses. Death was used as a competing risk for CIR, relapse was used for NRM and relapse or death was used for aGVHD and cGVHD. Univariate analyses were done using the log-rank test for LFS, and OS and Gray's test for cumulative incidence. The Cox proportional hazard model was used for multivariate regression analysis. The impact of the main variable of interest (ELN 2022 risk groups) on transplant outcomes was explored using regression analyses. The baseline risk factors included in each of the multivariable models were selected based on clinical judgement prior to the analysis in addition to variables with a p value lower than 0.1 in the univariate analysis. All p values were two-sided with statistical significance evaluated at the 0.05 alpha level. All statistical analyses were performed with R statistics version 4.0.3 (R core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

RESULTS

Baseline characteristics

The baseline characteristics of the 120 patients included in the study are displayed in Table 1. The median age of the cohort was 52 years (range 18–69), with males comprising 52.5% of the participants. Karnofsky Performance Status was higher than 90% in 68.1% of the patients, and 53.3% of them had an hematopoietic cell transplantation - specific comorbidity index >2. Ninety-nine (82.5% of all patients) underwent their allo-HCT in CR1, with the remaining 21 patients receiving allo-HCT in their second CR (CR2).

All patients were allocated into the three new ELN 2022 risk groups according to standardized criteria. As described in Table 1, among the 120 patients analysed, 22 were categorized as favourable risk, 42 as intermediate risk and 56 as adverse risk. Notably, patients in the adverse-risk group according to ELN 2022 were older (56 years vs. 52 years in intermediate and favourable risk patients, $p < 0.001$). Furthermore, a higher proportion of patients in the adverse-risk group underwent allo-HCT in CR1 compared to other genetic risk groups (96%, 86% and 41% in the adverse, intermediate and favourable risk group, respectively, $p < 0.001$).

Main allo-HCT information and results

Allo-HCT-related information is summarized in Table 1. Sixty-nine (57.5%) patients received myeloablative conditioning regimens, while 51 (42.5%) underwent allo-HCT using RIC protocols. Allo-HCT was performed from matched sibling donors (MSD) in 37 patients (30.8%), from 10/10 HLA-matched unrelated donors in 44 patients (36.7%), from 9/10 mismatched unrelated donors in 21 patients (17.5%), and in 18 patients (15%) from haploidentical donors. GVHD prophylaxis with PTCY was utilized in 69 cases (57.5%), and 96.5% of patients received peripheral blood stem cell grafts. Key allo-HCT features, including conditioning intensity, donor type and GVHD prophylaxis were balanced across the three study groups (Table 1).

Outcome after allo-HCT and prognostic impact of ELN 2022 risk classification

With a median 58-month follow-up (95% CI: 54–72), the median OS and LFS of all patients were not reached (Figure 1A). The 2-year and 5-year OS rates were 64.8% and 59%, while 2-year and 5-year LFS rates were 59.1% and 52.5%, respectively, with a total number of 48 events during the 5 years of follow-up. The 2-year and CIR of the entire cohort was 27.8%, with a 2-year NRM rate of 14.4%, respectively.

Five-year OS and LFS rates were inferior in patients from the adverse risk group (OS: 42% vs. 68% vs. 81% in the adverse, intermediate and favourable risk groups; $p = 0.003$, LFS: 39% vs. 66% vs. 62%, resp.; $p = 0.02$). Median OS and LFS were not reached among favourable and intermediate risk groups, whereas in the adverse risk group were 27.7 months (95% CI: 16.2–NR, $p < 0.001$ between intermediate and adverse risk) and 15.2 months (95% CI: 5.79–NR, $p = 0.015$ between intermediate and adverse risk) respectively (Figure 1B,C). The GRFS was also shorter in the adverse risk

TABLE 1 Baseline characteristics of all patients included in the study.

Baseline characteristics	All patients ($N=120$)	Favourable ($n=22$)	Intermediate ($n=42$)	Adverse ($n=56$)	p
Age, median (range)	52 (18–69)	52 (18–67)	52 (19–68)	56 (22–70)	**<0.001**
Sex, *n* (%)					0.62
Female	57 (47.5)	11 (50)	22 (52.4)	24 (42.9)	
Male	63 (52.5)	11 (50)	20 (47.6)	32 (57.1)	
Karnofsky Performance Status, *n* (%)					0.63
>90	95 (79.1)	19 (86.5)	36 (85.7)	40 (71.4)	
<90	21 (17.5)	2 (9)	6 (14.3)	13 (23.2)	
Missing	3 (2.5)	1 (4.5)	0 ()	2 (3.6)	
No. of CR/CRi, *n* (%)					**<0.001**
First	99 (82.5)	9 (40.9)	36 (85.7)	54 (96.4)	
Second	21 (17.5)	13 (59.1)	6 (14.3)	2 (3.6)	
Conditioning regimen, *n* (%)					0.51
MAC	66 (55)	12 (54.5)	26 (61.9)	28 (50)	
RIC	54 (45)	10 (45.4)	16 (38.1)	28 (50)	
Donor type, *n* (%)					0.83
MSD	37 (30.8)	7 (31.8)	11 (26.2)	19 (33.9)	
MUD	44 (36.7)	8 (36.4)	16 (38.1)	20 (35.7)	
MMUD	21 (17.5)	5 (22.7)	9 (21.4)	7 (12.5)	
Haplo	18 (15)	2 (9.1)	6 (14.3)	10 (17.9)	
Stem cell source, *n* (%)					0.41
Peripheral blood	115 (95.8)	20 (90.9)	41 (97.6)	54 (96.4)	
Bone marrow	5 (4.2)	2 (9.1)	1 (2.4)	2 (3.6)	
GvHD prophylaxis, *n* (%)					0.32
PTCY-based platforms	69 (57.5)	11 (50)	25 (59.5)	33 (58.9)	
PTCY +1 drug	49 (40.8)	8 (36.4)	19 (45.2)	22 (39.3)	
PTCY +2 drugs	20 (16.2)	3 (13.6)	6 (14.3)	11 (19.6)	
Non-PTCY-based platforms	51 (42.5)	11 (50)	17 (40.5)	23 (41.1)	
MTX + TAC	18 (18.3)	5 (22.7)	4 (9.5)	9 (16.1)	
MMF + TAC	9 (12)	1 (4.6)	3 (7.1)	5 (8.9)	
Other	24 (17.6)	5 (22.7)	10 (23.8)	9 (16.1)	

Abbreviations: CR, complete response; CRi, complete response without haematological recovery; GvHD, graft-versus-host disease; Haplo, haploidentical donor; MAC, myeloablative conditioning regimen; MMF, mofetil mycophenolate; MMUD, mismatched unrelated donor; MRD+, positive measurable residual disease; MRD−, negative measurable residual disease; MSD, matched sibling donor; MTX, methotrexate; MUD, matched unrelated donor; PTCY, post-transplant cyclophosphamide; RIC, reduced-intensity conditioning regimen; TAC, tacrolimus.

Significant differences among genetic risk groups ($p < 0.05$).

group (4.47 vs. 12.2 vs. 13.3 months in the adverse, intermediate and favourable group respectively), with an inferior 2- and 5-year GRFS rate (21% vs. 45% vs. 46%, $p=0.03$). CIR was also higher in the adverse risk group (2-year: 39 vs. 20 vs. 18% in adverse, intermediate and favourable group, respectively, $p=0.04$), while NRM at the same timepoint did not significantly differ among these through genetic subgroups (9% vs. 12% vs. 18%, respectively, $p=0.40$) (Figure S1).

Analysing the year of transplant, there were no differences in patients transplanted during the first years of the study inclusion (2011–2017) and the last years of inclusion (2017–2021) ($p=0.2$, Figure S2). In the subgroup of patients undergoing allo-HCT in CR1, 5-year OS and LFS rates were also worse in the adverse risk (OS: 77% vs. 66% in the intermediate risk; $p=0.04$, LFS: 66% vs. 63%; $p=0.05$) when compared with patients classified in the intermediate and favourable risk. The GRFS rate in the adverse risk group was worse (20% vs. 40%, $p=0.04$) at 2 years, and at that moment, CIR (19% vs. 38%, $p=0.06$) showed a trend to be higher in adverse-risk patients in CR1 while there was not a difference in NRM (11% vs. 17%, $p=0.6$).

The adverse ELN 2022 genetic risk group impact on OS and LFS was confirmed in the multivariate analysis. Thus, patients in the adverse risk category had a shorter OS (hazard ratio [HR]: 2.00 [95% CI: 1.04–3.8], $p=0.038$) and LFS (HR: 2.07 [95% CI: 1.1–3.87], $p=0.023$) compared to the remaining genetic risk groups. The multivariate analysis also revealed a positive association between using PTCY-based

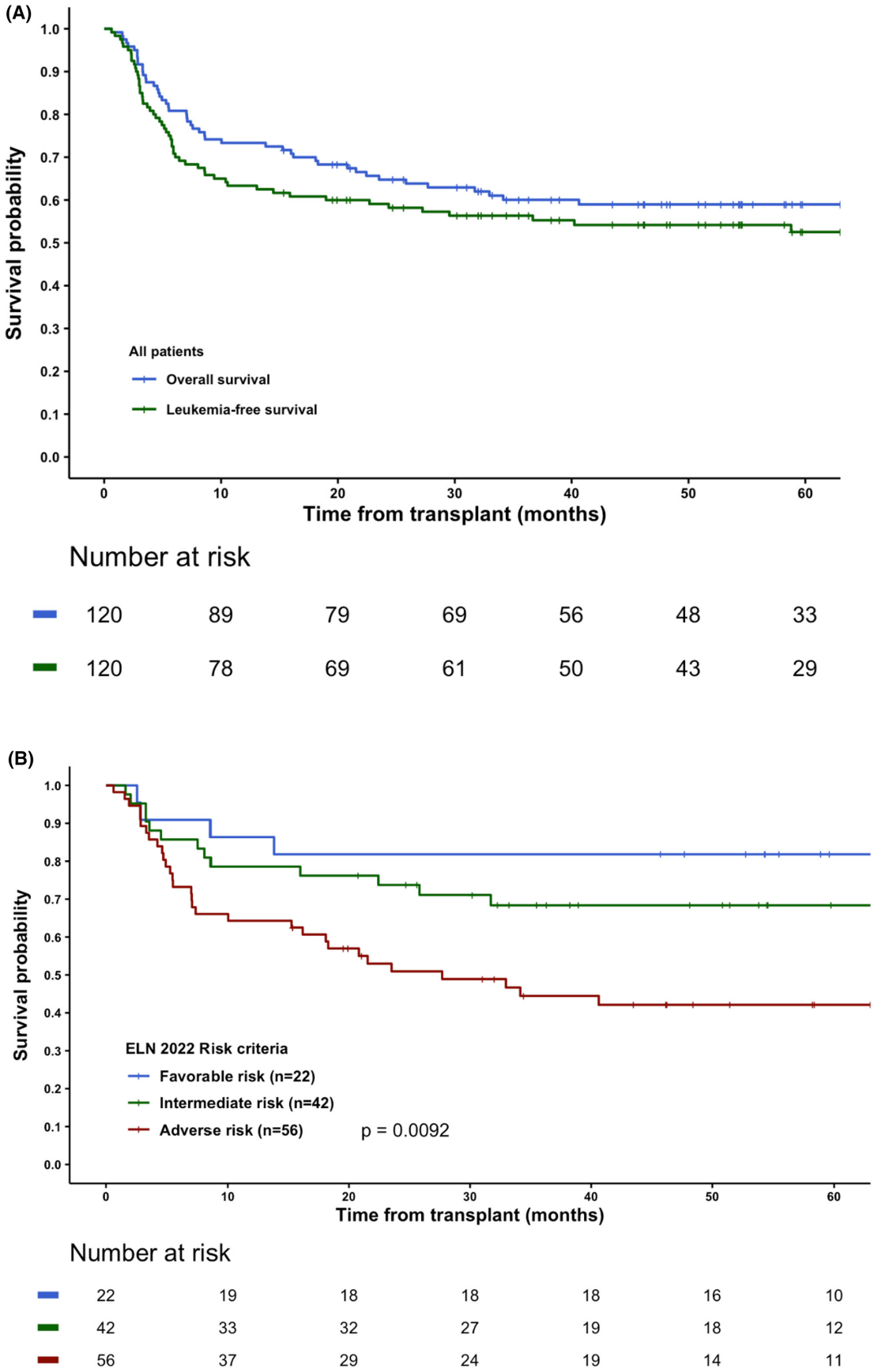


FIGURE 1 Overall survival and leukaemia-free survival of all patients included in the study (A). Overall survival (B) and leukaemia-free survival (C) of patients according to ELN 2022 risk classification.

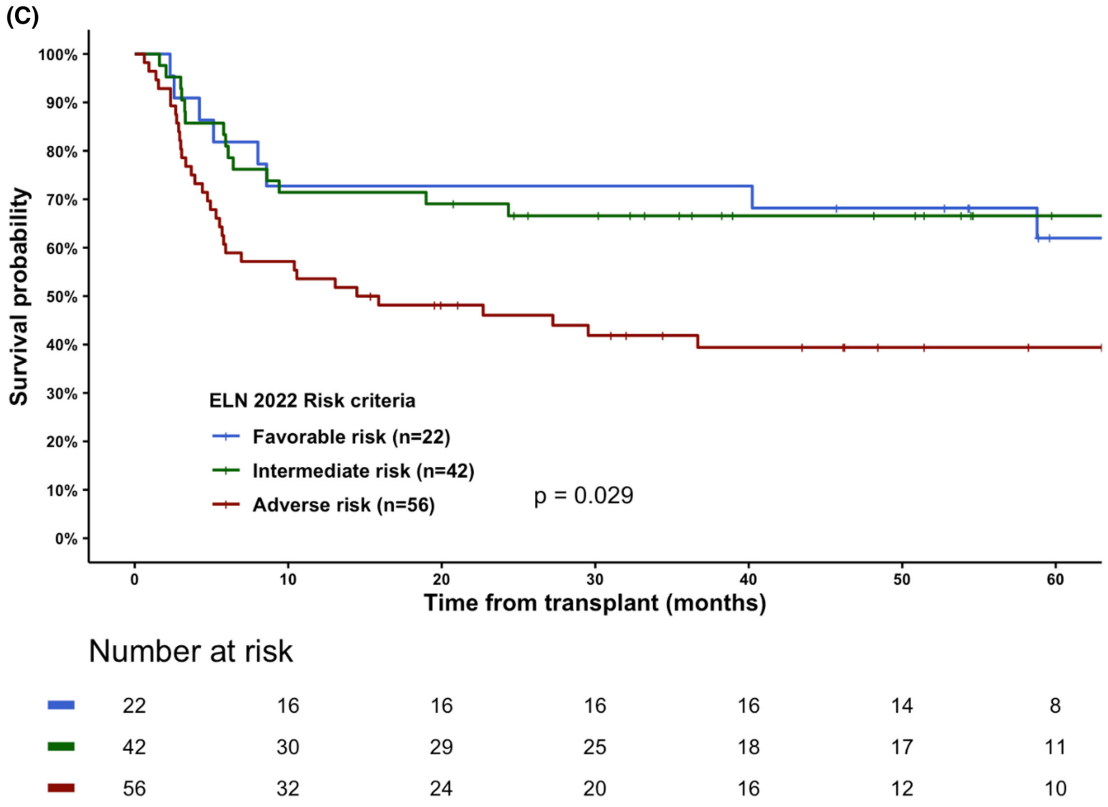


FIGURE 1 (Continued)

prophylaxis and a longer LFS (HR: 0.48 [95% CI: 0.28–0.81], $p = 0.006$), together with a trend to superior OS (HR: 0.60 [95% CI: 0.34–1.1], $p = 0.07$) (Figure 2).

Subanalysis of the ELN 2022 risk groups: Redefinition of a very poor genetic risk subgroup within the adverse risk group

Due to the dismal prognosis associated with specific genetic subgroups, such as those harbouring complex karyotype,[18] *MECOM* rearrangement[19] or *TP53* mutation,[20] we opted to refine the classification of patients within the ELN 2022 adverse risk group. Consequently, patients were divided into two independent subgroups: those diagnosed with a complex karyotype, inv(3)/t(3;3) with *MECOM(EVI1)* rearrangement, and loss of 17p region and/or *TP53* mutated were categorized into a novel group termed adverse-plus (AdvP). Information about 17p region and TP53 mutational status is shown in Table S1. Conversely, patients with other adverse-risk genetic subgroups were retained in the adverse (Adv) group. Notably, patients in the AdvP risk group were older (56 vs. 58 years, $p < 0.001$) than those in the Adv group, with no other differences in baseline characteristics observed between the two new subgroups (Table S2).

Overall, the outcomes of the AdvP subgroup were notably worse, with a 2-year OS rate of 14%, and a significantly shorter median OS compared to other risk groups (NR in the rest of risk groups vs. 7.1 months in AdvP [95% CI: 4.64–33], $p < 0.001$, HR: 2.05 [95% CI: 1.53–2.75]). Likewise, LFS was markedly shorter (NR in the rest of subgroups vs. 4.7 months, $p < 0.001$, HR: 1.95 [95% CI: 1.47–2.59] with a 5-year LFS rate of 14%) (Figure 3; Figure S3). The CIR was higher (24-month CIR: 62% vs. 21%, $p < 0.001$) between AdvP and the rest of patients, with similar NRM rates between groups (24-month NRM: 21 vs. 14%, respectively) (Figure S4).

In contrast, the intermediate and Adv risk groups showed no significantly different outcomes in terms of OS and LFS (5-year OS rates: 68% vs. 60%, $p = 0.67$, 5-year LFS rates: 66% vs. 55%, $p = 0.49$).

Lastly, the prognostic value of the AdvP subgroup was further confirmed in the multivariate analysis, exhibiting worse OS and LFS (HR: 3.66 [95% CI: 1.77–6.6], $p < 0.001$) and LFS (HR: 3.69 [95% CI: 1.8–7.53], $p < 0.001$). Additionally, in this multivariate analysis, the use of PTCY as GVHD prophylaxis was also associated with improved LFS (HR: 0.54 [95% CI: 0.39–0.94], $p = 0.028$) (Figure 4).

DISCUSSION

The present study proposes a refined stratification, splitting the adverse risk category of the ELN 2022 risk classification into two different subgroups. Those patients we have identified to have a higher risk for a dismal outcome, the AdvP

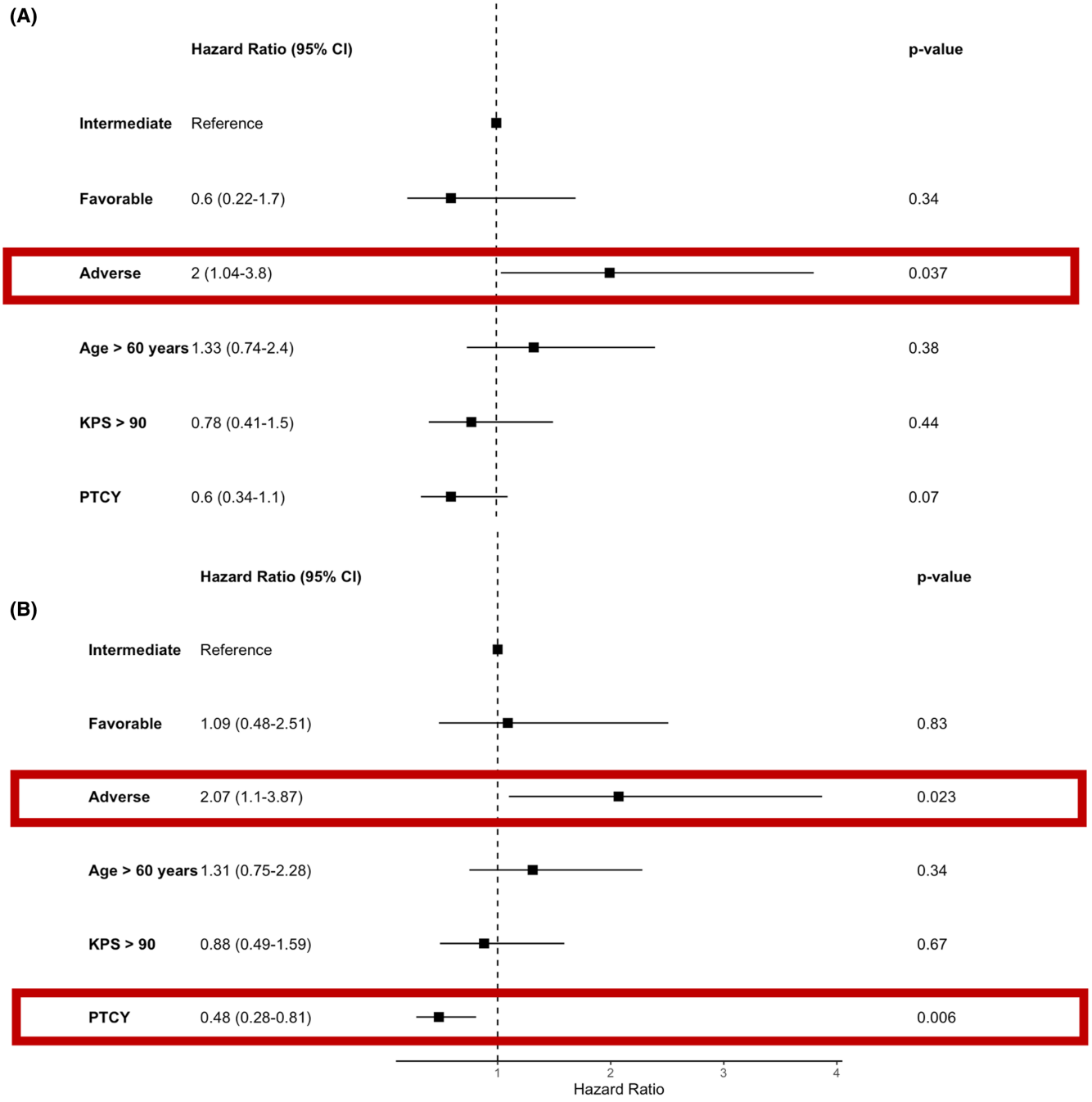


FIGURE 2 Multivariate analysis of overall survival (A) and leukaemia-free survival (B) according to ELN 2022 risk classification. KPS, Karnofsky Performance Scale; PTCY, post-transplant cyclophosphamide.

subgroup, present with a very poor outcome after allo-HCT, whereas the remaining Adv patients have a similar prognosis compared to the intermediate risk patients.

Protocols of the CETLAM cooperative group have recommended since 2012 the consolidation of CR1 with an allo-HCT in all eligible patients with an intermediate or high genetic risk. In those with a favourable risk who present with a molecular failure during follow-up, allo-HCT is also recommended. Therefore, the analysis of ELN 2022 in patients from our centre allowed us to validate this new risk classification. Due to the appearance of two different diagnostic classifications for AML in 2022, the new ELN 2022 guidelines should theoretically have had more problems to be valued than the previous ELN 2017 classification, based on the unified WHO 2017 AML classification.[21] Instead, several studies have already addressed the validation of ELN 2022,[9,12] confirming its discriminatory capability, which is similar to that provided by the ELN 2017 stratification,[14] since the correlation between both classifications is higher than 80%.[22] These studies analysed a broad validation of the new classification in the overall population, accounting for initial refractoriness and relapse

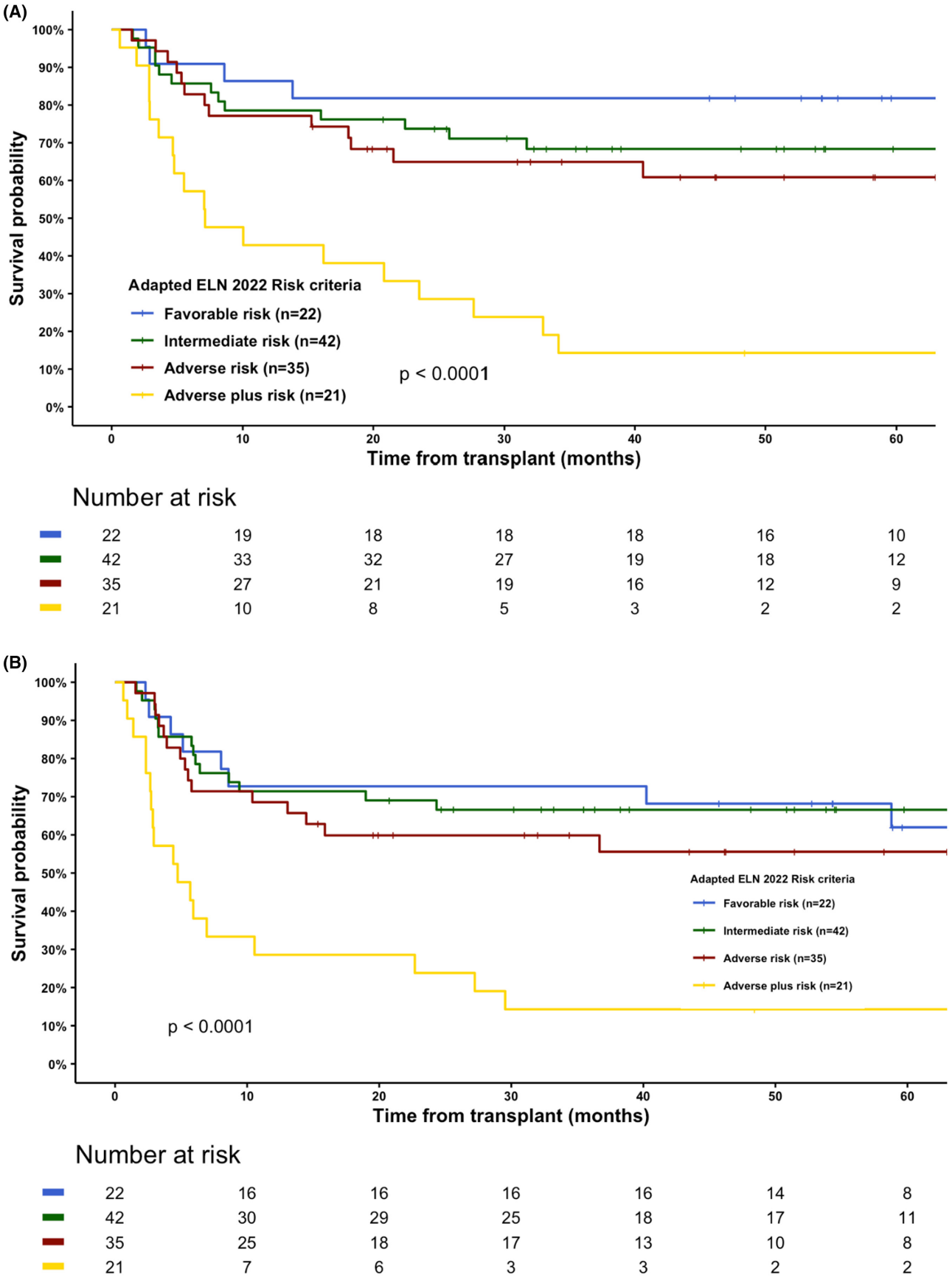


FIGURE 3 Overall survival (A) and leukaemia-free survival (B) according to the refined ELN 2022 risk classification after the inclusion of the adverse-plus (AdvP) risk group.

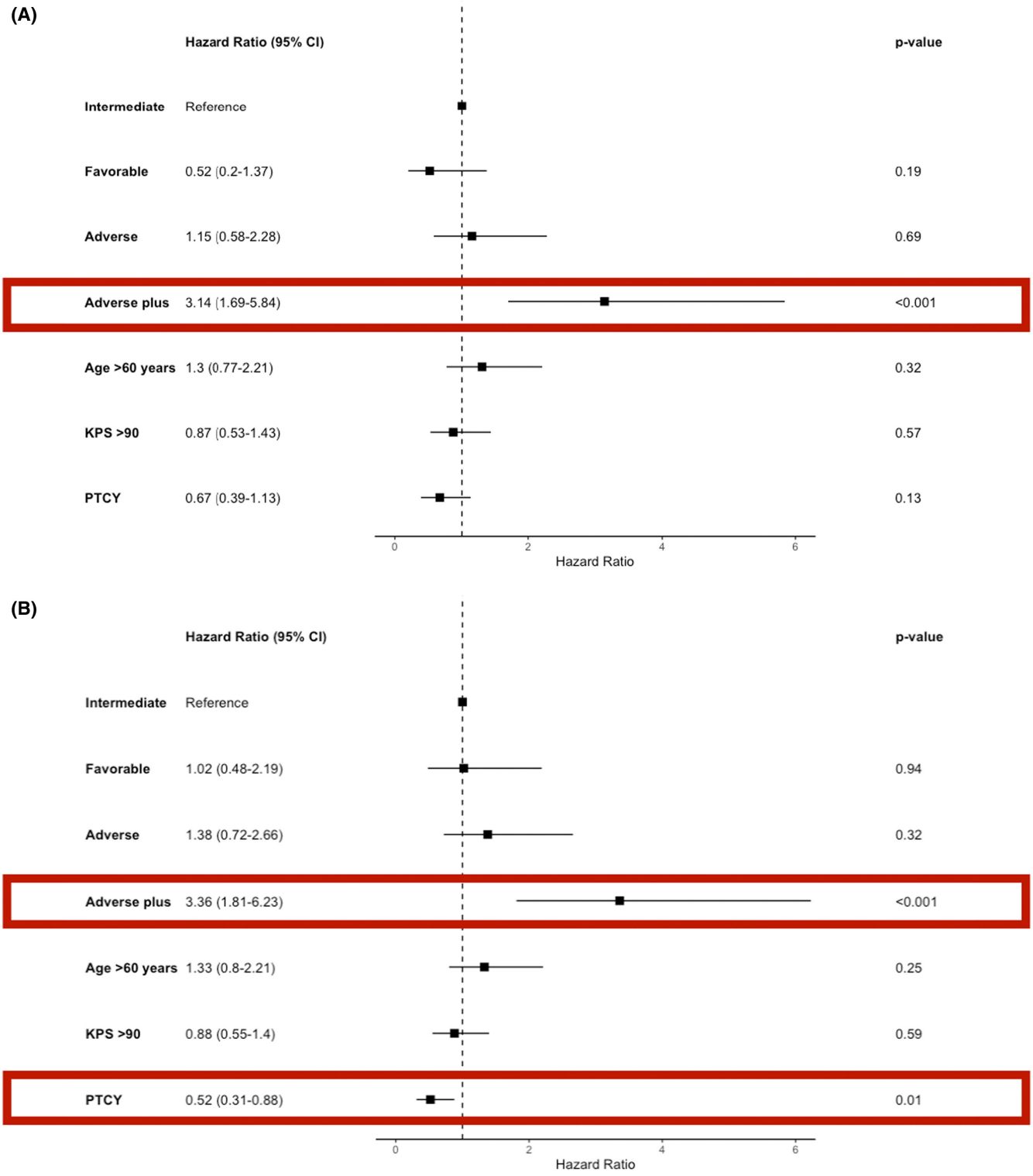


FIGURE 4 Multivariate analysis of overall survival (A) and leukaemia-free survival (B) according to the refined ELN 2022 risk classification after the inclusion of the adverse-plus (AdvP) risk group. KPS, Karnofsky Performance Scale; PTCY, post-transplant cyclophosphamide.

risk after response, including allo-HCT. Herein, we present a single-centre cohort of patients undergoing allo-HCT during a 10-year period with a well-defined transplant policy concerning main transplant features (donor selection, conditioning intensity and GVHD prophylaxis), regardless of AML genetic risk.

The ELN 2022 risk classification stratifies accurately in the diverse risk subgroups in our study. It is important to remark that favourable and intermediate risk groups show similar OS and LFS, probably due to the short number of patients included in the favourable risk group and the fact that these patients initially included in the favourable risk group

at diagnosis had presented at least a molecular failure before being chosen to undergo an allo-HCT. Otherwise, a treatment based exclusively on standard chemotherapy would have been the preferred treatment option based on our protocol, as previously explained.

Biological diversity and outcome among different adverse risk warranted its stratification in two different subgroups. Thus, the AdvP subgroup contained patients with complex karyotype[18] (refined in the latest classifications), MECOM(*EVI1*) rearranged AML[19] and/or *TP53* mutation,[20] showing a dismal outcome, with a median OS and LFS of only 7.1 and 4.7 months after the allo-HCT and a 24-month CIR of 62.5%. These results suggest an uncertain benefit in the AdvP patients of this allo-HCT strategy and support the urgent need of more effective strategies. Providing a deeper response before allo-HCT, fostering graft versus leukaemia effect with up-front maintenance or pre-emptive interventions after the procedure are potential options that should be attempted in the future to improve the outcome of these patients.

It is also remarkable from our results, that within the proposed refinement of the ELN 2022 risk classification, intermediate and Adv group did not present a difference in outcome, with a low relapse risk (20% and 24%, respectively, at 5 years). The favourable results of patients diagnosed with myelodysplasia-related gene mutations, which account for a large proportion of Adv category, have been also observed in a recent study.[23] In addition, PTCY platform for GVHD prophylaxis emerged as a favourable independent prognostic variable for LFS in this study. Potential benefit of this strategy relies on a lower risk of severe cGVHD, but can also be associated with a lower relapse risk related to a shorter duration of immunosuppressive drugs.

We are aware of several limitations of this study. First, the retrospective nature of the study with a limited number of patients implies the need for a validation of these results in independent cohorts. Furthermore, there is a subset of patients ($n = 22$ during the study period) who could not be included due to a lack of comprehensive NGS data. Given the lack of cytogenetical defining abnormalities among these patients, the chance of being classified in the AdvP risk group is really low, since only patients with no cytogenetical abnormalities but mutated *TP53* could be included in this new category. Finally, the lack of prospective, homogenous MRD analysis during the study period for patients lacking well-recognized molecular markers (i.e. NPM1 and CBF mutation) precludes the possibility of modulating baseline genetic risk depending on pre-allo-HCT MRD status.[20,24–28]

In conclusion, the ELN 2022 risk classification accurately discriminates outcomes in patients undergoing allo-HCT in CR. Moreover, the recognition of AdvP subgroup is clinically meaningful, highlighting the need to develop new therapy strategies for these patients.[29–31] This new four-group subclassification should be properly addressed and validated in an independent series.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

CJ-V and MQS designed the study. CJ-V performed the statistical analysis and wrote the manuscript. JE and MQS supervised the study and contributed to manuscript writing. PC, SD-C, ML-G, FG, AIP-V and DM collected data. All authors contributed valuable revisions and approved the final version of the manuscript.

ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge all the support provided by the Hematopoietic Transplant team and Hematology department for the data collection required for this study (data-managers, secretary staff).

FUNDING INFORMATION

Fundació la Marató TV3 sobre Càncer. Grant Number: 201201930-3, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), co-funded by the European Union. Grant Numbers: FIS PI19/01476, FIS PI22/01660.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

CJ-V serves as an educational speaker for AbbVie and received travel grants from AbbVie, Jazz Pharmaceuticals and Pfizer. FG serves as an educational speaker for AbbVie. AM-R serves as a consultant or in an advisory role for Bristol Myers Squibb (BMS), AbbVie and Kite Gilead; has received travel grants from Kite Gilead, Roche, Takeda, Janssen and AbbVie; and serves as a speaker for AbbVie and Gilead. MD-B serves as a consultant for, in an advisory role for, received travel grants from, or served as a speaker for BMS, AbbVie, Astellas, JazzPharma, Takeda and Novartis. JE declares consultancy honoraria from AbbVie, Novartis, Astellas, Jazz Pharmaceuticals, BMS-Celgene, Pfizer and Daichii-Sankyo, and has received research grants from Novartis, Jazz Pharmaceuticals and Pfizer. The remaining authors declare no competing financial interests. The founders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of the data; in the writing of the manuscript or in the decision to publish the results.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Due to privacy and ethical concerns, the data that support the findings of this study are available upon request from the corresponding author.

ETHICS STATEMENT

The study was approved by the Ethics Committee of the Hospital Clínic de Barcelona and conducted following standards set forth by the Declaration of Helsinki.

PATIENT CONSENT STATEMENT

All patients provided their informed consent for the use of laboratory results and genetic analyses.

ORCID

Carlos Jiménez-Vicente https://orcid.org/0000-0002-9548-4305

Laura Rosiñol https://orcid.org/0000-0002-2534-9239
Carmen Martinez https://orcid.org/0000-0002-8401-7306
Marina Díaz-Beyá https://orcid.org/0000-0001-9624-2597
Jordi Esteve https://orcid.org/0000-0002-8056-648X

REFERENCES

1. Niederwieser D, Baldomero H, Bazuaye N, Bupp C, Chaudhri N, Corbacioglu S, et al. One and a half million hematopoietic stem cell transplants: continuous and differential improvement in worldwide access with the use of non-identical family donors. Haematologica. 2021;107:1045–53.
2. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, Craddock C, DiNardo CD, Dombret H, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. Blood. 2022;140:1345–77.
3. Arber D et al. International consensus classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: integrating morphological, clinical, and genomic data. Blood. 2022;140:1200–28.
4. Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. Leukemia. 2022;36:1703–19. https://doi.org/10.1038/s41375-022-01613-1
5. Tarlock K, Lamble AJ, Wang YC, Gerbing RB, Ries RE, Loken MR, et al. CEBPA-bZip mutations are associated with favorable prognosis in de novo AML: a report from the Children's Oncology Group. Blood. 2021;138:1137–47.
6. Sierra J, Nomdedeu JF, Carreras J. CEBPA bZip mutations: just a single shot heme: driver of erythrocyte elimination. Blood. 2021;138:1091–2.
7. Taube F, Georgi JA, Kramer M, Stasik S, Middeke JM, Röllig C, et al. CEBPA mutations in 4708 patients with acute myeloid leukemia: differential impact of bZIP and TAD mutations on outcome. Blood. 2022;139:87–103.
8. Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood. 2017;129:424–47.
9. Mrózek K, Kohlschmidt J, Blachly JS, Nicolet D, Carroll AJ, Archer KJ, et al. Outcome prediction by the 2022 European LeukemiaNet genetic-risk classification for adults with acute myeloid leukemia: an Alliance study. Leukemia. 2023;37:788–98.
10. Lachowiez CA, Long N, Saultz J, Gandhi A, Newell LF, Hayes-Lattin B, et al. Comparison and validation of the 2022 European LeukemiaNet guidelines in acute myeloid leukemia. Blood Adv. 2023;7:1899–909.
11. Rausch C, Rothenberg-Thurley M, Dufour A, Schneider S, Gittinger H, Sauerland C, et al. Validation and refinement of the 2022 European LeukemiaNet genetic risk stratification of acute myeloid leukemia. Leukemia. 2023;37(6):1234–44. https://doi.org/10.1038/s41375-023-01884-2
12. Jentzsch M, Bischof L, Ussmann J, Backhaus D, Brauer D, Metzeler KH, et al. Prognostic impact of the AML ELN2022 risk classification in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. Blood Cancer J. 2022;12:170.
13. Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, Büchner T, Willman CL, Estey EH, et al. 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. J Clin Oncol. 2003;21:4642–9.
14. Bataller A, Garrido A, Guijarro F, Oñate G, Diaz-Beyá M, Arnan M, et al. European LeukemiaNet 2017 risk stratification for acute myeloid leukemia: validation in a risk-adapted protocol. Blood Adv. 2022;6:1193–206.
15. Salas MQ, Pedraza A, Charry P, Suárez-Lledó M, Rodríguez-Lobato LG, Brusosa M, et al. Post-transplantation cyclophosphamide and tacrolimus for graft-versus-host disease prevention after allogeneic hematopoietic cell transplantation from HLA-matched donors has more advantages than limitations. Transplant Cell Ther. 2023;30:213.e1–213.e12. https://doi.org/10.1016/j.jtct.2023.11.020
16. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. Transplantation. 1974;18:295–304.
17. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Al E. 1994 consensus conference on acute GVHD grading. Bone Marrow Transplant. 1995;15:825–8.
18. Mrózek K, Eisfeld AK, Kohlschmidt J, Carroll AJ, Walker CJ, Nicolet D, et al. Complex karyotype in de novo acute myeloid leukemia: typical and atypical subtypes differ molecularly and clinically. Leukemia. 2019;33:1620–34.
19. Richard-Carpentier G, Rausch CR, Sasaki K, Hammond D, Morita K, Takahashi K, et al. Characteristics and clinical outcomes of patients with acute myeloid leukemia with inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2). Haematologica. 2023;108:2331–42.
20. Grob T, al Hinai ASA, Sanders MA, Kavelaars FG, Rijken M, Gradowska PL, et al. Molecular characterization of mutant TP53 acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome. Blood. 2022;139:2347–54.
21. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC; 2017.
22. Huber S, Baer C, Hutter S, Dicker F, Meggendorfer M, Pohlkamp C, et al. AML classification in the year 2023: how to avoid a Babylonian confusion of languages. Leukemia. 2023;37:1413–20.
23. Song G-Y, Kim TH, Ahn SY, Jung SH, Kim M, Yang DH, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation can overcome the adverse prognosis indicated by secondary-type mutations in de novo acute myeloid leukemia. Bone Marrow Transplant. 2022;57:1810–9.
24. Buckley SA, Wood BL, Othus M, Hourigan CS, Ustun C, Linden MA, et al. Minimal residual disease prior to allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia: a meta-analysis. Haematologica. 2017;102:865–73.
25. Hourigan CS, Dillon LW, Gui G, Logan BR, Fei M, Ghannam J, et al. Impact of conditioning intensity of allogeneic transplantation for acute myeloid leukemia with genomic evidence of residual disease. J Clin Oncol. 2019;38:1273–83.
26. Thol F, Gabdoulline R, Liebich A, Klement P, Schiller J, Kandziora C, et al. Measurable residual disease monitoring by NGS before allogeneic hematopoietic cell transplantation in AML. Blood. 2018;132:1703–13.
27. Dillon R, Hills R, Freeman S, Potter N, Jovanovic J, Ivey A, et al. Molecular MRD status and outcome after transplantation in NPM1-mutated AML. Blood. 2020;135:680–8.
28. Grob T, Sanders MA, Vonk CM, Kavelaars FG, Rijken M, Hanekamp DW, et al. Prognostic value of FLT3-internal tandem duplication residual disease in acute myeloid leukemia. J Clin Oncol. 2022;41:756–65.
29. Lancet JE, Uy GL, Cortes JE, Newell LF, Lin TL, Ritchie EK, et al. CPX-351 (cytarabine and daunorubicin) liposome for injection versus conventional cytarabine plus daunorubicin in older patients with newly diagnosed secondary acute myeloid leukemia. J Clin Oncol. 2023;36:2684–92.
30. DiNardo CD, Lachowiez CA, Takahashi K, Loghavi S, Kadia T, Daver N, et al. Venetoclax combined with FLAG-IDA induction and consolidation in newly diagnosed acute myeloid leukemia. Am J Hematol. 2022;97:1035–43.

31. Pollyea DA, Winters A, McMahon C, Schwartz M, Jordan CT, Rabinovitch R, et al. Venetoclax and azacitidine followed by allogeneic transplant results in excellent outcomes and may improve outcomes versus maintenance therapy among newly diagnosed AML patients older than 60. Bone Marrow Transplant. 2022;57:160–6.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Jiménez-Vicente C, Charry P, Castaño-Diez S, Guijarro F, López-Guerra M, Pérez-Valencia AI, et al. Evaluation of European LeukemiaNet 2022 risk classification in patients undergoing allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukaemia: Identification of a very poor prognosis genetic group. Br J Haematol. 2024;00:1–12. https://doi.org/10.1111/bjh.19518

SUPPLEMENTARY DATA

Main Definitions of allo-HCT

All patients older than ≥18 years with no upper age limit, Karnofsky performance score ≥60% and without active/untreated infection were eligible for allo-HCT. Criteria for pre-transplant organ function included the presence of a left ventricular ejection fraction ≥45% without significant pre-existing cardiac disease or uncontrolled arrhythmia; pulmonary function testing demonstrating forced expiratory volume >50% predicted, and diffusing capacity of carbon monoxide >50% predicted; liver functions tests showing total bilirubin <2.5 times normal with transaminases <3 times the upper limit of normal, and a creatinine clearance (Cockcroft-Gault method/24-hour urine), > 45ml/min and a creatinine level < 2 mg/dL.

The institutional anti-microbial prophylaxis was as follows: levofloxacin 500 mg daily from day +1 until neutrophil engraftment, fluconazole 400 mg daily from day +1 until day +60, acyclovir 800 mg twice daily from day +1 until 1-year after the allo-HCT, and either trimethoprim-sulfamethoxazole 160/800 mg three times per week, or inhaled pentamidine 300 mg monthly until the achievement of peripheral blood CD4+ cell count> 200 cells/ml.

CMV titres were monitored by peripheral blood quantitative PCR in plasma samples during the first six months of follow-up or longer if on immunosuppression. The cut-off value for test positivity was >200 copies of CMV DNA per milliliter of plasma. Any positive result and above than 1000 copies per mililiter was considered a CMV reactivation and pre-emptive treatment was initiated. First line of treatment was oral valgancyclovir, intravenous ganciclovir or foscarnet until viremia clearance. EBV titres were not routinely monitored.

Engraftment was defined as an absolute neutrophil count (ANC) ≥0.5 x 10^9/L on the first of three consecutive days. Platelet recovery was defined as a sustained platelet count > 20 x 10^9/L without requiring transfusion during the last seven days. Primary graft failure (GF) was defined as peripheral blood ANC < 0.5×10^9/L by day +28 in the absence of relapse, and secondary GF was defined as a loss of donor chimerism (<5% donor cells) after initial engraftment and recurrent ANC < 0.5×10^9/L.

Karyotype (ISCN, 2020)	NGS, Mutation (cDNA, protein, VAF (%))	FISH del(17p) (nucleii %)
45,XX,-7,[15]/46,XX[6]		Positive (17)
42-45. XY, -4, r(4)(p16q35),-5.-7,+ 11,add(17)(p12),-18,-20,-21,+2-5mar[cp19]/46,XY[1]	TP53 (c.646G>A, p.Val216Met, 82.88%)	
45,XY,-5[2]/46,XY,del(5)(q14)[4]/46,XY[14]	TP53 (c.811G>A p.Glu271Lys, 24.64%)	
46,XX,del(5)(q13q33),del(20)(q11q13)[3]/ 46,idem,t(3;14;17)(q21;q24;p12),t(4:17)(q22-24;q12)[12]	TP53 (c.716A>G p.Asn239Ser, 68.3%, c.541C>T p.Arg181Cys, 6.1%) SF3B1 (c.1873C>T p.Arg625Cys, 39.7%)	
45XY, -2, -4, -5, +8, -9, -13, -15, del(17)(p13), -8,+mar1,+mar2,+mar3,+mar4, +mar5 [10], 45XY [18]		Positive (28)
46, XY[20]	TP53 (c.734G>A p.Gly245Asp, 47.6%) DNMT3A (c.2645G>A p.Arg882His, 54,1%) IDH2 (c.41.G>A p.Arg140Gln, 46.3%) NPM1 (c.863_864insTCTG, p.Trp288fs, 45.6%)	
45,XX, del(5)(q12q33),add(8)(p23),add(12)(q24), - 21 [2]/44,XX,del(5)(q12q33),del(7)(q22), add(8)(p23), add(12)(q24),-17,- 18 [5]/44,idem,der(11)del(11)(p12)add(11) (q22) [7]/46,XX[11]		
44,XX,del(5)(q13q33),?del(8)(p21p23), der(12)t(8;12)(q11.2;p11.2), +16,- 17,-18,-22[17]		
44,XY,-3,del(4)(q24),der(5),t(5;?)(q11.2;?),der(7),t(7;?)(q32;?),-12,+13,-15,17, Y, der(?), t(?;12)(?;q21), +mar[8] /46,XY[22]		
46,XY,t(3;14) (q35;q32),-9,?del(18)(q22),+mar[2]/46,XY[17]		
46,XX,add(3)(p?),?t(5;9)(q?15;q?34),?t(12;15)(q?24;q?23),-15,-17,-18,-21 ,+mar[cp12]		
44,XY,der(3)inv(3)(p2?5q12)t(3;13)(q2?6.3;q12)t(3;20)(q12;q1?3)add(20)(q1?3),del(5)(q13q33),-7,der(12)del(12)(p12)del(12)(q1	TP53 (c.590T>G (p.Val197Gly), c.993+1G>A) (Detected through direct DNA sequencing)	

2),-13,der(20)t(12;20)(q12;p1?3)del(20)(q1?3)[18]		
46,XX, del(1)(p21), t´(2;4) (p23;q21), add(16)(p13)[20]		
44,XX,del(5)(q12q33),del(7)(q22), add(8)(p23),add(12)(q24),-17,-18 [5]/44,idem,der(11)del(11)(p12)add(11)(q22)[7]/46,XX[11]		
43,XY,inv(3)(q21q26.2),-?6,-?21,-?22[6]/46,XY[15]		
46,XY,inv(3)(q21q26.2)[8]/46,XY[20]	DNMT3A (c.2318T>G, p.Leu773Arg, 68.4%, c.89A>C p.Glu30Ala 80.6% IDH1 (c.394C>T, p.Arg132Cys, 35.6%)	
45-46,XY,del(5)(q13q31),del(7)(p14),del(12)(p13),add(12)(p13),del(20)(q1 1q13),-20[cp20]	TET2 (c.2599T>C p.Tyr867His, 48.6%, c.5167C>T, p.Pro1723Ser, 45.4% TP53 (c.736A>G p. Met246Val, 84%)	Positive (11)
46,XX,inv(3)(q21q26)[30]		
45,XX,-7[3] /46,XX,del(11)(q13q23),del(12)(p13.2)[5]/46,XX[14]		
44-45,XY,del(2)(p?12),-5,add(10)(q22),-17,-18,-18,-19,+mar1,+mar2,+mar3,+mar4[cp14]	TET2 (c.5152G>T p.Val1718Leu, 47.8%)	
41-46,X,-Y,-3,-4,del(5)(q13q33),add(7)(q36),+18,-12,+13,-15,add(19)(p?),+mar[cp8]/46,XX[8]		

Table 1. Biological abnormalities of patients included in the study with TP53mutated or del(17p).

NGS: Next Generation Sequencing, cDNA: coding DNA, VAF: Variant allele frequency.

All patients	Adverse risk (n = 35)	Adverse-risk plus (n = 21)	*p*
Age, median (range)			**<0.001**
Sex, n (%)			0.19
Female	18 (51.4)	6 (28.6)	
Male	17 (48.6)	15 (71.4)	
Karnofsky Perfomance Status, n (%)			0.47
>90	24 (68.6)	17 (81)	
<90	10 (28.6)	3 (14.2)	
Missing	1 (2.9)	1 (4.8)	
CR/CRi to allo-HCT, n (%)			0.29
First	33 (94.3)	21 (100)	
Conditioning regimen, n (%)			0.90
MAC	19 (54.3)	10 (47.6)	
RIC	16 (45.7)	11 (52.4)	
Donor type, n (%)			0.06
MSD	7 (20.6)	11 (52.4)	
MUD	12 (34.2)	7 (33.3)	
MMUD	5 (14.7)	2 (9.5)	
Haplo	10 (29.4)	1 (4.8)	
Stem cell source, n (%)			1
Peripheral blood	33 (2.9)	20 (95.2)	
Bone marrow	1 (97.1)	1 (4.8)	
GvHD prophylaxis, n (%)			0.06
PTCY-based platforms	25 (73.5)	10 (47.6)	
Non PTCY-based platforms	9 (26.5)	11 (52.4)	

Table 2. Baseline characteristics of patients in the Adverse risk and Adverse plus risk group included in this study. CR: Complete response, CRi: Complete response without hematological recovery, MAC: Mieloablative conditioning regimen, RIC: Reduced-intensity conditioning

regimen, MUD: Matched unrelated donor, MMUD: Mismatched unrelated donor, MSD: Matched sibling donor, Haplo: Haploidentical donor. G**v**HD: Graft versus host disease, PTCY: Post-transplant cyclophosphamide

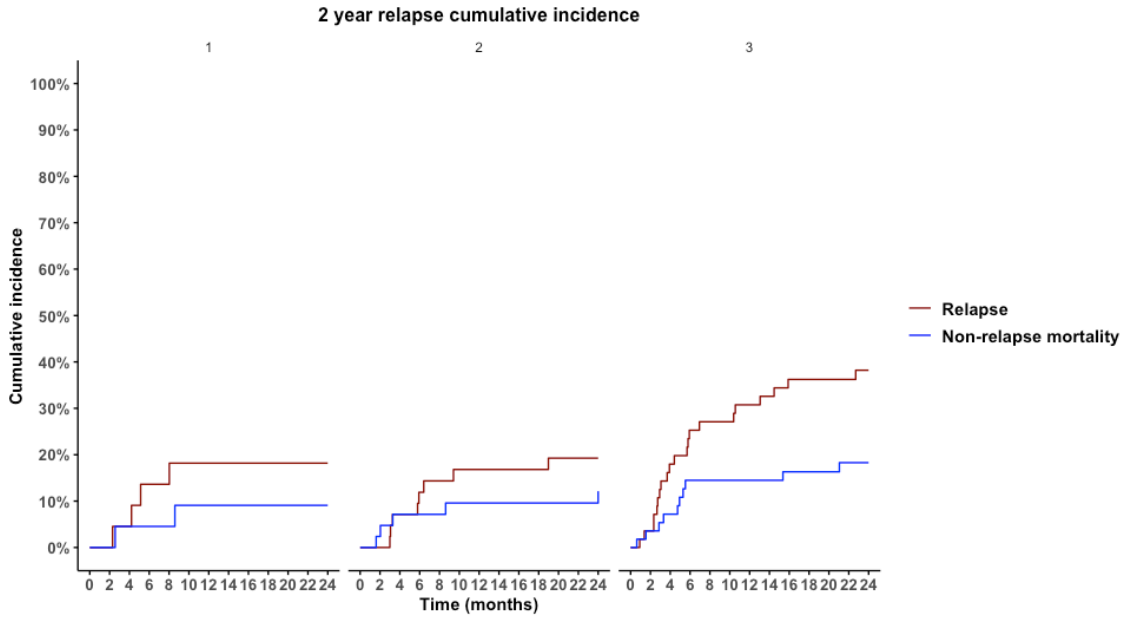


Figure 1. Cumulative incidence of non-relapse mortality and relapse in the patients of this study according to the ELN 2022 risk classification. 1: Favorable risk, 2: Intermediate Risk, 3: Adverse Risk

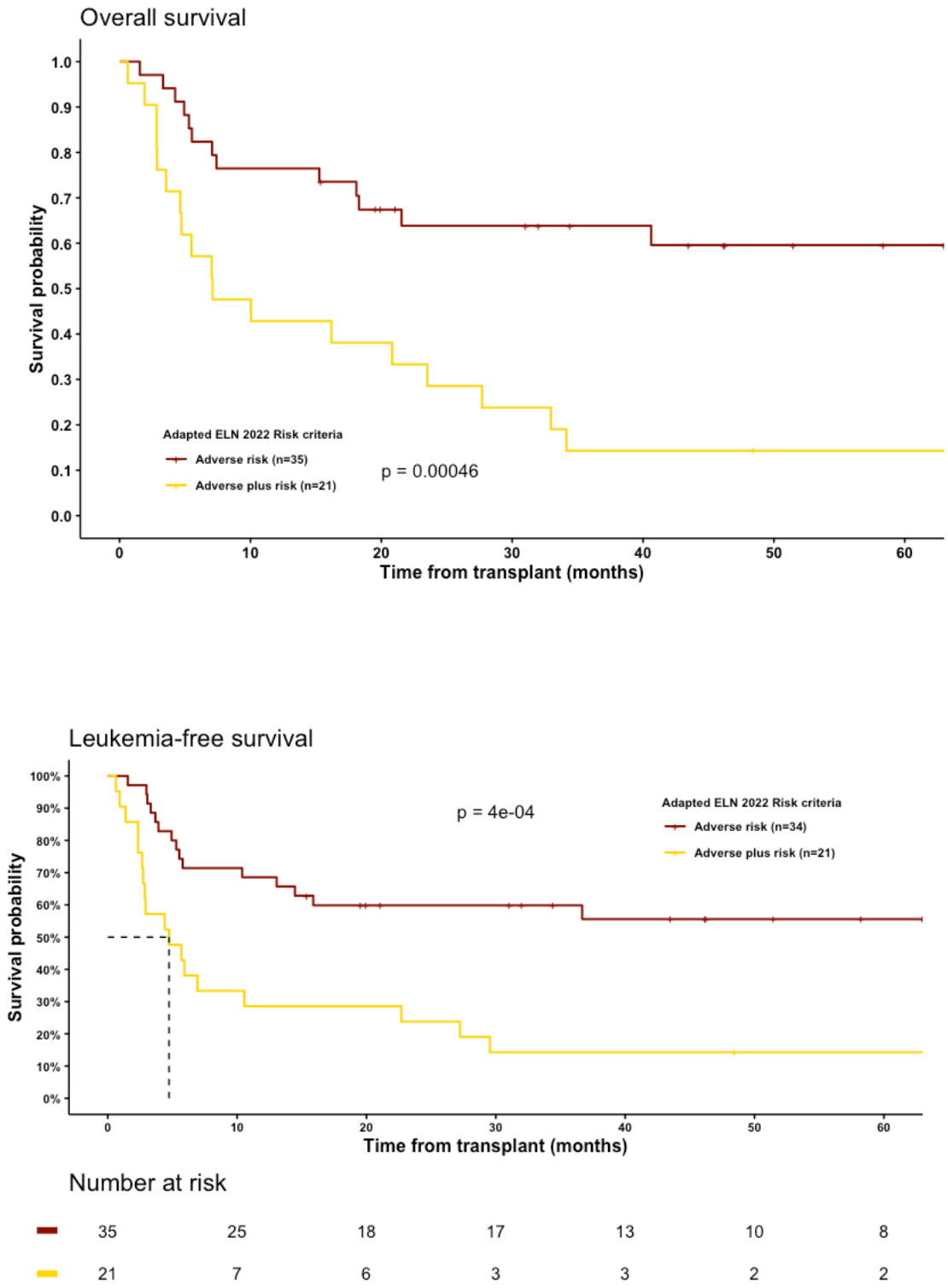


Figure 3. Overall survival (4A) and Leukemia-free survival (4B) of patients in the Adverse or Adverse Plus risk group after the inclusion of this last subgroup to the Adapted ELN2022 risk classification

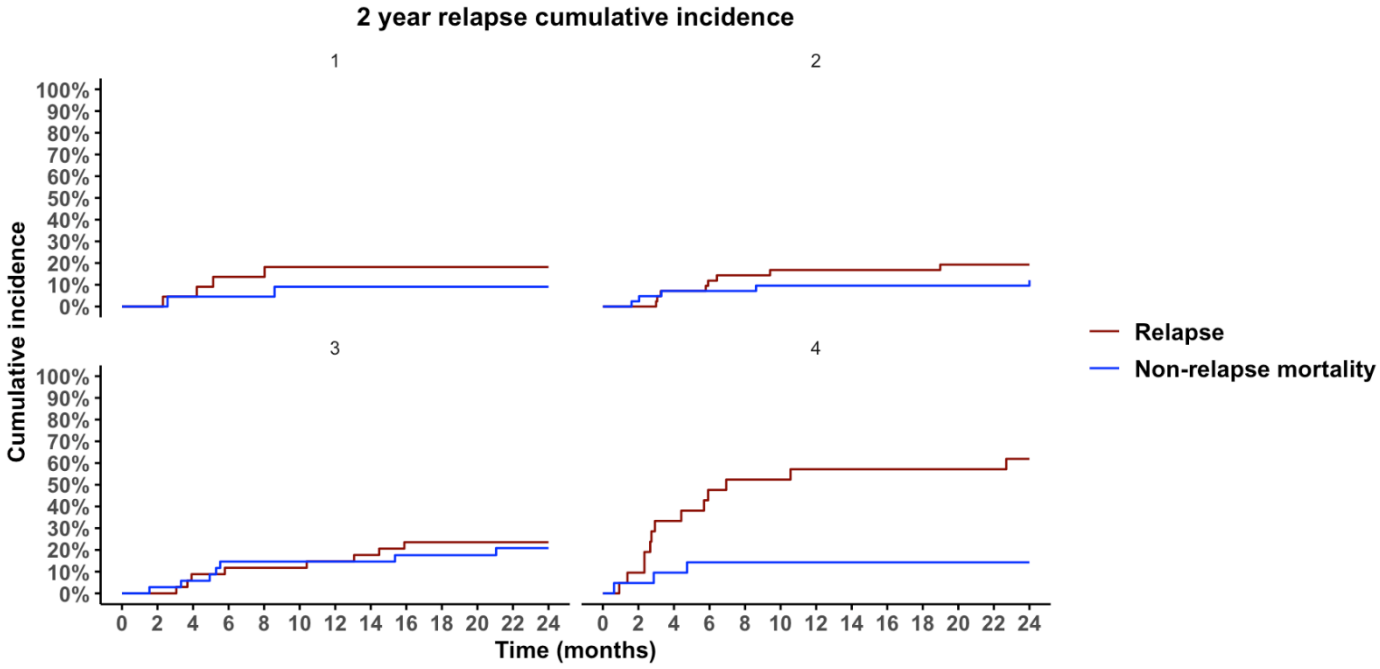


Figure 4. Cumulative incidence of non-relapse mortality and relapse in the patients of this study according to the adapted ELN 2022 risk classification (including the Adverse plus risk group). 1: Favorable risk, 2: Intermediate Risk, 3: Adverse Risk, 4: Adverse Plus Risk

2. Segunda publicación

Título: Clasificación de riesgo ELN 2022 refinada para trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos: validación del grupo Adverse-Plus en pacientes diagnosticados de LMA sometidos a trasplante alogénico dentro del grupo español de trasplante de progenitores hematopoyéticos (GETH-TC)"

Introducción:

La escala de riesgo de la ELN 2022 estratifica de manera adecuada a los pacientes diagnosticados de LMA sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos (AloTPH). En un estudio unicéntrico, el grupo Adverse-Plus (AdvP) compuesto por aquellos pacientes del grupo adverso que presentaban cariotipo complejo, reordenamientos *MECOM(EVI1*) o mutaciones en *TP53* o del(17p) presentaban una supervivencia claramente inferior, pero esta hipótesis requiere validación en cohortes amplias de pacientes.

Objetivos:

Validar retrospectivamente la clasificación *Allo-HCT Refined ELN 2022* en 651 pacientes con LMA en remisión completa tras inducción estándar y trasplante alogénico, recogidos por 16 centros del GETH-TC entre 2015 y 2023..

Métodos:

Diseño multicéntrico retrospectivo de adultos ≥ 18 años. Se reclasificó a pacientes del grupo adverso de la ELN 2022 en AdvP y adverso sin estas carácterísticas. Se calcularon superviencia global (OS) y supervivencia libre de leucemia (LFS) por Kaplan–Meier utilzando el test log-rank para el análisis de grupos de estratificación, incidencia acumulada de recaída con riesgos competitivos y regresión de Cox multivariada para variables pronósticas.

Resultados:

Según la clasificación de riesgo *Allo-HCT Refined ELN 2022*, el 19,4 % (n = 126) de los pacientes se clasificó en el riesgo favorable, el 38,1 % (n = 248) en el riesgo intermedio, el 27,2 % (n = 177) en el grupo adverso y el 15,4 % (n = 100) en el grupo AdvP. Los resultados fueron significativamente peores para los pacientes del grupo AdvP: la tasa de supervivencia global a 5 años fue del 32,3 % y la de supervivencia libre de leucemia del 24,3 % (ambas $p < 0,001$ frente al resto de subgrupos), además de una incidencia acumulada de recaída a 5 años del 64,3% ($p < 0,001$). Los pacientes del grupo Adv* tuvieron resultados similares a los del grupo intermedio (OS a 5 años: 70,2 % frente a 66,7 %, $p = 0,69$; LFS a 5 años: 63,8 % frente a 55,9 %, $p = 0,33$). El análisis multivariante confirmó el mal pronóstico de los pacientes AdvP, con una razón de riesgos para la OS de 3,05 y para la LFS de 2,66 (ambas $p < 0,001$).

Conclusiones:

La clasificación de riesgo *Allo-HCT Refined ELN 2022* es un indicador robusto de resultados en el contexto de trasplante. Identificar el subgrupo AdvP ayuda a detectar pacientes de muy mal pronóstico que podrían beneficiarse de estrategias terapéuticas más intensivas o novedosas dada la mala supervivencia actualmente tras AloTPH. Además, pacientes con riesgo adverso que no pertenecen a esta categoría presentan supervivencia similar a los pacientes del riesgo intermedio, con medianas de SG no alcanzadas en esta población.

ARTICLE OPEN

Check for updates

Allo-HCT refined ELN 2022 risk classification: validation of the Adverse-Plus risk group in AML patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation within the Spanish Group for Hematopoietic Cell Transplantation (GETH-TC)

Carlos Jiménez-Vicente[1], Jordi Esteve[1], Mónica Baile-González[2], Estefanía Pérez-López[2], Carmen Martin Calvo[3], Clara Aparicio[3], Itziar Oiartzabal Ormategi[4], Albert Esquirol[5], Felipe Peña-Muñoz[6], Sara Fernández-Luis[7], Inmaculada Heras Fernando[8], Ana Pilar González-Rodríguez[9], Alberto López-García[10], Jose Luis López-Lorenzo[10], Tamara Torrado[11], Adolfo Jesús Sáez Marín[12], Cynthia Acosta Fleytas[13], Lucía García[14], Sara Villar[15], Silvia Filaferro[16], Pascual Balsalobre[16], María Jesús Pascual Cascón[16,17] and María Queralt Salas[1]✉

© The Author(s) 2025

This multicenter retrospective study by GETH-TC validates the prognostic value of the Allo-HCT Refined ELN 2022 risk classification in allografted AML patients. The new classification refines the ELN 2022 risk classification, dividing adverse-risk patients into two subgroups: Adv-Plus (AdvP), including those with complex karyotype, *MECOM (EVI1)* rearrangement, or *TP53* mutations/del(17p), and an additional adverse group (Adv*). The study included 651 AML patients treated with at least one line of anthracycline-based induction therapy and in complete remission. According to the Allo-HCT Refined ELN 2022 risk classification, 19.4% ($n = 126$) patients were classified into the Favorable (Fav) risk, 38.1% ($n = 248$) into the Intermediate (Int) risk, 27.2% ($n = 177$) in the Adv* and 15.4% ($n = 100$) in the AdvP. Outcomes were significantly poorer for patients allocated in the AdvP risk group (5-year OS rate: 32.3%, 5-year LFS rate: 24.3%, both $p < 0.001$ with the rest of subgroups) and a higher CIR (5-year CIR: 64.3%, $p < 0.001$). Patients in the Adv* risk group had similar outcomes than patients in the Int risk group (5-year OS rate: 70.2% vs. 66.7%, $p = 0.69$, 5-year LFS rate: 63.8% vs. 55.9%, $p = 0.33$). Multivariate analysis confirmed the dismal outcomes for AdvP patients for OS: Hazard Ratio (HR) = 3.05, and LFS: HR = 2.66, both $p < 0.001$. Our findings validate the Allo-HCT Refined ELN 2022 classification as a robust prognostic tool, particularly highlighting the poor outcomes for the AdvP subgroup.

Blood Cancer Journal (2025)15:42 ; https://doi.org/10.1038/s41408-025-01223-x

INTRODUCTION

Acute myeloid leukemia (AML) is the most common indication for allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT), which offers a potentially curative must be considered before the procedure [1–3]. These risks include mortality, both short and long-term morbidity, and a significant impact on the subsequent quality of life directly linked allo-HCT adverse events [4–7]. Therefore, clinicians must balance the potential toxicities of allo-HCT and the relapse risk to determine allo-HCT eligibility.

According to the latest European LeukemiaNet AML risk classification guidelines (ELN 2022) [8], updated in 2022, allo-HCT should be considered when the relapse risk without transplantation exceeds 35–40%. This applies to a large group of patients with intermediate or adverse-risk AML in first complete response (CR1) after induction therapy and all patients who achieve a second or subsequent complete response. Additionally, treatment response and measurable residual disease (MRD) status serve as dynamic disease modifiers during follow-up, meaning that patients across all genetic risk groups may benefit from allo-HCT if the depth of response is insufficient.

Given the widespread use of the ELN 2022 guidelines in clinical practice, several studies have demonstrated the accuracy of these guidelines in predicting outcomes for patients with AML [9, 10] and more specifically in those undergoing allo-HCT consolidation [11, 12]. In this context, a recent single-center study validated the predictive ability of the ELN 2022 risk classification in patients

[1]Hospital Clínic de Barcelona, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain. [2]Complejo Asistencial Universitario de Salamanca/IBSAL, Salamanca, Spain. [3]Hospital Reina Sofía, Córdoba, Spain. [4]Hospital Universitario Donostia, Donostia, Spain. [5]Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain. [6]Institut Català d'Oncologia—Hospital Duran i Reynals, Barcelona, Spain. [7]Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (IDIVAL), Santander, Spain. [8]Hospital General Universitario Morales Meseguer, Murcia, Spain. [9]Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Spain. [10]Hospital Universitario Fundación Jiménez Diaz, Madrid, Spain. [11]Hospital Universitario de A Coruña, A Coruña, Spain. [12]Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain. [13]Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Gran Canaria, Spain. [14]Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca, Spain. [15]Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, Spain. [16]Grupo Español de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos y Terapia Celular, Barcelona, Spain. [17]Hospital Regional Universitario de Málaga, Málaga, Spain. ✉email: mqsalas@clinic.cat

Received: 5 November 2024 Revised: 14 January 2025 Accepted: 31 January 2025
Published online: 21 March 2025

diagnosed with AML in CR, and proposed a new AlloHCT-Refined ELN 2022 classification, introducing an additional subgroup within the adverse-risk category, termed Adverse-plus (AdvP). This subgroup included patients with complex karyotype (CK), *MECOM(EVI1)* rearrangements, and *TP53* mutations or del (17p) (AdvP subgroup), that have a notably worse prognosis.

Considering the broad implementation of the the ELN 2022 guidelines in clinical practice, and the findings from the application of the Allo-HCT Refined ELN 2022 classification in a single institution, the *Grupo Español de Transplante Hematopoyético y Terapia Celular (GETH-TC)* initiated this multicenter, retrospective study to further investigate the prognostic value of the Allo-HCT Refined ELN 2022 classification in a large cohort of AML patients undergoing allo-HCT in CR.

PATIENTS AND METHODS

Patient selection

This retrospective, multicenter, registry-based analysis was conducted under the auspices of the Myeloid Malignancies Working Committee of the GETH-TC. GETH-TC is a non-profit, scientific society representing all HCT and cell therapy units in Spain and Portugal. All affiliates of the GETH-TC were invited to participate in the study, and sixteen institutions contributed to the project.

Inclusion criteria were as follows: adults aged 18 or older with AML treated with at least one line of anthracycline-based induction therapy who underwent their first allo-HCT in complete remission (CR1/CR2 or beyond) between January 2015 and June 2023. Only patients with information at diagnosis that permitted the retrospective risk classification into the ELN 2022 risk categories were included.

All patients signed informed consent for retrospective data collection. The study received ethical approval from the Ethics Committee of the Hospital Clínic de Barcelona and the GETH-TC, and was conducted following the standards set forth by the Declaration of Helsinki.

AML diagnosis, biological risk assessment (Allo-HCT refined ELN 2022 risk classification), and treatment

AML risk was defined after data collection according to the updated 2022 AML classifications [13, 14]. All patients included were retrospectively classified into favorable (Fav), Intermediate (Int), and adverse (Adv) risk groups according to the ELN 2022 risk classification [13, 14] and based on cytogenetic and mutational information documented at diagnosis. Subsequently, patients classified into the Adv risk group, were redistributed in the AdvP risk or the Adv* risk categories, according to the Allo-HCT Refined ELN 2022 classification proposed by Jimenez-Vicente et al. [12]. Specifically, patients with a complex karyotype, inv(3)/t(3;3)/*MECOM (EVI1)* rearrangement, or *TP53* mutations and/or loss of the 17p region at diagnosis were included in the newly defined AdvP, while the rest of the adverse-risk genetic subgroups were reclassified in the Adv* group.

Biological abnormalities at diagnosis were defined through cytogenetic analyses (G-Banding Karyotype) and mutational analysis based on standard polymerase chain reaction (PCR)-based analysis (*NPM1, FLT3-ITD,…*) and targeted next-generation sequencing (NGS). MRD analysis was assessed before allo-HCT by every individual center according to the ELN-DAVID MRD 2021 updated recommendations [15].

All patients were treated with at least one line of anthracycline-based induction therapy, undergoing their first allo-HCT in a morphological CR (CR1/CR2 or beyond). Response criteria were defined according to the ELN 2022 Guidelines and assessed by the participant institutions.

Allo-HCT information and main definitions

Eligibility criteria for allo-HCT, donor selection and conditioning regimen adhered to standard practices and internal protocols from the participant institutions. Conditioning regimen intensity was defined using classical criteria and was tailored to chronological age and comorbidities. Most patients older than 55 years and those with clinically relevant comorbidities received reduced-intensity conditioning (RIC) regimens. Peripheral blood stem cell sources were infused into all patients. Grading of acute and chronic GVHD (aGVHD and cGVHD) followed established criteria [16–19]. Main definitions are detailed in the Supplementary Methods.

Endpoint and statistical analysis

The primary endpoint was the validation of the prognostic value of the Allo-HCT Refined ELN 2022 classification for overall survival (OS) prediction. Secondary outcome variables included leukemia-free survival (LFS) and cumulative incidence of relapse (CIR).

Categorical variables were presented as counts and percentages and continuous variables as medians with interquartile range (IQR). $\chi 2$, Fisher's exact and analysis of variance tests were used to compare categorical and continuous variables.

OS and LFS were estimated using the Kaplan-Meier method. LFS was calculated until the date of first relapse, death from any cause, or the last follow-up for patients in morphological CR. CIR and non-relapse mortality were estimated using cumulative incidence and competing risk analyses. Death was used as a competing risk for CIR and relapse was used for NRM. Long-rank test was used for univariate analysis of LFS and OS and OS and Gray's test for cumulative incidence. The impact of the main variable of interest (Allo-HCT Refined ELN 2022 risk groups) on transplant outcomes was explored using univariate (UVA) and multivariate (MVA) Cox regression analyses. The baseline risk factors included in each of the multivariable models were selected based on clinical judgment prior to the analysis and variables with a p value lower than 0.1 in the UVA. All p values were two-sided with statistical significance evaluated at the 0.05 alpha level. All statistical analyses were performed with R statistics version 4.3.2 (R core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

RESULTS

AML and allo-HCT baseline information

All baseline characteristics are displayed in Table 1. Overall, 651 patients were included in the study, with a median age of 55 years (interquartile rank (IQR): 44–62). Males comprised 52.7% ($n = 343$) of the patients, and 15.4% ($n = 100$) had an HCT-CI > 3. Most patients were diagnosed with de novo AML (86.6%, 564), and 13.4% ($n = 100$) with secondary or therapy-related AML. All patients were treated with at least one line of anthracyclines-induction therapies, and 84.9% ($n = 553$) of them, underwent their allo-HCT in CR1

Related to the allo-HCT characteristics, 61.3% ($n = 399$) of the patients received myeloablative conditioning regimens (MAC), while 38.7% ($n = 252$) underwent allo-HCT using RIC protocols. Allo-HCT was performed from matched sibling donors (MSD) in 32.7% ($n = 213$) of the patients, from 10/10 HLA-matched unrelated donors (MUD) in 31.2% ($n = 203$), from 9/10 mismatched unrelated donors (MMUD) in 7.5% ($n = 48$), and from haploidentical donors in 27.1% ($n = 187$). GVHD prophylaxis with PTCY platforms were administered to 51.9% ($n = 334$) of the patients.

Allo-HCT refined ELN 2022 risk classification

According to the Allo-HCT Refined ELN 2022 risk classification, 19.4% ($n = 126$) were categorized as Fav, 38.1% ($n = 248$) as Int, 27.2% ($n = 177$) in the Adv* and 15.4% ($n = 100$) in the AdvP. As reported in Table 1, median age (58 and 57 vs. 53 and 48 years, $p < 0.001$), and the proportion of patients with secondary or therapy-related AML (15% and 21.7% vs. 9.3% and 4.2%, $p < 0.001$) were higher in patients grouped in the AdvP and Adv* groups than in those classified into the Fav and Int groups. In contrast, the proportion of patients undergoing allo-HCT in CR2 or beyond (41.3% vs. 10.9%, 6.2% and 8%, $p < 0.001$) and with positive MRD status (52.3% vs. 31.9%, 33.9% and 26%, $p < 0.001$) were superior in the Fav group than in the Int, Adv* and AdvP groups.

Key allo-HCT features, including conditioning intensity, donor type, and GVHD prophylaxis were balanced among the different groups, with no significant differences observed

Allo-HCT refined ELN 2022 and ELN 2022 risk classification outcomes

The median follow-up for LFS of the study cohort was 44.2 months (95% CI: 37–49). During follow-up, 28.4% ($n = 185$) of the patients relapsed and 34.5% ($n = 225$) died, being relapse the most

Table 1. Baseline characteristics.

Baseline characteristics	All Patients ($n = 651$)	Favorable ($n = 126$)	Intermediate ($n = 248$)	Adverse ($n = 177$)	Adverse-Plus ($n = 100$)	*P*-value
AML information						
Age						
Median (IQR)	55 (44–62)	48 (39–59)	53 (44–61)	57 (46–64)	58 (46–73)	<0.001
Older than 60 years	325 (49.9)	29 (21.0)	75 (27.7)	126 (41.6)	59 (59)	<0.001
Sex						
Male	343 (52.7)	70 (55.6)	111 (44.8)	100 (56.5)	59 (59)	0.056
Female	308 (47.3)	56 (44.4)	134 (54)	77 (43.5)	41 (41)	
HCT-CI						
>3	100 (15.4)	16 (12.7)	39 (15.7)	27 (15.3)	18 (18)	0.778
Missing data	16 (2.5)	4 (0.6)	4 (0.6)	6 (3.4)	2 (2)	
Type of AML						
De novo	564 (86.6)	115 (92.8)	225 (90.7)	139 (78.5)	85 (85)	0.001
Secondary/therapy related	87 (13.4)	11 (4.3)	23 (9.2)	38 (21.5)	15 (15)	
Disease Response						
CR1	553 (84.9)	74 (58.7)	221 (89.3)	166 (93.8)	92 (92)	<0.001
CR2 or more	98 (15.1)	52 (41.3)	27 (10.9)	11 (6.2)	8 (8)	
MRD status pre-alloHCT						
Positive	231 (35.5)	66 (52.3)	79 (31.9)	60 (33.9)	26 (26)	<0.001
Missing	54 (8.3)	5 (4)	18 (7.2)	18 (10.2)	13 (13)	
Allo-HCT Information						
Conditioning Intensity						
MAC	399 (61.3)	84 (66.6)	171 (69)	102 (57.6)	42 (42)	0.369
RIC	252 (38.7)	42 (33.3)	77 (31)	75 (43.4)	58 (58)	
Conditioning Regimen						
Flu/Bu	378 (58.1)	74 (58.7)	138 (55.6)	110 (62.1)	56 (56)	0.807
TBF	102 (15.7)	17 (13.5)	46 (18.5)	27 (15.2)	12 (12)	
Sequential-based	17 (2.6)	0 (0)	8 (3.2)	5 (2.8)	4 (4)	
Others	154 (23.7)	35 (27.8)	56 (22.6)	35 (19.8)	28 (28)	
GVHD Prophylaxis						
PTCY-based	338 (51.9)	62 (49.2)	117 (44.6)	105 (53.5)	54 (54)	0.083
Others	313 (51.8)	64 (50.8)	131 (55.4)	72 (46.5)	46 (46)	
Donor Type						
MSD	213 (32.7)	45 (35.7)	83 (33.4)	53 (29.9)	32 (32)	0.868
10/10 HLA MUD	203 (31.2)	33 (26.2)	80 (32.3)	62 (35)	28 (28)	
9/10 HLA MMUD	48 (7.5)	9 (7.1)	19 (7.6)	11 (6.2)	9 (9)	
Haploidentical	187 (27.1)	39 (27.5)	66 (26.1)	51 (28.1)	31 (31)	
Median Follow-Up, months (IQR)	28.1 (10.7-53.7)	37.5 (17.6-63.7)	30.2 (12.3-57.8)	26.6 (13.4-47.7)	10.6 (6.4-35.5)	<0.001

AML acute myeloid leukemia, *IQR* interquartile rank, *HCT-CI* hematopoietic cell transplantation-comorbidity index, *MRD* measurable residual disease, *Allo-HCT* allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, *MAC* myeloablative, *RIC* reduced Intensity, *Flu/Bu* fludarabine-busulfan, *TBF* thiotepa-busulfan-fludarabine, *PTCY* post-transplant cyclophosphamide, *MSD* matched sibling donor, *MUD* matched unrelated donor, *MMUD* mismatched unrelated donor.

frequent cause of death (50.7%, $n = 109$). At 5 years, OS and LFS rates were 63.4% (95%CI: 59.5–67.5) and 55.8% (95%CI: 51.9–60.1) (Fig. 1a). The 5-year CIR of the entire cohort was 30.2% (95%CI: 26.8–33.4), with a 5-year NRM rate of 13.9% (95%CI: 11.9–15.9) (Table 2).

Post-transplant outcomes of patients were analyzed by the ELN 2022 risk classification and Allo-HCT Refined ELN 2022 risk classification. The ELN 2022 risk classification stratified survival accurately among the patients included in the Int and Adv risk ($p < 0.001$), with 5-year OS rates of 70% (95%CI: 64–76) and 52% (95%CI: 46–59) respectively, while there were no differences between Int and Fav risk groups (74% vs. 70%, $p = 0.32$). LFS showed the same pattern, discriminating properly between Int and Adv risk ($p < 0.001$), without significant differences comparing Fav and Int risk groups ($p = 0.41$) (Supplementary Data, Fig. 1).

According to the Allo-HCT Refined ELN 2022 risk classification, different outcomes were observed in patients classified into the AdvP compared to the other groups. Patients categorized into the AdvP risk group category had lower OS and LFS (5-y OS: 28.4% (95%CI: 20.2–39.9), 5-y LFS: 24.3% (95%CI: 16.8–35.2), both $p < 0.001$) (Fig. 1b, c) and higher CIR (5-y CIR: 64.3% (95%CI: 54.5–74.1), $p < 0.001$) (Fig. 2). Patients allocated in the Adv* group

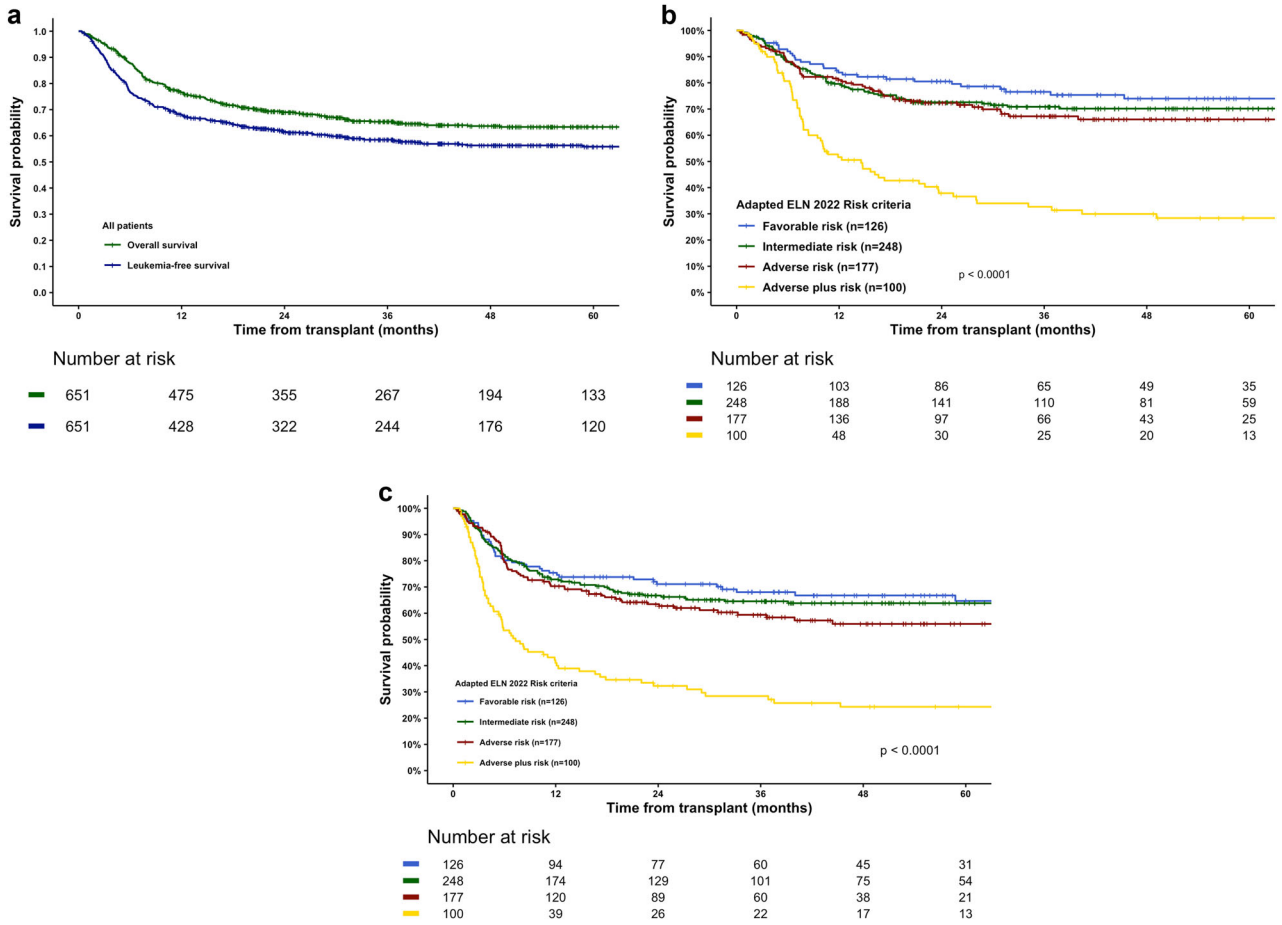


Fig. 1 Survival outcomes. Overall survival and leukemia-free survival of all patients included in the study (**a**). Overall survival (**b**) and leukemia-free survival (**c**) of patients according to Allo-HCT Refined ELN2022 risk classification.

had similar OS (5-y OS: 66.7% (95%CI: 59.5–74.7) vs. 70.2% (95%CI: 64.5–76.4), $p = 0.69$) and LFS (5-y LFS: 55.9% (95%CI: 48.4–64.7) vs. 63.8% (95%CI: 57.9–70.4), $p = 0.33$) to those classified into the Int risk group. NRM rates were showed no differences among the different risk groups (AdvP 5y-NRM: 11.6% (95%CI: 5.1–18.1), $p = 0.523$).

The restricted analysis for patients allografted in CR1 confirmed these poor outcomes for the AdvP risk group (5-y OS: 29.5% (95% CI: 21–41.5), 5-y LFS: 25.1% (95%CI: 17.3–36.3), both $p < 0.001$) (Supplementary Data, Fig. 2).

The predictive power of the Allo-HCT Refined ELN 2022 risk classification for OS and LFS was further investigated using MVA (Fig. 3). It confirmed the lower OS (HR: 3.05, $p < 0.001$) and LFS (HR: 2.66, $p < 0.001$) than the rest of the subgroups. and that patients classified into the Adv* risk group had similar outcomes to those included in the Int risk group (OS (HR: 1.02, $p = 0.90$), LFS (HR: 1.17, $p = 0.37$).

In addition, the MVA revealed another two significant values for OS and LFS: adults older than 55 years (OS (HR: 1.72, $p = 0.002$), LFS (HR: 1.41, $p = 0.011$)), and those undergoing allo-HCT with positive MRD status (OS (HR: 1.49, $p = 0.007$), LFS (HR: 1.51, $p = 0.002$)). Lastly, the use of PTCY-based prophylaxis was associated with an improved LFS (HR: 0.67 (95%CI: 0.5–0.91), $p = 0.01$). (Supplementary Data, Figs. 3 and 4)

Subanalysis of the Adverse-Plus risk group

Further investigations were conducted in the 100 patients included in the AdvP group based to the genetic abnormalities identified at diagnosis. Among these patients, 22% ($n = 22$) had *MECOM(EVI1)* rearrangements, and 78% ($n = 78$) had a CK and/or mutated *TP53*/del(17p).

During follow-up, 62% ($n = 62$) of the patients relapsed and 67% ($n = 67$) died. Two-year OS showed that patients with *MECOM(EVI1)* rearrangements had better survival compared to those with CK and/or *TP53* mutated/del(17p) (2-y OS rate: 51% vs. 34% ($p = 0.044$), while there was also a trend for longer LFS (2-y LFS: 40% vs. 30% ($p = 0.07$) (Supplementary Data, Fig. 5). MVA confirmed the UVA results for OS, with patients having CK, *TP53* mutations or del(17p) having a higher risk of death compared to those with *MECOM(EVI1)* rearrangements (HR: 2.39 (95%CI: 1.1–5.2, $p = 0.027$). There was also a trend towards shorter LFS (HR: 1.91 (95%CI: 0.63–3.9), $p = 0.067$).

MVA showed worse outcomes in patients older than 55 years (OS (HR: 2.16 (95%CI: 1.15–4.1), $p = 0.017$), LFS (HR: 1.91 (95%CI: 1.05–3.5), $p = 0.033$)). Interestingly, a negative pre-transplant MRD status did not show a significant survival benefit in this subgroup, neither for OS (HR: 1.31 (95%CI: 0.95–2.7), $p = 0.349$) nor for LFS (HR: 1.56, $p = 0.11$) (Fig. 4).

DISCUSSION

This multicenter retrospective study validates the prognostic value of the Allo-HCT Refined ELN 2022 risk classification for AML patients treated with anthracycline-based induction therapies and undergoing allo-HCT. These findings highlight the enhanced value of this refined classification, particularly in distinguishing outcomes within the broad adverse risk group of the ELN 2022 guidelines.

Table 2. Main outcome and relevant morbidity estimators.

	All Patients (*n* = 651)	Favorable (*n* = 126)	Intermediate (*n* = 248)	Adverse (*n* = 177)	Adverse-Plus (*n* = 100)	*P*-value
Overall Survival						
2-year rate (95%CI)	69.0 (65.4–72.7)	80.5 (73.8–87.9)	72.6 (67.1–78.5)	73.0 (66.6–80.0)	38.7 (29.2–49.2)	<0.001
5-year rate (95%CI)	63.4 (59.5–67.5)	73.9 (66.2–82.6)	70.2 (64.5–76.4)	66.7 (59.5–74.7)	28.4 (20.2–39.9)	
Leukemia-Free Survival						
2-year rate (95%CI)	61.6 (57.9–65.5)	71.1 (63.5–79.5)	66.7 (61.0–73.0)	63.5 (56.6–71.1)	32.3 (24.1–43.1)	<0.001
5-year rate (95%CI)	55.8 (51.9–60.1)	64.7 (56.1–74.6)	63.8 (57.9–70.4)	55.9 (48.4–64.7)	24.3 (16.8–35.2)	
Cumulative Incidence of Relapse						
2-year rate (95%CI)	27.2 (23.8–30.6)	19.3 (12.5–26.1)	19.6 (15.2–23.4)	24.3 (17.8–30.8)	61.4 (51.6–71.2)	<0.001
5-year rate (95%CI)	30.2 (26.8–33.4)	23.8 (32.5–15.5)	21.4 (26.6–16.1)	27.6 (34.7–20.5)	64.3 (54.5–74.1)	<0.001
Non-Relapse Mortality						
2-year rate (95%CI)	13.2 (10.5–15.9)	9.5 (4.6–14.4)	14.7 (10.3–19.1)	15.2 (10.0–20.4)	10.3 (4.5–16.1)	0.354
5-year rate (95%CI)	13.9 (11.9–15.9)	11.5 (6.0–16.0)	14.7 (10.3–19.1)	15.7 (10.2–21.2)	11.6 (5.1–18.1)	0.523
Engraftment Failure, *n* (%)						
Primary	27 (4.1)	5 (3.9)	11 (4.4)	4 (2.3)	7 (7)	<0.001
Missing	11 (1.7)	1 (0.1)	4 (1.6)	4 (2.3)	2 (2)	
GVHD Cumulative Incidence						
aGVHD II–IV Day 100 rate (95%CI)	14.8 (12–17.6)	8.7 (3.5–13.9)	8.1 (4.7–11.5)	5.6 (2.2–9.0)	17.1 (9.8–24.4)	<0.001
aGVHD III–IV Day 100 rate (95%CI)	8.0 (6.1–10.1)	11.1 (5.2–8.9)	11.1 (7.2–15.0)	7.9 (4.0–11.8)	25.2 (16.7–33.7)	<0.001
cGVHD 2-year rate (95%CI)	14.7 (9.9–17.5)	17 (11.8–23.2)	14.9 (10.5–19.3)	14.8 (9.6–20)	11.2 (5–17.4)	<0.001
Death cause, *n* (%)						
Relapse	109 (50.7)	12 (9.5)	29 (11.7)	23 (12.4)	45 (45)	<0.001
Infection	52 (24.2)	9 (7.1)	15 (6)	15 (8.5)	13 (13)	
GVHD	25 (11.6)	6 (4.7)	10 (4)	8 (4.5)	2 (2)	
Graft Failure	3 (1.4)	0 (0)	1 (0.004)	1 (0.005)	1 (1)	
Other	24 (11.2)	2 (0.02)	10 (0.04)	7 (3.9)	5 (5)	
Unknown	2 (0.9)	0 (0)	0 (0)	1 (0.005)	2 (1)	

IQR interquartile rank, *95%CI* 95% confidence Interval, *GVHD* graft-versus-host disease, *aGVHD* acute graft-versus-host disease, *cGVHD* chronic graft-versus-host disease, *Mod/Sev* moderate and severe.

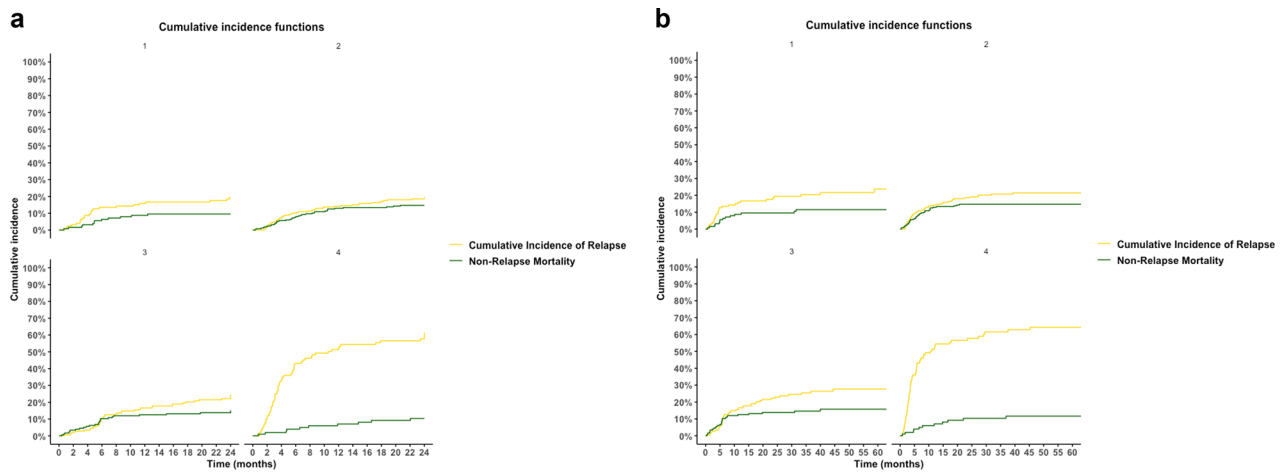
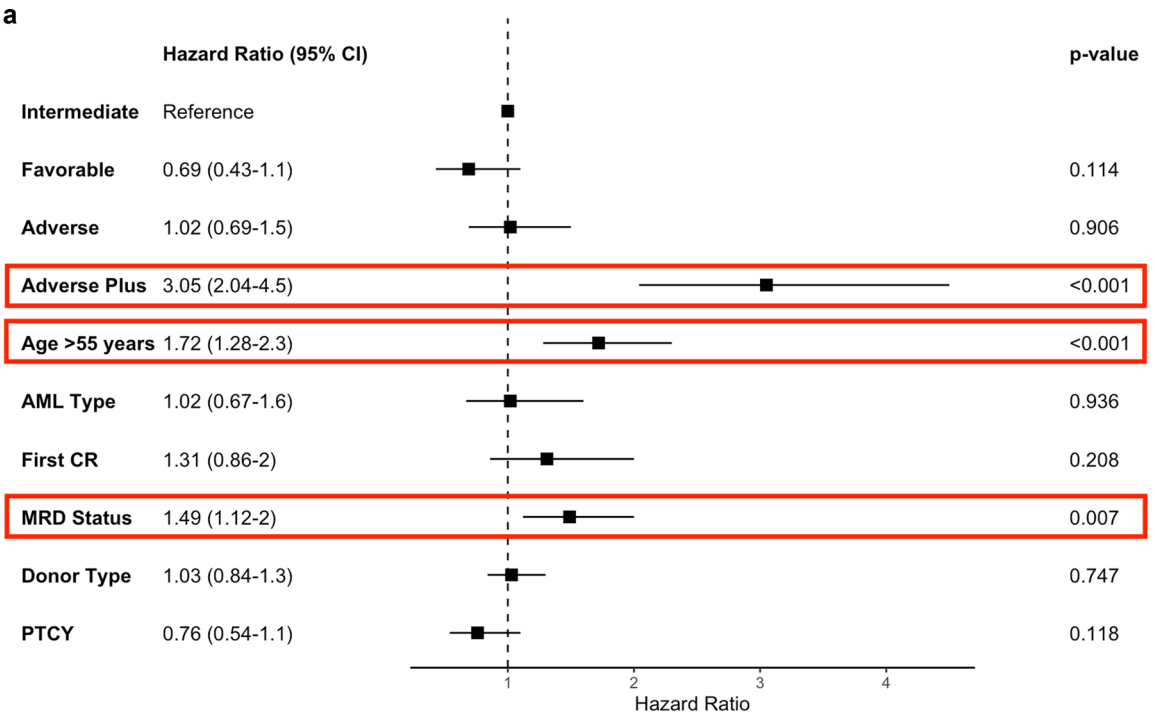


Fig. 2 Cumulative incidence of non-relapse mortality and relapse in the patients of this study according to the Allo-HCT Refined ELN 2022 risk classification. Cumulative incidence of non-relapse mortality and relapse at 2 years (**a**) and at 5 years (**b**). 1: Favorable risk, 2: Intermediate Risk, 3: Adverse Risk, 4: Adverse Plus Risk.

One of the most important contributions of this study is the reclassification of patients from the ELN 2022 Adv category into two distinct risk groups: Adverse* (Adv*) and Adverse-Plus (AdvP). This refinement is critical, as it highlights the poor prognosis of patients in the AdvP group—those with complex karyotype [20], MECOM(*EVI1*) rearrangement [21], and/or *TP53* mutation/del(17p) [22–25]. Patients in the AdvP subgroup showed significantly worse outcomes compared to the Adv* group, with a median OS of only 12 months post-transplant and 5-year OS and LFS rates of 32.3% and 24.3%, respectively. These results align with existing literature,



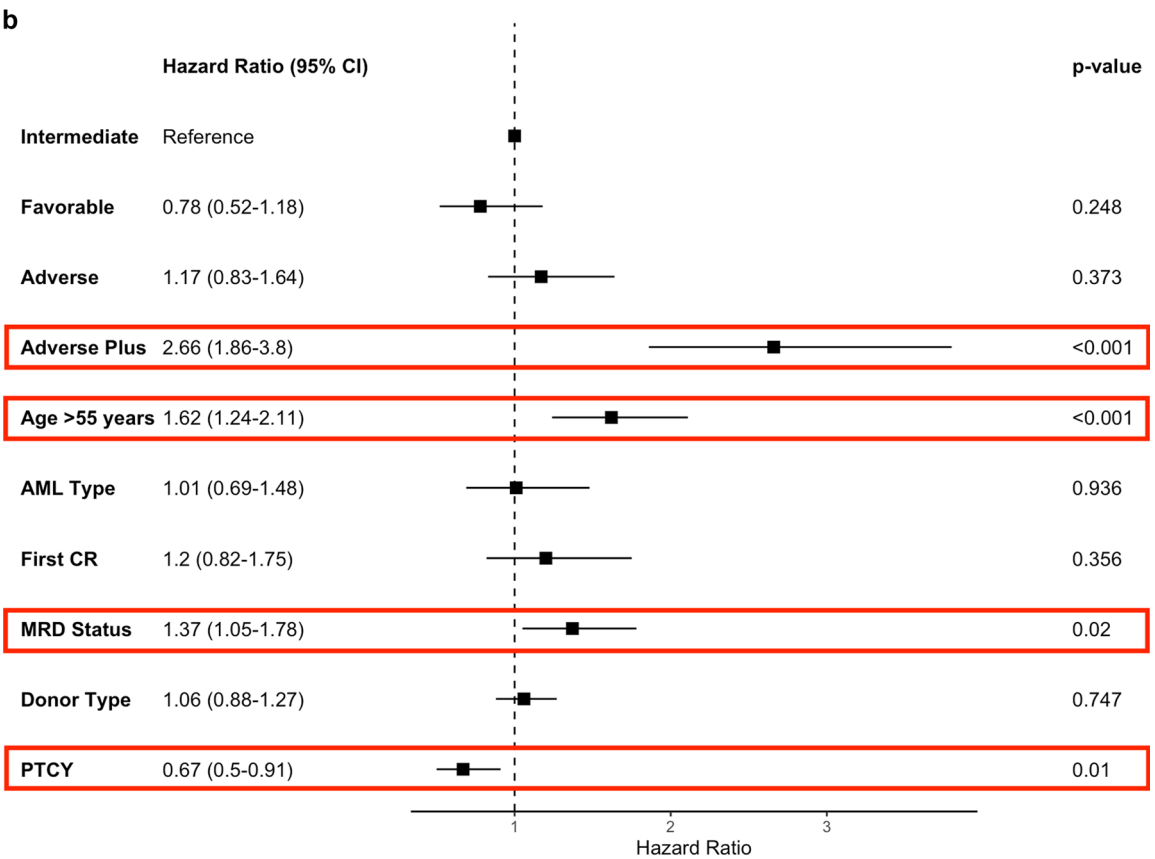


Fig. 3 Multivariate analysis of survival outcomes according to the Allo-HCT Refined ELN 2022 risk classification. Overall survival (**a**) and leukemia-free survival (**b**). PTCY post-transplant cyclophosphamide, AML acute myeloid leukemia, MRD measurable residual disease, CR complete response.

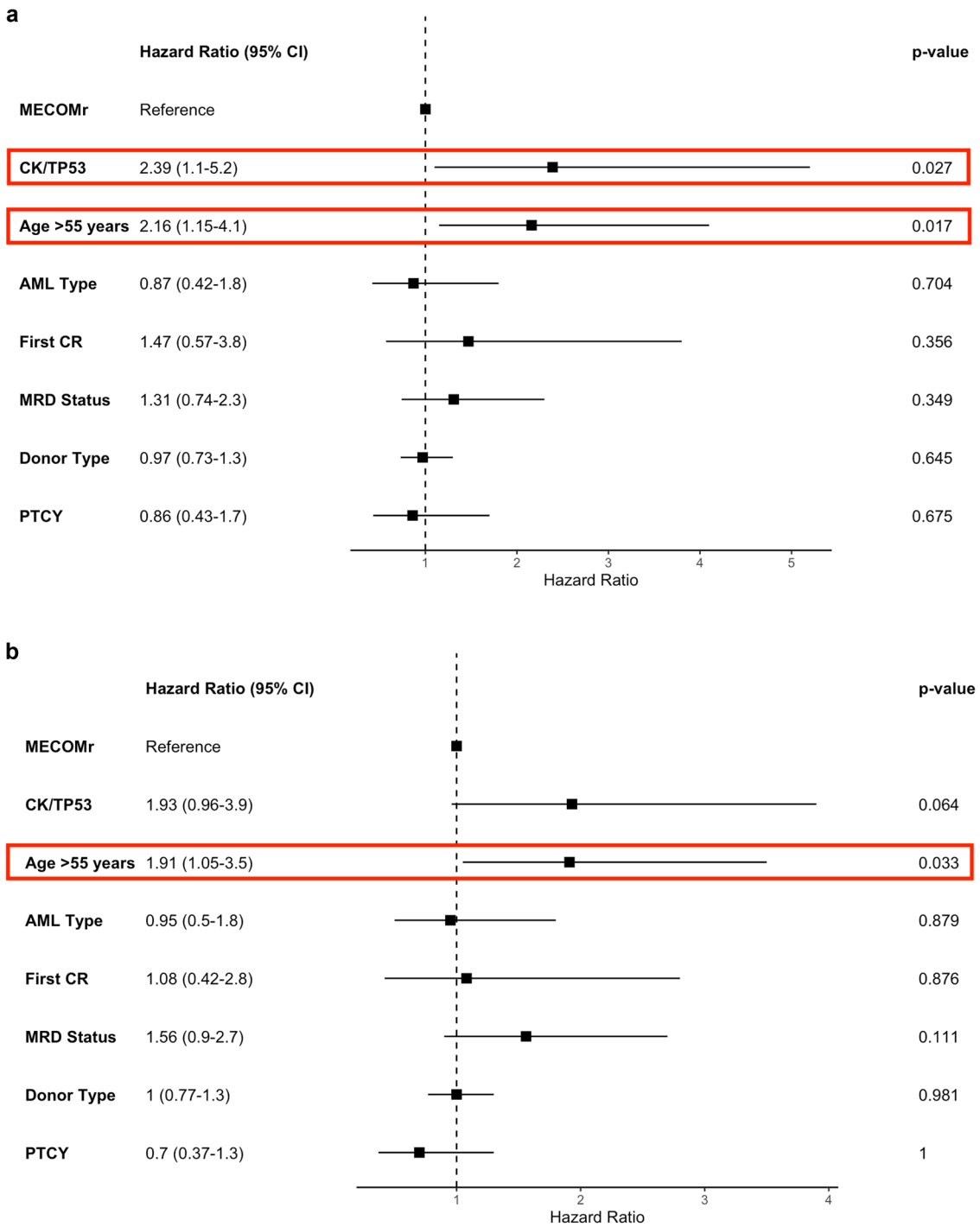


Fig. 4 Multivariate analysis of survival outcomes in patients included in the Adverse-Plus risk group. Overall survival (**a**) and leukemia-free survival (**b**). PTCY post-transplantcy clophosphamide, AML acute myeloid leukemia, MRD measurable residual disease, CR complete response.

which has consistently demonstrated the aggressive nature of these genetic abnormalities and their association with a higher risk of relapse after the procedure [11, 12].

Within the AdvP risk group, patients with *MECOM(EVI1)* rearrangements had relatively better outcomes compared to those with CK and/or *TP53* mutations or del(17p). The 2-year OS rate for MECOM(EVI1) rearranged patients was 51% versus 34% for CK/*TP53*m patients ($p = 0.044$). However, despite this apparent difference, the overall prognosis of all patients in the AdvP group remains poor, and there is an urgent need for more personalized and intensive therapeutic strategies in these patients.

Interestingly, patients classified into the Adv* subgroup had similar outcomes to those in the Int group. This suggests that the Allo-HCT Refined ELN 2022 classification more accurately refines risk stratification, revealing that some patients previously classified as high-risk may actually have more favorable outcomes after allo-HCT. These findings align with recent evidence showing that patients with the most common abnormalities within the Adv* group, such as myelodysplasia-related abnormalities [26] and *KMT2A* rearrangements [27] have better outcomes when transplanted in first complete remission.

Furthermore, the refined Allo-HCT Refined ELN 2022 classification identifies a subgroup of patients (AdvP) with particularly dismal outcomes after allo-HCT. These findings indicate a potential but uncertain advantage of the role of allo-HCT consolidation in AdvP patients and highlight the urgent need for more effective strategies both before and after transplantation. Despite the poor outcomes for AdvP patients, the allo-HCT remains the only potentially curative option, particularly for younger individuals. Improving the response prior to allo-HCT with new frontline treatments, promoting a stronger graft-versus-leukemia effect through maintenance therapies or implementing preemptive treatment after molecular relapse could contribute to increase survival rates in this challenging subgroup.

Patients over 55 years and those with positive MRD status prior to allo-HCT had lower OS and LFS. The higher proportion of older patients in the Adv and Int groups may partially explain their worse prognosis, as well as the fact that older adults are often treated with RIC regimens, which, while improving safety, may be associated with higher relapse rates.

MRD positive status, measured according to the ELN-DAVID MRD 2021 recommendations, was found to be a predictor for disease relapse in the global MVA [28, 29]. However, MRD-positive status prior to allo-HCT was not associated with worse outcomes in the subgroup of patients classified into AdvP subgroup. This result may suggest that the genetic features of the AdvP subgroup confer such a poor prognosis that MRD status becomes less relevant. However, no molecular markers were used (e.g., *NPM1* [30] and *CBF* mutation) to assess MRD, limiting the whole analysis to MFC. Recent evidence highlights that using more sensible MRD techniques in this context, such as NGS-MRD [31, 32], DNA sequencing [33–35] or ddPCR analysis of clonal hematopoiesis linked mutations [36] may be more sensitive for defining the AML response after treatments, guide therapeutic options, and help on decision making.

Finally, using PTCY-based prophylaxis was associated with improved LFS, supporting its ongoing use in clinical practice. The potential benefit of PTCY may stem from an inferior risk of severe chronic GVHD or shorter immunosuppressive therapy and potentially reducing relapse risk. This observation suggests that PTCY may be particularly advantageous for high-risk patients, as it could enable quicker immune reconstitution and a stronger graft-versus-leukemia effect, thereby improving outcomes [37].

There are limitations in the study that should be mentioned. First, the retrospective nature of the study and the limited number of patients in some subgroups may have impacted the robustness of the findings. Second, the MRD measurement heterogeneity across institutions limited the ability to thoroughly assess its impact on outcomes in the AdvP group. Lastly, there is a lack of information regarding the impact of new findings on disease biology, such as DDX41 mutations [38–40], or the effects of lower-intensity induction treatments such as venetoclax and azacitidine [41], which have been increasingly used in clinical practice and may affect outcomes in the future.

To conclude, this study validates the Allo-HCT Refined ELN 2022 classification for prognostic stratification of AML patients undergoing allo-HCT, particularly by identifying the AdvP subgroup, which requires special attention due to its significantly poorer outcomes [12]. This refined classification provides clinicians with a more precise tool for acknowledging allo-HCT outcomes and may help physicians to improve personalized treatment strategies for patients allocated in the AdvP risk group in order to prevent post-transplant relapse and improve survival.

DATA AVAILABILITY

Due to privacy and ethical concerns, the data that support the findings of this study are available upon request from the corresponding author.

REFERENCES

1. Sorror ML, Maris MB, Storb R, Baron F, Sandmaier BM, Maloney DG, et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. Blood. 2005;106:2912–9.
2. Salas MQ, Atenafu EG, Pasic I, Al-Shaibani E, Bascom O, Wilson L, et al. Impact of hematopoietic cell transplant frailty scale on transplant outcome in adults. Bone Marrow Transpl. 2023;58:317–24.
3. Salas MQ, Atenafu EG, Pasic I, Bascom O, Wilson L, Lam W, et al. HCT frailty scale for younger and older adults undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. Bone Marrow Transpl. 2023;58:1237–46.
4. DeFilipp Z, Alousi AM, Pidala JA, Carpenter PA, Onstad LE, Arai S, et al. Nonrelapse mortality among patients diagnosed with chronic GVHD: an updated analysis from the Chronic GVHD Consortium. Blood Adv. 2021;5:4278–84.
5. Yanada M, Konuma T, Mizuno S, Saburi M, Shinohara A, Tanaka M, et al. Predicting non-relapse mortality following allogeneic hematopoietic cell transplantation during first remission of acute myeloid leukemia. Bone Marrow Transpl. 2021;56:387–94.
6. Braamse AMJ, Gerrits MMJG, van Meijel B, Visser O, van Oppen P, Boenink AD, et al. Predictors of health-related quality of life in patients treated with auto- and allo-SCT for hematological malignancies. Bone Marrow Transpl. 2012;47:757–69.
7. Blaise D, Devillier R, Lecoroller-Sorriano AG, Boher JM, Boyer-Chammard A, Tabrizi R, et al. Low non-relapse mortality and long-term preserved quality of life in older patients undergoing matched related donor allogeneic stem cell transplantation: a prospective multicenter phase II trial. Haematologica. 2015;100:269–74.
8. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, Craddock C, DiNardo CD, Dombret H, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. Blood. 2022;140:1345–1377.
9. Rausch C, Rothenberg-Thurley M, Dufour A, Schneider S, Gittinger H, Sauerland C, et al. Validation and refinement of the 2022 European LeukemiaNet genetic risk strati fi cation of acute myeloid leukemia. Leukemia. 2023;37:1234–44.
10. Lachowiez CA, Long N, Saultz J, Gandhi A, Newell LF, Hayes-lattin B, et al. Comparison and validation of the 2022 European LeukemiaNet guidelines in acute myeloid leukemia. Blood Adv. 2023;7:1899–909.
11. Jentzsch M, Bischof L, Ussmann J, Backhaus D, Brauer D, Metzeler KH, et al. Prognostic impact of the AML ELN2022 risk classification in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. Blood Cancer J. 2022;12:170.
12. Jiménez-Vicente C, Charry P, Castaño-Diez S, Guijarro F, López-Guerra M, Pérez-Valencia AI, et al. Evaluation of European LeukemiaNet 2022 risk classification in patients undergoing allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukaemia: identification of a very poor prognosis genetic group. Br J Haematol. 2024;205:256–67.
13. Arber D, Orazi A, Hasserijan RP, Borowitz MJ, Calvo KR, Kvasnica H-M, et al. International consensus classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: integrating morphological, clinical, and genomic data. Blood. 2022;140:1200–28.
14. Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. Leukemia. 2022;36:1703–19.
15. Heuser M, Freeman SD, Ossenkoppele GJ, Buccisano F, Hourigan CS, Ngai LL, et al. 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. Blood. 2021;138:2753–67.
16. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Al E. 1994 consensus conference on acute GVHD grading. Bone Marrow Transplant. 1995;15:825–8.
17. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from Hl-A-matched sibling donors. Transplantation. 1974;18:295–304.
18. Robert Z, BB R. Acute graft-versus-host disease—biologic process, prevention, and therapy. N Engl J Med. 2024;377:2167–79.
19. Robert Z, BB R. Pathophysiology of chronic graft-versus-host disease and therapeutic targets. N Engl J Med. 2024;377:2565–79.
20. Mrózek K, Eisfeld AK, Kohlschmidt J, Carroll AJ, Walker CJ, Nicolet D, et al. Complex karyotype in de novo acute myeloid leukemia: typical and atypical subtypes differ molecularly and clinically. Leukemia. 2019;33:1620–34.
21. Richard-Carpentier G, Rausch CR, Sasaki K, Hammond D, Morita K, Takahashi K, et al. Characteristics and clinical outcomes of patients with acute myeloid leukemia with inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2). Haematologica. 2023;108:2331–42.
22. Metzeler KH, Herold T, Rothenberg-Thurley M, Amler S, Sauerland MC, Görlich D, et al. Spectrum and prognostic relevance of driver gene mutations in acute myeloid leukemia. Blood. 2016;128:686–98.
23. Grob T, Al Hinai ASA, Sanders Mathijs A, Kavelaars FG, Rijken M, Gradowska PL, et al. Molecular characterization of mutant TP53 acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome. Blood. 2022;139:2347–54.
24. Daver NG, Maiti A, Kadia TM, Vyas P, Majeti R, Wei AH, et al. TP53-mutated myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia: biology, current therapy, and future directions. Cancer Discov. 2022;12:2516–29.

25. Pollyea DA, Pratz KW, Wei AH, Pullarkat V, Jonas BA, Recher C, et al. Outcomes in patients with poor-risk cytogenetics with or without TP53 mutations treated with venetoclax and azacitidine. Clin Cancer Res: Off J Am Assoc Cancer Res. 2022;28:5272–9.
26. Song GY, Kim T, Ahn SY, Jung SH, Kim M, Yang DH, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation can overcome the adverse prognosis indicated by secondary-type mutations in de novo acute myeloid leukemia. Bone Marrow Transplant. 2022;57:1810–9.
27. Hernández-Sánchez A, González T, Sobas M, Sträng E, Castellani G, Abáigar M, et al. Rearrangements involving 11q23.3/KMT2A in adult AML: mutational landscape and prognostic implications – a HARMONY study. Leukemia. 2024;38:1929–37.
28. Short NJ, Zhou S, Fu C, Berry DA, Walter RB, Freeman SD, et al. Association of measurable residual disease with survival outcomes in patients with acute myeloid leukemia: a systematic review and meta-analysis. JAMA Oncol. 2020;6:1890–9.
29. Paras G, Morsink LM, Othus M, Milano F, Sandmaier BM, Zarling LC, et al. Conditioning intensity and peritransplant flow cytometric MRD dynamics in adult AML. Blood. 2022;139:1694–1706.
30. Dillon R, Hills R, Freeman S, Potter N, Jovanovic J, Ivey A, et al. Molecular MRD status and outcome after transplantation in NPM1-mutated AML. Blood. 2020;135:680–8.
31. Thol F, Gabdoulline R, Liebich A, Klement P, Schiller J, Kandziora C, et al. Measurable residual disease monitoring by NGS before allogeneic hematopoietic cell transplantation in AML. Blood. 2018;132:1703–13.
32. Heuser M, Heida B, Büttner K, Wienecke CP, Teich K, Funke C, et al. Post-transplantation MRD monitoring in patients with AML by next-generation sequencing using DTA and non-DTA mutations. Blood Adv. 2021;5:2294–304.
33. Nakamura S, Yokoyama K, Shimizu E, Yusa N, Kondoh K, Ogawa M, et al. Prognostic impact of circulating tumor DNA status post–allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in AML and MDS. Blood. 2019;133:2682–95.
34. Dillon LW, Gui G, Page KM, Ravindra N, Wong ZC, Andrew G, et al. DNA sequencing to detect residual disease in adults with acute myeloid leukemia prior to hematopoietic cell transplant. JAMA. 2023;329:745–55.
35. Dillon LW, Gui G, Ravindra N, Andrew G, Mukherjee D, Wong ZC, et al. Measurable residual FLT3 internal tandem duplication before allogeneic transplant for acute myeloid leukemia. JAMA Oncol. 2024;10:1104–10.
36. Pasca S, Guo MZ, Wang S, Stokvis K, Shedeck A, Pallavajjala A, et al. Cell-free DNA measurable residual disease as a predictor of postallogeneic hematopoietic cell transplant outcomes. Blood Adv. 2023;7:4660–70.
37. Salas MQ, Charry P, Pedraza A, Martínez-Cibrian N, Solano MT, Domènech A, et al. PTCY and tacrolimus for GVHD prevention for older adults undergoing HLA-matched sibling and unrelated donor AlloHCT. Transplant Cell Ther. 2022;28:489.e1–489.e9.
38. Cheloor Kovilakam S, Gu M, Dunn WG, Marando L, Barcena C, Nik-Zainal S, et al. Prevalence and significance of DDX41 gene variants in the general population. Blood. 2023;142:1185–92.
39. Duployez N, Largeaud L, Duchmann M, Kim R, Rieunier J, Lambert J, et al. Prognostic impact of DDX41 germline mutations in intensively treated acute myeloid leukemia patients: an ALFA-FILO study. Blood. 2022;140:756–68.
40. Bataller A, Loghavi S, Gerstein Y, Bazinet A, Sasaki K, Chien KS, et al. Characteristics and clinical outcomes of patients with myeloid malignancies and variants. Am J Hematol. 2023;98:1780–90.
41. Pollyea DA, Winters A, McMahon C, Schwartz M, Jordan CT, Rabinovitch R, et al. Venetoclax and azacitidine followed by allogeneic transplant results in excellent outcomes and may improve outcomes versus maintenance therapy among newly diagnosed AML patients older than 60. Bone Marrow Transplant. 2022;57:160–6.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank our patients and the *Grupo Español de Trasplante Hematopoyético y Terapia Celular* (GETH-TC) for the support provided during the study development. In addition, Dr. Jordi Esteve and María Jesús Pascual Cascón for their mentorship and support during the study period. We additionally thank REDCap (Research Electronic Data Capture) service for permitting the use of their service without costs. REDCap is a secure, web-based software platform designed to support data capture for research studies.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

CJV, JE, and MQS designed the study. CJV performed the statistical analysis and wrote the manuscript; MQS and JE supervised the study and contributed to manuscript writing; MJPC provided orientation and support for the study conduction on behalf of GETH-TC; CJV, MBG, EPL, CMC, CA, IOO, AE, FPM, SFL, IHF, APGR, JLL-L, ALG, TT, AJSM, CAF, LG, SV, SF and PB collected data. All authors contributed valuable revisions and approved the final version of the manuscript.

COMPETING INTERESTS

CJV serves as an educational speaker for AbbVie and received travel grants from AbbVie, Jazz Pharmaceuticals, and Pfizer. JE declares consultancy honoraria from AbbVie, Novartis, Astellas, Jazz Pharmaceuticals, BMS-Celgene, Pfizer, and Daichii-Sankyo, and received research grants from Novartis, Jazz Pharmaceuticals, and Pfizer. The remaining authors declare no competing financial interests. The founders had no role in the design of the study; in the collection, analysis, or interpretation of the data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

ETHICS APPROVAL STATEMENT

The study was approved by the Ethics Committee of the Hospital Clínic de Barcelona and conducted following standards set forth by the Declaration of Helsinki.

INFORMED CONSENT

All patients provided their informed consent for the use of laboratory results and genetic analyses.

ADDITIONAL INFORMATION

Supplementary information The online version contains supplementary material available at https://doi.org/10.1038/s41408-025-01223-x.

Correspondence and requests for materials should be addressed to María Queralt Salas.

Reprints and permission information is available at http://www.nature.com/reprints

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License, which permits any non-commercial use, sharing, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if you modified the licensed material. You do not have permission under this licence to share adapted material derived from this article or parts of it. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/.

© The Author(s) 2025

SUPPLEMENTARY DATA

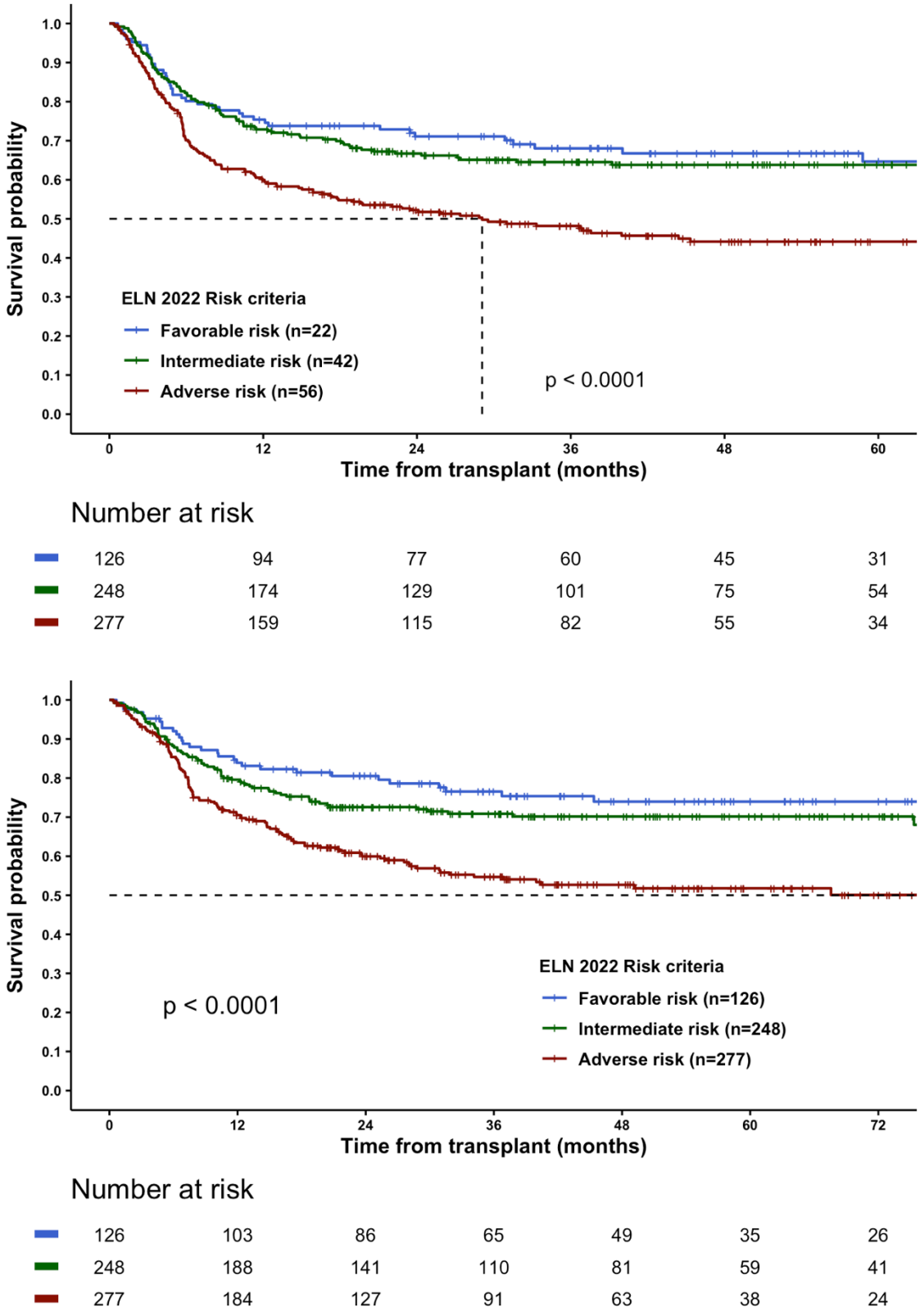


Figure 1. Overall survival (1A) and leukemia-free survival (1B) of patients according to ELN2022 risk classification

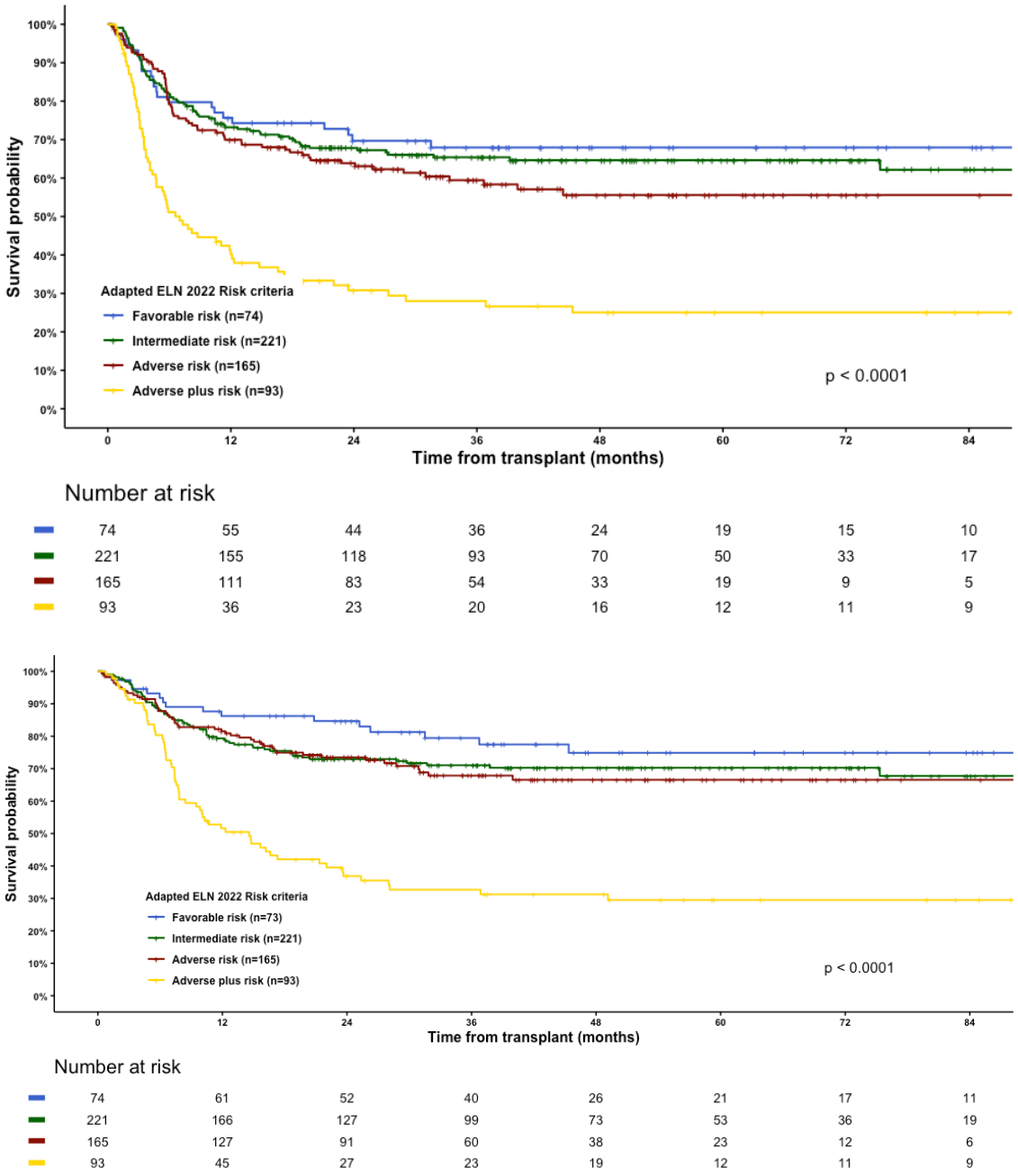


Figure 2. Overall survival (2A) and leukemia-free survival (2B) of patients allografted in first complete response according to Allo-HCT Refined ELN2022 risk classification

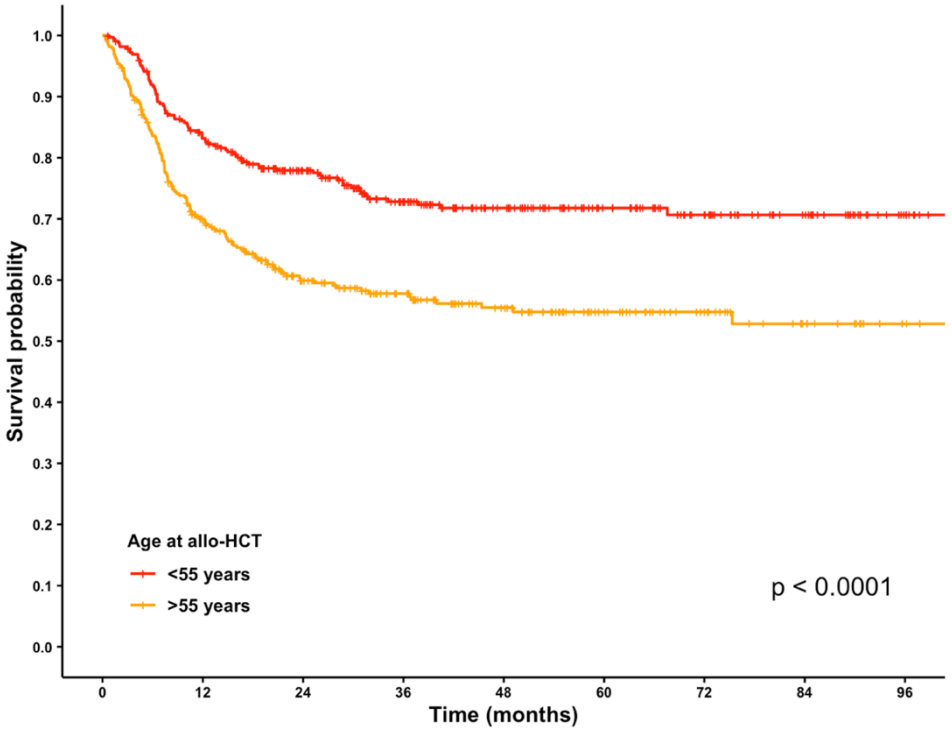


Figure 3. Overall survival of all patients included in the study according to age divided at 55 years.

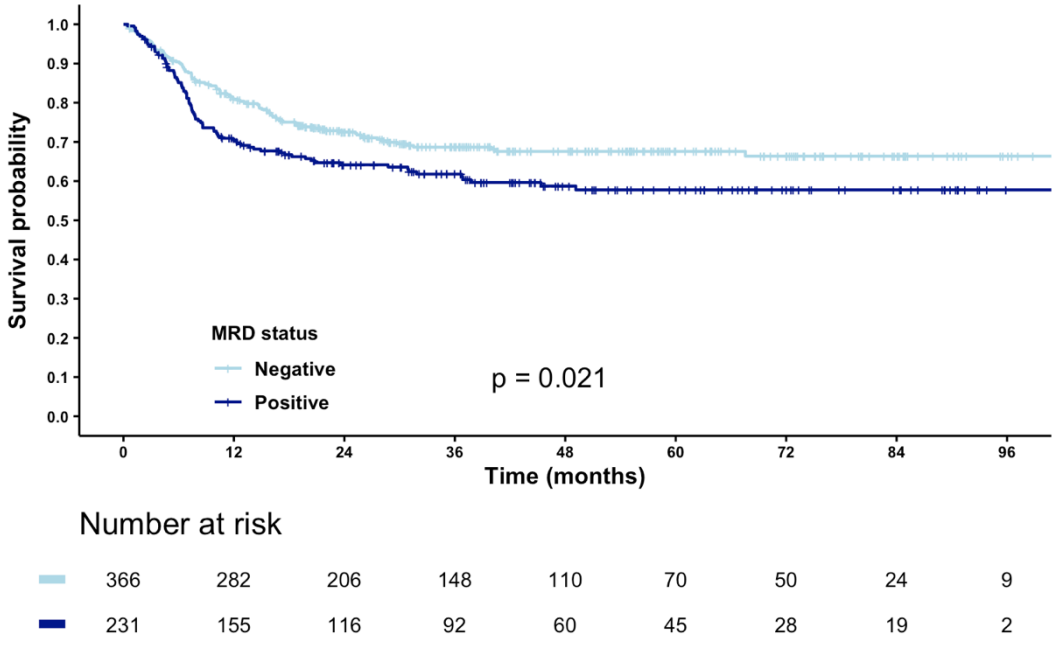


Figure 4. Overall survival of patients included in the study according to MRD status prior to allo-HCT

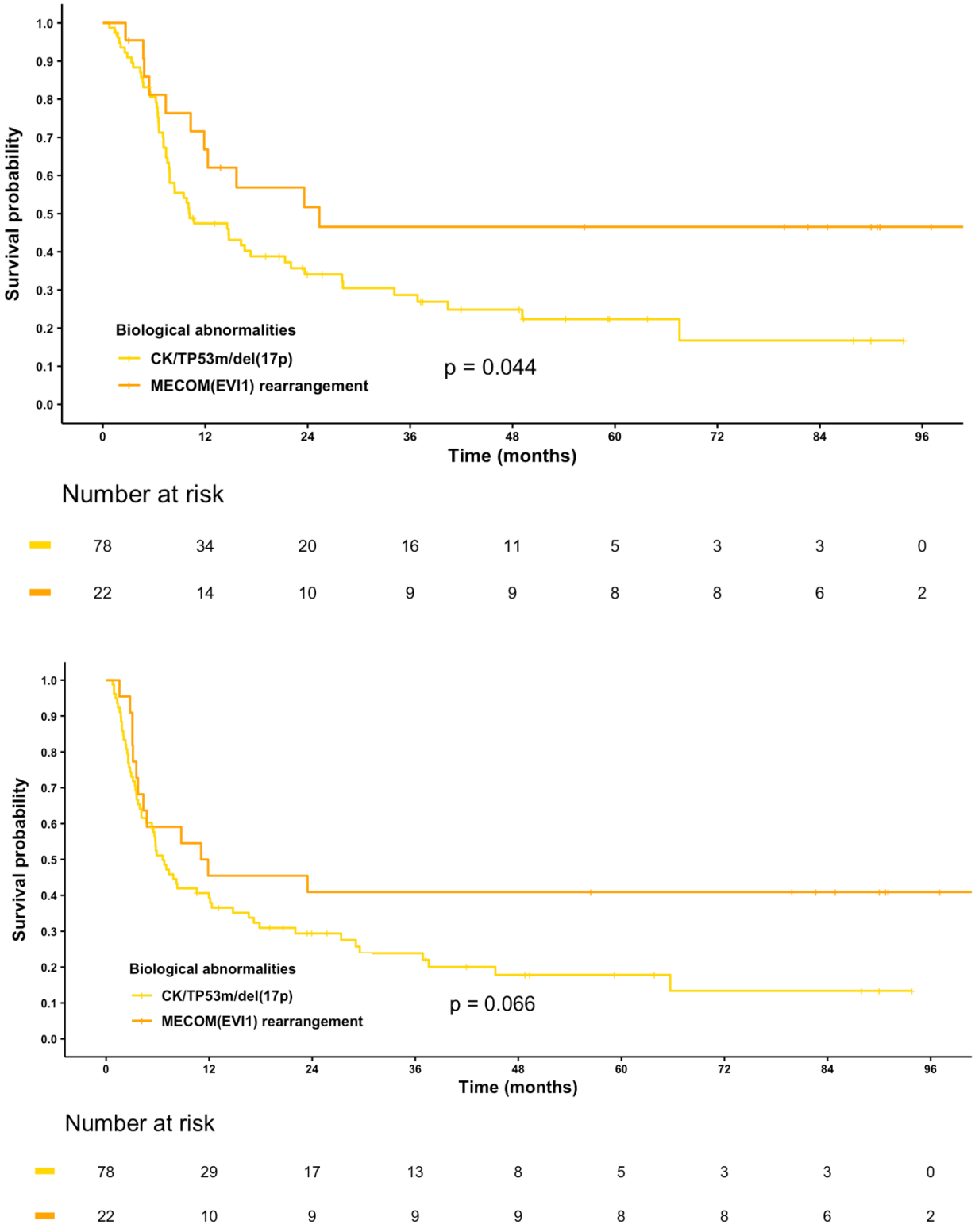


Figure 5. Overall survival (5A) and Leukemia-free survival (5B) of patients included in the Adverse-Plus risk study by its biological diversity (Patients diagnosed with complex karyotype and/or *TP53* mutations and/or (del17p) versus patients diagnosed with *MECOM(EVI1)* rearrangement

3. Tercera publicación

Título: Manejo clínico de pacientes con leucemia mieloide aguda tratados con venetoclax y agentes hipometilantes tras lograr respuesta: estudio en práctica clínica real

Introducción:

Aunque existe una indicación aprobada para venetoclax y agentes hipometilantes en leucemia mieloide aguda (LMA) en pacientes no tributarios a quimioterapia estándar y su uso en diferentes contextos de LMA se ampliará en los próximos años, el manejo de los eventos adversos carece de algoritmos armonizados durante el tratamiento de estos pacientes.

Objetivos:

Analizar la incidencia y el manejo de los eventos adversos graves en 43 pacientes diagnosticados de LMA no tributarios de tratamientos con quimioterapia intensiva y que alcanzaron respuesta a VenHMA en el Hospital Clinic de Barcelona entre marzo de 2019 y octubre de 2023.

Métodos:

Estudio retrospectivo unicéntrico de pacientes tratados con VenHMA en el Hospital Clinic entre 2019 y 2023 que alcanzaron respuesta completa morfológica. Se registraron efectos adversos a partir del día 1 del tercer ciclo; se evaluó tasa de reducciones de dosis, dependencia transfusional y uso de G-CSF, además de la tasa de efectos adversos mediante análisis descriptivo y de muestras pareadas en el tiempo para las cifras periféricas mediante el test de muestras pareadas de Wilcoxon.

Resultados:

La mediana de supervivencia global de nuestra cohorte fue de 19 meses. Ningún paciente interrumpió el tratamiento debido a efectos adversos después del

C3D1. Respecto a los efectos adversos graves, se observaron altas tasas de neutropenia de grado 4 (97,6%) y trombocitopenia de grado 4 (65,1%). La tasa de infecciones graves fue del 16%. Debido a la mielotoxicidad grave, la mayoría de los pacientes requirió una reducción progresiva de la dosis de venetoclax y de agentes hipometilantes durante el seguimiento, siendo del 87,8% en el C6D1. La tasa de dependencia transfusional fue del 91% y se prescribió G-CSF al 86% de los pacientes. Finalmente, no se observó una diferencia significativa en la hemoglobina, las plaquetas ni el recuento absoluto de neutrófilos tras lograr una respuesta completa al comparar muestras pareadas durante el seguimiento desde el momento de la respuesta, a pesar de la elevada tasa de durante el seguimiento inicial.

Conclusiones:

La reducción de dosis de VenHMA después de conseguir la respuesta hematológica en pacientes diagnosticados de LMA tratados con estos esquemas es necesaria y esencial en la mayoría de los pacientes para evitar citopenias prolongadas y efectos adversos derivados de este hecho. Estandarizar el descenso de dosis del esquema puede traducirse en un descenso de la tasa de eventos adversos tras la respuesta

Annals of Hematology
https://doi.org/10.1007/s00277-024-05923-5

RESEARCH

Clinical management of patients diagnosed with acute myeloid leukemia treated with venetoclax in combination with hypomethylating agents after achieving a response: a real-life study

Carlos Jiménez-Vicente[1,2,4] · Ares Guardia-Torrelles[1] · Amanda Isabel Pérez-Valencia[1,2] · Alexandra Martínez-Roca[1,2] · Sandra Castaño-Diez[1,2] · Francesca Guijarro[2,3] · Albert Cortés-Bullich[1,2] · Beatriz Merchán[1] · Ana Triguero[1] · Isabel Hernández[1] · Helena Brillembourg[1] · Daniel Munárriz[1] · Inés Zugasti[1] · Francesc Fernández-Avilés[1] · Marina Diaz-Beyá[1,2,4] · Jordi Esteve[1,2,4]

Received: 31 May 2024 / Accepted: 30 July 2024
© The Author(s) 2024

Abstract
Although there is an approved indication for venetoclax and hypomethylating agents (VenHMA) and its use in different AML settings will be expanded in the following years, the management of the adverse events (AEs) lacks of harmonized algorithms during treatment of these patients. We have studied the incidence of relevant AEs of 43 patients who achieved a response to VenHMA and its management. Median overall survival of our cohort was 19 months. No patients discontinued treatment due to AEs after C3D1, Regarding severe AEs, high rates of grade 4 neutropenia (97.6%) and grade 4 thrombocytopenia (65.1%) were observed. Severe infectious AEs rate was 16%. Due to severe myelotoxicity, most patients required a progressive dose reduction of both venetoclax and hypomethylating agents during follow-up, being 87.8% at C6D1. Transfusional dependence rate was 91% and G-CSF was prescribed to 86% of the patients. Finally, there was not a significant difference in hemoglobin, platelets and absolute neutrophil count after achieving complete response comparing paired samples during follow-up, although cytopenia rate was high during initial follow-up. We conclude that dose reduction of VenHMA after achieving a response in patients diagnosed with AML is required in most patients and essential to avoid prolonged cytopenia-related adverse events and a rapid and standardized method on how to perform it might decrease the AEs rate.

Keywords AML · Venetoclax · Management · Cytopenias · Adverseevents

Introduction

Since the publication of the phase III Viale-A trial in 2020 [1], the combination of the BCL-2 selective inhibitor venetoclax and azacytidine (VenAza) has become the gold standard frontline treatment for patients diagnosed with acute myeloid leukemia (AML) ineligible for intensive chemotherapy, also known as unfit patients. In the trial, VenAza proved to have an impressive remarkable antileukemic effect, with better response rate (66% vs. 28%, $p < 0.001$) and an increased median overall survival compared to azacitidine in monotherapy (14.7 vs. 9.6 months, $p < 0.001$), along with a feasible safety profile.

In the safety analysis of the Viale-A study, 83% of patients in the VenAza group experienced at least one grade 3 or higher adverse event (AE). Hematologic AEs such as thrombocytopenia (in 46% of the VenAza patients), neutropenia (42%), febrile neutropenia (42%) and anemia (26%), were more frequently reported in the VenAza group compared to the control one. Dose interruptions were prescribed in 53% of the patients in the VenAza group due to febrile neutropenia or cytopenias during the follow-up of the study.

✉ Jordi Esteve
jesteve@clinic.cat

1 Hematology Department, Hospital Clínic de Barcelona, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain

2 Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

3 Pathology Department. Hospital Clinic, Hemopathology Unit, Barcelona, Spain

4 University of Barcelona, Barcelona, Spain

Published online: 29 August 2024

Interestingly, only 1% of the patients included in the VenAza group developed tumor lysis syndrome (TLS), which was the most relevant AE observed when venetoclax was prescribed for other hematological malignancies [2]. Despite these AEs, the mortality rate at 30 days was low (7%), showing the feasibility of the combination in this setting. Several real-life cohorts, including the series of patients treated in our center [3, 4], have shown a similar safety profile afterwards, highlighting the relevance of proper management of the AEs to avoid discontinuation, especially during the first cycles of treatment until a disease response is obtained.

In addition to the combination with azacitidine, other combinations with low-intensity chemotherapy agents have shown a strong antileukemic effect, such as the combination with decitabine or with low-dose cytarabine [5–8], and recently, after the approval of VenAza in the unfit setting, several studies have also shown optimistic response rates and a feasible low toxicity profile in different AML settings, expanding the therapeutical spectrum of the venetoclax-based combinations in this disease. Some examples of this broader use are the use of VenAza in patients diagnosed with R/R or AML evolving from MPN [9], in patients diagnosed with higher risk MDS, in triplets including FLT3i, IDHi or menin-inhibitors [10–12] *FLT3* [13, 14]), in combination with standard chemotherapy in different subsets of patients diagnosed with AML [15–17], or as maintenance strategies) [18–21].

Although there is an approved indication for VenAza and its use in different AML settings will be expanded in the following years, the management of the AEs lack of harmonized algorithms during treatment of these patients, with a discordant approach among centers in relevant topics such as the use and type of antimicrobial prophylaxis. Also, the long-term follow-up AEs of low-intensity venetoclax-based combinations after the initial response have not been deeply studied yet in the real-life setting and the relevant data we have obtained nowadays is based on the long-term follow up of the Viale-A [22].

In this study, we have studied the incidence of relevant AEs after induction of patients diagnosed with AML treated with venetoclax in combination with hypomethylating agents (VenHMA) and its management, focusing mainly on treatment dose reduction through follow-up in order to avoid the discontinuation until progressive disease.

Patients and methods

We performed a retrospective, single-center study with patients, older than 18 years, treated with VenHMA at the Hospital Clínic of Barcelona between March 2019 and October 2023. Patients received standard dose of venetoclax (400 mg PO daily for 14–28 days and 200 mg in those patients who received moderate CYP3A inhibitors isavuconazole or amiodarone (n = 5) during the first two cycles of treatment) and azacytidine (75 mg/m^2 SC, 7 days each cycle of 28 days) or decitabine (20 mg/m^2 EV, 5 days), either for newly-diagnosed AML (ND-AML) or refractory/relapsed AML (R/R AML).

Patients enrolled in clinical trials were excluded from the analysis. All baseline characteristics and clinical course during treatment were retrospectively collected from the electronic records in our center. Cutoff data to analyze follow-up was the 21st March 2024.

Our primary endpoint was to analyze the dose reduction rate in patients treated with VenHMA who achieved a morphological complete response and received at least four complete cycles of treatment. Secondary objectives included the analysis of adverse events rate during follow-up after the initial two cycles of treatment and the impact of the dose reduction in the adverse events rate. The study was approved by the Ethics Committee of the Hospital Clinic of Barcelona and was in accordance with the Declaration of Helsinki.

AML was classified according to the ICC 2022 classification of myeloid neoplasms and the WHO 5th classification of myeloid neoplasms [23, 24]. AML disease risk stratification and response criteria during treatment were assessed according to the 2022 European LeukemiaNet risk criteria [25] (ELN 2022). The disease was reassessed at bone marrow at least once of each three cycles of treatment, following the latest ELN 2022 guidelines based on the Cheson criteria [25, 26]. According to these criteria, the overall response term used in this study included complete response (CR), complete response without a hematological recovery (CRi), morphological leukemia free status (MLFS) and partial response (PR). Measurable residual disease (MRD) was analyzed according to the 2021 ELN criteria [27]. Performance status (PS) was assessed according to the Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) score [28].

Treatment dosage and adjustment

Initial treatment was adjusted for patients taking CYP3A4 inhibitors. Initial ramp-up of venetoclax (3 days of progressive increasing dose up to maximal dose) together with adequate tumor lysis syndrome (TLS) prophylaxis during the first days of cycle 1. Before C3D1, antimicrobial prophylaxis with quinolone and triazoles was administered to all patients according to our institutional protocols and suspended if there was a complete recovery of absolute neutrophil count after cycle 2 (> 1 × 10^9/L). Antimicrobial prophylaxis due to grade 4 neutropenia during follow-up was prescribed at the discretion of the clinicians.

AEs were recorded from the moment of initial treatment and evaluated for this study from the first day of the third cycle of treatment (C3D1). Adverse events were determined

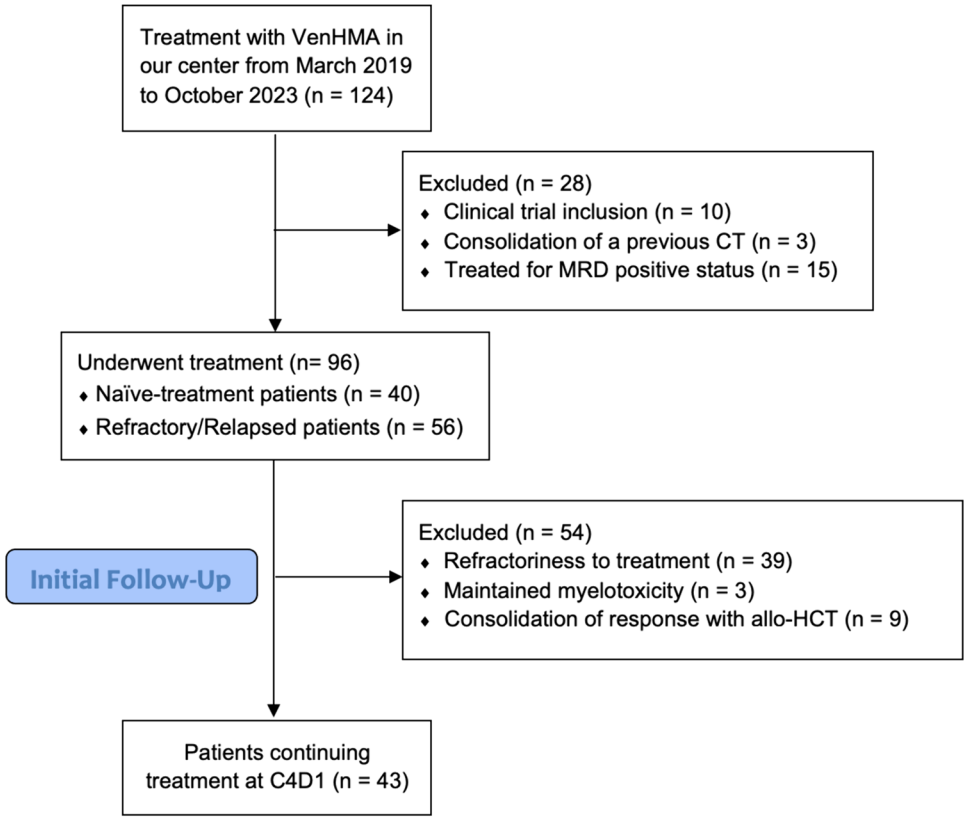


Fig. 1 Flow chart of all patients treated with venetoclax in combination with hypomethylating agents in the Hospital Clinic of Barcelona since March 2019

according to the Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), Version 4.03, May 2009.

Dose reduction during follow-up was performed if any of the following events was observed during the previous cycle: grade 4 neutropenia ($<0.5\times10^9$/L) which needed of G-CSF administration to shorten its duration, transfusion-dependent thrombocytopenia or anemia or any other grade 2 to 4 adverse events likely related to VenAza dosage. Dose reduction was standardized from 2020 onwards with the development of a hospital specific protocol, using a three steps following scheme, diminishing first the venetoclax number of days, afterwards the hypomethylating agent (HMA) dose and finally a new reduction in the venetoclax dose. Furthermore, additional reduction in both venetoclax or HMA if cytopenias persisted and the complete response was still maintained before the next cycle. Cycles were postponed until neutrophil blood count recovery ($>1\times10^9$/L) and a platelet count over 50×10^9/L.

Statistical analysis

Dose reduction, response rate and adverse events were measured after cycles 2, 4 and 6. Descriptive statistical analysis on all patients was performed. Median and range were used for continuous variables and frequency and percentage for categorical variables. Fisher's exact test or χ^2 test were used for univariate analysis in categorical variables and paired samples Wilcoxon rank sum test was used for to compare continuous variables at different times during follow-up. All p values were two-sided with statistical significance evaluated at the 0.05 alpha level. All statistical analyses were performed with R statistics version 4.0.3 (R core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Results

Baseline characteristics and disease response

A total of 124 patients diagnosed with AML or MDS/AML have been treated with venetoclax in combination with hypomethylating agents in our center between March 2019 and October 2023. Ten patients were included in clinical trials and, therefore, excluded of our study. Furthermore, fifteen patients were treated due to positive MRD and also excluded from the study, and three more patients were treated with VenHMA as consolidation of a previous standard chemotherapy induction, due to prolonged cytopenias. Finally, 96 patients fulfilled inclusion criteria. The overall response rate (ORR) was 45.8% (44/96), with a 70% in ND-AML (28/40), and 28.6% in R/R AML (16/56).

Table 1 Baseline characteristics of all patients. ICC: International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms. ELN: European LeukemiaNet, ECOG PS: Eastern Conference Oncology Group performance status, C1D1. First day of first cycle of treatment C4D1: First day of forth cycle of treatment, ANC: Absolute Neutrophil Count

	Patients (N = 43) (%)
Age, median (range)	73 (47–83)
Sex, n (%)	
Male	18 (41.9)
Female	25 (58.1)
Diagnosis (ICC 2022), n (%)	
AML or MDS/AML with myelodysplasia related gene mutations	19 (44.1)
AML or MDS/AML, NOS	8 (18.6)
AML or MDS/AML with mutated *TP53*	7 (16.3)
AML with mutated *NPM1*	6 (14)
AML with myelodysplasia-related cytogenetical abnormalities	1 (2.3)
AML with in-frame BZip *CEBPA* mutations	1 (2.3)
AML with *inv(16)*	1 (2.3)
Risk genetic scale (ELN2022), n (%)	
Favorable	7 (16.3)
Intermediate	7 (16.3)
Adverse	29 (67.4)
ECOG PS 0–1 C1D1, n (%)	25 (58.1)
ECOG PS 0–1 C3D1, n (%)	40 (93)
Disease status	
Frontline therapy	32 (74.4)
Refractory/Relapsed	11 (25.6)
Previous treatment received, n (%)	
Frontline therapy	32 (74.4)
Intensive chemotherapy (IC)	4 (9.3)
IC + Allogeneic stem cell transplantation	1 (2.3)
Hypomethylating agent-based regimens	9 (20.9)
Number of previous treatments received, median (range)	0 (0–2)
Hypomethylating agent, n (%)	
Azacitidine	28 (65.1)
Decitabine	15 (34.8)
Overall response rate, n (%)	43 (100)
Complete response with negative MRD	18 (41.9)
Complete response with positive MRD	9 (20.9)
Complete response without hematologic recovery	14 (32.6)
Partial response	2 (4.6)
Hematology at C3D1, median (range)	
ANC ($\times 10^9$/L)	
Hemoglobin (g/dL)	
Platelets ($\times 10^9$/L)	

Fifty-three patients (55% of the initially included patients) discontinued treatment before finishing cycle 4. Reasons to discontinue treatment were: refractoriness to treatment in the 74% (39/53) of the patients after completing one or two cycles, maintained grade 4 myelotoxicity in 5 out of the 53 patients (9%) (including 2 patients with COVID-19 infection during the first wave in Spain in March 2020 and one patient presenting with a subdural hematoma during aplasia) and consolidation of the achieved response with an allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HCT) (17%, 9 patients). Finally, 43 patients were included in the study (Fig. 1).

Baseline characteristics and response to treatment of all patients are displayed on Table 1. Briefly, 60.5% were males with a median age of 73 years (range 39–84 years). The most prevalent subgroups were patients diagnosed AML with myelodysplasia-related gene mutations (44.1%), AML, NOS (18.6%) and AML with mutated *TP53* (16.3%),

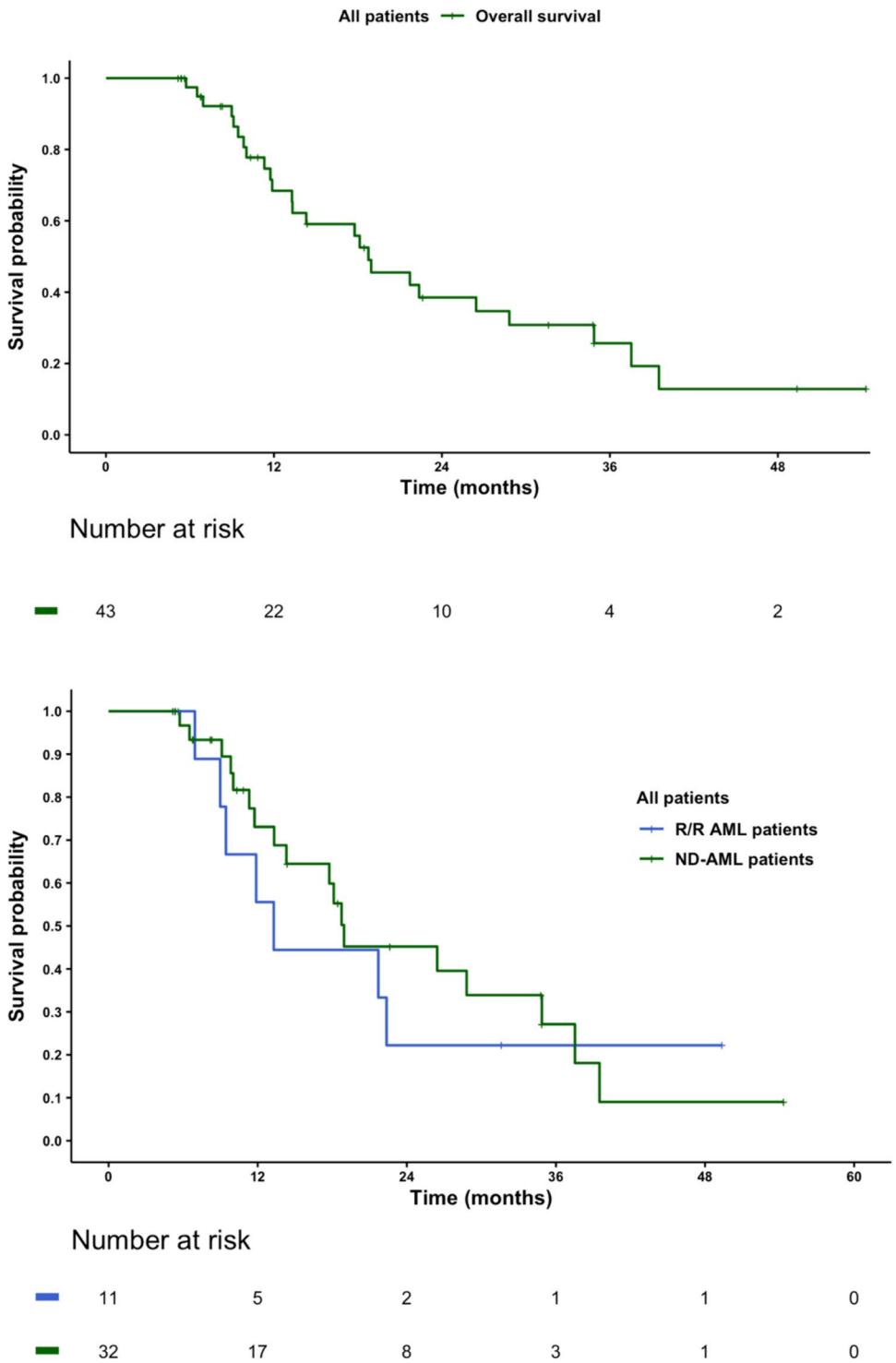


Fig. 2 Overall survival of all patients in the study and overall survival depending on treatment status

Among the 43 patients, 32 (74.4%) received VenHMA as ND-AML, while the remaining 11 (25.6%) were R/R AML patients. According to the ELN2022, 67.4% of the patients were included in the adverse risk group with 16.3% having an intermediate risk, and another 16.3% a favourable risk. At baseline, only 58.1% of the patients (25/43) had an ECOG PS score of 0 or 1, while the percentage of patients with a ECOG PS score lower than 2 at C3D1 was 93% (40/43). Azacitidine was the most common hypomethylating agent, being used in the 65.1% of the patients (28/43).

According to the response, 18 patients (41.9%) achieved a CR with negative measurable residual disease, 9 patients (20.9) a CR with persistent positive MRD, 14 patients (32.6) had a CRi and finally, 2 patients (4.6) achieved a PR. Median

Table 2 Adverse Events during follow-up in all patients treated with venetoclax and hypomethylating agents for at least 4 cycles of treatment

Adverse events after C3D1	All patients (N = 43)
Neutropenia, n (%)	42 (97.6)
Grade 3	1 (2.3)
Grade 4	41 (95.3)
Patients who have required administration of G-CSF	42 (97.6)
Treatment cycles requiring G-CSF administration, median (range)	4 (1–12)
Anemia, n (%)	25 (58.1)
Grade 3	24 (55.8)
Grade 4	1 (2.3)
Thrombocytopenia, n (%)	35 (81.4)
Grade 3	7 (16.3)
Grade 4	28 (65.1)
Grade 3–4 infectious diseases, n (%)	6 (14)
Osteomielitis	1 (2.3)
Celulitis	1 (2.3)
Febrile neutropenia	2 (4.6)
COVID-19	3 (6.9)
Atrial fibrillation, n (%)	1 (2.3)

number of cycles to achieve any response was 1 (range 1–3). The median number of prescribed VenHMA cycles during follow-up was 6 (range 4–34), with a median follow-up from initial treatment of 13.3 months (range 5–54). Median overall survival of the whole cohort was 19 months (95% CI: 13.3–37.5) with no statistical difference between patients who had received a previous treatment (p = 0.85) (Fig. 2A and B).

Adverse events during treatment

No patients discontinued treatment due to AEs after C3D1. Regarding AEs during follow-up after C3D1, myelotoxicity was the most frequent. with 97.6% (42/43) and 65.1% (28/43) of the patients having grade 4 neutropenia and grade 4 thrombocytopenia respectively. During follow-up, due to maintained expected neutropenia, G-CSF was prescribed to 86% of patients, with a median usage of 5 cycles (range 1–16).

While the grade 4 neutropenia rate was 97.6%, the grade 3–4 infection rate after C3 was 16% (6/43). Osteomyelitis, skin infection, febrile neutropenia in two patients and COVID-19 in three patients were the infections observed in our cohort. All of these patients required a hospital admission. There were no other reasons for hospital admission after C3D1 in our cohort. Interestingly, one of the six patients stopped treatment due to repeated infectious events after cycle 4 and in other case, there were 3 repeated infections during last cycle of treatment after a prolonged response, before a progressive disease was observed at the next bone marrow assessment.

Cardiovascular AEs were only observed in one case, who presented with atrial fibrillation during follow-up, without an interruption of the treatment. All adverse events are displayed in Table 2.

Dose reduction rate and cytopenia follow-up during treatment

During the first two cycles of treatment, 25.6% of the patients (11/43) had already been prescribed a dose reduction of treatment. At this moment, only venetoclax was reduced in all of them.

After 3 cycles of treatment a dose reduction was prescribed in 18 patients (41.9%), with a dose reduction of both treatments in two patients, and the remaining 16 patients having only a dose reduction of venetoclax.

After cycle 4, the dose reduction rate was 48.8% (21/43), with three patients presenting a reduction in both venetoclax and HMA. At this moment, 7 patients discontinued treatment, 4 due to consolidation of the response undergoing allo-HCT, 2 due to progressive disease, and the remaining one due to repeated infectious events during despite a morphological response achieved. The remaining 4 patients were undergoing cycle 5 at cutoff data. Venetoclax (at a standard

Table 3 Dose adjustment during cycles and transfusional independence during follow-up in all patients treated with venetoclax and hypomethylating agents for at least 4 cycles of treatment

	Number (%)
Dose adjustment	
After 2 cycles of treatment (n = 43)	11 (25.6)
Reduction of Venetoclax	11 (25.6)
Reduction of Venetoclax and Hypomethylating agents	0 (0)
After 3 cycles of treatment (n = 43)	18 (41.9)
Reduction of Venetoclax	16 (37.2)
Reduction of Venetoclax and Hypomethylating agents	2 (4.6)
After 4 cycles of treatment (n = 43)	21 (48.8)
Reduction of Venetoclax	18 (41.9)
Reduction of Venetoclax and Hypomethylating agents	3 (6.9)
After 5 cycles of treatment (n = 33)	29 (87.8)
Reduction of Venetoclax	10 (30.3)
Reduction of Venetoclax and Hypomethylating agents	19 (57.8)
After 6 cycles of treatment (n = 24)	20 (83.3)
Reduction of Venetoclax	6 (25)
Reduction of Venetoclax and Hypomethylating agents	14 (58.3)
Reduction steps/patient during follow-up, median (range)	2 (1–4)
Transfusional Independence after 6 or more cycles (n = 24)	22 (91.7)

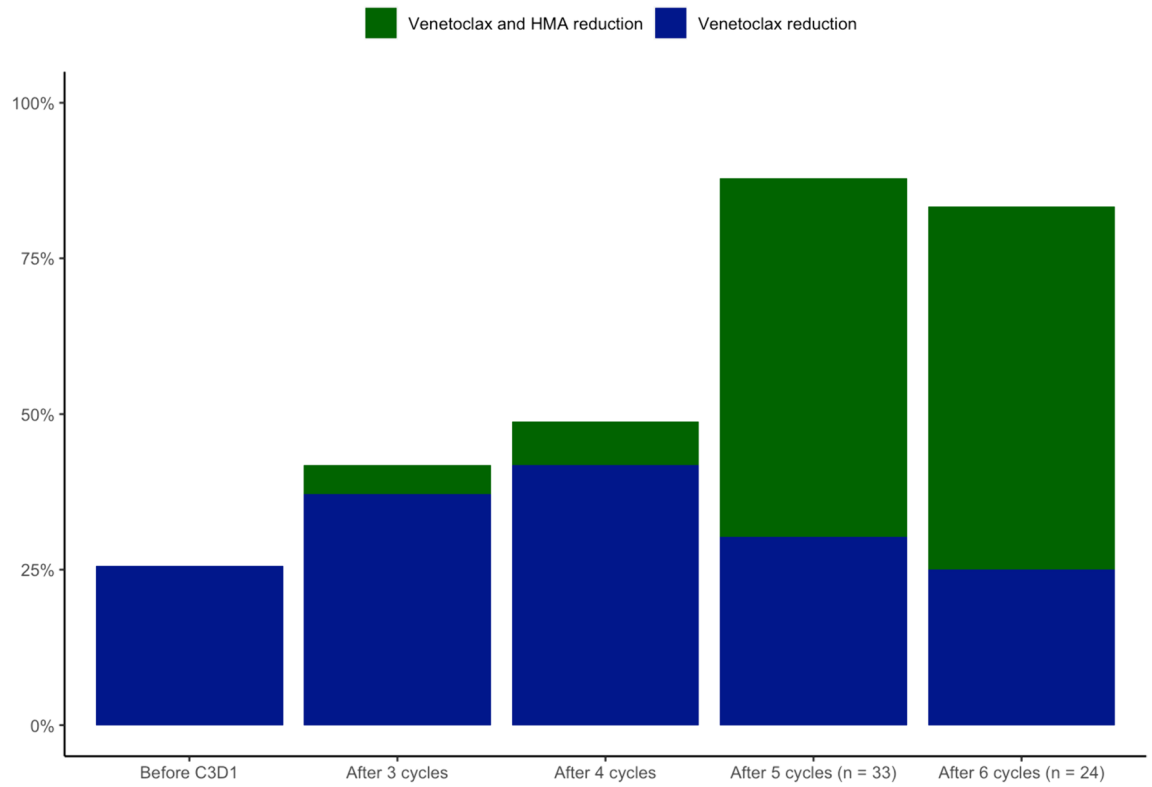


Fig. 3 Dose reduction rate (percentage) of venetoclax and/or hypomethylating agent (HMA) in treated patients during the follow up, after two, three, four, five and six cycles of treatment (see legend)

dose of 400 mg) during 14 days and azacitidine 75 mg/m^2 during 7 days of 28-day cycles was the most prescribed dose scheme at this moment.

After cycle 5, 87.8% of the remaining patients on treatment required at least one dose reduction step of treatment, with more patients having a reduction in both venetoclax and HMA than only in the BCL-2 inhibitor (57.8% vs. 30.3%). Interestingly, there were only 4 patients who were still on the initial dose, who were the same patients without a dose reduction after cycle 6, which explains the lower relative percentage of dose reduction after cycle 6 than after cycle 5, since there were patients who stopped treatment due to progressive disease or allo-HCT after this cycle. After cycle 6, venetoclax 200 mg during 14 days and azacitidine 75 mg/m^2 during five days in 28-day cycles was the most prescribed dose. The median number of reduction steps/patient during follow-up was 2 (range 1–4). Dose reduction after cycles is displayed in Table 3 and Fig. 3.

The transfusion independence rate after 6 cycles was 91.7%. Finally, though the high rate of adverse events related to myelosuppression, there was not a significant decrease in the mean hemoglobin level (Hb) absolute neutrophil count (ANC) and platelet count (Plat) once a response was achieved comparing C3D1 and C5D1 (Hb: 109 g/L (74–139) vs. 110 g/L (89–145), $p = 0.12$, ANC: 1.9 (0.1–21.7) vs. 1.64×10^9/L (0.2–17), $p = 0.76$ and Plat: 163×10^9/L (32–548) vs. 120×10^9/L (26–452), $p = 0.005$), while peripheral blood values were increased from baseline data (C1D1 vs. C5D1, Hb: 92 g/L (71–143) vs. 110 g/L (89–145), $p < 0.001$, ANC 0.8×10^9/L (0–12) vs. 1.64×10^9/L (0.2–17), $p < 0.001$ and Plat: 52×10^9/L (7–406) vs. 120×10^9/L (26–452), $p = 0.005$).

Discussion

VenAza has become the gold standard in unfit patients diagnosed with AML. and is also being explored in different scenarios, meaning a higher burden of patients to treat. Though an eventual relapse is expected in the vast majority of patients based on the long-term follow-up of the phase Ib and Viale-A studies [29, 30], a response lasting for months is expected in most of these patients [31], being especially prolonged in some subgroups of patients such as those with mutated *IDH2* and/or *NPM1* [32–34]. Prolonged myelosuppression has been repeatedly reported in clinical trials [1, 5, 8, 35] and real-life series [36–41] as the most frequent adverse event during treatment, and thus, prophylactic measures such as the use of azoles to prevent fungal infection, which requires venetoclax dose adjustment due to CYP3A cytochrome interaction [42–44]

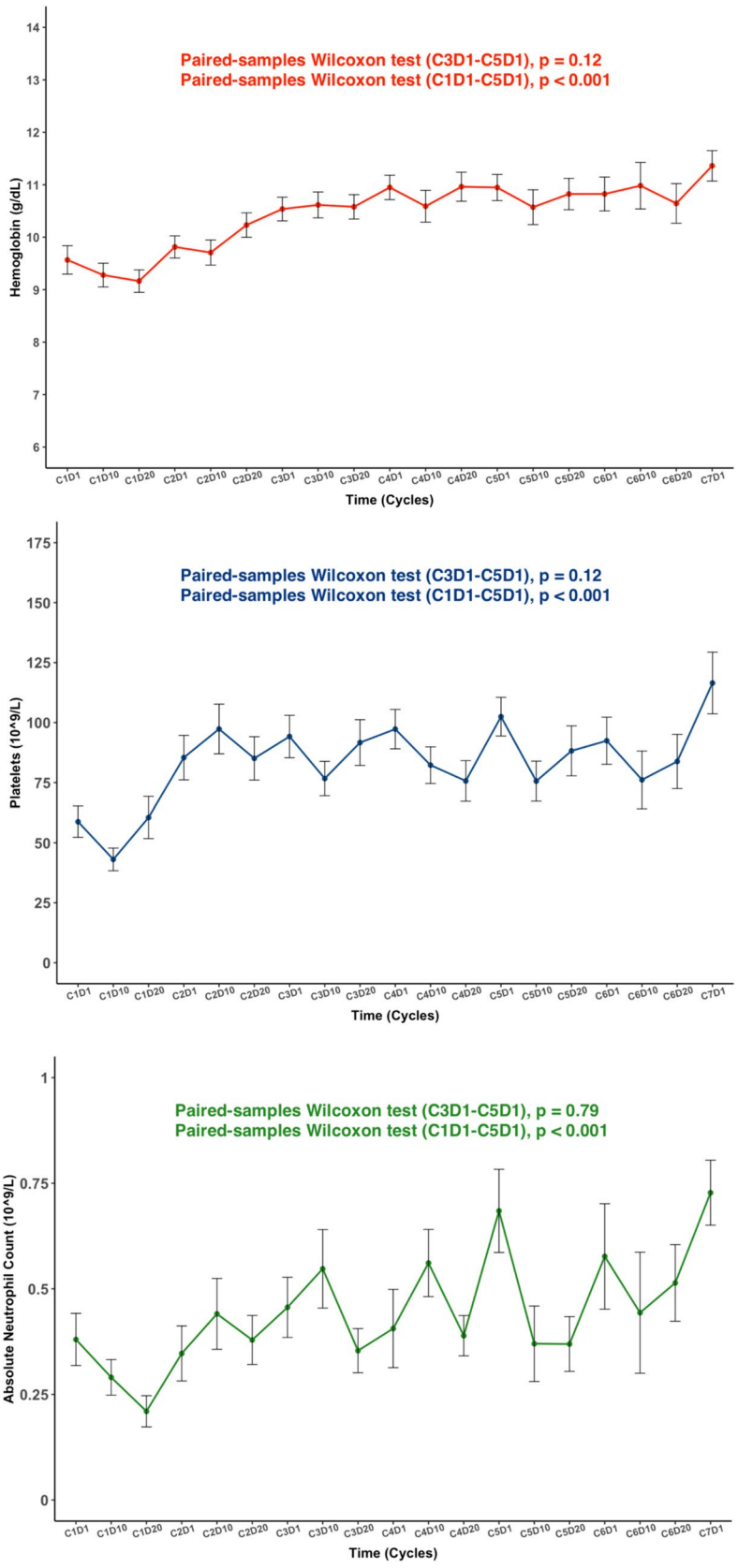


Fig. 4 Mean (±standard error) of hemoglobin (g/dL), absolute neutrophil count ($\times 10^9$/L) and platelet count ($\times 10^9$/L) during follow-up. Paired samples Wilcoxon test was used to analyze the difference during treatment

or blood transfusions have been adopted in most of the treating institutions (Fig. 4).

Once a response is achieved, venetoclax dose is decreased and the interval between cycles is extended in most treated patients to allow hematological recovery. Nonetheless, standardization of dose reduction and delay of cycle initiation due to cytopenia during follow-up is still lacking.

The high grade 4 neutropenia and thrombocytopenia rate (83.1% and 53.5% respectively) observed in the series have leaded to a rapid dose decrease after achieving a morphologic complete response in order to avoid myelosuppression, with an anticipated approach compared to the recommended in the European Public Assessment Report of venetoclax. Thus, reduction was instituted in this population after the first episode of prolonged cytopenia, instead of keeping on with the same dose after a first episode of prolonged cytopenia. To highlight, sixty percent of the patients required at least one dose decrease after one cycle and almost 90% of all patients needed a dose reduction after 6 cycles. Two thirds reduced both venetoclax and hypomethylating agents, with a median number of 2 reduction steps per patient, and G-CSF was widely used.

Although neutropenia and thrombocytopenia rates were higher than in most of the published data [1, 5, 35–37, 39–41, 45, 46] grade 3 or 4 infectious diseases rate after two cycles was relatively low (16%). The myelotoxicity caused by the standard initial dose of venetoclax-based low-intensity treatments in combination with the persistence of the disease seem to be the higher risk factors to present adverse events related to VenHMA, since the overall infection rate during all treatment including the first two cycles in this series of patients is similar to the previous publications[3, 4]. It is important to remind that the main goal of the treatment is to achieve a response and, therefore, the initial dose must be maintained until the response is assessed, but, once this milestone is confirmed, a dose reduction can be safely established in case of persistent cytopenia to avoid myelosuppression-derived complications. This dose reduction will eventually help not only to avoid adverse events but also to improve the quality of life of the patients, since transfusions and concomitant treatment such as G-CSF or antimicrobial prophylaxis may not be needed anymore during the response. The benefit of this pro-active dose reduction policy is exemplified in the maintained peripheral blood values after the initial response without any myelosuppressive effect added and the significant rise at C5D1 compared to baseline level, as well as the high transfusion independence rate.

The retrospective nature of the study and the limited size of the study cohort are limitations of the present study. Further knowledge with prospective trials comparing different treatment dosage strategies during follow-up and adverse events rate are needed to clarify which is the adequate dose decrease in patients to balance a maintained response with the lowest adverse events rate possible.

Finally, we conclude that dose reduction of VenHMA after achieving a response in patients diagnosed with AML is required in most patients and essential to avoid prolonged cytopenia-related adverse events. Further knowledge with prospective data is needed to obtain stronger evidence.

Author contributions CJV designed the study, performed the statistical analysis and wrote the manuscript; AGT collected data and helped with the manuscript writing, JE supervised the study and contributed to manuscript writing; AMT, SCD, FG, ACT, BM, AT, NT, IH and AIPV collected data. All authors contributed valuable revisions and approved the final version of the manuscript.

Funding Open Access funding provided thanks to the CRUE-CSIC agreement with Springer Nature. Fundació la Marató TV3 sobre Càncer. Grant Number: 201 201930–3, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), co-funded by the European Union. Grant Numbers: FIS PI19/01476, FIS PI22/01660.

Data Availability Due to privacy and ethical concerns, the data that support the findings of this study are available upon request from the corresponding author.

Declarations

Conflict of interest CJV serves as educational speaker for AbbVie and received travel grants from AbbVie, Jazz Pharmaceuticals and Pfizer. FG serves as educational speaker for AbbVie. AMR serves as a consultant or in an advisory role, for Bristol Myers Squibb (BMS), AbbVie, and Kite Gilead; received travel grants from Kite Gilead, Roche, Takeda, Janssen, and AbbVie; and serves as a speaker for AbbVie and Gilead. MDB serves as a consultant for, in an advisory role for, received travel grants from, or served as speaker for BMS, AbbVie, Astellas, JazzPharma, Takeda, and Novartis. JE declares consultancy honoraria from AbbVie, Novartis, Astellas, Jazz Pharmaceuticals, BMS-Celgene, Pfizer, and Daichii-Sankyo, and received research grants from Novartis, Jazz Pharmaceuticals, and Pfizer. The remaining authors declare no competing financial interests. The founders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of the data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

Ethics approval The study was approved by the Ethics Committee of the Hospital Clínic de Barcelona and conducted following standards set forth by the Declaration of Helsinki.

Patient consent All patients provided their informed consent for the use of laboratory results and genetic analyses.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

References

1. DiNardo CD et al (2020) Azacitidine and venetoclax in previously untreated acute myeloid leukemia. N Engl J Med 383:617–629
2. Seymour J et al (2018) Venetoclax-rituximab in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 378:1107–1120
3. Jimenez-Vicente C et al (2021) Real-life preliminary experience of treatment of newly-diagnosed and refractory/relapsed (R/R) acute myeloid leukemia patients with combination of venetoclax with hypomethylating agents. Hemasphere 5(S2):197–198
4. Brillembourg H et al (2022) Infecciones durante el tratamiento de venetoclax e hipometilantes diagnosticados de leucemia mieloide aguda (LMA). Sangre (Barc) 41(Suplem):57–58
5. DiNardo CD et al (2020) 10-day decitabine with venetoclax for newly diagnosed intensive chemotherapy ineligible, and relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: a single-centre, phase 2 trial. Lancet Haematol 7:e724–e736
6. DiNardo CD, Wei AH (2020) How I treat acute myeloid leukemia in the era of new drugs. Blood 135:85–96
7. Wei A et al (2017) Phase 1/2 study of venetoclax with low-dose cytarabine in treatment-naive, elderly patients with acute myeloid leukemia unfit for intensive chemotherapy: 1-year outcomes. Blood 130:890
8. Wei AH et al (2019) Venetoclax combined with low-dose cytarabine for previously untreated patients with acute myeloid leukemia: results from a phase Ib/II study. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol 37:1277–1284
9. Masarova L et al (2021) Single-center experience with venetoclax combinations in patients with newly diagnosed and relapsed AML evolving from MPNs. Blood Adv 5:2156–2164
10. Jin H et al (2023) Venetoclax combined with azacitidine and homoharringtonine in relapsed/refractory AML: a multicenter, phase 2 trial. J Hematol Oncol 16:42
11. Short NJ et al (2024) Azacitidine, venetoclax, and gilteritinib in newly diagnosed and relapsed or refractory FLT3-Mutated AML. J Clin Oncol 42:1499–1508
12. Lachowiez CA et al (2023) A phase Ib/II study of ivosidenib with venetoclax ± azacitidine in IDH1-Mutated myeloid malignancies. Blood Cancer Discov 4:276–293
13. Daver N et al (2022) Venetoclax plus gilteritinib for FLT3-Mutated relapsed/refractory acute myeloid leukemia. J Clin Oncol 40:4048–4059
14. Janssen M et al (2022) Venetoclax synergizes with gilteritinib in FLT3 wild-type high-risk acute myeloid leukemia by suppressing MCL-1. Blood 140:2594–2610
15. Chua CC et al (2020) Chemotherapy and venetoclax in elderly acute myeloid leukemia trial (CAVEAT): a phase ib dose-escalation study of venetoclax combined with modified intensive chemotherapy. J Clin Oncol 38:3506–3517
16. DiNardo CD et al (2022) Venetoclax combined with FLAG-IDA induction and consolidation in newly diagnosed acute myeloid leukemia. Am J Hematol 97:1035–1043
17. Kadia TM et al (2021) Venetoclax plus intensive chemotherapy with cladribine, idarubicin, and cytarabine in patients with newly diagnosed acute myeloid leukaemia or high-risk myelodysplastic syndrome: a cohort from a single-centre, single-arm, phase 2 trial. Lancet Haematol 8:e552–e561
18. Bewersdorf JP et al (2021) Venetoclax-based combinations in AML and high-risk MDS prior to and following allogeneic hematopoietic cell transplant. Leuk Lymphoma 62:3394–3401
19. Pollyea DA et al (2022) Venetoclax and azacitidine followed by allogeneic transplant results in excellent outcomes and may improve outcomes versus maintenance therapy among newly diagnosed AML patients older than 60. Bone Marrow Transplant 57:160–166
20. Ivanov V et al (2022) Design of the VIALE-M phase III trial of venetoclax and oral azacitidine maintenance therapy in acute myeloid leukemia. Futur Oncol 18:2879–2889
21. Zhao P et al (2022) Venetoclax plus azacitidine and donor lymphocyte infusion in treating acute myeloid leukemia patients who relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Ann Hematol 101:119–130
22. Pratz KW et al (2024) Long-term follow-up of VIALE-A: Venetoclax and azacitidine in chemotherapy-ineligible untreated acute myeloid leukemia. Am J Hematol 99:615–624
23. Arber D et al (2022) International consensus classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: integrating morphological, clinical, and genomic data. Blood 140(11):1200–1228
24. Khoury JD et al (2022) The 5th edition of the world health organization classification of haematolymphoid tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. Leukemia. https://doi.org/10.1038/s41375-022-01613-1
25. Döhner H et al (2022) Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. Blood 140(12):1345–1377
26. Cheson BD et al (2003) 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. J Clin Oncol 21:4642–4649
27. Heuser M et al (2021) 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. Blood 138:2753–2767
28. Oken MM et al (1982) Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. Am J Clin Oncol 5:649–655
29. Pollyea DA et al (2020) Venetoclax with azacitidine or decitabine in patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia: Long term follow-up from a phase 1b study. Am J Hematol. https://doi.org/10.1002/ajh.26039
30. Pratz KW et al (2022) Long-term follow-up of the phase 3 viale-a clinical trial of venetoclax plus azacitidine for patients with untreated acute myeloid leukemia ineligible for intensive chemotherapy. Blood 140:529–531
31. Döhner H et al (2022) ELN risk stratification is not predictive of outcomes for treatment-naïve patients with acute myeloid leukemia treated with venetoclax and azacitidine. Blood 140:1441–1444
32. Pollyea DA et al (2022) Impact of venetoclax and azacitidine in treatment-naïve patients with acute myeloid leukemia and IDH1/2 mutations. Clin Cancer Res 28:2753–2761
33. DiNardo CD et al (2020) Molecular patterns of response and treatment failure after frontline venetoclax combinations in older patients with AML. Blood 135:791–803
34. Stahl M et al (2021) Clinical and molecular predictors of response and survival following venetoclax therapy in relapsed/refractory AML. Blood Adv 5:1552–1564
35. DiNardo CD et al (2019) Venetoclax combined with decitabine or azacitidine in treatment-naive, elderly patients with acute myeloid leukemia. Blood 133:7–17
36. Piccini M et al (2021) Venetoclax-based regimens for relapsed/refractory acute myeloid leukemia in a real-life setting: a retrospective single-center experience. J Clin Med 10:1684
37. Morsia E et al (2020) Venetoclax and hypomethylating agents in acute myeloid leukemia: Mayo Clinic series on 86 patients. Am J Hematol 95:1511–1521
38. Winters AC et al (2019) Real-world experience of venetoclax with azacitidine for untreated patients with acute myeloid leukemia. Blood Adv 3:2911–2919
39. Matthews AH et al (2022) Real-world effectiveness of CPX-351 vs venetoclax and azacitidine in acute myeloid leukemia. Blood Adv 6(13):3997–4005

40. Labrador J et al (2022) Use of venetoclax in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia: the PETHEMA registry experience. Cancers 14(7):1734
41. Gaut D et al (2020) Venetoclax combination therapy in relapsed/refractory acute myeloid leukemia: A single institution experience. Leuk Res 90:106314
42. Eisenmann ED et al (2022) Interaction of antifungal drugs with CYP3A- and OATP1B-mediated Venetoclax elimination. Pharmaceutics 14(4):694
43. Aldoss I et al (2019) Invasive fungal infections in acute myeloid leukemia treated with venetoclax and hypomethylating agents. Blood Adv 3:4043–4049
44. Agarwal SK et al (2017) Management of venetoclax-posaconazole interaction in acute myeloid leukemia patients: evaluation of dose adjustments. Clin Ther 39:359–367
45. DiNardo CD et al (2018) Safety and preliminary efficacy of venetoclax with decitabine or azacitidine in elderly patients with previously untreated acute myeloid leukaemia: a non-randomised, open-label, phase 1b study. Lancet Oncol 19:216–228
46. Jonas BA, Pollyea DA (2019) How we use venetoclax with hypomethylating agents for the treatment of newly diagnosed patients with acute myeloid leukemia. Leukemia 33:2795–2804

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

4. Cuarta publicación

Título: Venetoclax en combinación con agentes hipometilantes podría erradicar la enfermedad residual medible persistente tras quimioterapia intensiva en leucemia mieloide aguda con mutación de *NPM1* o reordenamientos CBF

Introducción:

La persistencia de enfermedad residual medible (ERM) tras quimioterapia intensiva predice recaída en LMA, y no existen estrategias eficaces de erradicación molecular. VenHMA ha demostrado elevada eficacia en subgrupos determinados de riesgo favorable e intermedio como *NPM1* por lo que su uso se está intentando expandir desde la indicación actual para pacientes no candidatos a quimioterapia intensiva

Objetivos:

Determinar la tasa de respuesta molecular en pacientes con ERM persistente o recaída molecular después de quimioterapia intensiva o trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, tratados con VenHMA a dosis estándar como tratamiento de rescate molecular.

Métodos:

Estudio retrospectivo de 17 pacientes tratados VenHMA en dos centros españoles entre octubre 2020 y julio 2022. ERM evaluada cada ciclo mediante PCR cuantitativa (NPM1 y genes de fusión y citometría de flujo multiparamétrica para el resto, de acuerdo con las recomendaciones de la European LeukemiaNet (ELN). La respuesta molecular se defición como una reducción de >3 log o la negatividad.

Resultados:

De 17 pacientes, con una mediana de 64 años de edad, 10 (58,8 %) alcanzaron respuesta tras mediana de 2 ciclos. Todos los pacientes que alcanzaron

respuesta fueron pacientes pertenecientes al grupo favorable de riesgo de la ELN 2022. La tasa de respuesta fue especialmente elevada en pacientes diagnosticados con mutación de *NPM1* (80%). El tratamiento fue bien tolerado, con ajustes de dosis en citopenias prolongadas. Tres pacientes recibieron consolidación con trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos o infusiones de linfocitos donantes.

Conclusiones:

VenHMA muestra actividad prometedora para erradicar ERM persistente tras tratamiento intensivo en subgrupos genéticos *(NPM1*, reordenamientos de CBF). Se requieren series más amplias y estudios prospectivos para confirmar estos hallazgos

Leukemia Research 135 (2023) 107403

Contents lists available at ScienceDirect

Leukemia Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/leukres

Venetoclax with hypomethylating agents might lead to eradication of measurable residual disease (MRD) persisting after intensive chemotherapy in acute myeloid leukemia (AML) patients with mutated *NPM1* and rearranged *CBF*

ARTICLE INFO

Keywords
AML
Preemptive treatment
MRD

1. Introduction

Measurable residual disease (MRD) persistence or relapse at critical time-points during standard chemotherapy correlates with higher relapse risk in patients diagnosed with AML [1], impacting on clinical outcome. Given its value, MRD eradicative treatment is a reasonable goal and a preemptive intervention in this context might prevent subsequent morphological relapse. Neither alloHCT, nor other therapeutic strategy have clearly shown efficacy for MRD clearance after intensive chemotherapy.

On the other hand, the high antileukemic activity of venetoclax and azacytidine (VenH) shown as frontline therapy among unfit patients warrants its use in other clinical context in AML patients [2]. Specific AML genetic subsets show a higher sensitivity to VenH, such as patients harboring *NPM1* and *IDH1–2* mutations, or those lacking *N/K-RAS, FLT3-ITD* and *TP53* mutations [3–5]. Moreover, the leukemia stem-cell (LSC) compartment seems to harbor a special vulnerability to it, perhaps related to the effect on decreased oxidative phosphorilation (OXPHOS) by electron transport chain complex 2 (ETC2) disruption in a glutathion dependent manner [6]. Due to this increasing knowledge, venetoclax-based combinations are being explored in AML, including combinations with intensive chemotherapy, with promising results [7].

A recent study described a high potential of VenH in a cohort of 12 patients with *NPM1*m AML with persistent MRD after chemotherapy, durable during follow-up [8]. Herein, we expanded this experience for treatment of MRD failure in a population with different AML subtypes and diverse clinical settings to observe the capability to achieve a sustained response.

2. Patients and methods

Our primary goal was to determine the MRD response rate in patients treated with VenH in patients presenting with a MRD persistence or relapse after previous intensive therapy (chemotherapy or alloHCT). We studied retrospectively patients diagnosed with AML and treated at Hospital Clínic (Barcelona, Spain) and Hospital Duran i Reynals (L'Hospitalet de Llobregat, Spain) from October 2020 to July 2022. Patients had previously been treated with at least one intensive AML chemotherapy regimen (CETLAM-12, n = 13; CETLAM-2003, n = 1; I+C+dasatinib, n = 1), followed by alloHCT in intermediate- and high-risk patients according to the European LeukemiaNet 2017 (ELN2017) risk criteria [9]. Patients were diagnosed according to the World Health Organization 2016 criteria. Clinical and biological patient characteristics were collected from patient records. The study was approved by the Institutional Review Board of Hospital Clínic and adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki.

Patients were treated with an off-label use of venetoclax (initial dose of 400 mg PO daily for 21–28 days) in combination with azacytidine (75 mg/m^2 SC, 7 days each cycle of 28 days) or decitabine (20 mg/m^2 EV, 5 days), with venetoclax dose reduction if receiving concomitant treatment with moderate or strong CYP3A inhibitors. Once a molecular response (MR) was obtained, subsequent dose reductions were decided if persisted with prolonged cytopenias following recommended guidelines.

MRD analysis from bone marrow source were performed following the 2021 update on ELN MRD Working Party [10]. MRD testing was performed evaluated after every single cycle until an initial MR was achieved, and, during subsequent follow-up, at least every three cycles of treatment. In patients with *NPM1* mutated (*NPM1*m) and *CBFB::MYH11* (*CBF*r) rearranged AML, MRD was measured using real time mutant-specific reverse transcription quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR), using *ABL1* as control gene with 10^{-4} sensitivity. Multiparametric flow cytometry (MFC) was used for the rest of patients, with a 10^{-3} sensitivity. Additionally, compared with MFC, *KMT2A::MLLT10* fusion gene was evaluated in one patient with RT-qPCR, as well as using droplet digital PCR (ddPCR) with a specific probe for *IDH1* R132 mutation in another patient. MR was defined as $>$ 3 log10 decrease or negativity in the tests previously explained, MRD persistence was defined as positivity $\geq$ 0.1% after intensive chemotherapy, whereas MRD relapse was established in all cases of a positive test in patients after previous undetectable MRD or a log10 increase between tests in patients with LL-MRD. All molecular failures were confirmed in a second test within 2–4 weeks.

Descriptive statistical analysis was performed in all patients. Median

https://doi.org/10.1016/j.leukres.2023.107403
Received 20 June 2023; Received in revised form 27 September 2023; Accepted 28 September 2023
Available online 30 September 2023
0145-2126/© 2023 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Table 1

Baseline characteristics and individual response of patients in this study: M: Male, F: Female, AML: Acute Myeloid Leukemia, MRC: Myelodysplasia-related changes, MIDO: midostaurin, HIDAC: High-dose cytarabine, I+C: Idarubicin+ cytarabine, AZA: Azacytidine AlloHCT: Allogeneic hematopoetic cell transplantation, DLI: Donor lymphocyte infusion, FLAG-IDA: Fludarabine. Cytarabine, granulocyte stimulating factor and idarrubicin, ITCT: intrathecal chemotherapy, GO: Gemtuzumab ozogamycin, NGS: Next Generation Sequencing, RT-qPCR: Real time quantitative polymerase chain reaction, MFC: Multiparametric flow cytometry, MR: Molecular response, NR: Not reached, NA: Not assessed, VenH: Venetoclax + hypomethylating agent.

Case	Age/ Sex	WHO 2016 diagnostic	Previous treatments	NGS	ELN 2017 risk	MRD status at C1D1	MRD method	Initial MRD (%)	Best response	Cycles to MR	Response definition	VenH cycles	Treatment after VenH
1	74/F	AML with mutated *NPM1*	I+C/HiDACx3. Olutasidenib	*IDH1 SH2B3*	*Favorable*	Relapse	*NPM1 RT-qPCR*	2.51	MR	2	Negativity	22	No
2	76/M	AML with mutated *NPM1*	I+C/HiDACx3 + MIDO	*DNMT3A NPM1 FLT3-ITD*	*Favorable*	Relapse	*NPM1 RT-qPCR*	0.3	MR	1	Negativity	22	No
3	61/M	AML with mutated *NPM1*	I+C/HiDACx3	*DNMT3A NPM1*	*Favorable*	Relapse	*NPM1 RT-qPCR*	0.0094	MR	1	Negativity	12	No
4	56/M	AML with mutated *NPM1* (CMML-2 progression)	6-MP+AZA. I+C/HiDACx2 + MIDO	*TET2 NPM1 FLT3-TKD*	*Favorable*	Persistence	*NPM1 RT-qPCR*	1.01	NR	NA	.	1	AlloHCT (SC)
5	68/F	AML with mutated *NPM1*	I+C/HiDACx3 + MIDO	*DNMT3A NPM1 FLT3-TKD*	*Favorable*	Persistence	*NPM1 RT-qPCR*	0.1551	MR	1	Negativity	6	No
6	80/F	AML with mutated *NPM1*	I+C/HIDACx2. AZA	*IDH1 NPM1 ASXL1*	*Favorable*	Relapse	*NPM1 RT-qPCR*	78.069	MR	2	Negativity	6	No
7	71/F	AML with mutated *NPM1*	I+C/HiDACx2	*TET2 NPM1*	*Favorable*	Persistence	*NPM1 RT-qPCR*	0.012	MR	1	Negativity	2	No
8	78/F	AML with mutated *NPM1*	I+C/HiDACx3	*DNMT3A FLT3-ITD (low ratio)*	*Favorable*	Relapse	*NPM1 RT-qPCR*	0.1458	MR	2	Negativity	6	No
9	65/F	AML with mutated *NPM1*	I+C/HiDAC AZA	*IDH1 NPM1*	*Favorable*	Persistence	*NPM1 RT-qPCR*	1.15	MR	1	Negativity	4	No
10	74/M	AML with mutated *NPM1*	I+C/HiDAC	NA	*Favorable*	Relapse	*NPM1 RT-qPCR*	78.39	NR	NA	.	18	No
11	52/F	AML with inv(16)/*CBFB::MYH11* rearrangement + *BCR::ABL* rearrangement	I+C/HiDACx2 + Dasatinib + AlloHSCT DLIx2. FLAG + ITCT DLIx1. FLAG+GO + ITCT+ RT	NA	*Adverse*	Relapse	*CBFB::MYH11 RT-qPCR*	1.47	MR	3	Negativity	21	DLIx3
12	59/M	AML with inv(16) /*CBFB::MYH11*	I+C/HIDACx3 + MIDO	*FLT3-TKD KRAS*	*Favorable*	Persistence	*CBFB::MYH11 RT-qPCR*	5.17	NR	NA	.	2	AlloHCT (SC)
13	64/F	AML with inv(16) /*CBFB::MYH11*	I+C/HiDACx2 + Allo-HSCT.	.	*Favorable*	Relapse	*CBFB::MYH11 RT-qPCR*	17.17	NR	NA	.	15	FLAG-IDA
14	50/M	AML with inv(16) /*CBFB::MYH11*	I+C/HiDACx3	*KIT NRAS*	*Favorable*	Relapse	*CBFB::MYH11 RT-qPCR*	4105.21	MR	2	> 3 log10 decrease	2	AlloHCT
15	48/F	AML with t(10;11) *KMT2A::MMLT10*	I+C/HiDACx2 + Allo-HSCT.	*KMT2A:: MLLT10 KRAS*	*Adverse*	Relapse	MFC *(KTM2A:: MLLT10 RT-qPCR)*	32.37	NR	NA	.	2	FLAG-IDA AlloHCT
16	68/M	AML MRC	I+C/HIDACx2.	*DNMT3 IDH1 U2AF1 TET2 CALR*	*Intermediate*	Persistence	MFC *IDH1 (ddPCR)*	13.06	NR	NA	.	1	AlloHCT (SC)
17	65/F	AML MRC (progression of MDS with deletion of 5q)	Lenalidomide I+C/HiDACx2	*ASXL1 U2AF1 PRPF8*	*Adverse*	Persistence	MFC	0.37	NR	NA	.	2	AlloHCT (SC)

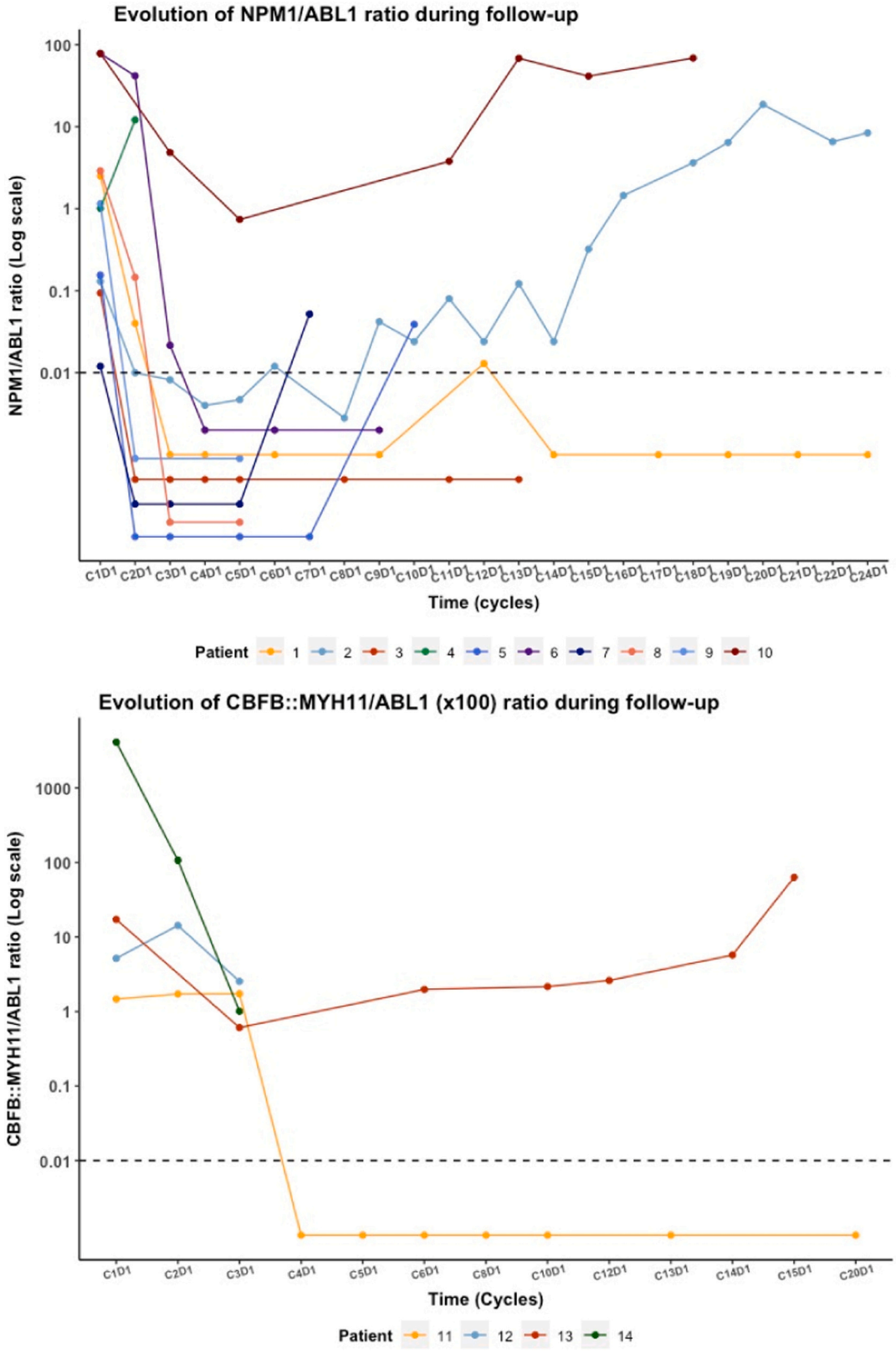


Fig. 1. ***NPM1/ABL1 (1a), CBFB::MYH11/ABL1(1b)*** **evolution of ratio during treatment and swimmer-plot of all patients** ***(1c).*** Evolution of ratio: Measured in logarithmic scale, each color represents the evolution of each patient. Swimmer plot: Each row represents a single patient during the whole follow-up since they started treatment. Crosses represent death during follow-up. Diamonds represent an allogeneic hematopoetic stem-cell transplant during follow up. Triangle represent additional treatment with donor-lymphocyte infusion. Square represents salvage treatment with intensive chemotherapy. All bone marrow reevaluations have been represented as points filled with a different color depending on the achieved response (see legend on right side). Number of each patients correlates with each patients' information displayed in Table 1.

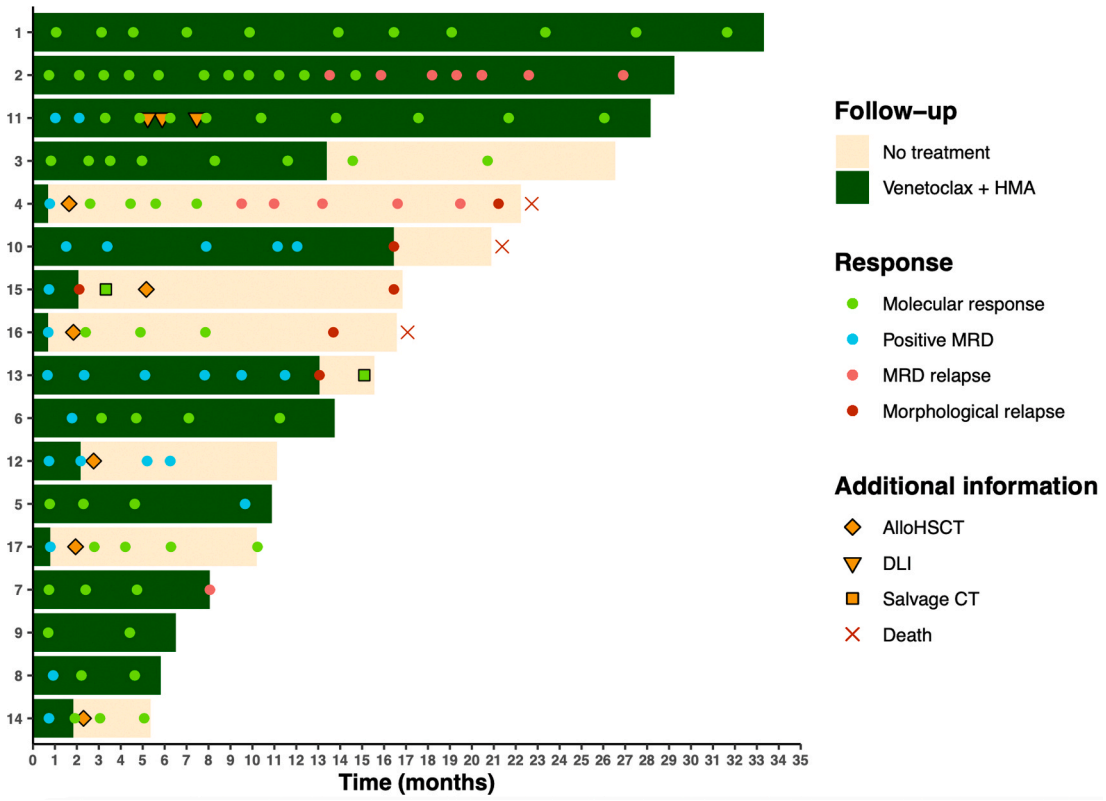


Fig. 1. . (*continued*).

and range were used for continuous variables and frequency and percentage for categorical variables. Statistics were performed with R statistics version 4.0.2 (R core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) All patients agreed to participate by signing a written informed consent.

3. Results

Seventeen patients were treated. Median age was 68 years (range 49–80) at treatment begin. Baseline characteristics, individual response and follow up are displayed on Table 1. Seven patients were treated for MRD persistence, five of them due to MRD persistence after completion of planned consolidation chemotherapy, and 10 additional patients were treated for a confirmed MRD relapse, either after consolidation chemotherapy or alloHCT (patients 11, 13 and 15 in Table 1). Ten patients (60%) were diagnosed with AML *NPM1*mut, 4/17 with a *CBFb::MYH11* AML, 2/17 with AML with myelodysplasia-related changes, and 1/17 with *KMT2A::MLLT10* AML.

Molecular response was obtained in 10 patients (58.8%), including 8/10 (80%) patients with *NPM1*m AML and 2/4 patients with *CBFb::MYH11* AML. No response was observed in neither of the other AML subtypes. Responses were achieved during first three cycles of treatment (median time to MR, 1 cycle, range: 1–3) with a median follow-up of 15.5 months (range 5.4–33.3). Although tolerance to treatment was good, with no discontinuation due to adverse events, reduction of venetoclax administration (14 days) and/or prolongation of inter-cycle interval was required in 5 patients on treatment beyond cycle 3.

Seven patients continued with MR, while 3 patients presented a molecular relapse (Figs. 1a, 1b, 1c). Only one patient who achieved a MR presented with an overt hematological relapse (Figs. 1a, 1c). Median length of treatment was 6 cycles (range 1–25) with a median MR of 9.6 months (range 1–32.3), including a patient who discontinued treatment after 12 months, maintaining his response for more than a year afterwards. One patient (case 2) remains with positive MRD after initial MR for more than one year within treatment. Another patient (case 10) received three donor lymphocyte infusions to consolidate VenH-induced response (Figs. 1b, 1c).

In non-responders, four underwent an alloHCT after treatment failure and three achieved a MR afterwards. An overt CNS relapse after MR was observed in one of the patients who underwent an alloHCT (case 4). FLAG-IDA was used as salvage therapy in another patient, achieving a second MR, consolidated with a second alloHCT(15), but presenting a new morphological relapse 10 months afterwards. Due to lack of available potential treatments during follow-up, treatment was maintained until an overt relapse in two patients, one of them being able to be treated after morphological relapse with a new response (10, 13). *NPM1/ABL1* and *CBFB::MYH1/ABL1* ratio evolution during follow-up and follow-up of all treated patients is shown in Fig. 1. Treatment in all patients was well tolerated, with no adverse events ≥G3 except G4 neutropenia in 8/17 patients (47%). At cutoff data, two patients died due to progressive disease.

4. Discussion

MRD clearance at well-established time-points should be considered a treatment goal in AML therapy. Nonetheless, the lack of validated treatment options to achieve this goal translates into diverse strategies in clinical practice, from therapy abstention until overt relapse to alloHCT. VenH was recently explored, in a small cohort of AML *NPM1*mut patients, showing a high response rate but a short follow-up [8]. We expanded this strategy to other AML subtypes and confirmed the high efficacy in *NPM1*m AML (8/10), and an additional sustained response in *CBFb::MYH11* AML, including a patient who had previously received three chemotherapy lines and an alloHCT. Patients who did not obtain a response received an alloHCT after treatment to prevent an overt hematological relapse or continued treatment if they were unfit. On the other hand, in responding patients, alloHCT was postponed unless a subsequent MRD re-emergence occurred.

Interesting further knowledge related to our results has been published lately. A Viale-A follow-up showed that long-lasting morphological responses are achieved only in < 20% of the patients at 4 years [11]. Of note, achieving a negative MRD during treatment has a prognostic value for overall survival using VenH as frontline therapy, independently of the mutational prognostic factors to achieve a response [3,4,12]. Despite this fact, a successful discontinuation of VenH has been recently reported in anecdotal cases: 7 patients maintained response > 4 years after treatment cessation, being 4/7 AML *NPM1*m [13]. This clinical effect suggests an alternative mechanism of action, targeting chemo-resistant leukemic cell populations.

VenH preemptive therapy can be used as alloHCT bridge in eligible patients failing to achieve a MRD-free status after chemotherapy. We prioritized alloHCT in patients unable to achieve a MRD response after VenH or losing initial MR. Sustained MRs, lasting for > 1 year, were obtained in 2 fit patients, leading to postpone alloHCT. MRD persistence without morphological relapse was observed in two patients receiving continuous treatment with detectable MRD lasting for > 10 months. These patients continued treatment due to the lack of treatment during follow-up. VenH contribution to delay disease is uncertain, although a faster disease progression is usually observed, with a median interval from first BM MRD reappearance to hematological relapse of 4 months.

MRD eradication after intensive chemotherapy with a low intensity agent has been also analyzed in the QUAZAR trial, exploring the effect of oral azacytidine (CC-486) as maintenance after intensive chemotherapy. In this trial, oral azacytidine was able to revert detectable MRD in one third of patients with detectable MRD and, interestingly, to significantly prolong survival in *NPM1*m AML patients with positive MRD at treatment start, from 10 to 46 months [14,15]. Differences in MRD analysis used in QUAZAR trial, determined by multiparameter flow cytometry with a sensitivity cutoff of 0.1%, and different characteristics of the patient population included, does not allow a direct comparison with the results obtained in our study. Evaluation of added benefit of venetoclax in this setting will be definitively defined by a head-to-head comparative study.

To conclude, our study confirmed VenH combination as preemptive strategy for MRD failure after intensive therapy in patients with *NPM1*m and *CBF*r AML, allowing a bridge to alloHCT or providing prolonged responses in unfit relapsed patients, without responses being observed in other genetic subsets. Nonetheless, clinical value in different genetic AML subsets, response duration as well as optimal time-sequence with alloHCT should be further explored in prospective trials.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

References

[1] S.A. Buckley, et al., Minimal residual disease prior to allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia: a meta-analysis, Haematologica 102 (2017) 865–873.

[2] C.D. DiNardo, et al., Azacitidine and venetoclax in previously untreated acute myeloid leukemia, N. Engl. J. Med. 383 (2020) 617–629.

[3] C.A. Lachowiez, et al., Outcomes of older patients with NPM1-mutated AML: current treatments and the promise of venetoclax-based regimens, Blood Adv. 4 (2020) 1311–1320.

[4] D.A. Pollyea, et al., Impact of venetoclax and azacitidine in treatment-naïve patients with acute myeloid leukemia and IDH1/2 mutations, Clin. Cancer Res 28 (2022) 2753–2761.

[5] Pratz K.W et al., Long-Term Follow-up of the Phase 3 Viale-a Clinical Trial of Venetoclax Plus Azacitidine for Patients with Untreated Acute Myeloid Leukemia Ineligible for Intensive Chemotherapy [abstract]. In: 64th ASH Annual Meeting and Exposition [Internet]. 64th ASH Annual Meeting and Exposition: 10-13 December 2022. New Orleans. Washington DC: American Society of Hematology; 10 December 2022. Available from: https://ash.confex.com/ash/2022/webprogram/Paper158518.html.

[6] D.A. Pollyea, et al., Venetoclax with azacitidine disrupts energy metabolism and targets leukemia stem cells in patients with acute myeloid leukemia, Nat. Med. 24 (2018) 1859–1866.

[7] C.D. DiNardo, et al., Venetoclax combined with FLAG-IDA induction and consolidation in newly diagnosed acute myeloid leukemia, Am. J. Hematol. 97 (2022) 1035–1043.

[8] I.S. Tiong, et al., Venetoclax induces rapid elimination of NPM1 mutant measurable residual disease in combination with low-intensity chemotherapy in acute myeloid leukaemia, Br. J. Haematol. 192 (2021) 1026–1030.

[9] H. Döhner, et al., Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel, Blood 129 (2017) 424–447.

[10] M. Heuser, et al., 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party, Blood 138 (2021) 2753–2767.

[11] Döhner H. et al., ELN Risk Stratification Is Not Predictive of Outcomes for Treatment-Naïve Patients with Acute Myeloid Leukemia Treated with Venetoclax and Azacitidine [abstract]. In: 64th ASH Annual Meeting and Exposition [Internet]. 64th ASH Annual Meeting and Exposition: 10-13 December 2022. New Orleans. Washington DC: American Society of Hematology; 11 December 2022. Available from: https://ash.confex.com/ash/2022/webprogram/Paper169509.html.

[12] K.W. Pratz, et al., Measurable residual disease response and prognosis in treatment-naïve acute myeloid leukemia with venetoclax and azacitidine, J. Clin. Oncol. 40 (2022) 855–865.

[13] C.C. Chua, et al., Treatment-free remission after ceasing venetoclax-based therapy in patients with acute myeloid leukemia, Blood Adv. 6 (2022) 3879–3883.

[14] H. Döhner, et al., Prognostic impact of NPM1 and FLT3 mutations in patients with AML in first remission treated with oral azacitidine, Blood 140 (2022) 1674–1685.

[15] G.J. Roboz, et al., Oral azacitidine prolongs survival of patients with AML in remission independently of measurable residual disease status, Blood 139 (2022) 2145–2155.

Carlos Jiménez-Vicente
Hematology Department, Hospital Clínic Barcelona, Spain
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain
University of Barcelona, Barcelona, Spain

Alexandra Martínez-Roca
Hematology Department, Hospital Clínic Barcelona, Spain
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

Helena Pomares
Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain
Hematology Department, Institut Català d'Oncologia - Hospital Duran i Reynals, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

Sandra Castaño-Diez
Hematology Department, Hospital Clínic Barcelona, Spain
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

Francesca Guijarro
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain
Hemopathology Unit, Pathology Department. Hospital Clinic Barcelona, Spain

Mònica López-Guerra
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain
Hemopathology Unit, Pathology Department. Hospital Clinic Barcelona, Spain
Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer (CIBERONC), Madrid, Spain

Alex Bataller
Hematology Department, Hospital Clínic Barcelona, Spain
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain
Josep Carreras Leukemia Research Institute, Barcelona, Spain

Daniel Esteban, Albert Cortés-Bullich, Amanda Isabel Pérez-Valencia
Hematology Department, Hospital Clínic Barcelona, Spain

Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

Ares Guardia-Torrelles, Inés Zugasti
Hematology Department, Hospital Clínic Barcelona, Spain

Montserrat Rovira
Hematology Department, Hospital Clínic Barcelona, Spain
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain
University of Barcelona, Barcelona, Spain

Francesc Fernández-Avilés
Hematology Department, Hospital Clínic Barcelona, Spain
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

Dolors Colomer
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain
Hemopathology Unit, Pathology Department, Hospital Clínic de Barcelona, Spain

Montserrat Arnan
Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain
Hematology Department, Institut Català d'Oncologia - Hospital Duran i Reynals, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

Marina Díaz-Beyá
Hematology Department, Hospital Clínic Barcelona, Spain
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain
Josep Carreras Leukemia Research Institute, Barcelona, Spain

Jordi Esteve*
Hematology Department, Hospital Clínic Barcelona, Spain
Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain
University of Barcelona, Barcelona, Spain
Josep Carreras Leukemia Research Institute, Barcelona, Spain

* Correspondence to: Department of Hematology, Hospital Clínic of Barcelona, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain.
E-mail address: jesteve@clinic.cat (J. Esteve).

5. Quinta publicación

Título: Resultados en vida real de supervivencia tras recaída de pacientes tratados con venetoclax y agentes hipometilantes en leucemia mieloide aguda

Introducción:

Venetoclax combinado con agentes hipometilantes (VenHMA) se ha establecido como tratamiento de primera línea en pacientes con LMA no candidatos a quimioterapia intensiva, pero la mayoría de ellos recaen tras la respuesta morfológica inicial, por lo que se deben plantear nuevas opciones terapéuticas. Los resultados tras el fracaso de VenHMA no se han estudiado ampliamente en la práctica real.

Objetivos:

Evaluar la supervivencia global (SG) y la tasa de de tratamientos de rescate y efectividad de los mismos en pacientes con LMA tras fracaso de VenHMA en tres centros de Barcelona entre septiembre de 2019 y diciembre de 2023.

Métodos:

Estudio retrospectivo de 67 pacientes diagnosticados de LMA que habían presentado una recaída tras tratamiento con VenHMA. Se excluyeron aquellos que recibieron trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos tras respuesta a VenHMA. La OS se estimó por Kaplan–Meier, utilizando la respuesta a tratamiento de rescate como variable dependiente de tiempo, por lo que para este subanálisis se usó el método de Mantel–Byar. El análisis univariado de supervivencia se analizó mediante log-rank,

Resultados:

De los 67 pacientes analizados (mediana de edad 75 años; 70,1 % con riesgo adverso según la ELN 2022), el 62,7 % recayó tras una respuesta inicial y el 27,3 % fue refractario. De los 42 que respondieron, el 92,3 % logró CR o CRi (66,6 % CRi) tras una mediana de un ciclo. La supervivencia global tras fracaso de

VenHMA fue muy limitada, con una mediana de 2,3 meses (IC 95 %: 1,8–4,6) sin diferencias entre refractarios y pacientes que presentaron respuesta inicial (p=0,28). En 18 pacientes reevaluados, el 61,1 % presentó mutaciones emergentes (*FLT3-TKD, NRAS, TP53,* entre otras). Solo 13 pacientes (30,9 %) recibieron algún tratamiento de rescate, con una tasa de respuesta global del 23,3 % y sin mejora significativa de la SG (2,2 vs. 4 meses; p=0,22). El 45,2 % de los pacientes pudo tener activado un servicio de cuidados paliativos, de los cuales únicamente el 21,4 % falleció en domicilio.

Conclusiones:

El pronóstico tras fracaso de VenHMA es muy desfavorable en pacientes diagnosticados con LMA no tributarios de quimioterapia intensiva, lo que se refleja en una SG mediana inferior a 3 meses. Se necesitan nuevas estrategias terapéuticas de rescate y mayor acceso a terapias dirigidas en estos pacientes.

haematologica
Journal of the Ferrata Storti Foundation

Real-life outcome after failure to venetoclax and hypomethylating-based therapy for acute myeloid leukemia

by Carlos Jiménez-Vicente, Iago Arribas, Helena Pomares, Guillermo Ramil, Sandra Castaño-Diez, Amanda Isabel Pérez-Valencia, Antonella Luciana Sturla, Mònica López-Guerra, Alexandra Martinez-Roca, Inés Zugasti, Francesca Guijarro, Albert Cortés-Bullich, Beatriz Merchán, Ana Triguero, Inés Monge, Albert Tuca, Guadalupe Oñate, Ana Garrido, Jorge Sierra, Montserrat Arnan, Jordi Esteve, and Marina Díaz-Beyá and Spanish CETLAM Group.
Collaborative Groups: Spanish CETLAM Group.

Received: September 7, 2024.
Accepted: January 14, 2025.

Citation: Carlos Jiménez-Vicente, Iago Arribas, Helena Pomares, Guillermo Ramil, Sandra Castaño-Diez, Amanda Isabel Pérez-Valencia, Antonella Luciana Sturla, Mònica López-Guerra, Alexandra Martinez-Roca, Inés Zugasti, Francesca Guijarro, Albert Cortés-Bullich, Beatriz Merchán, Ana Triguero, Inés Monge, Albert Tuca, Guadalupe Oñate, Ana Garrido, Jorge Sierra, Montserrat Arnan, Jordi Esteve, and Marina Díaz-Beyá and Spanish CETLAM Group.
Collaborative Groups: Spanish CETLAM Group.
Real-life outcome after failure to venetoclax and hypomethylating-based therapy for acute myeloid leukemia.
Haematologica. 2025 Jan 23. doi: 10.3324/haematol.2024.286589 [Epub ahead of print]

Publisher's Disclaimer.
E-publishing ahead of print is increasingly important for the rapid dissemination of science. Haematologica is, therefore, E-publishing PDF files of an early version of manuscripts that have completed a regular peer review and have been accepted for publication.
E-publishing of this PDF file has been approved by the authors.
After having E-published Ahead of Print, manuscripts will then undergo technical and English editing, typesetting, proof correction and be presented for the authors' final approval; the final version of the manuscript will then appear in a regular issue of the journal.
All legal disclaimers that apply to the journal also pertain to this production process.

Real-life outcome after failure to venetoclax and hypomethylating-based therapy for acute myeloid leukemia

Carlos Jiménez-Vicente[1,2,3], Iago Arribas[4], Helena Pomares[4], Guillermo Ramil[5], Sandra Castaño-Diez[1,2], Amanda Isabel Pérez-Valencia[1,2], Antonella Luciana Sturla[4], Mònica López-Guerra[2,6,7], Alexandra Martinez-Roca[1,2], Inés Zugasti[1,2,3], Francesca Guijarro[2,6], Albert Cortés-Bullich[1,2], Beatriz Merchán[1], Ana Triguero[1,2], Inés Monge[8], Albert Tuca[9], Guadalupe Oñate[5], Ana Garrido[5], Jorge Sierra[5], Montserrat Arnan[4], Jordi Esteve[1,2,3,10*] and Marina Díaz-Beyá[1,2,3,10*]

[1] Hematology Department. Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain.

[2] Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

[3] University of Barcelona, Barcelona, Spain

[4] Hematology Department, Institut Català d'Oncologia - Hospital Duran I Reynals; Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

[5] Department of Hematology. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universitat Autònoma de Barcelona and IIB Sant Pau

[6] Hemopathology Unit, Pathology Department. Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona, Spain.

[7] Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer (CIBERONC), Madrid, Spain.

[8] Pharmacy Department, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona

[9] Medical Oncology Department, Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona

[10] Josep Carreras Leukemia Research Institute, Barcelona, Spain.

MDB and JE contributed equally in the senior authorship of this study. Collaborative Groups: Spanish CETLAM Group.

Corresponding author: Marina Diaz-Beyá. Hematology Department, Hospital Clínic of Barcelona. Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain. Tel: 34 93 227 54 28; Fax: 34 93 227 54 84; e-mail: diazbeya@clinic.cat

1. Data Availability Statement: Due to privacy and ethical considerations, the data underlying the findings of this study can be obtained by contacting the corresponding author.

2. Conflict of interest disclosure: CJV serves as educational speaker for AbbVie and received travel grants from AbbVie, Jazz Pharmaceuticals and Pfizer. FG serves as educational speaker for AbbVie. AMR serves as a consultant or in an advisory role, for Bristol Myers Squibb (BMS), AbbVie, and Kite Gilead; received travel grants from Kite Gilead, Roche, Takeda, Janssen, and AbbVie; and serves as a speaker for AbbVie and Gilead. MDB serves as a consultant for, in an advisory role for, received travel grants from, or served as speaker for BMS, AbbVie, Astellas, JazzPharma, Takeda, and Novartis. JE declares consultancy honoraria from AbbVie, Novartis, Astellas, Jazz Pharmaceuticals, BMS-Celgene, Pfizer, and Daichii-Sankyo, and received research grants from Novartis, Jazz Pharmaceuticals, and Pfizer. The remaining authors declare no competing financial interests. The founders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of the data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

3. Author contributions: CJV and MDB designed the study, performed the statistical analysis and wrote the manuscript; JE and MDB supervised the study; HP, IA, GR, SCD, AIPV, ASL, MLG, AMR, IZ, FG, ACB, BM, AT, IM, GO and AG collected data. All authors contributed valuable revisions and approved the final version of the manuscript.

Venetoclax and azacitidine became the gold standard frontline treatment for patients diagnosed with acute myeloid leukemia (AML) ineligible for intensive chemotherapy (unfit) since the publication of the phase III Viale-A trial in 2020[1] with a better composite response rate and an increased median overall survival (OS) compared to azacitidine .

Though the treatment changed the paradigm in AML unfit patients, the results of the long-term follow-up of the Viale-A[2] and the real-life series[3] have shown that eventually most patients will relapse. After failure, outcome has not been broadly studied. Only selected patients, especially those with actionable targets (e.g., *NPM1, IDH1/2 or FLT3* mutation,*or KMT2A* rearrangement) may benefit from salvage treatment if available at this moment, including clinical trial enrollment.

Here, we analyze the outcomes of AML patients after failure to venetoclax in combination with hypomethylating agents (VenHMA), with an emphasis on salvage feasibility after relapse.

We performed a retrospective study with patients treated with VenHMA at three academic centers in the metropolitan area of Barcelona (Hospital Clínic de Barcelona, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, and Hospital Duran i Reynals) between September 2019 and December 2023. All patients received VenHMA as frontline therapy, with an initial dose of venetoclax 400mg daily during 21 or 28 days and hypomethylating agents at standard dose in 4-week cycles. Patients who subsequently underwent allogeneic hematopoietic cell transplantation were excluded from the study. Dose decrease was decided based on myelotoxicity during treatment at the discretion of the physicians. The study was approved by the Ethics Committee of the Hospital Clínic de Barcelona and conducted following standards set forth by the Declaration of Helsinki. Our primary endpoint was to analyze the overall survival after treatment failure to VenHMA, defined as treatment inefficacy to obtain any morphological response according to the ELN 2022 response criteria. Secondary objectives included studying salvage treatments offered in patients who relapsed, including their overall response rate (ORR) and palliative care policy applied.

AML was classified according to the ICC 2022 and WHO 5th classification of myeloid neoplasms[4,5]. AML disease risk stratification and response criteria during treatment were assessed locally at each center, in all cases according to the 2022 European LeukemiaNet risk criteria[6] (ELN 2022). Cytogenetics were assessed on G-banded metaphase cells and next generation sequencing (NGS) at diagnosis were performed with the Ion AmpliSeq™ AML Research Panel, Oncomine™ Myeloid Research Assay

and the Healthincode Haematology OncoKitDx™. Performance status (PS) was assessed according to the Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) score[7].

Median and range were used for continuous variables and frequency and percentage for categorical variables. OS was defined as survival from confirmed morphological relapse or treatment refractoriness onwards, being estimated using the Kaplan-Meier method. Univariate analyses for survival were done using the log-rank test. Time-dependent variates for survival were analyzed using the Mantel-Byar method. All p values were two-sided with statistical significance evaluated at the 0.05 alpha level. All statistical analyses were performed with R statistics version 4.0.3 (R core Team, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Sixty-seven patients were included, 42 of them relapsing after an initial response (62.7%) and 25 after treatment refractoriness (27.3%). Baseline characteristics are displayed in Table 1. Median age was 75 years (range 33-91) in both subgroups, with males comprising 61.6% of the participants.

AML with myelodysplasia-related (MR) gene mutations was the most frequent diagnosis (29/67 of all patients, 38.2%). According to the ELN 2022 risk classification, 4 patients had a favorable risk (6%), 16 (23.9%) had an intermediate risk and 47 an adverse risk (70.1%). Most frequent mutations were observed in *TET2* (29.8%), *ASXL1* (26.3%) and *RUNX1* (24.6%) (Figure 1S). Seventeen patients (33%) harbored an actionable mutation, including *FLT3* (n=7), *IDH1/2* (n=15) and/or *NPM1*/*KMT2A*r (n=10). Eight of these patients (10.5%) had previously received azacytidine during MDS phase.

Response characteristics to VenHMA can be seen in Table 1S. Out of the 67 patients, 25 patients (37%) were initially refractory while 42 (63%) relapsed. Complete response (CR) without hematologic recovery (66.6%, 28/42) was the most frequent response while CR + CRi rate was 92.3%. Median cycles to response were 1 (range 1-3) and median cycles received were 6 (range 2-16).

OS was 2.3 months (95% CI: 1.8-4.6, Figure 2S) with no difference between patients who achieved any response and refractory patients (2.8 vs. 1.2 months, p = 0.28, Figure 1A). There were no differences in OS by the mutational landscape of the patients (2.5 vs. 1 month, p = 0.27). After relapse, a molecular reassessment was performed in 18 patients, with emergent mutations in 11 of them (61.1%). Emergent mutations in *FLT3-TKD, NRAS*, *TP53* (n = 2 each) and *KRAS and FLT3-ITD* (n = 1 each) were the most relevant mutations.

Only 13 patients (30.9%) could undergo salvage treatment, including 6 patients enrolled in different clinical trials. Three patients underwent standard chemotherapy after VenHMA with no response to treatment, Five patients were treated with targeted therapies: 2 with *FLT3* inhibitor gilteritinib, 2 enrolled in clinical trials with *IDH1/2* inhibitors and one in a clinical trial with a menin inhibitor. Salvage ORR rate was 3/13 patients (23.3%) (one CR and one CRi with in *IDH1/2* inhibitors within clinical trials, and one CR to gilteritinib).

Reasons to rule out salvage treatment included lack of suitable treatment at physician's discretion in 20 patients (54.9%), comorbidities (13.7%), lack of available clinical trial (CT) or targeted therapy in 2 patients and CT screening failure in one patient. We could not observe differences in OS by receiving a salvage treatment (2.2 vs 4 months, p = 0.22, Figure 1B) (Table 2S). OS if achieving a CR after salvage was 11.6 months vs. 2.53 in refractory patients (p = 0.17, Figure 1C)

Finally, a hospice care team was enabled in 19 patients after relapse (45.2%), while the rest of patients could not have access to any special care system at home that could enhance comfort and quality of life during their last days of life. Within these palliative measures, 9 of these patients died at home (21.4%) while the rest of the patients required a last admission before death.

This study highlights the poor outcome of unfit patients diagnosed with AML after frontline therapy failure with VenHMA. The low percentage of patients that are able to undergo salvage treatment in our setting (30%) and its lack of efficacy would explain the dismal survival after VenHMA discontinuation (2.3 months). To our knowledge, this study represents the first approach to survival after progressive disease to VenHMA in AML in a European real-world data cohort.

In this context, of the main struggles to offer adequate salvage treatments relies on the accessibility. Previous to this report, only series of patients treated mostly within the United States of America have been published, and in two cases, patients had been enrolled in the Viale A study[2,8,9]. Interestingly, the percentage of patients that underwent salvage treatment (24/41 (58.5%), 11/71 (15%) and 59/171 (34.5%)) and its ORR differ a lot between the studies, remarking also the variability of therapeutical options between centers in this context and the feasibility to receive therapy after failure. The recent long-term follow-up of the Viale A shows a longer survival after treatment failure (6 months), probably based on a relatively high percentage of patients treated afterwards and the CT selection bias.

Some targeted therapies have recently shown promising activity this refractory/relapsed to VenHMA setting, such as revumenib[10] in *KMT2A* rearranged and *NPM1* AML, or recently, myeloid kinase inhibitor tuspetinib[11], but only gilteritinib[12] in monotherapy for R/R AML with *FLT3* mutation is approved in Europe while enasidenib[13] and ivosidenib have FDA approval in this R/R

Treatment after VenHMA failure is a current unmet need in unfit AML patients, clearly observed in our series, the salvage treatment rate was only 25%, although a 33% of the patients presented an actionable target, and all responses after VenHMA were achieved using therapies against them. Therefore, in this setting, where the main objective is to offer salvage treatment to all eligible patients, targeted therapies become essential nowadays. There is, though, relevant differences in the drug access between the European and American setting that hinder its prescription and that should probably more noticed in the standard treatment guidelines.

If there are not any available options, clinical trial enrollment is needed to add new options to the therapeutical arsenal, since it is the best likely option in all patients without any actionable targets after VenHMA.

Finally, we remark the palliative care relevance in this setting, whose rates had not been published yet. Although the activation of hospice care is improving through years, less than 50% of the patients benefited from it in our study. We consider it really low, though similar to what has been shown in other studies related to the disease[15]. Since survival is still short after failure, its activation velocity should improve so more patients can benefit from hospice care in the future.

Limitations of this study include its retrospective nature and the limited size of the cohort and patients receiving salvage treatments which underpowers the likely differences observed. Further knowledge is needed in studies with more patients included.

BIBLIOGRAPHY

1. DiNardo CD, Pratz KW, Pullarkat V, et al. Azacitidine and venetoclax in previously untreated acute myeloid leukemia. N Engl J Med. 2020;383(7):617-629.
2. Pratz KW, DiNardo CD, Thirman MJ, et al. Long-term follow-up of VIALE-A: venetoclax and azacitidine in chemotherapy-ineligible untreated acute myeloid leukemia. Am J Hematol. 2024;99(6):615-624.
3. Matthews AH, Perl AE, Luger SM, et al. Real-world effectiveness of CPX-351 vs venetoclax and azacitidine in acute myeloid leukemia. Blood Adv. 2022;6(13):3997-4005.
4. Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP, et al. International consensus classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: integrating morphological, clinical, and genomic data. Blood. 2022;140(11):1200-1228.
5. Khoury JD, Solary E, Abla O, et al. The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. Leukemia. 2022;36(7):1703-1719.
6. Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. Blood. 2022;140(12):1345-1377.
7. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. Am J Clin Oncol. 1982;5(6):649-655.
8. Maiti A, Qiao W, Sasaki K, et al. Outcomes of relapsed or refractory acute myeloid leukemia after frontline hypomethylating agent and venetoclax regimens. Haematologica. 2021;106(3):894-898.
9. Gangat N, Morsia E, Al-Kali A, et al. Outcome of patients with acute myeloid leukemia following failure of frontline venetoclax plus hypomethylating agent therapy. Haematologica. 2023;108(12):3170-3174.
10. Issa GC, DiNardo CD, Schuh AC, et al. The menin inhibitor revumenib in KMT2A-rearranged or NPM1-mutant leukemia. Nature. 2023;615(7954):920-924.
11. Daver N, Trotman J, Knapper S, et al. Tuspetinib myeloid kinase inhibitor safety and efficacy as monotherapy and combined with venetoclax in phase 1/2 trial of patients with relapsed or refractory (R/R) acute myeloid leukemia (AML). Blood. 2023;142(Supplement 1):162.

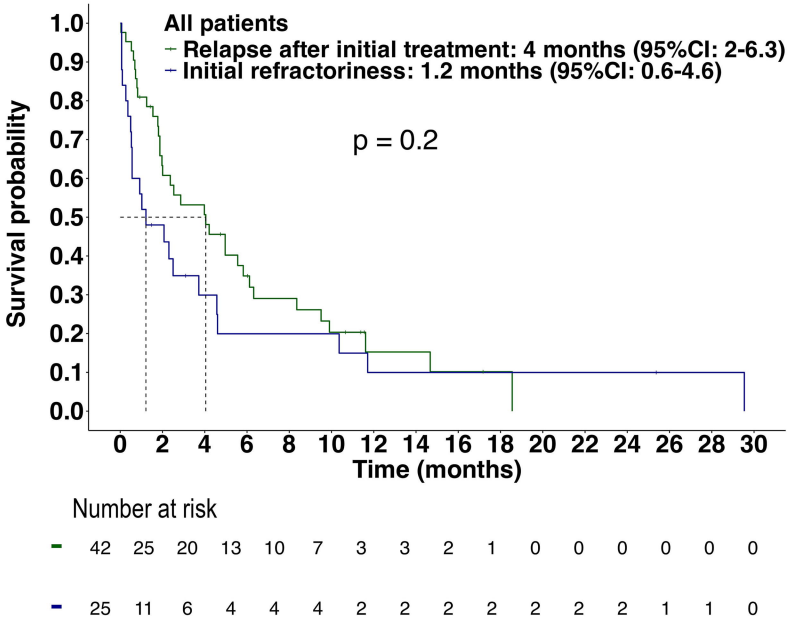
12. Perl AE, Martinelli G, Cortes JE, et al. Gilteritinib or chemotherapy for relapsed or refractory FLT3-mutated AML. N Engl J Med. 2019;381(18):1728-1740.
13. Stein EM, DiNardo CD, Pollyea DA, et al. Enasidenib in mutant IDH2 relapsed or refractory acute myeloid leukemia. Blood. 2017;130(6):722-731.
14. DiNardo CD, Stein EM, de Botton S, et al. Durable remissions with ivosidenib in IDH1-mutated relapsed or refractory AML. N Engl J Med. 2018;378(25):2386-2398.
15. Wang R, Zeidan AM, Halene S, et al. Health care use by older adults with acute myeloid leukemia at the end of life. J Clin Oncol. 2017;35(30):3417-3424.

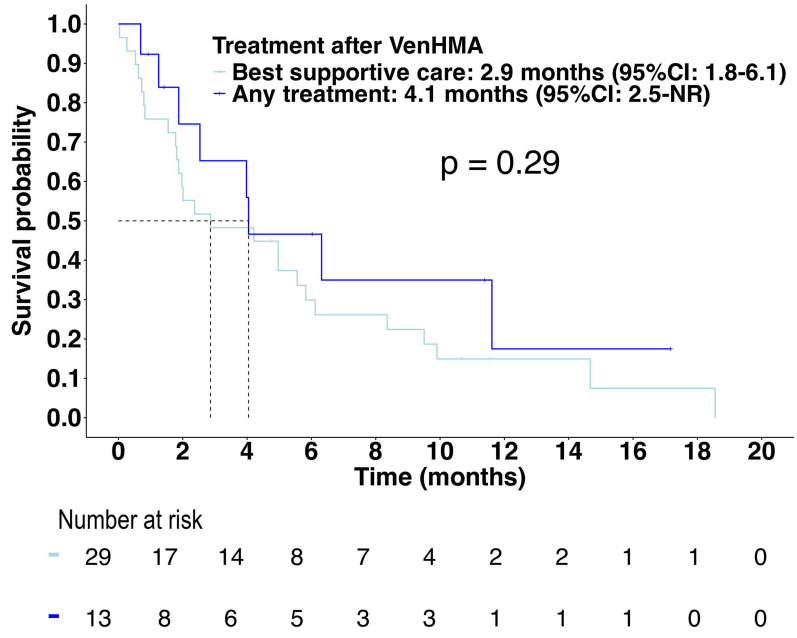
	All patients (N = 67)	Response (n = 42)	Initial refractoriness (n = 25)
Age, median (range)	75 (33-86)	75 (33-86)	75 (52-85)
Sex, n (%)			
Male	41 (61.2)	23 (54.8)	18 (72)
Female	26 (38.8)	19 (45.2)	7 (28)
Diagnosis (ICC 2022), n (%)			
AML with myelodysplasia related gene mutations	28 (41.8)	17 (40.5)	11 (44)
AML with mutated *TP53*	10 (14.9)	6 (14.3)	4 (16)
AML with myelodysplasia-related cytogenetical abnormalities	9 (13.4)	7 (16.7)	2 (8)
AML with mutated *NPM1*	8 (11.9)	6 (14.3)	2 (8)
AML, NOS	7 (10.4)	5 (11.9)	2 (8)
AML with t(9;11), *KMT2A* rearrangement	2 (3)	0 (0)	2 (8)
AML with *MECOM(EVI1)* rearrangements	2 (3)	0 (0)	2 (8)
AML with *t(8;21), RUNX1::RUNX1T1*	1 (1.)	1 (2)	0 (0)
Risk genetic scale (ELN 2022), n (%)			
Favorable	4 (6)	4 (16.7)	0 (0)

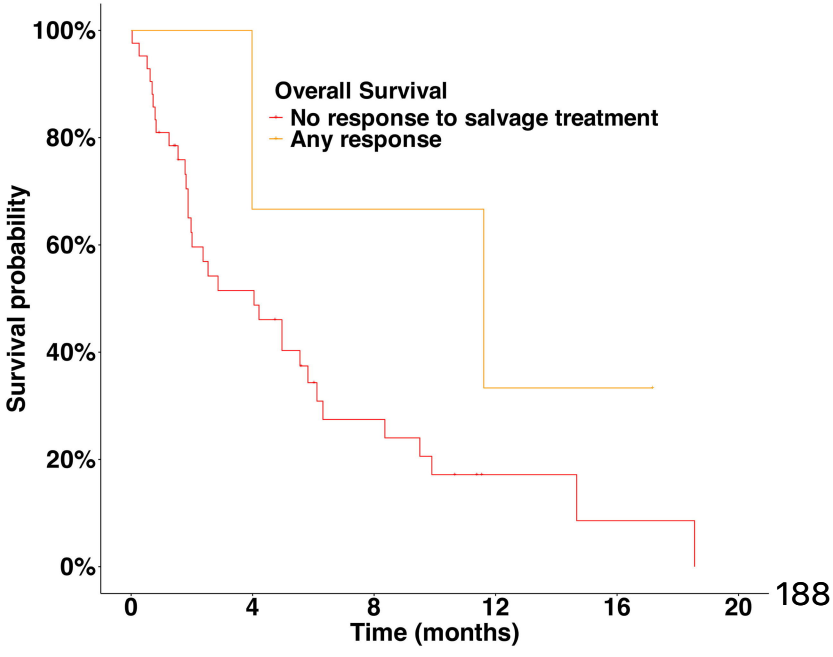
Intermediate	16 (23.9)	9 (21.4)	7 (28)
Adverse	47 (70.1)	29 (69)	18 (72)
Treatment prior to VenHMA, n (%)			
Hypomethylating agent-based regimens	8 (11.9)	4 (9.5)	4 (12)
Hypomethylating agent, n (%)			
Azacitidine	59 (88.1)	36 (85.7)	23 (92)
Decitabine	8 (11.9)	6 (14.3)	2 (8)
Hematology at PD, median (range)			
WBC (x10^9/L)	2.8 (0.6-56.3)	2.43 (0.6-41.9)	5.27 (0.7-56.3)
Hemoglobin (g/dL)	8.6 (6.7-12.5)	8.7 (6.7-12.5)	8.4 (7-10.7)
Platelets (x10^9/L)	58 (3-537)	58 (3-442)	47 (9-537)

Table 1. Baseline characteristics of all patients. AML: Acute myeloid leukemia, MDS: Myeloidysplastic syndrome, PD: Progressive disease . ICC 2022: International Consensus Classification of myeloid neoplasms 2022. ELN 2022: European Leukemianet 2022 risk stratification

Figure 1. Overall survival in patients after treatment failure with venetoclax and hypomethylating agents. 1A: Patient subgroups by previous response to treatment. 1B: Patients who obtained a response to venetoclax and hypomethylating agents by ulterior treatment. 1C: Patients with a previous response to venetoclax and hypomethylating agents by response to salvage treatment.


All patients
Relapse after initial treatment: 4 months (95%CI: 2-6.3)
Initial refractoriness: 1.2 months (95%CI: 0.6-4.6)
p = 0.2
Survival probability
Time (months)
Number at risk
42 25 20 13 10 7 3 3 2 1 0 0 0 0 0 0
25 11 6 4 4 4 2 2 2 2 2 2 2 1 1 0


Treatment after VenHMA
Best supportive care: 2.9 months (95%CI: 1.8-6.1)
Any treatment: 4.1 months (95%CI: 2.5-NR)
p = 0.29
Survival probability
Time (months)
Number at risk
29 17 14 8 7 4 2 2 1 1 0
13 8 6 5 3 3 1 1 1 0 0


Overall Survival
No response to salvage treatment
Any response
Survival probability
Time (months)
188

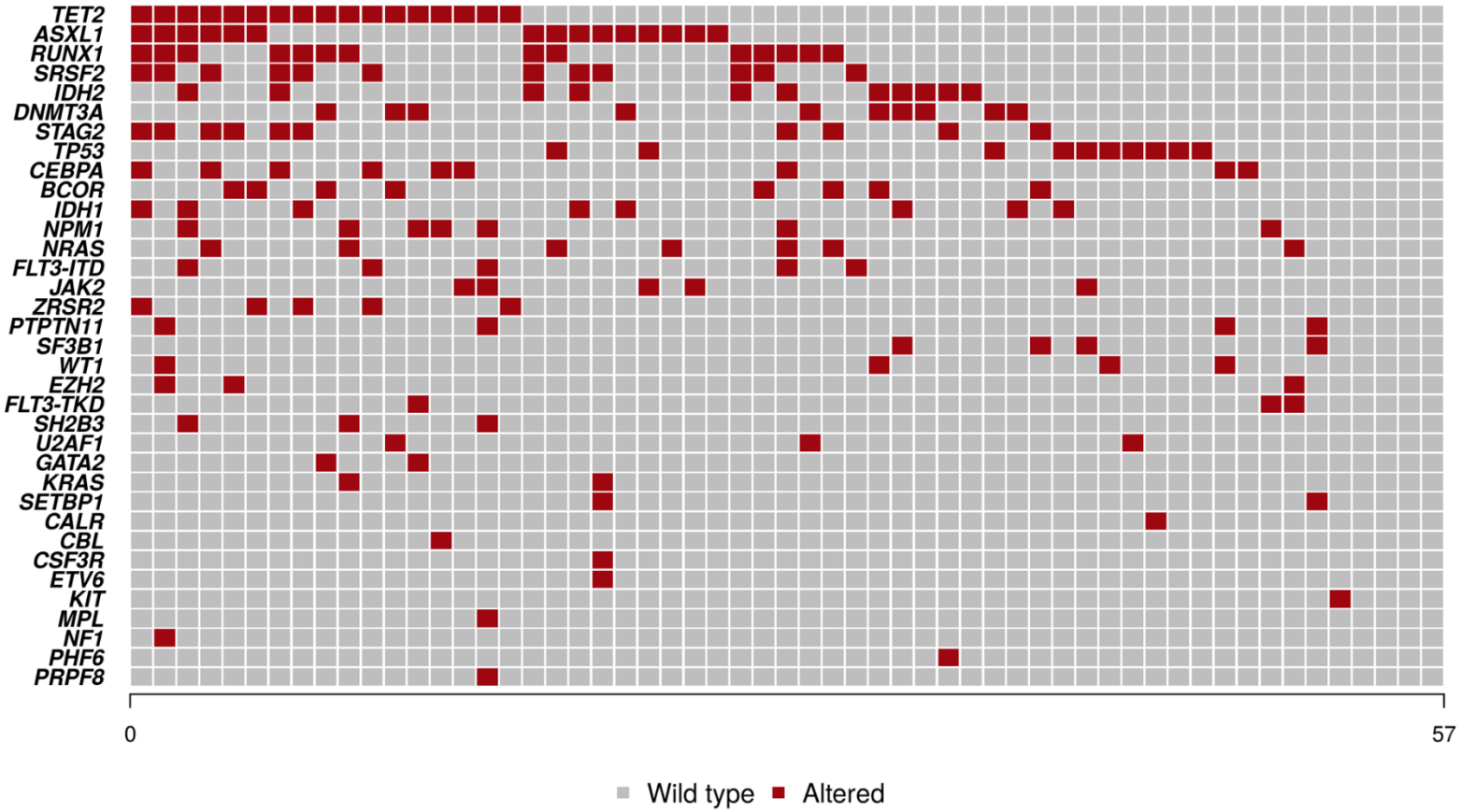


Figure 1S. Mutational landscape of the patients, both refractory and relapsed, included in the study who had undergone a next generation sequencing (NGS) assessment at diagnosis.

Overall response rate, n (%)	**Response (n = 42)**
CR + CRi	39 (92.9)
Complete response with negative MRD	7 (16.7)
Complete response with positive MRD	4 (9.5)
CRi with negative MRD	4 (9.5)
CRi with positive MRD	24 (57.1)
Partial response	3 (7.1)
Cycles to achieve any response, median (range)	1 (1-3)
Total cycles administered, median (range)	6 (2-16)
Hospice care active after PD, n (%)	19 (45.3)
Death at home after progressive disease, n (%)	9 (21.4)

Table 1S. Response characteristics to frontline treatment with VenHMA before end of treatment. CR: Complete Response, CRi: Complete Response without Hematological Recovery**.** MRD: Measurable residual disease. PD: Progressive disease

Salvage treatment after VenHMA, number (%)	**13 (30.1)**
Clinical trial enrollment	6 (14.3)
IDH inhibitors	2 (4.8)
Cereblon E3 Ligase Modulator	2 (4.8)
Myeloid kinase inhibitor	1 (2.4)
Menin inhibitor	1 (2.4)
Standard chemotherapy	3 (7.1)
Gilteritinib	2 (4.8)
Low-dose cytarabine	1 (2.4)
Magrolimab + azacitidine	1 (2.4)
ORR after salvage treatment, number (%)	3/13 (23.1)
IDH inhibitor in CT	2 (66.6)
Gilteritinib	1 (33.3)
LFS after second response, median (months, range)	8 (3-12)
Best supportive care after VenHMA	29 (69)
Lack of suitable treatment	19 (65.5)
Lack of available CT	2 (4.8)
Comorbidities	7 (16.7)
CT screening failure	1 (2.4)

Table 2S. Salvage therapeutical options in the patients included in the study. VenHMA: Venetoclax in combination with hypomethylating agents. ORR: Overall response rate. LFS: LFS:Leukemia-free survival. PD: Progressive disease. CT: Clinical trial.

6. Sexta publicación

Título: Valor pronóstico de la enfermedad residual medible para venetoclax en combinación con agentes hipometilantes en pacientes diagnosticados de leucemia mieloide aguda: validación de las recomendaciones del 2021 de la European LeukemiaNet.

Introducción:

El estudio secuencial de la enfermedad residual medible (ERM) ha demostrado valor pronóstico en pacientes diagnosticados de leucemia mieloide aguda (LMA) tratados con esquemas de quimioterapia intensiva. En pacientes tratados con regímenes de baja intensidad basados en venetoclax se ha demostrado que también tiene relevancia en los pacientes incluidos en el ensayo fase 3 pivotal Viale-A, Sin embargo, este papel aún no presenta una evidencia clara en cohortes de vida real siguiendo las recomendaciones de la European LeukemiaNet (ELN) publicadas en 2021.

Objetivos:

Analizar de la tasa de respuesta a nivel de ERM el papel pronóstico para la supervivencia global (OS) y supervivencia libre de leucemia (LFS) del seguimiento secuencial de la ERM en pacientes diagnosticados de LMA tratados con venetoclax en combinación con agentes hipometilantes que hubieran alcanzado una respuesta hematológica completa durante el tratamiento.

Métodos:

Estudio multicéntrico retrospectivo de 99 pacientes diagnosticados de LMA tratados con venetoclax en combinación con agentes hipometilantes a dosis estándar. ERM evaluada mediante PCR cuantitativa (*NPM1* y genes de fusión y citometría de flujo multiparamétrica para el resto, de acuerdo con las recomendaciones de la ELN. Estimadores de supervivencia estimados mediante el método de Mantel–Byar y utilizando Kaplan-Meier con estudio de tiempo

establecido como momento determinante (l*andmark*). El análisis multivariado se calculó utilizando regresión de Cox multivariada para variables pronósticas

Resultados:

La mediana de edad fue de 74 años, siendo el 51.5% mujeres. La respuesta a nivel de ERM se obtuvo de manera progresiva durante el tratamiento, con una tasa final del 52,6%. La mediana de ciclos a la respuesta de ERM fue 2. Los pacientes que presentaron respuesta a nivel de ERM tuvieron major supervivencia en términos de OS (23.3 vs. 15.2 meses, $p < 0.001$) y LFS (20.3 vs. 10.5 meses, $p = 0.02$). El análisis de supervivencia mediante *landmark* tuvo valor pronóstico estadísticamente significativo a los 2 ciclos de tratamiento, sin tener valor pronóstico en el resto de puntos estudiados.

Los hallazgos estudiados fueron positivos también independientemente de la técnica utilizada para el análisis (PCR cuantitativa o citometría de flujo multiparamétrica), con una meseta en la supervivencia en los pacientes que fueron analizados mediante PCR cuantitativa, que estaban fundamentalmente diagnosticados con LMA con mutación de *NPM1*).

Por último, el análisis multivariado confirmó el valor pronóstico de la ERM en términos de OS y LFS e identificó que los pacientes que alcanzaron una respuesta completa con o sin recuperación hemoperiférica presentaron una mejor LFS.

Conclusiones:

Los hallazgos de este estudio remarcan el relevante papel del seguimiento secuencial de la ERM durante el tratamiento con VenHMA en pacientes diagnosticados de LMA.

Prognostic Value of Measurable Residual Disease (MRD) for Venetoclax in combination with Hypomethylating Agents in Patients Diagnosed with Acute Myeloid Leukemia: Validation of the ELN-2021 MRD Recommendations.

Carlos Jimenez-Vicente[1,2,3], Aina Cardus[2], Sandra Castaño-Diez [1,2,4,], Guillermo Ramil[5], Sara Garcia-Avila[6], Lucia Gomez-Perez[6], Daniel Esteban[7], Iago Arribas[8], Antonella Lucia Sturla[8], Monica Lopez-Guerra[2,4,9], Alexandra Martinez-Roca[1,2], Albert Cortes-Bullich[1,2], Amanda Isabel Perez-Valencia[1,2], Ines Zugasti[1], Ines Monge[10], Esther Carcelero[10], Ferran Vall-Llovera[11], Susana Vives[7], Jorge Sierra[5], Josep Nomdedeu[5], Guadalupe Oñate[5], Ana Garrido[5], Marta Pratcorona[5], Helena Pomares[8], Montserrat Arnan[8], Francesca Guijarro[2,4], Marina Diaz-Beya[1,2,3,12] and Jordi Esteve[1,2,3,12] on behalf of the Spanish CETLAM Group*.

* A full list of the Spanish CETLAM Group authors and their affiliations appears at the end of the paper.

1 Hematology Department. Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain.
2 Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain
3 University of Barcelona, Barcelona, Spain
4 Hemopathology Unit, Pathology Department. Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona, Spain.
5 Hematology Department. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universitat Autònoma de Barcelona and IIB Sant Pau
6 Hematology Department. Hospital del Mar, Barcelona, España. Hospital del Mar Research Institute, Barcelona, Spain
7 Hematology Department. ICO-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Institut de Recerca Josep Carreras. Badalona. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. Spain.
8 Hematology Department, Institut Català d'Oncologia - Hospital Duran I Reynals; Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain
9 Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer (CIBERONC), Madrid, Spain.
10 Pharmacy Department, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona
11 Hospital Universitari Mutua Terrassa, Terrassa, Barcelona
12 Josep Carreras Leukemia Research Institute, Barcelona, Spain.

Corresponding author: Jordi Esteve. Hematology Department, Hospital Clínic of Barcelona. Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain. Tel: 34 93 227 54 28; Fax: 34 93 227 54 84; e-mail: jesteve@clinic.cat

- Data Availability Statement: Due to privacy and ethical concerns, the data that support the findings of this study are available upon request from the corresponding author.

- Funding Sources: Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), co-funded by the European Union. Grant Numbers:, FIS PI22/01660

- Conflict of interest disclosure: CJV serves as educational speaker for AbbVie and Pfizer and received travel grants from AbbVie, Jazz Pharmaceuticals and Pfizer. SV received travel, accommodations, and expenses from Astellas Pharma, Pfizer, Servier, AbbVie, and Jazz Pharmaceuticals; serves as consultant or in an advisory role (without honoraria) for Astellas Pharma, Pfizer, Servier, AbbVie, and Jazz Pharmaceuticals FG serves as educational speaker for AbbVie. AMR serves as a consultant or in an advisory role, for Bristol Myers Squibb (BMS), AbbVie, and Kite Gilead; received travel grants from Kite Gilead, Roche, Takeda, Janssen, and AbbVie; and serves as a speaker for AbbVie and Gilead. MDB serves as a consultant for, in an advisory role for, received travel grants from, or served as speaker for BMS, AbbVie, Astellas, JazzPharma, Takeda, and Novartis. JE declares consultancy honoraria from AbbVie, Novartis, Astellas, Jazz Pharmaceuticals, BMS-Celgene, Pfizer, and Daichii-Sankyo, and received research grants from Novartis, Jazz Pharmaceuticals, and Pfizer. The remaining authors declare no competing financial interests. The founders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of the data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

- Ethics approval statement: The study was approved by the Ethics Committee of the Hospital Clínic de Barcelona and conducted following standards set forth by the Declaration of Helsinki.

- Patient consent statement: All patients provided their informed consent for the use of laboratory results and genetic analyses

- Author contributions: CJV designed the study, performed the statistical analysis and wrote the manuscript; JE and MDB supervised the study and contributed to manuscript writing; AC, GR, GO, IA, SGA, LGP, DE, ALS, FG, MLG, SCD, AMR, ACB, AMT, AIPV, IZ, IM, EC, FVL, SV, JS, JN, AG, MP, HP, MA, and FG collected data. All authors contributed valuable revisions and approved the final version of the manuscript.

Key words: Acute myeloid leukemia (AML), Venetoclax, Hypomethylating agents, Measurable Residual Disease (MRD), RT-qPCR, Multiparametric Flow Cytometry (MFC)

MRD monitoring has increasingly emerged as a pivotal dynamic biomarker in acute myeloid leukemia (AML), offering additional prognostic value beyond baseline disease genetics and standard response assessment (1,2). While MRD evaluation using reverse-transcription quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) and multiparametric flow cytometry (MFC) has been well established in patients undergoing intensive chemotherapy (3), its role in low-intensity venetoclax-based regimens remains less clearly defined. Although recent work has separately demonstrated the prognostic significance of MFC(4–6) and NPM1-based RT-qPCR in NPM1-mutated AML patients receiving venetoclax plus hypomethylating agents, (7), further evidence is needed to establish real-life impact of MRD in this clinical setting. Our multicenter retrospective analysis, conducted within the Spanish CETLAM Group, was designed to address this gap. Here, we evaluated the impact of MRD response assessed according to the 2021 European LeukemiaNet (ELN) recommendations on survival outcomes in a real-world cohort.

In our study, we analyzed retrospectively 99 patients, diagnosed with AML according to the ICC 2022 (8) and WHO 5th (9) and stratified according to the latest ELN risk classifications(10,11), who achieved a morphological complete response after receiving at least two cycles of venetoclax in combination with hypomethylating agents (VenHMA) (Supplementary Figure 1). Adult patients were treated between March 2019 and July 2024 across six centers within the Spanish CETLAM Group.

Treatment consisted of standard schedule of venetoclax (target dose of 400 mg per day) in combination with either azacitidine or decitabine, and the cohort included both newly diagnosed and relapsed/refractory patients. MRD assessment followed ELN 2021 criteria (3), and was performed using a decentralized protocol with harmonized cutoffs across centers. For those patients with molecular markers, namely *NPM1* mutation or core-binding factor fusion transcripts (i.e., *RUNX1::RUNX1T1* or *CBFB::MYH11*), MRD was assessed using RT-qPCR with a sensitivity threshold of 0.01%. In patients lacking these targets, MRD was measured by MFC with a sensitivity threshold of 0.1%,

employing a panel of markers including CD34, CD117, CD45, CD33, CD13, CD56, CD7, and HLA-DR. Primary endpoint was to analyze the prognostic value of MRD in overall survival (OS), while leukemia-free survival (LFS) and the correlation of MRD response with other variables were the secondary endpoints.

We used $\chi 2$ (Fisher's exact test when indicated) and Wilcoxon's rank-sum tests to compare categorical and continuous variables, respectively. MRD impact on OS and LFS was assessed as a time-dependent variable using the Mantel-Byar method (displayed with Simon-Makuch curves) and landmark Kaplan-Meier analysis. LFS was calculated from date of complete remission until morphological relapse, death, or last follow-up. We performed univariate analyses with log-rank test and Cox proportional hazards' model for multivariate analysis.

Baseline characteristics and response characteristics are shown in table 1. Median age was 74 years (IQR: 72-78), with women comprising 51.5% of the patients. Most patients received VenHMA as frontline therapy, while a smaller subset presented as relapsed or refractory. Patients received VenHMA as frontline therapy (ND) (n=77, 78%) or in a relapsed/refractory (R/R) (n=22, 22%) status. AML with myelodysplasia-related (MR) features were the most frequent diagnosis (n=44, 44.5%, including MR gene mutations, (38.4%), and cytogenetic abnormalities (6.1%)), followed by mutated *NPM1* (33.3%), and mutated *TP53* (13.1%)). According to the ELN 2024 genetic risk classification for lower-intensity therapies, 51.5% of the patients were classified in the favorable risk group, 19.2% in the intermediate, and 17.2% had an adverse risk. Female sex ($p = 0.01$), patients diagnosed with AML with mutated NPM1 ($p = 0.04$) and younger patients ($p < 0.001$) presented a higher MRD response rate.

Median number of treatment cycles was 6 (range 2-34). Complete response (CR) rate was 54.5%, 38.4% of the patients achieved complete response without hematological recovery (CRi) and a 7.1% of the patients a morphologic leukemia-free status (MLFS). Median cycles to achieve first response were 1 (range 1-8). Patients who achieved CR reached more frequently a MRD response during follow-up (63.5% vs. 44.7%, $p = 0.01$) (Supplementary Figure 2).

MRD during follow-up was assessed using MFC in 63 patients, and RT-qPCR in 36 patients. Overall, MRD response rate was 52.6%. Median number of cycles to MRD response was 2 (range 1-14). MRD response rates at 2, 4, 6 and 10 cycles were 25.2%, 38.4%, 45.5% and 50.5% respectively. Individual MRD response rates using MFC and RT-qPCR were 42.9% and 69.4% (Supplementary Figure 1). With a median follow-up of 12 months, 46.5% of patients ended treatment due to relapse, while due to myelotoxicity occurred in 6.1% of the patients.

Median OS and LFS of all patients were 18.8 (95% CI: 15-24.4) and 12.5 months (95% CI: 9.18-20.3), respectively. MRD response had prognostic value for both OS and LFS (Figure 1A and 1B) with a median OS of 23.3 months (95% CI: 18.8-39.5) vs. 15.2 months (95% CI: 9.11-NR), p = 0.006, and median LFS of 20.3 months (95% CI: 13.4-NR) vs. 9.2 months (95% CI: 7.1-NR), p = 0.01) and landmark analysis after 2 cycles in both cases (p< 0.0001, Supplementary Figure 3). No other landmarks were significant for outcomes (e.g., 4-cycle landmark analysis for OS: p = 0.41).

MRD response was significant regardless of the MRD assessment technique. I patients with measured by RT-qPCR, OS (NR vs. 9.2 months, p = 0.006) and LFS (42 vs. 9 months, p = 0.04. Supplementary Figure 3) were longer in MRD responders. Analysis with MFC also showed prognostic value for OS (18.9 vs .7.4 months, p < 0.001) and LFS (14.8 vs. 5.3 months, p < 0.001) (Supplementary Figure 4).

Additional prognostic factors for survival were AML with *NPM1* mutation, with better LFS (20.3 months vs. 10.5 months, p = 0.02) and a trend for better OS (23.3 months vs. 16.4 months, p = 0.06) compared to other AML subtypes, while those receiving VenHMA as frontline therapy showed a trend for better OS (18.9 months vs. 11.9 months, p = 0.09) and LFS (14.1 months vs. 7.8 months, p = 0.06). No other prognostic factors were identified in univariate analysis, including ELN 2022 risk, lower-intensity adapted ELN 2024 risk, or *TP53* mutational status.

The independent prognostic value of MRD for OS (HR: 0.50, 95% CI: 0.23–0.82; p = 0.04) and LFS (HR: 0.44, 95% CI: 0.23–0.82; p = 0.01) was confirmed in the

multivariate analysis. In addition, disease status at baseline (R/R vs. frontline, HR: 2.18, 95%CI: 1.14-4.18, p = 0.008) and response type (CR vs. CRi (HR: 0.48, 95%CI: 0.25-0.92, p = 0.027)) also emerged as independent prognostic factors for LFS (Figure 1C and 1D).

These findings underscore the clinical value of serial MRD monitoring in the context of VenHMA treatment. Unlike intensive chemotherapy regimens, where early MRD responses are commonly observed, VenHMA-treated patients exhibit a more gradual response kinetics. Thus, only 25% of patients had achieved MRD response by the end of cycle 2; however, with continued therapy, the cumulative MRD response rate increased to above 50%. This delayed response suggests that a single, isolated early MRD assessment may underestimate the response depth, making extended monitoring essential for predicting long-term outcome. Our findings align with recent evidence in this setting and re reflected ine the latest ELN-DAVID MRD recommendations for lower-intensity treatments (12).

Importantly, the prognostic impact of MRD was observed regardless of the assessment method used. In patients evaluated by RT-qPCR—primarily those with NPM1-mutated AML—the survival differences between MRD-negative and MRD-positive patients were especially pronounced, underscoring the higher sensitivity of molecular techniques, with a detection threshold 1 log below that established for MFC-based assessment. This observation confirms that the clinical relevance of MRD testing depends on both the sensitivity of the assessment method and the kinetics of the AML subtype also in the setting of low-intensity therapy, similarly to what it has been observed in patients treated with standard chemotherapy(13,14)

These findings have significant clinical implications. Stratifying patients based on MRD status provides a powerful tool for identifying those at increased risk of relapse who might benefit from early therapeutic intervention. Furthermore, integrating MRD monitoring into routine clinical practice in the context of low-intensity AML therapy may allow a more dynamic treatment adaptation, with

the ultimate goal to improve patient outcomes, although current options after VenHMA failure remain highly limited(15)

Despite the strengths of our study, several limitations must be acknowledged. The retrospective nature of the analysis inherently introduces potential biases, and the decentralized MRD assessment, especially relevant using MFC, may cause variability in sensitivity and interpretation across centers. Additionally, the heterogeneity of the disease status, since we included ND-AML and R/R AML patients, could have had an influence on outcomes. Nevertheless, the consistency of the survival benefit associated with MRD negativity across various subgroups reinforces the strength of our findings.

We conclude that MRD response, evaluated accordingly to the ELN-MRD 2021 recommendations, holds significant prognostic value for both OS and LFS in patients treated with VenHMA in real-life clinical practice. These findings underscore the importance of MRD monitoring also in the context of low-intensity AML therapy as an essential prognostic factor, and warrant the exploration of preemptive interventions based on MRD within a well-designed research framework.

Spanish CETLAM Group Author list

Carlos Jimenez-Vicente[1,2,3], Sandra Castaño-Diez [1,2,4,], Guillermo Ramil[5], Sara Garcia-Avila[6], Lucia Gomez-Perez[6], Daniel Esteban[7], Antonella Lucia Sturla[8], Monica Lopez-Guerra[2,4,9], Alexandra Martinez-Roca[1,2], Albert Cortes-Bullich[1,2], Ines Zugasti[1], Ferran Vall-Llovera[11], Susana Vives[7], Jorge Sierra[5], Josep Nomdedeu[5], Guadalupe Oñate[5], Ana Garrido[5], Marta Pratcorona[5], Helena Pomares[8], Montserrat Arnan[8], Francesca Guijarro[2,4], Marina Diaz-Beya[1,2,3,12] and Jordi Esteve[1,2,3,12]

1 Hematology Department. Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain.
2 Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain
3 University of Barcelona, Barcelona, Spain
4 Hemopathology Unit, Pathology Department. Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona, Spain.
5 Hematology Department. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universitat Autònoma de Barcelona and IIB Sant Pau
6 Hematology Department. Hospital del Mar, Barcelona, España. Hospital del Mar Research Institute, Barcelona, Spain
7 Hematology Department. ICO-Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Institut de Recerca Josep Carreras. Badalona. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. Spain.
8 Hematology Department, Institut Català d'Oncologia - Hospital Duran I Reynals; Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain
9 Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer (CIBERONC), Madrid, Spain.
11 Hospital Universitari Mutua Terrassa, Terrassa, Barcelona
12 Josep Carreras Leukemia Research Institute, Barcelona, Spain.

BIBLIOGRAPHY

1. Short NJ, Dillon R. Measurable residual disease monitoring in AML: Prospects for therapeutic decision-making and new drug development. Am J Hematol [Internet]. 2024;n/a(n/a). Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajh.27482
2. Short NJ, Zhou S, Fu C, Berry DA, Walter RB, Freeman SD, et al. Association of Measurable Residual Disease With Survival Outcomes in Patients With Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Oncol [Internet]. 2020 Dec 1;6(12):1890–9. Available from: https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.4600
3. Heuser M, Freeman SD, Ossenkoppele GJ, Buccisano F, Hourigan CS, Ngai LL, et al. 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. Blood. 2021;138(26):2753–67.
4. Pratz KW, Jonas BA, Pullarkat VA, Thirman MJ, Garcia JS, Fiedler W, et al. Long-Term Follow-up of the Phase 3 Viale-a Clinical Trial of Venetoclax Plus Azacitidine for Patients with Untreated Acute Myeloid Leukemia Ineligible for Intensive Chemotherapy. Blood [Internet]. 2022 Nov 15;140(Supplement 1):529–31. Available from: https://doi.org/10.1182/blood-2022-158518
5. Pratz KW, Jonas BA, Pullarkat V, Recher C, Schuh AC, Thirman MJ, et al. Measurable Residual Disease Response and Prognosis in Treatment-Naïve Acute Myeloid Leukemia with Venetoclax and Azacitidine. Journal of Clinical Oncology. 2022;40(8):855–65.

6. Maiti A, DiNardo CD, Wang SA, Jorgensen J, Kadia TM, Daver NG, et al. Prognostic value of measurable residual disease after venetoclax and decitabine in acute myeloid leukemia. Blood Adv. 2021;5(7):1876–83.
7. Othman J, Tiong IS, O'Nions J, Dennis M, Mokretar K, Ivey A, et al. Molecular MRD is strongly prognostic in patients with NPM1-mutated AML receiving venetoclax-based nonintensive therapy. Blood [Internet]. 2024 Jan 25;143(4):336–41. Available from: https://doi.org/10.1182/blood.2023021579
8. Arber D, Wang S, Branford S, Foucar K, Gotlib J, Hobbs G, et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia: Integrating Morphological, Clinical, and Genomic Data. Blood [Internet]. 2022; Available from: http://ashpublications.org/blood/article-pdf/doi/10.1182/blood.2022015850/1905221/blood.2022015850.pdf
9. Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. Vol. 36, Leukemia. Springer Nature; 2022. p. 1703–19.
10. Döhner H, Wei A, Niederwieser D, Röllig C, Sierra Hospital Santa Creu Sant Pau J, Eytan Stein Memorial Sloan S, et al. Diagnosis and Management of AML in Adults: 2022 ELN Recommendations from an International Expert Panel. Available from: http://ashpublications.org/blood/article-pdf/doi/10.1182/blood.2022016867/1906555/blood.2022016867.pdf
11. Döhner H, Sierra Hospital Santa Creu Sant Pau J, Eytan Stein S. Genetic risk classification for adults with AML receiving less-intensive therapies: the 2024 ELN recommendations. Available from: http://ashpublications.org/blood/article-pdf/doi/10.1182/blood.2024025409/2239875/blood.2024025409.pdf
12. Ravandi F, Cloos J, Buccisano F, Dillon R, Döhner K, Freeman SD, et al. Measurable residual disease monitoring in patients with acute myeloid leukemia treated with lower-intensity therapy: Roadmap from an ELN-DAVID expert panel. Am J Hematol [Internet]. 2023 Dec 1;98(12):1847–55. Available from: https://doi.org/10.1002/ajh.27087
13. Dillon LW, Gui G, Page KM, Ravindra N, Wong ZC, Andrew G, et al. DNA Sequencing to Detect Residual Disease in Adults With Acute Myeloid Leukemia Prior to Hematopoietic Cell Transplant. JAMA [Internet]. 2023 Mar 7;329(9):745–55. Available from: https://doi.org/10.1001/jama.2023.1363
14. Thol F, Gabdoulline R, Liebich A, Klement P, Schiller J, Kandziora C, et al. Measurable residual disease monitoring by NGS before allogeneic hematopoietic cell transplantation in AML. Blood [Internet]. 2018 Oct 18;132(16):1703–13. Available from: https://doi.org/10.1182/blood-2018-02-829911

15. Jiménez-Vicente C, Arribas I, Pomares H, Ramil G, Castaño-Diez S, Pérez-Valencia AI, et al. Real-life outcome after failure to venetoclax and hypomethylating-based therapy for acute myeloid leukemia. Haematologica [Internet]. 2025 Jan; Available from: https://haematologica.org/article/view/11910

TABLES

Table 1. Baseline characteristics, response characteristics and outcomes of all patients.

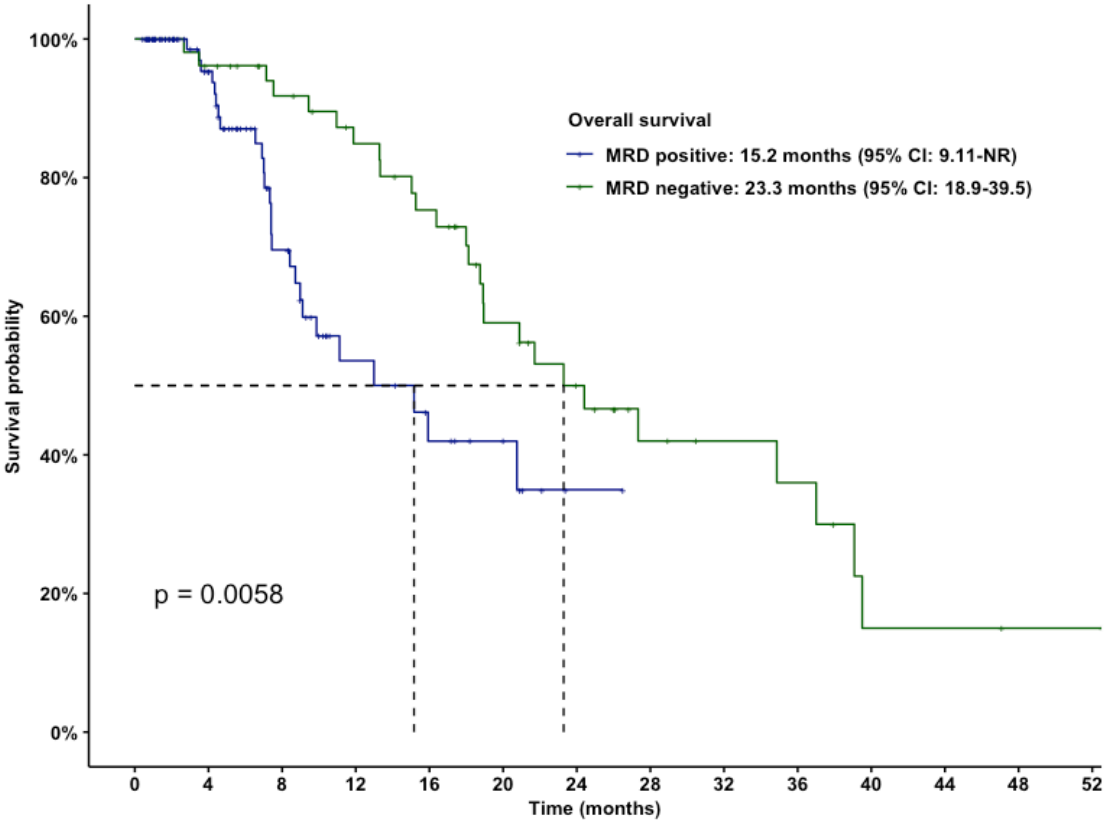
	All patients (N = 99)	**MRD negative (n = 52)**	**MRD positive (n = 47)**	***P* value**
Age, median (IQR)	74 (72-78)	73 (67-75)	75 (72-79)	**<0.001**
Sex, n (%)				**0.01**
Male	48 (48.5)	19 (36.5)	29 (61.7)	
Female	51 (51.5)	33 (63.5)	17 (36.2)	
Diagnosis (ICC 2022), n (%)				**0.04**
AML with myelodysplasia related gene mutations	37 (37.4)	16 (30.8)	21 (44.7)	
AML with mutated *NPM1*	33 (33.3)	24 (46.2)	9 (17.3)	
AML or MDS/AML with mutated *TP53*	13 (13.1)	6 (11.5)	7 (14.9)	
AML, NOS	7 (7.1)	4 (7.7)	3 (6.4)	
AML with myelodysplasia-related cytogenetical abnormalities	6 (6.1)	1 (1.9)	5 (10.6)	
AML with inv(16)(p13.1q22)/*CBFB::MYH11*	2 (2)	1 (1.9)	1 (2.1)	
AML with t(8;21)(q22;q22)/*RUNX1::RUNX1T1*	1 (1)	0 (0)	1 (2.1)	
Genetic risk for low intensity therapy (ELN 2024)[22], n (%)				0.91
Favorable	51 (51.5)	27 (51.9)	24 (51.1)	
Intermediate	19 (19.2)	10 (19.2)	9 (19.1)	
Adverse	17 (17.2)	8 (15.4)	9 (19.1)	
Not assessed	12 (12.1)	7 (13.5)	5 (10.6)	

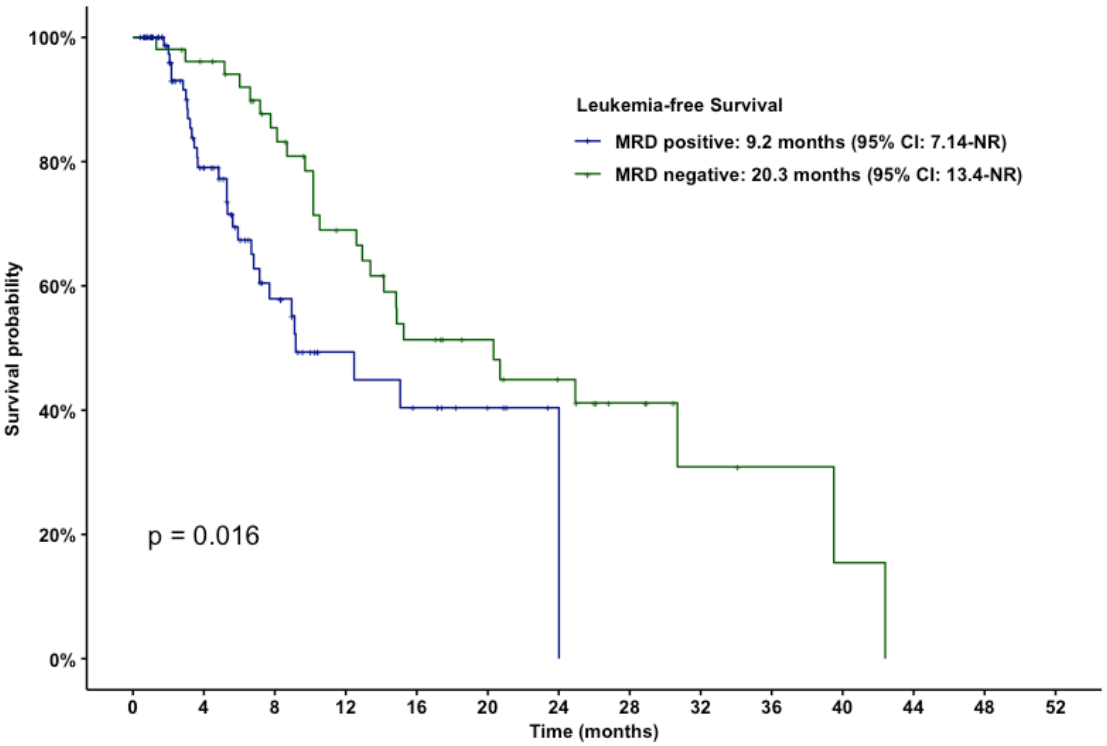
Disease status at inclusion, n (%)				0.34
Frontline therapy	77 (77.8)	41 (78.8)	36 (76.6)	
Refractory/Relapsed	22 (22.2)	11 (21.2)	11 (20)	
After Intensive chemotherapy (IC)	12 (12.1)	7 (13.5)	5 (10.6)	
AfteralloHCT	5 (5.1)	1 (1.9)	4 (8.5)	
After Hypomethylating agents	5 (5.1)	3 (5.8)	2 (4.3)	
Number of previous treatments, median (range)	1 (1-3)	1 (1-3)	1 (1-2)	0.64
Prior hypomethylating agent in MDS phase, n (%)	5 (5.1)	2 (3.8)	3 (6.4)	0.66
HMA combination, n (%)				0.20
Azacitidine	88 (88.9)	44 (84.6)	44 (93.6)	
Decitabine	11 (11.1)	8 (15.4)	3 (6.4)	
Blasts in BM at diagnosis, median (IQR)	41 (24-68)	40 (25-70)	41 (21-67)	0.50
CBC at C1D1, median (IQR)				
WBC (x10^9/L)	3.2 (0.7-54.4)	3.8 (0.96-54.4)	2.4 (0.7-30.4)	0.25
Hemoglobin (g/dL)	9 (8.3-10.5)	7.6 (6.6-13.8)	9.4 (7.1-13.5)	0.50
Platelets (x10^9/L)	52 (27-113)	51 (31-97)	50 (25-129)	1
Response **type**, n (%)				**0.01**
Complete response (CR)	**54 (54.5)**	**33 (63.5)**	**21 (44.7)**	
Complete response without hematological recovery (CRi)	**38 (38.4)**	**18 (34.6)**	**20 (42.6)**	
Morphologic-leukemia-free-state (MLFS)	**7 (7.1)**	**1 (1.9)**	**6 (12.8)**	
Cycles to achieve response, median (range)	**1 (1-8)**	**1 (1-4)**	**1 (1-8)**	**0.32**
Cycles administered, median (range)	**6 (2-34)**	**9 (2-34)**	**4 (2-22)**	**<0.001**
MRD assessment method, n (%)				**0.07**

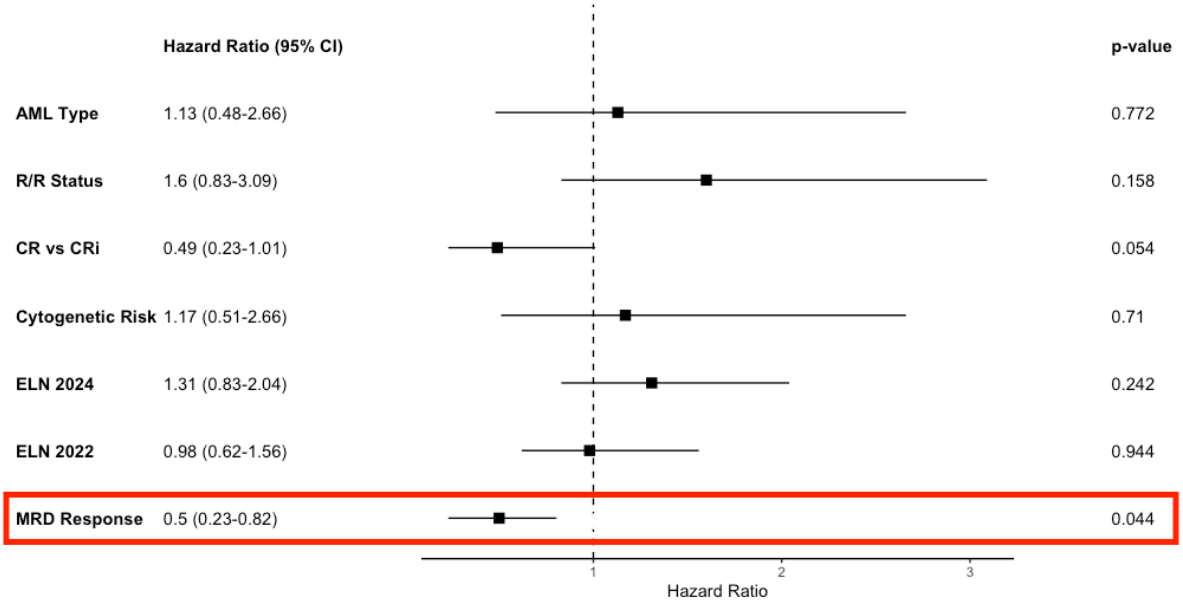
RT-qPCR	**36 (36.7)**	**25 (48.1)**	**11 (23.4)**	
Multiparametric Flow Cytometry	**63 (63.4)**	**27 (51.9)**	**36 (76.6)**	
Treatment discontinuation cause, n (%)	**61 (61.2)**	**31 (59.6)**	**30 (63.8)**	**0.82**
Relapse	**46 (46.5)**	**22 (42.3)**	**24 (51.1)**	
Myelotoxicity	**6 (6.1)**	**4 (7.7)**	**2 (4.3)**	
Patient decision	**3 (3)**	**3 (5.8)**	**0 (0)**	
Other	**6 (6.1)**	**2 (3.8)**	**4 (8.5)**	
Follow-up months, median (range)	**12.1 (2.1-52.5)**	**18.1 (2.7-52-5)**	**8.5 (2.1-26.5)**	**<0.001**
Overall Survival, months (95%CI)	**18.8 (15-24.4)**	**23.3 (18.9-39.5)**	**15.2 (9.11-NR)**	**<0.001**
2-year rate, % (95%CI)	**42.8 (32.1-57.1)**	**49.9 (36.3-68.9)**	**46.7 (33.1-66.0)**	
, months (95%CI)	**12.5 (9.18-20.3)**	**23.3 (18.8-39.5)**	**9.22 (7.11-NR)**	**<0.001**
2-year rate, % (95%CI)	**40.9 (30.5-54.9)**	**49.8 (36.3-68.9)**	**40.3 (26.9-60.9)**	

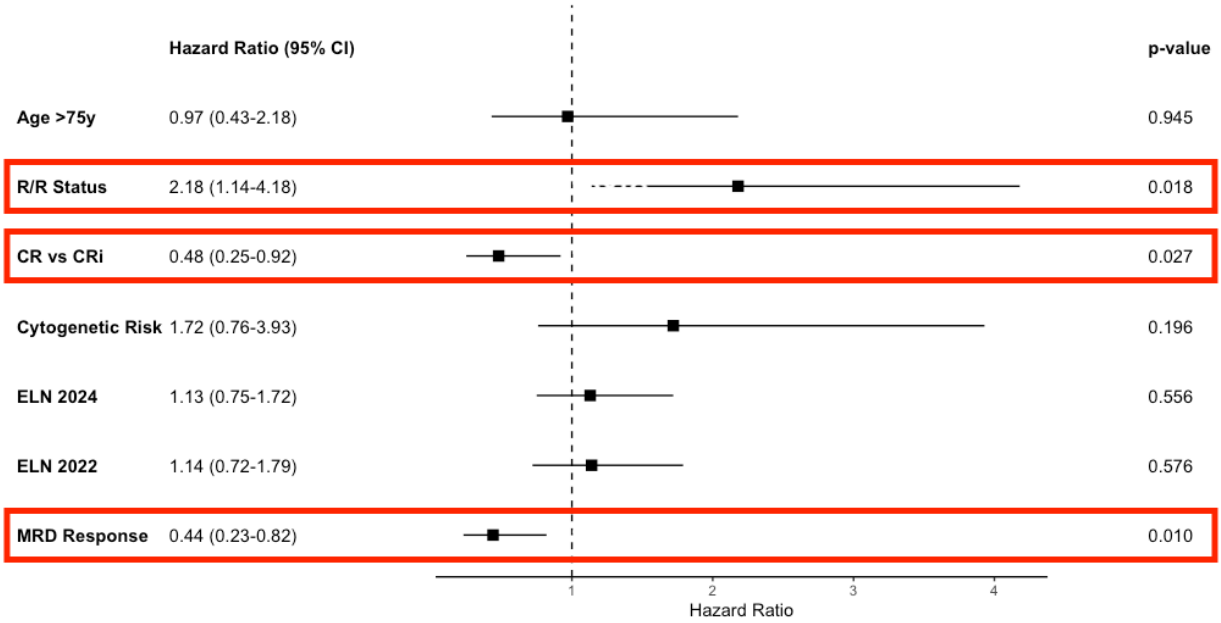
Table 1. Baseline characteristics, response characteristics and outcomes of all patients. IQR: Interquartile Rank. ICC: International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms. AML: acute myeloid leukemia.. ELN: European LeukemiaNet, alloHCT: allo-stem cell transplantation. MDS: Myelodysplastic Syndrome, BM: Bone Marrow, MRD: Measurable Residual Disease; CBC; Cell BloodCount; C1D1: Day 1, Cycle 1. WBC: white blood cell count. RT-qPCR: Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction.

Figure 1. Overall survival (1A) and Leukemia-free Survival (1B) of all patients by MRD Response estimated using the Mantel-Byar method (Time-dependent variable) (Simon-Makuch Graph). Multivariate analysis for Overall Survival (1C) and Leukemia-free Survival (1D). AML: Acute Myeloid Leukemia. R/R: Refractory/Relapsed, CR vs. CRi: Complete Response versus Complete Response versus Complete Response without Hematologic Recovery or Morphologic Leukemia-Free Status, ELN: European LeukemiaNet, MRD: Measurable Residual Disease, CI: Confidence Interval.






Hazard Ratio (95% CI)
p-value
AML Type
1.13 (0.48-2.66)
0.772
R/R Status
1.6 (0.83-3.09)
0.158
CR vs CRi
0.49 (0.23-1.01)
0.054
Cytogenetic Risk
1.17 (0.51-2.66)
0.71
ELN 2024
1.31 (0.83-2.04)
0.242
ELN 2022
0.98 (0.62-1.56)
0.944
MRD Response
0.5 (0.23-0.82)
0.044
1
2
3
Hazard Ratio


Hazard Ratio (95% CI)
p-value
Age >75y
0.97 (0.43-2.18)
0.945
R/R Status
2.18 (1.14-4.18)
0.018
CR vs CRi
0.48 (0.25-0.92)
0.027
Cytogenetic Risk
1.72 (0.76-3.93)
0.196
ELN 2024
1.13 (0.75-1.72)
0.556
ELN 2022
1.14 (0.72-1.79)
0.576
MRD Response
0.44 (0.23-0.82)
0.010
1
2
3
4
Hazard Ratio

SUPPLEMENTARY DATA

Figure 1. Disposition flow chart of all patients treated with venetoclax in combination with hypomethylating agents in the Spanish CETLAM group since March 2019.

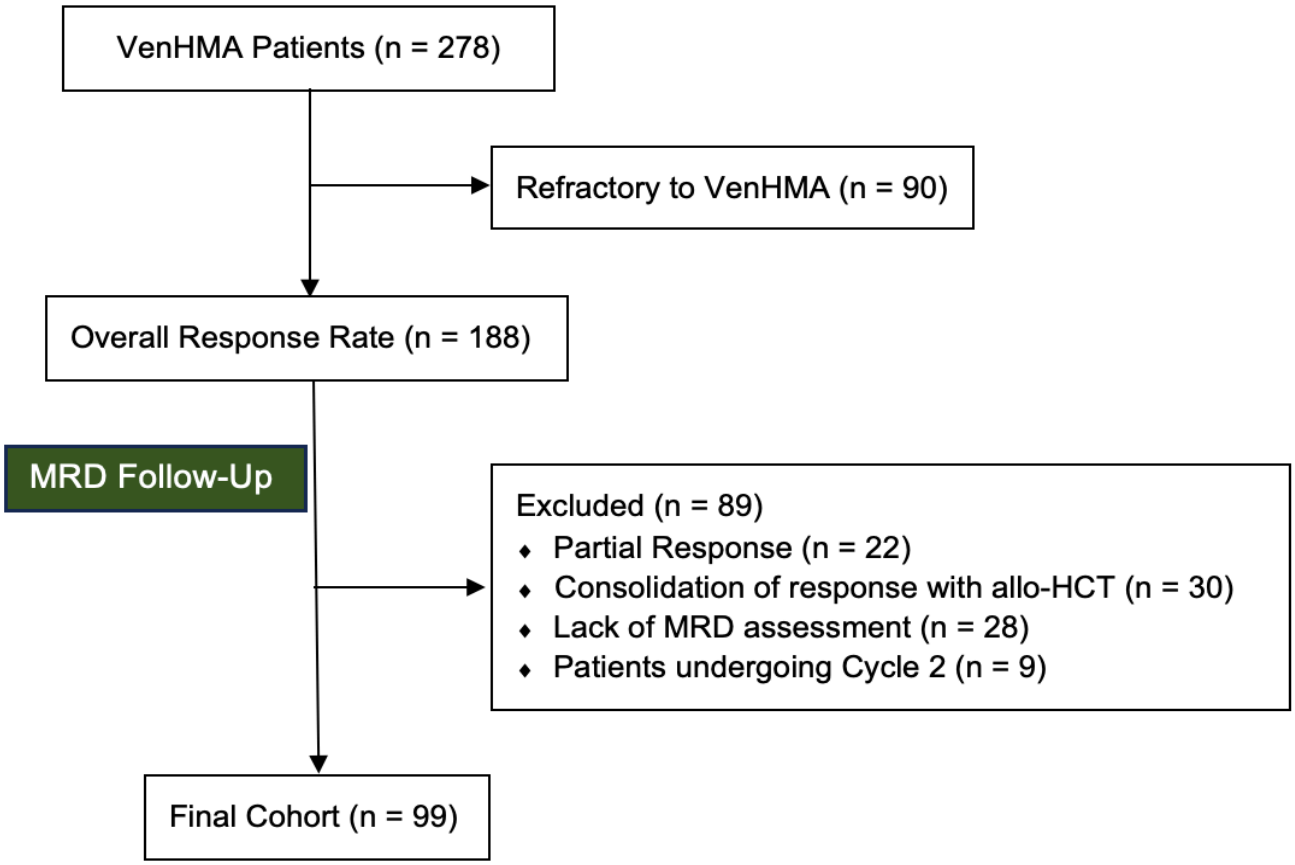


Figure 2. Measurable Residual Disease Response Rate during Follow-Up of patients treated with Venetoclax in combination with Hypomthylating Agents achieving a Morphological Response. Numbers indicate percentage of total patients included in the study, MRD: Measurable Residual Disease, MFC: Multiparametric Flow Cytometry, RT-qPCR: Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction.

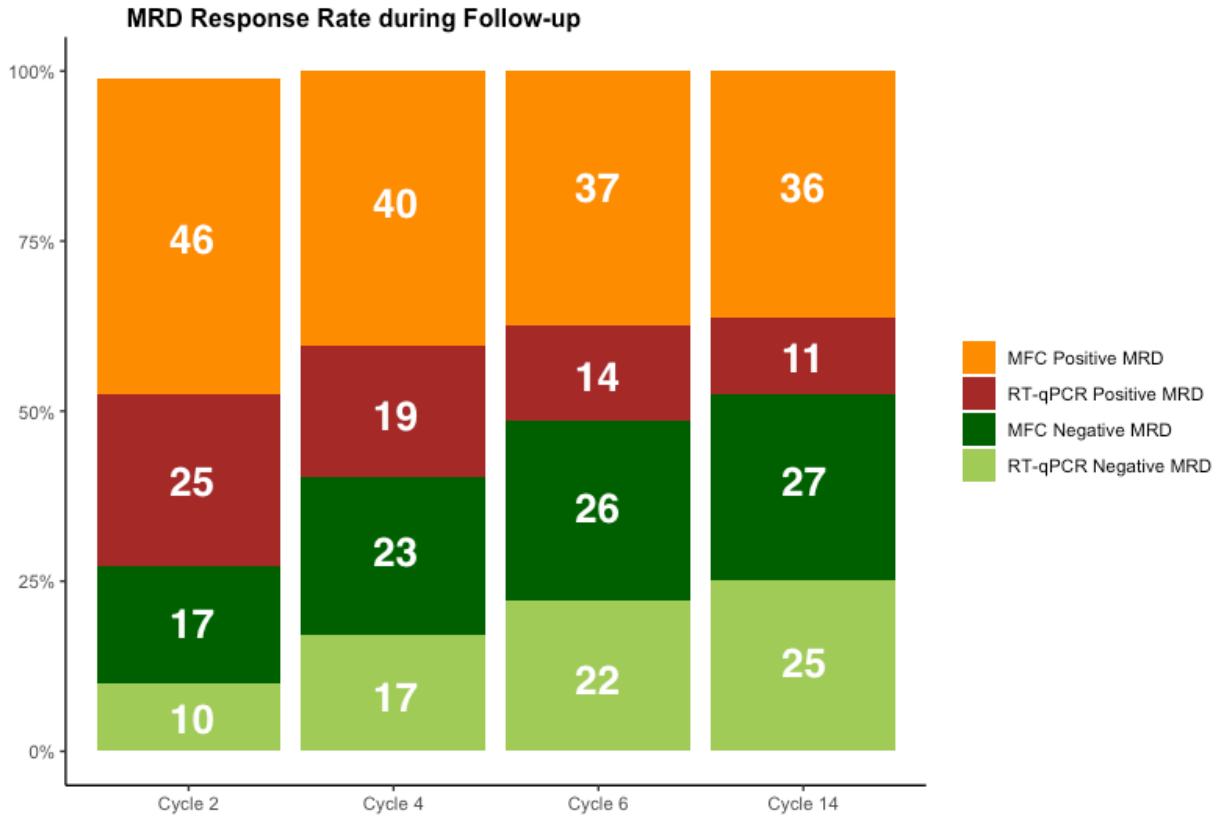
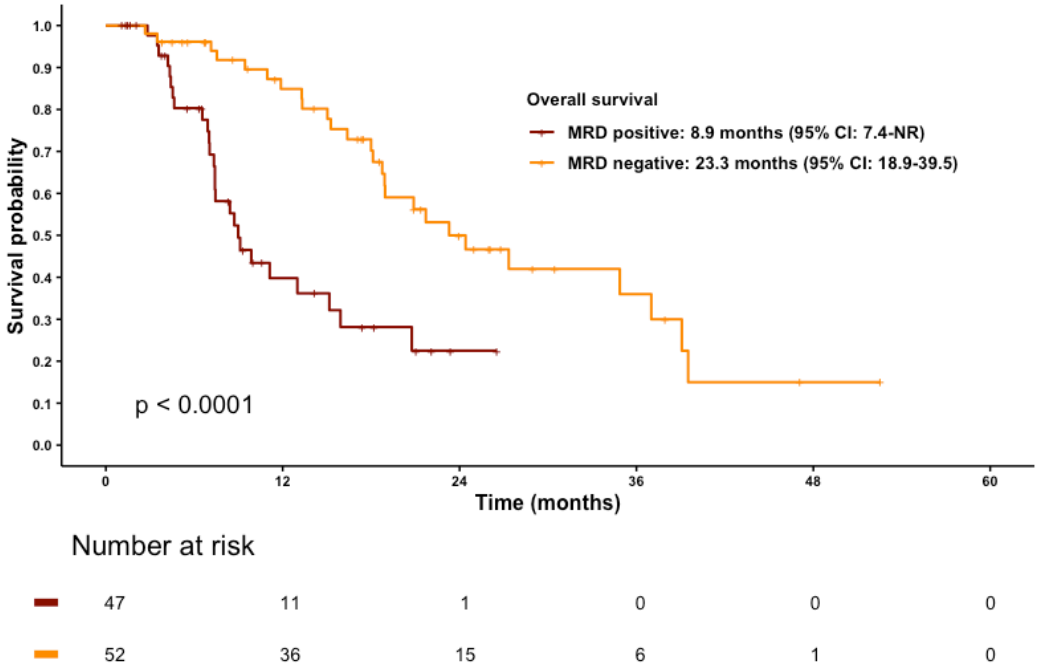
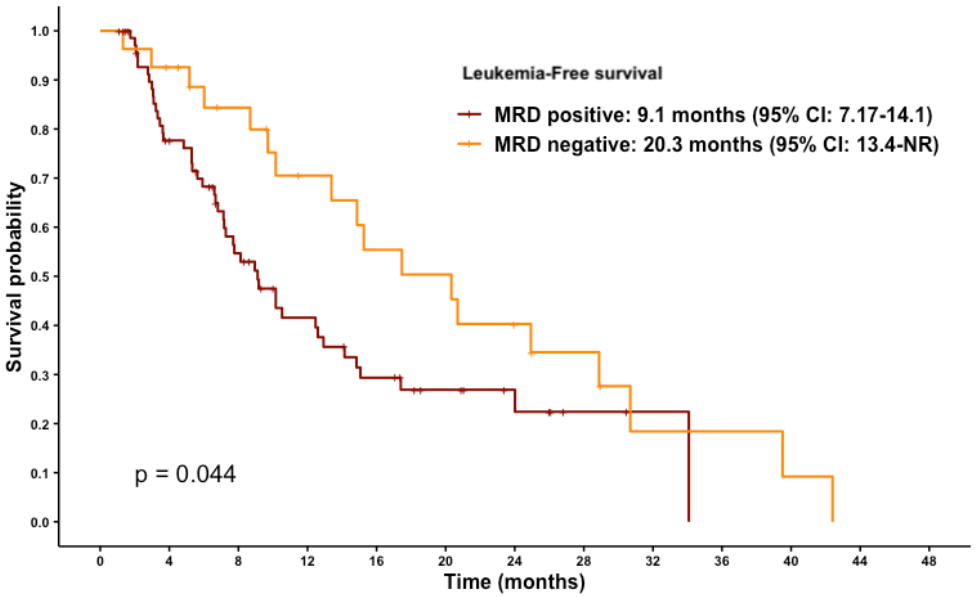


Figure 3. Overall survival (3A) and Leukemia-free Survival (3B) of all patients by MRD Response estimated using Kaplan-Meier Analysis with a landmark after Cycle 2.



Number at risk

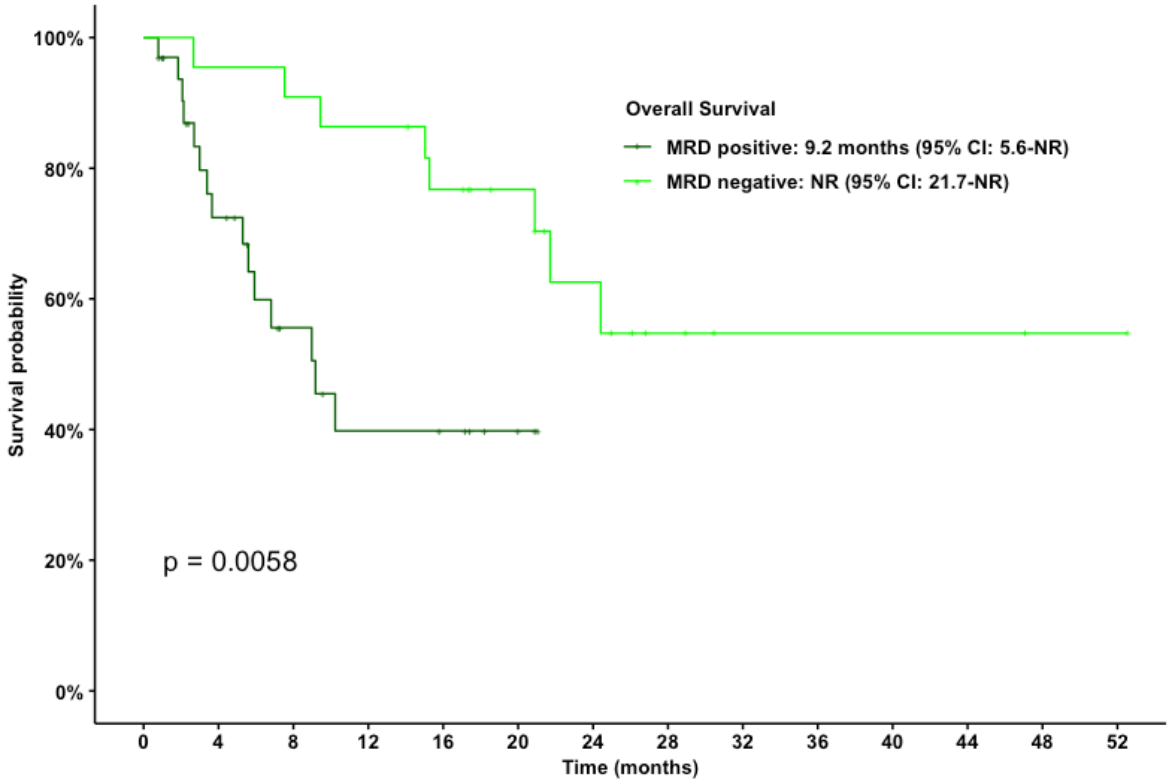
47	11	1	0	0	0
52	36	15	6	1	0



Number at risk

72	51	32	21	14	9	6	2	1	0	0	0	0
27	24	19	14	11	10	7	5	2	2	1	0	0

Figure 4. Overall Survival and Leukemia-free Survival of patients by MRD Response assessed using Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction. Outcomes were estimated using the Mantel-Byar method (Time-dependent variable) (Simon-Makuch Graph)



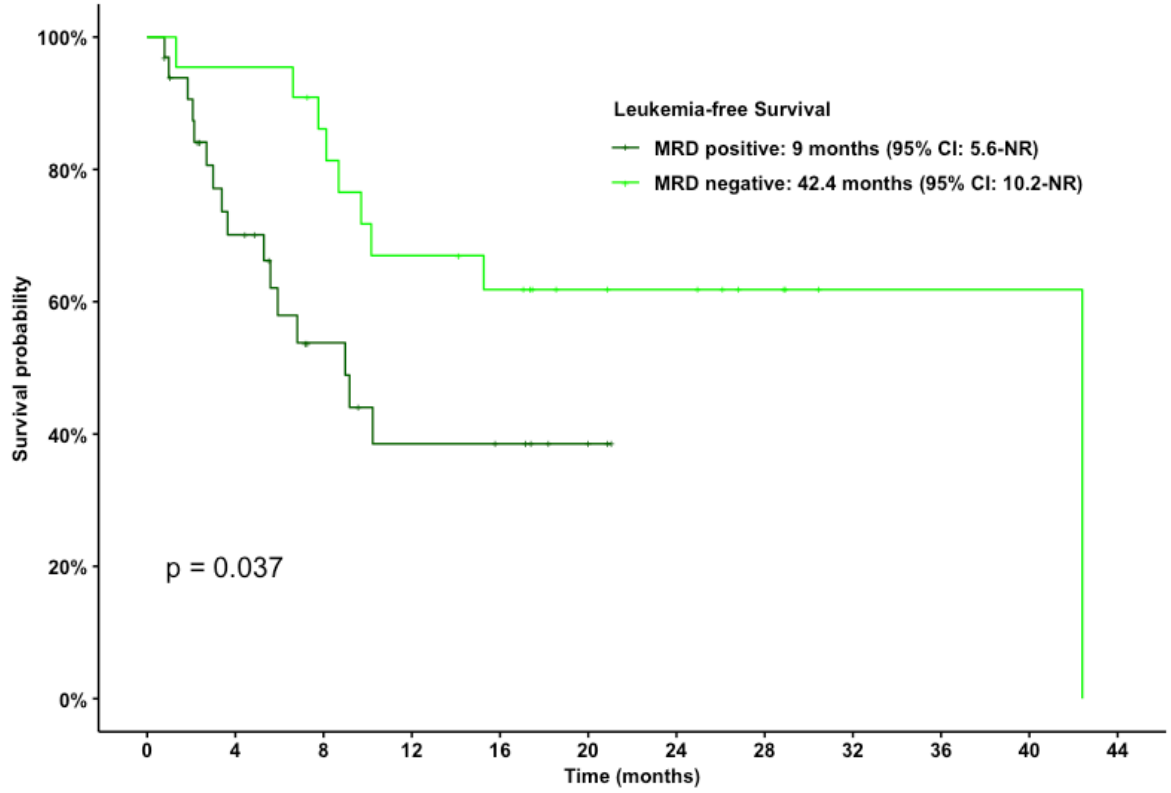
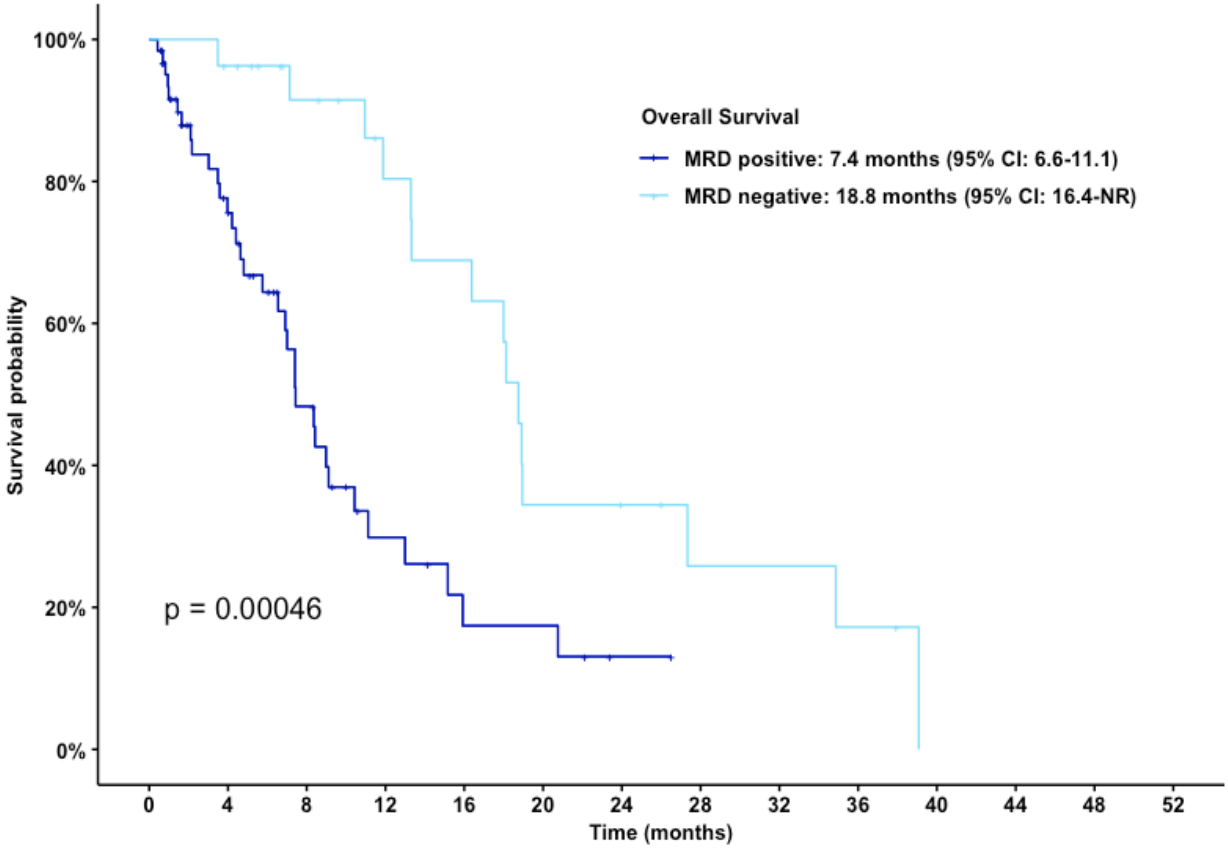
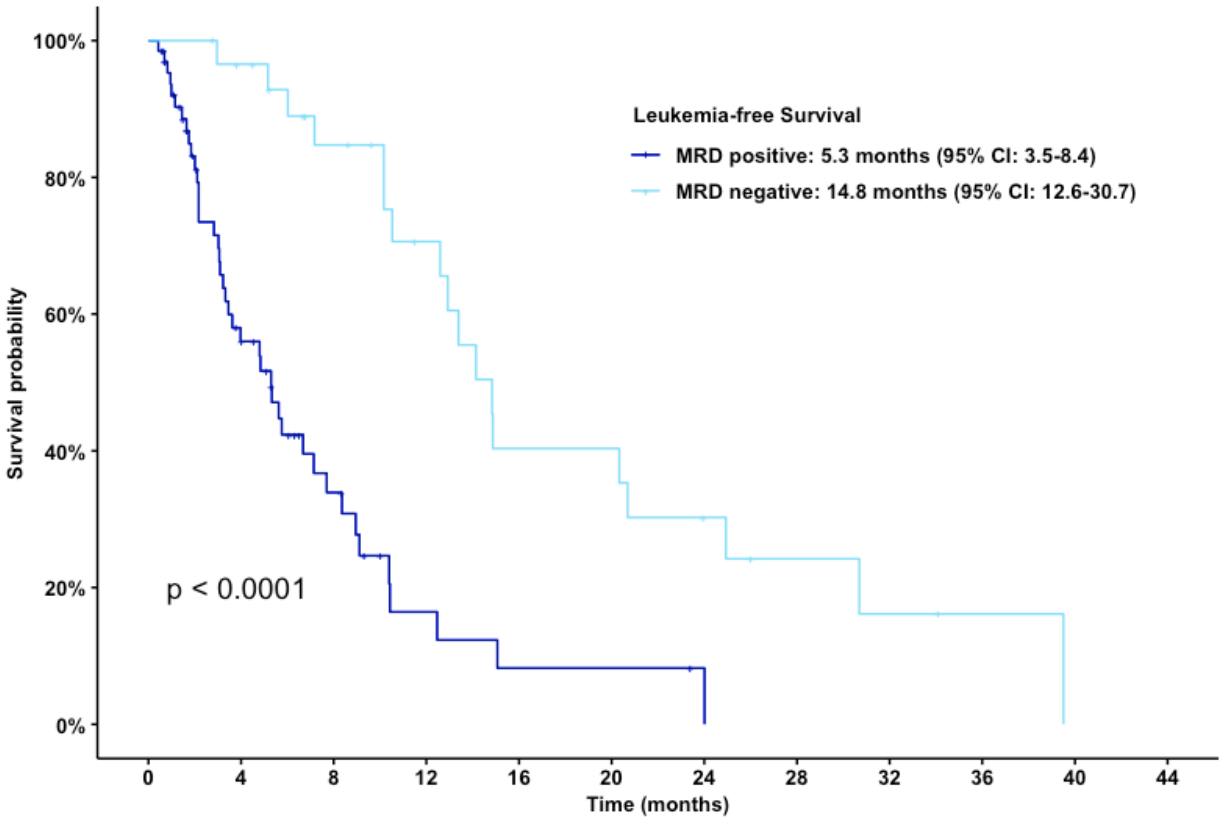


Figure 5. Overall survival and Leukemia-free Survival of patients by MRD Response assessed using Multiparametric Flow Cytometry. Outcomes were estimated using the Mantel-Byar method (Time-dependent variable) (Simon-Makuch Graph)





Discusión

La heterogeneidad es, sin duda, la característica más repetida en cualquier investigación realizada sobre la biología molecular relacionada con el desarrollo de la LMA. Esta complejidad intrínseca se evidencia en la variabilidad de alteraciones genéticas, epigenéticas y fenotípicas que coexisten en los pacientes de manera individual, lo que dificulta la posibilidad de establecer un modelo unificado que explique tanto la aparición de la enfermedad como su predicción a recaídas o refractariedad a los tratamientos disponibles. Los avances científicos de las últimas décadas han permitido identificar muchos de los mecanismos patogénicos y, a su vez, desarrollar nuevas terapias dirigidas, que han mejorado significativamente el abordaje de la LMA en subgrupos concretos. No obstante, todavía se requieren estrategias más eficaces para aquellos pacientes con un pronóstico particularmente desfavorable, como aquellos pacientes con refractariedad inicial al tratamiento o en recaída tras una respuesta inicial. Identificar precozmente a estos pacientes permitirá diseñar estrategias de tratamiento específicas dirigidas a los pacientes de peor pronóstico. Para ello, primero consideramos necesario validar las escalas de riesgo biológico más utilizadas en la práctica clínica en los pacientes que, por la elevada probabilidad de recaída, tienen indicación de un AloTPH como consolidación de la respuesta.

En 2010, la European LeukemiaNet comenzó a publicar clasificaciones de riesgo biológico como una herramienta de ayuda para la toma de decisiones en la práctica clínica (208). Desde entonces, se han ido actualizando progresivamente, incorporando los nuevos hallazgos conocidos en relación con la enfermedad. La aparición de dos clasificaciones diagnósticas para LMA en 2022 (31, 41), con diferencias específicas entre ambas, podría haber supuesto una dificultad añadida a la hora de estratificar de manera adecuada la enfermedad en el momento actual. Sin embargo, se ha documentado en estudios con un elevado número de pacientes que la correlación entre ambas clasificaciones es mayor del 80% de los pacientes.

La última actualización de la clasificación pronóstica de la ELN 2022 fue publicada poco después de la aparición de estas dos clasificaciones (185), presentando cambios relevantes respecto a su predecesora de 2017 (209),

explicados de manera extensa en la introducción. Estas modificaciones se resumen en la reclasificación de todas las mutaciones tipo ITD de *FLT3* en el grupo de riesgo intermedio, la restricción del pronóstico favorable de las mutaciones de *CEBPA* (solo se consideran favorables las que afectan al dominio bZIP y mantienen el marco de lectura), a una definición más refinada del cariotipo complejo, excluyendo los cariotipos hiperdiploides, y, finalmente, la especificación de mutaciones propias de la LMA asociada a mielodisplasia.

Aunque se toman como referencia a la hora de conocer el riesgo biológico en LMA, las escalas de riesgo de la ELN presentan una característica peculiar cuando se actualizan, y es el hecho de que las asunciones establecidas para categorizar están basadas en la evidencia científica más reciente, pero el valor pronóstico de la clasificación no está validado en cohortes de pacientes diagnosticados de la enfermedad de manera conjunta. Previo al desarrollo de esta tesis, varios estudios validaron el valor pronóstico de la ELN 2022, confirmando su capacidad discriminatoria, con unos resultados a los proporcionados por la clasificación previa de la ELN 2017, pese a las modificaciones establecidas.

El estudio del grupo cooperativo Alliance, publicado por Mrozek y colaboradores en Leukemia (210), analizó 1637 pacientes adultos con LMA tratados con regímenes basados en citarabina y antraciclinas, y comparó sus resultados con la clasificación ELN 2017. Hallaron, al compararla con la clasificación pronóstica previa de la ELN 2017, un porcentaje mayor de pacientes en el grupo adverso (de 37% a 41%). Este hallazgo se repite en el resto de trabajos, debido a la alta frecuencia de mutaciones relacionadas con mielodisplasia sin anomalías recurrentes. Las tasas de respuesta al tratamiento fueron significativamente diferentes entre los grupos pronósticos (84% vs. 68% vs. 44% en los grupos favorable, intermedio y adverso, respectivamente), y la supervivencia se estratificaba de manera similar en función del grupo de riesgo (Supervivencia global (OS) a los 5 años: 48% vs. 22% v. 7%, $p < 0.01$ en todos los log-rank entre los 3 grupos, respectivamente). El valor pronóstico de la estratificación ELN 2022 se mantuvo en el estudio multivariado ajustado por otras variables pronósticas

relevantes. Lo más interesante de este artículo se encontró en el subanálisis de determinados subgrupos de pacientes. Así, se identificó que la ELN 2022 clasificaba adecuadamente a los pacientes si eran menores de 60 años, mientras que, en pacientes mayores, los grupos intermedio y adverso presentaron resultados muy similares en términos de OS, supervivencia libre de leucemia (LFS) e incidencia acumulada de recaída (CIR). Además, el estudio examinó el impacto de nuevos marcadores, como las mutaciones relacionadas con mielodisplasia, que impactaban de manera individual en alteraciones biológicas específicas, como la asociación con *NPM1* y *FLT3-ITD,* donde la presencia de estas mutaciones confiere un peor pronóstico dentro de todos los pacientes diagnosticados con ellas.

Por otro lado, el grupo AMLSG, en el estudio publicado por Rausch y colaboradores en Leukemia (211), validó el pronóstico en una cohorte de pacientes mayoritariamente jóvenes con una n = 1118, comparando de igual manera la ELN 2022 con la 2017. Observaron que la ELN 2022 segregaba de manera adecuada a los pacientes (tasa de OS del univariado a los 5 años: 48% vs. 22% v. 7%, p <0.01 en todos los log-rank entre los 3 grupos), pero que la capacidad discriminatoria de la ELN 2022 en su población era levemente menor a la hora de discriminar el pronóstico de los pacientes en comparación con la ELN 2017, El artículo propone un modelo de 5 categorías según las anomalías genéticas al diagnóstico con mayor capacidad discriminatoria. Para ello, separaron la categoría favorable, incluyendo una categoría “muy favorable”, que incluía pacientes con mutación de *bZIP in-frame* de *CEBPA* y pacientes con LMA asociada a gen de fusión *CBFB::MYH11*, y un grupo muy adverso donde se incluían pacientes con mutación de *TP53* y cariotipo complejo. Este modelo demostraba que el refinamiento de las categorías de la ELN 2022 podía mejorar la capacidad predictiva del modelo inicial.

Finalmente, el único estudio que analiza en profundidad el valor pronóstico de la ELN 2022 en el contexto del AloTPH está realizado por el grupo SAL, donde incluyeron 522 pacientes alotrasplantados (261). Se observó que la escala también tiene valor pronóstico en este contexto cuando estimaron la

supervivencia en su serie, con resultados similares a los estudios previamente mencionados. Además, en el subanálisis pudieron establecer dos conclusiones que sirven de partida para el estudio de nuestros pacientes. Por un lado, observaron que el papel del estado de la ERM previo al procedimiento podía servir para reestructurar las categorías, a pesar de que solo tuvieran la información del 50% de los pacientes aproximadamente. Además, el pronóstico de los pacientes con mutaciones relacionadas con mielodisplasia tras el AloTPH era mejor que el del resto de los pacientes pertenecientes al riesgo adverso, por lo que también eran capaces dentro de este contexto de refinar la ELN 2022, al igual que Rausch y colaboradores lo habían podido hacer en el contexto de la terapia intensiva inicial.

Con estos precedentes, realizamos los dos estudios que evaluaron de forma retrospectiva la capacidad pronóstica de la ELN 2022 en pacientes alotrasplantados con LMA de esta tesis, y que están estrechamente relacionados entre sí, dado que el segundo estudio valida las hipótesis iniciadas en el primero. Antes de analizar con precisión los resultados de ambos estudios, es importante conocer que no todas las categorías de la ELN 2022 están representadas de manera directa en él. Así, según los protocolos de quimioterapia utilizados, los pacientes incluidos dentro del grupo de riesgo favorable no tenían la indicación de AloTPH en primera línea. Esto condiciona una refractariedad o recaída de manera intrínseca para haber podido ser incluidos en estos estudios. De lo contrario, un tratamiento basado exclusivamente en quimioterapia estándar habría sido la opción preferida de tratamiento.

En el primer estudio (120 pacientes del Hospital Clínic de Barcelona que fueron trasplantados entre 2011 y 2021), con una mediana de seguimiento de 58 meses, la tasa de OS a los 5 años fue del 59% en la cohorte global, sin encontrarse diferencias significativas en las características más relevantes relacionadas con el AloTPH (donante, acondicionamiento, profilaxis de EICR, fuente de progenitores), por lo que no podían suponer un sesgo a la hora interpretar los resultados. En este estudio, la ELN 2022 mostraba valor pronóstico para la supervivencia, estratificando de manera adecuada a los pacientes de la cohorte

con mayor riesgo biológico, ya que la supervivencia era notablemente inferior en el grupo adverso, tanto en términos de OS (OS a 5 años: 42% vs. 68% en el grupo intermedio vs. 81% en el grupo favorable, p = 0.003), como de LFS (39% vs. 66% vs. 62%, p = 0.02), siendo similar entre los grupos favorable e intermedio. Esto podría explicarse por la limitada cantidad de pacientes en el estudio y por las características intrínsecas a los pacientes incluidos en el grupo favorable explicadas previamente. Debido a la peor supervivencia y la heterogeneidad de la categoría de riesgo adverso, se realizó un subanálisis en el que se dividió a los pacientes de este grupo en dos subgrupos diferentes. Los pacientes pacientes con cariotipo complejo, reordenamientos de *MECOM(EVI1)* y/o mutaciones *TP53* o del(17p) se clasificaron en subgrupo denominado Adverse-Plus (AdvP). La división del grupo se hizo de esta manera basándonos en la evidencia previa del mal pronóstico de cada uno de estos subgrupos de manera individual junto con el análisis univariado de nuestro análisis (73, 262, 263). Este subgrupo presentó una mediana de OS de 7 meses, de LFS de 4 meses y una CIR a 2 años del 62%, confirmándose el mal pronóstico de forma independiente en el análisis multivariado (HR = 3,66, p < 0.001). De manera opuesta, al realizar esta propuesta de refinamiento de la ELN 2022 con la clasificación dividida en 4 grupos (AloTPH-ELN 2022), los grupos intermedio y adverso no AdvP (Adv*) no presentaron diferencias en la supervivencia entre ellos, ni en OS ni en LFS, presentando ambos una CIR baja (CIR a 5 años: 20% y 24%, respectivamente).

Estos resultados del grupo Adv* concuerdan con los buenos resultados en término de supervivencia tras AloTPH observados al analizar de manera individual a pacientes de LMA que quedaban incluidos en las categorías de alteraciones relacionadas con mielodisplasia, que se publicaron de manera paralela, y que representan una gran proporción de los pacientes incluidos en el grupo Adv* (264). Por otro lado, el otro subgrupo con mayor entidad dentro del grupo Adv*, que está constituido por reordenamientos de *KMT2A*, también se beneficia según estudios independientes del AloTPH en primera RC (85). Las conclusiones de estos resultados eran lo suficientemente relevantes como para continuar realizando el estudio en cohortes más extensas, dado que el limitado

número de pacientes incluidos en este estudio y la ausencia datos sobre el estado de la ERM previo al procedimiento constituían limitaciones importantes sobre el conocimiento preciso.

Para poder validar nuestra hipótesis de que la AloTPH-ELN 2022 discriminaba mejor en este contexto, se realizó el segundo estudio, utilizando una cohorte mucho más amplia, en este caso del Grupo Español de Trasplante de Células Hematopoyéticas y Terapia Celular (GETH-TC), con un total de 651 pacientes trasplantados en 16 centros, que delimitamos en el tiempo entre 2015 y 2023 para poder obtener resultados mejor definidos a nivel molecular en el momento diagnóstico. Decidimos acotar este espacio temporal por la disponibilidad de datos de NGS al momento del diagnóstico y evaluación antes de la ERM, necesarios para este análisis. Por otra parte, la limitación del periodo temporal disminuye la interacción con otras variables relacionadas con el aloTPH, que varían con los años, y que podrían dificultar el análisis focalizado en la caracterización genética al diagnóstico sobre el resultado del aloTPH. Los resultados de este estudio validaron nuestra hipótesis de una supervivencia peor para pacientes asignados al grupo de riesgo AdvP, con una tasa de OS a los 5 años del 32.3% y de LFS del 24.3% (ambas $p < 0.001$ comparado con resto de grupos tanto en univariado como en multivariado), además de una elevada CIR (CIR a 5 años: 64,3%, $p < 0.001$). También se confirmó que los pacientes en el grupo Adv* tuvieron resultados similares a los del grupo intermedio (OS a 5 años: 70.2% vs. 66.7%, $p = 0,69$; LFS a 5 años: 63.8% vs. 55.9%, $p = 0.33$). Dentro del grupo de riesgo AdvP, los pacientes con reordenamientos de *MECOM (EVI1)* tuvieron resultados relativamente mejores en comparación con aquellos con cariotipo complejo y/o mutaciones en *TP53* o del(17p). La tasa de OS a 2 años para los pacientes con reordenamiento de MECOM (EVI1) fue del 51%, vs. 34% ($p = 0.044$). Sin embargo, a pesar de esta aparente diferencia, estos resultados sugieren un beneficio incierto del AloTPH para los pacientes incluidos en el grupo AdvP, y manifiestan la necesidad urgente de estrategias terapéuticas más personalizadas e intensivas para estos pacientes.

Analizando otros factores relacionados con el procedimiento, la edad y la plataforma de PTCY para la profilaxis de EICH emergieron como variables pronósticas independientes favorables en los estudios multivariados para la LFS. El beneficio potencial de la PTCY se ha extendido desde el uso inicial en el trasplante haploidéntico y se basa en un riesgo menor de EICH crónica grave, que contribuye a una retirada precoz de la inmunosupresión. Esta reconstitución inmune temprana aumenta el efecto de injerto contra leucemia, disminuyéndose así el riesgo de recaída de la enfermedad. Este factor es conocido como uno de los efectos curativos del procedimiento en LMA. El último factor relevante para el pronóstico de los pacientes en el segundo estudio publicado es el estado de la ERM previo al procedimiento. Tanto en el análisis univariado como en el multivariado, la ERM positiva fue predictiva de peor supervivencia tanto en OS como en LFS (OS: HR: 1.49, p = 0.007), LFS: HR: 1.51, p = 0.002). Estos resultados son concluyentes con los numerosos estudios que confirman el papel pronóstico del valor de la ERM antes del procedimiento, siendo uno de los aspectos que pueden conducir a decisiones terapéuticas derivadas de esto resultado, como sería la intensificación del esquema de acondicionamiento (256, 265) o un tratamiento dirigido a erradicar la ERM antes del aloTPH en aquellos pacientes con ERM detectable antes del procedimiento anticipado como comentamos posteriormente en esta discusión. Sin embargo, la ERM no mostró valor pronóstico en en el grupo AdvP. Este resultado sugiere que las características genéticas del grupo confieren un pronóstico tan desfavorable que el estado de ERM se vuelve menos relevante. Además, un factor técnico que limita la interpretación de la ERM en este grupo es el hecho de que todo el análisis se encuentra limitado a CFM, que presenta una sensibilidad menor a la qPCR o la NGS.

En la discusión de los trabajos, abordamos diferentes opciones de mejora para poder aumentar la supervivencia de estos pacientes con un pronóstico tan malo en el momento actual. Algunas de estas opciones incluyen la introducción de nuevos tratamientos de primera línea dada la quimiorrefractariedad de estas entidades, como venetoclax en combinación con hipometilantes, que, aunque no aumenten la supervivencia por sí mismos en subgrupos incluidos en este

subgrupo como LMA con mutación de *TP53* (223), puedan ayudar a obtener una respuesta y citorreducción rápida. Otras propuestas incluyeron promover un efecto más fuerte del injerto contra la leucemia a través de terapias de mantenimiento a posteriori o implementar tratamientos preventivos tras la recaída molecular, adelantándonos a la recaída morfológica.

En la discusión de los dos primeros trabajos abordamos diferentes opciones mejoras para poder aumentar la supervivencia de estos pacientes con un pronóstico tan malo en el momento actual. Algunas de estas opciones incluyen promover un efecto más fuerte del injerto contra la leucemia a través de terapias de mantenimiento a posteriori o implementar tratamientos preventivos tras la recaída molecular, adelantándonos a la recaída morfológica. Por último, planteamos la introducción de nuevos tratamientos de primera línea dada la quimiorrefractariedad de estas entidades, como venetoclax en combinación con hipometilantes, que aunque no aumenten la supervivencia por sí mismos en subgrupos incluídos en este subgrupo como LMA con mutación de *TP53* (223) puedan ayudar a obtener una respuesta y citorreducción rápida.

Independientemente de la posible adecuación de las combinaciones de baja intensidad basadas en venetoclax a nuevos escenarios terapéuticos, su papel en la primera línea en pacientes no candidatos a quimioterapia intensiva, ha supuesto un cambio de paradigma en la LMA. Su introducción en la práctica clínica habitual ha obligado al estudio de los factores biológicos que puedan tener un impacto pronóstico, y al manejo de las complicaciones derivadas de su uso, teniendo especial impacto la mielotoxicidad severa producida por la combinación.

Con el objetivo de conocer los efectos adversos una vez obtenida la respuesta al tratamiento en estos pacientes en vida real, y poder plantear mejoras en el manejo a largo plazo para alargar el tratamiento, realizamos el seguimiento de los pacientes en esta situación en nuestro centro, lo que supuso un reto adaptativo en la práctica clínica dado el desconocimiento del seguimiento a largo plazo y constituyó el tercer artículo de esta tesis. La elevada incidencia de

neutropenia y trombocitopenia de grado 4 (83,1% y 53,5%, respectivamente) produjo una adaptación más rápida de las dosis de venetoclax que lo estipulado en la ficha técnica del producto en Europa. De manera notoria, en pacientes en RC o RCi, se redujo de la dosis tras el primer episodio de citopenia prolongada, sin esperar a un segundo episodio de citopenia severa. Con estas medidas, hasta un 60% de los pacientes precisó, al menos, una disminución de dosis tras un ciclo y casi el 90% de los pacientes que mantuvo el tratamiento durante 6 ciclos redujo la dosis inicial a partir de un momento determinado. El otro hallazgo relevante en este contexto de citopenia severa es el uso extensivo del G-CSF en nuestros pacientes, sin repercusión en la respuesta. A pesar de que la frecuencia de neutropenia y trombocitopenia resultó ser superior a lo reportado en los estudios que condujeron a la aprobación del fármaco (179), la incidencia de enfermedades infecciosas de grado 3 o 4 tras dos ciclos fue baja (16%), sin pacientes que abandonaran el tratamiento por efectos adversos. Con estos resultados, concluímos que, aunque el objetivo primordial del tratamiento consiste en alcanzar una respuesta a la enfermedad, una vez constatado este logro, resulta factible instaurar de forma segura una reducción de dosis si existe citopenia persistente, para poder prevenir complicaciones derivadas de la mielosupresión y la dependencia transfusional. En este contexto, la administración de G-CSF o la profilaxis antimicrobiana si la neutropenia es mantenida durante mucho tiempo, pueden resultar imprescindibles para continuar el tratamiento. De manera objetiva, se constató este hecho al observar un aumento significativo en cifras a nivel periférico comparando cifras basales con las cifras del día 1 del ciclo 5 y una elevada tasa de independencia transfusional durante el tratamiento al instaurar estas medidas.

Hasta muy recientemente, la monitorización de la ERM tenía utilidad exclusivamente en pacientes tratados inicialmente con esquemas de quimioterapia intensiva. El desarrollo de las diferentes técnicas de seguimiento de la ERM ha supuesto un cambio de paradigma, permitiendo tener un conocimiento mayor sobre la profundidad de la respuesta obtenida con el tratamiento y permitiendo desarrollar terapias de rescate antes de una recaída morfológica que pueda mejorar el pronóstico infausto que ello conlleva en

pacientes diagnosticados de LMA La eliminación de la ERM en los puntos del tratamiento establecidos por la ELN debería considerarse un objetivo terapéutico en la LMA. Este objetivo ha conllevado la utilización de diversas estrategias que abarcan desde el seguimiento estrecho con una abstención terapéutica hasta realizar un AloTPH precoz con intención curativa.

En este contexto, la utilización de VenHMA en pacientes con riesgo favorable de acuerdo con la ELN 2022 que presentan refractariedad a tratamiento con persistencia de ERM tras finalizarlo o una recaída molecular se ha convertido en una opción factible como observamos en los pacientes tratados dentro del grupo CETLAM, que conforma la quinta publicación relacionada con esta tesis doctoral, con una tasa de negativización molecular del 80% en pacientes diagnosticados de LMA con mutación de *NPM1* y del 50% en LMA con reordenamiento *CBFB::MYH11*. Esta estrategia permitió posponer la recaída morfológica de la enfermedad en pacientes no candidatos a AloTPH o posponer un eventual AloTPH a un momento donde la negativización de la ERM supusiera una mayor efectividad del mismo. Estos resultados se verificaron en un esfuerzo internacional liderado por el grupo británico del King's College en el que participamos como grupo de investigación activamente y que se plasmó en el artículo publicado por Jiménez-Chillón y colaboradores en Blood Advances durante la elaboración de esta tesis doctoral (266).

Pese a que se conoce que estos esquemas pueden tener impacto en la ERM, no se ha abordado de manera extensa el papel pronóstico en la supervivencia de la ERM en los tratamientos de baja intensidad. Previo al análisis de la ERM en este contexto de esta tesis, se había estudiado mediante CFM el papel pronóstico de la ERM en pacientes incluídos en el ensayo pivotal VIALE-A. En el primer estudio, publicado en 2021, observaron un patrón de respuesta progresivo, diferente a los esquemas de quimioterapia y como el análisis de la ERM tenía impacto pronóstico en este contexto. Pese a ello, existen sesgos relevantes dado que los pacientes estaban seleccionados por la inclusión en el VIALE-A, excluyendo citogenéticas favorables y con unas condiciones clínicas

determinadas, y los pacientes tributarios a seguimiento con qPCR fueron también analizados con CFM.

Estos resultados en relación con al ERM seguida por CFM fueron verificados en el seguimiento a largo plazo del VIALE-A trial que fue publicado en American Journal of Hematology (221), donde los pacientes con respuesta morfológica y molecular tienen una mediana de OS de 34 meses vs. 19 en aquellos pacientes que solo obtengan respuesta morfológica

De manera independiente, Othman y colaboradoras del grupo del King's College en Reino Unido, analizaron el impacto pronóstico de la ERM de *NPM1* en una cohorte internacional de 76 pacientes (259). En total de 58% alcanzaron negatividad de MRD en médula ósea (BM), y otros 14 (18%) lograron una reducción de ≥4 log10 desde la línea base como su mejor respuesta, sin diferencias en función del tratamiento acompañante. Las tasas acumuladas de respuesta en médula ósea al final de los ciclos 2, 4 y 6 fueron del 25%, 47% y 50%, respectivamente, al igual que se había observado en los pacientes analizados por CFM. Los pacientes que alcanzaron respuesta a nivel de ERM en médula ósea al final del ciclo 4 tuvieron una supervivencia global a 2 años del 84% vs. 46%, p <'0.001 en aquellos con MRD positiva. Por último, dados los buenos resultados de los pacientes, se analizó la discontinuación de tratamiento en 22 pacientes que suspendieron electivamente la terapia mientras se encontraban en remisión con negatividad de MRD en médula ósea después de una mediana de 8 ciclos, presentando una remisión libre de tratamiento a 2 años del 88%.

El estudio retrospectivo multicéntrico dentro del grupo CETLAM incluido en esta tesis valida el valor pronóstico de la ERM para pacientes de LMA tratados con regímenes de baja intensidad basados en venetoclax de acuerdo con las recomendaciones previamente mencionadas. La respuesta a nivel de ERM en pacientes que previamente habían alcanzado una respuesta morfológica se correlacionó con una mejor evolución clínica, tanto en términos de OS (23.3 vs. 15.2 meses, p < 0.001) como de LFS (20.3 meses vs. 9.2 meses, p = 0.04). Para

el análisis principal se analizó esta respuesta como una variable tiempo dependiente, utilizándose el test de Mantel-Byar como estimador. El análisis multivariado además observó que la respuesta a nivel de ERM fue el único factor que se correlacionó con mejor supervivencia, de lo que también destaca el hecho de que en este subgrupo tanto las clasificaciones ELN 2022 como las ELN 2024 para tratamiento de baja intensidad no tenían valor pronóstico. Se observó, al igual que en los estudios ya conocidos, un patrón de respuesta ERM progresivo, a diferencia de los pacientes tratados con quimioterapia intensiva estándar. Además, el tiempo requerido para alcanzar la respuesta en términos de ERM al tratamiento no impactó en los resultados, con un beneficio similar entre los respondedores tempranos y tardíos. Además, la profundidad de la respuesta alcanzada parece ser independiente de los ajustes frecuentes de dosis, que suelen ser necesarios en pacientes tratados con regímenes basados en venetoclax por la mielotoxicidad prolongada. El impacto pronóstico en supervivencia de la ERM fue significativo independientemente de la técnica utilizada para la medición. Este impacto fue claramente relevante en los pacientes evaluados mediante qPCR, con una mediana de OS no alcanzada y una LFS de 42 meses, con una persistencia de la respuesta en un 50% de los pacientes que presentaron la respuesta aproximadamente. Con estos hallazgos, podemos hipotetizar que el valor de la MRD podría permitir la interrupción del tratamiento en un subconjunto altamente seleccionado de pacientes tratados con VenHMA, como aquellos con mutaciones en *NPM1* o *IDH2*, sin un mayor riesgo de recaída. Sin embargo, se necesitan más estudios prospectivos para evaluar esta estrategia terapéutica. Por otro lado, dado el valor pronóstico derivado de la ERM y la corta duración de la respuesta observada en los pacientes que no lograron negativizarla (aproximadamente 9 meses), podrían implementarse intervenciones preventivas también en el contexto de la terapia de LMA de baja intensidad en caso de recaída molecular o de persistencia de la refractariedad.

Este abordaje de manera anticipada parece que se impondrá aún más sabiendo la mala supervivencia observada en este contexto tras el fallo a la terapia de primera línea basada en venetoclax, donde existe una falta clara de opciones terapéuticas. Prueba de ello es la carta al editor que publicamos en

Haematologica durante la elaboración de esta tesis, que sirve como quinta publicación. En ella, se mostraba una mediana de OS de 2 meses tras la recaída a VenHMA, además sólo un 25% de los pacientes recibió otra líneas de tratamiento tras esta primera línea. No obstante, la variabilidad en la cinética de respuesta en los pacientes tratados con regímenes de baja intensidad supone un desafío adicional para establecer un momento clínico óptimo para su implementación. Este hecho respalda la necesidad de realizar una evaluación extendida de MRD a lo largo del tratamiento, como recomiendan las directrices ELN-DAVID. Las intervenciones preventivas podrían considerar, entre otros factores, la presencia de dianas terapéuticas en la enfermedad del paciente en el momento de la recaída.

Finalmente, se deben considerar las limitaciones de la tesis para interpretar de manera adecuada sus resultados. La limitación común a todas las publicaciones nace de la naturaleza retrospectiva de las mismas. En los estudios de la validación de la ELN 2022 en el contexto del AloTPH, en el primer artículo no pudimos disponer de características basales relevantes, como el estado de la ERM previo al procedimiento. Además, un subgrupo de pacientes tuvo que ser excluido de la muestra inicial por carecer de información biológica relevante para la estratificación de riesgo. Estas limitaciones condicionaron el desarrollo y análisis del segundo estudio. Respecto al análisis del manejo clínico con venetoclax más agentes hipometilantes en pacientes en respuesta, que constituye la tercera publicación de esta tesis, existe un tamaño muestral reducido y la propia ausencia de algoritmos estandarizados para la reducción de dosis y el manejo de eventos adversos constituye un sesgo pese a ser parte del análisis, lo que subraya la necesidad de ensayos prospectivos que definan pautas óptimas de dosificación y seguimiento. La experiencia de uso preemptivo de venetoclax más agentes hipometilantes en recaída o refracteriedad molecular tras quimioterapia intensiva, solo incluye 17 pacientes con subtipos de LMA heterogéneos dentro de esta publicación “piloto”, lo que limita su generalización y señala la urgencia de ensayos prospectivos para confirmar eficacia, duración de la respuesta y pautas de tratamiento como el que hemos desarrollado en el grupo CETLAM, y que se encuentra en el momento actual reclutando pacientes

gracias a los hallazgos de esta publicación. El estudio de la supervivencia de pacientes tras fallo a VenHMA se ve condicionada por el escaso número de pacientes sometidos a tratamiento de rescate, lo que disminuye la capacidad de detectar diferencias significativas en función de ello y obliga a ampliar el análisis en futuras cohortes con mayor número de pacientes rescatados para conocer si estos ofrecen beneficio. Por último, en la correspondencia donde analizamos el valor pronóstico de la ERM en VenHMA, el protocolo descentralizado de MRD y el análisis conjunto de pacientes de novo y en estado de recaída o refractariedad pueden limitar la validación de los resultados, por lo que una mayor cantidad de pacientes analizados dentro de estos criterios podría aumentar la robustez de los mismos.

Conclusiones

1. La clasificación de riesgo de la European LeukemiaNet 2022 discrimina adecuadamente el pronóstico de los pacientes con leucemia mieloide aguda que reciben un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos en remisión completa.

2. La identificación del subgrupo Adverse-Plus en el contexto del alotrasplante estratifica mejor el riesgo biológico de la leucemia mieloide aguda. Todo ello hace necesario el desarrollo de estrategias terapéuticas específicas para prevenir la recaída postrasplante y mejorar la supervivencia en este subgrupo de pacientes, que es muy limitada

3. La mayoría de los pacientes que reciben tratamiento con venetoclax en combinación con agentes hipometilantes presentan citopenias tras alcanzar una respuesta completa hematológica. El manejo adecuado de las mismas evita las complicaciones derivadas durante el tratamiento mantenido.

4. La combinación de venetoclax con agentes hipometilantes es eficaz como tratamiento de rescate en la mayoría de pacientes con riesgo biológico favorable según la European LeukemiaNet 2022, y que presentan persistencia o recaída a nivel molecular tras tratamiento con quimioterapia estándar.

5. La respuesta a nivel de enfermedad residual medible, evaluada según las recomendaciones de la European LeukemiaNet en 2021, presenta un impacto pronóstico significativo en la supervivencia en pacientes tratados con regímenes de baja intensidad basados en venetoclax. Estos hallazgos recalcan la importancia de la monitorización también en los regímenes de baja intensidad.

6. En pacientes diagnosticados de leucemia mieloide aguda tratados con terapias de baja intensidad basadas en venetoclax , la supervivencia tras la recaída morfológica es ominosa, debido a la falta de opciones terapéuticas efectivas.

Bibliografía

1. Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute myeloid leukemia. N Engl J Med. 2015 Sep 16;373(12):1136–52.
2. DiNardo CD, Erba HP, Freeman SD, Wei AH. Acute myeloid leukaemia. Lancet. 2023;401(10393):2073–86.
3. Long NA, Golla U, Sharma A, Claxton DF. Acute myeloid leukemia stem cells: origin, characteristics, and clinical implications. Stem Cell Rev Rep. 2022;18(4):1211–26.
4. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. Nature. 1994;367(6464):645–8.
5. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. Nat Med. 1997;3(7):730–7.
6. Bullinger L, Döhner K, Döhner H. Genomics of acute myeloid leukemia diagnosis and pathways. J Clin Oncol. 2017 Feb 13;35(9):934–46.
7. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, Gaidzik VI, Paschka P, Roberts ND, et al. Genomic classification and prognosis in acute myeloid leukemia. N Engl J Med. 2016;374(23):2209–21.
8. Reilly JT. Pathogenesis of acute myeloid leukaemia and inv(16)(p13;q22): a paradigm for understanding leukaemogenesis? Br J Haematol. 2005;128(1):18–34.
9. Bachas C, Schuurhuis GJ, Hollink IHIM, Kwidama ZJ, Goemans BF, Zwaan CM, et al. High-frequency type I/II mutational shifts between diagnosis and relapse are associated with outcome in pediatric AML: implications for personalized medicine. Blood. 2010 Oct 14;116(15):2752–8.
10. Snyder R. Leukemia and benzene. Int J Environ Res Public Health. 2012;9(8):2875–93.
11. Borthakur G, Estey EE. Therapy-related acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. Curr Oncol Rep. 2007;9(5):373–7.
12. Bizzozero OJ, Johnson KG, Ciocco A, Hoshino T, Itoga T, Toyoda S, et al. Radiation-related leukemia in Hiroshima and Nagasaki, 1946–1964. N Engl J Med. 1966;274(20):1095–101.

13. Leuraud K, Richardson DB, Cardis E, Daniels RD, Gillies M, O'Hagan JA, et al. Ionising radiation and risk of death from leukaemia and lymphoma in radiation-monitored workers (INWORKS): an international cohort study. Lancet Haematol. 2015 Jul;2(7):e276–81.
14. Mucci LA, Granath F, Cnattingius S. Maternal smoking and childhood leukemia and lymphoma risk among 1,440,542 Swedish children. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004 Sep;13(9):1528–33.
15. Martínez-Cuadrón D, Megías-Vericat JE, Gil C, Bernal T, Tormo M, Martínez-Sánchez P, et al. Outcomes after intensive chemotherapy for secondary and myeloid-related changes acute myeloid leukemia patients aged 60 to 75 years old: a retrospective analysis from the PETHEMA registry. Haematologica. 2024 Jan;109(1):115–28.
16. Weeks LD, Ebert BL. Causes and consequences of clonal hematopoiesis. Blood 2023;142(26):2235–46
17. Bowman RL, Busque L, Levine RL. Clonal Hematopoiesis and Evolution to Hematopoietic Malignancies. Vol. 22, Cell Stem Cell. Cell Press; 2018; 22:157–70.
18. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, Manning A, Grauman P V., Mar BG, et al. Age-Related Clonal Hematopoiesis Associated with Adverse Outcomes. New England Journal of Medicine. 2014 Dec 25;371(26):2488–98.
19. Jaiswal S. Clonal hematopoiesis and nonhematologic disorders. Blood. 2020 Oct 1;136(14):1606–14.
20. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, Lindsley RC, Sekeres MA, Hasserjian RP, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. Blood. 2015 Jul 2;126(1):9–16.
21. Andrew L. Young, R. Spencer Tong, Brenda M. Birmann, Todd E. Druley. Clonal hematopoiesis and risk of acute myeloid leukemia. Haematologica. 2019 Dec 1;104(12):2410–2417
22. Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, Lindberg J, Rose SA, Bakhoum SF, et al. Clonal Hematopoiesis and Blood-Cancer Risk Inferred from Blood DNA Sequence. New England Journal of Medicine. 2014;371(26):2477–87.

23. Bolton KL, Ptashkin RN, Gao T, Braunstein L, Devlin SM, Kelly D, et al. Cancer therapy shapes the fitness landscape of clonal hematopoiesis. Nat Genet. 2020;52(11):1219–26.
24. Steensma DP. Clinical Implications of Clonal Hematopoiesis. Mayo Clin Proc. 2018 Aug 1;93(8):1122–30.
25. Feurstein S, Drazer M, Godley LA. Germline predisposition to hematopoietic malignancies. Hum Mol Genet. 2021 Oct 15;30(20):R225–35
26. Duncavage EJ, Bagg A, Hasserjian RP, DiNardo CD, Godley LA, Iacobucci I, et al. Genomic profiling for clinical decision making in myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2022 Nov 24;140(21):2228–47.
27. Sébert M, Passet M, Raimbault A, Rahmé R, Raffoux E, Sicre de Fontbrune F, et al. Germline DDX41 mutations define a significant entity within adult MDS/AML patients. Blood. 2019 Oct 24;134(17):1441–4.
28. Duployez N, Largeaud L, Duchmann M, Kim R, Rieunier J, Lambert J, et al. Prognostic impact of DDX41 germline mutations in intensively treated acute myeloid leukemia patients: an ALFA-FILO study. Blood. 2022 Aug 18;140(7):756–68.
29. Cheloor Kovilakam S, Gu M, Dunn WG, Marando L, Barcena C, Nik-Zainal S, et al. Prevalence and significance of DDX41 gene variants in the general population. Blood. 2023 Oct 5;142(14):1185–92.
30. Guijarro F, López-Guerra M, Morata J, Bataller A, Paz S, Cornet-Masana JM, et al. Germ line variants in patients with acute myeloid leukemia without a suspicion of hereditary hematologic malignancy syndrome. Blood Adv. 2023 Sep 29;7(19):5799–811.
31. Arber D, Wang S, Branford S, Foucar K, Gotlib J, Hobbs G, et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia: Integrating Morphological, Clinical, and Genomic Data. Blood. 2022; 140(11):1200-1228.
32. Roloff GW, Drazer MW, Godley LA. Inherited Susceptibility to Hematopoietic Malignancies in the Era of Precision Oncology. JCO Precis Oncol. 2021;(5):107–22.

33. Shallis RM, Wang R, Davidoff A, Ma X, Zeidan AM. Epidemiology of acute myeloid leukemia: Recent progress and enduring challenges. Blood Rev. 2019;36:70–87

34. SEER*Explorer: An interactive website for SEER cancer statistics [Internet]. Surveillance Research Program NCI: SEER. 2024 [Consultado 14 Ene 2025]. Disponible en: https://seer.cancer.gov/statistics-network/explorer.

35. NORDCAN (Association of the Nordic Cancer Registries) [Internet]. International Agency for Research on Cancer WHO. 2020. [Consultado 14 Ene 2025] Disponible en: http://www- dep.iarc.fr/NORDCAN.htm. 2020, 2020

36. Juliusson G, Jädersten M, Deneberg S, Lehmann S, Möllgård L, Wennström L, et al. The prognostic impact of FLT3-ITD and NPM1 mutation in adult AML is age-dependent in the population-based setting. Blood Adv. 2020 Mar 23;4(6):1094–101

37. Röllig C, Ossenkoppele GJ. Acute myeloid leukemia. 1st Edition. Switzerland. Springer Nature Switzerland. 2021

38. Chen X, Fromm JR, Naresh KN. “Blasts” in myeloid neoplasms – how do we define blasts and how do we incorporate them into diagnostic schema moving forward? Leukemia. 2022;36(2):327–32.

39. Piaton E, Fabre M, Goubin-Versini I, Bretz-Grenier MF, Courtade-Saïdi M, Vincent S, et al. Recommandations techniques et règles de bonne pratique pour la coloration de May-Grünwald-Giemsa : revue de la littérature et apport de l’assurance qualité. Ann Pathol. 2015;35(4):294–305.

40. Sanz MA, Fenaux P, Tallman MS, Estey EH, Löwenberg B, Naoe T, et al. Management of acute promyelocytic leukemia: Updated recommendations from an expert panel of the European LeukemiaNet. Blood. 2019;133(15):1630–43.

41. Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. Leukemia. 2022; 36: 1703–19.

42. Guijarro F, Garrote M, Villamor N, Colomer D, Esteve J, López-Guerra M. Novel Tools for Diagnosis and Monitoring of AML. Current Oncology. 2023;30(6):5201–13.

43. Borowitz MJ, Lynn Guenther K, Shults KE, Stelzer GT. Immunophenotyping of Acute Leukemia by Flow Cytometric Analysis: Use of CD45 and Right-Angle Light Scatter to Gate on Leukemic Blasts in Three-Color Analysis. Am J Clin Pathol. 1993 Nov 1;100(5):534–40.

44. Grimwade D, Walker H, Oliver F, Wheatley K, Harrison C, Harrison G, et al. The Importance of Diagnostic Cytogenetics on Outcome in AML: Analysis of 1,612 Patients Entered Into the MRC AML 10 Trial. Blood. 1998;92(7):2322–33.

45. Grimwade D, Mrózek K. Diagnostic and Prognostic Value of Cytogenetics in Acute Myeloid Leukemia. Hematol Oncol Clin North Am. 2011;25(6):1135–61.

46. The Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and Epigenomic Landscapes of Adult De Novo Acute Myeloid Leukemia. New England Journal of Medicine. 2013;368(22):2059–74.

47. Stone RM, Mandrekar SJ, Sanford BL, Laumann K, Geyer S, Bloomfield CD, et al. Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation. New England Journal of Medicine. 2017 Jun 23;377(5):454–64.

48. Levis MJ, Hamadani M, Logan B, Jones RJ, Singh AK, Litzow M, et al. Gilteritinib as Post-Transplant Maintenance for AML With Internal Tandem Duplication Mutation of *FLT3*. Journal of Clinical Oncology. 2024;42(15):1766–75.

49. Daver N, Perl AE, Maly J, Levis M, Ritchie E, Litzow M, et al. Venetoclax Plus Gilteritinib for FLT3-Mutated Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia. Journal of Clinical Oncology. 2022 Jul 18;40(35):4048–59.

50. Short NJ, Daver N, Dinardo CD, Kadia T, Nasr LF, Macaron W, et al. Azacitidine, Venetoclax, and Gilteritinib in Newly Diagnosed and Relapsed or Refractory FLT3-Mutated AML. Journal of Clinical Oncology. 2024 Jan 26;42(13):1499–508.

51. Perl AE, Martinelli G, Cortes JE, Neubauer A, Berman E, Paolini S, et al. Gilteritinib or Chemotherapy for Relapsed or Refractory FLT3-Mutated AML. New England Journal of Medicine. 2019 Oct 30;381(18):1728–40.

52. Mustafa Ali MK, Williams MT, Corley EM, AlKaabba F, Niyongere S. Impact of KRAS and NRAS mutations on outcomes in acute myeloid leukemia. Leuk Lymphoma. 2023 Apr 16;64(5):962–71.

53. Wang S, Wu Z, Li T, Li Y, Wang W, Hao Q, et al. Mutational spectrum and prognosis in NRAS-mutated acute myeloid leukemia. Sci Rep. 2020;10(1):12152

54. Bowen DT, Frew ME, Hills R, Gale RE, Wheatley K, Groves MJ, et al. RAS mutation in acute myeloid leukemia is associated with distinct cytogenetic subgroups but does not influence outcome in patients younger than 60 years. Blood. 2005 Sep 15;106(6):2113–9.

55. Zhang Q, Riley-Gillis B, Han L, Jia Y, Lodi A, Zhang H, et al. Activation of RAS/MAPK pathway confers MCL-1 mediated acquired resistance to BCL-2 inhibitor venetoclax in acute myeloid leukemia. Signal Transduct Target Ther. 2022;7(1):51

56. Cruse G, Metcalfe DD, Olivera A. Functional Deregulation of KIT: Link to Mast Cell Proliferative Diseases and Other Neoplasms. Immunol Allergy Clin North Am. 2014;34(2):219–37.

57. Ishikawa Y, Kawashima N, Atsuta Y, Sugiura I, Sawa M, Dobashi N, et al. Prospective evaluation of prognostic impact of KIT mutations on acute myeloid leukemia with RUNX1-RUNX1T1 and CBFB-MYH11. Blood Adv. 2020 Jan 3;4(1):66–75.

58. Tian SS, Tapley P, Sincich C, Stein RB, Rosen J, Lamb P. Multiple Signaling Pathways Induced by Granulocyte Colony-Stimulating Factor Involving Activation of JAKs, STAT5, and/or STAT3 Are Required for Regulation of Three Distinct Classes of Immediate Early Genes. Blood. 1996;88(12):4435–44

59. Maffei R, Paolini A, Conte B, Riva G, Nasillo V, Cretì F, et al. Distribution of different classes of CSF3R mutations and co-mutational pattern in 360 myeloid neoplasia. Ann Hematol. 2025

60. Fobare S, Kohlschmidt J, Ozer HG, Mrózek K, Nicolet D, Mims AS, et al. Molecular, clinical, and prognostic implications of PTPN11 mutations in acute myeloid leukemia. Blood Adv. 2022 Feb 25;6(5):1371–80.

61. Barford D, Neel BG. Revealing mechanisms for SH2 domain mediated regulation of the protein tyrosine phosphatase SHP-2. Structure. 1998 Mar 15;6(3):249–54.

62. Largaespada DA, Brannan CI, Jenkins NA, Copeland NG. Nf1 deficiency causes Ras-Dediated granulocyte/macrophage colony stimulating factor hypersensitivity and chronic myeloid leukaemia. Nat Genet. 1996;12(2):137–43.

63. Eisfeld AK, Kohlschmidt J, Mrózek K, Mims A, Walker CJ, Blachly JS, et al. NF1 mutations are recurrent in adult acute myeloid leukemia and confer poor outcome. Leukemia. 2018;32(12):2536–45.

64. Inano T, Araki M, Morishita S, Imai M, Yasuda H, Nitta H, et al. JAK2 exon 12 mutation in myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm with ring sideroblasts and thrombocytosis: Not an exclusive mutation to polycythaemia vera. Br J Haematol. 2019;187(1):e27–31.

65. Aynardi J, Manur R, Hess PR, Chekol S, Morrissette JJD, Babushok D, et al. JAK2 V617F-positive acute myeloid leukaemia (AML): a comparison between de novo AML and secondary AML transformed from an underlying myeloproliferative neoplasm. A study from the Bone Marrow Pathology Group. Br J Haematol. 2018 Jul 1;182(1):78–85.

66. Schmoellerl J, Barbosa IAM, Minnich M, Andersch F, Smeenk L, Havermans M, et al. EVI1 drives leukemogenesis through aberrant ERG activation. Blood. 2023 Feb 2;141(5):453–66

67. Gröschel S, Sanders MA, Hoogenboezem R, de Wit E, Bouwman BAM, Erpelinck C, et al. A Single Oncogenic Enhancer Rearrangement Causes Concomitant EVI1 and GATA2 Deregulation in Leukemia. Cell. 2014 Apr 10;157(2):369–81.

68. Mendes A, Fahrenkrog B. NUP214 in Leukemia: It's More than Transport. Cells. 2019;8(1):76.

69. Makishima H, Yoshida K, Nguyen N, Przychodzen B, Sanada M, Okuno Y, et al. Somatic SETBP1 mutations in myeloid malignancies. Nat Genet. 2013;45(8):942–6.

70. Chen Z, Yi W, Morita Y, Wang H, Cong Y, Liu JP, et al. Wip1 deficiency impairs haematopoietic stem cell function via p53 and mTORC1 pathways. Nat Commun. 2015;6(1):6808

71. Demidov ON, Kek C, Shreeram S, Timofeev O, Fornace AJ, Appella E, et al. The role of the MKK6/p38 MAPK pathway in Wip1-dependent regulation of ErbB2-driven mammary gland tumorigenesis. Oncogene. 2007;26(17):2502–6.

72. Burocziova M, Danek P, Oravetzova A, Chalupova Z, Alberich-Jorda M, Macurek L. Ppm1d truncating mutations promote the development of genotoxic stress-induced AML. Leukemia. 2023;37(11):2209–20.

73. Daver NG, Maiti A, Kadia TM, Vyas P, Majeti R, Wei AH, et al. TP53-Mutated Myelodysplastic Syndrome and Acute Myeloid Leukemia: Biology, Current Therapy, and Future Directions. Cancer Discov. 2022 Nov 2;12(11):2516–29.

74. Grob T, Al Hinai ASA, Sanders Mathijs A, Kavelaars FG, Rijken M, Gradowska PL, et al. Molecular characterization of mutant TP53 acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome. Blood. 2022 Apr 14;139(15):2347–54.

75. Marks JA, Wang X, Fenu EM, Bagg A, Lai C. TP53 in AML and MDS: The new (old) kid on the block. Blood Rev. 2023;60:101055.

76. Bode AM, Dong Z. Post-translational modification of p53 in tumorigenesis. Nat Rev Cancer. 2004;4(10):793–805.

77. Alan H. Shih, Stephen S. Chung, Emily K. Dolezal, Su-Jiang Zhang, Omar I. Abdel-Wahab, Christopher Y. Park, et al. Mutational analysis of therapy-related myelodysplastic syndromes and acute myelogenous leukemia. Haematologica. 2013 May 31;98(6):908–12

78. Sabapathy K, Lane DP. Therapeutic targeting of p53: all mutants are equal, but some mutants are more equal than others. Nat Rev Clin Oncol. 2018;15(1):13–30.

79. Daver NG, Iqbal S, Renard C, Chan RJ, Hasegawa K, Hu H, et al. Treatment outcomes for newly diagnosed, treatment-naïve TP53-mutated acute myeloid leukemia: a systematic review and meta-analysis. J Hematol Oncol.2023;16(1):19.

80. Rampal R, Alkalin A, Madzo J, Vasanthakumar A, Pronier E, Patel J, et al. DNA Hydroxymethylation Profiling Reveals that WT1 Mutations Result in Loss of TET2 Function in Acute Myeloid Leukemia. Cell Rep. 2014 Dec 11;9(5):1841–55

81. Rampal R, Figueroa ME. Wilms tumor 1 mutations in the pathogenesis of acute myeloid leukemia. Haematologica. 2016 May 31;101(6):672–9.

82. Othman J, Potter N, Ivey A, Tazi Y, Papaemmanuil E, Jovanovic J, et al. Molecular, clinical, and therapeutic determinants of outcome in NPM1-mutated AML. Blood. 2024 Aug 15;144(7):714–28.

83. Jalnapurkar SS, Pawar AS, George SS, Antony C, Somers P, Grana J, et al. PHF6 suppresses self-renewal of leukemic stem cells in AML. Leukemia. 2024;38(9):1938–48.

84. Hou S, Wang X, Guo T, Lan Y, Yuan S, Yang S, et al. PHF6 maintains acute myeloid leukemia via regulating NF-κB signaling pathway. Leukemia. 2023;37(8):1626–37.

85. Meyer C, Larghero P, Almeida Lopes B, Burmeister T, Gröger D, Sutton R, et al. The KMT2A recombinome of acute leukemias in 2023. Leukemia. 2023;37(5):988–1005.

86. Hernández-Sánchez A, González T, Sobas M, Sträng E, Castellani G, Abáigar M, et al. Rearrangements involving 11q23.3/KMT2A in adult AML: mutational landscape and prognostic implications – a HARMONY study. Leukemia. 2024;38(9):1929–37.

87. Bill M, Mrózek K, Kohlschmidt J, Eisfeld AK, Walker CJ, Nicolet D, et al. Mutational landscape and clinical outcome of patients with de novo acute myeloid leukemia and rearrangements involving 11q23/KMT2A. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2020;117(42):26340–6.

88. Issa GC, Aldoss I, DiPersio J, Cuglievan B, Stone R, Arellano M, et al. The menin inhibitor revumenib in KMT2A-rearranged or NPM1-mutant leukaemia. Nature. 2023;615(7954):920–4.

89. Fiskus W, Daver N, Boettcher S, Mill CP, Sasaki K, Birdwell CE, et al. Activity of menin inhibitor ziftomenib (KO-539) as monotherapy or in

combinations against AML cells with MLL1 rearrangement or mutant NPM1. Leukemia 2022;36(11):2729–33.

90. Medina EA, Delma CR, Yang FC. ASXL1/2 mutations and myeloid malignancies. J Hematol Oncol. 2022;15(1):127.

91. Patnaik MM, Padron E, LaBorde RR, Lasho TL, Finke CM, Hanson CA, et al. Mayo prognostic model for WHO-defined chronic myelomonocytic leukemia: ASXL1 and spliceosome component mutations and outcomes. Leukemia. 2013;27(7):1504–10.

92. Mochizuki-Kashio M, Mishima Y, Miyagi S, Negishi M, Saraya A, Konuma T, et al. Dependency on the polycomb gene Ezh2 distinguishes fetal from adult hematopoietic stem cells. Blood. 2011;118(25):6553–61.

93. Fang J, Zhang J, Zhu L, Xin X, Hu H. The epigenetic role of EZH2 in acute myeloid leukemia. PeerJ. 2024 Dec 6;e18656.

94. Tiacci E, Grossmann V, Martelli MP, Kohlmann A, Haferlach T, Falini B. The corepressors BCOR and BCORL1: two novel players in acute myeloid leukemia. Haematologica. 2011 Dec 30;97(1):3–5.

95. Huang G, Cai X, Li D. Significance of targeting DNMT3A mutations in AML. Ann Hematol. 2025;104(3):1399-1414.

96. Stengel A, Baer C, Walter W, Meggendorfer M, Kern W, Haferlach T, et al. Mutational patterns and their correlation to CHIP-related mutations and age in hematological malignancies. Blood Adv. 2021;5(21):4426–34.

97. Yan XJ, Xu J, Gu ZH, Pan CM, Lu G, Shen Y, et al. Exome sequencing identifies somatic mutations of DNA methyltransferase gene DNMT3A in acute monocytic leukemia. Nat Genet. 2011;43(4):309–15

98. Gaidzik VI, Schlenk RF, Paschka P, Stölzle A, Späth D, Kuendgen A, et al. Clinical impact of DNMT3A mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia: results of the AML Study Group (AMLSG). Blood. 2013;121(23):4769–77.

99. Othman J, Meggendorfer M, Tiacci E, Thiede C, Schlenk R, Dillon R, et al. Overlapping features of therapy-related and de novo NPM1-mutated AML. Blood. 2023;141(15):1846-1857.

100. Ward PS, Patel J, Wise DR, Abdel-Wahab O, Bennett BD, Coller HA, et al. The Common Feature of Leukemia-Associated IDH1 and IDH2 Mutations Is a Neomorphic Enzyme Activity Converting alpha Ketoglutarate to 2-Hydroxyglutarate. Cancer Cell. 2010;17(3):225–34.

101. Janin M, Mylonas E, Saada V, Micol JB, Renneville A, Quivoron C, et al. Serum 2-Hydroxyglutarate Production in IDH1- and IDH2-Mutated De Novo Acute Myeloid Leukemia: A Study by the Acute Leukemia French Association Group. Journal of Clinical Oncology. 2013;32(4):297–305.

102. Dang L, White DW, Gross S, Bennett BD, Bittinger MA, Driggers EM, et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. Nature]. 2009;462(7274):739–44.

103. de Botton S, Fenaux P, Yee K, Récher C, Wei AH, Montesinos P, et al. Olutasidenib (FT-2102) induces durable complete remissions in patients with relapsed or refractory IDH1-mutated AML. Blood Adv. 2023;7(13):3117–27.

104. Montesinos P, Recher C, Vives S, Zarzycka E, Wang J, Bertani G, et al. Ivosidenib and Azacitidine in IDH1 -Mutated Acute Myeloid Leukemia . New England Journal of Medicine. 2022;386(16):1519–31.

105. DiNardo CD, Schuh AC, Stein EM, Montesinos P, Wei AH, de Botton S, et al. Enasidenib plus azacitidine versus azacitidine alone in patients with newly diagnosed, mutant-IDH2 acute myeloid leukaemia (AG221-AML-005): a single-arm, phase 1b and randomised, phase 2 trial. Lancet Oncol. 2021;22(11):1597–608.

106. de Botton S, Montesinos P, Schuh AC, Papayannidis C, Vyas P, Wei AH, et al. Enasidenib vs conventional care in older patients with late-stage mutant-IDH2 relapsed/refractory AML: a randomized phase 3 trial. Blood. 2023 Jan 12;141(2):156–67. 110.

107. Stein EM, DiNardo CD, Fathi AT, Pollyea DA, Stone RM, Altman JK, et al. Molecular remission and response patterns in patients with mutant-IDH2 acute myeloid leukemia treated with enasidenib. Blood. 2019 Feb 14;133(7):676–87.

108. Li Y, Xue M, Deng X, Dong L, Nguyen LXT, Ren L, et al. TET2-mediated mRNA demethylation regulates leukemia stem cell homing and self-renewal. Cell Stem Cell. 2023 Aug 3;30(8):1072-1090.e10.

109. Alsafadi S, Houy A, Battistella A, Popova T, Wassef M, Henry E, et al. Cancer-associated SF3B1 mutations affect alternative splicing by promoting alternative branchpoint usage. Nat Commun. 2016;7(1):10615.

110. Tatarian J, Tupper N, Li P, Feusier J, Abdo M, Hyter S, et al. Morphologic, immunophenotypic, molecular, genetic, and clinical characterization in patients with SRSF2-mutated acute myeloid leukemia. Am J Clin Pathol 2023;160(5):490–9.

111. van der Werf I, Wojtuszkiewicz A, Meggendorfer M, Hutter S, Baer C, Heymans M, et al. Splicing factor gene mutations in acute myeloid leukemia offer additive value if incorporated in current risk classification. Blood Adv. 2021 Aug 27;5(17):3254–65.

112. Kwon YS, Jin SW, Song H. Global analysis of binding sites of U2AF1 and ZRSR2 reveals RNA elements required for mutually exclusive splicing by the U2- and U12-type spliceosome. Nucleic Acids Res. 2024;52(3):1420–34.

113. Falini B, Bolli N, Liso A, Martelli MP, Mannucci R, Pileri S, et al. Altered nucleophosmin transport in acute myeloid leukaemia with mutated NPM1: molecular basis and clinical implications. Leukemia. 2009;23(10):1731–43.

114. Martelli MP, Rossi R, Venanzi A, Meggendorfer M, Perriello VM, Martino G, et al. Novel NPM1 exon 5 mutations and gene fusions leading to aberrant cytoplasmic nucleophosmin in AML. Blood. 2021;138(25):2696–701.

115. Falini B, Dillon R. Criteria for Diagnosis and Molecular Monitoring of NPM1-Mutated AML. Blood Cancer Discov. 2024;5(1):8–20.

116. Leong SM, Tan BX, Bte Ahmad B, Yan T, Chee LY, Ang ST, et al. Mutant nucleophosmin deregulates cell death and myeloid differentiation through excessive caspase-6 and -8 inhibition. Blood. 2010;116(17):3286–96.

117. Oka M, Mura S, Otani M, Miyamoto Y, Nogami J, Maehara K, et al. Chromatin-bound CRM1 recruits SET-Nup214 and NPM1c onto HOX clusters causing aberrant HOX expression in leukemia cells. Weis K, Manley JL, Doye V, editors. Elife- 2019;8:e46667.

118. Tyner JW, Tognon CE, Bottomly D, Wilmot B, Kurtz SE, Savage SL, et al. Functional genomic landscape of acute myeloid leukaemia. Nature. 2018;562(7728):526–31

119. Thota S, Viny AD, Makishima H, Spitzer B, Radivoyevitch T, Przychodzen B, et al. Genetic alterations of the cohesin complex genes in myeloid malignancies. Blood. 2014 Sep 11;124(11):1790–8.
120. Fischer A, Hernández-Rodríguez B, Mulet-Lazaro R, Nuetzel M, Hölzl F, van Herk S, et al. STAG2 mutations reshape the cohesin-structured spatial chromatin architecture to drive gene regulation in acute myeloid leukemia. Cell Rep. 2024 Aug 27;43(8).
121. Laczko D, Poveda-Rogers C, Matthews AH, Snaith O, Luger S, Bagg A, et al. RAD21 mutations in acute myeloid leukemia. Leuk Lymphoma. 2024 Jun 6;65(7):958–64.
122. Roudaia L, Cheney MD, Manuylova E, Chen W, Morrow M, Park S, et al. CBFβ is critical for AML1-ETO and TEL-AML1 activity. Blood. 2009 Mar 26;113(13):3070–9.
123. Cheng CK, Li L, Cheng SH, Lau KM, Chan NPH, Wong RSM, et al. Transcriptional repression of the RUNX3/AML2 gene by the t(8;21) and inv(16) fusion proteins in acute myeloid leukemia. Blood. 2008 Oct 15;112(8):3391–402.
124. Al-Harbi S, Aljurf M, Mohty M, Almohareb F, Ahmed SOA. An update on the molecular pathogenesis and potential therapeutic targeting of AML with t(8;21)(q22;q22.1);RUNX1-RUNX1T1. Blood Adv. 2020 Jan 14;4(1):229–38.
125. Cheng CK, Li L, Cheng SH, Lau KM, Chan NPH, Wong RSM, et al. Transcriptional repression of the RUNX3/AML2 gene by the t(8;21) and inv(16) fusion proteins in acute myeloid leukemia. Blood. 2008 Oct 15;112(8):3391–402.
126. Liu P, Liu JP, Sun SJ, Gao Y, Ai Y, Chen X, et al. CBFB-MYH11 Fusion Sequesters RUNX1 in Cytoplasm to Prevent DNMT3A Recruitment to Target Genes in AML. Front Cell Dev Biol. 2021;9.
127. Ishikawa Y, Kawashima N, Atsuta Y, Sugiura I, Sawa M, Dobashi N, et al. Prospective evaluation of prognostic impact of KIT mutations on acute myeloid leukemia with RUNX1-RUNX1T1 and CBFB-MYH11. Blood Adv. 2020 Jan 3;4(1):66–75.

128. Testa U, Pelosi E. Function of PML-RARA in Acute Promyelocytic Leukemia. In: Borggrefe T, Giaimo BD, editors. Transcription factors in blood cell development. 1st Edition. Switzerland. Springer Nature; 2024. 321–39

129. Esteve J, Escoda L, Martín G, Rubio V, Díaz-Mediavilla J, González M, et al. Outcome of patients with acute promyelocytic leukemia failing to front-line treatment with all-trans retinoic acid and anthracycline-based chemotherapy (PETHEMA protocols LPA96 and LPA99): benefit of an early intervention. Leukemia. 2007;21(3):446–52.

130. Ito Y, Bae SC, Chuang LSH. The RUNX family: developmental regulators in cancer. Nat Rev Cancer. 2015;15(2):81–95.

131. Sullivan MJ, Palmer EL, Botero JP. ANKRD26-Related Thrombocytopenia and Predisposition to Myeloid Neoplasms. Curr Hematol Malig Rep 2022;17(5):105–12.

132. Pippucci T, Savoia A, Perrotta S, Pujol-Moix N, Noris P, Castegnaro G, et al. Mutations in the 2032 UTR of ANKRD26, the Ankirin Repeat Domain 26 Gene, Cause an Autosomal-Dominant Form of Inherited Thrombocytopenia, THC2. The American Journal of Human Genetics. 2011;88(1):115–20

133. Bluteau D, Balduini A, Balayn N, Currao M, Nurden P, Deswarte C, et al. Thrombocytopenia-associated mutations in the ANKRD26 regulatory region induce MAPK hyperactivation. J Clin Invest. 2014 Feb 3;124(2):580–91.

134. Pabst T, Mueller BU, Zhang P, Radomska HS, Narravula S, Schnittger S, et al. Dominant-negative mutations of CEBPA, encoding CCAAT/enhancer binding protein-α (C/EBPα), in acute myeloid leukemia. Nat Genet. 2001;27(3):263–70.

135. Pabst T, Eyholzer M, Haefliger S, Schardt J, Mueller BU. Somatic CEBPA Mutations Are a Frequent Second Event in Families With Germline CEBPA Mutations and Familial Acute Myeloid Leukemia. Journal of Clinical Oncology. 2025 Feb 12;26(31):5088–93.

136. Taube F, Georgi JA, Kramer M, Stasik S, Middeke JM, Christoph R, et al. CEBPA mutations in 4708 patients with acute myeloid leukemia: differential impact of bZIP and TAD mutations on outcome. Blood. 2022;139(1):87–103.

137. Tarlock K, Lamble AJ, Wang YC, Gerbing RB, Ries RE, Loken MR, et al. CEBPA -bZip mutations are associated with favorable prognosis in de novo AML : a report from the Children's Oncology Group. Blood 2021;138(13):1137–47.

138. Sierra J, Nomdedeu JF. CEBPA bZip mutations : just a single shot. Blood. 2021;138(13):1091–2.

139. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, et al. Proposals for the Classification of the Acute Leukaemias French-American-British (FAB) Co-operative Group. Br J Haematol.1976;33(4):451–8.

140. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. Blood 2002;100(7):2292–302.

141. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. Blood 2009;114(5):937–51.

142. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016;127(20):2391–405.

143. Chang C-C, Kuzu A., What's new in AML Classification (WHO 2022 vs International Consensus Classification) [Internet]. College of American Pathologists. [Consultado 31 Ene 2025]. Disponible en: https://www.cap.org/member-resources/articles/whats-new-in-aml-classification-who-2022-vs-international-consensus-classification

144. Huber S, Baer C, Hutter S, Dicker F, Meggendorfer M, Pohlkamp C, et al. AML classification in the year 2023: How to avoid a Babylonian confusion of languages. Leukemia. 2023;37(7):1413–20.

145. Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, Thiede C, Orlando SM, Iacobelli S, et al. Retinoic Acid and Arsenic Trioxide for Acute Promyelocytic Leukemia. New England Journal of Medicine. 2013;369(2):111–21.

146. Castaigne S, Pautas C, Terré C, Raffoux E, Bordessoule D, Bastie JN, et al. Effect of gemtuzumab ozogamicin on survival of adult patients with de-novo

acute myeloid leukaemia (ALFA-0701): a randomised, open-label, phase 3 study. The Lancet. 2012 Apr 21;379(9825):1508–16.

147. Hills RK, Castaigne S, Appelbaum FR, Delaunay J, Petersdorf S, Othus M, et al. Addition of gemtuzumab ozogamicin to induction chemotherapy in adult patients with acute myeloid leukaemia: a meta-analysis of individual patient data from randomised controlled trials. Lancet Oncol. 2014;15(9):986–96.

148. El Chaer F, Hourigan CS, Zeidan AM. How I treat AML incorporating the updated classifications and guidelines. Blood. 2023;141(23):2813-2823.

149. Matthews AH, Perl AE, Luger SM, Loren AW, Gill SI, Porter DL, et al. Real-world effectiveness of CPX-351 vs venetoclax and azacitidine in acute myeloid leukemia. Blood Adv. 2022;6(13):3997-4005.

150. Rautenberg C, Stölzel F, Röllig C, Stelljes M, Gaidzik V, Lauseker M, et al. Real-world experience of CPX-351 as first-line treatment for patients with acute myeloid leukemia. Blood Cancer J. 2021;11(10).

151. Othman J, Wilhelm-Benartzi C, Dillon R, Knapper S, Freeman SD, Batten LM, et al. A randomized comparison of CPX-351 and FLAG-Ida in adverse karyotype AML and high-risk MDS: the UK NCRI AML19 trial. Blood Adv. 2023 Aug 11;7(16):4539–49. 155.

152. Lancet JE, Uy GL, Newell LF, Lin TL, Ritchie EK, Stuart RK, et al. CPX-351 versus 7+3 cytarabine and daunorubicin chemotherapy in older adults with newly diagnosed high-risk or secondary acute myeloid leukaemia: 5-year results of a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. Vol. 8, Articles Lancet Haematol. 2021; 8(7):e481-e491.

153. Lancet JE, Uy GL, Cortes JE, Newell LF, Lin TL, Ritchie EK, et al. CPX-351 (cytarabine and daunorubicin) Liposome for Injection Versus Conventional Cytarabine Plus Daunorubicin in Older Patients With Newly Diagnosed Secondary Acute Myeloid Leukemia. J Clin Oncol. 2018;36:2684–92.

154. Niederwieser D, Baldomero H, Bazuaye N, Bupp C, Chaudhri N, Corbacioglu S, et al. One and a half million hematopoietic stem cell transplants: continuous and differential improvement in worldwide access with the use of non-identical family donors. Haematologica. 2022 May 1;107(5):1045–53.

155. Thomas ED, Lochte HL, Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous Infusion of Bone Marrow in Patients Receiving Radiation and Chemotherapy. New England Journal of Medicine. 1957;257(11):491–6.

156. McSweeney PA, Niederwieser D, Shizuru JA, Sandmaier BM, Molina AJ, Maloney DG, et al. Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. Blood. 2001;97(11):3390–400.

157. Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM, Hertenstein B, Jacobsen N, Arcese W, et al. Graft-Versus-Leukemia Effect of Donor Lymphocyte Transfusions in Marrow Grafted Patients. Blood. 1995;86(5):2041–50.

158. Salas MQ, Pedraza A, Charry P, Suárez-Lledó M, Rodríguez-Lobato LG, Brusosa M, et al. Post-Transplantation Cyclophosphamide and Tacrolimus for Graft-versus-Host Disease Prevention after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation from HLA-Matched Donors Has More Advantages Than Limitations. Transplant Cell Ther. 2024;30(2):213.e1-213.e12.

159. Salas MQ, Charry P, Pedraza A, Martínez-Cibrian N, Solano MT, Domènech A, et al. PTCY and Tacrolimus for GVHD Prevention for Older Adults Undergoing HLA-Matched Sibling and Unrelated Donor AlloHCT. Transplant Cell Ther 2022;28(8):489.e1-489.e9.

160. Marty FM, Ljungman P, Chemaly RF, Maertens J, Dadwal SS, Duarte RF, et al. Letermovir Prophylaxis for Cytomegalovirus in Hematopoietic-Cell Transplantation. New England Journal of Medicine. 2017;377(25):2433–44.

161. DeFilipp Z, Alousi AM, Pidala JA, Carpenter PA, Onstad LE, Arai S, et al. Nonrelapse mortality among patients diagnosed with chronic GVHD: an updated analysis from the Chronic GVHD Consortium. Blood Adv. 2021;5(20):4278–84.

162. Yanada M, Konuma T, Mizuno S, Saburi M, Shinohara A, Tanaka M, et al. Predicting non-relapse mortality following allogeneic hematopoietic cell transplantation during first remission of acute myeloid leukemia. Bone Marrow Transplant. 2021;56(2):387–94.

163. Blaise D, Devillier R, Lecoroller-Sorriano AG, Boher JM, Boyer-Chammard A, Tabrizi R, et al. Low non-relapse mortality and long-term preserved quality of life in older patients undergoing matched related donor allogeneic stem cell

transplantation: a prospective multicenter phase II trial. Haematologica. 2015;100(2 SE-Articles):269–74.

164. Sorror ML, Maris MB, Storb R, Baron F, Sandmaier BM, Maloney DG, et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. Blood. 2005;106(8):2912–9.

165. Gratwohl A. The EBMT risk score. Bone Marrow Transplant. 2012;47(6):749–56.

166. Salas MQ, Atenafu EG, Pasic I, Al-Shaibani E, Bascom O, Wilson L, et al. Impact of hematopoietic cell transplant frailty scale on transplant outcome in adults. Bone Marrow Transplant. 2023;58(3):317–24.

167. Salas MQ, Atenafu EG, Pasic I, Bascom O, Wilson L, Lam W, et al. HCT frailty scale for younger and older adults undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 2023;58(11):1237–46.

168. Ferrara F, Barosi G, Venditti A, Angelucci E, Gobbi M, Pane F, et al. Consensus-based definition of unfitness to intensive and non-intensive chemotherapy in acute myeloid leukemia: a project of SIE, SIES and GITMO group on a new tool for therapy decision making. Leukemia. 2013;27(5):997–9.

169. Dombret H, Seymour JF, Butrym A, Wierzbowska A, Selleslag D, Jang JH, et al. International phase 3 study of azacitidine vs conventional care regimens in older patients with newly diagnosed AML with >30% blasts. Blood. 2015 Jul 16;126(3):291–9.

170. Kantarjian HM, Thomas XG, Dmoszynska A, Wierzbowska A, Mazur G, Mayer J, et al. Multicenter, randomized, open-label, phase III trial of decitabine versus patient choice, with physician advice, of either supportive care or low-dose cytarabine for the treatment of older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia. J Clin Oncol. 2012 Jul;30(21):2670–7.

171. Parker JE, Mufti GJ, Rasool F, Mijovic A, Devereux S, Pagliuca A. The role of apoptosis, proliferation, and the Bcl-2-related proteins in the myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia secondary to MDS. Blood. 2000 Dec;96(12):3932–8.

172. Konopleva M, Zhao S, Hu W, Jiang S, Snell V, Weidner D, et al. The anti-apoptotic genes Bcl-XL and Bcl-2 are over-expressed and contribute to

chemoresistance of non-proliferating leukaemic CD34+ cells. Br J Haematol. 2002;118(2):521–34.

173. Campbell KJ, Tait SWG. Targeting BCL-2 regulated apoptosis in cancer. Open Biol. 2018;8(5):1–11.

174. Konopleva M, Pollyea DA, Potluri J, Chyla B, Hogdal L, Busman T, et al. Efficacy and biological correlates of response in a phase II study of venetoclax monotherapy in patients with acute Myelogenous Leukemia. Cancer Discov. 2016;6(10):1106–17.

175. Bogenberger JM, Delman D, Hansen N, Valdez R, Fauble V, Mesa RA, et al. Ex vivo activity of BCL-2 family inhibitors ABT-199 and ABT-737 combined with 5-azacytidine in myeloid malignancies. Leuk Lymphoma. 2015;56(1):226–9.

176. DiNardo CD, Jonas BA, Pullarkat V, Thirman MJ, Garcia JS, Wei AH, et al. Azacitidine and Venetoclax in Previously Untreated Acute Myeloid Leukemia. New England Journal of Medicine. 2020 Aug 13;383(7):617–29.

177. Cortes JE, Dombret H, Merchant A, Tauchi T, DiRienzo CG, Sleight B, et al. Glasdegib Plus Intensive/Nonintensive Chemotherapy in Untreated Acute Myeloid Leukemia: BRIGHT AML 1019 Phase III Trials. Future Oncology. 2019 Sep 13;15(31):3531–45

178. Lachowiez CA, Loghavi S, Zeng Z, Tanaka T, Kim YJ, Uryu H, et al. A Phase Ib/II Study of Ivosidenib with Venetoclax ± Azacitidine in IDH1-Mutated Myeloid Malignancies. Blood Cancer Discov. 2023;4(4):276–93.

179. Thol F, Döhner H, Ganser A. How I treat refractory and relapsed acute myeloid leukemia. Blood. 2024;143(1):11-20.

180. DiNardo CD, Lachowiez CA, Takahashi K, Loghavi S, Kadia T, Daver N, et al. Venetoclax combined with FLAG-IDA induction and consolidation in newly diagnosed acute myeloid leukemia. Am J Hematol. 2022 Aug 1;97(8):1035–43.

181. DiNardo CD, Stein EM, de Botton S, Roboz GJ, Altman JK, Mims AS, et al. Durable Remissions with Ivosidenib in *IDH1*-Mutated Relapsed or Refractory AML. New England Journal of Medicine. 2018;378(25):2386–98.

182. Stein EM, DiNardo CD, Pollyea DA, Fathi AT, Roboz GJ, Altman JK, et al. Enasidenib in mutant IDH2 relapsed or refractory acute myeloid leukemia. Blood- 2017 Aug 10;130(6):722–31.

183. Larson RA, Sievers EL, Stadtmauer EA, Löwenberg B, Estey EH, Dombret H, et al. Final report of the efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg) in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first recurrence. Cancer. 2005 Oct 1;104(7):1442–52.

184. Issa GC, Aldoss I, DiPersio J, Cuglievan B, Stone R, Arellano M, et al. The menin inhibitor revumenib in KMT2A-rearranged or NPM1-mutant leukaemia. Nature- 2023;615(7954):920–4.

185. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, Craddock C, DiNardo CD, Dombret H, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. Blood. 2022 Sep 22;140(12):1345-1377.187.

186. Juliusson G, Lazarevic V, Hörstedt AS, Hagberg O, Höglund M. Swedish Acute Leukemia Registry Group. Acute myeloid leukemia in the real world : why population-based registries are needed. Blood. 2012;119(17):3890–9.

187. Lazarevic V, Hörstedt AS, Johansson B, Antunovic P, Billström R, Derolf Å, et al. Incidence and prognostic significance of karyotypic subgroups in older patients with acute myeloid leukemia: the Swedish population-based experience. Blood Cancer J. 2014;4(2):e188–e188.

188. Siddhartha J, Pierre F, Jason F, Alisa M, V GP, G MB, et al. Age-Related Clonal Hematopoiesis Associated with Adverse Outcomes. New England Journal of Medicine. 2024 Nov 13;371(26):2488–98.

189. Sasaki K, Kadia T, Begna K, DiNardo CD, Borthakur G, Short NJ, et al. Prediction of early (4-week) mortality in acute myeloid leukemia with intensive chemotherapy. Am J Hematol. 2022;97(1):68–78.

190. Krug U, Röllig C, Koschmieder A, Heinecke A, Sauerland MC, Schaich M, et al. Complete remission and early death after intensive chemotherapy in patients aged 60 years or older with acute myeloid leukaemia: a web-based application for prediction of outcomes. The Lancet. 2010 Dec 11;376(9757):2000–8.

191. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. Am J Clin Oncol. 1982;5(6):649-55.

192. Salas MQ, Atenafu EG, Pasic I, Bascom O, Wilson L, Lam W, et al. HCT frailty scale for younger and older adults undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 2023;58(11):1237–46.

193. Le Floch AC, Eisinger F, D'Incan E, Rey J, Charbonnier A, Caymaris L, et al. Socioeconomic deprivation is associated with decreased survival in patients with acute myeloid leukemia. Cancer Epidemiol. 2020;66:101699.

194. Hantel A, Cernik C, Uno H, Walsh TP, Calip GS, DeAngelo DJ, et al. Sociodemographic associations with uptake of novel therapies for acute myeloid leukemia. Blood Cancer J. 2023;13(1):192.

195. Unger JM, Hershman DL, Albain KS, Moinpour CM, Petersen JA, Burg K, et al. Patient Income Level and Cancer Clinical Trial Participation. Journal of Clinical Oncology. 2013;31(5):536–42.

196. Zhou Y, Huang G, Cai X, Liu Y, Qian B, Li D. Global, regional, and national burden of acute myeloid leukemia, 1990–2021: a systematic analysis for the global burden of disease study 2021. Biomark Res. 2024 Dec 1;12(1):101.

197. Nielsen LH, Kristensen DT, Jakobsen LH, Bøgsted M, Gregersen H, Madsen J, et al. Socioeconomic Status and Overall Survival among Patients with Hematological Malignant Neoplasms. JAMA Netw Open. 2024;7(3):e241112.

198. Granfeldt Østgård LS, Nørgaard M, Medeiros BC, Severinsen MT, Friis LS, Marcher CW et al. Letters to Blood Associations between cohabitation status, treatment, and outcome in AML patients: a national population-based study. Blood. 2018 Jun 14;131(24):2730-2733.

199. Rowley JD. Identificaton of a translocation with quinacrine fluorescence in a patient with acute leukemia. Ann Genet. 1973;16:109–12.

200. Rowley J, Golomb H, Dougherty C. 15/17 translocation, a consistent chromosomal change in acute promyelocytic leukaemia. The Lancet. 1977;309(8010):549–50.

201. Berger R, Bernheim A, Ochoa-Noguera ME, Daniel MT, Valensi F, Sigaux F, et al. Prognostic significance of chromosomal abnormalities in acute nonlymphocytic leukemia: A study of 343 patients. Cancer Genet Cytogenet. 1987;28(2):293–9.

202. Bloomfield CD, Secker-Walker LM, Goldman AI, Van Den Berghe H, de la Chapelle A, Ruutu T, et al. Six-year follow-up of the clinical significance of karyotype in acute lymphoblastic leukemia. Cancer Genet Cytogenet. 1989 Jul 15;40(2):171–85.

203. Arthur DC, Berger R, Golomb HM, Swansbury GJ, Reeves BR, Alimena G, et al. The clinical significance of karyotype in acute myelogenous leukemia. Cancer Genet Cytogenet. 1989;40(2):203–16.

204. Fenaux P, Preudhomme C, Laï JL, Morel P, Beuscart R, Bauters F. Cytogenetics and their prognostic value in de novo acute myeloid leukaemia: a report on 283 cases. Br J Haematol. 1989;73(1):61–7.

205. Byrd JC, Mrózek K, Dodge RK, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC, et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). Blood. 2002;100(13):4325–36.

206. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters S, Goldstone AH et al., Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. Blood. 2010;116(3):354-65

207. Tazi Y, Arango-Ossa JE, Zhou Y, Bernard E, Thomas I, Gilkes A, et al. Unified classification and risk-stratification in Acute Myeloid Leukemia. Nat Commun. 2022;13(1):4622.

208. Döhner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. Blood. 2010;115(3):453–74.

209. Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood. 2017 Jan 26;129(4):424–47.

210. Mrózek K, Kohlschmidt J, Blachly JS, Nicolet D, Carroll AJ, Archer KJ, et al. Outcome prediction by the 2022 European LeukemiaNet genetic-risk classification for adults with acute myeloid leukemia: an Alliance study. Leukemia. 2023;37(4):788–98.

211. Rausch C, Rothenberg-Thurley M, Dufour A, Schneider S, Gittinger H, Sauerland C, et al. Validation and refinement of the 2022 European LeukemiaNet genetic risk stratification of acute myeloid leukemia. Leukemia. 2023 Jun;37(6):1234-1244.

212. Lachowiez CA, Long N, Saultz J, Gandhi A, Newell LF, Hayes-Lattin B, et al. Comparison and validation of the 2022 European LeukemiaNet guidelines in acute myeloid leukemia. Blood Adv. 2023;7(9):1899–909.

213. Döhner K, Thiede C, Jahn N, Panina E, Gambietz A, Larson RA, et al. Impact of NPM1/FLT3-ITD genotypes defined by the 2017 European LeukemiaNet in patients with acute myeloid leukemia. Blood. 2020;135(5):371–80.

214. van der Werf I, Wojtuszkiewicz A, Meggendorfer M, Hutter S, Baer C, Heymans M, et al. Splicing factor gene mutations in acute myeloid leukemia offer additive value if incorporated in current risk classification. Blood Adv. 2021 Aug 27;5(17):3254–65.

215. Gardin C, Pautas C, Fournier E, Itzykson R, Lemasle E, Bourhis JH, et al. Added prognostic value of secondary AML-like gene mutations in ELN intermediate-risk older AML: ALFA-1200 study results. Blood Adv. 2020;4(9):1942–9.

216. Jahn E, Saadati M, Fenaux P, Gobbi M, Roboz GJ, Bullinger L, et al. Clinical impact of the genomic landscape and leukemogenic trajectories in non-intensively treated elderly acute myeloid leukemia patients. Leukemia. 2023;37(11):2187–96.

217. Döhner H, Pratz KW, DiNardo CD, Jonas BA, Pullarkat VA, Thirman MJ, et al. ELN Risk Stratification Is Not Predictive of Outcomes for Treatment-Naïve

Patients with Acute Myeloid Leukemia Treated with Venetoclax and Azacitidine. Blood. 2022;140(Supplement 1):1441–4.

218. Nachmias B, Aumann S, Haran A, Schimmer AD. Venetoclax resistance in acute myeloid leukaemia—Clinical and biological insights. Br J Haematol. 2024 Apr 1;204(4):1146–58.

219. Gaut D, Burkenroad A, Duong T, Feammelli J, Sasine J, Schiller G. Venetoclax combination therapy in relapsed/refractory acute myeloid leukemia: A single institution experience. Leuk Res. 2020;90:106314.

220. Feld J, Tremblay D, Dougherty M, Czaplinska T, Sanchez G, Brady C, et al. Safety and Efficacy: Clinical Experience of Venetoclax in Combination with Hypomethylating Agents in Both Newly Diagnosed and Relapsed/Refractory Advanced Myeloid Malignancies. Hemasphere. 2021;5(4):e549.

221. Pratz KW, Jonas BA, Pullarkat V, Thirman MJ, Garcia JS, Döhner H, et al. Long-term follow-up of VIALE-A: Venetoclax and azacitidine in chemotherapy-ineligible untreated acute myeloid leukemia. Am J Hematol. 2024;99(4):615–24.

222. Döhner H, DiNardo CD, Appelbaum F, Craddock C, Dombret H, Ebert BL, et al. Genetic risk classification for adults with AML receiving less-intensive therapies: the 2024 ELN recommendations. Blood. 2024;144(21):2169-2173

223. Pollyea DA, Pratz KW, Wei AH, Pullarkat V, Jonas BA, Recher C, et al. Outcomes in Patients with Poor-Risk Cytogenetics with or without TP53 Mutations Treated with Venetoclax and Azacitidine. Clin Cancer Res. 2022 Dec 15;28(24):5272–9.

224. Zhang Q, Riley-Gillis B, Han L, Jia Y, Lodi A, Zhang H, et al. Activation of RAS/MAPK pathway confers MCL-1 mediated acquired resistance to BCL-2 inhibitor venetoclax in acute myeloid leukemia. Signal Transduct Target Ther. 2022;7(1):51.

225. DiNardo CD, Tiong IS, Quaglieri A, MacRaild S, Loghavi S, Brown FC, et al. Molecular patterns of response and treatment failure after frontline venetoclax combinations in older patients with AML. Blood. 2020;135(11):791–803.

226. Pollyea DA, DiNardo CD, Arellano ML, Pigneux A, Fiedler W, Konopleva M, et al. Impact of Venetoclax and Azacitidine in Treatment-Naïve Patients with

Acute Myeloid Leukemia and IDH1/2 Mutations. Clinical Cancer Research. 2022 Jul 1;28(13):2753–61.

227. Stahl M, Menghrajani K, Derkach A, Chan A, Xiao W, Glass J, et al. Clinical and molecular predictors of response and survival following venetoclax therapy in relapsed/refractory AML. Blood Adv. 2021;5(5):1552–64.

228. Hoff FW, Blum W, Huang Y, Welkie RL, Swords R, Traer E, et al. Beat-AML 2024 ELN-Refined Risk Stratification for Older Adults with Newly Diagnosed AML Given Lower-Intensity Therapy. Blood Adv. 2024; ;8(20):5297-5305.

229. Gangat N, Elbeih A, Ghosoun N, McCullough K, Aperna F, Johnson IM, et al. Mayo Genetic Risk Models for Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia Treated With Venetoclax + Hypomethylating Agent. Am J Hematol. 2025 Feb 1;100(2):260–71.

230. Short NJ, Zhou S, Fu C, Berry DA, Walter RB, Freeman SD, et al. Association of Measurable Residual Disease With Survival Outcomes in Patients With Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Oncol 2020 Dec 1;6(12):1890–9240.

231. Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S, Béné MC, Buccisano F, Cloos J, et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. Blood 2018;131(12):1275–91.

232. Heuser M, Freeman SD, Ossenkoppele GJ, Buccisano F, Hourigan CS, Ngai LL, et al. 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. Blood. 2021;138(26):2753–67.

233. Ravandi F, Cloos J, Buccisano F, Dillon R, Döhner K, Freeman SD, et al. Measurable residual disease monitoring in patients with acute myeloid leukemia treated with lower-intensity therapy: Roadmap from an ELN-DAVID expert panel. Am J Hematol. 2023 Dec 1;98(12):1847–55.

234. Zeijlemaker W, Grob T, Meijer R, Hanekamp D, Kelder A, Carbaat-Ham JC, et al. CD34+CD38− leukemic stem cell frequency to predict outcome in acute myeloid leukemia. Leukemia. 2019;33(5):1102–12.

235. Freeman SD, Virgo P, Couzens S, Grimwade D, Russell N, Hills RK, et al. Prognostic Relevance of Treatment Response Measured by Flow Cytometric

Residual Disease Detection in Older Patients With Acute Myeloid Leukemia. Journal of Clinical Oncology. 2013 Sep 23;31(32):4123–3.

236. McCarthy N, Gui G, Dumezy F, Roumier C, Andrew G, Green S, et al. Pre-emptive detection and evolution of relapse in acute myeloid leukemia by flow cytometric measurable residual disease surveillance. Leukemia. 2024;38(8):1667–73.

237. Terwijn M, van Putten WLJ, Kelder A, van der Velden VHJ, Brooimans RA, Pabst T, et al. High Prognostic Impact of Flow Cytometric Minimal Residual Disease Detection in Acute Myeloid Leukemia: Data From the HOVON/SAKK AML 42A Study. Journal of Clinical Oncology. 2013 Sep 23;31(31):3889–97.

238. Paras G, Morsink LM, Othus M, Milano F, Sandmaier BM, Zarling LC, et al. Conditioning intensity and peritransplant flow cytometric MRD dynamics in adult AML. Blood. 2022; 139(11):1694-1706.

239. Tettero JM, Heidinga ME, Mocking TR, Fransen G, Kelder A, Scholten WJ, et al. Impact of hemodilution on flow cytometry based measurable residual disease assessment in acute myeloid leukemia. Leukemia 2024;38(3):630–9.

240. Gabert J, Beillard E, van der Velden VHJ, Bi W, Grimwade D, Pallisgaard N, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia – A Europe Against Cancer Program. Leukemia. 2003;17(12):2318–57.

241. Beillard E, Pallisgaard N, van der Velden VHJ, Bi W, Dee R, van der Schoot E, et al. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) – a Europe against cancer program. Leukemia 2003;17(12):2474–86

242. Dillon R, Hills R, Freeman S, Potter N, Jovanovic J, Ivey A, et al. Molecular MRD status and outcome after transplantation in NPM1-mutated AML. Blood. 2020;135(9):680–8.

243. Othman J, Potter N, Ivey A, Jovanovic J, Runglall M, Freeman SD, et al. Postinduction molecular MRD identifies patients with NPM1 AML who benefit from allogeneic transplant in first remission. Blood. 2024;143(19):1931–6.

244. Ivey A, Hills RK, Simpson MA, Jovanovic J V, Gilkes A, Grech A, et al. Assessment of Minimal Residual Disease in Standard-Risk AML. New England Journal of Medicine. 2016;374(5):422–33.

245. Jourdan E, Boissel N, Chevret S, Delabesse E, Renneville A, Cornillet P, et al. Prospective evaluation of gene mutations and minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia. Blood. 2013;121(12):2213–23.

246. Rücker FG, Agrawal M, Corbacioglu A, Weber D, Kapp-Schwoerer S, Gaidzik VI, et al. Measurable residual disease monitoring in acute myeloid leukemia with t(8;21)(q22;q22.1): results from the AML Study Group. Blood. 2019 Nov 7;134(19):1608–18.

247. Puckrin R, Atenafu EG, Claudio JO, Chan S, Gupta V, Maze D, et al. Measurable residual disease monitoring provides insufficient lead-time to prevent morphologic relapse in the majority of patients with core-binding factor acute myeloid leukemia. Haematologica 2021;106(1 SE-Articles):56–63.

248. Heuser M, Heida B, Büttner K, Wienecke CP, Teich K, Funke C, et al. Posttransplantation MRD monitoring in patients with AML by next-generation sequencing using DTA and non-DTA mutations. Blood Adv. 2021;5(9):2294–304.

249. Dillon LW, Gui G, Page KM, Ravindra N, Wong ZC, Andrew G, et al. DNA Sequencing to Detect Residual Disease in Adults With Acute Myeloid Leukemia Prior to Hematopoietic Cell Transplant. JAMA 2023;329(9):745–55.

250. Jongen-Lavrencic M, Grob T, Hanekamp D, Kavelaars FG, al Hinai A, Zeilemaker A, et al. Molecular Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. New England Journal of Medicine. 2018 Mar 29;378(13):1189–99.

251. Blätte TJ, Schmalbrock LK, Skambraks S, Lux S, Cocciardi S, Dolnik A, et al. getITD for FLT3-ITD-based MRD monitoring in AML. Leukemia2019;33(10):2535–9.

252. Krönke J, Schlenk RF, Jensen KO, Tschürtz F, Corbacioglu A, Gaidzik VI, et al. Monitoring of Minimal Residual Disease in NPM1-Mutated Acute Myeloid Leukemia: A Study From the German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group. Journal of Clinical Oncology. 2011 May 9;29(19):2709–16.

253. Tiong IS, Dillon R, Ivey A, Teh TC, Nguyen P, Cummings N, et al. Venetoclax induces rapid elimination of NPM1 mutant measurable residual disease in combination with low-intensity chemotherapy in acute myeloid leukaemia. Br J Haematol. 2021;192(6):1026–30.

254. Grob T, Sanders MA, Yonk CM, Kavelaars FG, Rijken M, Hanekamp DW et al. Prognostic Value of FLT3-Internal Tandem Duplication Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. J Clin Oncol. 2023 Feb 1;41(4):756-765

255. Loo S, Dillon R, Ivey A, Anstee NS, Othman J, Tiong IS, et al. Pretransplant FLT3-ITD MRD assessed by high-sensitivity PCR-NGS determines posttransplant clinical outcome. Blood 2022 Dec 1;140(22):2407–11.

256. Hourigan CS, Dillon LW, Gui G, Logan BR, Fei M, Ghannam J, et al. Impact of Conditioning Intensity of Allogeneic Transplantation for Acute Myeloid Leukemia With Genomic Evidence of Residual Disease. Journal of Clinical Oncology 2019;38(12):1273–83.

257. Pratz KW, Jonas BA, Pullarkat V, Recher C, Schuh AC, Michael ;, et al. Measurable Residual Disease Response and Prognosis in Treatment-Naïve Acute Myeloid Leukemia With Venetoclax and Azacitidine. J Clin Oncol 2021;40:855–65.

258. Maiti A, DiNardo CD, Wang SA, Jorgensen J, Kadia TM, Daver NG, et al. Prognostic value of measurable residual disease after venetoclax and decitabine in acute myeloid leukemia. Blood Adv. 2021;5(7):1876–83.

259. Othman J, Tiong IS, O'Nions J, Dennis M, Mokretar K, Ivey A, et al. Molecular MRD is strongly prognostic in patients with NPM1-mutated AML receiving venetoclax-based nonintensive therapy. Blood. 2024;143(4):336–41.

260. Short NJ, Dillon R. Measurable residual disease monitoring in AML: Prospects for therapeutic decision-making and new drug development. Am J Hematol 2025 Mar;100 Suppl 2(Suppl 2):5-15.

261. Jentzsch M, Bischof L, Ussmann J, Backhaus D, Brauer D, Metzeler KH, et al. Prognostic impact of the AML ELN2022 risk classification in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. Blood Cancer J 2022;12(12):170.

262. Mrozek K, Eisfeld AK, Kohlschmidt J, Carroll AJ, Walker CJ, Nicolet D, et al. Complex karyotype in de novo acute myeloid leukemia: typical and atypical subtypes differ molecularly and clinically. Leukemia. 2019;33(7):1620–34.
263. Richard-Carpentier G, Rausch CR, Sasaki K, Hammond D, Morita K, Takahashi K, et al. Characteristics and clinical outcomes of patients with acute myeloid leukemia with inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2). Haematologica 2023 Mar 23;108(9 SE-Articles):2331–42.
264. Song GY, Kim T, Ahn SY, Jung SH, Kim M, Yang DH, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation can overcome the adverse prognosis indicated by secondary-type mutations in de novo acute myeloid leukemia. Bone Marrow Transplant. 2022;57(12):1810–9.
265. Dillon LW, Gui G, Logan BR, Fei M, Ghannam J, Li Y, et al. Impact of Conditioning Intensity and Genomics on Relapse After Allogeneic Transplantation for Patients With Myelodysplastic Syndrome. JCO Precis Oncol. 2021;5:265–74.
266. Jimenez-Chillon C, Othman J, Taussig D, Jimenez-Vicente C, Martinez-Roca A, Tiong IS, et al. Venetoclax–based low intensity therapy in molecular failure of NPM1-mutated AML. Blood Adv 2024 Jan 11;8(2):343–52.