



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGIA

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS EN
PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA
RESISTENTES A IMATINIB**

T E S I S

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALIDAD EN
HEMATOLOGÍA**

PRESENTA:

DRA. IVETTE LENINA CARRASCO MARTÍNEZ

ASESOR

DR. EDUARDO EMIR CERVERA CEVALLOS



MEXICO, D.F.

AGOSTO, 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

AGRADECIMIENTOS:

Cuando las metas en la vida se logran siempre es importante valorar a la gente de nuestro alrededor, y yo quiero empezar por agradecer a mis papás, María Guadalupe Martínez Ramírez y Rodrigo Carrasco A., dos personas que son mi vida y que siempre confiaron en mí y hoy solo me queda agradecer su amor, cuidados, consejos y protección, después es importante contar con una amiga y hermana como lo es Janine Donaji Carrasco Martínez que ha estado junto a mí en todo momento y quiero agradecerle por todo su apoyo, pero si se trata de apoyo no se puede olvidar a alguien que me acompañó en éste último año de estrés, de lagrimas y tristezas y esa persona es Israel Segura Calderón, pero los buenos amigos de las farras también son tan importantes como los anteriores y entre ellos Viridiana, Etna, Arturo, Mariela, Cindy, Ramiro y todos mis compañeros del INCAN incluyendo todo el maravilloso personal que ahí labora y que sin ellos no hubiera sido posible éste logro. Hay alguien muy especial de la que me siento muy orgullosa ser su amiga y a ella, María Bernarda Jara Rivera le agradezco ser esa amiga que en la residencia sin ella no se podría sobrevivir por su sinceridad, compañía y los buenos consejos de una amiga.

Así como la vida personal se llena de amigos también la laboral se llena de maestros y amigos y quiero agradecer al Dr Juan Labardini, por sus consejos, enseñanzas y apoyo en éste camino, al Dr Eduardo Cervera por su alegría y enseñanza y al resto de mis adscritos el Dr Lozano, Chalapud, y la Dra Rivas que han sido todo el grupo de maestros a los cuales admiro y agradezco su apoyo.

Apéndice

1.- Apéndice	1
2.- Agradecimientos.....	2
2.- Título.....	3
2.- Introducción	4
3.- Antecedentes	6
4.- Justificación.....	18
5.- Objetivos	19
6.- Hipótesis.....	20
7.- Matrial y métodos	20
8.- Resultados	21
9.- Conclusiones	22
10.- Bibliografía.....	23

INTRODUCCIÓN:

El estudio de la Leucemia Mieloide Crónica (LMC) ha cambiado en la segunda mitad del último siglo, revelando primero el descubrimiento del cromosoma filadelfia (Ph), con su sitio de ruptura en el cromosoma 22 y finalmente la fusión del gen BCR-ABL(Abelson) formando una oncoproteína p210 la cual juega un papel fundamental en la patogénesis de la LMC y puede ser la lesión molecular inicial . La LMC es un desorden mieloproliferativo caracterizado por una excesiva proliferación de una célula madre neoplásica y clínicamente se divide en tres fases, crónica, acelerada y blástica, presentándose la mayoría de los pacientes en fase crónica, la mediana de supervivencia con LMC ha mejorado en las últimas décadas.

La LMC es una enfermedad de las células troncales que se caracteriza por anemia, granulocitosis sanguínea extrema e inmadurez granulocítica, basofilia, a menudo trombocitosis y esplenomegalia. Representa aproximadamente el 15% de todos los casos de leucemia, y la tasa de mortalidad a causa de ella es de aproximadamente 9/100,000 personas por año en EUA. La enfermedad se produce ligeramente más a menudo en hombres que en mujeres, pero tiene manifestaciones similares y evolución similar en ambos sexos. Aunque la LMC se produce en niños y adolescentes, solo alrededor del 10% de todos los casos se produce en pacientes entre 5 y 20 años, ésta enfermedad representa aproximadamente el 3% de todas las leucemias de la infancia . Los síntomas son inespecíficos y de inicio gradual, una exploración física puede detectar palidez y esplenomegalia como únicos signos. El 70% de los pacientes que están sintomáticos al diagnóstico, las quejas mas frecuentes son fatiga excesiva, anorexia, molestias abdominales, pérdida de la sensación de bienestar, disminución de la tolerancia al ejercicio, pérdida de peso y diaforesis.

El gen BCR-ABL, se puede encontrar en personas sanas en niveles muy bajos en células que no son pluripotenciales, sin traducción clínica. La activación de múltiples señales de traducción del gen BCR-ABL por múltiples vías, transforman células hacia la proliferación, apoptosis y alterando la interacción con la matriz celular y el estroma(5).

El tratamiento de la LMC ha cambiado dramáticamente en los últimos años, ya que el trasplante y el uso de interferón alfa han ofrecido la posibilidad de una respuesta citogenética completa, mejorando la sobrevida global que se tenía con la quimioterapia convencional. La introducción de mesilato de imatinib a iniciado la era de la terapia molecular con resultados importantes incluyendo respuestas citogenéticas completas por arriba del 90% y en muchos de ellos con respuestas moleculares, sin embargo pacientes con estadios avanzados de la enfermedad pueden desarrollar resistencia a imatinib.

El mesilato de imatinib es un miembro de la clase de compuestos de 2 fenilaminopiridina, que fueron desarrollados por Novartis, en los años 90, siendo un potente inhibidor de 4 proteínas de tirocin cinasa, ABL, KIT (el receptor de células madre) , el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR-A y B), el gen Abelson y posiblemente otras cinasas no identificadas, sin embargo una de las características más específicas fue la selectividad del compuesto.

El mecanismo preciso por el cual el imatinib bloquea la actividad de la cinasa no esta muy claro todavía, esto es explicado a traves de una inhibición directa competitiva de ATP.

Cuando se administran dosis convencionales de imatinib de 400mgs a pacientes con LMC crónica quienes previamente han sido tratados con interferon alfa, la droga induce respuesta hematológica completa en 41% y respuesta citogenética mayor en 60% de los pacientes, una progresión libre de supervivencia fue mejor en pacientes en quienes adquirieron algunos niveles de cromosoma filadelfia negativo sin citopenias significativas, un análisis retrospectivo mostró que tales respuestas citogenéticas tenían una alta supervivencia que podría ser continuada mientras se continuara con el tratamiento con o sin interferon alfa. Un estudio prospectivo multinacional reveló que el uso de imatinib como droga única sin interferón en pacientes recién diagnosticados con LMC era suficiente con respuestas citogénicas mayores que en el primer seguimiento de 18 meses, la respuesta es de 95.3% en el brazo de imatinib.

La resistencia a imatinib puede ser definida como primaria o secundaria, la definición está basada sobre exámenes de laboratorio y clínicos, es primaria cuando el paciente que no ha sido previamente a imatinib y no adquiere respuestas ni hematológica, citogenética y molecular en relación al tiempo establecido, mientras que es secundaria cuando después de haber adquirido algún grado de respuesta la pierde, siendo ésta no dependiente de tiempo. Las causas se pueden dividir en dos grandes grupos que son: aquellas dependientes de BCR-ABL y las independientes del mismo. Motivo que ha generado grandes discusiones y múltiples estudios en donde se ha intentado aumentar la dosis para poder resolver este problema hasta tener que valorar el inicio de otro medicamento inhibidor de cinasa al inicio del tratamiento. Sin poder tener por el momento las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes que desarrollarán resistencia con la administración de imatinib y que desde el punto de vista molecular un panel de mutaciones puede resolver el problema, convirtiéndose en un estudio costoso y poco práctico en la clínica convencional.

Sin embargo muchas preguntas que todavía quedan por contestar, como aquella de que todavía no sabemos la causa específica del origen del gen BCR-ABL, ya que dentro de los factores de riesgo que se han estudiado solo la exposición a radiaciones ha sido atribuida de manera directa como causa sin explicar de manera específica la formación del gen. Otra de las cosas que quedan por investigar es que sabemos que hay un gran número de proteínas citoplasmáticas aberrantes que son fosforiladas en la LMC, sin embargo todavía no está dilucidado cual de todas éstas proteínas tienen mayor implicación sobre la actividad leucemogénica de ésta patología. Y finalmente, lo más importante es que a pesar de que ahora entramos en la era de la biología molecular con resultados espectaculares, los problemas de inestabilidad genómica con las resistencias a los medicamentos de manera adquirida traducido en respuestas nulas al tratamiento es el nuevo reto de la enfermedad.

ANTECEDENTES:

En 1845, Bennet en Escocia y Virchow (figura 1) en alemania publicaron descripciones de pacientes con aumento del tamaño del bazo, anemia intensa y concentraciones enormes de granulocitos en la sangre en la autopsia . Bennet inicialmente prefería un empiema extrema como explicación, pero Virchow argumentó en contra la supuración como causa. Craige y otroa autores comunicaron mas casos y en 1847 Virchow introdujo el término leucemia. En 1878 Neuman propuso que la médula no solo era el lugar de producción de las células sanguíneas normales sino también el lugar en el que se originaban la laeucemia y uso el término leucemia mielógena . Observaciones posteriores amplificaron los rasgos clínicos y de laboratorio de la enfermedad, pero se hicieron pocos descubrimientos fundamentales hasta el que realizó Nowell y Hungerford, comunicado en 1960 de que dos pacientes con la enfermedad tenían una pérdida aparente del brazo largo del cromosoma 22 o 21 , una anomalía que se confirmó rapidamente y lo designo como cromosoma filadelfia. Este descubrimiento condujo hacia un nuevo planteamiento del diagnóstico, por tener un marcador en la patogenia de la enfermedad yun foco para estudio futuros de la patología molecular de la enfermedad .



..... Figura 1

La disponibilidad de técnicas de bandeo condujo a l descubrimiento de Rowley de que l material cromosómico perdido aparente del cromosoma 22 era parte de una traslocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22. el descubrimiento de que el oncogén celular ABL, en el cromosoma 9 y un segmento del cromosoma 22, la región de agrupación de puntos de ruptura, BCR se fusionaron como consecueneciade la traslocación ha aportado l abase para el estudio dela causa molecular de la enfermedad.

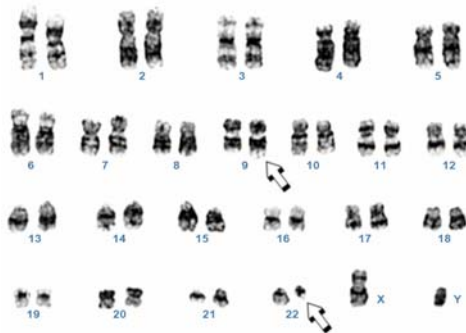


Figura 2

La incidencia representa aproximadamente el 15% de todos los casos de leucemia, y la tasa de mortalidad a causa de ella es de aproximadamente 9/100,000 personas por año en EUA. La enfermedad se produce ligeramente más a menudo en hombres que en mujeres, pero tiene manifestaciones similares y evolución similar en ambos sexos. Aunque la LMC se produce en niños y adolescentes, solo alrededor del 10% de todos los casos se produce en pacientes entre 5 y 20 años, ésta enfermedad representa aproximadamente el 3% de todas las leucemias de la infancia. La tasa de mortalidad específica por edad de la LMC aumenta con la edad e menos de 0.1/100,000 personas entre los 0 y 14 años, aproximadamente entre 1/100,000 en la mitad de la quinta década de la vida y más de 8% 100,000 en la mitad.

La LMC es una enfermedad de las células troncales que se caracteriza por anemia, granulocitosis sanguínea extrema e inmadurez granulocítica, basofilia, a menudo trombocitosis y esplenomegalia. El frotis de sangre periférica se puede observar como la figura 3, mientras que el aspecto hiper celular de la médula ósea se observa en la figura 4.

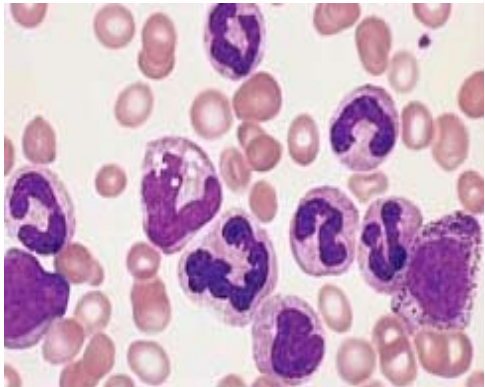


Figura 3

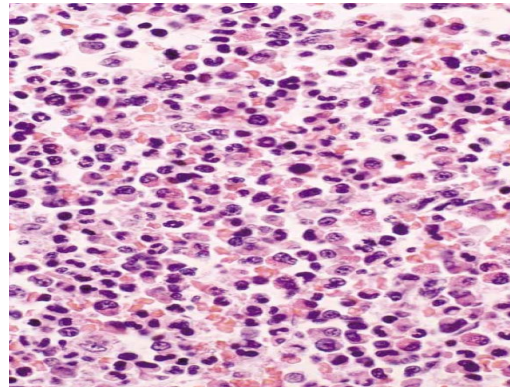


Figura 4

A pesar de que en la etiología solo se sabe que el factor de riesgo más importante para el desarrollo de la LMC es la exposición a radiaciones, el papel fundamental de la etiología se concentra en el cromosoma filadelfia y ahora todos los pacientes tienen esta anomalía como parte del diagnóstico (reordenamiento de BCR).

El trastorno génico se hizo evidente con el conocimiento de que la LMC procede de una célula primitiva que contiene una anomalía 22q. El cromosoma anormal contenía solo 60% del ADN en los estudios citogenéticos que indicaban que el cromosoma del grupo G implicado era diferente del cromosoma del grupo G extra en pacientes con síndrome de Down al que se había asignado el número 21 y por lo tanto al segundo se le había asignado el número 22 y fue en la conferencia de París donde decidieron dejar al cromosoma 21 como el responsable en el síndrome de Down y al 22 como el cromosoma filadelfia, con la doctora Rowley usando un bandeado con quinacrina y Giemsa en 1973 comunicó en 1973 que el material de ese cromosoma 22 no se perdía y que solo se translocaba hacia el cromosoma 9, prediciendo que la translocación estaba equilibrada. El cromosoma filadelfia clásico por tanto t(9;22)(q34;11) abreviado t(Ph), puede desarrollarse en el miembro materno como en el par paterno.

Las mutaciones del gen ABL del cromosoma 9 y del gen BCR en el cromosoma 22 fueron fundamentales para el desarrollo de la LMC. En 1982 el homólogo celular humano ABL, de la secuencia transformadora del virus de la leucemia murina de Abelson, se localizó en el cromosoma humano número 9. El ABL es estrechamente homólogo al oncogén vírico v-abl que es la porción de transformación celular del gen. Este gen puede inducir transformación maligna de las células en cultivo y leucemia en ratones susceptibles, éste gen se reordena y amplifica en líneas celulares de pacientes con LMC. El RNA de fusión conduce a la traducción de una fosfoproteína cinasa de tirosina única de 210 Kda que puede fosforilar residuos de tirosina en proteínas similares a la acción del producto proteínico v-abl, ésta tirosinasa es difícil de identificar en las células en fase crónica debido a los inhibidores en los granulocitos, las variantes moleculares reflejan variaciones de ruptura del cromosoma 22 (figura 5).

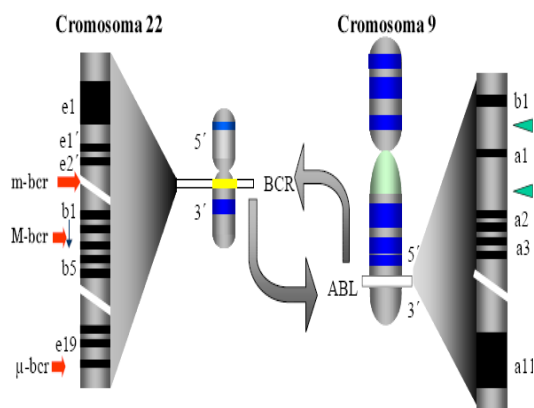


Figura 5

Los puntos de ruptura del cromosoma 9 no están estrechamente agrupados y van de una 15Kb a más de 40Kb corriente arriba para la región más próxima del gen ABL. Los puntos de ruptura del cromosoma 22 se producen en una tira corta de aproximadamente 5Kb de ADN que se conoce como región de puntos de ruptura mucho más larga BCR. Se han caracterizado tres regiones principales de puntos de ruptura la mayor, la menor y la micro codificando unas proteínas de fusión 210 Kda, 190 Kda y p230 Kda, como se muestran en la figura 6.

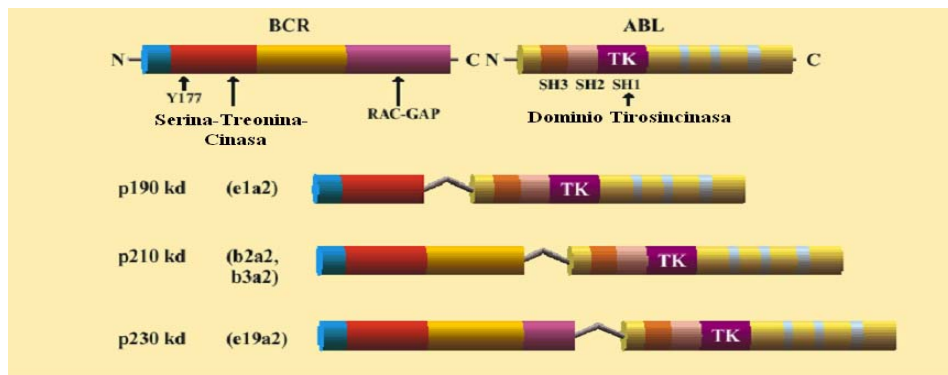


Figura 6

La p210 interactúa con varios componentes de las vías de traducción de señales y se une y fosforila a más de 20 proteínas en su papel como oncoproteína. Se ha vinculado la p210 con la activación de RAF, la regulación a la baja de expresión de RAF inhibe tanto el crecimiento dependiente de BCR-ABL como la proliferación dependiente del factor de crecimiento de los progenitores hematopoyéticos normales. La eficiencia de la transformación del celular por BCR-ABL se ve afectada por una proteína portadora que puede interrelacionar las señales de tirosin cinasa con RAS, activa además múltiples vías alternas al RAS. La molécula adaptativa CRKL es otro sustrato de p210 que es un activador leucemogénico primario en ratones y que además activa otras vías de señalización. También es activadora de JAK y STAT 5 como se muestra en la figura siguiente.

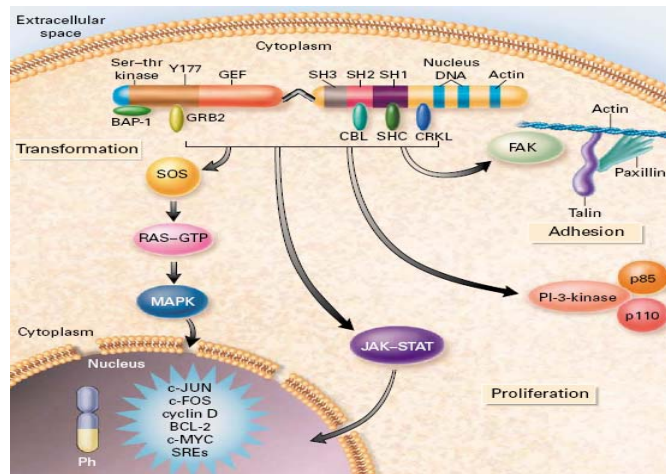


Figura 7

Los síntomas son inespecíficos y de inicio gradual, una exploración física puede detectar palidez y esplenomegalia como únicos signos. El 70% de los pacientes que están sintomáticos al diagnóstico, las quejas más frecuentes son fatiga excesiva, anorexia, molestias abdominales, pérdida de la sensación de bienestar, disminución de la tolerancia al ejercicio, pérdida de peso y diaforesis. La frecuencia de los signos y síntomas se muestran en las siguientes tablas.

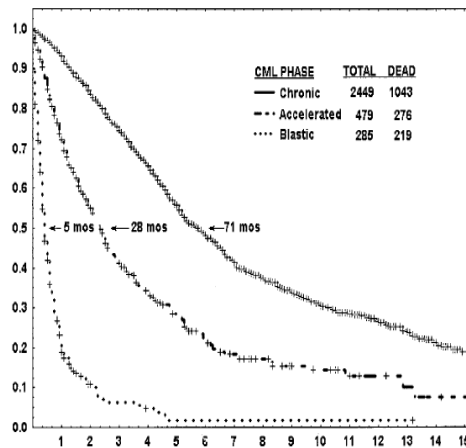
Síntomas	%	Signos	%
Fatiga	83	Esplenomegalia	95
Pérdida de peso	61	Dolor esternal	78
Plenitud temprana	38	Linfadenopatía	64
Hemorragia	35	Hepatomegalia	48
Dolor abdominal	33	Púrpura	27
Fiebre	11	Hemorragia retiniana	21

La enfermedad por lo tanto puede dividirse en 3 fases, fase crónica, fase acelerada y fase blástica y ésta división de acuerdo a la organización de la salud se puede clasificar así dependiendo del número de blastos en MO y/o sangre periférica, estratificando que en la fase crónica debe haber menos de 10% de blastos, en la fase acelerada de 10 a 19% y en que en la fase blástica más de 20%, mientras que en las clasificaciones realizadas por el comité internacional de trasplante de médula ósea se hacen algunas modificaciones para la fase acelerada en donde se agrega que >20% de basófilos o eosinófilos en sangre periférica además del porcentaje de <10 % de blastos más promielocitos, y que en la fase blástica tiene que haber más de 30% de blastos, el grupo alemán también tiene una clasificación muy similar a la de la organización de trasplante. Sin embargo esta clasificación tiene además implicaciones pronósticas dada por el número de blastos como se muestra en la figura 10.

U
P
E
R
V

I

E
N
C
I
A



AÑOS

Además la fase acelerada tiene una serie de características clínicas y de laboratorio que se deben de cumplir para definir esta entidad, misma que tiene a los tres grupos que son la organización mundial de la salud, la organización de trasplante de médula ósea y el grupo alemán que también tienen sus propias características, como se ejemplifica en la tabla siguiente

Características	MDAC C	IBMTR	WHO
Blastos %	≥ 15	≥10	10-19
Blast + prom	≥30	≥20	No Aplica (N/A)
Basófilos %	≥20	≥20* (b+e)	≥20
PLT x 10 ⁹ /L	<100	< o > no responde	<100 o >1000
Citogenética	EC	EC	EC
Leu x 10 ⁹ /L	NA	Dif control, doble <5d	NA
Anemia	NA	No responde	NA
Esplenom.	NA	Aumento	NA
Otros	NA	Cloromas/MF	Prol.

El diagnóstico es clínico y de laboratorio como ya se comentó previamente con los síntomas y signos, sin embargo se requiere de la presencia del cromosoma filadelfia el cual puede ser adquirido a través de médula ósea por técnicas de FISH (figura 8) y RT-PCR. Y durante la fase acelerada de la enfermedad se pueden encontrar otras alteraciones citogenéticas que condicionan un estado de evolución clonal en el paciente, indicando el porcentaje como lo muestra la gráfica 9.

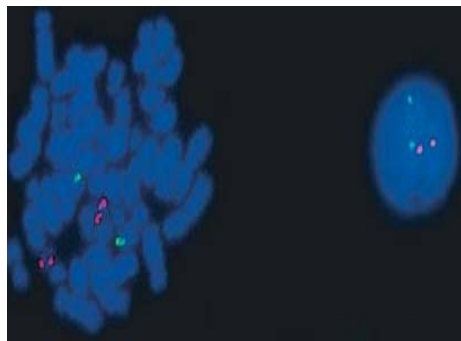


Figura 8

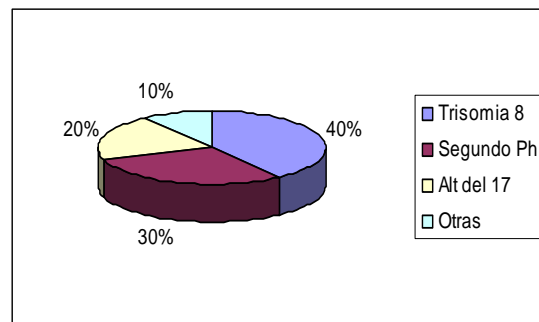


Figura 9

Para poder establecer un pronóstico se crearon fórmulas para establecer el riesgo acumulado de acuerdo a varios parámetros como edad, tamaño del bazo, número de eosinófilos y basófilos en sangre periférica así como el porcentaje de blastos, junto con el número de plaquetas y así de 1970 a 1980 a 800 pacientes se les calculó el riesgo y se determinó de acuerdo al grupo de SOCAL que había 3 grupos alto, intermedio y bajo, teniendo una supervivencia para el de alto de 3 años, intermedio 4 años y el bajo solo 5 años bajo tratamiento en ese momento con interferón alfa. Por su parte la clasificación europea de Hasford fue evaluada en pacientes tratados con interferón alfa y también se definieron tres grupos de riesgo de acuerdo a las variables ya comentadas en la otra clasificación, que predice también supervivencia de 5 años para los pacientes de bajo riesgo, 4 años para los de riesgo intermedio y 3 para los de alto riesgo. El riesgo de Sokal fue valorado en los pacientes tratados con imatinib y se validó que también podía ser usado en estos pacientes.

	SOKAL	EURO
Age, years	0.0116 (age - 43.4)	0.6666 when age \geq 50
Spleen ⁽¹⁾ , cm	0.0345 (spleen - 7.51)	0.042 x spleen
Platelet, x 10 ⁹ /L	0.188 $\frac{[(\text{Platelet})^2 - 0.563]}{700}$	1.0956 when \geq 1500
Myeloblasts ⁽²⁾ , %	0.0887 (myeloblasts - 2.10)	0.0584 x myeloblasts
Eosinophils ⁽²⁾ , %	—	0.0413 x eosinophils
Basophils ⁽²⁾ , %	—	0.2039 when basophils \geq 3%
Relative risk (RR)	Exponential of the total	Total x 1000

El tratamiento de trasplante

que el

citogenética completa, mejorando la supervivencia global que se tenía con la quimioterapia convencional. La curva de supervivencia en al que se compara quimioterapia convencional con interferon alfa que en 1983 se deja como primera línea de tratamiento y con el trasplante, sin embargo con inicio de la era del imatinib se inicia la comparación de los 2 primeros años de estudio como se muestra en la figura 11.

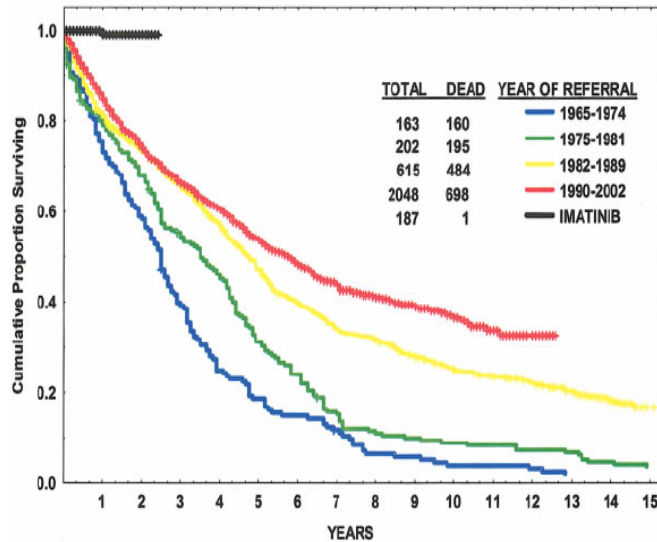


Figura 11

En 1992 Anafi y colegas reportaron un compuesto denominado tirfostin relacionado a erbastatin, que inhibía la actividad de una tirocin cinasa de BCR-ABL y sugería que esto podría emplearse en el tratamiento de padecimientos como las leucemias con alteraciones asociadas a ABL. Posteriormente el tirfostin AG568, AG957 y AG1112 fueron definidos como los compuestos más específicos (1) Por lo que se iniciaron los estudios de laboratorio sobre estos compuestos en donde inhibición en el crecimiento de las células mieloides en líneas celulares K562 ocurrió a concentraciones micromolares siendo éste resultado asociado con inhibición de la actividad de tirocin cinasa de BCR-ABL(2). Tirofostin es competitivo a través de adenosin trifosfato (ATP), de un sustrato o de ambos, sin embargo es importante comentar que su actividad clínica nunca ha sido desarrollada(2).

Otro de los compuestos desarrollados para inhibir la tirocin cinasa de BCR-ABL fue herbimicina A, un antibiótico derivado del *Streptomyces hygroscopicus*. Sin embargo a pesar de que in vitro demostró su actividad tirocin cinasa también se demostró que degradaba a la proteína de fusión BCR-ABL(3).

También aparecieron genistein un flavanoide que in vitro demostraba actividad tirocin cinasa de manera selectiva, sin embargo solo se quedaron en estudios in vitro y tampoco fue llevado a la práctica clínica (4).

A principios de 1980 científicos que trabajan en Ciga Geigy (ahora conocido como novartis) bajo la dirección de N. Lidon and A. Matter iniciaron proyectos para la identificación de compuestos con actividad inhibitoria en contra de proteínas cinasas.

El mesilato de imatinib es un miembro de la clase de compuestos de 2 fenilaminopiridina, que fueron desarrollados por Novartis, en los años 90, siendo un potente inhibidor de 4 proteínas de tirocin cinasa, ABL, KIT (el receptor de células madre), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDFGR-A y B), el gen Abelson y posiblemente otras cinasas no identificadas, sin embargo una de las características más específicas fue la selectividad del compuesto. El mecanismo preciso por el cual el imatinib bloquea la actividad de la cinasa no esta muy claro todavía, esto es explicado a través de una inhibición directa competitiva de ATP como se muestra en la figura 12. Mientras que en la figura 13 se demuestra la estructura molecular del imatinib, el cual tiene un peso molecular de 589.7Dlts

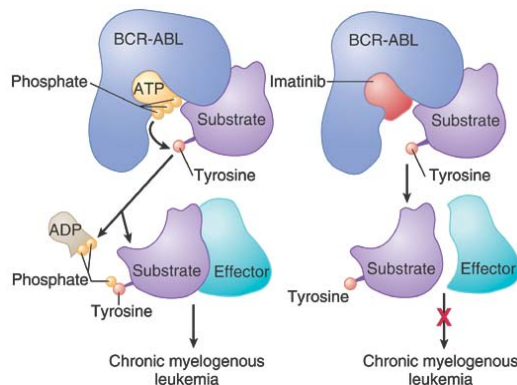


Figura 12

Los estudios fase 1 con imatinib iniciaron en 1998 y fueron designados para valorar tolerancia , efectos clínicos benéficos y efectos tóxicos. Los resultados fueron satisfactorios para el imatinib y para las respuestas. Los primeros resultados in vivo resultaron alentadores con la respuesta y baja toxicidad, dosis convencionales de imatinib de 400mgs a pacientes con LMC crónica quienes previamente han sido tratados con interferon alfa, la droga induce respuesta hematológica completa en 41% y respuesta citogenética mayor en 60% de los pacientes, una progresión libre de supervivencia fue mejor en pacientes en quienes adquirieron algunos niveles de cromosoma filadelfia negativo sin citopenias significativas , un análisis retrospectivo mostró que tales respuestas citogenéticas tenían una alta supervivencia que podría ser continuada mientras se continuara con el tratamiento con o sin interferon alfa.

Entonces se genera el estudio Iris en donde los pacientes son llevados al inicio a 30 meses de seguimiento que se inicio en el 2000 con 1106 pacientes, estudio que arrojó resultados donde se demuestra respuesta citogenética mayor del 90%, mientras que la respuesta citogenética completa del 82% y supervivencia del 95%, éstos datos llevaron a que la FDA en diciembre del 2002 aprobara el medicamento de primera línea. encontrando como efectos tóxicos principalmente edema de párpados y extremidades, así como mielotoxicidad con neutropenia en 60%, trombocitopenia en 56.6% y anemia en 44.6%.

Este estudio fue llevado hasta 5 años para valorar respuestas completas y saber el tiempo de recaída de los pacientes que habían recibido el tratamiento y así se obtuvieron los siguientes resultados en los pacientes con LMC en fase crónica . Y demuestra entonces que para la fase crónica hasta 13 % de los pacientes en 5 años no adquieren la respuesta citogenética.

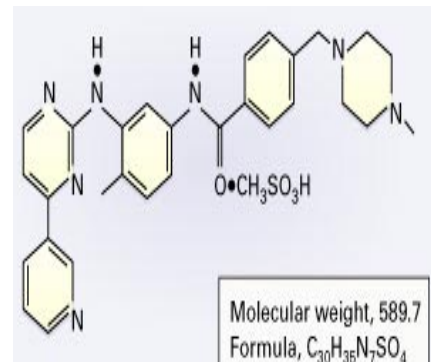
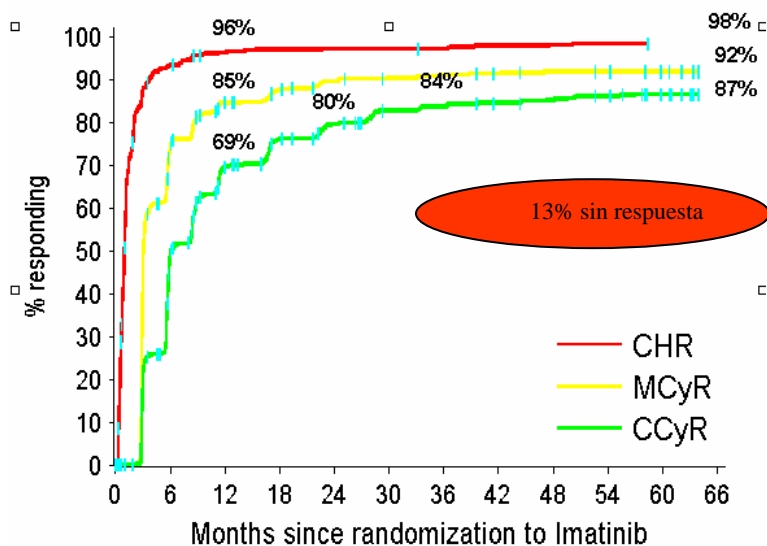


Figura 13



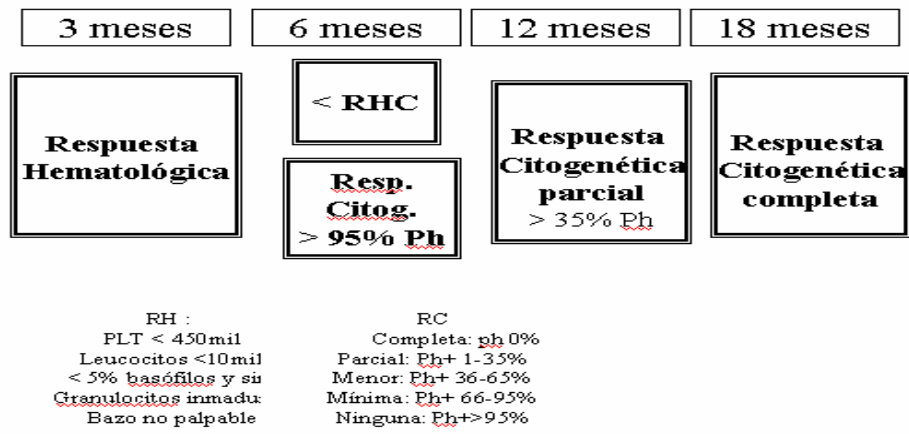
Mientras que la respuesta en los pacientes en fase acelerada y fase blástica(FA y FB) tratados con imatinib no se parecen a los de la fase crónica, la diferencia es significativa en relación con otros tratamientos sobre todo en la fase acelerada donde se decide aumentar las dosis del medicamento hasta 800mgs mientras la mielotoxicidad sea tolerada, y los resultados solo se pudieron obtener los siguientes resultados

	Fase acelerada		Crisis blástica	
	400 mg	600 mg	400 mg	600 mg
Respuesta hematológica, %	65	71	9	35
Respuesta hematológica completa, %	27	37	3	14
Respuesta citogenética mayor, %	16	28	6	18
Latencia para la progresión, mediana	8 meses	Aún no determinado (P = .002)		
Supervivencia a los 12 meses, %	65	78 (P = .014)		

También se pudieron arrojar resultados en donde se demuestra que en el primer año el porcentaje de progresión en el primer año es de 3.4 años y a fase acelerada o blástica es de 1.5 , mientras que en el segundo año la progresión fue del 7.5 % y a fase acelerada y blástica fue del 2.8, para el tercer año fue de 4.6 y para el cuarto del 2.3% , de la misma

manera la fase blástica y acelerada para el tercero y cuarto año fue de 1.6 y 2.2, lo que significa que la mayor incidencia de progresión de la enfermedad se da en el segundo año del tratamiento y que es el año de mayor riesgo para transformación a fase acelerada y fase blástica misma que se reduce en el tercer año y vuelve aumentar en el cuarto año.

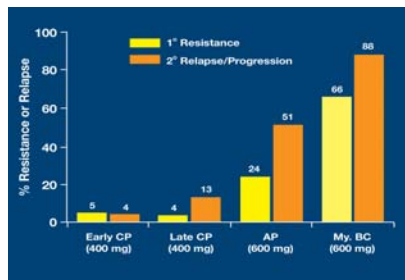
Y entonces se generaron una serie de recomendaciones con resultados de biometría hemática, citogenética y finalmente molecular en donde de acuerdo al tiempo se evaluó el grado de respuesta la cual se realiza de la siguiente manera:



Y entonces aparece el término de “Resistencia al Imatinib” cuando los criterios anteriores de acuerdo al tiempo no se cumplía o cuando si en algún momento progresaba la enfermedad o solamente se perdía las remisiones adquiridas previamente , y se definió como:

- 1.- Resistencia primaria: paciente que nunca adquirió respuesta hematológica completa en el 5% de los pacientes con LMC crónica.
- 2.- Resistencia secundaria: paciente que después de haber adquirido algún grado de respuesta hematológica la perdió. Se explicó además que las causas de resistencia eran biológicas y farmacológicas y hasta del 16% en los pacientes en fase acelerada y blástica.

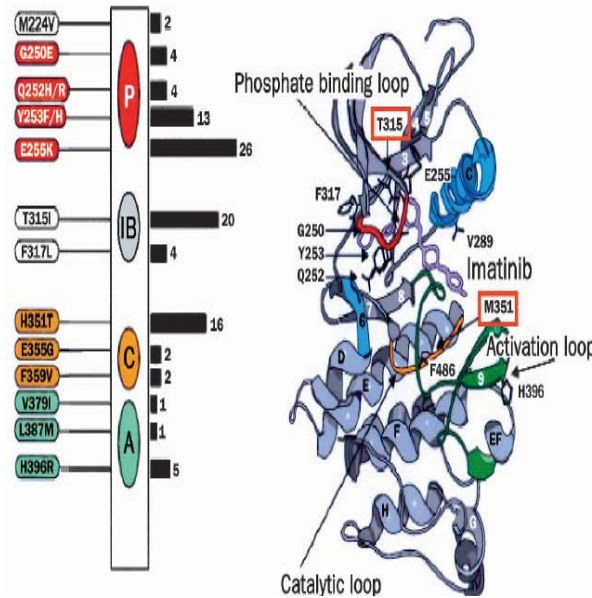
Sin embargo hasta 1/3 de los pacientes en fase acelerada blástica tiene mutaciones en el dominio BCR-ABL siendo un grupo muy importante de estudio. La resistencia al imatinib se puede dividir en dos grupos aquellos dependientes de BCR-ABL que pueden ser secundarias en 50 a 90% de mutaciones y 10% sobreproducción e inhibición



incompleta de BCR-ABL y los independientes como se muestra en la siguiente figura.

Figura 14

Las mutaciones son entonces la causa más común de resistencia que han sido identificadas en 20 posiciones del dominio cinasa ABL con resistencia bioquímica y celular diferente.



Algunas de las causas específicas son las llamadas clonas de baja abundancia en donde se pierde la expresión de BCR-ABL y se pierde la capacidad de autorrenovarse, mientras que otro grupo apoya teorías de que el doble filadelfia por si solo aumenta el riesgo de mutaciones puntuales, aumentando los niveles de oxígeno reactivo aumentando las mutaciones basales, además de que se ven alterados los mecanismos de reparación de DNA así como alteraciones en el ciclo celular que son dependientes de ABL, es decir hay alteraciones de inestabilidad genómica.

Es importante especificar que algunas de las mutaciones generadas desde el inicio del tratamiento son resistentes al imatinib, sin embargo también se ha reportado mutaciones posteriores al tratamiento. Dentro de éstas mutaciones hay algunas que tiene significado clínico como es la T315I la cual la resistencia de éstos pacientes genera nula respuesta con el tratamiento.

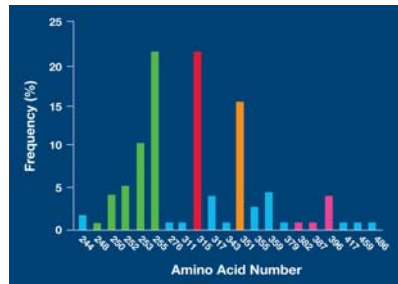


Figura 15

Se han generado fármacos inhibidores de tirosin cinasa de 2da generación con resultados como los del dasatinib quien es 300 veces mas potente con remisión hematológica

completa del 80% y remisión citogenética mayor del 35% en pacientes resistentes a imatinib, con baja toxicidad hematológica pero no actúa sobre T315I. Mientras que Busotinib otro inhibidor de segunda generación puede tener resultados como segunda línea de tratamiento posterior a haber recibido imatinib son remisiones completas de 80% en fase crónica, en fase acelerada 17% y blástica 51% con remisiones citogenéticas completas de hasta el 14% de los pacientes en fase blástica como se muestra en la siguiente tabla:

Uso de busotinib como 2da línea de tratamiento en pacientes con LMC

Fase	RHC	RCC
Crónica	80%	13%
Acelerad	17%	8%
Blástica	51%	14%

Por lo que por el momento es un reto saber que si alguno de los inhibidores de segunda generación puedan ser tratamiento de primera línea. Hay algunos pacientes que han sido estudiados para valorar factores de riesgo independientes para desarrollar resistencia a imatinib, y de éstos se han encontrado el uso previo de 6-mercaptopurina, doble filadelfia y plaquetas mayores de 450mil como factores de riesgo para la evolución clonal. Sin embargo no existe una escala predictiva o factores bien definidos para el riesgo de desarrollar resistencia.

JUSTIFICACIÓN:

El motivo de realización de éste estudio es que la prevención de la resistencia a imatinib como tratamiento de primera línea en los pacientes con LMC es mejor que el intento de superarla . Una de las estrategias que se pueden emplear en éstos pacientes sería la realización de estudios mutacionales en aquellos expuestos al imatinib conociendo que la principal causa de resistencia es secundaria y buscando de ésta manera los pacientes resistentes desde el inicio al medicamento , considerando que el estudio es caro y no sería útil por la cantidad de pacientes que si responden al tratamiento, además teniendo en cuenta que los pacientes resistentes van aumentando conforme lo hace el tiempo y esto es secundario a las clonas que proliferan posterior al tratamiento que ya estaban pre-existentes y que proliferan con la desaparición de las clonas sensibles. Con la generación de los nuevos inhibidores de tirosin cinasa (2da generación) han venido a mejorar las respuestas en pacientes en estas fases acelerada y blástica sin poder resolver la mutación T315I y otro número de mutaciones que generan la cantidad de pacientes con éste problema, sin embargo la evolución de los pacientes con ésta mutación sigue un curso completamente diferente al resto de las mutaciones estudiadas, por la alta mortalidad que implica.

Hay algunos pacientes que han sido estudiados para valorar factores de riesgo independientes para desarrollar resistencia a imatinib, y de éstos se han encontrado el uso previo de 6-mercaptopurina, doble filadelfia y plaquetas mayores de 450mil como factores de riesgo para la evolución clonal. Sin embargo no existe una escala predictiva o factores bien definidos para el riesgo de desarrollar resistencia.

Por lo que la inquietud de poder tener características epidemiológicas y detectar factores de riesgo en el paciente que desarrolla resistencia es el motivo principal del estudio, puesto que sería fácil y objetivo realizar la evaluación al ingreso del paciente y poder conocer variables independientes de riesgo.

OBJETIVO GENERAL:

- 1.- Conocer las características clínicas y epidemiológicas de pacientes con Leucemia Mieloide Crónica resistentes al tratamiento con Imatinib

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

•Conocer:

- 1- Edad
- 2- Sexo
- 3- Evolución de la enfermedad
- 4- Fase de la enfermedad
- 5- Duración de la enfermedad antes del inicio de imatinib
- 6- Tratamientos previos
- 7- Hasford y Sokal
- 8- Citogenética basal: % de ph basal, doble filadelfia y otras características

HIPÓTESIS:

Si los pacientes de mayor edad, con mas tiempo de la enfermedad, que hayan recibido tratamientos previos específicos ,que se encuentren en una fase mas avanzada de la enfermedad, y que la anemia, la leucocitosis o la trombocitosis asi como el porcentaje de cromosoma filadefia por FISH o la presencia de doble cromosoma filadelfia al inicio de la enfermedad entonces tendrán mayor riesgo de desarrollar resistencia a imatinib primaria o secundaria.

MATERIAL Y MÉTODOS:

- Estudio de casos y controles, retrolectivo, descriptivo y longitudinal

Los criterios de inclusión fueron:

- Caso: paciente de la clínica de LGC en tratamiento con imatinib que haya desarrollado resistencia primaria o secundaria

Definiéndose los pacientes con resistencia primaria o secundaria de la siguiente manera:

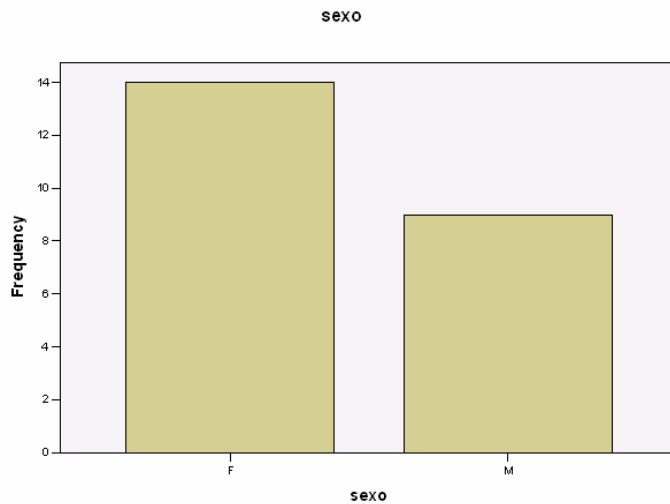
- Resistencia primaria: paciente que nunca adquirió respuesta hematológica completa

•Resistencia secundaria: paciente que después de haber adquirido algún grado de respuesta hematológica la perdió. Se realizó un análisis univariado y posteriormente se realizaron tablas de 2 x 2 de Chi², además de una tabla de supervivencia de Kaplan y Meyer.

RESULTADOS:

Se analizaron 26 expedientes de la clínica de LGC que cumplieran los criterios de inclusión desde 1999 al 2006 en donde se extrajeron la edad, sexo, duración de la enfermedad, tiempo de inicio de imatinib, fase de la enfermedad, citogenética de inicio, hemoglobina, leucocitos, plaquetas, se calculó Hasford y Sokal, además de tratamientos previos .

Cuando se analizó el sexo, las mujeres fueron en total 15 con 11 hombres, es decir 60% de mujeres y 30 % de hombres con una diferencia que no alcanza a ser significativa, sin embargo 1 de cada 3 pacientes que tienen resistencia son mujeres. En la figura siguiente se esquematiza la relación femenino :masculino.



Después se analizan cada una de las variables, y se valora se muestran la frecuencia, el rango, la cantidad máxima de las variables y el promedio.

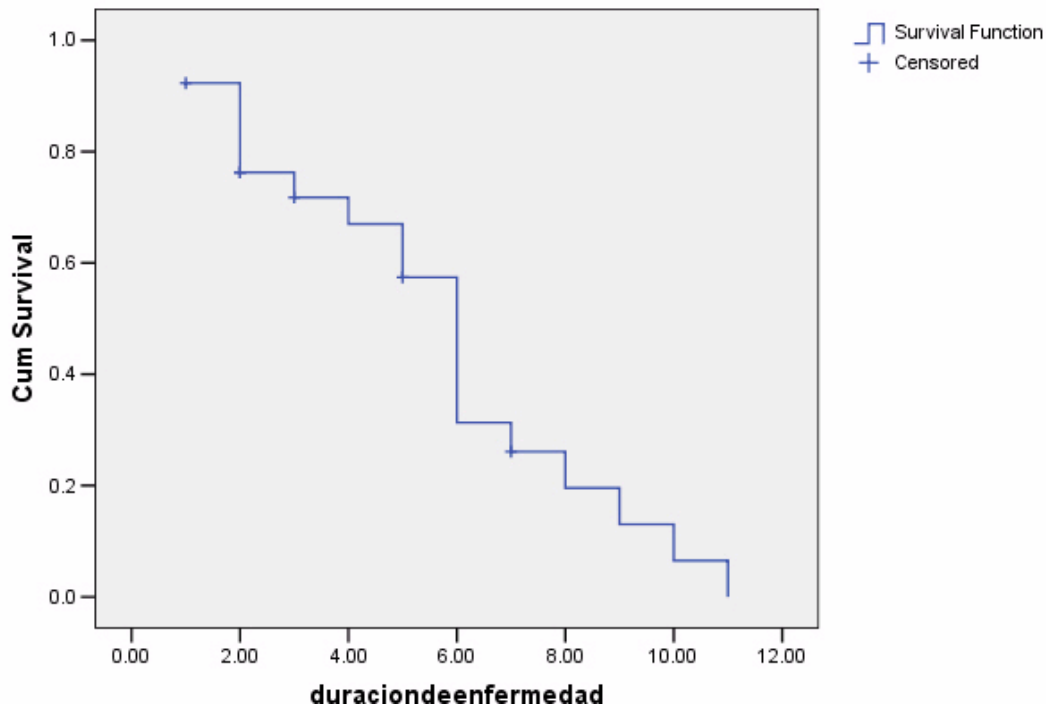
Características	Rango	Máximo	Promedio	P
Edad	39 años	57	39	0.29
Duración Enf.	10 años	11	4.8	0.30
Tto previos	4 dif.	5	2.4	0.39
Hepatomegalia	3 cms	3	0.6	0.49
Esplenomegalia	25cms	25	7.9	0.18
Tto Glivec	94 meses	96	28	0.92
Ph basal	73%	96	71	0.27
2do Ph	3 ptes	6	2.5	0.23
Hb	8.4	16	12	0.18
Leucocitos	608, 800	614,000	112,000	0.92
Plaquetas	1, 312, 000	1,422,000	363,000	0.020

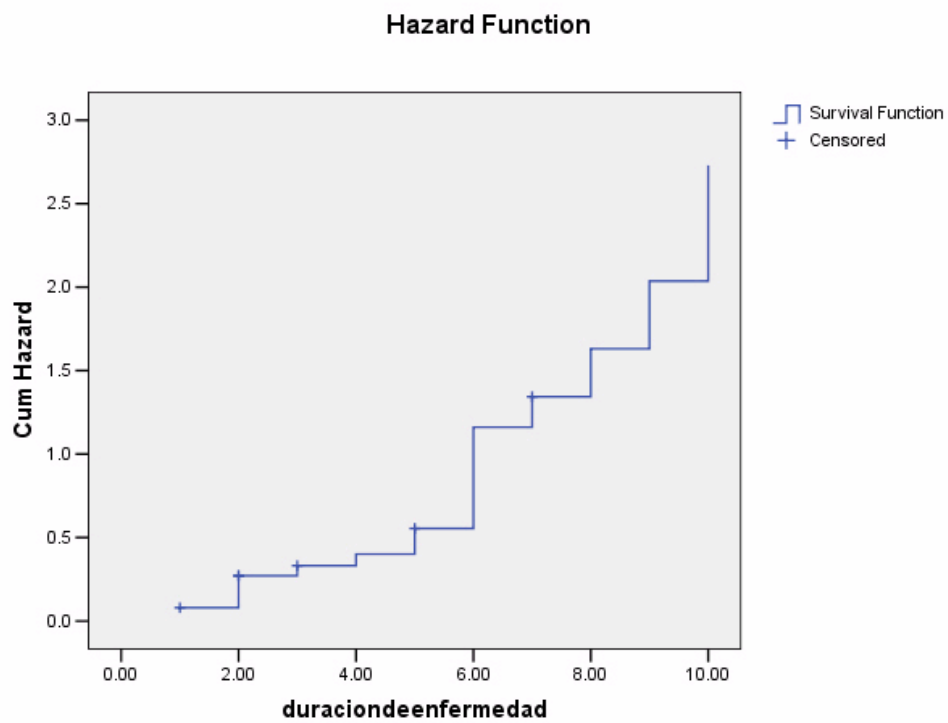
Además con las tablas de 2 x 2 se calculó si pacientes mayores de 50 años o menores tienen mayor diferencia significativa y no la hubo, cuando se analizó de la misma manera presencia de hepatomegalia, esplenomegalia entre la masiva mayor de 5 cms y la menor, anemia menor de 10gr/dl ,leucocitos mayores de 50,000 y menores, tratamientos previos (de los cuales fueron analizados , hidrea, busulfan , IFN con hidrea, trasplante con hidrea) en un grupo que no recibió tratamiento, tiempo de inicio de imatinib entre menor de 1 mes y mayor , duración de la enfermedad entre los mayores y menores de 2 años .

Los resultados no fueron estadísticamente significativos , a excepción de la cuenta de plaquetas mayores de 450 mil en los pacientes al adquirir respuesta citogenética y supervivencia .

Además se realiza una curva de supervivencia global en la enfermedad en donde se demuestra que a pesar de los múltiples tratamientos recibidos y que la la mitad de nuestras pacientes se encuentran en fase acelerada en éste momento después de haber recibido imatinib en promedio por 1 año la supervivencia en general es nula .

Las escalas de Hazford y Sokal no son predictivas de la resistencia al imatinib, solo 5 pacientes de los pacientes tuvieron un Sokal de riesgo intermedio pero en estos pacientes no describió una diferencia en al supervivencia.





Las escalas de Hazford y Sokal no son predictivas de la resistencia al imatinib, solo 5 pacientes de los pacientes tuvieron un Sokal de riesgo intermedio pero en estos pacientes no describió una diferencia en al supervivencia.

CONCLUSIONES:

- 1.-Lo primero que podemos concluir es que a pesar de que hasta el momento las clasificaciones de riesgo de Sokal y Hasford han sido útiles para valorar la respuesta a interferón alfa, respuesta al trasplante y al imatinib éstas escalas no son útiles para valorar resistencia en éstos pacientes .
- 2.- Dentro de los resultados lo único que fue realmente estadísticamente significativo como pronóstico fue el valor mayor de 450 mil plaquetas al inicio del tratamiento con imatinib, en cuanto a la respuesta citogenética y en la sobrevida, ya que el resto de los datos no fueron significativos.
- 3.- Es necesario contar con técnicas diagnósticas moleculares, debido a que en éste momento contamos con tratamientos moleculares, y tal vez una técnica predictora de respuesta al imatinib pueda ser la medición de apoptosis
- 4.- Por el momento seguimos sin contar con una escala clínica que nos pueda predecir pacientes con riesgo de recaída y se deberá continuar el estudio con la realización de las mutaciones específicas y corroborar con los datos clínicos ya comentados.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Lugo TG, Pendergast AM, Muller AJ, White ON. Tyrosine kinase activity and transformation potency of bcr-abl oncogene products. *Science* 1990; 247: 1079-1082
2. Kaur G, Gazit A, Zehavi A, Ben Neriah Y, Levitzki A. Tyrphostin-induced inhibition of p210bcr-abl tyrosine kinase activity induces k562 to differentiate. *Blood*, 1993; 82: 3524-3529.
3. Uehara Y, Murakami Y, Mizuno S, Kawai S: Inhibition of transforming activity of tyrosine kinase oncogenes by hermycin A. *Virology*, 1988; 164: 294-298
4. Carlo Stella C, Dotti G, Mangoni L, et al. Selection of myeloid progenitors lacking BCR/ABLm RNA in CML patients after in vitro treatment with the tyrosine kinase inhibitor genistein. *Blood*, 1996; 88: 3091-3100.
5. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, Kurzrock R, Kantarjian HM. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999; 341: 164-72
6. Groffen J, Stephenson JR, Heisterkamp N, de Klein A, Bartram CR, Grosveld G. Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22. *Cell*. 1984;36:93-99
7. Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med*. 1996;2:561-566
8. Deininger M, Goldman JM, Lydon NB, Melo JV. The tyrosine kinase inhibitor CGP57148B selectively inhibits the growth of BCR-ABL positive cells. *Blood*. 1997;90:3691-3698
9. Druker BJ, Talpaz M, Resta D, et al. Clinical efficacy and safety of an ABL-specific tyrosine kinase inhibitor as targeted therapy for chronic myeloid leukemia [abstract]. *Blood*. 1999;94:368
10. Abelson HT, Rabstein LS. Lymphosarcoma: virus-induced thymic-independent disease in mice. *Cancer Res*. 1970;30:2213-222
11. Laneuville P. Abl tyrosine protein kinase. *Semin Immunol*. 1995;7:255-26
12. Cohen GB, Ren R, Baltimore D. Modular binding domains in signal transduction proteins. *Cell*. 1995;80:237-248
13. Feller SM, Knudsen B, Hanafusa H. c-Abl kinase regulates the protein binding activity of c-Crk. *EMBO J*. 1994;13:2341-2351

14. Van Etten RA, Jackson P, Baltimore D. The mouse type IV c-abl gene product is a nuclear protein, and activation of transforming ability is associated with cytoplasmic localization. *Cell*. 1989;58:669-678
15. Kipreos ET, Wang JY. Cell cycle-regulated binding of c-Abl tyrosine kinase to DNA. *Science*. 1992;256:382-385
16. McWhirter JR, Wang JY. An actin-binding function contributes to transformation by the Bcr-Abl oncoprotein of Philadelphia chromosome-positive human leukemias. *EMBO J*. 1993;12:1533-1545
17. Kipreos ET, Wang JY. Differential phosphorylation of c-Abl in cell cycle determined by cdc2 kinase and phosphatase activity. *Science*. 1990;248:217-220
18. Sawyers CL, McLaughlin J, Goga A, Havlik M, Witte O. The nuclear tyrosine kinase c-Abl negatively regulates cell growth. *Cell*. 1994;77:121-131
19. Yuan ZM, Shioya H, Ishiko T, et al. p73 is regulated by tyrosine kinase c-Abl in the apoptotic response to DNA damage. *Nature*. 1999;399:814.
20. Lewis JM, Schwartz MA. Integrins regulate the association and phosphorylation of paxillin by c-Abl. *J Biol Chem*. 1998;273:14225-14230
21. Van Etten RA. Cycling, stressed-out and nervous: cellular functions of c-Abl. *Trends Cell Biol*. 1999;9:179-186
22. Tybulewicz VL, Crawford CE, Jackson PK, Bronson RT, Mulligan RC. Neonatal lethality and lymphopenia in mice with a homozygous disruption of the c-abl proto-oncogene. *Cell*. 1991;65:1153-1163
23. Schwartzberg PL, Stall AM, Hardin JD, et al. Mice homozygous for the ablm1 mutation show poor viability and depletion of selected B and T cell populations. *Cell*. 1991;65:1165-1175
24. Reuther GW, Fu H, Cripe LD, Collier RJ, Pendergast AM. Association of the protein kinases c-Bcr and Bcr-Abl with proteins of the 14-3-3 family. *Science*. 1994;266:129-133
25. McWhirter JR, Galasso DL, Wang JY. A coiled-coil oligomerization domain of Bcr is essential for the transforming function of Bcr-Abl oncoproteins. *Mol Cell Biol*. 1993;13:7587-7595
26. Denhardt DT. Signal-transducing protein phosphorylation cascades mediated by Ras/Rho proteins in the mammalian cell: the potential for multiplex signalling. *Biochem J*. 1996;318:729-747

27. Montaner S, Perona R, Saniger L, Lacal JC. Multiple signaling pathways lead to the activation of the nuclear factor κ B by the Rho family of GTPases. *J Biol Chem.* 1998;273:12779-12785
28. Diekmann D, Brill S, Garrett MD, et al. Bcr encodes a GTPase-activating protein for p21rac. *Nature.* 1991;351:400-402
29. Diekmann D, Nobes CD, Burbelo PD, Abo A, Hall A. Rac GTPase interacts with GAPs and target proteins through multiple effector sites. *EMBO J.* 1995;14:5297-5305
30. Wu Y, Liu J, Arlinghaus RB. Requirement of two specific tyrosine residues for the catalytic activity of Bcr serine/threonine kinase. *Oncogene.* 1998;16:141-146
31. Ma G, Lu D, Wu Y, Liu J, Arlinghaus RB. Bcr phosphorylated on tyrosine 177 binds Grb2. *Oncogene.* 1997;14:2367-2372
32. Liu J, Wu Y, Ma GZ, et al. Inhibition of Bcr serine kinase by tyrosine phosphorylation. *Mol Cell Biol.* 1996;16:998-1005
33. Voncken JW, van Schaick H, Kaartinen V, et al. Increased neutrophil respiratory burst in bcr-null mutants. *Cell.* 1995;80:719-728
34. Voncken JW, Kaartinen V, Groffen J, Heisterkamp N. Bcr/Abl associated leukemogenesis in bcr null mutant mice. *Oncogene.* 1998;16:2029-2032
35. Melo JV. The diversity of BCR-ABL fusion proteins and their relationship to leukemia phenotype. *Blood.* 1996;88:2375-2384
36. Melo JV, Myint H, Galton DA, Goldman JM. P190BCR-ABL chronic myeloid leukemia: the missing link with chronic myelomonocytic leukemia? *Leukemia.* 1994;8:208-211
37. Ravandi F, Cortes J, Albitar M, et al. Chronic myelogenous leukaemia with p185(BCR/ABL) expression: characteristics and clinical significance. *Br J Haematol.* 1999;107:581-586
38. Pane F, Frigeri F, Sindona M, et al. Neutrophilic-chronic myeloid leukemia: a distinct disease with a specific molecular marker (BCR/ABL with C3/A2 junction). *Blood.* 1996;88:2410-2419
39. Wilson G, Frost L, Goodeve A, Vandenberghe E, Peake I, Reilly J. BCR-ABL transcript with an e19a2 (c3a2) junction in classical chronic myeloid leukemia. *Blood.* 1997;89:3064

40. van Rhee F, Hochhaus A, Lin F, Melo JV, Goldman JM, Cross NC. p190 BCR-ABL mRNA is expressed at low levels in p210-positive chronic myeloid and acute lymphoblastic leukemias. *Blood*. 1996;87:5213-5217
41. Melo JV. BCR-ABL gene variants. *Baillieres.Clin.Haematol*. 1997;10:203-222
42. Leibundgut EO, Jotterand M, Rigamonti V, et al. A novel BCR-ABL transcript e2a2 in a chronic myelogenous leukaemia patient with a duplicated Ph-chromosome and monosomy 7. *Br J Haematol*. 1999;106:1041-1044
43. Golub TR, Goga A, Barker GF, et al. Oligomerization of the ABL tyrosine kinase by the Ets protein TEL in human leukemia.
44. Papadopoulos P, Ridge SA, Boucher CA, Stocking C, Wiedemann LM. The novel activation of ABL by fusion to an ets-related gene, 1995;55:34-38
45. Cazzaniga G, Tosi S, Aloisi A, et al. The tyrosine kinase abl-related gene ARG is fused to ETV6 in an AML-M4Eo patient with a t(1;12)(q25;p13): molecular cloning of both reciprocal transcripts. *Blood*. 2006;94:4370-4373
46. Li S, Ilaria RL Jr, Million RP, Daley GQ, Van Etten RA. The P190, P210, and P230 forms of the BCR/ABL oncogene induce a similar chronic myeloid leukemia-like syndrome in mice but have different lymphoid leukemogenic activity. *J Exp Med*. 2005;189:1399-1412
47. Quackenbush RC, Reuther GW, Miller JP, Courtney KD, Pear WS, Pendergast AM. Analysis of the biologic properties of p230 Bcr-Abl reveals unique and overlapping properties with the oncogenic p185 and p210 Bcr-Abl tyrosine kinases. *Blood*. 2007;95:2913-2928.
48. Tanaka K, Takechi M, Hong J, et al. 9;22 translocation and bcr rearrangements in chronic myelocytic leukemia patients among atomic bomb survivors. *J Radiat Res*. 2003;30:352-359
49. Corso A, Lazzarino M, Morra E, et al. Chronic myelogenous leukemia and exposure to ionizing radiation—a retrospective study of 443 patients. *Ann Hematol*. 2004;70:79-86
50. Deininger MW, Bose S, Gora-Tybor J, Yan XH, Goldman JM, Melo JV. Selective induction of leukemia-associated fusion genes by high-dose ionizing radiation. *Cancer Res*. 2005;58:421-425
51. Deininger, et al , blood 2005, Vol 105 , No 7 .