



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

**UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD**

**CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI “HOSPITAL DE ESPECIALIDADES  
DR. BERNARDO SEPÚLVEDA GUTIÉRREZ”**

**ASOCIACIÓN ENTRE LA CANTIDAD DE CELULAS NATURAL KILLER Y SU  
FENOTIPO CON EL GRADO DE RESPUESTA MOLECULAR A DASATINIB  
COMO TRATAMIENTO DE SEGUNDA LÍNEA EN PACIENTES CON LEUCEMIA  
MIELOIDE CRÓNICA DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES “DR. BERNARDO  
SEPULVEDA GUTIERREZ” DE CMN SIGLO XXI”**

**Tesis que para obtener el grado de:**

**MÉDICO ESPECIALISTA EN HEMATOLOGÍA**

**Presenta:**

**Dra. Stephania Sandoval Ocampo.**

**TUTOR**

**Dra. Nancy Delgado López, M. en C.**

**Ciudad Universitaria, CD. MX. febrero 2023**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

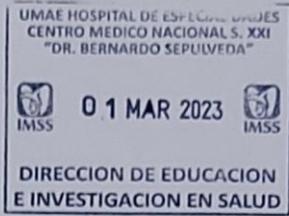


**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



A handwritten signature in blue ink, appearing to be "Victoria", written over a horizontal line.

**M. EN C VICTORIA MENDOZA ZUBIETA**  
JEFA DE LA DIVISI3N DE EDUCACI3N EN SALUD  
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "Margarita", written over a horizontal line.

**MARFA MARGARITA CONTRERAS SERRATOS**  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACI3N EN HEMATOLOGFA

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "Nancy", written over a horizontal line.

**M EN C. NANCY DELGADO L3PEZ**  
TUTOR PRINCIPAL  
M3DICO ADSCRITO AL SERVICIO DE HEMATOLOGFA  
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI



## INDICE

|                                               |    |
|-----------------------------------------------|----|
| INDICE.....                                   | 4  |
| ABREVIATURAS .....                            | 5  |
| DESCRIPCIÓN DE INVESTIGADORES .....           | 6  |
| AGRADECIMIENTOS .....                         | 7  |
| RESUMEN: .....                                | 9  |
| MARCO TEÓRICO .....                           | 10 |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....              | 20 |
| JUSTIFICACIÓN .....                           | 20 |
| PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....                | 21 |
| HIPÓTESIS.....                                | 21 |
| OBJETIVO PRIMARIO .....                       | 21 |
| OBJETIVOS SECUNDARIOS .....                   | 21 |
| MATERIAL Y MÉTODOS .....                      | 21 |
| DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO.....                  | 22 |
| ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....                    | 22 |
| VARIABLES.....                                | 23 |
| RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD ..... | 25 |
| CONFLICTO DE INTERESES.....                   | 26 |
| RESULTADOS.....                               | 27 |
| DISCUSIÓN.....                                | 37 |
| CONCLUSIONES .....                            | 40 |
| ANEXO 1:.....                                 | 42 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....              | 45 |
| BIBLIOGRAFÍA .....                            | 49 |

## ABREVIATURAS

ABL: Gen Abelson.  
BCR: Región del punto de ruptura.  
CCyR: Remisión citogenética completa.  
CMN: Centro Médico Nacional.  
CPH: Células Progenitoras Hematopoyéticas.  
EMA: European Medicines Agency.  
FA: Fase aceleradas.  
FasL: ligando de Fas.  
FB: Fase blástica.  
FC: Fase crónica.  
FDA:  
IFN: Interferon.  
IS: Escala internacional.  
ITK: Inhibidores de la tirosina cinasa.  
KIR: Immunoglobulin-like Receptor.  
LAA: Antígenos asociados a Leucemia.  
LILRB1: miembro de la subfamilia B de receptores leucocitarios tipo inmunoglobulina 1.  
LMC: Leucemia Mieloide Crónica.  
MDSC: Células Supresoras derivadas de mieloides.  
NCR: receptores de citotoxicidad natural.  
NK: Células asesinas naturales.  
NKG2A: Natural Killer Group 2A  
NMP: Neoplasia Mieloproliferativa.  
Ph: Filadelfia.  
RLT: Remisión Libre de Tratamiento.  
RMM: respuesta molecular mayor.  
RMP: Respuesta Molecular Profunda.  
RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.  
SG: Supervivencia global.  
STIM1: STOP Imatinib 1.  
TNF: factor de necrosis tumoral.  
TRAIL: ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF.  
Tregs: Células T reguladoras.

## DESCRIPCIÓN DE INVESTIGADORES

### Tutores:

**Dra. Nancy Delgado López.** Médica Especialista en Hematología, Adscrito al servicio de hematología, Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correo Electrónico: deln8@hotmail.com

Teléfono: 56276900 ext 21406

### Colaboradores:

**M. en C. Laura J. Rabelo Carrasco.** Química Bacterióloga y Parasitóloga, titulada por el IPN. Jefa del laboratorio de hematología especial en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correo Electrónico: rabelocl7@gmail.com

Teléfono: 56276900 ext- 21369

### Alumno:

**Dra. Stephania Sandoval Ocampo.** Médica Residente de Hematología, Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correo Electrónico: sandovalstephania@gmail.com

Teléfono: 5564133872

## AGRADECIMIENTOS

Quiero empezar describiendo lo orgullosa que me siento en este momento de mi misma, pero más de las personas que me han rodeado, abrazado y cobijado en todos los momentos de mi vida. Quisiera agradecer mucho a Dios y a la vida por permitirme haber llegado hasta aquí, pero con especial atención, quiero agradecer:

A mi mamá, Paty, simplemente eres grande, eres la mujer más resiliente que conozco, la más creativa, la más honesta y comprensible. Sin ti simplemente no estaría aquí en donde estoy, no conozco nadie más bondadoso ni inteligente que tú. Gracias por nunca dejarme caer, por sostener mi mano, limpiar mis lágrimas, por tu apoyo infinito y por festejar mis triunfos. ¡Vamos por más!

Al amor de mi vida, Alexander, eres la persona que más me inspira a salir adelante, que me apoya siempre que lucho y quiero más. Gracias por acompañarme estos 4 años de residencia, ser mi compañero de vida, de la residencia e incluso mi servicio interconsultante. Gracias por levantarme o caerte y levantarte conmigo. Te admiro demasiado, de verdad, todos los días me inspiras a querer más; cuando pienso que no puedo ahí estas tú. Gracias por escucharme mil y un veces cuando llego a contarte como estuvo mi día, la guardia o mis pacientes. Gracias por ayudarme a las 3 a.m cuando mi paciente no responde al tratamiento que le estoy otorgando. Gracias por entender mi emoción cuando aprendo algo nuevo de hematología, aunque tú no le entiendas. Gracias por la familia que empezamos a formar. Te amo.

A mis hermanas hematólogas que la vida y el HE CMN SXXI me dio. Adri e Iri, sin ustedes en mi camino simplemente no hubiera podido. Las tres formamos una familia desde el primer año y me da mucha felicidad que salgamos las 3 (4 con mi Emilia). Gracias por escucharme, abrazarme, enseñarme y apoyarme. Gracias porque nunca nos dejamos solas, ni siquiera en la madrugada cuando nuestro chat se convertía en sesión de ¿Por qué mi paciente tiene pancitopenia? O ¿Cómo ven esta médula?, siempre éramos las 3 aunque solo una estuviera de guardia. No sé cómo le hicimos, pero aquí estamos, me da mucho orgullo ver lo mucho que crecieron y maduraron. Me da gusto haber compartido este viaje a veces divertido, a veces cansada, a veces triste, a veces frustrante, pero siempre juntas. Las amaré siempre.

A mis residentes pequeños, jamás me había dado cuenta que sabía y como aplicarlo tanto como cuando les tuve que enseñar, sin duda son un gran motivo para que yo haya aprendido muchísimo, sus dudas eran y son mis dudas, sus ganas de aprender y analizar siempre fueron las mías y su emoción de aprender cosas nuevas siempre me recordó como estaba yo y quería seguir siendo: una persona que nunca deja de aprender. Gracias a los

que me ayudaron con mi tesis. Los quiero mucho y les agradezco toda la paciencia que me tuvieron.

A mi Ceci, ya no estas físicamente con nosotros, pero las cosas que me enseñaste en vida son tan valiosas ahora que ya no estas como lo fueron en su momento. Eres la persona más ordenada, minuciosa y detallista que conozco, y yo con mi cabeza siempre tan dispersa, definitivamente llegaste a mi vida para ayudarme a ponerle un poco de orden. Nunca me sentí sola estando contigo, y no me siento así ahorita, aunque te extraño mucho. Eres una amiga increíblemente linda, llena de bondad, de tolerancia y comprensión. Nadie escuchaba y daba consejos mejor que tú. Recuerdo como dejabas que hablará y cuando menos pensaba que me fueras a dar un consejo, de repente decías algo muy coherente para mí. Esto va por ti, por tu mami y por las ganas que tenías de ser hematóloga. Te mando un abrazo hasta el cielo.

A mi Doctora Nancy, me acuerdo cuando me toco rotar con usted y me dijeron que era muy estricta, me dio un poco de miedo; pero al momento de trabajar juntas siempre hicimos un buen equipo. Siempre dispuesta a trabajar, resolver dudas, escuchar opiniones y lo mejor de todo: predicar con el ejemplo. Muchas gracias por todas las veces que me ayudo cuando tenía dudas o no me quedaban claro los diagnósticos o la evolución de mis pacientes. Gracias por sus enseñanzas y críticas constructivas, por compartir su experiencia y por hacerme preguntar y dudar siempre si lo que estaba pasando con mi paciente estaba bien. Gracias por no hacernos olvidar de la clínica y por enseñarnos que no debemos de perder lo humano entre nosotros y con los pacientes. La quiero mucho y le agradezco estos 3 años.

A Laurita, gracias por colaborar con gran parte de mi tesis. Gracias por tus enseñanzas en la rotación, pero más gracias por tu inspiración y por ser tan apasionada con tu trabajo y con la hematología. Definitivamente, eres una piedra angular para el Servicio de Hematología del HE CMN SXXI, de verdad que nos sacas de apuros. Gracias por estar siempre dispuesta a comentar los casos y a revisar las dudas que tenemos. Deseo que siempre te vaya bien y que sigas inspirando a muchos más residentes.

A mis pacientes, no solo a los que aceptaron participar en mi tesis, sino a todos con los que aprendí y que confiaron en mí. Por ustedes soy médico y hematóloga, sé que pasan por un mal momento cuando llegan con nosotros, quizás el peor de sus vidas, sin embargo, muchos de ustedes mantienen el ánimo y la cabeza levantada, gracias por ayudarnos a aprender y por darnos lecciones de vida tan importantes.

## RESUMEN:

El presente protocolo de tesis realiza un análisis para determinar si existe una asociación entre la cantidad de células Natural Killer y su fenotipo con el grado de respuesta molecular a dasatinib como tratamiento de segunda línea en pacientes con LMC del HE de CMN SIGLO XXI, siendo este el objetivo principal. Dentro de los objetivos secundarios fueron determinar la asociación entre la respuesta linfocitaria a los 3 meses de iniciar Dasatinib y la respuesta molecular. Se realizó un estudio analítico, prospectivo y descriptivo. Los pacientes en manejo con Dasatinib fueron 50% como segunda línea y 50% como tercera línea de tratamiento. Se encontró que solo el 30.7% de los pacientes presentaron en algún momento del seguimiento con cifra de linfocitos mayor a de  $3.6 (10^3/\mu\text{L})$ , de esos solo 75% conservaron una respuesta linfocitaria sostenida de 2 meses o más. Solo el 75% de los pacientes que presentaron linfocitosis la conservan a la actualidad y ninguno de los 4 pacientes que la presentaron toxicidad. La mediana de linfocitos TNK con perfil de CD 57+ fue de 3% (Mín. 1 –Máx. 14) y de NK la mediana en número de eventos fue de 4989 (Mín. 511-Máx. 19493), la mediana de la relación CD 4/CD 8 fue de 1.1 (Mín. 0.5-Máx. 4.8). Todas las metas recomendadas por las guías internacionales sobre la respuesta molecular esperada a los 3, 6 y 12 meses fueron alcanzadas, por lo que no se pudo realizar una asociación entre las mismas y la cantidad y fenotipo de NK, sin embargo, se encontró que dentro de los pacientes que tuvieron una mayor cantidad de NK en % y número absoluto de eventos por citometría también tuvieron linfocitosis de manera sostenida. Conclusiones: Si bien no se pudo lograr el objetivo primario por la poca cantidad de muestra y porque al momento todos los pacientes sujetos al protocolo mantenían respuestas moleculares adecuadas, convirtiendo está en una variable independiente, quizás ampliando la muestra o el seguimiento de los pacientes a largo plazo con el inmunofenotipo de SLT, podrían ayudar a encontrar una asociación. Si se encontró una respuesta linfocitaria, no todas mayores a  $3.6 (10^3/\mu\text{L})$ , quizás en nuestra población también se podría encontrar un ajuste, el cual se podría realizar comparando el basal con el porcentaje de aumento de nuestra población con la bibliografía publicada.

## MARCO TEÓRICO

La LMC corresponde al grupo de neoplasias mieloproliferativas (NMP), que se caracterizan por el crecimiento descontrolado de células mieloides en diferentes etapas de maduración. Se encuentra clasificada dentro de las NMP BCR-ABL positivas, al ser esta alteración un dato pivote en la fisiopatología de la enfermedad. Por lo anterior la LMC es una neoplasia resultante de una translocación entre los cromosomas 9 y 22, conocido como cromosoma Filadelfia (Ph), que produce el transcrito BCR-ABL (1).

### Epidemiología

La LMC tiene una incidencia aproximada de 30% de todas las leucemias en el adulto (2). Según el Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER), del National Cancer Institute (NCI), a lo que llevamos del año 2022 se ha observado que representa 0.5% de todos los casos nuevos con cáncer, con una mortalidad estimada de 0.2% de todas las ocasionadas por cáncer, representando una supervivencia relativa a 5 años de 94.7%. En Estados Unidos se ha observado una prevalencia de 62 895 pacientes con LMC en 2019, afectando a personas con una media de edad de 67 años, con incidencia de 1 a 2 casos por cada 100,000 adultos. En la mayor parte de los estudios clínicos la mediana de edad al diagnóstico es de 55 a 60 años; sin embargo, el intervalo de edad en países en vías de desarrollo, como Brasil, Pakistán y México, es de 35 a 44 años (3) (4) (5).

En México, las leucemias en general representan 3.6% (6955) de incidencia de todos los cánceres, con mortalidad de 5.3% (4786) y prevalencia a cinco años de 16.51% (21 2888) (6). En nuestro país la media de edad es de 40 años. Si bien existen pocos datos epidemiológicos en nuestro país, las referencias con las que contamos son de centros que cuentan con grandes servicios de Hematología. Dentro de las diferencias más relevantes en comparación con países desarrollados, es que la leucemia crónica más frecuente en países en vías de desarrollo es la LMC, en comparación con la leucemia linfocítica crónica, con una incidencia de la enfermedad menor a 1 por cada 100,000 habitantes/ año y la mediana de edad al diagnóstico es casi una década menor que lo reportado a nivel mundial (7).

### Fisiopatología

La LMC implica la proliferación constante de células mieloides, en particular de maduras, considerándose una patología clonal, debido a que la mayoría de los pacientes tienen la característica distintiva de una translocación cromosómica denominada cromosoma Filadelfia (Ph), la cual es una translocación mutua entre los cromosomas 9 y 22 en todas las células hematopoyéticas; el gen Abelson (Abl), que se ubica en el cromosoma 9 y se transfiere al gen de la región de punto de ruptura (Bcr) del cromosoma 22.

Esta translocación da como resultado una proteína de fusión anormal denominada gen BCR-ABL, la cual desarrolla la función de una proteína tirosin-cinasa, ya que el Abl agrega grupos fosfato a los residuos de tirosina (8).

### **Inmunobiología de la LMC.**

La LMC se caracteriza por un período de disfunción inmunitaria presente en los pacientes en el momento del diagnóstico, antes del comienzo de la terapia con ITK's. Esto facilita la progresión tumoral y la autopreservación, ya que previene el desarrollo de respuestas inmunitarias antileucémicas en el huésped (9).

Las respuestas inmunitarias innatas, incluidas la actuación de las células dendríticas (DC), las células dendríticas plasmocitoides y las células asesinas naturales (NK) se han observado que son disfuncionales en pacientes con LMC, con reducciones en el recuento de células, la citotoxicidad y la función de presentación de antígenos (9) (10),.

Las respuestas inmunitarias adaptativas son disfuncionales en los pacientes con LMC en el momento del diagnóstico, incluidas las células T citotóxicas CD8+ disfuncionales y los antígenos asociados a la leucemia (LAA) expresados o sobreexpresados. Las células inmunosupresoras, incluidas las células T reguladoras (Tregs), contribuyen a la disfunción de las células T y a la progresión de la enfermedad en la LMC, observándose que estas se expanden en el momento del diagnóstico y se reducen después de la terapia con ITK (11).

### **Clínica**

Los pacientes con LMC pueden estar asintomáticos o presentar síntomas constitucionales que incluyen fatiga, astenia, adinamia, pérdida de peso y diaforesis nocturna. La esplenomegalia es bastante común y puede provocar distensión y dolor abdominal, además de saciedad temprana. La hepatomegalia puede estar presente y, al igual que la esplenomegalia, refleja la hematopoyesis extramedular. En los países desarrollados, se observa que hasta el 50% de los pacientes son diagnosticados incidentalmente, cuando se realiza un chequeo y se encuentra una biometría hemática alterada, la cual muestra típicamente leucocitosis, con frecuencia trombocitosis y anemia leve, e incluso podemos encontrar basofilia. El frotis de sangre periférica, generalmente muestra serie mieloide desplazada hacia la izquierda que abarca todo el espectro de precursores mieloides, incluyendo bandas, metamielocitos, mielocitos, blastos, además es frecuente observar la presencia de eosinófilos y basófilos (12).

La LMC es una patología que se puede presentar en diferentes fases, es decir, la mayoría de los pacientes se presentan en la fase crónica (FC) hasta en un 90%, en la que los síntomas pueden controlarse con tratamiento

específico, sin embargo, en ausencia de una intervención médica efectiva progresarán a través de una fase de inestabilidad conocida como fase acelerada (FA) hasta en 5% al diagnóstico, y posteriormente a la transformación a una leucemia aguda, denominada fase blástica (FB) en un 5%; destacando que no es necesario pasar entre una fase u otra, ya que dependiendo de la biología de la enfermedad se puede presentar en FA o FB (12).

Una de las pruebas más sólidas sobre el origen de las células madre de la LMC es que la fase de transformación final puede dar lugar a subtipos linfoblásticos (25%) y mieloblásticos (50%) o con fenotipo mixto en un 25% (12).

### **Diagnóstico**

El diagnóstico comúnmente se establece durante la FC de la enfermedad. El abordaje requiere una historia clínica completa con exploración física, biometría hemática completa que incluya diferencial y cuenta plaquetaria, perfil bioquímico, aspirado de médula ósea con biopsia, revisión de la morfología, porcentaje de blastos y de basófilos, citogenética y/o FISH, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) cuantitativa en escala internacional (IS) (en sangre o médula ósea) y finalmente determinar la escala de riesgo (12).

### **Estratificación de riesgo**

Los sistemas de puntuación de Sokal y Hasford se han utilizado para la estratificación del riesgo de los pacientes en 3 grupos de riesgo (bajo, intermedio y alto) en ensayos clínicos que evalúan los inhibidores de la tirosina-cinasa (13) (14).

La escala más reciente es la ELTS, del European Treatment and Outcome Study, se basa en las mismas variables que la puntuación de Sokal y proporciona el predictor más útil de mortalidad relacionada con la LMC en pacientes tratados con Imatinib en primera línea. Esto es importante, ya que muchos pacientes con LMC mueren por causas distintas a la enfermedad, lo que refleja la eficacia de los ITK's. Se sugiere la determinación de las escalas de riesgo utilizando los sistemas de puntuación Sokal, Hasford o ELTS antes de iniciar la terapia con ITK (15).

### **Tratamiento.**

El panorama terapéutico para la LMC ha mejorado significativamente con la aprobación de los ITK's. La mayoría de los pacientes con respuesta óptima pueden tener una expectativa de vida normal. Los ITK's fueron aprobados por la FDA en el tratamiento de la LMC en el año 2001; son altamente efectivos y cambian de manera importante la historia natural de la enfermedad. La recomendación de los mismos se basa en la eficacia antileucémica en cualquiera de las fases de la enfermedad. La elección de

cada uno dependerá de factores importantes, como es el acceso, la toxicidad, el riesgo de evolución, las comorbilidades y la tolerancia. La meta del tratamiento se enfoca en lograr respuestas moleculares cada vez más rápidas, sostenidas y profundas, con el objetivo de que el paciente tenga una expectativa de vida similar a la de una persona sin leucemia, los menores eventos adversos y si es el caso poder intentar una remisión libre del tratamiento (RLT) (16).

### **Tratamiento con ITK.**

Actualmente, la FDA y la European Medicines Agency (EMA) han aprobado cuatro ITK como tratamiento de primera línea, los cuales son imatinib, dasatinib, nilotinib y bosutinib (17).

Dentro del estudio de este protocolo de tesis en específico, mencionaré las características de Dasatinib, el cual es un ITK de segunda generación, más potente que imatinib y activo contra algunas mutaciones de BCR-ABL1 resistentes a este último, además de la proteína de fusión BCR-ABL, también inhibe con alta potencia varios receptores de tirosin-cinasas (RTK) como c-KIT o los receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), así como una amplia gama de cinasas citoplasmáticas, incluidas TEC, SYK, y cinasas de la familia SRC (SFK). El ensayo DASISION, que comparó dasatinib 100 mg una vez al día, con imatinib, 400 mg una vez al día, con un seguimiento mínimo de 5 años, demostró que con el primero se logró la tasa de respuesta molecular temprana en 84% vs 64% con imatinib ( $p < 0,0001$ ); a los 6 meses, el 89 % de los pacientes que recibieron dasatinib habían alcanzado niveles de de BCR-ABL  $\leq 10$  %, en comparación con el 83 % en el brazo de imatinib ( $p = 0,0523$ ). A los 12 meses, una mayor proporción de pacientes con dasatinib había logrado RMM (46% con dasatinib frente a 28% con imatinib, con  $p < 0,0001$ ). Las probabilidades de continuar con RMM a 5 años (76%) y RM 4.5 (42%) fueron significativamente más altas ( $p = 0,0022$  y  $p = 0,0251$ , respectivamente). La SG estimada a 5 años fue de 93.8% con Dasatinib vs 95.4% con imatinib ( $p=0.0028$  y  $p < 0.001$ , respectivamente), y la SLP de 88.9% vs 93.1%, respectivamente (con  $p=0.00014$  y  $p < 0.001$ , respectivamente) (18). La dosis que se recomienda de dasatinib en primera línea en fase crónica es de 100 mg cada 24 horas (19).

### **Seguimiento en pacientes con ITK.**

La respuesta molecular se debe evaluar de acuerdo con la Escala Internacional (IS) como la proporción de transcritos de BCR-ABL1 a transcritos de ABL1, o a otros transcritos de control internacionalmente aceptados y debe expresarse e informarse como % BCR-ABL1 en una escala logarítmica, donde 1%, 0.1%, 0.01%, 0.0032% y 0.001% corresponden a una disminución de 2, 3, 4, 4.5 y 5 logaritmos, respectivamente, por debajo de la línea de base estandarizada que se utilizó en el estudio IRIS (20) (21). BCR-ABL1  $\leq 1\%$  equivale a una remisión citogenética completa (CCyR) (22). De

acuerdo al nivel de transcripción de BCR-ABL1 se define el grado de respuesta molecular, por lo que se define como Respuesta Molecular Mayor (RMM ó RM3) a un transcrito  $\leq 0.1$  %. Un nivel de transcrito de BCR-ABL1  $\leq 0.01$  % se define como RM4 y a partir de este logaritmo se define como respuesta molecular profunda (RMP) (23).

### **Tratamiento con ITK's y la respuesta inmune.**

Los ITK's poseen un mecanismo de acción bimodal, ya que tienen un efecto inhibitorio directo sobre la tirosina cinasa y efectos inmunomoduladores e inmunosupresores (24). Se han estudiado los efectos inhibitorios de imatinib y dasatinib sobre las respuestas inmunitarias y se ha encontrado que ambos inhiben de forma reversible la proliferación de células T in vitro, pero los efectos del dasatinib son más profundos (25).

Se ha demostrado una expansión de LT CD8+ y células NK que se asocia con una mejor respuesta a la terapia. Debido a su amplio perfil de inhibición, dasatinib inhibe las cinasas también en células normales sanas, como los linfocitos, un mecanismo que probablemente subyace a muchos de los efectos inmunomoduladores atribuidos a este fármaco; se ha demostrado una expansión clonal persistente de células T citotóxicas o células NK, de hecho se ha encontrado que tras la ingesta de dasatinib se induce una movilización rápida, sustancial y dependiente de la dosis de linfocitos en la sangre que alcanza su punto máximo 1 a 2 horas después de la ingesta oral (25).

Se ha comparado la linfocitosis con otros ITK y no se observa en misma cantidad, además ya está documentada su asociación con tasas de respuesta más profundas y una duración de respuesta significativamente más larga. En particular, los pacientes con intolerancia o resistencia a imatinib en fase crónica que desarrollaron linfocitosis al recibir tratamiento con dasatinib como segunda línea tuvieron una mejor SG y SLP, lo que sugiere un efecto inmunomodulador bastante específico de dasatinib. (26) (27) (28).

### **Remisión libre de tratamiento (RLT).**

Una proporción de pacientes alcanzará una RMP con los ITK's, por lo que se podría considerar un intento de interrupción del tratamiento si se ha logrado esta respuesta prolongada, además de reunir otros factores que presenta el paciente.

El primer estudio para interrumpir los ITK fue el ensayo STIM1 (STOP imatinib 1), el cual demostró que el 38% de los pacientes mantuvieron una remisión molecular después de una mediana de seguimiento de 77 meses (29). Los criterios de elegibilidad fueron que se encontrara en tratamiento con Imatinib en curso en cualquier dosis durante al menos 3 años y en enfermedad residual molecular indetectable sostenida durante al menos 2

años. Después de STIM1 se han realizado múltiples estudios sobre la suspensión de los ITK's y la RLT, cada uno tomó en cuenta diferentes criterios de elegibilidad, como para reiniciar el ITK, sin embargo, los dos criterios más importantes y consistentes fueron el tiempo de tratamiento con ITK y la RMP (30).

Un metaanálisis de 15 estudios de cohorte, que incluyeron a más de 509 pacientes después de la suspensión de imatinib, demostró una tasa de recaída molecular global después de la suspensión de imatinib del 51%. Se ha demostrado que cerca del 80% de las recaídas aparecen dentro de los primeros 6 a 8 meses, lo que destaca la necesidad de un control estricto y un seguimiento estructurado durante el período inicial (31).

La suspensión de los ITK es un procedimiento seguro en centros hospitalarios con acceso a realizar monitorización molecular de alta calidad, lo cual es difícil de lograr en países en desarrollo, como es el caso de varios centros de México, incluyendo el nuestro. La pérdida de RMM es indicación actualmente en la mayoría de estudios para reiniciar el ITK. Alrededor del 90 al 95% de los pacientes que experimentan recaída recuperan su nivel de respuesta molecular inicial después de reiniciar el ITK. Por lo general, se reinicia el mismo ITK. La pérdida de RMM es poco común después de 1 año en RLT, aunque se recomienda un seguimiento continuo a largo plazo porque el seguimiento de todos estos estudios es menor de 10 años. Los mecanismos que previenen la recurrencia no se comprenden del todo, algunos factores clínicos del paciente, escalas de riesgo, tiempo de RMP se han documentado, sin embargo, en cuanto a fisiopatología, algunos de los mecanismos están bajo investigación centrándose en el posible control inmunitario de la enfermedad residual (32).

### **Las células Natural Killers.**

Las células NK son linfocitos grandes, que se encargan de lisar células diana, además provocan respuestas antitumorales rápidas basadas en señales de receptores de superficie celular activadores e inhibidores. Estas células se descubrieron a mediados de 1970, debido a su capacidad para destruir células tumorales sin una sensibilización previa del hospedero; por lo anterior se han considerado que pertenecen a la inmunidad innata. Sin embargo, a lo largo del tiempo se han encontrados datos que han sugerido que estas células pueden tener también características parecidas a las células de la memoria. Son capaces de migrar a diferentes tejidos para realizar respuestas inmunitarias a las infecciones y las neoplasias (33).

La base para el reconocimiento de células diana por parte de las células NK se reveló a mediados de la década de 1980 cuando se postuló la hipótesis de la pérdida de la autotolerancia inmunológica, la cual es la capacidad de las células NK para destruir a las células que expresan niveles bajos de Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) clase I, y se han ido

agregando el descubrimiento de señales que se necesitan para desencadenar la citotoxicidad. Actualmente se sabe que una interacción entre una serie de receptores que se codificaron en la línea germinal expresados en la superficie de las células NK controla la degranulación de las mismas, un mecanismo de citotoxicidad que lisa las células diana mediante la liberación de sustancias como perforina y granzimas. Los receptores clave que controlan el autorreconocimiento por parte de las células NK son los receptores de unión a HLA de clase I, incluida la familia Killer Immunoglobulin-like Receptor (KIR), así como el Natural Killer Group 2A (NKG2A) y el miembro de la subfamilia B de receptores leucocitarios tipo inmunoglobulina 1 (LILRB1, también conocido como LIR-1). Se ha demostrado que los inhibidores de KIR y del receptor NKG2A están involucrados en la formación de células NK, un proceso de maduración funcional que permite que las células NK autoinhibidas se conviertan en potentes asesinos al interactuar con células que pierden la expresión de auto-HLA clase I. A diferencia de los receptores inhibitorios, una serie de receptores de activación, coactivación y adhesión, como los receptores de citotoxicidad natural (NCR) NKp30 y NKp46 y los receptores NKG2D, 2B4 y DNAM-1, desencadenan la activación de las células NK después de la unión a los ligandos, los cuales se encuentran incrementados en células sometidas a estrés e infección. En condiciones normales, cuando las células NK no están muy activadas por las citocinas, al menos dos de estos receptores deben estimularse simultáneamente para desencadenar la degranulación. Esto contrasta con el receptor FcγRIIIA (CD16a), que al ligarse a la porción Fc de un anticuerpo unido a una célula diana sola puede desencadenar degranulación, este proceso se conoce como citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos. Tanto el ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF (TRAIL) como el ligando Fas (FasL) en la superficie de las células NK pueden desencadenar la apoptosis mediada por caspasa en células diana que expresan TRAIL-R1 y/o -R2 y Fas, respectivamente. Es importante destacar que las células NK no solo lisan las células infectadas y transformadas por tumores a través de estos mecanismos, sino que también utilizan estos receptores para controlar las respuestas inmunitarias al desencadenar citotoxicidad, es decir, tienen una relación estrecha con las células T (33).

### **Las células NK en la Leucemia Mieloide Crónica.**

En cuanto a las células NK y la LMC se ha demostrado una disminución en la frecuencia de la clona y la función de las células NK en pacientes con FC, que empeora con la progresión de la enfermedad a LMC en FA y FB (34). El tratamiento de pacientes con LMC con diferentes ITK's modifica la expresión de varios receptores de las células NK; por ejemplo, dasatinib aumenta la expresión de los receptores inhibidores KIR2DL1, mientras que el imatinib aumenta la expresión de los receptores activadores, incluidos NKp30, NKp46, NKp80 y NKG2D (35). La regulación a la baja del receptor inhibitorio NKG2A por dasatinib mejora la citotoxicidad de las células

NK y da como resultado respuestas más rápidas al tratamiento en pacientes con LMC (36). Los KIR tienen polimorfismos extensos, y se ha sugerido que los genotipos de KIR se correlacionan con la inmunidad de las células NK contra la LMC y la RMP sostenida después de interrumpir el tratamiento con los ITK's. Debido a lo anterior, la evaluación de los receptores inhibidores y activadores para evaluar la función general de las células NK brindaría un mejor reconocimiento de la función inmunitaria en la LMC (37).

La inmunidad de las células NK, incluidos los receptores de las células NK acoplados con ligandos expresados en las células de LMC, nos podría proporcionar un objetivo terapéutico inmunitario prometedor para lograr la RLT. Algunos agentes moduladores de las células NK, como la lenalidomida, se encuentra actualmente en ensayos clínicos en otras neoplasias malignas hematológicas, con relación en la proliferación y activación de células T y NK, y una mayor citotoxicidad de las mismas. En el caso de la LMC, en un estudio clínico se evaluó el uso de lenalidomida para una segunda RLT, en pacientes que necesitaron reiniciar imatinib, con el objetivo de aumentar la función inmunológica, sin embargo, el estudio tuvo que ser finalizado por los efectos adversos tromboembólicos, por lo que solo se observó que no redujo el nivel de BCR-ABL1 (mediante PCR de ADN), pero se asoció con un aumento en los marcadores de reactividad inmunológica (38).

### **Las células NK en la remisión libre de tratamiento.**

Debido a que la esperanza de vida de los pacientes con LMC tratados con ITK's llega a ser similar a la esperanza de vida de la población general, hasta hace algunos años se recomendaba el tratamiento de por vida con ITK's para la LMC; sin embargo, dados los efectos secundarios, los eventos adversos, las toxicidades y los altos costos asociados con el tratamiento de por vida, se empezó a explorar la posibilidad de interrumpir el tratamiento con ITK's en aquellos pacientes que han logrado una RMP y sostenida por al menos dos años.

Se ha demostrado que las células madre de la LMC no dependen de la actividad de BCR-ABL1 y que la orientación de BCR-ABL1 no eliminará las células madre de LMC, por lo tanto, es crucial identificar aquellos pacientes que pueden permanecer en RLT y comprender qué factores biológicos pueden o no mantener la RLT. En los primeros ensayos sobre la interrupción del imatinib, entre el 40 y el 60 % de los pacientes permanecieron en remisión molecular completa después de la interrupción de un ITK. Teniendo en cuenta el profundo conocimiento de LMC, que se ha acumulado a lo largo de los años, el concepto de RLT es relativamente nuevo, sobre todo en países en desarrollo como es nuestro caso. Se ha observado que el aumento de las proporciones de células NK citotóxicas con marcadores CD56 low y CD57+, son similares a las células de memoria y se han asociado con una RLT exitosa en pacientes con LMC después de la interrupción del tratamiento con imatinib (39).

Algunos estudios señalan la participación de las células inmunitarias en el control de la RLT. Se ha demostrado que hay un aumento de células NK y una disminución de células CD3 + CD8 + CD62L + en pacientes en los que se suspendió el imatinib (STIM1) en comparación con pacientes con LMC que toman imatinib en remisión molecular (40). EURO-SKI reveló una tasa más alta de RLT en pacientes con LMC con un porcentaje más alto de NK, pero no de células B o T. Estas células NK estaban maduras en comparación con los pacientes con recaídas, en quienes las células NK mostraron un fenotipo más inmaduro. Además, el aumento del factor de necrosis tumoral (TNF) y del IFN  $\gamma$  secretado por las células NK se correlacionó con la tasa de éxito de la RLT.

### Dasatinib y la linfocitosis

Como se mencionó anteriormente, la proliferación de las células T de tipo citotóxico y de las células NK se ha observado en algunos pacientes con LMC posterior al inicio del tratamiento con Dasatinib. Las cualidades específicas de este inhibidor son la asociación con linfocitosis, siendo específicamente a expensas de linfocitos grandes granulares (LGG), los cuales son un conjunto de linfocitos morfológicamente distintos, pero inmunofenotípicamente heterogéneos de células T activadas o células NK que median la citotoxicidad no restringida por CMH; lo que aumenta la respuesta frente a una neoplasia, no siendo la LMC la excepción (Ver Ilustración 1) (28).

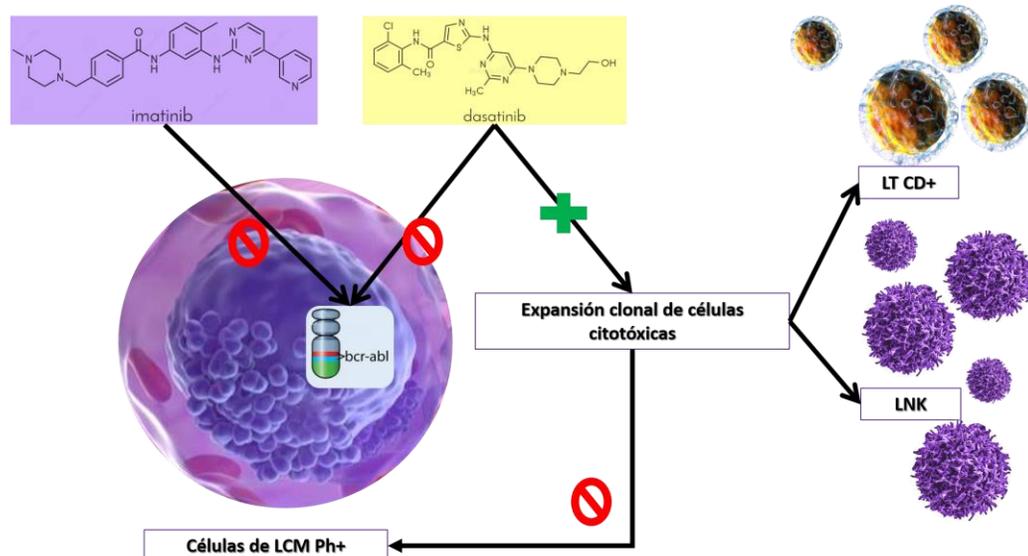


Ilustración 1 Efectos de Dasatinib sobre las células citotóxicas

Existen estudios sobre la respuesta linfocitaria posterior a inicio de Dasatinib, y pocos estudios sobre la respuesta previa. La terapia con dasatinib se asocia con una linfocitosis crónica monoclonal/oligoclonal de LGG en sangre periférica. La linfocitosis asociada a dasatinib se desarrolló en un promedio de 3 meses después del inicio del tratamiento y persistió durante todo el tratamiento (46).

Algunos análisis han sugerido que la linfocitosis es secundaria a linfoproliferación T/NK, la cual se asoció con tasas de respuesta citogenética y molecular más altas, lo que sugiere un efecto inmunomodulador (47) (48). Además, se ha encontrado que se asocia con un aumento de efectos secundarios específicos, como derrame pleural y se ha encontrado la resolución del derrame pleural y la linfocitosis T/NK tras el cambio de dasatinib a otro ITK. No se ha descrito la expansión de células T/NK después del tratamiento con otros ITK's (49) (50).

## DISEÑO DEL ESTUDIO:

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las células NK suponen un punto relevante para lograr una adecuada respuesta a los ITK's y posteriormente un control molecular que podría favorecer que en algún momento los pacientes sean candidatos a suspender el fármaco y el hecho de que cuenten con dichas células funcionales los podría perfilar a ser mejores respondedores en RLT.

A raíz de lo anterior, se han realizado estudios que documentan la incidencia de linfocitosis en pacientes que se encuentra en tratamiento con Dasatinib (41). Esta presentación es a expensas de linfocitos grandes granulares y son células NK y linfocitos T citotóxicos (42). Se ha observado que la aparición de linfocitosis en la LMC es predictiva de una buena respuesta al tratamiento (43). Por lo tanto, se sostiene la hipótesis de que la linfocitosis es un efecto inmunoterapéutico que complementa la respuesta al tratamiento (44) (45).

Sin embargo, los estudios que se encuentran en la literatura, son en poblaciones muy diferentes a la nuestra, principalmente países europeos, por lo que es importante conocer si en nuestra población la linfocitosis a expensas de NK y linfocitos T citotóxicos también se asocia con mayores tasas de RMP o si existe alguna diferencia significativa que haga que cambie el tipo de respuesta molecular.

### JUSTIFICACIÓN

La RLT es un objetivo importante en el manejo de la LMC en pacientes adecuadamente seleccionados y con el deseo de hacerlo, sin embargo, en países en vías de desarrollo, como el nuestro, es poco factible por la pobre disponibilidad a la vigilancia molecular con PCR-QT del transcrito de BCR-ABL.

Una comprensión más profunda del panorama inmunológico en la LMC es vital para predecir la respuesta al tratamiento con ITK, y la respuesta al intentar valorar la RLT, lo que significa que los cambios fenotípicos en las células NK pueden afectar directamente ambas respuestas.

En este trabajo de tesis se evaluará la asociación entre la cantidad de NK y su fenotipo con respecto a la respuesta molecular de cada paciente de la clínica LMC que se encuentre en tratamiento con Dasatinib como segunda línea.

Si evidenciamos esta asociación en nuestra población nos ayudaría a perfilar de manera más adecuada a pacientes que sean candidatos a suspensión de tratamiento, ya que esperaríamos que estos tuvieran una remisión libre de tratamiento exitosa. Por lo tanto, el equilibrio entre el riesgo beneficio se

inclina hacia este último, ya que podremos definir mejor al perfil de pacientes que son candidatos para realizar RLT.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Existe una asociación entre la cantidad de células Natural Killer y su fenotipo con el grado de respuesta molecular a Dasatinib como tratamiento de segunda línea en pacientes con leucemia mieloide crónica del HE “Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez” de CMN SIGLO XXI?

## **HIPÓTESIS**

Los pacientes de la Clínica de LMC del HE HE “Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez” de CMN SXXI en tratamiento con Dasatinib que se encuentran en RMP tendrán mejores niveles y maduración de Linfocitos NK que los pacientes con RMM o sin respuesta molecular.

## **OBJETIVO PRIMARIO**

- El objetivo principal de este estudio será determinar la asociación entre la cantidad de células NK con el grado de respuesta molecular a Dasatinib como tratamiento de segunda línea en pacientes con leucemia mieloide crónica del HE “Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez” de CMN SIGLO XXI.

## **OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- Determinar la asociación entre la respuesta linfocitaria a los 3 meses de iniciar Dasatinib y la respuesta molecular temprana.
- Describir la cifra de linfocitos totales en la biometría hemática basal (antes de iniciar Dasatinib), y con Dasatinib al lograr la RMP y la RMP.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Diseño del estudio**

- Estudio analítico, transversal y descriptivo.

### **Universo de estudio**

- El presente estudio se llevará a cabo con los pacientes de la Clínica de LMC, que se encuentren en tratamiento con dasatinib como segunda línea, del Servicio de Hematología, del HE “Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez” del Centro Médico Nacional Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social. Ciudad de México, México.

### **Población de estudio**

- Pacientes con diagnóstico de LMC en fase crónica, mayores de 18 años, que se encuentren bajo tratamiento con Dasatinib como segunda línea de tratamiento.

### **Criterios de inclusión**

- Pacientes de la clínica de LMC en tratamiento con Dasatinib como segunda línea.
- Tratamiento con dasatinib al  $\geq 1$  año
- Mayores de 18 años.
- Hombres o mujeres
- Pacientes con monitorización con PCR y biometrías hemáticas.

### **Criterios de exclusión**

- Pacientes que no tengan un monitoreo adecuado.
- Pacientes con menos de un año de tratamiento con dasatinib.

### **Criterios de eliminación**

- Datos incompletos en el expediente clínico
- Pacientes con alguna otra neoplasia en la actualidad.

## **DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO**

Este es un estudio analítico, transversal que incluirá a todos los pacientes que cuenten con criterios mencionados anteriormente. Al contar con su consentimiento informado procederemos a recabar los datos del expediente clínico para la construcción de las variables. Realizaremos una base de datos con dichas variables edad, sexo, diagnóstico inicial, tratamiento previo, cuenta de linfocitos totales antes de Dasatinib, al lograr RMM y RMP, cuenta de NK y su perfil fenotípico. Se realizará la toma de muestra de sangre periférica en tubo de EDTA, para determinar la población de linfocitos, llevándose al laboratorio de Hematología Especial de la Unidad de Investigación del HE “Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez” de CMN Siglo XXI, al área de citometría de flujo por medio del procedimiento y el algoritmo de EuroFlow correspondiente al panel de Lymphoid Screen Tube (SLT) y reportado en porcentaje (%).

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Las variables cuantitativas se someterán a una prueba de Shapiro-Wilk (debido a que la muestra es menor de 50 pacientes) y si su distribución no es normal, estas se describirán por medio de mediana y límites. Las variables categóricas se describirán como proporciones. Para evaluar la asociación entre respuesta molecular y cantidad de linfocitos se utilizará t de

Student. Para realizar el análisis estadístico se utilizará SPSS v26 como herramienta.

## VARIABLES

Las variables dependientes las describimos como el grado de respuesta molecular que describiremos en la tabla siguiente.

### Variables dependientes:

| VARIABLE                            | TIPO                   | DEFINICIÓN CONCEPTUAL                 | DEFINICIÓN OPERACIONAL                                                                                                              | ESCALA                             |
|-------------------------------------|------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| <b>TIPOS DE RESPUESTA MOLECULAR</b> | Cuantitativa Continua  | Respuesta Molecular Mayor             | Transcripto $\leq 0.1$ %.                                                                                                           | %Transcriptos (escala logarítmica) |
|                                     |                        | Respuesta Molecular profunda          | Un nivel de transcrito de BCR-ABL1 $\leq 0.01$ %.                                                                                   |                                    |
|                                     |                        | Sin respuesta Molecular               | Un nivel de respuesta molecular con transcritos mayor 0.1%                                                                          |                                    |
| <b>RESPUESTA NO MOLECULAR</b>       | Cuantitativa Discreta  | Respuesta hematológica                | <ul style="list-style-type: none"> <li>Leucocitos <math>&lt; 10 \times 10^9/L</math></li> </ul>                                     | $10^9/L$                           |
|                                     | Cuantitativa Continua  |                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>Basófilos <math>&lt; 5\%</math></li> </ul>                                                   | %de basófilos en SP.               |
|                                     | Cuantitativa continua. |                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>Ausencia de mielocitos, promielocitos y mieloblastos en el recuento leucocitario.</li> </ul> |                                    |
|                                     | Cuantitativa Discreta. |                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>Plaquetas <math>&lt; a 450 \times 10^9/L</math>.</li> </ul>                                  | $10^9/L$                           |
|                                     | Cualitativa ordinal.   |                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>Bazo no palpable.</li> </ul>                                                                 |                                    |
| <b>Tiempo de RMM</b>                | Cuantitativa continua  | Tiempo que lleva un paciente con RMM. | <ul style="list-style-type: none"> <li>Año de RMM del paciente.</li> </ul>                                                          | Años.                              |
| <b>Tiempo de RMP</b>                | Cuantitativa continua  | Tiempo que lleva un paciente con RMP. | <ul style="list-style-type: none"> <li>Años de RMP del paciente.</li> </ul>                                                         | Años.                              |

### Variables Independientes

| VARIABLE                   | TIPO                   | DEFINICIÓN CONCEPTUAL                          | DEFINICIÓN OPERACIONAL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | ESCALA |
|----------------------------|------------------------|------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| <b>Edad</b>                | Cuantitativa continua  | Tiempo de vida desde nacimiento                | Año de vida del paciente al momento del estudio.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Años   |
| <b>Sexo</b>                | Cualitativa Dicotómica | Condición orgánica del paciente hombre o mujer | Género del paciente: Hombre / Mujer.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | H-M    |
| <b>Diagnóstico Inicial</b> | Cualitativa Nominal    | Leucemia Mieloide Crónica                      | Neoplasia Mieloproliferativa Crónica BCR-ABL positiva.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | -      |
| <b>Fase al diagnóstico</b> | Cualitativa ordinal    | Fase Crónica                                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>SP: leucocitosis neutrofílica con precursores mieloides, basofilia <math>&lt; 20\%</math>, blastos <math>&lt; 10\%</math> y plaquetas normales o aumentadas.</li> <li>Esplenomegalia. (50%).</li> <li>Hepatomegalia (10%)</li> <li>Fosfatasa alcalina leucocitaria ausente o disminuida</li> <li>MO: hipercelular. Hiperplasia mieloides. Algunos blastos. Promielocitos <math>&lt; 10\%</math> de la</li> </ul> | -      |

|                   |                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                          |
|-------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
|                   |                     |                                                                                                                   | celularidad total. Leve aumento de fibras de reticulina                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                          |
|                   |                     | Fase Acelerada                                                                                                    | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. SP: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Basófilos <math>\geq</math> 20%</li> <li>• Trombocitopenia persistente (<math>&lt;</math> <math>100 \times 10^9</math> /L) sin relación al tratamiento</li> <li>• trombocitosis persistente (<math>&gt;</math> <math>1000 \times 10^9</math> /L) sin respuesta al tratamiento</li> <li>• Blastos 10-19% en SP y/o células nucleadas mieloides</li> </ul> </li> <li>2. Aumento de tamaño del bazo y del recuento de leucocitos que no responde a tratamiento.</li> <li>3. Evidencia citogenética de evolución clonal: nuevas anomalías citogenéticas y esto se asocia a progresión de enfermedad. Puede observarse: trisomía+8, doble Cromosoma Ph, isocromosoma 17q [i(17q)], trisomía+19, etc</li> </ol> |                          |
|                   |                     | Fase blástica                                                                                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Blastos <math>\geq</math> 20% en SP y/o células nucleadas de MO</li> <li>• Proliferación blástica extramedular.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                          |
| <b>Linfocitos</b> | Cualitativa nominal | Tipo de célula inmunitaria que se produce en la médula ósea y se encuentra en la sangre y en el tejido linfático. | Conteo absoluto de linfocitos en la biometría hemática.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | $10^9$ /L                |
| <b>NK</b>         | Cualitativa Nominal | Un tipo de linfocito efector citotóxico, grande granular                                                          | <p>Natural Killers: CD19-CD3-CD56+</p> <p>Subtipos:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Variante secretora: CD56brightCD16- (secretoras),</li> <li>2. Variante citotóxica: CD56dimCD16+ (citotóxicas),</li> <li>3. Variante tolerante: CD11b-CD27-</li> <li>4. Variante inmaduras: CD27+CD11b-</li> </ol>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Positiva (+++) Negativa. |

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El proyecto se apega a los lineamientos estipulados por el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud, Título Segundo, Capítulo Primero, Artículo 13, es decir; prevalecerá el criterio de respeto a la dignidad del enfermo y la protección de sus derechos. Artículo 14: la investigación se ajusta a los principios científicos y éticos.

De acuerdo al Artículo 17 inciso II, la probabilidad de que el enfermo sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio es con riesgo mayor al mínimo. El presente estudio se sustenta en los principios éticos para la investigación médica en la que participan seres humanos de acuerdo a lo mencionado por la Asociación Médica Mundial a través de la Declaración de Helsinki.

Todas las consideraciones que involucran a los participantes del protocolo vienen señaladas dentro de un consentimiento informado, descriptivo y detallado, que se le otorgará de manera escrita al posible participante, además de ser explicado personalmente.

Este consentimiento será solicitado al paciente cuando acuda a la consulta externa a toma de BCR-ABL en sus citas programadas, una vez que se firme el consentimiento informado se procederá a programar una cita para la toma de 2 tubos de EDTA de 3 mL cada uno, se llevará al laboratorio de Hematología Especial, al área de citometría de flujo que se encuentra dentro del HE “Dr. Bernardo Sepúlveda Gutierrez” de CMN SXXI, que se encuentra a cargo de la M. en C. Laura Rabelo.

Al ser un estudio analítico transversal no ocasiona riesgo al paciente. Por lo tanto, confiere un riesgo mínimo, debido a que realizaremos punción venosa en adultos en una sola medición de 6 mL.

Con los resultados obtenidos no se modificará la atención del paciente sujeto al protocolo, sin embargo, el beneficio de obtener esta información puede traducirse en perfilar al paciente para suspensión de tratamiento en modalidad de remisión libre de tratamiento. Los datos personales que se obtengan del expediente clínico se mantendrán en confidencialidad, únicamente se utilizarán con fines científicos sin incluir nombre de los participantes.

## **RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD**

Los recursos de la investigación se utilizan en el procedimiento del protocolo son recursos humanos y materiales del IMSS, en particular del servicio de Hematología del HE “Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez” de CMN SXXI principalmente el personal médico, del servicio de Hematología Especial para hacer uso de la citometría de flujo, computadora para análisis

de las muestras, personal que pertenece al laboratorio para realizar el mismo, se anexa documento de autorización para la realización del protocolo.

Para la construcción de la base datos realizaremos una búsqueda en los expedientes físicos, expediente electrónico y portal de laboratorios del hospital; por lo anterior haremos uso del área de archivo y de su personal para la búsqueda de expedientes, uso de una computadora con acceso al sistema del hospital.

## **CONFLICTO DE INTERESES**

En este trabajo de investigación, no existen conflictos de intereses entre los pacientes, investigadores, el Instituto Mexicano del Seguro Social ni empresas particulares.

## RESULTADOS

### Descripción de la Población

La Clínica de LMC en el HE CMN SXXI, consta actualmente (hasta febrero 2023) con un total de 176 pacientes, de los cuales 1 paciente se encuentra sin tratamiento con ITK por embarazo y 1 paciente por falta de seguimiento en la unidad. El 60.79 % de los pacientes se encuentran en tratamiento con imatinib de primera línea de tratamiento, el 17.61 % se encuentran con nilotinib y el 21.59% se encuentran con Dasatinib (Ilustración 2). Dentro de los pacientes con nilotinib el 93.54% lo tienen como segunda línea y el resto como tercera. Los pacientes con Dasatinib se encuentran 50% como segunda línea y 50% como tercera línea de tratamiento.

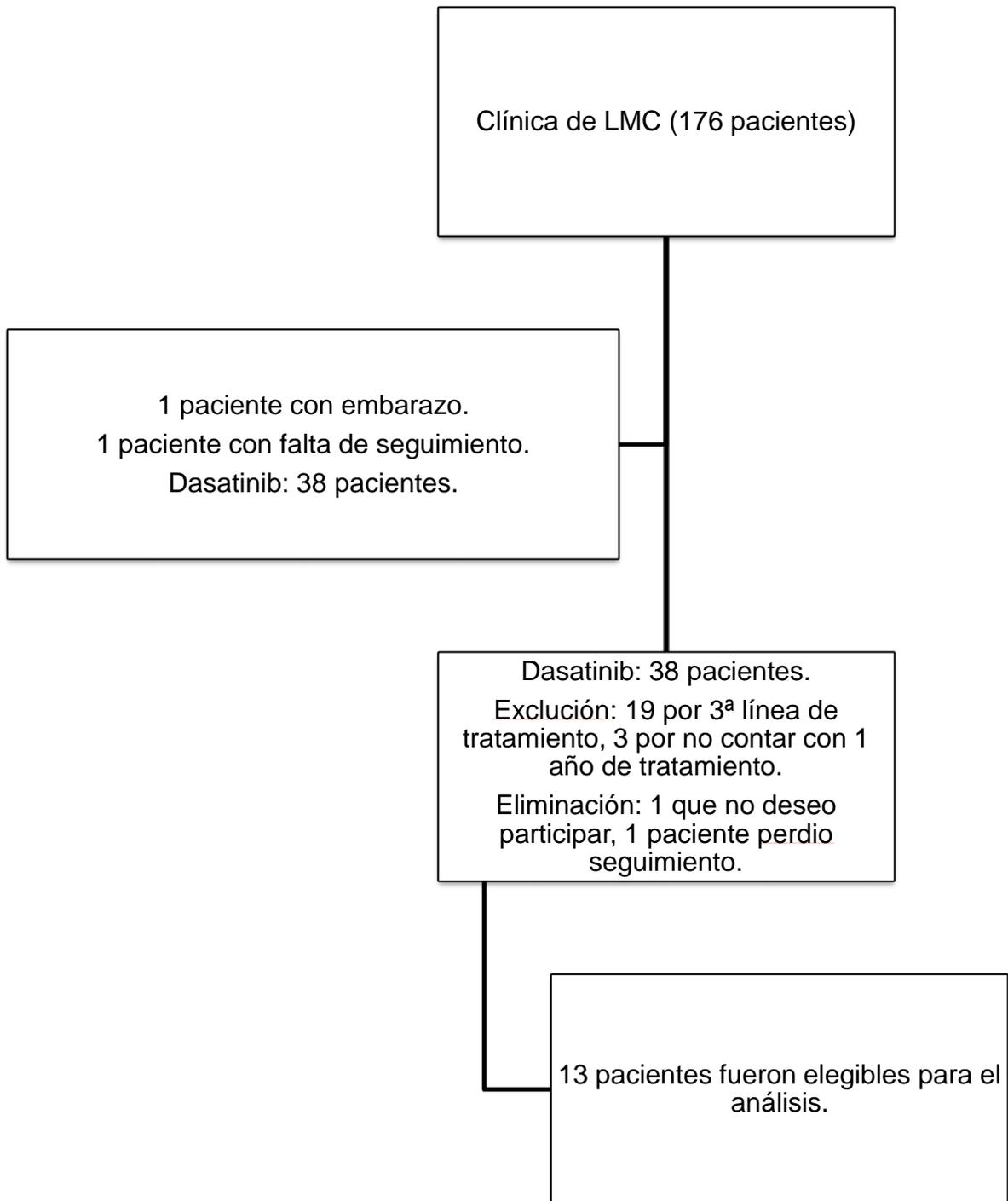
Se tomó en cuenta la población basal de 38 pacientes con Dasatinib, mencionando anteriormente que el 50% se encontraban con el mismo en 2ª línea, por lo que nos quedamos con una población de 19 pacientes, de los cuales 3 no cumplieron el tiempo de tratamiento de 1 año, 2 perdieron seguimiento y 1 no aceptó participar en el protocolo.

Se procedió a recabar de manera retrospectiva los datos, incluyendo a 13 pacientes, bajo previo consentimiento informado, se hizo revisión de expediente clínico físico, expediente electrónico de la consulta externa de hematología (ECE) y sistema de laboratorio de MODULAB, encontrándose que 3 pacientes no cumplían con el tiempo necesario de tratamiento con Dasatinib para evaluar la respuesta a los 3, 6 y 12 meses.

Para la toma de muestras de citometría de flujo se realizó la obtención de las mismas al realizar toma de BCR-ABL de rutina en la consulta externa, al acudir el paciente a toma de laboratorios de rutina o al concretar una cita.

Las muestras de la citometría de flujo fueron analizadas en el laboratorio de citometría de flujo, que corresponde al área de Hematología Especial, de los Laboratorios Especiales del HE CMN SXXI.

Se determinó la cifra de linfocitos basal, el momento de la aparición de la linfocitosis. La linfocitosis se concluyó de acuerdo a la bibliografía, por lo que fue definida como una cuenta mayor a  $3.6 \times 10^9 /L$ , al menos en 2 ocasiones consecutivas, de acuerdo a la literatura (51). Los datos fueron tomados de la biometría hemática de los laboratorios de rutina del HE CMN SXXI, se tomaron las mediciones a los 1, 3, 6, 12, 24 meses y la cuenta linfocitaria actual.



*Ilustración 2 Población con LMC*

De los 13 pacientes de la muestra 53.8% son hombres y 46.2% son mujeres. Las fases al diagnóstico corresponden a fase crónica en 76.9% y acelerada a 23.1%. La media de edad al diagnóstico fue de 39.9 años (IC 33.2-46.6)

El motivo de cambio de ITK fue de 86.6% por falla y 15.4% por intolerancia (Tabla 1).

*Tabla 1 Características basales demográficas*

| Características               | LMC con Dasatinib (n: 13) |
|-------------------------------|---------------------------|
| Edad en años al Dx (media)    | 39.9 (IC 33.2-46.6)       |
| Sexo%                         |                           |
| Hombres                       | 53.8                      |
| Mujeres                       | 46.2                      |
| Fase al diagnóstico           |                           |
| Fase crónica %                | 76.9                      |
| Fase blástica %               | 23.1                      |
| Terapia con Dasatinib (meses) | 55                        |
| Terapia con Imatinib          |                           |
| Media de duración (meses)     | 51.92                     |
| Respuesta con Dasatinib %     |                           |
| Sin respuesta                 | 15.38                     |
| RMM                           | 38.46                     |
| RMP                           | 46.15                     |
| Motivo de cambio              |                           |
| Resistentes a Imatinib %      | 84.6                      |
| Intolerante a Imatinib %      | 15.4                      |

### **Evaluación al diagnóstico**

Se procedió a tomar los datos de relevancia al diagnóstico, considerando edad, biometría hemática inicial, escalas pronósticas, la fase que se encontraba y el tratamiento inicial en todos fue imatinib.

En cuanto a la fase al diagnóstico se encontró mayor porcentaje de pacientes en fase crónica (ver Tabla 2).

*Tabla 2 Fase al diagnóstico.*

|                     |           |
|---------------------|-----------|
| Fase al diagnóstico | n(%)      |
| Fase crónica        | 10(76.9%) |
| Fase acelerada      | 3(23.1%)  |
| Crisis blástica     | 0(0)      |

La biometría hemática inicial se reportó con Hemoglobina con una media de 11.48 g/dL, Leucocitos de 267.409 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), Neutrófilos 114.9 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), Basófilos de 8.27%, Eosinófilos 4% , plaquetas de 431 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) y Linfocitos de 2.052( $10^3/\mu\text{L}$ ).

*Tabla 3 Biometría hemática inicial*

|                                    | Valor                 |
|------------------------------------|-----------------------|
| Hemoglobina (g/dL)                 | 11.48                 |
| Media                              | (IC 9.2-15.2)         |
| Leucocitos ( $10^3/\mu\text{L}$ )  | 267.409               |
| Media                              | (IC 188.23 – 346.582) |
| Neutrófilos ( $10^3/\mu\text{L}$ ) | 114.90                |
| Media                              | (IC 31.5-436)         |
| Basófilos %                        | 8.27                  |
| Media                              | (IC 5.15-11.4)        |
| Eosinófilos %                      | 4%                    |
| Mediana (min-max)                  | (1-10)                |
| Plaquetas ( $10^3/\mu\text{L}$ )   | 431                   |
| Mediana (min-max)                  | (250- 1,771)          |
| Linfocitos ( $10^3/\mu\text{L}$ )  | 2.052                 |
| Media                              | (IC 1.399-2.706)      |

En cuanto a las escalas pronósticas se observó que la mayoría de pacientes se encontraban en riesgo bajo con EUTOS, SOKAL y Hasford (en 69.2%, 92.3 % y 76.9%, respectivamente), en riesgo intermedio con Hasford en un 15.4%. Se encontró riesgo alto con EUTOS, SOKAL y Hasford con 30.8%, 7.7% y 7.7% respectivamente (Ver tabla 4, Ilustración 3, 4,5 y 6).

Tabla 4 Escalas pronósticas.

| Riesgo     |           | Escalas pronósticas |           |           |      |
|------------|-----------|---------------------|-----------|-----------|------|
|            |           | N (%)               |           |           |      |
|            |           | SOKAL               | EUTOS     | HASFORD   | ELTS |
| Bajo       | 12 (92.3) | 9 (69.2)            | 10 (76.9) | 10 (76.9) |      |
| Intermedio | 0 (0)     | NA                  | 2 (15.4)  | NA        |      |
| Alto       | 1 (7.7)   | 4 (30.8)            | 1 (7.7)   | 3 (23.1)  |      |



Ilustración 4 EUTOS

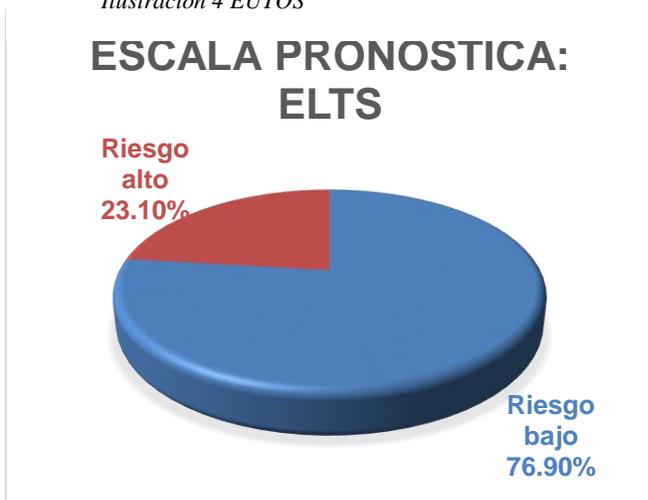


Ilustración 3 ELTS

Dentro de las escalas que más riesgo alto detectaron se encuentran EUTOS y ELTS, siendo la primera escala utilizada en pacientes que fueron tratados con imatinib de primera línea, identificando dos grupos de riesgo con probabilidades significativamente diferentes de respuesta citogenética completa después de 18 meses, observando en esta población que el 30.8% de nuestra población tenía alto riesgo de no cumplir con dicha respuesta, reportando en la literatura mejor distinción entre grupos de pacientes de riesgo alto y bajo, con un valor predictivo positivo de no alcanzar la respuesta de 34% ( $p=0.006$ ) (53). En cuanto a ELTS, podemos observar que predice el riesgo de mortalidad relacionada con la LMC, en este protocolo 23.21% tienen alto riesgo, en el estudio pivote de la escala, esta puntuación identificó al 61 % de pacientes de bajo riesgo con un excelente resultado a largo

plazo y al 12 % de pacientes de alto riesgo, lo cual es más bajo que en nuestra población.

En cuanto a Sokal y Hasford, son escalas en donde la mayor parte de la población se encontró en bajo riesgo, con mayor proporción en Sokal, disminuyendo en Hasford ya que presenta riesgo intermedio. La escala de Hasford inicialmente logró clasificar en tres grupos de pacientes, tratados con interferón, en el grupo de riesgo bajo 40.6% de los pacientes tuvieron una supervivencia de 98 meses, en el grupo de riesgo intermedio 44.7% con una supervivencia a los 65 meses y en el grupo de alto riesgo 14.6% con una supervivencia a 42 meses. Comparando con lo anterior, nuestra población presenta una supervivencia de del 100% a 96 meses. Sokal, fue la primera escala que evaluó riesgo en LMC, sin embargo, está enfocada en pacientes que recibieron tratamiento con quimioterapia, encontrándose dos grupos de riesgo, uno con riesgo bajo con una supervivencia a 2 años de 90%, uno de riesgo intermedio con menos del 20% de supervivencia a 5 años y uno de alto riesgo con una supervivencia del 65% a 2 año (13) (14).

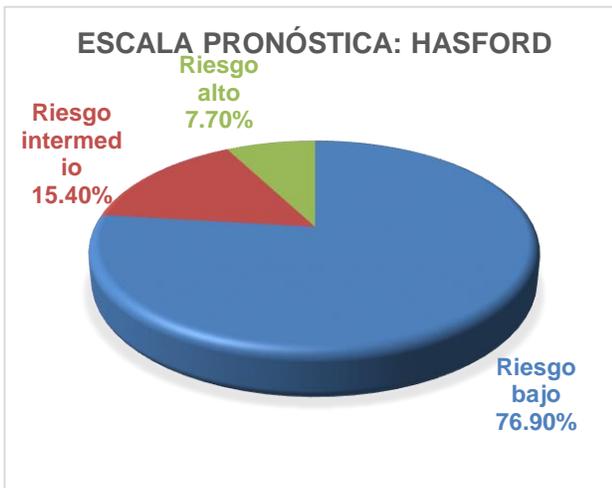


Ilustración 6 Hasford



Ilustración 5 Sokal

Tabla 5 Motivo de cambio.

Dentro del motivo de cambio de ITK se encontró que el 15.4% fue por intolerancia y el 84.6 % fue por falla (Ver tabla 5).

| Motivo de Cambio | n(%)     |
|------------------|----------|
| Intolerancia     | 2(15.4%) |
| Falla            | 11(84.6) |

El tiempo promedio que se encontraron con tratamiento previo con Imatinib de primera línea fue de 51.92 meses, antes del cambio a Dasatinib. Se encontró que los pacientes llevan un tiempo promedio de tratamiento con Dasatinib de 55 meses (ver tabla 8).

### Respuesta linfocitaria con Dasatinib

Se recabaron mediciones de recuento de linfocitos totales previo a Dasatinib y posterior al mismo al mes, 3 meses, 6 meses, 12 meses y la medición actual. Se consideró linfocitosis cuando se encontraban con más de 3.600 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) linfocitos (ver tabla 9). Se encontró que solo el 30.7% de los pacientes presentaron en algún momento del seguimiento con cifra de linfocitos mayor a de 3.6 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), de esos solo 75% conservaron una respuesta linfocitaria sostenida de 2 meses o más.

| CASOS | BASAL   | PRE DASATINIB | 1 MES | 3 MES | 6 MESES | 12 MESES | 2 AÑOS | 2 AÑOS | EN CASO DE PERDIDA DE RM | ACTUALES |
|-------|---------|---------------|-------|-------|---------|----------|--------|--------|--------------------------|----------|
| 1     | 14.5    | 4.32          | 5.88  | 5     | 5.14    | 4.20     | 4.56   | 3.08   | NA                       | 5.02     |
| 2     | 13.2    | 1.46          | 1.22  | 1.55  | 1.68    | 1.96     | 2.22   | 2.19   | 1.72                     | 1.78     |
| 3     | 10.8    | 2.12          | 2.12  | 2.33  | 1.73    | 3.08     | 2.75   | 3.58   | NA                       | 3.34     |
| 4     | 7.5000  | 2.68          | 3.32  | 3.05  | 2.56    | 2.53     | 4.81   | 2.60   | NA                       | 2.60     |
| 5     | 6.2000  | 1.11          | 0.99  | 1.32  | 0.88    | 0.79     | 0.95   | 1.09   | NA                       | 1.30     |
| 6     | 2.0600  | 1.58          | 0.81  | 1.23  | 1.72    | 1.75     | 1.98   | 1.65   | 1.32                     | 1.43     |
| 7     | 5.8000  | 1.95          | 2.61  | 2.30  | 3.04    | 4.81     | 4.73   | NA     | NA                       | 4.06     |
| 8     | 5.5000  | 1.05          | 2.77  | 6.17  | 2.33    | 4.13     | 3.89   | 2.10   | 1.53                     | 3.08     |
| 9     | 14.6000 | 1.50          | 2.00  | 2.13  | 3.51    | 4.00     | 2.10   | 2.57   | NA                       | 4.45     |
| 10    | 3.0000  | 1.81          | 2.55  | 2.38  | 2.45    | 2.82     | 2.83   | 2.75   | 2.70                     | 2.65     |
| 11    | 12.5000 | 1.87          | 2.17  | 3.76  | 5.42    | 2.48     | 3.97   | 2.82   | NA                       | 1.89     |
| 12    | 12.1400 | 1.31          | 1.96  | 2.43  | 3.25    | 2.14     | NA     | NA     | NA                       | 2.01     |
| 13    | 10.0500 | 3.08          | 2.24  | 2.25  | 3.10    | 2.44     | 3.90   | 3.07   | NA                       | 1.27     |

*Tabla 6 Cuantificación de linfocitos Totales en la Biometría Hemática.*

Solo el 75% de los pacientes que presentaron linfocitosis representativa la conservan a la actualidad y ninguno de los 4 pacientes que la presentaron necesitaron suspender el tratamiento por toxicidad, desabasto o mal apego (Ver ilustración 3).

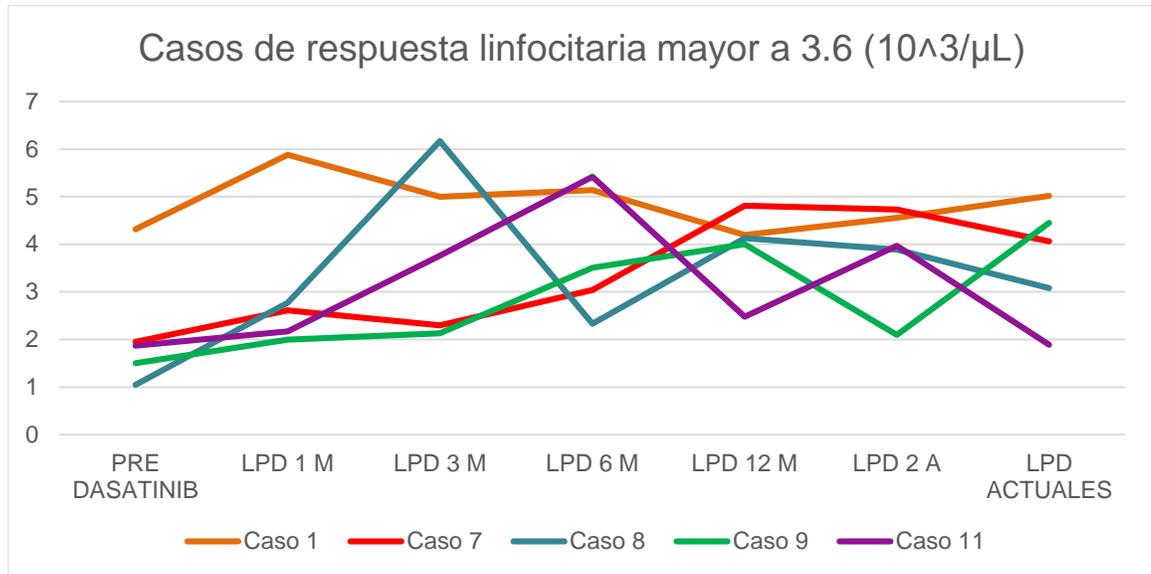


Ilustración 7 Casos de respuesta linfocitaria significativa.

Además se encontró que los pacientes que mantuvieron mayor respuesta linfocitaria 3 meses no tuvieron asociación con el grado de respuesta molecular actual.

Tabla 10 Respuesta linfocitaria mayor a 3.6 (10<sup>3</sup>/μL) a los 3 meses de inicio de dasatinib.

|                            |               | Menores a 3.6 (10 <sup>3</sup> /μL) | Mayores a 3.6 (10 <sup>3</sup> /μL) |
|----------------------------|---------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Respuesta molecular actual | Sin respuesta | 2                                   | 0                                   |
|                            | Mayor         | 3                                   | 2                                   |
|                            | Profunda      | 5                                   | 1                                   |
| Total                      |               | 1                                   | 1                                   |

En cuanto a la citometría de flujo realizada se encontró que se realizó la evaluación a partir de diferentes momentos del tratamiento con Dasatinib, siendo el mínimo de tratamiento con Dasatinib en tiempo de 20 meses y el máximo de 108 meses, con una media de 61.82 (IC 41.7-82.16). La media de linfocitos totales en % a estudiar que encontramos en la CF fue de 24.45 % (IC 12.32-36.59) (Ver tabla 11). La media de linfocitos T fue de 15.75% (IC 7.46-24), la media de linfocitos B fue 3.7546% (IC 2.16-5.35), la mediana de linfocitos TNK con perfil de CD 57+ fue de 3% (1-14%) y la mediana de NK en número de eventos fue de 4989 (511-19,493), la mediana de la relación CD 4/CD 8 fue de 1.1 (0.5-4.8) y la media de relación kappa/lambda fue de 1.16 (IC 0.88-1.45).

| CASOS         | LINFOCITOS TOTALES               | LINFOCITOS T%                   | LINFOCITOS B%                | NKCD57+%                     | LNKTOTAL                                | RELCD4/CD8                      | RELK/L                            |
|---------------|----------------------------------|---------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| 1             | 13                               | 7.00                            | 3.00                         | 3.00                         | 7383.00                                 | 0.75                            | 0.30                              |
| 2             | 50                               | 40.00                           | 2.00                         | 4.00                         | 855.00                                  | 2.20                            | 0.50                              |
| 3             | 4                                | 2.30                            | 0.81                         | 0.74                         | 511.00                                  | 0.90                            | 1.40                              |
| 4             | 16                               | 10.00                           | 5.00                         | 1.00                         | 1234.00                                 | 0.70                            | 1.10                              |
| 5             | 19                               | 15.00                           | 4.00                         | 3.00                         | 4989.00                                 | 1.10                            | 0.73                              |
| 6             | 34                               | 14.00                           | 8.00                         | 12.00                        | 7020.00                                 | 2.10                            | 1.34                              |
| 7             | 32                               | 20.00                           | 3.00                         | 9.00                         | 13910.00                                | 2.80                            | 2.00                              |
| 8             | 38                               | 25.00                           | 4.00                         | 9.00                         | 19493.00                                | 1.80                            | 1.50                              |
| 9             | 10                               | 8.00                            | 2.00                         | 0.86                         | 3671.00                                 | 4.80                            | 1.23                              |
| 10            | 21                               | 15.00                           | 6.00                         | 3.00                         | 5091.00                                 | 3.10                            | 1.58                              |
| 11            | 58                               | 34.00                           | 9.00                         | 14.00                        | 19217.00                                | 0.50                            | 1.40                              |
| 12            | 11                               | 6.00                            | 1.00                         | 4.00                         | 3439.00                                 | 0.70                            | 1.30                              |
| 13            | 6                                | 3.00                            | 1.00                         | 2.00                         | 4413.00                                 | 0.89                            | 0.79                              |
| Media Mediana | Media: 24.73<br>(IC 12.32-36.59) | Media: 15.75<br>(IC 7.46-24.05) | Media: 3.7546<br>(IC 0.81-9) | Mediana: 3<br>Mín. 1 Máx. 14 | Mediana: 4989.0<br>Mín. 511 Máx. 19 493 | Mediana: 1.1<br>Mín 0.5 Máx 4.8 | Media: 1.0791<br>IC 0.7883-13.698 |

*Tabla 11 Linfocitos evaluados en la citometría de flujo.*

### Respuesta de las células NK en relación a la RM

Debido a que todas las metas recomendadas por las guías internacionales sobre la respuesta molecular esperada a los 3, 6 y 12 meses fueron alcanzadas, no se pudo realizar una asociación entre las miasmas y la cantidad y fenotipo de NK, sin embargo se encontró que dentro de los pacientes que tuvieron una mayor cantidad de NK en % y número absoluto de eventos por citometría también tuvieron una respuesta linfocitaria mayor de 3.6 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) de manera sostenido, como lo reporto la literatura (dichos caso se remarcan de azul en tabla 10).

### Relación de CD4+/CD8+

En cuanto a la relación de CD4+/CD8+ al realizar el estudio de la subpoblación de linfocitos, se encontró que en el caso de dos pacientes que presentaron respuesta linfocitaria mayor a 3.6 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), también presentaron disminución del ratio, lo cual traduce a una mayor cantidad de Células T citotóxicas y a mejores respuestas moleculares, según la bibliografía (ver tabla 10).

### Respuesta molecular

Se recabaron los datos de la respuesta molecular posterior a inicio de Dasatinib a los 3, 6, 12 meses, a los 2, 3, 4 años, según el caso y además la última respuesta molecular. Se encontró que todos los pacientes lograron

respuesta molecular temprana, respuesta molecular optima a los 6 meses y respuesta molecular mayor a los 12 meses.

Se comenzó a notar diferencia a los 2 años, cuando se observó que 1 paciente (8.3%), había perdido la respuesta, 3 pacientes (25%) se encontraban en RMM y 8 pacientes (66.7%) en RMP, 1 no se pudo evaluar su respuesta ya que aun no completa 2 años posterior a inicio de Dasatinib (ver tabla 15).

Tabla 12 Respuesta molecular a los 2 años

| Respuesta molecular | n (%)   |
|---------------------|---------|
| Sin respuesta       | 1(7.7)  |
| RMM                 | 3(23.1) |
| RMP                 | 8(61.5) |
| NA**                | 1(7.7)  |
| Total               | 100.0   |

\*\*NA: no aplica porque ese paciente no ha logrado 2 años posterior a inicio de dasatinib.

En cuanto a la respuesta molecular actual, podemos encontrar que los pacientes que la mayoría de los pacientes se encuentran en RMP (ver ilustración 3) en un 46.15%, los pacientes en RMM se encontraron en un 38.46% y los que se encuentran sin respuesta corresponden a un 15.38% de la población de estudio (Ver ilustración 6 y 7).

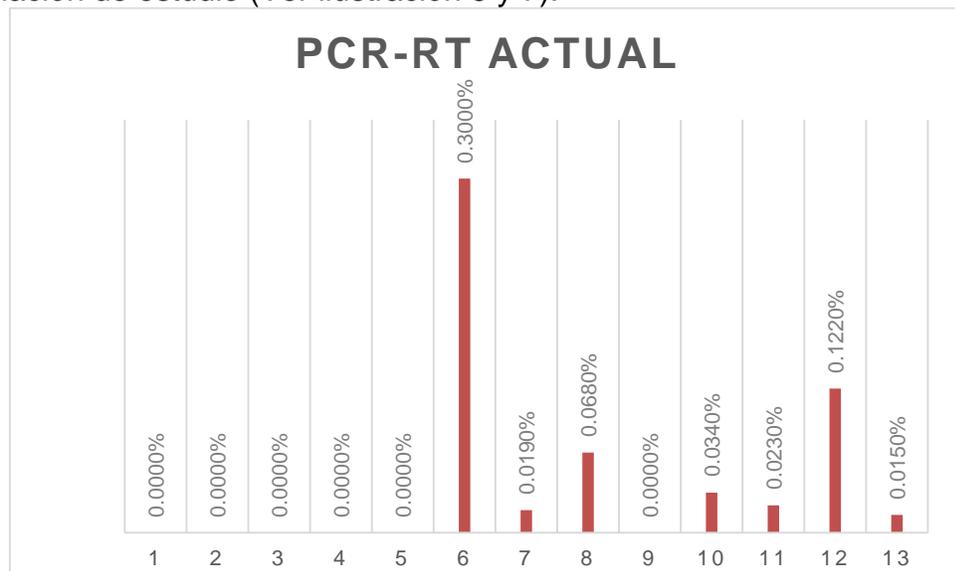
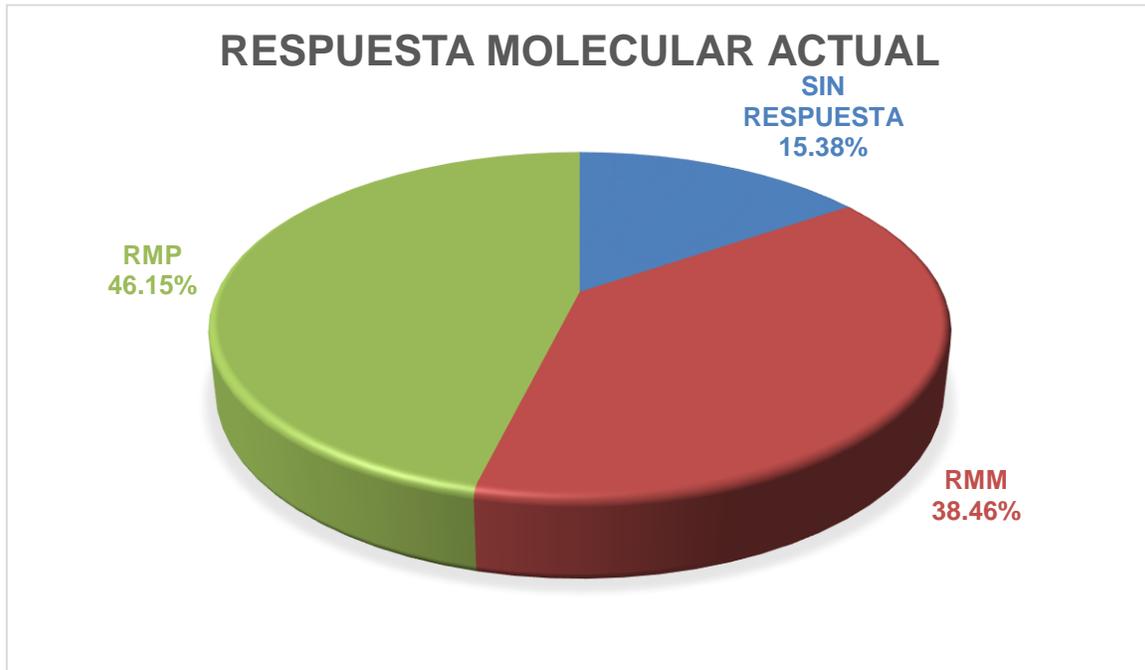


Ilustración 8 PCR-RT de BCR-ABL actual



*Ilustración 9 Respuesta molecular actual.*

## DISCUSIÓN

Existen algunos puntos al destacar al analizar los resultados, dentro de los puntos que encontramos fue que del 100% de los pacientes con LMC de la clínica del HE CMN SXXI, la mayoría se encuentran en manejo con Imatinib, debido a que es nuestra primera línea de manejo, el 21.59% de los pacientes se encuentran en manejo con Dasatinib, siendo este último como segunda línea de tratamiento en el 50% de los casos y como tercera línea de manejo posterior a Nilotinib en el otro 50%.

Debido a que no en todos los expedientes electrónicos se encontraba si era segunda o tercera línea, se decidió revisar expedientes en físico donde se recabo la información anterior. Por ello la población de estudio, con algunos pacientes que fueron eliminados, fue de un total de 13 casos y al realizar el análisis de las respuestas moleculares se encontró que todos los pacientes lograban los resultados esperados, lo cual nos hizo concluir al grado de respuesta como una variable independiente de linfocitosis en este grupo de pacientes, ya que la mayoría no lograron la respuesta linfocitaria establecida

de acuerdo a bibliografía, probablemente porque es un pequeño número de pacientes.

De los 13 pacientes de la muestra 53.8% son hombres y 46.2% son mujeres, comparándolo con la bibliografía de algunos estudios que han evaluado la linfocitosis en Dasatinib, es aproximadamente parecida de 55% de hombres y 45% de mujeres (44).

La media de edad al diagnóstico fue de 39.9 años, comparando con los estudios a nivel internacional se observa una mediana de edad de 46 años en DASISION (18), 55 años en CA180-034 y de 56 años en CA 180-035, lo cual es mayor que en nuestra población (44).

El motivo de cambio de ITK fue de 86.6% por falla y 15.4% por intolerancia, en DASISION el cambio a dasatinib fue de 74% por resistencia a imatinib y 26% por intolerancia, encontrando que en nuestra población mucho más frecuente el cambio por falla que en la bibliografía reportada de manera internacional (18).

El tiempo promedio que se encontraron con tratamiento previo con Imatinib de primera línea fue de 51.92 meses, antes del cambio a Dasatinib, comparándolo con DASISION donde fue de 27 meses. Un punto importante a considerar es que el cambio de Imatinib a Dasatinib en nuestro centro depende de que se encuentre el paciente registrado y aceptado por torre de control, ya que se trata de un medicamento de alto costo, por lo cual hasta que no sea aceptado no se puede iniciar otra segunda línea de tratamiento (18).

En cuanto a la respuesta se encontró que solo el 30.7% de los pacientes presentaron en algún momento del seguimiento con cifra de linfocitos mayor a de  $3.6 (10^3/\mu\text{L})$ , comparado con otros estudios donde se observó entre el 34-35% de linfocitosis, de estos pacientes solo el 75% conservaron una respuesta linfocitaria sostenida de 2 meses o más, en otros estudios se han reportados Medias de 1.4 hasta 33.8 meses de respuesta linfocitaria sostenida (48).

Como se mencionó en los resultados los pacientes que mantuvieron mayor respuesta linfocitaria 3 meses no tuvieron asociación con el grado de respuesta molecular actual, esto es quizás por lo previamente explicado sobre poca cantidad de la muestra y su poca asociación de la linfocitosis con las respuesta moleculares metas a los 3,6, y 12 meses, según las guías NCCN y la ELN.

Uno de los puntos que no nos permitió realizar la asociación de los NK con la RM aparte de la poca muestra, fue que la citometría de flujo se realizó en diferentes momentos del tratamiento con Dasatinib. Dentro de los hallazgos se encontró que dentro de los pacientes que tuvieron una mayor cantidad de

NK en % y número absoluto de eventos por citometría también tuvieron una respuesta linfocitaria mayor de 3.6 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) de manera sostenido, como lo reporto la literatura (51).

Uno de los datos que no era objetivo en este protocolo, sin embargo fue un hallazgo que se encontró y que se ha revisado en la literatura fue que los pacientes que presentaron respuesta linfocitaria mayor a 3.6 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), también presentaron disminución del ratio CD4/CD8, lo cual traduce a una mayor cantidad de Células T citotóxicas y a mejores respuestas moleculares. En un estudio que evaluó las subpoblaciones de linfocitos previo y posterior a inicio de dasatinib, se encontró la proporción de CD8+ era significativamente menor antes de iniciar el tratamiento y se observó una proporción de 31.75 % de CD8+ posterior al inicio del fármaco (52).

De acuerdo a la respuesta molecular actual, se encontró que los pacientes se encuentran en RMP en un 46.15%, los pacientes en RMM se encontraron en un 38.46% y los que se encuentran sin respuesta corresponden a un 15.38 % de la población de estudio, la asociación de esta respuesta con la respuesta linfocitaria y cantidad de NK no pudo cumplirse, por lo que habría que aumentar la muestra de pacientes.

Debido al avance en las terapias para LMC, así como el entendimiento de los diferentes mecanismos de acción de los ITK, las estrategias de inmunoterapia que apuntan a mejorar las respuestas inmunes antitumorales de los pacientes han alcanzado una eficacia notable en el tratamiento. El estado inmunológico de los pacientes con LMC ha tenido grandes avances en cuanto a fisiopatología, por lo tanto, cada vez más es importante para elegir un régimen de tratamiento eficaz, evaluar la respuesta terapéutica y predecir el pronóstico.

Se han realizado muchos estudios sobre la eficacia terapéutica y la terapia de pronóstico de pacientes con LMC después del tratamiento con Dasatinib, como se ha mencionado previamente. Sin embargo, la eficacia inmunomoduladora y el mecanismo involucrado de dasatinib no se entienden completamente, dentro de los rasgos más importantes a recalcar se encuentra el efecto de linfocitosis posterior a iniciar tratamiento, la respuesta de las células NK y los linfocitos citotóxicos. Por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo investigar el efecto inmunomodulador de dasatinib y su asociación con la eficacia clínica, las respuestas moleculares y su efecto sobre los linfocitos, específicamente hablando de la respuesta linfocitaria de las células NK, lo cual no se pudo cumplir, siendo este el objetivo primario por las razones previamente explicadas, por lo que en estudios posteriores se podría ampliar la muestra de pacientes de nuestro centro.

## CONCLUSIONES

De acuerdo a lo revisado en la bibliografía, la vigilancia inmunológica tumoral se ha encontrado que la expansión de clones malignos se previene por medio de la acción del sistema inmune innato y el adaptativo. En la LMC, como en otras neoplasias hematológicas no es la excepción y requiere escapar del reconocimiento inmunitario a través de un proceso multifacético de inmunoeedición por medio del cual las células citotóxicas reactivas se vuelven anérgicas. El objetivo de esta tesis, sin bien no se cumplió, el asociar la respuesta molecular con la cuantificación de células NK se podría encontrar teniendo mayor población a estudiar. Sin embargo, se logró encontrar la presencia de linfocitosis en algunos pacientes.

El avance tan prometedor en el tratamiento de la LMC, siendo tan anecdótico por ser una de las neoplasias más estudiadas, ha provocado que la supervivencia global y libre de enfermedad aumenten y que cada vez se busquen metas que ahora se enfocan en calidad de vida, como la RLT, lo cual es relevante debido a que como se ha encontrado en la escasa epidemiología en México, sin ser la excepción la población del hospital, se trata de pacientes más jóvenes comparado con la evidencia internacional. Es algo relevante tratar de perfilar a la población de pacientes que podrían ser candidatos a RLT, recordando que en nuestro medio es difícil acceder a otras primeras líneas de tratamiento que no sean Imatinib y que si bien la supervivencia es muy parecida en los estudios que comparan los ITK's, se ha encontrado que Dasatinib, por ejemplo, induce respuestas moleculares más rápido, lo cual se ha evidenciado que puede ayudar a perfilar a los pacientes candidatos a RLT.

Dentro de la importancia de la respuesta inmune y la vigilancia tumoral, Dasatinib es un ITK que tanto en estudios in Vitro como in Vivo induce expansión clonal de células como los linfocitos T CD8+ y las células NK, lo se ha relacionado como mejores respuestas moleculares. Como en otras neoplasias el campo de la inmunooncología es cada vez más prometedor y con menos toxicidad para los pacientes, mejorando la carga tumoral, y por ende los síntomas, las respuestas moleculares, las RLT y la mejoría de la calidad de vida.

Son muy pocos los estudios relacionados con linfocitosis, células NK y Dasatinib, sin embargo, el conocimiento de estos mecanismos de acción farmacológicos y su asociación con la remisión de la enfermedad, podrían en algún momento cambiar las indicaciones o incluso agregar al perfil de los pacientes candidatos a RLT rubros enfocados en la respuesta inmune antitumoral.

Si bien no se pudo lograr el objetivo primario por la poca cantidad de muestra y porque al momento todos los pacientes sujetos al protocolo mantenían respuestas moleculares adecuadas, convirtiendo está en una variable independiente, quizás ampliando la muestra o el seguimiento de los pacientes a largo plazo con el inmunofenotipo SLT, podrían ayudar a encontrar una asociación, sin se encontró una respuesta linfocitaria, no todas mayores a 3 600 , quizás en nuestra población también se podría encontrar un ajuste, el cual se podría realizar comparando el basal con el porcentaje de aumento de nuestra población con la bibliografía publicada.

ANEXO 1:

**Carta de consentimiento informado para participación en  
protocolos de investigación (Adultos)**



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN  
Y POLITICAS DE SALUD  
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD**

**Carta de consentimiento informado para  
participación en protocolos de investigación  
(adultos)**

|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Nombre del estudio:                   | Cuantificación de los Linfocitos NK en pacientes con Leucemia Mieloide Crónica en tratamiento con Dasatinib.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Patrocinador externo (si aplica):     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Lugar y fecha:                        | Centro Médico Nacional Siglo XXI, Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez”, Servicio de Hematología.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Número de registro institucional:     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Justificación y objetivo del estudio: | Observaremos la medición de los linfocitos (que son células que ayudan en la defensa en contra de infecciones o tumores) y lo relacionaremos con la respuesta que tuvo el paciente cuando se ha realizado diferentes mediciones de BCR-ABL (el estudio molecular que se toma los días martes o jueves en la consulta externa), el cual nos ayuda para el seguimiento y vigilar la respuesta a su medicamento.                                                                                                                       |
| Procedimientos:                       | Se tomará una muestra de sangre periférica (de la vena del brazo) para estudiar un tipo de linfocito que se llama célula asesina natural, la cual participa de manera importante en el ataque en contra de algunos tumores, como es el caso de la Leucemia Mieloide Crónica.<br>Por otro lado, se tomarán los datos del expediente clínico, de carácter confidencial, sin divulgar ningún tipo de información, nos enfocaremos estrictamente en los datos para construir la base de datos y los estudios de laboratorio necesarios. |
| Posibles riesgos y molestias:         | Riesgos mínimos. Dolor a la venopunción, moretón, inflamación, enrojecimiento, etc.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

|                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio: | Relacionar el estudio de sus células con las respuestas al tratamiento, en algún momento valorar si tiene características de que aseguren que será candidato elegible para suspender el tratamiento y no tener que tomar un medicamento de por vida.                                                                                                                                                                                                  |
| Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:   | El paciente continuará con tratamiento con dasatinib, no se suspenderá ni se modificará la dosis.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Participación o retiro:                                       | En el momento que el paciente desee.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Privacidad y confidencialidad:                                | Los datos personales recabados de los expedientes médicos no se utilizarán de manera pública, no revelaremos el nombre del paciente; en caso de que el paciente desee conocer el resultado del inmunofenotipo se le será proporcionado. Para la creación de base de datos se utilizará código alfanumérico, sin nombres, número de seguridad social, domicilio o teléfono del paciente, ni otro dato que haga referencia a la identidad del paciente. |

### **Declaración de consentimiento:**

Después de haber leído y habiéndome explicado todas mis dudas acerca de este estudio:

- No acepto participar en el estudio.
- Si acepto participar y que se tome la muestra solo para este estudio.
- Si acepto participar y que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros, conservando su sangre mientras se realice el estudio de citometría, tras lo cual se destruirá la misma.

### **En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:**

- Dra. Nancy Delgado López. Médica Especialista en Hematología, Adscrito al servicio de hematología, Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social. Correo Electrónico: [deln8@hotmail.com](mailto:deln8@hotmail.com). Teléfono : 56276900 ext 21406

#### Colaboradores:

- M. en C. Laura J. Rabelo Carrasco. Química Bacterióloga y Parasitóloga, titulada por el IPN. Jefa del laboratorio de hematología especial en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social. Correo Electrónico: [rabelocl7@gmail.com](mailto:rabelocl7@gmail.com). Teléfono: 56276900 ext- 21369
- Alumno: Stephania Sandoval Ocampo. Médica Residente de Hematología, Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social. Correo Electrónico: [sandovalstephania@gmail.com](mailto:sandovalstephania@gmail.com)  
Teléfono: 5564133872

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a:  
Comité Local de Ética de Investigación en Salud del CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc  
330 4° piso Bloque “B” de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP  
06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, correo electrónico:  
comité.eticainv@imss.gob.mx

---

**STEPHANIA SANDOVAL OCAMPO**

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del participante

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de quien obtiene el  
consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma

\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma

Este formato constituye una guía que deberá completarse de acuerdo con las características propias de cada protocolo de investigación, sin omitir información relevante del estudio.

**Clave: 2810-009-013**

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Faderl S, Talpaz M, et al. The Biology of Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 1999; 124: 164-172.
2. Miranda-Filho A, Piñeros M, Ferlay J, et al. Epidemiological patterns of leukaemia in 184 countries: a population-based study. *Lancet Haematol*. 2018; 5 (1): e14–24.
3. Ning L, Hu C, Lu P, et al. Trends in disease burden of chronic myeloid leukemia at the global, regional, and national levels: a population-based epidemiologic study. *Exp Hematol Oncol*. 2020; 1: 9-29.
4. Mendizabal AM, Younes N, Levine PH. Geographic and income variations in age at diagnosis and incidence of chronic myeloid leukemia. *International Journal of Hematology*. 2015; 103 (01): 70-78.
5. Miranda-Filho A, Piñeros M, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Epidemiological patterns of leukaemia in 184 countries: a population-based study. *The Lancet Haematology*. 2018; 5(1): e14–e24.
6. Who's Certified [base de datos en Internet]. Globocan 2020. Incidencia y mortalidad de todos los cánceres en México. [En línea] Consultado en: [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_population.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx).
7. Ayala M. Estado actual del tratamiento de la leucemia mieloide crónica en México. *Rev Hematol Mex* 2013;14:5-7.
8. Apperley JF. Chronic myeloid leukaemia. *Lancet*. 2015; 385(76): 1447-1459.
9. Dong R, Cwynarski K, Entwistle A, et al. Dendritic cells from CML patients have altered actin organization, reduced antigen processing, and impaired migration. *Blood*. 2003; 101: 3560–3567.
10. Nakajima H, Zhao R, Lund TC, Ward J, Dolan M, Hirsch B, et al. The BCR/ABL transgene causes abnormal NK cell differentiation and can be found in circulating NK cells of advanced phase chronic myelogenous leukemia patients. *J Immunol*. 2002; 168: 643–650.
11. Hsieh YC, Kirschner K, Copland M. Improving outcomes in chronic myeloid leukemia through harnessing the immunological landscape. *Leukemia*. 2021; 35: 1229–1242.

12. Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2012 update on diagnosis, monitoring, and management. 2012, *Am J Hematol.* 2012; 87: 1037–1045.
13. Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, et al. Prognostic discrimination in “good-risk” chronic granulocytic leukemia. *Blood.* 1984; 63: 789–799.
14. Hasford J, Pffirmann M, Hehlmann R, et al. A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. *J Natl Cancer Inst.* 1998; 90: 850–858.
15. Pffirmann M, Baccarani M, Saussele S, et al. Prognosis of long-term survival considering disease-specific death in patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2016; 30: 48–56.
16. O’Brien SG, Guilhot F, Larson RA, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2003; 348 (11): 94–1004.
17. Hochhaus A, Baccarani M, Silver RT, et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2020; 34: 966–984.
18. Cortes JE, Saglio G, Kantarjian HM, Baccarani M, Mayer J, Boque C, et al. Final 5-year study results of DASISION: the dasatinib versus imatinib study in treatment-naïve chronic myeloid leukemia patients trial. *J Clin Oncol.* 2016; 34: 2333–2340.
19. Naqvi K, Jabbour E, Skinner J, Anderson K, Dellasala S, Yilmaz M, et al. Long-term follow-up of lower dose dasatinib (50 mg daily) as frontline therapy in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *Cancer.* 2020; 126: 67–75.
20. Hanfstein B, Müller MC, Hehlmann R, et al. Early molecular and cytogenetic response is predictive for long-term progression-free and overall survival in chronic myeloid leukemia (CML). *Leukemia.* 2012; 26 (9): 2096–2102.
21. Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, Branford S, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. *Blood.* 2006; 108: 28–37.
22. Lauseker M, Hanfstein B, Haferlach C, et al. Equivalence of BCR-ABL transcript levels with complete cytogenetic remission in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2014; 140: 1965–1969.

23. Cross NC, White HE, Colomer D et al. Laboratory recommendations for scoring deep molecular responses following treatment for chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2015; 29: 999–1003.
24. Seggewiss R, Lore K, Greiner E, Magnusson MK, et al. Imatinib inhibits T-cell receptor-mediated T-cell proliferation and activation in a dose-dependent manner. *Blood*. 2005; 105: 2473-2479.
25. Schade AE, Schieven GL, Townsend R. et al. Dasatinib, a small-molecule protein tyrosine kinase inhibitor, inhibits T-cell activation and proliferation. *Blood*. 2008; 111: 1366–1377.
26. Mustjoki S, Ekblom M, Arstila TP, Dybedal I, Epling-Burnette PK, Guilhot F, et al. Clonal expansion of T/NK-cells during tyrosine kinase inhibitor dasatinib therapy. *Leukemia*. 2009; 23: 1398–1405.
27. Chang MC, Cheng HI, Hsu K, Hsu YN, Kao CW, Chang YF, et al. NKG2A down-regulation by dasatinib enhances natural killer cytotoxicity and accelerates effective treatment responses in patients with chronic myeloid leukemia. *Front Immunol*. 2018; 9: 758-765.
28. Mustjoki S, Ekblom M, Arstila TP, Dybedal et al. Clonal expansion of T/NK-cells during tyrosine kinase inhibitor dasatinib therapy. *Leukemia*. 2009; 23: 1398–1405.
29. Etienne G, Guilhot J, Rea D, Rigal-Huguet F, Nicolini F, Charbonnier A, et al. Long-term follow-up of the french stop imatinib (STIM1) study in patients with chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2017; 35: 298–305.
30. Campiotti L, Suter MB, Guasti L, Piazza R, Gambacorti-Passerini C, Grandi AM, et al. Imatinib discontinuation in chronic myeloid leukaemia patients with undetectable BCR-ABL transcript level: a systematic review and a meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2017; 45: 48-56.
31. Saussele S, Richter J, Guilhot J, Gruber FX, Hjorth-Hansen H, Almeida A, et al. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukaemia (EURO-SKI): a prespecified interim analysis of a prospective, multicentre, non-randomised, trial. *Lancet Oncol*. 2018; 1: 747–757.
32. Rousselot P, Charbonnier A, Cony-Makhoul P, Agape P, Nicolini FE, Varet B, et al. Loss of major molecular response as a trigger for restarting tyrosine kinase inhibitor therapy in patients with chronic-phase chronic myelogenous leukemia who have stopped imatinib after durable undetectable disease. *J Clin Oncol*. 2014; 32(5):424-430.
33. Wallace ME, Smyth MJ. The role of natural killer cells in tumor control-effectors and regulators of adaptive immunity. *Springer Semin Immunopathol*. 2005; 27(1): 49-64.

34. Nakajima H, Zhao R, Lund TC, Ward J, Dolan M, Hirsch B, et al. The BCR/ABL transgene causes abnormal NK cell differentiation and can be found in circulating NK cells of advanced phase chronic myelogenous leukemia patients. *J Immunol.* 2002; 168: 643–650.
35. Hsieh YC, Kirschner K, Copland M. Improving outcomes in chronic myeloid leukemia through harnessing the immunological landscape. *Leukemia.* 2021;35(5):1229-1242.
36. Chang MC, Cheng HI, Hsu K, et al. NKG2A Down-Regulation by Dasatinib Enhances Natural Killer Cytotoxicity and Accelerates Effective Treatment Responses in Patients With Chronic Myeloid Leukemia. *Front Immunol.* 2019; 9: 3152.
37. Caocci G, Martino B, Greco M, Abruzzese E, Trawinska MM, Lai S, Ragatzu P, Galimberti S, Baratè C, Mulas O, Labate C, Littera R, Carcassi C, Gambacorti Passerini C, La Nasa G. Killer immunoglobulin-like receptors can predict TKI treatment-free remission in chronic myeloid leukemia patients. *Exp Hematol.* 2015; 43(12): 1015-1018.e1.
38. Ross DM, Pagani IS, Irani YD, Clarson J, Leclercq T, Dang P, McLean J, Saunders VA, Carne L, Reynolds J, Ritchie DS, White DL, Branford S, Hughes TP, Yong ASM. Lenalidomide maintenance treatment after imatinib discontinuation: results of a phase 1 clinical trial in chronic myeloid leukaemia. *Br J Haematol.* 2019;186(3):e56-e60.
39. Ilander M, Olsson-Stromberg U, Schlums H, Guilhot J, Bruck O, Lahteenmaki H, et al. Increased proportion of mature NK cells is associated with successful imatinib discontinuation in chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2017; 31(5): 1108-1116.
40. Alves R, Gonçalves AC, Jorge J, et al. MicroRNA signature refine response prediction in CML. *Sci Rep.* 2019; 9(1):9666.
41. Hughes A, Clarson J, Tang C, Vidovic L, White DL, Hughes TP, Yong AS. CML patients with deep molecular responses to TKI have restored immune effectors and decreased PD-1 and immune suppressors. *Blood.* 2017 Mar 2;129(9):1166-1176.
42. Mustjoki S, Ekblom M, Arstila TP, et al. Clonal expansion of T/NK-cells during tyrosine kinase inhibitor dasatinib therapy. *Leukemia.* 2009; 23: 1398– 1405.
43. Kim DH, Kamel-Reid S, Chang H, et al. Natural killer or natural killer/T cell lineage large granular lymphocytosis associated with dasatinib therapy for Philadelphia chromosome positive leukemia. *Haematologica.* 2009; 94: 135– 139.

44. Nagata Y, Ohashi K, Fukuda S, et al. Clinical features of dasatinib-induced large granular lymphocytosis and pleural effusion. *Int J Hematol*. 2010; 91: 799– 807.

45. Powers JJ, Dubovsky JA, Epling-Burnette PK, et al. A molecular and functional analysis of large granular lymphocyte expansions in patients with chronic myelogenous leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors. *Leuk Lymph*. 2011; 52: 668– 679.

46. DH Kim, S Kamel-Reid, H Chang, et al. Natural killer or natural killer/T cell lineage large granular lymphocytosis associated with dasatinib therapy for Philadelphia chromosome positive leukemia. *Haematologica*, 94 (1) (2009), pp. 135-139

47. Lee SJ, Jung CW, Kim DY, et al. Retrospective multicenter study on the development of peripheral lymphocytosis following second-line dasatinib therapy for chronic myeloid leukemia. *Am J Hematol*. 2011; 86: 346- 350.

48. Valent JN, Schiffer CA. Prevalence of large granular lymphocytosis in patients with chronic myelogenous leukemia (CML) treated with dasatinib. *Leuk Res*. 2011; 35: e1- e3.

49. Schiffer CA, Cortes JE, Saglio G, et al. Lymphocytosis following first-line treatment for CML in chronic phase with dasatinib is associated with improved responses: a comparison with imatinib [abstract]. *Blood*. 2010; 116: 358.

50. Nagata Y, Ohashi K, Fukuda S, Kamata N, Akiyama H, Sakamaki H. Clinical features of dasatinib-induced large granular lymphocytosis and pleural effusion. *Int J Hematol*. 2010; 91: 799- 807.

51. Schiffer, C.A., Cortes, J.E., Hochhaus, A., Saglio, G., le Coutre, P., Porkka, K., Mustjoki, S., Mohamed, H. and Shah, N.P. (2016), Lymphocytosis after treatment with dasatinib in chronic myeloid leukemia: Effects on response and toxicity. *Cancer*, 122: 1398-1407.

52. Wei X, He L, Wang X, Lin M, Dai J. Effects of dasatinib on CD8+T, Th1, and Treg cells in patients with chronic myeloid leukemia. *Journal of International Medical Research*. 2020;48(2).

53. Hasford J, Baccarani M, Hoffman V et al Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression-free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score. *Blood* 2011; 118 (3): 686–692.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Deininger MW, Goldman JM, Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000; 96 (10): 3343–3356.

2. Jabbour, E, Kantarjian, H. Chronic myeloid leukemia: 2022 update on diagnosis, therapy, and monitoring. *Am J Hematol.* 2022; 97( 9): 1236- 1256.
3. Aijaz J, Junaid N, Asif Naveed M, Maab R. Risk Stratification of Chronic Myeloid Leukemia According to Different Prognostic Scores. *Cureus.* 2020 Mar 20;12(3):e7342.
4. Ganta RR, Nasaka S, Linga VG, et al. Effectiveness of Three Prognostic Scoring Systems in Predicting the Response and Outcome in Pediatric Chronic Myeloid Leukemia Chronic Phase on Frontline Imatinib. *Indian J Med Paediatr Oncol.* 2017 Jul-Sep;38(3):282-286.