

República Dominicana  
Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Escuela de Medicina  
Hospital Salvador B. Gautier  
Residencia de Hematología

EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA HEMATOLÓGICA Y MOLECULAR EN LOS PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA- FASE CRÓNICA EN TRATAMIENTO CON INHIBIDORES DE TIROSINA QUINASA CORRESPONDIENTE AL DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGÍA DEL HOSPITAL SALVADOR B. GAUTIER DURANTE PERIODO JUNIO 2014- JULIO 2016.



Tesis de pos grado para optar por el título de especialista en:

**HEMATOLOGÍA**

Sustentante:

Dra. Ada Marlena Guzmán Morales

Asesores:

Dr. Cesar A. Matos Moronta (Clínico)

Los conceptos emitidos en la presente tesis de pos grado son de la exclusiva responsabilidad de la sustentante de la misma.

Distrito Nacional: 2017

## **CONTENIDO**

Agradecimientos	
Dedicatorias	
Resumen	
Abstract	
I. Introducción	1
I.1. Antecedentes	2
I.2. Justificación	3
II. Planteamiento del problema	4
III. Objetivos	5
III.1. General	5
III.2. Específicos	5
IV. Marco teórico	6
IV.1. Leucemia	6
IV.1.1. Definición y clasificación	7
IV.1.2. Clasificación de las leucemias agudas propuesta por la OMS	7
IV.1.3. Leucemia mieloide crónica	8
IV.1.4. Historia	9
IV.1.5. Etiología	10
IV.1.6. Fisiopatología	10
IV.1.7. Epidemiología	16
IV.1.8. Diagnóstico	17
IV.1.8.1. Manifestaciones clínica	17
IV.1.9. Diagnóstico diferencial	29
IV.1.10. Tratamiento	38
V. Hipótesis	48
VI. Operacionalización de las variables	49
VII. Material y métodos	52
VII.1. Tipo de estudio	52
VII.2. Área de estudio	52
VII.3. universo	52

VII.4. Muestra	53
VII.5. Criterios	53
VII.5.1. De inclusión	53
VII.5.2. De exclusión	53
VII. 6. Instrumento de recolección de los datos	53
VII. 7. Procedimiento	53
VII.8. Tabulación	54
VII.9. Análisis	54
VII.10. Consideraciones éticas	54
VIII. Resultados	55
IX. Discusión	68
X. Conclusiones	70
XI. Recomendaciones	72
XII. Referencias	73
XIII. Anexos	76
XIII.1. Cronograma	76
XIII.2. Instrumento de recolección de los datos	77
XIII.3. Costos y recursos	80
XIII.4. Evaluación	81

## **AGRADECIMIENTOS.**

A Dios.

Por sobre todas las cosas quiero agradecer a Dios nuestro señor quien ha sido y será siempre mi guía y orientador. Gracias señor por darme las fuerzas para seguir cuando creía que todo estaba perdido, haciéndome entender que todo en la vida toma su tiempo y que no hay motivo para la desesperación.

Hospital Salvador B. Gautier.

Lugar donde recibí mi formación profesional y donde se me abrieron las puertas para prepararme no solo como hematóloga, sino, también para enfrentarme a la vida.

A los profesores.

Dr. Pedro Sing Ureña, Dr. Cesar A. Matos Moronta, Dra Mireya Cornelio, Dra. Esmedaly Romero, quienes fueron en gran parte los responsables de haberme formado como hematóloga. Gracias por la valiosa enseñanza que me dieron y por compartir conmigo su tiempo. En especial al Dr. Cesar A. Matos Moronta, gracias maestro por su dedicación hacia nosotros, por sus enseñanzas no solo en ámbito profesional sino también en nuestro crecimiento personal.

A mi asesor de tesis.

Dr. Cesar A. Matos Moronta, quien estuvo a mi lado cuando necesitaba de su orientación.

La sustentante.

## **DEDICATORIAS.**

A Dios.

Gracias señor por haberme dado las fuerzas para poder lograr este triunfo tan maravilloso y por haberme guiado por los buenos caminos, tú que estuviste en los momentos más difíciles dándome fortaleza cuando me sentía derrotada y que pensaba ya rendirme.

A mi madre.

Elena Morales quien ha sido mi mayor inspiración, a ti más que a nadie te dedico esta tesis, tu mami que me enseñaste la diferencia entre las cosas buenas y malas, gracias por aquellos consejos que siempre estaba dispuesta a brindarme, por tu amor incomparable, por tu apoyo y que con tu cariño de madre supiste lograr en mi lo que tu quisiste que fuera, que el señor te colme de bendiciones frente a todos tus hijos por ser una madre como eres; no te defraudaré.

A mi padre.

Mario Guzmán, gracias papi por ser un hombre tan valioso, dedicado a cada uno de tus hijos, por ser un padre responsable y por enseñarme el buen camino.

A mis hermanos.

Rabel Torres y Escarlin Torres, gracias por su apoyo incondicional y su cariño de hermanos, gracias por que muchas veces tuvieron que sacrificar sus intereses para yo poder lograr esta meta, que el señor nos mantenga unidos con amor para siempre.

A mis compañeros de residencia.

Rosanny Yadira Mateo, Dennis Díaz, Evelin Mena, George Martínez, Chicos le doy gracias a Dios por habérmelo puesto en mi camino, juntos disfrutamos buenos momentos y nos apoyamos en aquello que no fueron tan buenos. Gracias por su amistad.

## **RESUMEN**

Con el objetivo de evaluar la respuesta hematológica y molecular en los pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016, se realizó un estudio descriptivo de corte transversal con una población de 33 pacientes. Se utilizó un instrumento de recolección de datos basado en un formulario compuesto de preguntas que contenían datos sociodemográficos, datos del historial clínico y datos de laboratorio. La respuesta molecular menor fue la más frecuente en la evaluación realizada a los tres meses con un total de 43.3% de los pacientes, seguida de la respuesta molecular mayor con 16.6%, en la evaluación realizada a los seis meses, se observa un aumento del porcentaje de los paciente con respuesta molecular mayor con un 60% de los casos aumentando dicha respuesta en la evaluación del año de tratamiento con un 66.6%, solo un paciente presento respuesta molecular nula. La respuesta hematológica completa fue la más frecuente en la evaluación realizada a los tres meses con un total de 60% de los casos, duplicándose a un 83.3% en la evaluación realizada al año de tratamiento. Se determinó que la evolución clínica y la respuesta molecular eran directamente proporcional con el apego al tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, observándose mayor respuesta en las evaluaciones realizada a los seis meses y al año, a la vez se observa que el único paciente que suspendió el tratamiento presenta un retroceso en la respuesta molecular. La mayoría de nuestro pacientes sometido al estudio obtuvieron una respuesta hematológica completa luego de los seis meses de tratamiento y al año, conjuntamente se observó que en esas evaluaciones a los seis meses y al año, los pacientes presentaron mejores valores de plaquetas, leucocitos, ausencia de células inmadura o disminución importante de la misma en le extendido, e incluso normalización de la hemoglobina.

**Palabras claves:** Leucemia, respuesta molecular, respuesta hematológica, plaquetas, glóbulos blancos, esplenomegalia, signos y síntomas.

## **ABSTRACT**

In order to evaluate the hematological and molecular response in patients diagnosed with chronic myeloid leukemia phase chronically treated with tyrosine kinase inhibitors , for the department of hematology hospital B. Salvador Gautier during period June 2014 - July 2016, is He conducted a descriptive cross-sectional study with a population of 33 patients. An instrument of data collection based on a form consisting of questions containing socio-demographic data, data from the clinical history and laboratory data was used. The lower molecular response was more frequent in the assessment three months with a total of 43.3 % of patients, followed by the major molecular response with 16.6 % in the assessment at six months, an increase is observed percentage of patients with major molecular response with 60 % of cases increasing this response assessment year of treatment with 66.6 % , only one patient had no molecular response. Complete hematologic response was the most frequent in the assessment three months with a total of 60 % of cases, doubling to 83.3 % in the assessment year of treatment. It was determined that the clinical evolution and molecular response were directly proportional to the adherence to treatment with tyrosine kinase inhibitors , showing greater response in the evaluations conducted at six months and one year , while it appears that the only patient suspended treatment presents a setback in the molecular response. Most of our patients underwent the study had a complete hematologic response after six months of treatment and a year together was noted that these evaluations at six months and one year , patients showed better values platelets , leukocytes, absence immature cells or significant reduction of it in her extended , and even normalization of hemoglobin.

**Keywords:** leukemia, molecular response, hematologic response, platelets, white blood cells, splenomegaly , signs and symptoms.

## I. INTRODUCCIÓN

La Leucemia Mieloide Crónica (LMC) es una enfermedad mieloproliferativa crónica que surge de la translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22 (cromosoma Philadelphia- Ph), el gen de fusión resultante Bcr/Abl desregula la actividad kinasa intracelular y permite el desarrollo de la enfermedad en 3 fases conocidas como fase crónica, acelerada o crisis blástica; cada una de ellas con características clínicas, patológicas y pronósticas bien definidas. Esta enfermedad mieloproliferativa, sin un adecuado manejo terapéutico tiene una sobrevida media de 4 años. Afortunadamente en las últimas décadas, con el advenimiento de tratamientos blanco-moleculares como inhibidores de tirosina Kinasa (ITK), el mejor conocimiento de la biología de la enfermedad y la descripción de los mecanismos de resistencia, se ha logrado una ventaja significativa en la sobrevida de estos pacientes. De esta manera la introducción del Imatinib, como 1er inhibidor de TK a partir del año 2000, generó un cambio en el seguimiento de la LMC. Consecuentemente a su desarrollo, las necesidades de mejorar su eficacia y optimizar el manejo de los pacientes se han desarrollado nuevas formulaciones dentro de los ITK Dasatinib, Nilotinib, Bosutinib y Ponatinib que han llevado a buscar un objetivo más ambicioso.

La evolución de las técnicas genéticas y moleculares también permitió avances en el monitoreo de esta enfermedad, así, la evaluación de la carga tumoral a través de la cuantificación de Bcr/Abl y su actual posibilidad de detectar hasta 4.5 log de reducción de transcritos. Otro avance es la posibilidad de evaluar mecanismos de resistencia con la detección de mutaciones en el gen translocado y la descripción de nuevos potenciales sitios de acción, que nos demuestran que estamos una vez más en un proceso de constante progreso en el manejo de estos pacientes. Diversas instituciones y grupos de trabajo en el mundo, como National Cancer Institute (ELN), National Comprehensive Cancer Network (NCCN), the National institute for Health and care excellence (NICE) y otras, han desarrollado Recomendaciones para el manejo de la LMC, logrando generar pautas homogéneas en la utilización y seguimiento de estos nuevos recursos de alto costo, tanto terapéuticos como diagnósticos y de monitoreo.



## I.1. Antecedentes

En los últimos años, luego del descubrimiento del descubrimiento de los inhibidores de tirosina quinasa (TK) de manera especial la introducción del Imatinib, como 1er inhibidor de TK a partir del año 2000, generó un cambio en el seguimiento de la Leucemia Mieloide Crónica (LMC), al igual que se ha generado toda una décadas de investigaciones sobre la evolución de los paciente con LMC bajo tratamiento con IK.

En los estudios experimentales realizados in vivo se comprobó que el STI 571 disminuyó la masa tumoral y prolongó la supervivencia de ratones a los que previamente se les habían inyectado células leucémicas Bcr-Abl positivas.<sup>12,13</sup>

En Estados Unidos, en los últimos años se han realizado rápidamente varios ensayos clínicos, en los que se han incluido las 3 fases habituales de la LMC, aunque el mayor número de casos ha sido de enfermos en la fase crónica. En un grupo de casos en fase crónica que no habían respondido al interferón-a (IFN-a) se observó que con una dosis oral diaria de 300 mg o más de inhibidores de la transducción de señales (STIs, del inglés signal transduction inhibitors STI 571), la respuesta hematológica completa fue del 100 %, con el 53 % de respuestas moleculares mayores que incluían el 13 % de remisiones molecular completas. La mayoría de estas respuestas continuaban con tratamiento de mantenimiento.

En 388 enfermos que tampoco habían respondido al IFN-a y que recibieron 400 mg diario de STI 571, se evaluó la respuesta molecular en los pacientes a los 3 meses de tratamiento y se apreció que el 13 % logró respuesta molecular completa, el 23 % una respuesta molecular menor y el 37 % una respuesta molecular mayor. Con posterioridad se analizaron 290 casos a los 6 meses y se encontró que el 56 % había conseguido una respuesta molecular mayor (suma de respuestas parciales y completas). Un estudio evolutivo efectuado en pequeños grupos de pacientes tratados con diferentes dosis de STI 571 permitió conocer el tiempo que demoraron las células en sangre periférica para alcanzar valores normales.

En república dominicana hasta la fecha, no se ha realizado estudios de investigación sobre el impacto del tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa en la evolución clínica en los pacientes con Leucemia Mieloide Crónica.

## I.2. Justificación

Justificamos la realización de esta investigación con el propósito de conocer y evaluar la respuesta tanto hematológica como molecular de los paciente con diagnóstico de Leucemia Mieloide Crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa y conocer si existe o no una relación directa entre el uso temprano con este grupo de medicamento y la evolución clínica de los pacientes con LMC.

Debido a la inexistencia de estudios de este tipo en nuestro país, consideramos que será un aporte a la ciencia el hecho de conocer como influyen el tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa en la repuesta hematológica y molecular de los pacientes con LMC y por ende con repercute en el pronóstico y calidad de vida de estos pacientes.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La leucemia mieloide crónica (LMC) es un síndrome mieloproliferativo crónico de naturaleza clonal, originada en la célula madre, que resulta en un excesivo número de células mieloides en todos los estadios de maduración. Fue la primera enfermedad maligna en que se demostró una anomalía genética adquirida y es en la actualidad el modelo molecular de leucemia mejor estudiado. En la LMC se expresa la translocación cromosómica t (9; 22) (q34; q11) que da lugar a la formación del cromosoma Filadelfia (Ph). A causa de esta translocación se producen 2 nuevos genes híbridos: el BCR-ABL en el cromosoma 22q- o cromosoma Ph y el gen recíproco ABL-BCR en el cromosoma derivado 9q+, el cual, aunque transcripcionalmente activo, no parece desempeñar ninguna actividad funcional en la enfermedad. En la actualidad, la identificación de enfermedad mínima residual mediante métodos moleculares es de vital importancia para la evaluación precisa del estado evolutivo de la enfermedad.

A pesar de los conocimientos adquiridos sobre el uso de inhibidores de tirosina quinasa en la LMC, en un tiempo relativamente corto, es necesario incrementar las investigaciones para poder llegar a conclusiones sobre su impacto real sobre la supervivencia de los pacientes con LMC y el control de la enfermedad.

Las respuestas a las interrogantes de cuál será el verdadero impacto de los inhibidores de tirosina quinasa sobre el pronóstico y evolución de la LMC y sobre los beneficios que podrían aportar su asociación con otros métodos terapéuticos, seguramente ampliarán las perspectivas que se han abierto en el tratamiento de esta enfermedad y posiblemente también para el de otras hemopatías y procesos neoplásicos. Sobre estos aspectos, los ensayos clínicos y el tiempo tienen la palabra.

Basándonos ante este planteamiento nos surge la siguiente interrogante.

¿Cuáles han sido las respuestas hematológicas y moleculares de los pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016?

### **III. OBJETIVOS**

#### III.1. General

Evaluación de la respuesta hematológica y molecular en los pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016 .

#### III.2. Específicos

Evaluación de la respuesta hematológica y molecular en los pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016, según:

1. Edad
2. Sexo
3. Presencia de signos y síntomas de leucemia mieloide crónica, al del inicio de tratamiento, a los 3 meses, a los 6 meses y al año.
4. Recuento de glóbulos blanco al del inicio de tratamiento, a los 3 meses, a los 6 meses y al año.
5. Recuento de plaquetas al del inicio de tratamiento, a los 3 meses, a los 6 meses y al año.
6. Ausencia o presencia de células inmaduras (Blastos, Promielocitos, Metamielocitos) en sangre periférica al inicio de tratamiento, a los 3 meses, a los 6 meses y al año.
7. Persistencia de esplenomegalia y/o hepatomegalia al examen físico o por sonografía al inicio de tratamiento, a los 3 meses, a los 6 meses y al año.
8. Cuantificación de los transcritos de fusión del gen BCR-ABL y el reordenamiento de los puntos de ruptura del gen BCR al inicio de tratamiento, a los 3 meses, a los 6 meses y al año.

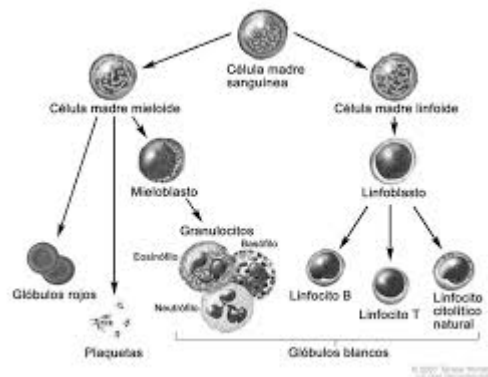
## IV. MARCO TEÓRICO

### IV.1. Leucemia.

#### IV.1.1 Definiciones y clasificación.

Trastorno hematológico maligno caracterizado por la proliferación de leucocitos anómalos que infiltran la médula ósea, la sangre periférica y otros órganos. Puede presentarse como un proceso agudo o crónico. Las leucemias se definen como la proliferación neoplásica de células hematopoyéticas en una estirpe celular con posterior proliferación y expansión, cuya acumulación se acompaña de una disminución del tejido hematopoyético normal en médula ósea y posterior invasión de sangre periférica y otros tejidos.

Los elementos de la sangre se forman en la médula ósea, la cual conforma el primer depósito donde se hallan las células germinales pluripotenciales. El segundo depósito de células está formado por los precursores de los eritrocitos, plaquetas, granulocitos y los linfocitos. El tercer depósito, es la sangre. A donde se liberan los precursores maduros. En las leucemias estos mecanismos controladores están ausentes.



Como en la mayoría de tumores, su causa se desconoce, si bien hay factores de riesgo que pueden favorecer su desarrollo: larga exposición a agentes tóxicos (productos químicos, insecticidas); radiaciones de gran intensidad; tratamientos previos con quimioterapia y/o radioterapia por otros cánceres; enfermedades previas de la médula ósea (síndromes mielodisplásicos, aplasia).

Distinguimos dos tipos de leucemia:

Leucemias agudas. De instauración rápida, suelen dar síntomas de forma precoz y exigen tratamiento urgente. Leucemias crónicas. De instauración gradual, dan pocos o ningún síntoma al inicio, y a menudo se diagnostican de modo casual durante algún control analítico. En ocasiones se tardan en tratar, lo que puede agudizar la enfermedad. En las leucemias agudas la población celular predominante está formada por células inmaduras (blastos), y en las crónicas la celularidad presenta un mayor estadio madurativo.

#### IV.1.2. Clasificación de las leucemias agudas propuestas por la OMS.

Leucemias mieloides agudas.

1. Leucemias mieloides agudas con anomalías citogénéticas recurrentes.
2. Leucemias mieloides agudas con rasgos mielodisplásicos severos multilínea previos a toda terapéutica.
3. Leucemias mieloides agudas relacionadas con la terapéutica.
4. Leucemias mieloides agudas referidas en la clasificación FAB (M0 a M7) incluyendo la leucemia aguda a basófilos, la panmielosis con mielofibrosis y las leucemias agudas bifenotípicas.

Leucemias linfoides agudas.

1. Leucemia linfoblástica aguda de precursores de célula B.
2. Leucemia linfoblástica aguda de precursores de célula T.
3. Leucemia de Burkitt.

Leucemias crónicas se clasifican en:

1. Leucemia mieloide crónica.
2. -Leucemia linfática crónica.

TABLA I			
CLASIFICACIÓN FAB DE LAS LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS			
Morfología	Histoquímica (1)	Inmunofenotipo (2)	Citogenética
M0 Indiferenciada	MPO + <3%; PAS y esterasa -	HLA-DR, CD13 CD33, CD34 +; CD7 Y TdT +/-	11q13; cambios complejos en 5 o 7; t(9,22) ocasionalmente
M1 Mieloide	MPO + <3%; PAS y esterasa -	Similar a M0 excepto CD15 +/-	-5, -7, -17, del 3 p, +21, +8
M2 Mieloide con diferenciación	MPO >10%; PAS y esterasa -	HLA-DR +; CD13, CD33 +; (8; 21); del 3p o inv(3); CD34 +/-; CD15 +	-5, -7, t(6,9), +8
M3 Promielocítica	MPO ++; PAS y esterasa -	HLA-DR -; CD13, CD15, CD33, (15;17) CD34 +/-	
M4 Mielomonocítica	MPO y esterasa +; PAS -	HLA-DR, CD14, CD15 +/-; CD4 débil +; CD34 +/-; CD33 > CD13; CD11b + (9;11) (p21;p23), +8	Inv(16) o -16q; t(8,21) a veces, -5, -7, +8
M5 Monocítica	MPO -; PAS y esterasa +		
M6 Eritroleucemia	PAS ++; MPO y esterasa -	HLA-DR, CD13, CD33 +/-; glicoforina A ++	-7 o del (7q) y/o -5 o del -3, +8
M7 Megacarioblástica	PAS +/-; MPO y esterasa -	HLA-DR, CD34 +; CD33 +/-; (12;21) en 20-25%; CD41, CD61 + glicoproteína plaquetaria +	hiperploidia; +8, +21

(1) MPO: mieloperoxidasa; PAS: ácido periódico de Schiff.  
(2) TdT, HLA-DR, CD34: anticuerpos monoclonales frente a células precursoras; CD13, CD33, CD15: anticuerpos monoclonales frente a células mieloides; CD11 y CD14: anticuerpos monoclonales frente a células monocitarias.

#### IV.1.3. Leucemia mieloide crónica.

La leucemia mieloide crónica (LMC), el síndrome mieloproliferativo crónico (SMPC) de mayor importancia clínica por su frecuencia y pronóstico. Es una proliferación de carácter clonal que tiene su origen en una célula madre (stem cell) pluripotencial común a las tres series hematopoyéticas.

El cuadro clínico, biológico e histológico de la enfermedad viene determinado por una intensa proliferación de la serie granulocítica en la médula ósea, la sangre periférica y otros órganos hematopoyéticos, fundamentalmente el bazo. LMC se caracteriza por una leucocitosis intensa, en la que están representados todos los elementos madurativos de la granulopoyesis, acompañada a menudo de esplenomegalia y de una disminución de la fosfatasa alcalina granulocitaria (FAG). Desde el punto de vista biológico, el hecho que confiere a la LMC una mayor personalidad es la presencia, en la mayoría de los pacientes, de una anomalía cromosómica en la médula ósea (el denominado cromosoma Filadelfia o Ph), cuya contrapartida molecular es el oncogén BCR/ABL, reflejo del intercambio de material genético entre los cromosomas 9 y 22 en las células hematopoyéticas.

La enfermedad presenta, típicamente, un curso evolutivo bifásico en el que, a la fase inicial o crónica, sigue un período agudo final o crisis blástica, similar a una leucemia aguda, pero de pronóstico mucho más desfavorable por su resistencia al tratamiento. En muchos pacientes se intercala entre ambas fases un tercer período, la llamada fase de aceleración.

#### IV.1.4. Historia.

En el 1845, John Bennett en Escocia y Rudolf Virchow en Alemania publicaron descripciones de un paciente con aumento de tamaño del bazo, anemia intensa y concentraciones enormes de granulocitos en la sangre en la autopsia. Bennett inicialmente refirió que se trataba de una piema extrema, pero Virchow argumentó en contra de la supuración como causa, posteriormente Craige y otros autores comunicaron más casos y en el 1847 Virchow introdujo los términos *weisses Blut* o *leukämie*. En el 1878 Neumann propuso que la médula no solo era el lugar de la producción de las células sanguíneas normales sino también el lugar en el que se originaba la leucemia y usó el término *myelogene* (mielógena). Demostró que la hematopoyesis se llevaba a cabo en la médula ósea. Fue quien postuló que las células de la sangre se originaban de una precursora común a la que denominó célula madre (Stammzelle).

Observaciones posteriores amplificaron rasgos clínicos y de laboratorio de la enfermedad, pero se hicieron pocos descubrimientos fundamentales hasta el descubrimiento de Nowell y Hungerford, comunicado en 1960, de que dos pacientes con la enfermedad tenían una pérdida aparente del brazo largo del cromosoma número 21 o 22, una anomalía que se confirmó rápidamente y lo designó cromosoma filadelfia. La disponibilidad de técnicas de bandedo para definir la estructura de los cromosomas condujo al descubrimiento, por Janet Rowley, de que el material cromosómico perdido aparente del cromosoma 22 era parte de una translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22. Encontró que una parte del brazo largo del cromosoma 22 se cambiaba (translocaba) a la parte distal del cromosoma 9 [t(9:22)]. La Dra. Rowley también describió la translocación t(15; 17) de la leucemia promielocítica aguda.



#### IV.1.5. Etiología.

La exposición de dosis muy alta de ionizante puede aumentar la aparición de LMC por encima de la frecuencia esperada en poblaciones comparables. Esta hipótesis fue confirmada luego de estudio realizado a tres poblaciones importantes: los japoneses expuesto a la radiación liberada por las detonaciones de las bombas atómicas en Nagasaki e Hiroshima, los pacientes británicos con espondilitis anquilosantes tratados con irradiación espinal y las mujeres con carcinoma cervical uterino que precisaron radioterapia, tuvieron una frecuencia de LMC así como de leucemias agudas, significativamente por encima de la esperada en grupo comparable no expuesto.

La mediana de periodo de latencia fue 4 años en los espondilíticos irradiados. Entre los cuales aproximadamente el 20% de los casos de leucemia eran LMC. 9 años en los pacientes con cáncer cervical uterino, de los cuales aproximadamente el 30% tuvo LMC. 11 años en los sobrevivientes japoneses de la bomba atómica, de los cuales aproximadamente el 30% de los pacientes con leucemia tuvieron LMC.

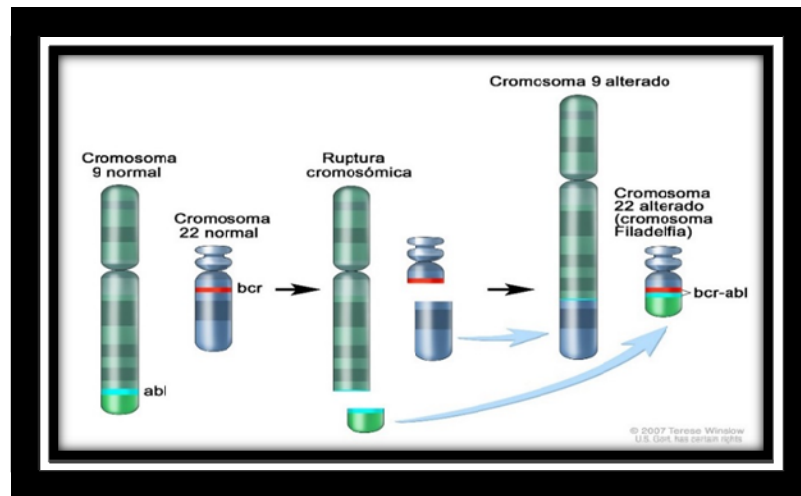
Los leucemógenos químicos como el benceno y los agentes aquirantes no se han identificados como agentes causantes de LMC, aunque está bien establecido que producen un aumento dependiente de la dosis en la leucemia mielogéna aguda. Los inhibidores de la topoisomerasa II del ADN pueden ser una excepción, porque se ha observado que tienen propensión a inducir leucemia positiva para t (9;22).

Los pacientes con LMC tienen una frecuencia elevada de antígenos HLA CW3 y CW4 que indican, que podría ser marcadores para los genes de susceptibilidad para esta leucemia, sin embargo, la aparición múltiple de LMC en familia es poco frecuente. La presencia del cromosoma Ph en los precursores granulocíticos, eritrocíticos, megacariocíticos, en los linfocitos B y en algunos linfocitos T de los individuos con LMC indica que el trastorno que da lugar a la enfermedad tiene origen en una célula madre pluripotencial muy primitiva de la hematopoyesis.

#### IV.1.6. Fisiopatología.

El cromosoma Ph es un trastorno adquirido, consistente en la pérdida de material de los brazos largos de un cromosoma del par 22 por translocación al cromosoma 9.

Dos genes se encuentran involucrados como resultado de la traslocación 9;22: uno en el cromosoma 9 denominado gen ABL (abelson) y otro en el cromosoma 22 conocido como el gen BCR (Break Cluster Región). Estos dos genes al fusionarse crean un gen híbrido BCRABL que a su vez codifica una proteína híbrida denominada BCR-ABL. Mediante técnicas de biología molecular se ha podido demostrar que la translocación entre los cromosomas 22 y 9 es recíproca, es decir, que el cromosoma 9 también transfiere parte del material genético de sus brazos largos al cromosoma 22.

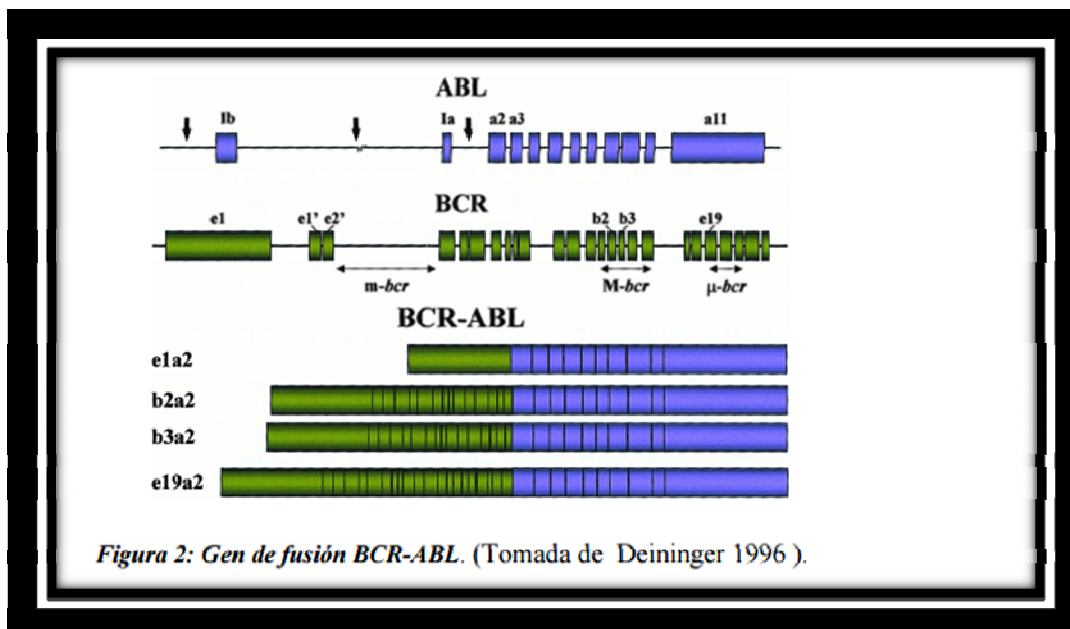
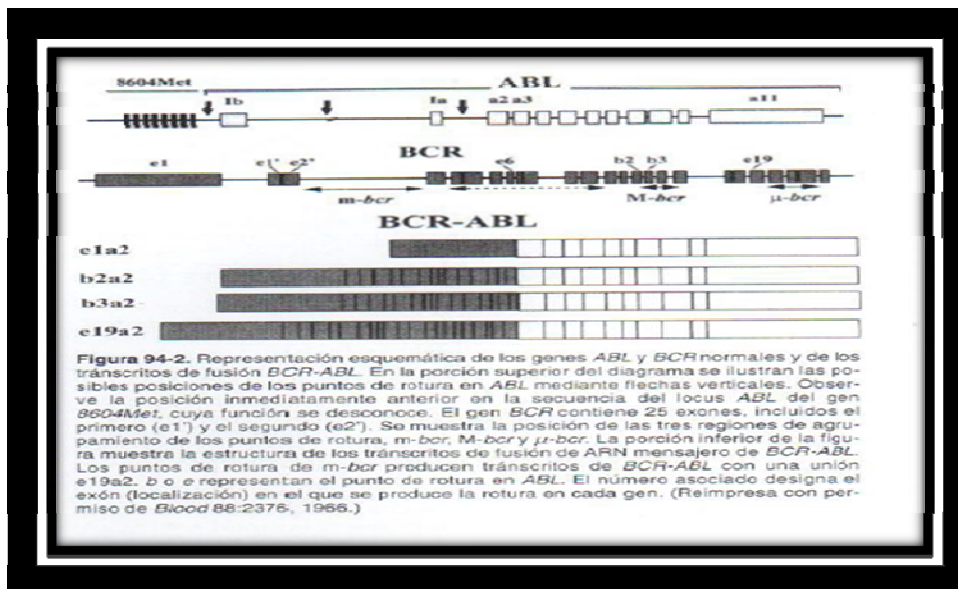


*Translocación de los cromosomas 9 y 22*

El oncogén BCR/ABL da lugar a un RNA mensajero quimérico BCR/ABL de 8,5 kilobases, que codifica la síntesis de una proteína tirosincinasa (la p210, de 210 kDa), encargada de regular el crecimiento y proliferación celular, cuya actividad está aumentada. Esta proteína anómala sería la responsable de la transformación neoplásica de las células hematopoyéticas.

Melo y colaboradores en 1996 describieron tres sitios de ruptura en el gen BCR, mientras que el sitio de ruptura en el gen ABL es el mismo. El sitio más común de

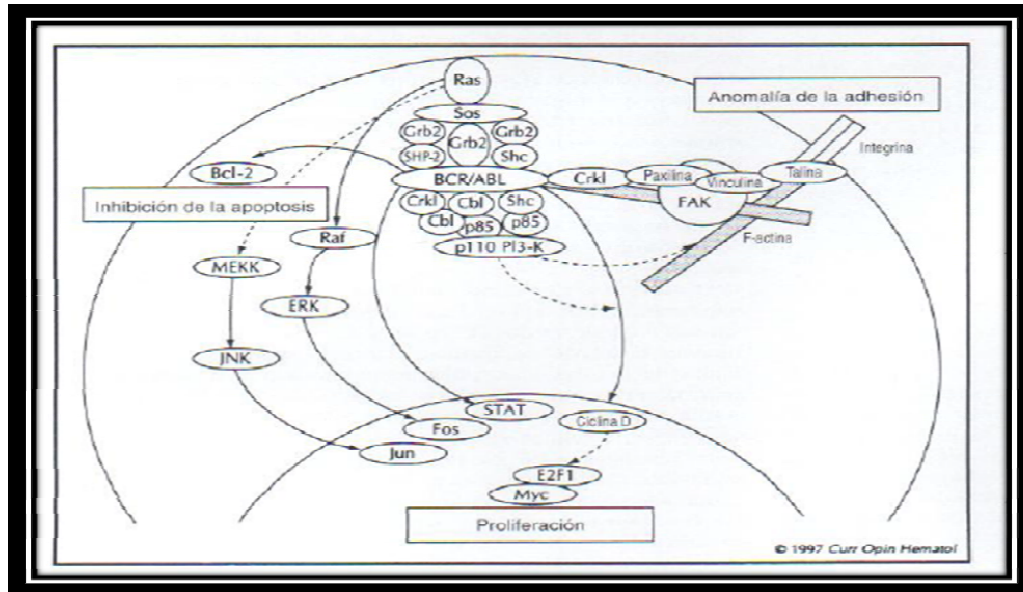
ruptura se denomina región de concurrencia de roturas mayor del inglés "*major break cluster region*" (M-BCR) que da como resultado la proteína P210, propia de la leucemia mieloide crónica. El segundo sitio más común es el "*minor break cluster region*" (m-BCR) que produce la proteína P190 característica de la leucemia linfoblástica aguda. El tercer sitio menos común y que se observa en casos de leucemia neutrofílica crónica es el "*micro break cluster region*" (t-BCR, P230).



El gen ABL normalmente codifica la proteína ABL, la cual tiene actividad tirosina cinasa, y participa en diversas funciones principalmente aquellas que tienen que ver con el ciclo celular y apoptosis. Esta proteína viaja del citoplasma al núcleo y viceversa (como un "shuttle") fosforilando residuos de tirosina. Varios sitios se pueden identificar en su estructura anatómica siendo el más importante el sitio SRC el cual está conformado por tres dominios SH1, SH2 y SH3.

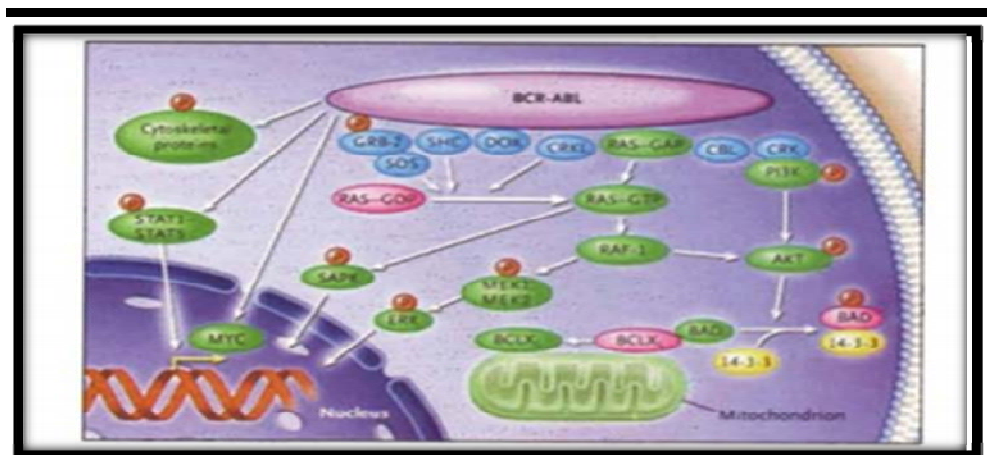
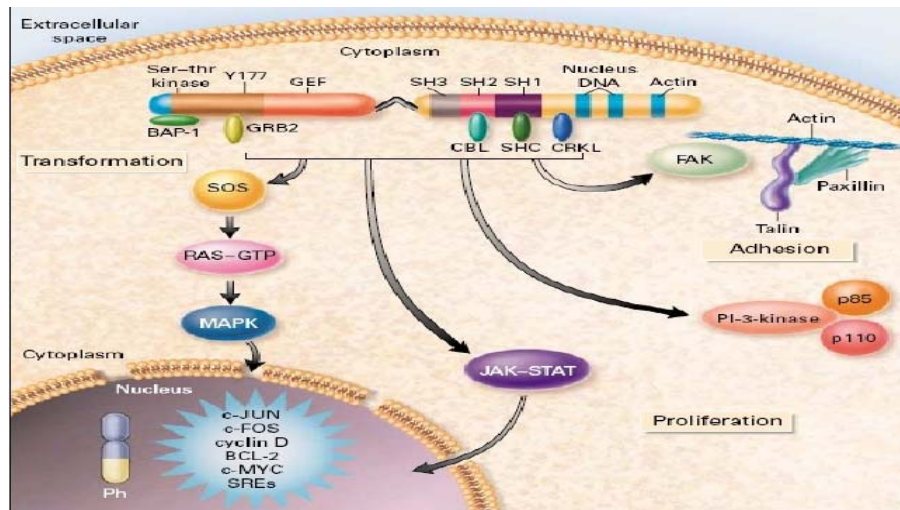
SH1 y SH2 tienen la actividad catalítica, mientras que el dominio SH3 es el que regula de manera negativa la actividad tirosina cinasa. La fusión del gen BCR en el dominio SH3 del gen ABL es lo que se especula permite mantener activa de manera constitutiva a la proteína BCR-ABL. La localización de la proteína BCR-ABL cerca de la membrana celular facilita el envío de señales del exterior de la célula al interior (señales de transducción).

A diferencia de lo que ocurre en la proteína ABL normal, en la BCR ABL la función se ejerce de una forma constantemente descontrolada. La producción continua de esta enzima induce múltiples interacciones proteicas que intervienen en diferentes vías de transmisión de señales intracelulares, cuyas activaciones conducen a la transformación maligna celular. Les confieren a las células de la LMC ventajas de crecimiento e interfieren con los procesos celulares básicos como el control de la proliferación, la adherencia y la apoptosis. El gen híbrido codifica una proteína con actividad constitutiva, es decir, que tiene la característica de que siempre está activada y no necesita de la presencia del ligando para la formación de dímeros y la transmisión de señales. De modo que esto es lo que ocurre en el caso del BCR-ABL: la formación de dímeros y la fosforilación de sustratos ocurre constantemente y esto a su vez, activa los sistemas de señales que llegan al núcleo y activan los sistemas de transcripción.



Una de las más notables diferencias entre la proteína ABL normal y el BCR-ABL está dada por sus contrastantes localizaciones en la célula. La proteína ABL aparece tanto en el núcleo como en el citoplasma y puede ir de un lado a otro entre esos 2 compartimentos bajo la influencia de las señales de localización nuclear y los dominios de señales de salida del núcleo, mientras que el BCR-ABL es exclusivamente citoplasmático. El ABL nuclear es esencialmente una proteína proapoptótica, que tiene una función clave en la respuesta celular al estrés genotóxico. El BCR-ABL, en contraste, es intensamente antiapoptótico. La producción continua descontrolada de la enzima tirosinasa Bcr-Abl induce múltiples interacciones proteicas que intervienen en diferentes vías de transmisión de señales intracelulares, cuyas activaciones conducen a la transformación maligna celular, les confieren a las células de la LMC ventajas de crecimiento e interfieren con procesos celulares básicos como el control de la proliferación, la adherencia y la apoptosis. Con esto se produce una constante transmisión de señales mitogénicas, una adherencia defectuosa a las células estromales y a la matriz extracelular y una disminución de la respuesta a los estímulos apoptóticos. La enzima tirosinasa Bcr-Abl estimula la transmisión de señales mediante la liberación del ATP de un grupo fosfato que se une con las diferentes proteínas que le sirven de sustratos. Un gran número de sustratos puede ser fosforilado por la proteína Bcr-Abl. Además,

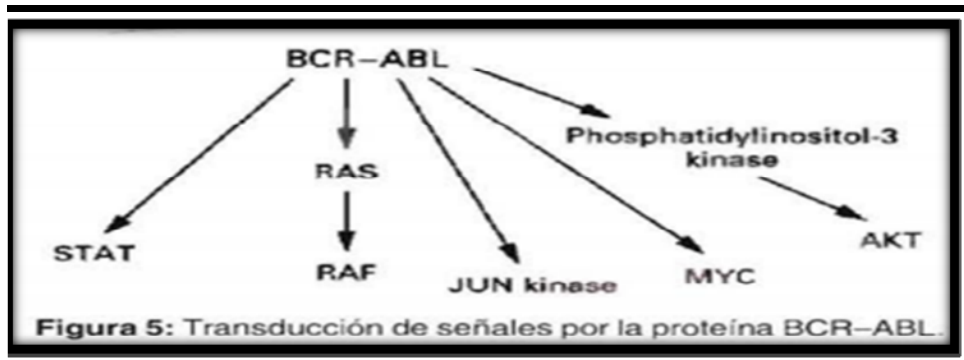
debido al proceso de autofosforilación existe un gran aumento de fosfotirosina en la propia proteína Bcr-Abl, lo que crea sitios de unión para otras proteínas.



La actividad tirosina cinasa permite a la célula tumoral enviar señales al interior de la misma (núcleo) para cumplir sus funciones básicas y poder subsistir (escapar de los mecanismos reguladores normales). Esta actividad se fundamenta en la fosforilación de los residuos de tirosina.

Son constante, y múltiples las vías que puede tomar una célula. De estas, hay tres que son las más importantes: STAT, RAS y PI3-K. Estas vías median los cambios fenotípicos de la enfermedad: transformación, proliferación y alteración de la adhesión al estroma.

Finalmente se cree que la LMC se desarrolla cuando una única célula progenitora hematopoyética adquiere el cromosoma Ph que lleva consigo el gen de fusión BCR-ABL, el cual confiere una ventaja proliferativa sobre los elementos hematopoyéticos normales.



#### IV.1.7. Epidemiología.

La LMC representa el 15-20% de todas las leucemias. Su incidencia en los países occidentales es, aproximadamente, de 1,5 nuevos casos por 100.000 habitantes y año. Puede aparecer a cualquier edad, pero es rara en la infancia y predominando en las edades media y avanzada de la vida, con una mediana de edad en el momento del diagnóstico de alrededor de los 50 años en las series recientes, y una incidencia máxima entre los 30 y los 60 años. Predomina ligeramente en varones, 1,4:1. Y su aparición familiar es excepcional.

En el Reino Unido la incidencia anual de la leucemia mieloide crónica es alrededor 600 individuos al año.

Para el año 2015, los cálculos de la Sociedad Americana Contra El Cáncer para la LMC en los Estados Unidos son: Aproximadamente 6,660 nuevos casos de CML (3,530 hombres y 3,130 mujeres) diagnosticados. Alrededor de 1,140 personas fallecieron a causa de CML (590 hombres y 550 mujeres). Aproximadamente el 75% de los fallecimientos corresponden a adultos mayores de 55 años Un poco más de 15% de todos los nuevos casos de leucemia son leucemia mieloide crónica. En los Estados Unidos, alrededor de una de cada 555 personas padecerá CML en su vida. La edad promedio en el momento del diagnóstico de CML es aproximadamente 64



años. Casi la mitad de los casos se diagnostica en personas de 65 años o más. Este tipo de leucemia afecta principalmente a los adultos, raramente se ve en los niños.

#### IV.1.8. Diagnóstico.

##### IV.1.8.1 manifestaciones clínicas.

Tiene tres fases:

Fase crónica o mielocitaria. Dura unos 4 a 5 años, aunque puede precederse de una fase previa asintomática, caracterizada solo por la alteración genética. Puede ser asintomática y detectarse en pruebas analíticas rutinarias, o presentar los siguientes síntomas:

1. Síntomas de hipoxia tisular (astenia, decaimiento, palidez, pérdida de peso...) resultantes de la hiperviscosidad producida por el aumento de la masa celular total de la sangre.
2. Síntomas derivados de la esplenomegalia: pesadez postprandrial, la saciedad precoz o fenómenos compresivos abdominales (típicamente en el hipocondrio izquierdo). Está en relación con las cifras leucocitarias, pero suele detectarse de forma más precoz.
3. Síntomas de hipercatabolismo celular (generalmente solo en casos más avanzados): hiperuricemia, hiperkalemia, insuficiencia renal.
4. No suele haber adenomegalias (no existen granulocitos en los ganglios linfáticos). El 80 - 85% de los pacientes son diagnosticados en esta fase. En sangre periférica se ve leucocitosis, con menos de un 2% de blastos y en médula ósea proliferación de granulocitos, con disminución del tamaño de los precursores eritroides y megacariocíticos.

Fase acelerada. Dura unos 6 u 8 meses. No se conocen bien los factores que promueven la transición a las siguientes fases de la enfermedad, pero los estudios citogenéticos y moleculares muestran nuevas alteraciones: la aparición de un segundo cromosoma Filadelfia, de una trisomía del cromosoma 8 o de una delección p17-. El paciente presenta fiebre, aumento de la anemia y sus consecuencias, dolores óseos. En las pruebas analíticas aparece aumento de los basófilos (por



aumento de blastos), hipereosinofilia, anemia y trombocitopenia. Como consecuencia, aparecen infecciones, trombosis y/o hemorragias.

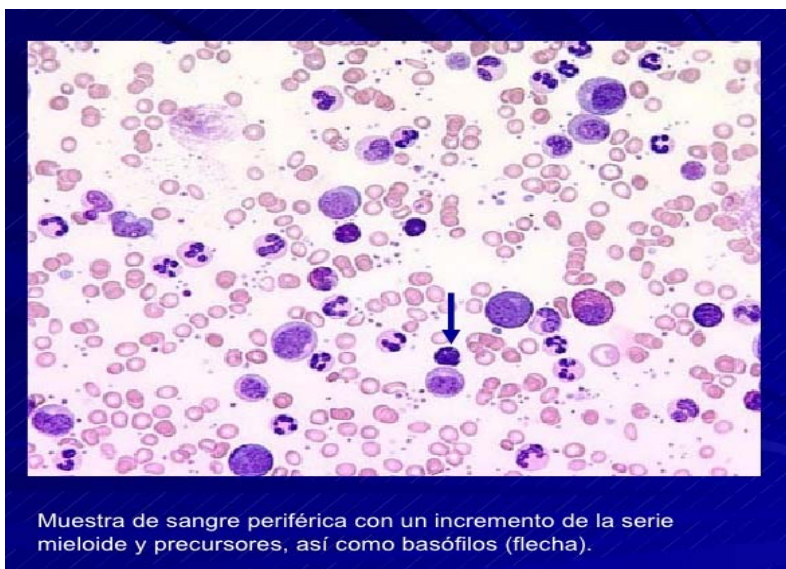
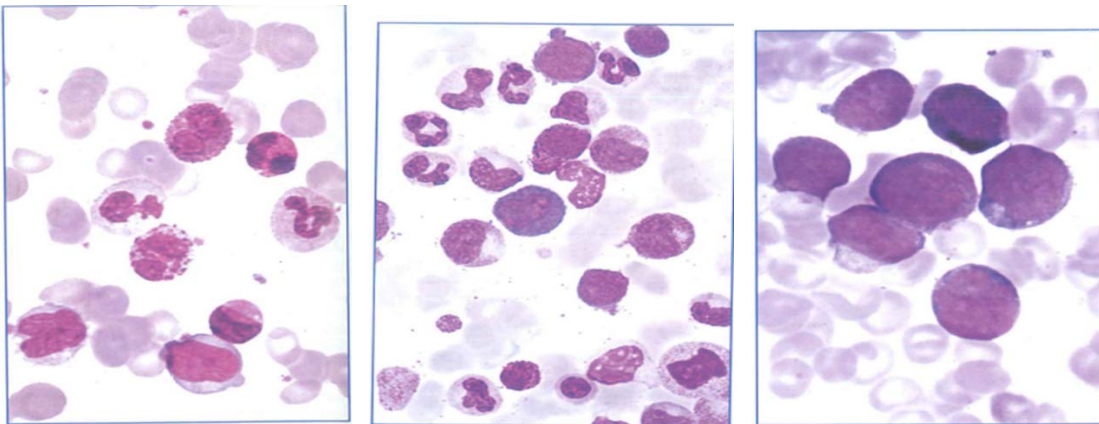
Fase de transformación a leucemia aguda (crisis blástica). Aparecen más de un >20% de blastos en médula ósea. Por alteración genética de la célula madre en estadios madurativos más precoces, la leucemia mielode crónica da crisis clínicas similares a la leucemia aguda. El 80% de los casos evolucionan a leucemia mieloblástica aguda (LMA), y el 20% a leucemia linfoblástica aguda (LLA), con mejor pronóstico. La clínica es de curso tormentoso, con anemia severa, infecciones de repetición, hemorragias y trombos, alteraciones multiorgánicas por infiltración linfocítica, signos de leucostasia... La clínica es indistinguible de la de la leucemia aguda, y hay que hacer el diagnóstico diferencial por técnicas de biología molecular. La proteína resultante del gen híbrido presenta diferentes tamaños según la patología (190 KDa en la LLA; 210 KDa en la crisis blástica de la LMC; y 230 KDa en un tipo de síndrome mieloproliferativo crónico más infrecuente, la leucemia granulocítica crónica).

		MDACC	Criterios OMS
CRITERIOS DE FASE ACCELERADA AL DIAGNÓSTICO	Blastos (MO o SP)	≥ 15%	10-19%
	Promielocitos + Blastos (MO o SP)	≥ 30%	-
	Basófilos	≥ 20%	≥ 20%
	Plaquetas (x10 <sup>9</sup> )	≤ 100	≤ 100 o ≥ 1000
	Otros	Evolución clonal	Evolución clonal Esplenomegalia progresiva Mal control de la leucocitosis
CRITERIOS DE CRISIS BLÁSTICA AL DIAGNÓSTICO	Blastos (MO o SP)		≥ 20%
	Promielocitos + Blastos (SP)		≥ 30%
	Promielocitos + Blastos (MO)		≥ 50%
	Otros		Infiltración blástica extramedular (ganglios, SNC u otros órganos). Grandes focos o grupos de blastos en la biopsia de MO.

#### IV.1.8.2 Laboratorio.

Hallazgo de laboratorios: Sangre periférica. El dato característico de la LMC es la leucocitosis, cuya intensidad es variable, oscilando en la mayor parte de los pacientes entre 50 y 200 x 10<sup>9</sup>/L, aunque en algunos casos puede alcanzar los 500 X 10<sup>9</sup>/L, un 30% puede presentar leucocitosis moderada (inferior al 50 X10<sup>9</sup>/L). Se trata de una leucocitosis granulocítica, en la que se hallan representados todos los

estadios madurativos de la granulopoyesis, con predominio de las formas más maduras, salvo por la mayor proporción de mielocitos que de metamielocitos (pico mielocitario). Es frecuente la basofilia, desgranulación de los neutrófilos o hiposegmentación nuclear (seudo Pelger-Hüet). Existen eritroblastos circulantes en un 50%. Es frecuente la anemia, habitualmente moderada. La cifra de plaquetas es normal o existe trombocitosis (45% de los casos). Disminución de la actividad de la FAG, que a menudo es de 0, es uno de los datos más típicos de la LMC. Entre los parámetros bioquímicos séricos destaca el aumento constante de la vitamina B12 y de sus proteínas transportadoras (transcobalaminas), el aumento muy frecuente de la LDH y algo menos del ácido úrico, todos los cuales reflejan el aumento del recambio granulocitario. Asimismo, es frecuente la disminución de la colesterolemia, que se normaliza al controlar la enfermedad con el tratamiento.



Muestra de sangre periférica con un incremento de la serie mieloide y precursores, así como basófilos (flecha).

El estudio citogenético. Es una metodología que tiene alta especificidad y baja sensibilidad, por lo tanto, se recomienda su realización al momento del diagnóstico y hasta que alcance la respuesta citogenética completa (RCC).

En la LMC se ha observado que el clon Ph positivo puede adquirir nuevas alteraciones citogenéticas además del clásico cromosoma Ph lo cual se denomina evolución clonal (EC). Este mecanismo se asocia con evolución de la enfermedad. El término de evolución clonal (EC) se acepta actualmente para definir la emergencia de anomalías citogenéticas diferentes a la del cromosoma Ph, en pacientes con LMC. El estudio citogenético al diagnóstico se realiza evaluando entre 10-20 metafases, durante el seguimiento es necesario analizar entre 20-25 metafases para poder definir correctamente el tipo de respuesta citogenética alcanzada.

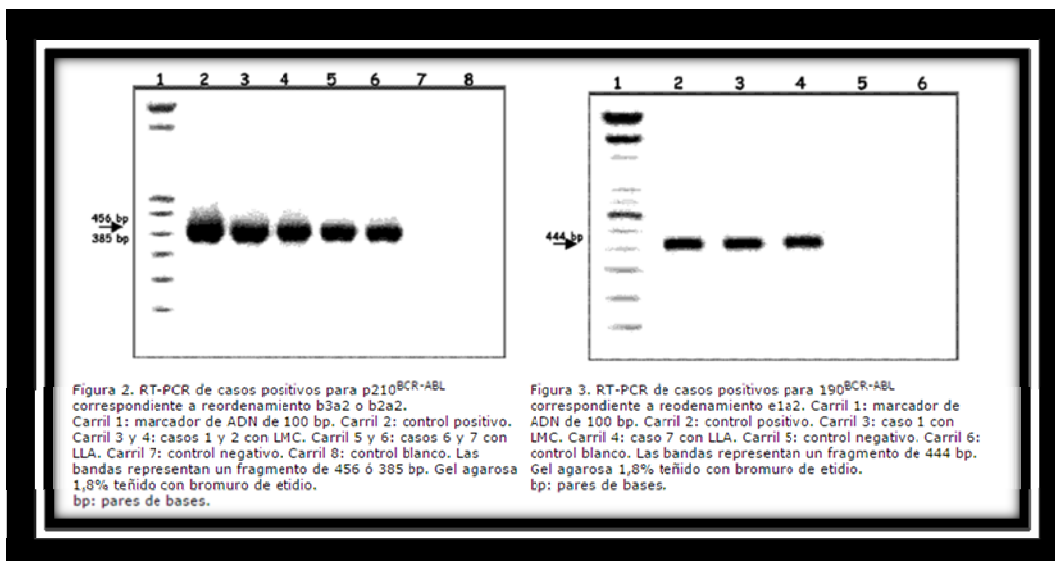
En el 95% de los casos se detecta la t (9;22) (q34; q11), mientras que el 5% restante puede presentar variantes de la clásica translocación o cromosoma Ph enmascarado o críptico. La evolución citogenética constituye en estos momentos uno de los parámetros más importante para el correcto seguimiento de esta enfermedad, y la medición de la respuesta citogenética (CYR) traza las pautas de manejo en cada paciente.

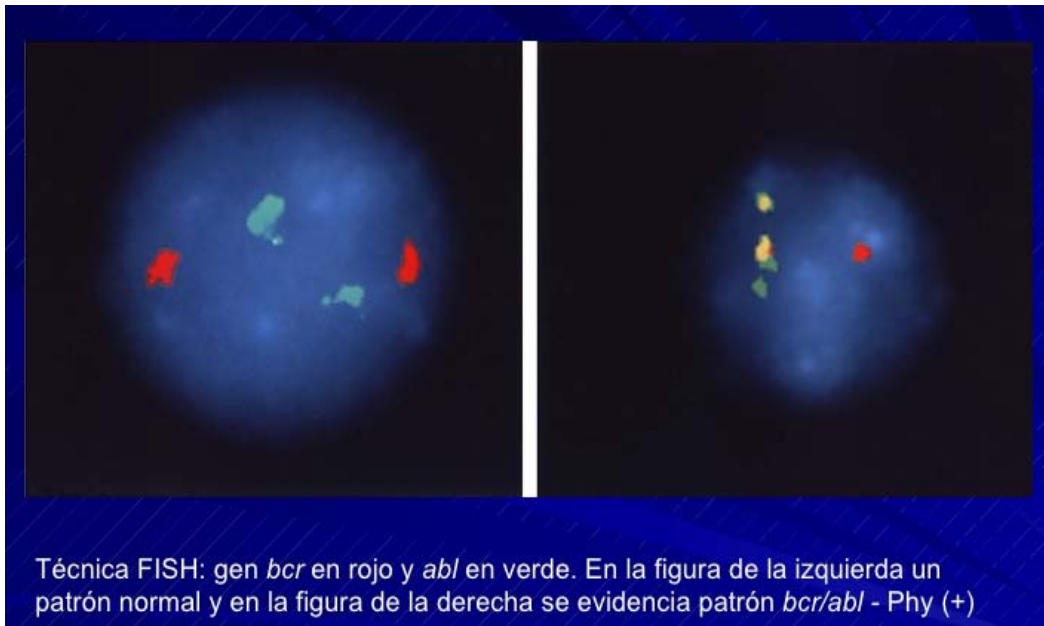
Esta respuesta se clasifica en dependencia de la disminución que se logre de las metafases Ph positivas: CYR mayor cuando en el examen de cariotipo hay 35 % o menos de metafases Ph positiva, puede ser parcial cuando se obtiene del 1 al 35 %, completa cuando no se observan metafases Ph positivas. Menor cuando se obtiene en el examen de cariotipo entre 35 y 65 % de metafases Ph positivas. Mínima cuando se obtiene entre 88 y 95 %. Se considera que no hay respuesta citogenética cuando hay 95 % o más de metafases Ph positivas en el examen de cariotipo.

Estudio Molecular BCR-ABL cualitativo (RT-PCR) y cuantitativo (qRT-PCR).

El estudio BCR/ABL cualitativo (RT-PCR) detecta la presencia del reordenamiento BCR/ABL1 con alta sensibilidad. Es una metodología de alta sensibilidad que permite cuantificar los transcritos BCR-ABL respecto de un gen control (ABL). Utiliza sondas y primers específicos y requiere un equipo de real time PCR. Se realiza a partir de muestras de SP (10ml) ó MO (1ml) extraídas con EDTA.

La PCR con transcripción reversa (RT-PCR), es una técnica mediante la cual a partir de secuencias del ARN mensajero es posible detectar transcriptos de fusión del gen BCR-ABL e identificar diferentes reordenamientos según el punto de ruptura dentro del gen BCR con una mayor sensibilidad y especificidad que con el estudio citogenético. La siguiente figura ejemplifica la técnica de RT-PCR en donde los segmentos amplificados fueron visualizados por electroforesis en gel de agarosa al 1,8% teñido con bromuro de etidio. Como control positivo se utilizaron células leucémicas positivas para p210<sup>BCR-ABL</sup> y p190<sup>BCR-ABL</sup>. Como control negativo se utilizaron leucocitos negativos para el gen de fusión BCR-ABL. Ambos controles fueron procesados simultáneamente con las muestras. El análisis mediante la técnica PCR (*ipolvmerase chain reaction o reacción en cadena de la polimerasa*) pone de manifiesto la presencia de RNA mensajero quimérico BCR/ABL, en sus isoformas b2a2 o b3a3, según la zona de la región mayor del gen BCR (M-bcr) en que se localice el punto de rotura (extremos 5' o 3').





Pruebas especiales de monitorización del paciente con LMC.

La LMC está citogenéticamente caracterizada en más del 90% de los casos, por la presencia del cromosoma Ph debido a la translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22, t (9;22) (q34; q11), dando lugar a la aparición del gen de fusión BCR/ABL. El cariotipo convencional, es hasta ahora la técnica más empleada para el diagnóstico confirmatorio de la LMC, ya que es la única prueba capaz de detectar el cromosoma Ph. El análisis cromosómico con bandeo GTG se realiza siguiendo los protocolos establecidos en muestras de médula ósea tras cultivo de 24 o 48 horas, o de ambos y posteriormente se bandean con tripsina analizando al menos 20 metafases, y clasificándolas siguiendo la International System for Human Cytogenetic Nomenclature.

Variantes Ph: La fusión BCR/ABL en el cromosoma derivativo 22 se encuentra presente en la gran mayoría de los pacientes con LMC, sin embargo, en alrededor de un 2-10% de los casos, la fusión se genera por reordenamientos diferentes al 9q32 y al 22q11 lo que se conoce como Ph variante. Se definen por tanto como variantes de la t (9;22) aquellas translocaciones que implican a uno o más cromosomas además del 9 y del 22. La distribución de los puntos de rotura parece tener una mayor incidencia en las bandas de diferentes cromosomas 1p36, 3p21, 5q13, 6p21, 9q22, 11q13, 12p13, 17p13, 17q21, 17q25, 19q13, 21q22, 22q12, y 22q13. Entre las

variantes más frecuentes están la t (3;9;22) (p21; q34; q11) y la t (17;9 ;22) (q25; q34; q11) publicadas en más de 10 casos. Hoy en día la evolución clínica y pronóstico de pacientes con Ph variante tratados con imatinib, no se diferencia de los que presentan la translocación clásica.

Anomalías Cromosómicas Adicionales (ACA). La t (9;22) (q34; q11) clásica y sus variantes suelen ser las únicas anomalías durante la fase crónica (CP) de la enfermedad, sin embargo, en el 5% de casos en CP, así como, en el 60%-80% de pacientes durante la crisis blástica (BC) y en el, 45% de los casos con resistencia ITK aparecen ACA (additional chromosome anomalies). Las ACA más frecuentes son +8 (34%), +Ph (30%), i(17q) (20%), +19 (13%), -Y (% de los hombres), +21 (7%), +17 (5%), y el -7 (5%). Algunas combinaciones de ACA son más frecuentes que otras. Con respecto al orden de aparición de estas anomalías, algunos autores sugieren que el i(17q) seguido por el + 8 serían cambios primarios, mientras que la trisomía 19 aparecería posterior. Aunque la secuencia ordenada de aparición sería primero el i(17q), seguido por el +8 y +Ph, y por último el +19. Debido a que tres de las cuatro principales ACA conllevan ganancias (+8, +19 y +Ph), son las hiperdiploidías el número modal más frecuente en las LMC con anomalías secundarias, ya que alrededor del 50% de los casos tienen entre 47 y 50 cromosomas. La gran mayoría de los cambios secundarios en la LMC son genéticamente no balanceados como trisomías, monosomías y deleciones. Aunque durante la evolución clonal de la enfermedad podemos encontrar anomalías cromosómicas balanceadas tales como t(15;17)(q22;q12-21), inv(3)(q21;q26)/t(3;3)(q21;q26), t(3;21) (q26;q22), t(7;11)(p15;p15), t(8;21)(q22;q22) y la inv(16) (p13q22).

Impacto de las ACA en pacientes tratados con imatinib.

Del 10 al 12% de los pacientes con LMC en FC tienen hallazgos cromosómicos asociados al diagnóstico que incluyen variantes de la translocación, ausencia del Y y verdaderas ACA que ocurren en alrededor del 5% de los pacientes. La ausencia del cromosoma Y, se observa en el 5% de los pacientes Ph+ y aunque se ha publicado que no tiene un impacto pronóstico, se sigue considerando como una anomalía de la ruta menor de ACA. La proporción de pacientes con ACA durante la CB es alrededor

del 80% en el curso de la enfermedad. Los tipos de anomalías cromosómicas no están influenciadas por el tipo ITK y son similares al diagnóstico, durante el curso de la enfermedad y tras el tratamiento. En las recomendaciones de la ELN las ACA al diagnóstico son consideradas de mal pronóstico, Fabarius y cols en su serie de 1151 pacientes Ph+ concluyen que el impacto de ACA al diagnóstico es heterogéneo y que es necesario considerar el tipo de anomalía, así la ruta mayor de ACA al diagnóstico tendría un pronóstico significativamente peor en comparación con los otros pacientes que presentaron otras anomalías. Las ACA en el curso de la enfermedad en pacientes con LMC Ph+ (evolución clonal) son consideradas de mal pronóstico ya que se encuentran en fase acelerada de la enfermedad. El peor pronóstico ha sido publicado en pacientes con ACA de la ruta mayor y reordenamientos complejos, la European Leucemia Net (ELN) definen a estas anomalías como fallo de tratamiento.

#### Fundamentos de la técnica FISH

Como ha sido explicado anteriormente, la LMC se caracteriza por la translocación recíproca  $t(9;22)(q34.1,q11.2)$  que provoca la aparición del gen de fusión BCR/ABL1. En la mayoría de los casos esto se traduce en la aparición en el cariotipo de metafases con un cromosoma derivativo 22 (der22) característico llamado Philadelphia (Ph). El punto de rotura de ABL es constante pero el de BCR varía, dando lugar a los diferentes transcritos encontrados. Además, en torno a un 10% de los pacientes tienen translocaciones variantes o atípicas con deleciones del der9 y/o der22 que pueden pasar desapercibidas con la citogenética convencional o la PCR. En otros casos, reordenamientos citogenéticamente visibles pueden no detectarse debido a mala morfología, falta de células neoplásicas en división o selección de células normales en el cultivo. En estos casos se recomienda el uso de esta técnica para confirmar el diagnóstico.

La FISH es una técnica que permite detectar y localizar secuencias específicas de ADN o ARN sobre preparaciones cromosómicas, extensiones celulares y cortes de tejido. Su ventaja sobre la citogenética convencional radica básicamente en que se puede realizar tanto en núcleos en interfase como en metafase y que la sensibilidad es mayor al permitir análisis de mayor número de células. Se utilizan pequeñas



cadena de ADN marcada con fluorocromos, a las que se llama sondas, que se van a unir específicamente a una zona del ADN de nuestra muestra para la que son complementarias, tras someterlas a un proceso de desnaturalización e hibridación posterior. Si la muestra tiene la alteración, al observarla al microscopio de fluorescencia aparecerá una señal fluorescente correspondiente a la sonda que ha hibridado. En el caso de BCR/ABL hay multitud de sondas comerciales que en general marcan bcr de color verde y abl de color rojo (figura 1). Adicionalmente algunas aportan una tercera señal aqua (azul) para la región 9q34 (ASS) como control interno. Es necesario contar un mínimo de 200 núcleos en interfase y se considera positivo si se encuentra >1% de núcleos positivos, teniendo en cuenta que al diagnóstico con alta carga tumoral el porcentaje de células positivas debe ser mayoritario.

Dependiendo del punto de rotura aparecen los diferentes transcritos y diferentes patrones de hibridación. En el patrón normal si la prueba es negativa encontraremos dos señales rojas y dos verdes por separado correspondientes a las dos copias de abl y bcr respectivamente (2R,2G). En el caso de que exista el reordenamiento típico (un 75% de los casos aproximadamente) aparecen dos señales de fusión rojo-verde correspondientes al gen fusionado y una roja y otra verde residuales (2F,1R,1G). Pero podemos encontrar otros patrones de hibridación atípicos en casos de otras parejas implicadas en la translocación, deleciones de 9q o del der(22q) o Ph supernumerario. Este último suele asociarse a progresión clonal y es una de las principales vías de evolución clonal observada en la crisis blástica.



Recomendaciones de su uso en LMC para diagnóstico y seguimiento.



En las recomendaciones de la ELN aparece la realización de FISH convencional al diagnóstico al menos en los casos en los que no se obtienen metafases o existen translocaciones crípticas o sospecha de delección del der9. No así para el seguimiento por la menor sensibilidad de la técnica comparada con la biología molecular. Se puede realizar en muestras tanto de médula ósea como en sangre periférica, incluso en extensiones de sangre total.

En las guías de ELN de 2006 este dato era importante ya que la existencia de la delección de der(9) se ha asociaba a peor pronóstico, aunque en la última revisión de 2009 se pone en duda este dato. En publicaciones posteriores de 2010 del grupo italiano se corrobora el hecho de que la presencia de la delección del der(9) no influye en el curso de la enfermedad en pacientes con LMC en fase crónica temprana tratados con imatinib. Por todo esto estamos a la espera de nuevas recomendaciones ELN.

En las guías NCCN 2013 se considera un método aceptable para confirmar el diagnóstico si no es posible obtener producto de médula para cariotipo, pero no en la monitorización. En las guías ESMO también publicadas recientemente, hacen la misma salvedad, recomendando su uso en la monitorización en sangre periférica sólo si no se tiene producto de médula ósea y no se tiene acceso a realizar pruebas de biología molecular. Remarcan el hecho de que no se podrá catalogar el tipo de respuesta citogenética, solo si es completa o no (si encuentra <1% de núcleos con la translocación sobre 200 núcleos analizados en interfase).

#### Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RQ-PCR)

La introducción de imatinib (IM) y de los ITKs de segunda generación (nilotinib y dasatinib) en el arsenal terapéutico de la LMC, han cambiado radicalmente no sólo el tratamiento y pronóstico de la LMC, sino también el seguimiento clínico, citogenético y molecular de los pacientes. Mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (RQ-PCR) para detectar BCR-ABL1, es posible monitorizar la cantidad de enfermedad residual o respuesta molecular que presenta un paciente durante el curso del tratamiento. La correcta cuantificación de la respuesta molecular mediante la RQPCR es fundamental, ya que tiene

implicaciones pronósticas en la evolución de los pacientes y en la toma de decisiones terapéuticas. Con la reciente aprobación del uso de nilotinib y dasatinib en el tratamiento de primera línea, la profundidad de la respuesta molecular (RM) es mayor y la monitorización de BCR-ABL1 toma todavía más importancia clínica.

Cuando solicitamos un estudio del reordenamiento BCR-ABL1, es por dos motivos, bien ante la sospecha clínica de un nuevo diagnóstico de LMC o bien para el seguimiento de un paciente sometido a tratamiento. Es importante distinguir estas dos situaciones, ya que el método de PCR utilizado en el laboratorio debe ser diferente. 1. Ante una muestra con sospecha diagnóstica de LMC, el laboratorio debería analizar no sólo los reordenamientos más frecuentes o típicos, es decir e14a2 (b3a2) y e13a2 (b2a2) presentes en más del 95% de las LMC, sino que también debería incluir al menos, los transcritos en los que está implicado el exón a3 de ABL1 (e14a3 y e13a3).

Ante la sospecha diagnóstica de una LMC, es imprescindible el análisis citogenético convencional o cariotipo, no podemos quedarnos tranquilos sólo con tener una PCR de BCR-ABL1 negativa para excluir el diagnóstico. Existe una situación especial en la que sería necesario realizar el estudio de reordenamientos BCR-ABL1 atípicos o poco frecuentes, como son aquellos pacientes en los que el cariotipo claramente identifica la t(9;22)(q34;q11) y la PCR para BCR-ABL1 es negativa. Esta situación con toda probabilidad indica que en el laboratorio de genética molecular se han limitado a estudiar sólo los reordenamiento clásicos, anteriormente mencionados.

En estos casos, debemos comunicar al laboratorio la situación y que éste realice un estudio más profundo centrado en los transcritos atípicos BCR-ABL1 (e19a2/a3) o los reordenamientos del exón 6-8 de BCR). Identificar en el momento del diagnóstico el reordenamiento implicado en la t(9;22)(q34;q11) es imprescindible, ya que nos va a permitir poder realizar posteriormente el seguimiento molecular y además establecer si el pronóstico de estos pacientes al tratamiento con ITKs es el mismo que el de los pacientes con transcritos típicos.

Seguimiento cuantitativo de BCR-ABL1 mediante RQ-PCR

El estudio IRIS estableció la respuesta molecular mayor (RMM) a los 18 meses de iniciado el tratamiento con imatinib como uno de los objetivos terapéuticos. Desde entonces, realizar una correcta cuantificación de BCR-ABL1 mediante RQ-PCR es fundamental para el correcto seguimiento y monitorización de los pacientes. Cuando una misma muestra es analizada por distintos laboratorios, el resultado de BCR-ABL1 puede variar entre ellos de forma significativa. Esto es debido al empleo en cada laboratorio de métodos diferentes en los distintos pasos de la RQ-PCR (extracción de ARN, síntesis de cDNA, amplificación, gen control, etc.), para evitar esta disparidad en los resultados es necesario que cada laboratorio realice la técnica según los estándares internacionales y disponga de un factor de conversión (FC), o bien realice la RQ-PCR mediante un método comercial que lo incorpore. Cuando aplicamos el FC estamos normalizando los resultados de la RQ-PCR y éstos serán comparables entre distintos laboratorios y estarán expresados en escala internacional (IS).

Para establecer la razón de BCR-ABL1 frente al gen control (ABL1, BCR o GUS) se utiliza la siguiente fórmula:  $(\text{n}^\circ \text{ de copias de BCR-ABL1} / \text{n}^\circ \text{ de copias del gen control}) \times 100$  Como hemos comentado anteriormente, este resultado habrá que multiplicarlo FC del laboratorio para poder expresar el nivel de BCR-ABL1 en IS.

La fórmula final sería:

Razón o Ratio BCR-ABL1IS:  $(\text{n}^\circ \text{ de copias de BCR-ABL1} / \text{n}^\circ \text{ de copias del gen control}) \times 100 \times \text{FC}$  Con estas premisas metodológicas, podemos definir distintos tipos de respuesta molecular. Definiciones de RM:

- RMM:  $\text{BCR-ABL1IS} \leq 0.1 \%$ .
- RM4.0 cuando  $\text{BCR-ABL1IS}$  es  $\leq 0.01\%$ , o bien  $\text{BCR-ABL1IS}$  es indetectable pero el número de copias del gen control ABL1 es  $\geq 10.000$  y  $\leq 32.000$ .
- RM4.5 cuando  $\text{BCR-ABL1IS}$  es  $\leq 0.0032\%$ , o bien  $\text{BCR-ABL1IS}$  es indetectable pero el número de copias del gen control ABL1 es  $\geq 32.000$  y  $\leq 100.000$ .
- RM5.0 cuando  $\text{BCR-ABL1IS} \leq 0.001\%$ , o bien  $\text{BCR-ABL1IS}$  es indetectable pero el número de copias del gen control ABL1 es  $\geq 100.000$ .

Relación entre el nivel de BCR-ABL1 y la respuesta Citogenética.

Aunque realmente no debemos comparar los niveles de expresión de BCR-ABL1 con el número de metafases Philadelphia positivas del cariotipo, existe una estrecha correlación entre ambos valores. Esto puede ser de utilidad u orientación sobre el tipo de respuesta citogenética del paciente cuando en el cariotipo no se hayan obtenido metafases por falta de crecimiento en el cultivo celular, pero no debemos conformarnos en utilizar esta aproximación para no realizar el seguimiento citogenético indicado. La relación queda reflejada en la tabla inferior:

RESPUESTA CITOGENÉTICA	
BCR-ABL1 <sup>15</sup> >10%	No respuesta Citogenética Mayor
BCR-ABL1 <sup>15</sup> >1% ≤10%	Respuesta Citogenética Mayor
BCR-ABL1 <sup>15</sup> ≤1%	Respuesta Citogenética Completa

#### IV.1.9. Diagnóstico diferencial.

Leucemia neutrofilica crónica. Es un desorden mieloproliferativo poco frecuente (sólo se han descrito 143 casos) que se caracteriza por esplenomegalia, leve leucocitosis, marcada neutrofilia sin basofilia, cromosoma Filadelfia BCR/ABL negativos y anomalías cromosómicas hasta en el 10% de los casos. Hemopatía clonal y una forma rara de un trastorno mieloproliferativo clonal, que se caracteriza por proliferación de neutrófilos clonales maduros con rasgo propio que permiten diferenciarla del resto de la SMPC.

Tuohey, en 1920, describió el primer caso registrado de una neutrofilia mantenida inusual con esplenomegalia sin fiebre, inflamación, cáncer u otras causas de reacción leucemoides. Desde aquel momento se han comunicado unos 143 casos. Características clínicas: Aproximadamente el 90% de los pacientes han tenido más de 60 años, sin embargo, se ha descrito pacientes más jóvenes. Se han comunicado más casos en varones que en mujeres. Los pacientes pueden quejarse de debilidad general, anorexia, pérdida de peso. Dolor abdominal. Se producen síntomas de

artritis gotosa en aproximadamente un tercio de los casos. En todos los caso ha habido esplenomegalia y hepatomegalia, es poco frecuente encontrar linfadenopatias, puede haber episodio hemorrágicos en algunos pacientes. La mayoría de los pacientes tienen anemia en la presentación. El recuento de reticulocitos suele estar entre 0.5% y el 3.0%. El recuento de plaquetas rara vez es inferior a 125.000/ml y habitualmente es normal. Los tiempos de coagulación son normales. El recuento total de leucocitos esta entre 25,000/ml y 50,000/ml. Aumento de la actividad de la fosfatasa alcalina de los neutrófilos. Niveles elevados de las proteínas fijadoras de la vitamina B12 y de la vitamina B12, aumento de ácido úrico y LDH. Los neutrófilos constituyen hasta el 90% al 95% de los leucocitos y aunque suele dominar las células segmentadas, en algunos casos tienen de un 20% a 50% de formas en banda. Puede haber metamielocito, mielocitos y eritrocitos nucleados, aunque poco frecuente. No suele haber blasto en sangre periférica. La medula muestra hiperplasia granulocítica con consiente M:E de hasta 10. Los mieloblasto no están aumentados en número (0,5% a 3,0%), los megacariocitos son normales o numerosos. La eritropoyesis suele estar levemente disminuida a diferencia de la LMC, la fibrosis de reticulina es muy inusual. Se han comunicado algunos casos con rasgo displásicos en la medula (anomalía de pelger-huet, displasia eritroidea y micromegacariocitos).

Evolución y pronóstico: La enfermedad es mortal, con una mediana de supervivencia de unos 2-3 años y un intervalo de 0.5 a 6 años. Solo se ha comunicado un caso de remisión espontánea. El pronóstico es considerablemente peor que el de la LMC a pesar de la prevalencia de neutrófilos maduros y la escasez de blastos en la mayoría de los casos. En varios pacientes, la causa de la muerte ha sido una hemorragia grave, a pesar de recuento de plaquetas y tiempos de coagulación normales. Puede transformarse a leucemia mieloide aguda. Está asociada a gammapatia monoclonales esenciales o mieloma múltiple. El tratamiento actual es el Ruxolitinib (Jakafi) Inhibidor quinasa, indicado en tratamiento de pacientes con riesgo intermedio y alto de Mielofibrosis (MF). El mecanismo de acción de Ruxolitinib, se basa en la inhibición selectiva de las quinasas asociadas a Janus (JAK) JAK1 y JAK2, lo que impide la transducción de señales de JAK-STAT y la

proliferación celular en modelos celulares dependientes de citoquinas de los procesos hematológicos malignos.

Leucemia mielomonocítica crónica (LMMC). Es la enfermedad más representativa y frecuente entre los síndromes englobados por la OMS bajo la denominación de SMD/SMP. Se presenta en individuos mayores, con predominio del sexo masculino. Se observa generalmente esplenomegalia, palpable en el 30-50% de los casos, hepatomegalia y, en ocasiones, adenopatías e infiltración cutánea, acompañada de síntomas generales. La afectación de serosas es muy infrecuente. Cursa a menudo con hipergammaglobulinemia policlonal y, más raramente, monoclonal. Excepcionalmente, se evidencia una prueba de Coombs positiva. La mediana de supervivencia en la mayoría de las series oscila entre 20 y 40 meses, y la progresión a leucemia aguda mieloide se registra en el 15-30% de pacientes. Aproximadamente la mitad de los pacientes presenta neutropenia acompañada de monocitosis relativa y signos dismórficos afines a los observados en los SMD. En el restante 50% de enfermos se detecta leucocitosis, y el proceso tiene un cariz más mieloproliferativo que mielodisplásico. La monocitosis sanguínea absoluta ( $> 1 \times 10^9/L$ ) y la relativa ( $>$  del 10% de monocitos en el frotis sanguíneo) constituye el signo guía morfológico de esta enfermedad. Atendiendo al número de blastos y de promonocitos, la OMS recomienda subclasificarla LMMC en dos categorías: LMMC-1 si el número de blastos en sangre es inferior al 5% y en la médula ósea al 10%. LMMC-2 cuando las células blásticas importan el 5 a 19% en la sangre o 10-19% en la médula o cuando se observen bastones de Auer, siempre con menos del 20% de blastos. Tratamiento depende de diversos factores del paciente, incluidos:

Las características y la extensión de los síntomas, La necesidad de un rápido control de la enfermedad, La posibilidad de un trasplante de células madre, El estado de salud y la calidad de vida general. Topotecan 2,0mg/m<sup>2</sup>/día infusión continua x 5 días. RH 28%, mediana de duracion de remision de 8m. Grado de comprobación: 3D. Topotecan + citarabina: RT: 44%, respuesta completa: 50 semanas, terapia de mantenimiento mensual. Hidroxiurea: 20mg/kg Nucleosido azacitidina-5 75mg/m<sup>2</sup>/día x 7 días c/28días. Imatinib puede ser eficaz en un subgrupo de LMMC con relación a los oncogenes de fusión PDFBR.

Leucemia mielomonocítica crónica juvenil. Es una enfermedad hematopoyética clonal de la infancia, con proliferación preferente de las series granulosa y monocítica, pero con participación de las restantes líneas hematopoyéticas.

Representa menos del 3% de todas las leucemias infantiles, y del 20 al 30% de todas las enfermedades mielodisplásicas y mieloproliferativas en menores de 14 años. La mayoría de niños afectados tienen menos de 3 años, la incidencia es superior en el sexo masculino que en el femenino, y en aproximadamente el 10% de los casos incide en pacientes afectados de neurofibromatosis tipo 1.

Leucemia mieloide crónica atípica. Es otra entidad encuadrada en los SMD/SMP de la clasificación de la OMS y que presenta características similares a la leucemia mieloide crónica típica, pero con dos características diferenciales fundamentales: negatividad del cromosoma Philadelphia y del gen de fusión BCR/ABL. Marcados rasgos displásicos que afectan, desde su inicio, a todas las líneas hematopoyéticas. Se trata de una entidad poco frecuente, cifrada en 1-2 casos por cada 100 de leucemia mieloide crónica típica. Suele incidir en pacientes en la séptima u octava décadas de la vida. La supervivencia media es inferior a 20 meses, y el 24-40% de los enfermos mueren de leucemia aguda y el resto por fallo medular. Las células blásticas están, generalmente, en proporción inferior al 5%, y si bien el número absoluto de monocitos puede estar elevado, su valor relativo rara vez excede el 10%. Una moderada anemia con macroovocitosis y trombocitopenia son datos analíticos habituales. En la exploración física destaca la esplenomegalia y la hepatomegalia. La medula ósea es hipercelular, sobre todo a expensas de una proliferación granulosa displásica con moderada presencia de células blásticas. No existen hallazgos genéticos específicos; en más del 80% de los pacientes se hallan alteraciones citogenéticas propias de hemopatías mieloides, como +8, del (20q), i (17q), del (12p), entre otras. Los pacientes presentan una corta supervivencia.

#### IV.1.10. Pronóstico y evolución.

La estadificación permite evaluar el riesgo del paciente en el momento previo al tratamiento y es útil además como una orientación pronóstica. Para esto se utilizan dos escalas Sokal y Hasford, ambas utilizan varias variables y dependiendo de la puntuación clasifican al paciente de riesgo bajo, intermedio y alto. Índice de Sokal: establecido por JE Sokal en 1984 tras estudiar 813 pacientes diagnosticados de LMC Ph+ en fase no blástica y tratados en su mayoría con busulfán, el sistema pronóstico de Sokal, ha revalidado su utilidad en los pacientes tratados con imatinib. Mide las siguientes variables: edad del paciente al diagnóstico, tamaño del bazo medido por palpación en centímetros por debajo del reborde costal, recuento total de plaquetas y porcentaje de blastos en SP al diagnóstico. Puede calcularse con la siguiente fórmula matemática:

$$\text{Índice de Sokal} = \exp [(0,0116 \times (\text{edad} - 43,4)) + (0,0345 / (\text{tamaño del bazo} - 7,51)) + 0,188 \times (\text{plaquetas}/700)^2 - 0,563) + 0,0887 \times (\text{blastos en SP} - 2,1)].$$

Los grupos de riesgo se definen de la siguiente forma:

1. Riesgo bajo < 0.8
2. Riesgo intermedio 0.8-1.2
3. Riesgo alto > 1.2

Índice de Hasford (Euro score): mediante un metanálisis que estudió 1193 pacientes de distintos países europeos tratados con IFN- $\alpha$  en los que evaluó más de 26 variables, el sistema pronóstico de Hasford no ha podido ser validado en los pacientes tratados de novo con imatinib. Las variables que componen el modelo son: la edad del paciente al diagnóstico, el tamaño del bazo medido por palpación en centímetros por debajo del reborde costal, recuento total de plaquetas y porcentaje de eosinófilos, basófilos y blastos en SP al diagnóstico. Puede calcularse según la fórmula siguiente:

$$\text{Índice de Hasford} = [0,6666 \times \text{edad (o cuando edad} < 50 \text{ años, 1 si } \geq 50) + 0,0420 \times \text{tamaño del bazo (cm d.r.c.)} + 0,0584 \times \text{blastos (\%)} + 0,0413 \times \text{eosinófilos (\%)} + 0,2039 \times \text{basófilos (0 cuando} < 3\%; 1 \text{ si } \geq 3\%) + 1,0956 \times \text{n}^\circ \text{ de plaquetas (0 si} < 1.500 \times 10^9/\text{L; 1 si } \geq 1.500) \times 1.000]$$

Los grupos de riesgo se definen de la siguiente manera:

- Riesgo bajo  $\leq 780$
- Riesgo intermedio  $> 780, \leq 1.480$
- Riesgo alto  $> 1.480$



**Tabla 2. Escalas de riesgo**

Estudio	Variables para calcular	Estatificación de riesgo
SOKAL et al, 1984	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Edad</li> <li>• Bazo</li> <li>• Rcto. plaquetas</li> <li>• Blastos</li> </ul>	Bajo Intermedio Alto
HASFORD et al, 1998	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Edad</li> <li>• Bazo</li> <li>• Rcto. plaquetas</li> <li>• Blastos</li> <li>• Basófilos</li> <li>• Eosinófilos</li> </ul>	Bajo Intermedio Alto

Todas las variables deberán ser recolectadas antes del inicio del tratamiento.

**RISK CALCULATION TABLE**

Study	Calculation	Risk Definition by Calculation
Sokal et al, 1984 <sup>1</sup>	$\text{Exp } 0.0116 \times (\text{age in years} - 43.4) + (\text{spleen} - 7.51) + 0.138 \times ((\text{platelet count} + 700)^2 - 0.563) + 0.0887 \times (\text{blast cells} - 2.10)$	Low < 0.8 Intermediate 0.8 - 1.2 High > 1.2
Hasford et al, 1998 <sup>2</sup>	0.666 when age $\geq$ 50 years + (0.042 x spleen) + 1.0956 when platelet count > 1500 x 10 <sup>9</sup> /L + (0.0584 x blast cells) + 0.20399 when basophils > 3% + (0.0413 x eosinophils) x 100	Low $\leq$ 780 Intermediate 781 - 1480 High > 1480

EUTOS score: como objetivo del grupo ELN, se estableció un registro europeo de pacientes diagnosticados de LMC Ph+ FC tratados con imatinib, registro cuyos datos han sido utilizados para desarrollar un nuevo y sencillo índice pronóstico capaz de predecir la probabilidad de alcanzar RCC en el mes 18 de tratamiento, entendiéndose como el marcador sustituto más sólido y confirmado de supervivencia. Evaluados 2060 pacientes entre 2002 y 2006, concluye que los factores predictores de más peso para conseguir RCC a los 18 meses del tratamiento con imatinib son el tamaño del bazo medido por palpación en centímetros por debajo del reborde costal y el porcentaje de basófilos en SP al diagnóstico. Su relación con la RCC se expresa con la siguiente fórmula:

$$\text{EUTOS score: } (7 \times \text{basófilos}) + (4 \times \text{tamaño del bazo}).$$

Cataloga en función del resultado a los pacientes en dos grupos:

EUTOS score > 87, que serían pacientes con un alto riesgo de no alcanzar RCC a los 18 meses de tratamiento.

EUTOS score < 87, que serían pacientes con bajo riesgo de no alcanzar RCC a los 18 meses de tratamiento.

Criterios de evaluación de respuesta en fase crónica:

Respuesta Hematológica.

Respuesta completa (RHC): Sin signos ni síntomas de LMC. Recuento de GB <10x10<sup>9</sup>/L. Basófilos <5 %. Plaquetas <450x10<sup>9</sup>/L. Ausencia de células inmaduras y blastos, promielocitos o metamielocitos en sangre periférica (SP). La respuesta hematológica completa se refiere a la normalización de los recuentos sanguíneos durante al menos cuatro semanas que determinan claramente en qué medida se pudo controlar la anomalía más evidente de la enfermedad (es decir, la proliferación de glóbulos blancos). Durante la respuesta hematológica, es posible que se sigan detectando células del cromosoma Ph positivo (Ph+). Esta puede ser: Respuesta hematológica parcial (RHP): Recuento leucocitario normal con persistencia de esplenomegalia o células inmaduras o trombocitosis < 50% comparado con los niveles antes del tratamiento. Cualquier otra respuesta menor será considerada nula (RHN).

Respuesta hematológica:

Recuento de leucocitos < 10x10<sup>9</sup>/L.

Basófilos < 5%.

Ausencia de mielocitos, promielocitos y mieloblastos en el recuento leucocitario.

Recuento de plaquetas < a 450x10<sup>9</sup>/L.

Bazo no palpable.

Respuesta citogenética.

La respuesta citogenética vista tradicionalmente por los investigadores como evidencia clara de la eficacia de un tratamiento, es la desaparición o reducción del número de células Ph+ detectable por métodos típicos de laboratorio. Indica el grado de control alcanzado para la causa subyacente de la enfermedad.

#### Respuesta citogenética:

Sin respuesta citogenética: metafases Ph+ > 95%.

Mínima (RCmin): metafases Ph+ 66-95%.

Menor (RCm): metafases Ph+ 36-65%

Parcial (RCP): metafases Ph+ 1-35%.

Completa (RCC): metafases Ph+ 0%.

#### Respuesta molecular.

Todavía puede haber evidencia de copias de Bcr-Abl, aun cuando se logró obtener respuesta citogenética completa (RCC). Si bien es importante lograr la RCC, muchos investigadores consideran que se pueden obtener mejores resultados cuando el paciente con LMC demuestra respuesta molecular (RM). En LMC, la RM es la desaparición o reducción en cantidad de Bcr-Abl que elabora la proteína responsable de la proliferación de glóbulos blancos en pacientes con LMC. Una respuesta molecular completa (RMC) indica que el nivel de Bcr-Abl es indetectable. La respuesta molecular puede ser un nuevo referente para evaluar la eficacia de la terapia y el pronóstico de la enfermedad. La RM puede medirse con una técnica relativamente nueva llamada reacción de cadena polimerasa (RCP) capaz de medir incluso niveles mínimos de copias de Bcr-Abl.

#### Respuesta molecular:

Mayor (RMM): cociente de BCR-ABL respecto a ABL es  $\leq 0,1\%$  en la escala internacional.

Completa (RMC): transcritos de mRNA de BCR-ABL no detectables en dos muestras sanguíneas consecutivas de calidad adecuada, mediante PCR cuantitativa a tiempo real y PCR anidada.

Actualmente, correspondería a la reducción logarítmica de 4.0 (RM4.0), 4.5 (RM4.5) o 5 log (RM 5.0), que correspondería a una tasa de BCR-ABL  $\leq 0,01\%$ ,  $\leq 0,0032\%$  o  $\leq 0,001\%$  respectivamente en la escala internacional. Estos tipos de respuestas condicionan nuestra conducta a seguir en función de la consecución de las mismas en los tiempos establecidos, de modo que se definen: Respuesta óptima: La respuesta se considera óptima cuando, basándonos en los resultados

actualmente disponibles sobre la evolución de los pacientes con ese grado de respuesta, la supervivencia a largo plazo se considera que va a ser adecuada. Respuesta subóptima: Significa que, si bien el paciente puede seguir beneficiándose del tratamiento con el ITK a la dosis actual, a largo plazo es poco probable que el resultado sea tan favorable como sería de desear. Se trata en realidad de una situación transitoria hacia una respuesta óptima o hacia el fracaso. Sin embargo, al desconocerse en qué sentido evolucionará la respuesta actual del paciente, es aconsejable introducir un cambio en el tratamiento. En las recientes guías de la European Society of Medical Oncology (ESMO) de 2012 y NCCN en su versión v3.2013, el término de respuesta subóptima ha quedado reemplazado por el de alarma o warning, lo que compromete a una mayor y más cuidadosa monitorización del paciente, pues éste se verá potencialmente beneficiado de un mejor tratamiento. Fallo o fracaso: Implica que continuar administrando el fármaco a la dosis actual no es adecuado para el paciente, por lo que debe plantearse cambiar de tratamiento. La alternativa será en la mayoría de los pacientes el cambio a un inhibidor de segunda generación (o al ITK de 2ª generación alternativo en los casos de inicio de tratamiento con un ITK de 2ª generación en 1ª línea) o, en casos seleccionados (como la resistencia asociada a la mutación T315I), el trasplante alogénico. Signos de alarma, alerta o warnings: La presencia de estos signos indica que el ITK, administrado a la dosis convencional, podría no proporcionar una respuesta adecuada, lo que obliga a hacer un seguimiento más atento de lo habitual.

Criterios de evaluación de respuesta molecular en fase crónica:

➤ Molecular			
BCR-ABL/ABL	Red Log	Resp. Molecular	Copias gen ABL*
< 0,001% o indetectable	> 5.0 log	RM 5.0	≥ 100.000
< 0,0032 o indetectable	> 4.5 log	RM 4.5	≥ 32.000
< 0,01 o indetectable	> 4.0 log	RM 4.0	≥ 10.000
0,1 – 0,01%	> 3.0 log	RMMayor	
1 – 0,1%	> 2.0 log	RMMenor	
10 – 1%	> 1.0 log	RMMinima	
> 10%	< 1.0 log	RMNula	

*\* En las Respuestas Moleculares Completas (RM<sup>4.0</sup>, RM<sup>4.5</sup> y RM<sup>5.0</sup>) se debe tener en cuenta el n° de copias del gen ABL para evitar falsos negativos.*

TABLE 1. Definitions of Response	
Response	Definition
CHR	Leukocyte count $<10 \times 10^9/L$ , basophils $<5\%$ , platelets $<450 \times 10^9/L$ , the absence of immature granulocytes, impalpable spleen
Minor CyR	36%-95% Ph+ metaphases in bone marrow
Major CyR	1%-35% Ph+ metaphases in bone marrow
CCyR	0% Ph+ metaphases in bone marrow
MMR	BCR-ABL International Scale $\leq 0.1\%$
CMR	Undetectable BCR-ABL with assay sensitivity $\geq 4.5$ or 5.0 logs

CHR = complete hematologic response; CMR = complete molecular response; CyR = cytogenetic response; MMR = major molecular response; Ph = Philadelphia chromosome.

#### IV.1.10. Tratamiento.

La identificación de la tirosincinasa anormal Bcr-Abl como una enzima fundamental para el desarrollo y progresión de la LMC, la convirtió en un sitio de gran interés para el empleo de un inhibidor específico que pudiese controlar su actividad, y de esta forma, ejercer una acción terapéutica en la LMC. Esa acción específica tendría la ventaja de una inhibición selectiva de la proteína anormal Bcr-Abl, sin que se afecte la función de otras tirosincinasas intracelulares normales, acción con la que solo se bloquearía la oncoproteína que se necesita controlar. El desarrollo de los conocimientos sobre las propiedades bioquímicas de las proteínas que intervienen en la transmisión de señales intracelulares en las células hematopoyéticas, y de las posibilidades tecnológicas para la obtención de inhibidores de la transducción de señales (STIs, del inglés signal transduction inhibitors), permitió iniciar las investigaciones apropiadas para la obtención de un STI con esa característica ideal de bloquear la tirosincinasa anormal Bcr-Abl. Se han evaluado diferentes inhibidores de la tirosincinasa para conocer su potencialidad como modificadores del fenotipo de las células de la LMC. Los primeros en probarse procedían de fuentes naturales, entre ellos el isoflavinoide genisteína, el antibiótico herbimicina A y los flavinoides quercetina y erbesteína. Con posterioridad se obtuvieron compuestos sintéticos conocidos como tirfostinas, capaces de competir con el ATP por el sitio de unión en el centro catalítico de la cinasa. Una de estas tirfostinas (AG 1112), la genisteína y la herbimicina A, fueron los primeros productos que mostraron especificidad para las tirosincinasas y efectos positivos sobre líneas celulares de LMC. En una etapa

posterior se investigaron otros posibles inhibidores de tirosincinasas, y entre ellos se seleccionó el denominado STI 571 (previamente conocido como CGP 574), que inhibe específicamente la tirosincinasa Abl a concentraciones submicromolares. Este producto se modificó químicamente para obtener un bloqueo selectivo del sitio de unión del ATP, y de esta forma inhibir de forma efectiva la fosforilación que la enzima tirosincinasa Bc-Abl realiza en sus substratos.

Farmacología de las drogas utilizadas en el tratamiento de la LMC Inhibidores de tirosina kinasas: Imatinib, Dasatinib y Nilotinib.

El Imatinib, Nilotinib y Dasatinib son inhibidores de tirosina kinasa. Imatinib y Nilotinib son selectivos para BCR/ABL, KIT y PDGFR e inhiben a la tirosina kinasa BCR/ABL al unirse con alta afinidad a la conformación inactiva del dominio kinasa de ABL. El Dasatinib es un inhibidor de múltiples tirosina kinasas: BCR/ ABL, Src, c-KIT, EPHA2, inhibe a la tirosina kinasa BCR/ABL al unirse con alta afinidad tanto a la conformación activa como inactiva del dominio kinasa.

La unión más fuerte de Nilotinib y Dasatinib a BCR/ABL se traduce en una mayor potencia con respecto a Imatinib.

Imatinib: es un inhibidor de la actividad tirosin quinasa de BCR-ABL la cual esta elevada en la LMC. La dosis estándar de imatinib es 400mg por día en la fase crónica y 600mg/día en la fase avanzada. Una respuesta subóptima puede justificar la elevación de la dosis hasta 600 u 800mg/día, administrada en dosis fraccionada, como 400mg dos veces al día. La dosis mínima que permite inducir de manera fiable una respuesta citogenética es de 300mg/día. Inhibidores de cinasas de bcr-abl de segunda generación: Se autorizaron para tratar pacientes con LMC con resistencia o intolerancia al imatinib. Dasatinib: es un inhibidor de la cinasa de SRC y ABL que se administra una vez al día con la comida. La dosis inicial es de 100mg/ día en fase crónica y 140mg/ día en fase avanzada. Nilotinib: es un análogo del imatinib que se administra a una dosis de 300mg 2 veces al día en pacientes recién diagnosticados y 400mg 2 veces al día después del fracaso del imatinib o en fases avanzadas.

Resistencia al tratamiento. Resistencia primaria (intrínseca) Incapacidad de alcanzar cualquier nivel de respuesta (RHC, RCC y RMM) en las distintas evaluaciones desde el diagnóstico. Resistencia secundaria (adquirida) la pérdida de

la respuesta (Hematológica Completa, Citogenética Completa, Molecular Mayor) después de haberla alcanzado, durante el tratamiento con ITK no atribuible a la suspensión de los mismos. Los mecanismos de resistencia pueden ser: dependientes de BCR-ABL e independientes de BCR-ABL. Las mutaciones de punto (dependientes de BCR/ABL) originan sustitución de aminoácidos en el dominio quinasa de la proteína BCR/ABL y constituyen el más frecuente y mejor conocido mecanismo de resistencia a los ITK.

#### Tratamiento con imatinib en primera línea.

El imatinib (IM), primer inhibidor selectivo de la tirosin quinasa BCR-ABL, ha supuesto una verdadera revolución en el tratamiento de la LMC, consiguiendo unos resultados espectaculares en la fase crónica de la enfermedad, por lo que durante más de 10 años se ha considerado el tratamiento de primera línea. Los resultados del estudio IRIS (imatinib vs. Interferon en primera línea de tratamiento) a 8 años de seguimiento, continúan demostrando la eficacia y seguridad de IM en la FC de la LMC: SLE 81%, SLP a FA/CB 92%, SG estimada del 85%, que asciende al 94% si solo se consideran las muertes relacionadas directamente con la LMC. Sin embargo a 8 años, 45% de los pacientes habían discontinuado el tratamiento (16% por resultados insatisfactorios, 6% por EA). Basándose en los resultados de los ensayos clínicos ENESTnd y Dasision, nilotinib y dasatinib han sido aprobados en pacientes de nuevo diagnósticos de LMC en fase crónica, por lo que el futuro del imatinib es asunto intenso debate. Los ITK2G en primera línea de tratamiento han demostrado ser más eficaces que imatinib, porque consigue más RCC y mayor número y más profundas RM, con menos tasas de progresión a FA/CB (con significación estadística para nilotinib vs. imatinib). A pesar de ello, hoy por hoy, esto no se ha traducido en un beneficio en la SG ni en la SLP, aunque podría llegar a demostrarse con un seguimiento más largo. Además de la eficacia, es importante considerar otros factores, como la toxicidad. Si analizamos el número de pacientes que a 24 meses continúan con el tratamiento en los estudios ENESTnd y Dasision, se observa que es muy similar en ambas ramas: 67% IM vs. 74% nilotinib y 75% IM vs. 77% dasatinib,

respectivamente, lo que indica que la mayor eficacia de nilotinib y dasatinib se vería contrarrestada por otros factores, posiblemente efectos adversos/tolerancia.

Las tasas de respuesta (RCC, RMM, y RM4.5) se dan como incidencias acumuladas. RMM se define como una reducción de 3 log en los niveles de transcripción o un 0,1% en la escala internacional. SLP y la SG se expresan como probabilidades de 2 años. Los pacientes todavía en tratamiento en 24 meses se expresan como proporciones. Las columnas con el título “diferencia” indican la diferencia en el resultado entre el ITK de segunda generación e imatinib. Dr Marín et al., sugirieron en el programa educacional de ASH de 2012, mientras existe la evidencia de que la obtención de la RCC prolonga la vida del paciente con LMC, no hay pruebas de que conseguir RMM, RM4, RM4.5 o RM5, en los pacientes que ya están en RCC, añada algún beneficio en términos de prolongar la SG. Por esta razón ningún ITK específico debería ser preferido sobre otro, solamente en base a que induzca mayor proporción de RM. IM tiene la ventaja de ser el ITK con el que tenemos la experiencia de manejo más larga (más de 10 años) y un perfil de seguridad, a largo plazo, bien conocido.

Cada vez hay más evidencias de la importancia de la RM a 3 meses, tanto para IM como para los ITK2G. Los pacientes tratados con IM que a los 3 meses presentaban un BCR-ABL >10%, tenían peor probabilidad de SG a 8 años (56.9% vs. 93.9%), SLP a 8 años (92.8% vs. 57%) y menor incidencia acumulada de RCC y RMC que los que mantenían el nivel de transcritos.

#### Tratamiento con nilotinib en primera línea.

Nilotinib es un inhibidor potente y altamente selectivo de la actividad de la tirosina cinasa ABL de la oncoproteína BCR-ABL. La sustancia se une con alta afinidad al lugar de unión del ATP con mejor ajuste topológico al dominio de unión de la cinasa que imatinib, lo que se traduce en una potencia aproximadamente 30 veces superior a este último, también mantiene la actividad frente a 32/33 formas mutantes de BCR-ABL resistentes a imatinib. Nilotinib tiene poco o ningún efecto sobre la mayoría de las otras proteínas cinasas examinadas, incluyendo Src, excepto para las cinasas de los receptores PDGF, KIT y Ephin. Basados en los resultados del ensayo clínico



ENESTnd, nilotinib fue aprobado (300 mgrs BID) en pacientes con nuevo diagnóstico de LMC en fase crónica. Tras cuatro años de seguimiento, los datos del ensayo, continúan mostrando una eficacia superior de nilotinib frente a imatinib en pacientes de nuevo diagnóstico con LMC en fase crónica, lo que se traduce en:

Menor número de progresiones a FA/CB.

Mayor tasa de respuesta molecular mayor, de respuesta molecular grado 4 y 4,5.

Mayor tasa de respuestas con independencia del índice de Sokal al diagnóstico.

Mayor tasa de supervivencia libre de evento, (94,5% con nilotinib 300 BID, 97,4% con nilotinib 400 BID, y 92,6% con imatinib 400 QD), mayor tasa de supervivencia libre de progresión, (96,1% con nilotinib 300 BID, 98,3% con nilotinib 400 BID, y 94,7% con imatinib 400 QD).

Menos muertes relacionadas con la LMC con nilotinib respecto a imatinib (5 con nilotinib 300 BID, 4 con nilotinib 400 BID, y 13 con imatinib 400 QD). Otro dato que avala la superioridad de nilotinib frente a imatinib es el menor número de mutaciones emergentes (12 con nilotinib 300 BID, 11 con nilotinib 400 BID, y 22 con imatinib 400 QD). Nilotinib tiene además un buen perfil de seguridad y buena tolerabilidad. Junto a esta mayor eficacia de nilotinib respecto a imatinib, el tratamiento con el primero, en pacientes de nuevo diagnóstico, permite alcanzar respuestas más profundas y más tempranas, lo que se correlaciona con mejores resultados a largo plazo (SG, SLE) así como más opciones de lograr Respuesta Citogenética Completa y Respuesta Molecular Mayor.

#### Tratamiento con dasatinib en primera línea

Los ITK2G han demostrado conseguir mejores resultados en el tratamiento de la LMC en FC que imatinib. Entre estos ITK2G el dasatinib, cuya molécula no está relacionada estructuralmente con imatinib, se une a conformaciones de la quinasa BCR/ABL diferentes de aquellas a las que se une imatinib lo que le confiere una diferente actividad. En este sentido el ensayo clínico en fase 3 DASISION que compara dasatinib 100 mg/día frente a imatinib 400 mg/día en un grupo de 519 pacientes ya objetivó unas mejores respuestas citogenéticas y moleculares tempranas (a los 3 meses). En efecto, en ese corto periodo se obtuvieron RCC+RCP

en el 81% de la rama dasatinib frente al 67% de los tratados con imatinib. Igualmente se consiguió RM ( $BCR/ABL \leq 10\%$ ) en el 84% de los pacientes con dasatinib y en el 64% de los tratados que recibieron imatinib. Precisamente la rapidez en la respuesta (a los tres meses) es el factor que se correlaciona con mejor Supervivencia Global (SG). Recientemente se han publicado los resultados tras 36 meses de seguimiento del ensayo DASISION en los que se continúa manteniendo la superioridad de las respuestas en el brazo de dasatinib. En concreto, las RMM ( $BCR/ABL \leq 0.1\%$ ) a los 3 años eran del 68% en la rama de dasatinib frente a 55% en el brazo de imatinib. Las RM de 4.5 log ( $BCR/ABL \leq 0.0032\%$ ) se conseguían en el 22% de pacientes con dasatinib frente al 12% con imatinib. Este resultado se obtenía con independencia de los diferentes grupos de riesgo según la escala EURO (Hasford).

#### Definición de respuesta a los ITK en primera línea

	Respuesta óptima	Advertencia	Falla
<b>AL Diagnóstico</b>	-	Alto riesgo o ACC adicionales en el clon Ph+, ruta mayor	-
<b>3 meses</b>	$BCR/ABL1 \leq 10\%$ y/o Ph+ $\leq 35\%$	$BCR/ABL1 > 10\%$ y/o Ph+ 36-95%	Falta de respuesta hematológica y/o Ph > 95%
<b>6 meses</b>	$BCR/ABL1 < 1\%$ y/o Ph=0	$BCR/ABL1 1- 10\%$ y/o Ph+ 1- 35%	$BCR/ABL1 > 10\%$ y/o Ph+ > 35%
<b>12 meses</b>	$BCR/ABL1 \leq 0.1\%$	$BCR/ABL1 > 0.1-1\%$	$BCR/ABL1 > 1\%$ y/o Ph > 0
<b>En cualquier momento de la evolución</b>	$BCR/ABL1 \leq 0.1\%$	Alteraciones cromosómicas adicionales en el clon Ph - (-7 o 7q-)	Pérdida de RHC, pérdida de RCC, pérdida confirmada de RMM en dos oportunidades consecutivas. Mutaciones ACC adicionales en el clon Ph=

*RHC: respuesta hematológica completa.  
RCC: respuesta citogenética completa.  
RMM: respuesta molecular mayor.  
ACC: Alteraciones cromosómicas clonales.*

VII. Recomendaciones de tratamiento según respuestas

Tabla 7.

<b>LMC Fase Crónica 1ª Línea</b>	Imatinib 400 mg/día Dasatinib 100 mg/día Nilotinib 300 mg cada 12 hs.
<b>2ª Línea Intolerancia Falla</b>	Cambiar a otro ITK. Tener en cuenta co-morbilidades y eventos adversos. Cambiar a otro ITK. Tener en cuenta mutaciones, co-morbilidades y eventos adversos. Alo-TCPH
<b>3ª Línea</b>	Cambiar a otro ITK Alo-TCPH Ensayo clínico
<b>LMC Fase Acelerada  Crisis Blástica</b>	Dasatinib 100 - 140 mg/día; Nilotinib 400 mg cada 12 hs. Imatinib 600 - 800 mg/día Alo-TCPH en todos los pacientes candidatos que no logran respuesta óptima.  Quimioterapia más ITK Dasatinib 140 mg/día; Imatinib 400 mg cada 12 hs Alo-TCPH en candidatos.

Monitoreo de la respuesta al tratamiento.

<b>Al Diagnóstico</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hemograma completo</li> <li>• Estudio Citogenético en MO.</li> <li>• FISH en caso de Ph Negativo para identificar translocaciones crípticas o fallas técnicas en el citogenético, diagnóstico dudoso.</li> <li>• RT PCR Cualitativa, para identificar el tipo de transcrito (solo al diagnóstico).</li> <li>• qRT PCR Cuantitativa para establecer valor basal (opcional).</li> </ul>
<b>Durante el seguimiento</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hemograma cada 2 semanas hasta la remisión hematológica completa, mensual hasta mes 3 y luego cada 3 meses.</li> <li>• Estudio Citogenético en MO a los 3, 6, 12 meses hasta alcanzar RCC; luego cada 12 meses si no es posible seguimiento molecular regular y estandarizado.</li> <li>• FISH siempre que existan problemas técnicos en el citogenético.</li> <li>• qRT PCR cuantitativo, para determinar el nivel de transcritos BCR/ABL1 en escala internacional. Realizarlo cada 3 meses hasta obtener RMM (BCR/ABL1 menor 0,1 o RM <sup>3.0</sup>). Luego cada 3 ó 6 meses.</li> </ul>
<b>Falla y Progresión Previo al cambio de tratamiento</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• qRT PCR cuantitativo</li> <li>• Análisis mutacional</li> <li>• Citogenético</li> <li>• Inmunofenotipo en CB</li> </ul>
<b>Advertencia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estudios moleculares y CG a realizarse con mayor frecuencia.</li> <li>• CG en casos de citopenias persistentes no justificadas.</li> </ul>

**El papel del trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH)**

El Alo-TPH representa actualmente el único tratamiento curativo, demostrado a largo plazo, de pacientes con LMC. No obstante, los buenos resultados clínicos de los ITKs, unidos a la morbi-mortalidad del proceso, lo han relegado, sin dejar de ser una útil herramienta terapéutica, a un segundo plano, siendo empleado, generalmente, como segunda o tercera línea de tratamiento, y en pacientes seleccionados.

Indicaciones. Aquellos pacientes en quienes debe plantearse la realización de un Alo-TPH, según las recomendaciones de la ELN, son: los que presentan la mutación T315I –en los que ponatinib también puede ser útil-, los que se encuentran en fase acelerada o crisis blástica al diagnóstico –se recomienda tratamiento previo con un ITK- o las desarrollan estando en tratamiento con imatinib –en éstos se recomienda tratamiento con un ITK de segunda generación previo al Alo-TPH– y, finalmente, esos otros que no responden a los inhibidores de segunda generación. Las NCCN guidelines 2013 limitan las indicaciones a pacientes con la T315I u otras mutaciones resistentes a todos los ITK, pacientes diagnosticados en crisis blástica, los que progresan a fase acelerada o crisis blástica en tratamiento con ITKs y aquéllos intolerantes a los tratamiento con ITKs. Estas guías destacan también que el Alo-TPH ha de plantearse en pacientes que están en tratamiento de segunda línea con un ITK, tras objetivarse fallo de tratamiento a un primer ITK en las siguientes situaciones: BCR-ABL >10% o menos de RCP a los 3 meses; RCm o sin RC a los 12 meses; RCP a los 18 meses y recaída citogenética a los 6, 12 o 18 meses. En pacientes con fase acelerada o crisis blástica es recomendable utilizar un ITK como tratamiento puente hasta el Alo-TPH. Asimismo, aquellos pacientes con bajo riesgo para el procedimiento y con un donante adecuado podrían ser sometidos al Alo-TPH fuera de las indicaciones reseñadas. Sin embargo, la decisión del paciente ante este procedimiento es también, en todos los casos, importante, así como el estudio personalizado de las posibles ventajas y desventajas. De todas formas, estas recomendaciones tienen que ser aplicables a esos pacientes que, por edad y/o ECOG-Karnofsky, son elegibles para un Alo-TPH mieloablato a partir de un hermano HLA idéntico o un donante no emparentado compatible.

Ebmt score. La EBMT desarrolló antes de la aparición de los ITKs un score pronóstico para pacientes con LMC sometidos a Alo-TPH, basado en cinco variables y que puede ser de utilidad a la hora de plantear el procedimiento. En los últimos años, ya en la era de los ITKs, su validez ha sido confirmada. La supervivencia a los 5 años es superior al 70% si score  $\leq 2$  e inferior al 40% si  $\geq 5$ .

FACTOR	SCORE
<b>Fase de la LMC</b>	
Fase crónica	0
Fase acelerada	1
Crisis blástica	2
<b>Edad</b>	
< 20 años	0
20-40 años	1
>40 años	2
<b>Origen de los progenitores</b>	
Donante emparentado	0
Donante no emparentado	1
<b>Tiempo desde el diagnóstico al Alo-TPH</b>	
<12 meses	0
>12 meses	1
<b>Sexo donante-receptor</b>	
Mujer-hombre	1
Hombre-hombre	0
Mujer-mujer	0
Hombre-mujer	0

Régimen de acondicionamiento y fuente de progenitores. En pacientes jóvenes debe optarse por un acondicionamiento mieloablativo, pudiendo utilizarse tanto BuCy (busulfan+ciclofosfamida) como irradiación corporal total+ciclofosfamida. El trasplante con acondicionamiento de intensidad reducida debe utilizarse en pacientes mayores o con comorbilidades asociadas, mostrando los últimos estudios publicados resultados esperanzadores en pacientes con una edad superior a 40 años, debido, entre otras variables, a la enfermedad injerto contra leucemia. No es aconsejable realizar depleción de linfocitos T por el alto índice de recaídas. Respecto a la fuente de progenitores médula ósea y sangre periférica, son igualmente válidas, sin que ninguna haya demostrado superioridad en supervivencia. Los progenitores procedentes de sangre periférica originan un periodo de neutropenia más reducido y aunque el porcentaje de recaídas es menor, existe más EICH.

Tratamiento de las recaídas tras el Alo-tph. Tras el Alo-TPH, el BCR-ABL debe estrechamente monitorizarse, ya que la precoz positividad del mismo conduce a recaídas y formas avanzadas de la enfermedad; si bien, en las primeras semanas puede ser positivo, especialmente en los Alo-TPH con acondicionamiento de intensidad reducida. Se define la recaída de tres formas: BCR/ABL >0.02 en tres muestras separadas cuatro semanas, incremento del ratio en tres muestras con dos de ellas >0.02 separadas cuatro semanas y dos muestras >0.05 separadas cuatro semanas. Ante este hecho, la primera medida es retirar la inmunosupresión si aún se

estaba pautando. Son varios los tratamientos que pueden aplicarse después de una recaída tras un Alo-TPH, aunque destaca la infusión de linfocitos del donante en dosis escaladas que es efectiva a la hora de inducir remisiones moleculares estables y duraderas especialmente si la recaída es en fase crónica. En ocasiones se ha utilizado conjuntamente con interferón alfa, a pesar de que en la actualidad la tendencia es a hacerlo con imatinib. Los ITKs son, asimismo, una opción válida porque induce remisiones moleculares duraderas en un alto porcentaje de pacientes, siendo el imatinib el más utilizado hasta el momento; si bien, los inhibidores de segunda generación se indican si anteriormente existía resistencia a imatinib. En determinados momentos, pueden ser utilizados en combinación con la infusión de linfocitos del donante, según diversas pautas. Un segundo Alo-TPH es también una opción válida. Algunos grupos han utilizado el imatinib tras el Alo-TPH como profilaxis de recaída con muy buenos resultados y perfil de seguridad. En los pacientes que en algún momento de su evolución han estado en fase acelerada o blástica, los ITKs deben emplearse como profilaxis de la recaída.

## **V. HIPÓTESIS**

Por tratarse de un estudio descriptivo no formulamos hipótesis.

## VI. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Variables	Concepto	Indicador	Escala
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la realización del estudio.	Años cumplidos	Ordinal
Sexo	Estado fenotípico condicionado genéticamente y que determina el género al que pertenece un individuo	Femenino Masculino	Nominal
Signo y síntomas	Síntoma. la referencia subjetiva que da un enfermo por la percepción o cambio que reconoce como anómalo, o causado por un estado patológico o enfermedad  Los signos son las manifestaciones objetivas, clínicamente fiables, y observadas en la exploración médica.	Fiebre Alteración de la conciencia Escalofríos Náuseas y Vomito Taquicardia y Taquipnea hipotensión	nominal
Recuento de glóbulos blancos	Conteo de glóbulos blancos, recuento de leucocitos, es un análisis de sangre que mide el número de estos glóbulos.	Basófilos Eosinófilos Linfocitos (células T y células B) Monocitos Neutrófilos	Ordinal



<p>Recuento de plaquetas</p> <p>Extendido se sangre periférica.</p>	<p>Conteo de plaquetas o conteo de trombocitos es un análisis de sangre para medir la cantidad de plaquetas que hay en la sangre. Intervienen en la hemostasia primaria.</p> <p>Es un examen de sangre que brinda información acerca del número y morfología de las células sanguíneas tanto maduras como inmaduras.</p>	<p>plaquetas</p> <p>Blasto</p> <p>Promielocito</p> <p>Mielocito</p> <p>Metamielocito</p> <p>Bandas</p>	<p>Ordinal</p> <p>Ordinal</p>
<p>Esplenomegalia</p>	<p>Es un agrandamiento patológico del bazo o estructura esplénica más allá de sus dimensiones normales (11 cm). También podría considerarse en función del peso (peso normal en un adulto, en los hombres: 80-200 gramos, en las mujeres: 70-180 gramos, con un promedio de 150 gramos).</p>	<p>Esplenomegalia</p>	<p>Nominal</p>
<p>Hepatomegalia</p>	<p>Es un aumento patológico del tamaño del hígado.</p>	<p>Hepatomegalia</p>	<p>Nominal</p>
<p>Estudio Molecular BCR-ABL cualitativo (RT-PCR) y cuantitativo (qRT-PCR).</p>	<p>Es la técnica PCR con transcripción reversa (RT-PCR), mediante la cual a partir de secuencias del ARN mensajero es posible detectar transcritos de fusión del gen BCR-ABL e identificar</p>	<p>BCR-ABL cualitativo (RT-PCR)</p> <p>BCR-ABL cuantitativo (qRT-PCR).</p>	<p>Ordinal</p>

	diferentes reordenamientos según el punto de ruptura dentro del gen BCR.		
--	--	--	--

## VII. MATERIAL Y MÉTODOS

### VII.1. Tipo de estudio

Se llevó a cabo un estudio descriptivo de corte transversal porque el mismo se realizó mediante una recolección de datos dirigida a evaluar la respuesta hematológica y molecular en los pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016 (ver anexo IX.III. Cronograma).

### VII.2. Área de estudio

El estudio se realizó en el departamento de hematología localizada en el tercer nivel del Hospital Salvador B. Gautier, que se encuentra en la calle Alexander Fleming del ensanche la Fe, Distrito Nacional, área V de salud de la región Metropolitana. Delimitado, al Norte, por la calle General Pérez; al Sur, por la calle Alexander Fleming; al Este, por la calle 39, y al Oeste, por la calle Juan 23. (Ver mapa cartográfico y vista aérea).



Mapa cartográfico



Vista aérea

### VII.3. Universo

El universo estuvo constituido por todos los pacientes con diagnóstico de Leucemia Mieloide Crónica- fase crónica del departamento de hematología del hospital Salvador B. Gautier.

#### VII.4. Muestra

Estuvo constituida por todos los pacientes con diagnóstico de Leucemia Mieloide Crónica-fase crónica del departamento de hematología del hospital Salvador B. Gautier, que estuvieran en tratamiento con inhibidores de Tirosina Quinasa por un periodo de un año o más.

#### VII.5. Criterios

##### VII.5.1. De inclusión

1. Haber cumplido con los criterios clínicos, de laboratorio y molecular para el diagnóstico de Leucemia Mieloide Crónica y con un periodo de un año o más en tratamiento con inhibidores de Tirosina Quinasa.
2. No se discriminara edad ni sexo.

##### VII.5.2. De exclusión

1. No localización de los expedientes clínicos.
2. Expedientes clínicos incompletos.

#### VII.6. Instrumento de recopilación de datos

1. Es un formulario de preguntas estructurada y estandarizadas con el propósito de responder y alcanzar las metas propuestas en los objetivos generales y específicos de esta investigación acerca de la evaluación de la respuesta hematológica y molecular en los pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016 (ver anexo XIII).

#### VII.7. Procedimientos

1. Se realizó la recolección de la información a partir de la historia clínica de los pacientes diagnosticados con leucemia mieloide crónica del departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier.

2. Se procedió a la realización de tabulación en una base de datos y el análisis estadísticos.
3. Con posterioridad se diseñó diagramas; gráficos y tablas porcentuales.
4. Análisis de los resultados, conclusiones y recomendaciones.

#### VII.8. Tabulación

Se procedió al procesamiento ordenado y estructurado con el objetivo de establecer significado estadístico a la información cuantitativa extraída.

#### VII.9. Análisis de los datos

Se procedió a detallar de manera desagregada como texto de contenido la información y los datos plasmados en la estructura de visualización o tabla.

#### VII.10. Consideraciones éticas

El presente estudio se apegara a lo dispuesto en el reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud. Se tomó en consideración lo que establece el título segundo, capítulo I, artículo 13,14 fracción I, se ajustó a los principios éticos y científicos que lo justifiquen.

Fracción VI, se realizó por profesionales de la salud con conocimiento y experiencia para cuidar la integridad del ser humano.

Fracción VII se realizó con la autorización del comité de ética e investigación de la facultad de salud de universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña (UNPHU). Se desarrolló cuando se tuvo la autorización del titular de la institución de atención de la salud y, en su caso, de la secretaria, de conformidad con los artículos 31,62, 69,71 73, y 88 de este reglamento.

## VIII. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

### VIII.1. Resultados del estudio.

Tabla 1. Distribución según la edad de pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016

Rango de edad	Frecuencia	Porcentaje (%)
<20	1	3%
20-30	1	3%
30-40	2	8%
40-50	5	17%
50-60	5	17%
60-70	8	26%
70-80	4	13%
80-90	4	13%
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>100%</b>

Fuente: directamente obtenida de la encuesta del formulario de recopilación de datos, tomados de los record de los pacientes ingresados con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier.

Gráfico 1. Distribución según la edad.

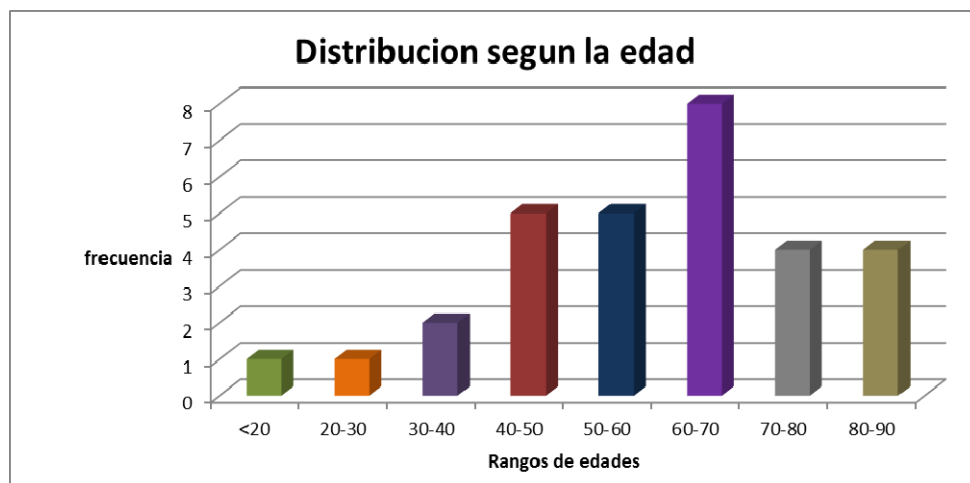


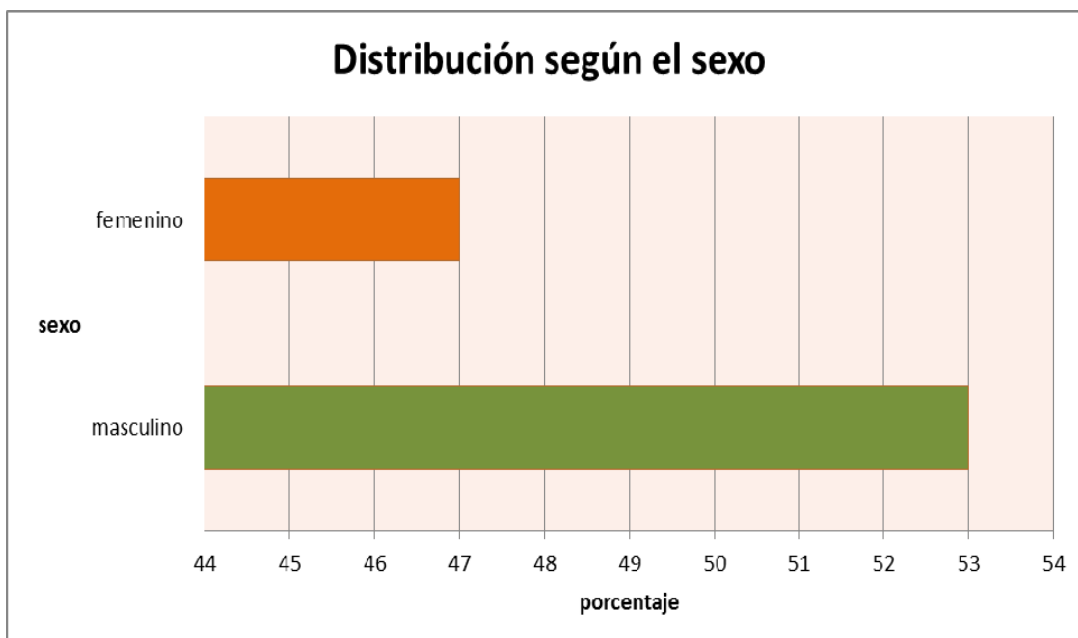
Tabla : cuadro 1

Tabla 2. Distribución según el sexo de pacientes ingresados con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016.

Sexo	Frecuencia	Porcentaje (%)
<b>Masculino</b>	16	53%
<b>Femenino</b>	14	47%
<b>total</b>	30	100%

Fuente: directamente obtenida de la encuesta del formulario de recopilación de datos, tomados de los record de los pacientes ingresados con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier.

Gráfico 2. Distribución según el sexo.



Fuente: Tabla 2.

Tabla 3. Distribución según signos y síntomas que presentaron los pacientes al momento de iniciar tratamiento, con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016.

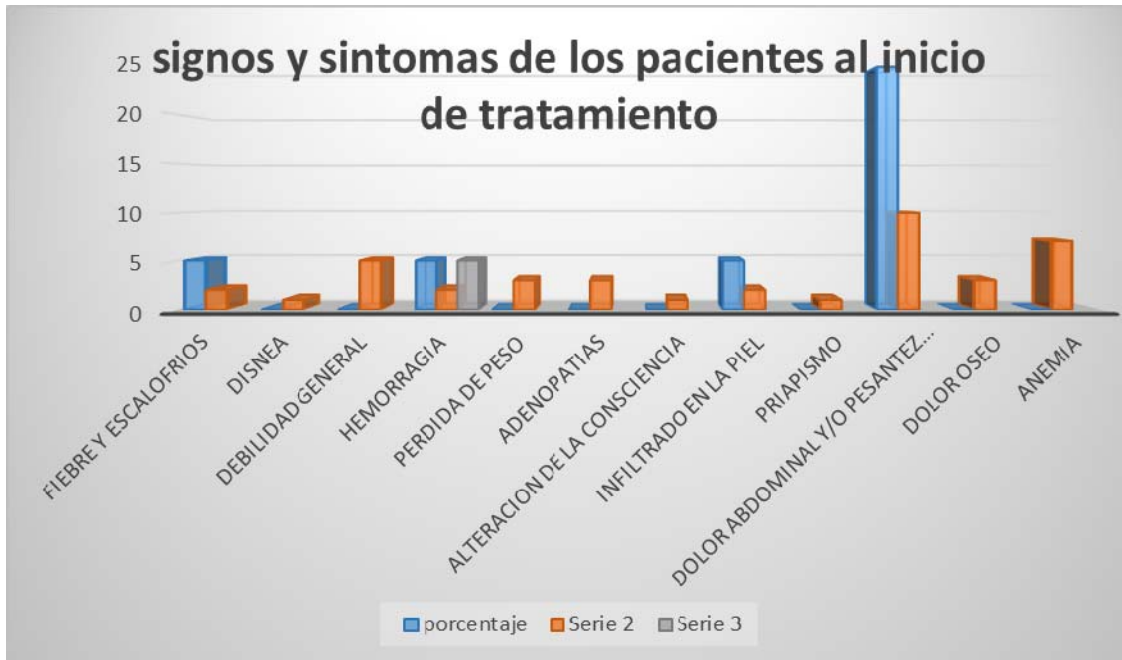
Signos y síntomas.	Frecuencia	Porcentaje. (%)
Fiebre y escalofríos	2	5%
Disnea	1	2.5%
Debilidad general	5	12.5%
Hemorragia	2	5%
Pérdida de peso	3	7.5%
Adenopatías	3	7.5%
Alteración de la consciencia	1	2.5%
Infiltrado en la piel	2	5%
Priapismo	1	2.5%
Dolor abdominal y/o pesantez abdominal	10	25%
Dolor óseo	3	7.5%
Anemia	7	17.5%
<b>Total</b>	<b>40</b>	<b>100%</b>

Fuente: directamente obtenida de la encuesta del formulario de recopilación de datos, tomados de los record de los pacientes ingresados con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier.

Nota: en este cuadro el valor total varia a 40, más del total de los pacientes incluidos en el estudios, debido a que un solo paciente presento más de un síntoma de presentación.



Gráfico 3. Distribución según signos y síntomas de los pacientes al inicio del tratamiento.



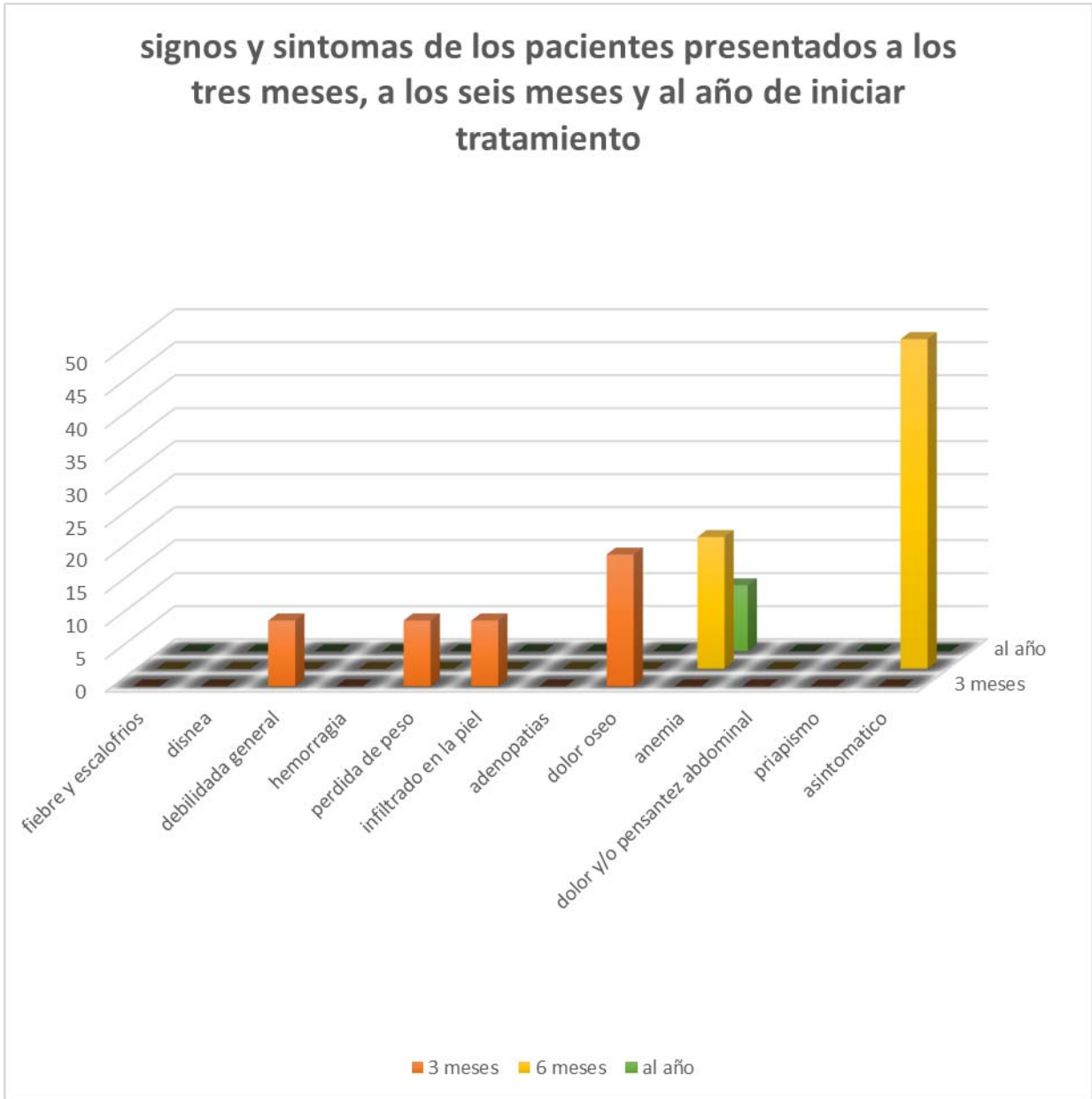
Fuente: Tabla 3.

Tabla 4. Distribución según signos y síntomas que presentaron los pacientes a los tres meses, seis meses y al año de inicial tratamiento con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016.

Signos y síntomas	A los tres meses		A los seis meses		Al año	
	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes
Fiebre y escalofríos	0	0%	0	0%	0	0%
Disnea	0	0%	0	0%	0	0%
Debilidad general	3	10%	1	3.3%	0	0%
Hemorragia	0	0%	0	0%	0	0%
Pérdida de peso	3	10%	1	3.3%	0	0%
Infiltrado en la piel	3	10%	0	0%	1	3.3%
Adenopatías	1	3.3%	1	3.3%	1	3.3%
Dolor óseo	6	20%	2	6.6%	1	3.3%
Anemia	10	33.3%	6	20%	3	10%
Dolor abdominal y/o pesantez abdominal	4	13.3%	4	13.3%	1	3.3%
priapismo	0	0%	0	0%	0	
Asintomático	0	0%	15	50%	23	76.6%
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>100%</b>	<b>30</b>	<b>100%</b>	<b>30</b>	<b>100%</b>

Fuente: directamente obtenida de la encuesta del formulario de recopilación de datos, tomados de los record de los pacientes ingresados con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier.

Gráfico 4. Distribución según signos y síntomas de los pacientes presentados a los tres meses, a los seis meses y al año de iniciar.



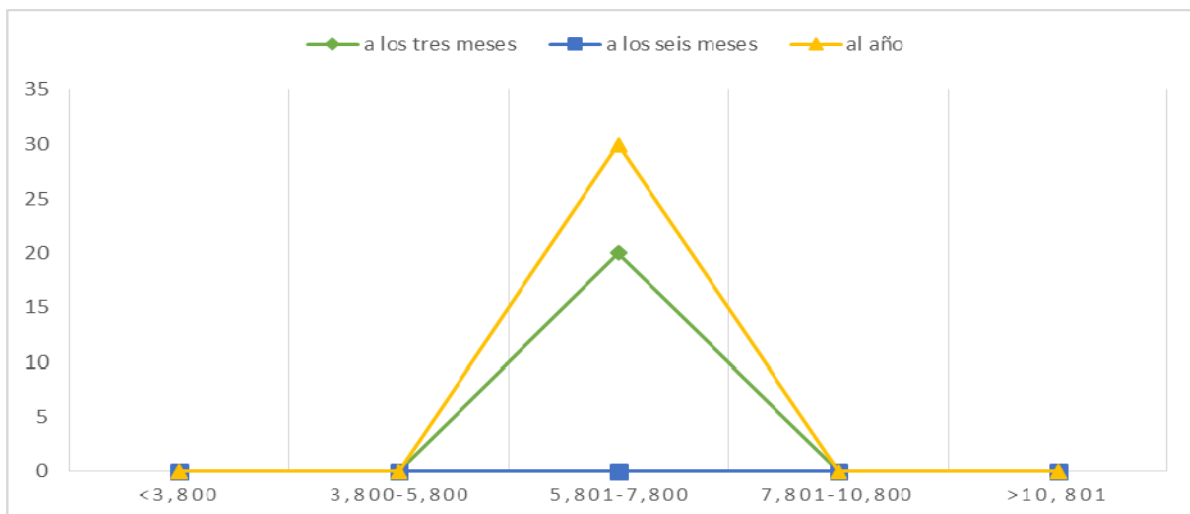
Fuente: Tabla 4

Tabla 5. Evaluación de la respuesta hematológica y molecular en los pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016 según los valores de glóbulos blancos a los tres meses, a los seis meses y al año de iniciar tratamiento.

Valores Glóbulos blancos por K/uL	A los tres mese		A los seis mese		Al año	
	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes
<3,800	2	6.6%	1	3.3%	0	0%
3,800-5,800	8	26.6%	14	46.6%	16	53.33%
5,801-7,800	6	20%	5	16.6%	9	30%
7,801-10,800	4	13.3%	10	33.3%	5	16.66%
>10,801	10	33.3%	0	0%	0	0%
Total	30	100%	30	100%	30	100%

Fuente: directamente obtenida de la encuesta del formulario de recopilación de datos, tomados de los record de los pacientes ingresados con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier.

Gráfico 5. Evaluación de la respuesta hematológica y molecular



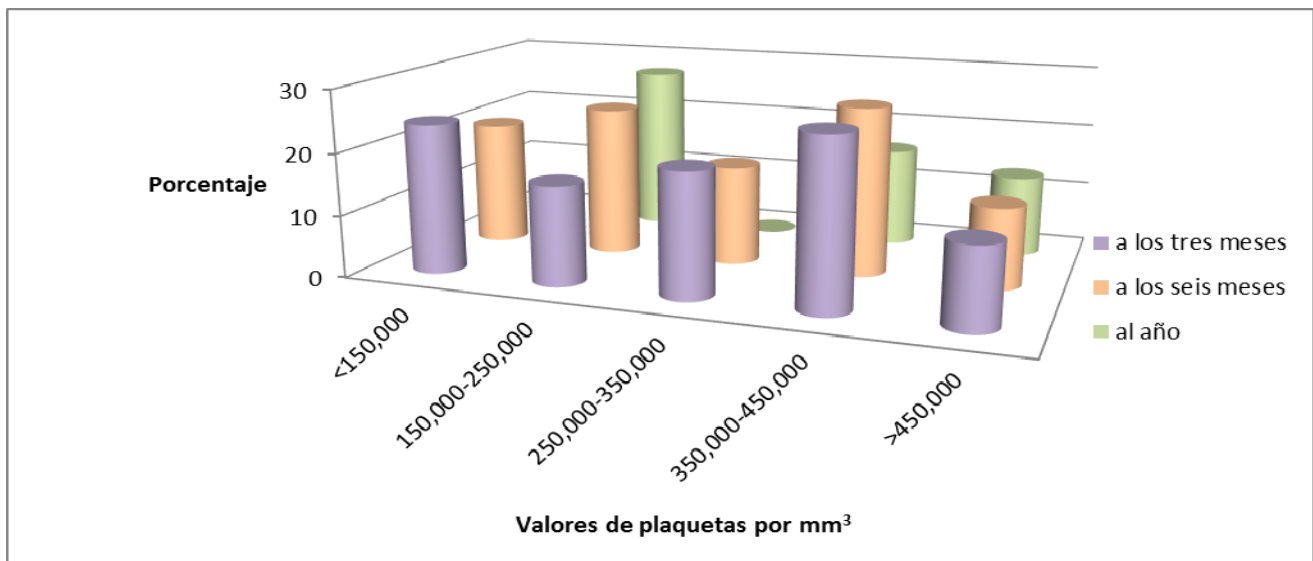
Fuente: Tabla 5

Tabla 6. Evaluación de la respuesta hematológica y molecular en los pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016 según los valores de plaquetas a los tres meses, a los seis meses y al año de iniciar tratamiento.

Valores Plaquetas por mm <sup>3</sup>	A los tres meses		A los seis meses		Al año	
	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes
<150,000	7	24%	6	20%	2	6.66%
150,000-250,000	5	16%	7	24%	8	27%
250,000-350,000	6	20%	5	16%	11	36.6%
350,000-450,000	8	27%	8	27%	5	16%
>450,000	4	13%	4	13%	4	13%
Total	30	100%	30	100%	30	100%

Fuente: directamente obtenida de la encuesta del formulario de recopilación de datos, tomados de los record de los pacientes ingresados con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier.

Gráfico 6. Distribución según Evaluación de la respuesta hematológica y molecular.



Fuente: Tabla 6

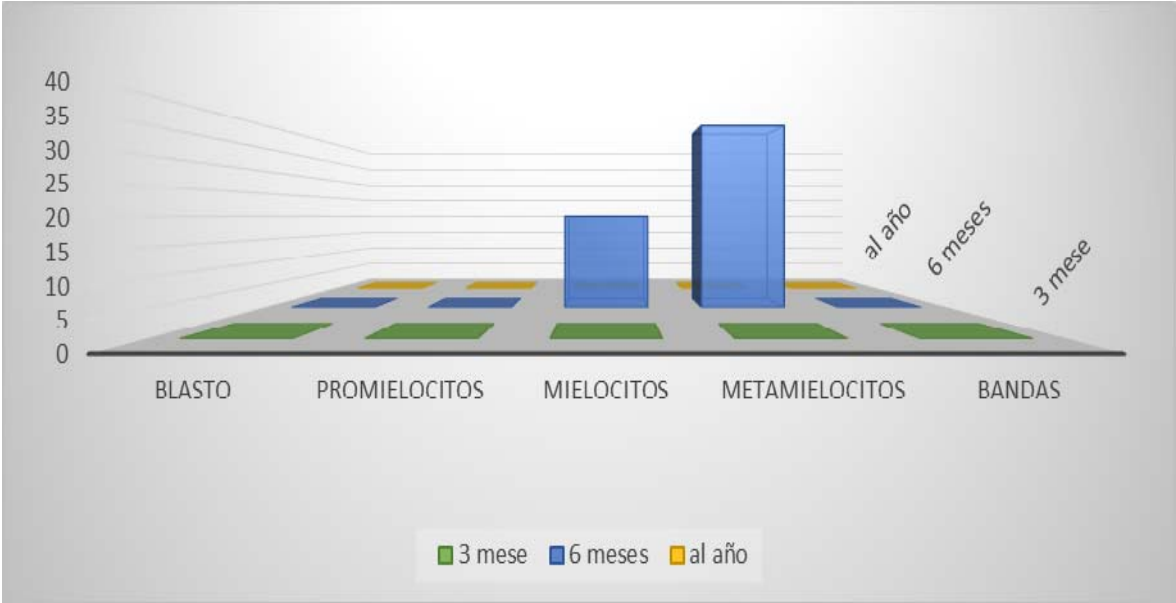
Tabla 7. Evaluación de la respuesta hematológica y molecular en los pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016 según la presencia de células inmaduras en el extendido de sangre periférica a los tres meses, a los seis meses y al año de iniciar tratamiento.

Células inmaduras	A los tres mese		A los seis meses		Al año	
	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes
Blastos	3	6.66%	1	2.2%	0	0%
Promielocitos	6	13.3%	3	6.66%	0	0%
Mielocitos	12	26.6%	9	20%	3	6.66%
Metamielocitos	16	35.5%	18	40%	10	22.2%
Bandas	10	22.2%	14	31,1%	22	48.8%
Total	45	100%	45	100%	45	100%

Fuente: directamente obtenida de la encuesta del formulario de recopilación de datos, tomados de los record de los pacientes ingresados con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier.

Nota: en este cuadro el valor total varia a 45, más del total de los pacientes incluidos en el estudios, debido a que un solo paciente presento más de una células inmadura al momento de realizar el extendido.

Gráfico 7. Distribución según evaluación de la respuesta hematológica y molecular



Fuente: tabla 7

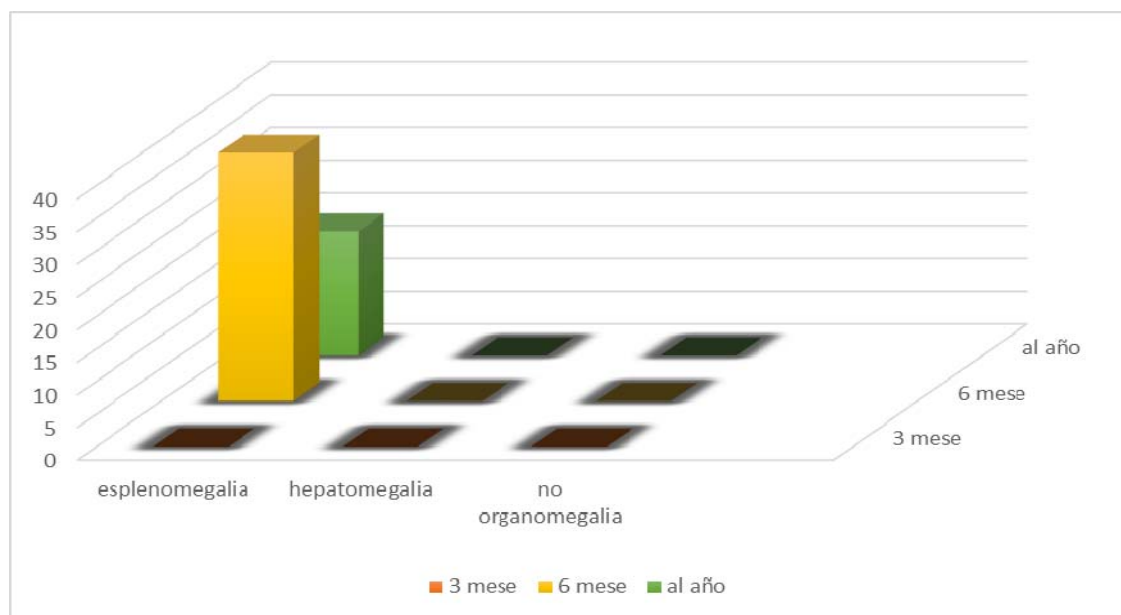
Tabla 8. Evaluación de la respuesta hematológica y molecular en los pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016 según la presencia de hepatomegalia y/o esplenomegalia a los tres meses, a los seis meses y al año de iniciar tratamiento.

	A los tres mese		A los seis mese		Al año	
	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes
Esplenomegalia	20	47.6%	16	38%	8	19%
Hepatomegalia	12	28.5%	9	21.4%	3	7.14%
No organomegalia	10	23.8%	17	40.4%	31	73.8%
Total	42	100%	42	20%	42	100%

Fuente: directamente obtenida de la encuesta del formulario de recopilación de datos, tomados de los record de los pacientes ingresados con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier.

Nota: en este cuadro el valor total varia a 42, más del total de los pacientes incluidos en el estudios, debido a que un solo paciente presento tanto hepatomegalia como esplenomegalia en algún momento de la evaluación.

Gráfico 8. Evaluación de la respuesta hematológica y molecular



Fuente: cuadro 8.

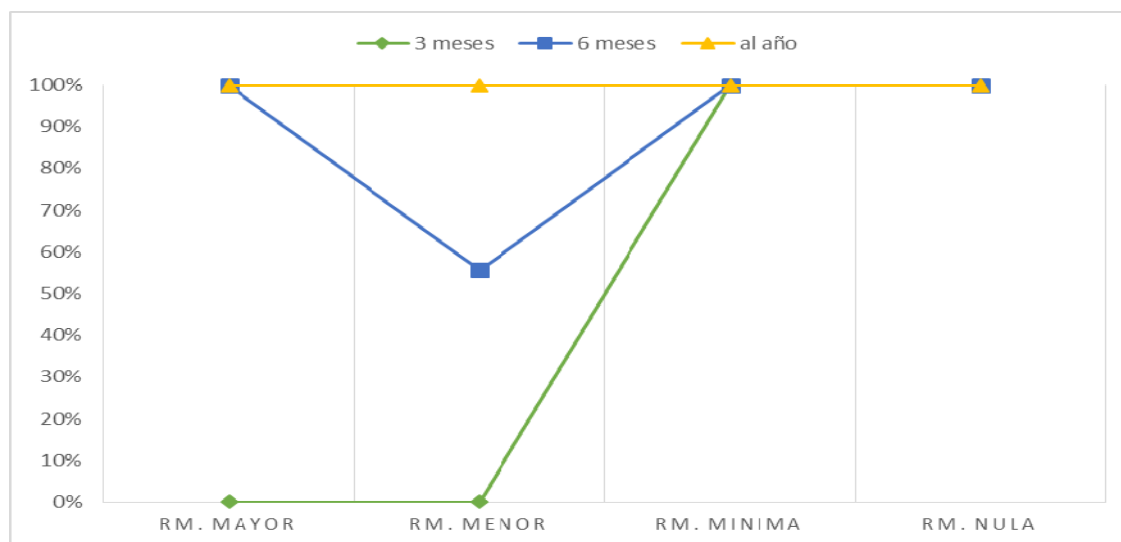


Tabla 9. Evaluación de la respuesta hematológica y molecular en los pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica-fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016 según los transcripto de fusión del gen BCR-ABL y el reordenamiento de los puntos de ruptura del gen BCR a los tres meses, a los seis meses y al año de iniciar tratamiento.

Repuesta molecular	A los tres meses		A los seis mese		Al año	
	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes
RM. Mayor	5	16.6%	18	60%	20	66.66%
RM. Menor	13	43.3%	9	30%	7	24%
RM. Minina	9	30%	2	6.66%	2	6.66%
RM. Nula	3	10%	1	3.33%	1	3.33%
Total	30	100%	30	100%	30	100%

Fuente: directamente obtenida de la encuesta del formulario de recopilación de datos, tomados de los record de los pacientes ingresados con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier.

Gráfico 9. Evaluación de la respuesta hematológica y molecular



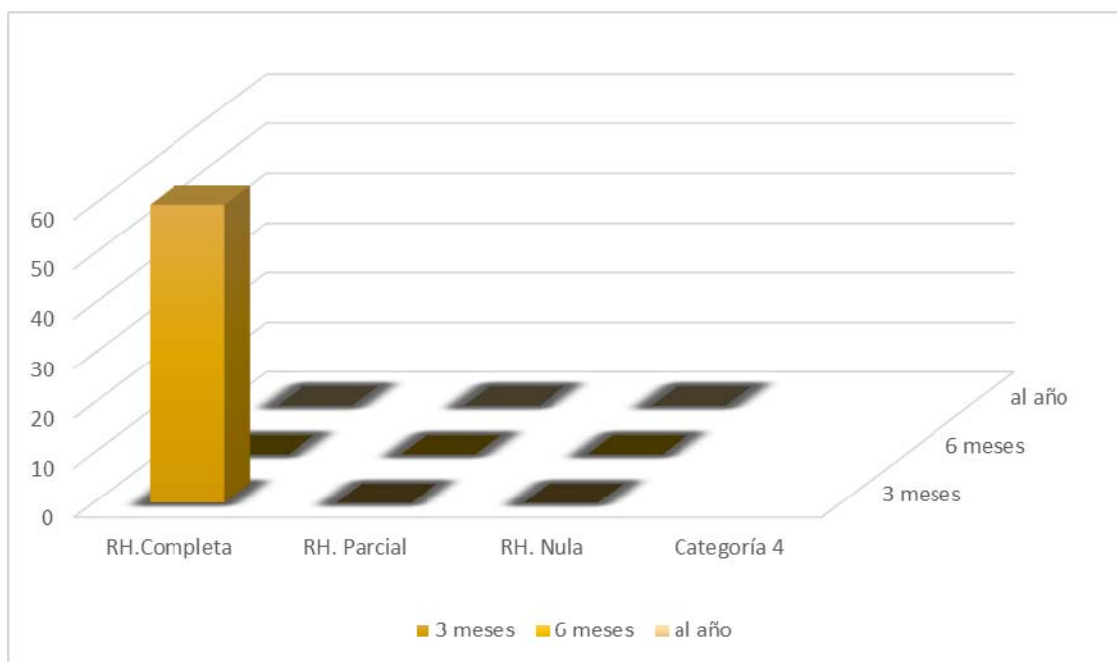
Fuente: cuadro 9.

Tabla 10. Evaluación de la respuesta hematológica de los pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica-fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier durante periodo junio 2014 - julio 2016.

Respuesta hematológica	A los tres mese		A los seis meses		Al año	
	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes	Frecuencia	Porcentajes
RH. Completa	18	60%	22	73.3%	25	83.3%
RH. Parcial	10	33.3%	7	23.3%	4	13.3%
RH. Nula	2	6.66%	1	3.33%	1	3.33%
Total	30	100%	30	100%	30	100%

Fuente: directamente obtenida de la encuesta del formulario de recopilación de datos, tomados de los record de los pacientes ingresados con diagnóstico de leucemia mieloide crónica- fase crónica correspondiente al departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier.

Gráfico 10. Evaluación de la respuesta hematológica y molecular



## IX. DISCUSIÓN

La Leucemia Mieloide Crónica representa el 15-20% de todas las leucemias. Su incidencia en los países occidentales es, aproximadamente, de 1,5 nuevos casos por 100.000 habitantes y año. Puede aparecer a cualquier edad, pero es rara en la infancia y predominando en las edades media y avanzada de la vida, con una mediana de edad en el momento del diagnóstico de alrededor de los 50 años, y una incidencia máxima entre los 30 y los 60 años. Predomina ligeramente en varones, 1,4:1. En nuestro trabajo de investigación avalamos dichos datos estadísticos, en donde presentamos un ligero predominio masculino y una edad de presentación en etapa avanzada de la vida.

Es frecuente la esplenomegalia y los síntomas relacionados: pesadez postprandial, la saciedad precoz o fenómenos compresivos abdominales (típicamente en el hipocondrio izquierdo). En esta investigación se observa que la esplenomegalia es el hallazgo físico más frecuente, coincidiendo con el síntoma de pesantez abdominal con uno de los más presentado en el grupo de paciente estudiado, y se determinó que está en relación con las cifras leucocitarias, y se observa una importante disminución de su frecuencia que medida que avanza el tratamiento.

La respuesta hematológica completa (RHC): Sin signos ni síntomas de LMC. Recuento de GB  $<10 \times 10^9/L$ . Basófilos  $<5\%$ . Plaquetas  $<450 \times 10^9/L$ . Ausencia de células inmaduras y blastos, promielocitos o metamielocitos en sangre periférica (SP). La respuesta hematológica completa se refiere a la normalización de los recuentos sanguíneos durante al menos cuatro semanas que determinan claramente en qué medida se pudo controlar la anomalía más evidente de la enfermedad (es decir, la proliferación de glóbulos blancos). Durante la respuesta hematológica, es posible que se sigan detectando células del cromosoma Ph positivo (Ph+). Esta puede ser: Respuesta hematológica parcial (RHP): Recuento leucocitario normal con persistencia de esplenomegalia o células inmaduras o trombocitosis  $< 50\%$  comparado con los niveles antes del tratamiento. Basándonos en lo anterior expuesto la mayoría de nuestro pacientes sometido al estudio obtuvieron una respuesta hematológica completa luego de los seis meses de tratamiento y al año,

conjuntamente se observó que en esas evaluaciones a los seis meses y al año, los pacientes presentaron mejores valores de plaquetas, leucocitos, ausencia de células inmadura o disminución importante de la misma en le extendido, e incluso normalización de la hemoglobina.

El estudio BCR/ABL cualitativo (RT-PCR) detecta la presencia del reordenamiento BCR/ABL1 con alta sensibilidad. Es una metodología de alta sensibilidad que permite cuantificar los transcritos BCR-ABL respecto de un gen control (ABL). La introducción de imatinib (IM) y de los ITKs de segunda generación (nilotinib y dasatinib) en el arsenal terapéutico de la LMC, han cambiado radicalmente no sólo el tratamiento y pronóstico de la LMC, sino también el seguimiento clínico, citogenético y molecular de los pacientes. Mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (RQ-PCR) para detectar BCR-ABL1, es posible monitorizar la cantidad de enfermedad residual o respuesta molecular que presenta un paciente durante el curso del tratamiento. La correcta cuantificación de la respuesta molecular mediante la RQPCR es fundamental, ya que tiene implicaciones pronósticas en la evolución de los pacientes y en la toma de decisiones terapéuticas. Con la reciente aprobación del uso de nilotinib y dasatinib en el tratamiento de primera línea, la profundidad de la respuesta molecular (RM) es mayor y la monitorización de BCR-ABL1 toma todavía más importancia clínica. Este dato queda confirmado en este estudio de investigación donde observamos que es directamente proporcional la mejoría clínica y la respuesta molecular con el apego al tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, observándose mayor respuesta en las evaluaciones realizada a los seis meses y al año, a la vez se observa que el único paciente que suspendió el tratamiento presenta un retroceso en la respuesta molecular.

## X. COCLUSIONES

Analizados los resultados se ha llegado a las siguientes conclusiones:

1. Durante el periodo enero-mayo 2014 en el departamento de hematología del hospital salvador B. Gautier hubo un total de 33 paciente con el diagnostico de leucemia mieloide crónica, registrados en los archivo del departamento, de los cuales 3 pacientes habían fallecido y 29 pacientes habían recibido tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa por más de un año y un paciente era de recién diagnóstico.
2. De los 30 pacientes con diagnostico de leucemia mieloide crónica, registrados en los archivo del departamento de hematología del hospital Salvador B. Gautier 26% se encontraban en edades comprendidas 60-69 representando estos el mayor porcentaje de edad y un 3% se encontraba en edades <20 años representando estos el menor porcentaje. (Ver tabla y grafico 1).
3. Del total de los pacientes, 16 eran de sexo masculino representando un 53% y 14 eran de sexo femenino representando un 47%.(ver tabla y grafico 2).
4. El síntoma más frecuente al iniciar tratamiento fue el dolor y pesantez abdominal con un total de 10 paciente que represento un 25% de los casos, seguido de anemia con un 7.5% y los signos y síntomas menos frecuente fueron alteración de la consciencia, disnea y priapismo con un 2.55 de los casos cada uno. (Ver tabla y grafico 3).
5. Estas frecuencia de los síntomas cambiaron a los tres meses de iniciar el tratamiento, siendo la anemia el hallazgo más frecuente luego de los paciente tener tres meses con tratamiento con inhibidor de tirosina quinasa, con un total de 10 pacientes representando el 33.3%, seguido de dolor óseo con un 20% de los casos, ya a los 6 meses y al año de tratamiento se observa una disminución importante de los síntomas referidos por los pacientes, habiendo hasta un 50% de los pacientes asintomático a los seis meses y un 76.6% al año. (Ver tabla y grafico 4).
6. La leucocitosis (valores de glóbulos blancos mayor de 10, 801) fue un hallazgo del hemograma frecuente en los paciente con apenas tres meses de tratamientos, observándose una notable normalización de los valores de

glóbulos blanco a medida que los paciente se apegaban al tratamiento a los seis meses y al año. (Ver tabla y grafico 5).

7. Las mayorías de los pacientes se mantuvieron con valores de plaquetas normales en las mayorías de las etapas de evaluación, excepto 7 pacientes que presentaron trombocitopenia a los tres meses de tratamiento persistiendo la trombocitopenia en 2 pacientes al año de tratamiento. La trombotosis fue menos frecuentes apareciendo en solo 4 pacientes. (Ver tabla y grafico 6).
8. La presencia de células inmaduras en el extendido de sangre periférica fueron frecuentes en la mayoría de los pacientes al inicio de tratamiento y en los primero 3 meses, disminuyendo de manera notable luego de los seis meses de tratamiento, principalmente los blastos y los promielocitos. (Ver tabla y grafico 7).
9. La esplenomegalia fue el hallazgo más frecuente al examen físico de los pacientes, tanto al inicio del tratamiento como en los primeros meses con un total de 47.6% del total de paciente, disminuyendo a los seis meses y al año de tratamiento. (Ver tabla y grafico 8).
10. La respuesta molecular menor fue la más frecuente en la evaluación realizada a los tres meses con un total de 43.3% de los pacientes, seguida de la respuesta molecular mayor con 16.6%, en la evaluación realizada a los seis meses, se observa un aumento del porcentaje de los paciente con respuesta molecular mayor con un 60% de los casos aumentando dicha respuesta en la evaluación del año de tratamiento con un 66.6%, solo un paciente presento respuesta molecular nula. (Ver tabla y grafico 9).
11. La respuesta hematológica completa fue la más frecuente en la evaluación realizada a los tres meses con un total de 60% de los casos, duplicándose a un 83.3% en la evaluación realizada al año de tratamiento. (Ver tabla y grafico 10).

## **XI. RECOMENDACIONES.**

Es recomendable que a todo paciente con diagnóstico de leucemia mieloide crónica sean tratados con inhibidores de tirosina quinasa, inmediatamente se realice el diagnóstico, al igual se recomienda que sean estadificados con estudios citogenética y molecular.

Es importante ante todo paciente que inmediatamente se inicie tratamiento, se realicen evaluaciones cada tres meses para evaluar tanto la respuesta hematología, molecular y citogenética, y que en base a dichas respuesta debe basarse el manejo terapéutico.

Sería de gran importancia que en nuestro país se realicen más estudio relacionado al tema, en vista de que en el país no existía hasta el momento un trabajo de investigación relacionado con el tema, sería oportuno la realización de otras investigaciones en otros centros de salud correspondiente al sistema de salud pública.

Recomendamos que se implante una política pública por parte del estado, para la realización obligatoria de la prueba citogenética y molecular a todo paciente que presente diagnóstico de leucemia mieloide crónica.

Recomendamos ampliar los programas de altos costo del sistema de salud pública, de manera que todo paciente con diagnóstico de LMC tengan acceso al tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa, no solo de primera generación, sino también de segunda y tercera generación.

Al implementar todas estas recomendaciones, se mejoraría considerablemente la calidad de vida de los paciente con leucemia mieloide crónica, disminuiría la mortalidad en este grupo de paciente en república dominicana, al igual que disminuiría el alto costo que significa para estado dominicano el sostenimiento de las complicaciones y comorbilidades de los paciente con leucemia mieloide crónica con tratamiento inadecuado.

## XII. REFERENCIAS

1. Arthur c. guyton and john. e. hall, tratado de fisiología medica, duodécimo segunda edición, estados unidos, interamericana. mcgraw-hill, 2011.
2. Velasco F, López-Pedreira Ch, Dobado-Berrios PM, Torres A. Activación de la vía extrínseca en la coagulación intravascular diseminada: fisiopatología y control terapéutico. Rev Iberoamer Tromb Hemost 2000;
3. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med -1992.
4. Esteban a, frutos-vivar f, ferguson nd, peñuelas o, lorente ja, gordo f et al. sepsis incidence and outcome: contrasting the intensive care unit with the hospital ward. crit care med 2007.
5. Corwin HL, Krantz SB. Anemia in the critically ill: “acute” anemia of chronic disease. Crit Care Med 2000.
6. Dr. Carlos lovesio, libro medicina intensiva, dr. carlos lovesio, novena ediccion, buenos aires, editorial el ateneo, (2006).
7. Mandell, douglas y bennett. enfermedades infecciosas, principios y prácticas, séptima ediccion, barcelona, españa, copyright \_ mmx elsevier inc. all rights reserved, 2012.
8. longo, fauci, kasper, hauser, jameson, loscalzo, harrison, principios de medicina interna, 18ª edición, estados unidos, mcgraw-hill interamericana editores, s. a. 2012.
9. Esteban a, frutos-vivar f, ferguson nd, peñuelas o, lorente ja, gordo f et al. sepsis incidence and outcome: contrasting the intensive care unit with the hospital ward. crit care med 2007.
10. Dellinger rp, levy mm, carlet jm, bion j, parker mm, jaeschke r et al. surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. Intensive care med 2008.
11. Torradabella p, martín mc. sepsis grave, shock séptico y disfunción orgánica. en: nicolás jm, ruiz j, jiménez x, et a, edits. enfermo crítico y emergencias. Barcelona: elsevier españa, 2011.



12. Farreras • rozman, medicina interna, decimoséptima edición, barcelona, España, © elsevier s.l.2012.
13. Alberti c., brun-buisson c., goodman s., for the european sepsis group: influence of systemic inflammatory response syndrome and sepsis on outcome of critically ill infected patients. am j respir crit care med 2002.
14. Lee Goldman, md, andrew i. schaffer, md, goldman's, cecil medicine, 24th edition, philadelphia, estados unidos, elsevier copyright © 2012.
15. Iván palomo g., jaime pereira g., julia palma b. hematología fisiopatología y diagnóstico, editorial universidad de talca- chile, julio de 2009.
16. Hernan velez a. williams rojas. jaime borrero.r. jorge restrepo.m. fundamento de hematologia, sexta ediccion, estados unidos. elsevier copyright. 2011
17. Kenneth kaushansky, ernest beutler, uri seligsohn, marshall a. lichtman, thomas j. kipps, josef t. prchal, williams hematology, eighth edition, estados unidos, copyright © 2010, by the mcgraw-hill.
18. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med -1992.
19. Goldstein B, Giroir B, Randolph A, et al. International pediatric sepsis consensus conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. Pediatr Crit Care Med.
20. focaccia, r. veronesi: tratado de infectología. tercera ediccion. são paulo: Brasil, 2005.
21. Emilio cecchini, infectología y enfermedades infecciosas. octava edición, copyright, 2013.
22. Abelardo García, Lorenzo Mateos, Manuel Quintana Díaz, Revista Electrónica de Medicina Intensiva Artículo nº C20. Vol. 4 nº 12, diciembre 2004.
23. Velasco F, López-Pedrerá Ch, Dobado-Berrios PM, Torres A. Activación de la vía extrínseca en la coagulación intravascular diseminada: fisiopatología y control terapéutico. Rev Iberoamer Tromb Hemost 2000;
24. Marshall JC. Inflammation, coagulopathy, and the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndromes. Crit care Med 2001.

25. Corwin HL, Krantz SB. Anemia in the critically ill: "acute" anemia of chronic disease. Crit Care Med 2000.
26. Surviving Sepsis Campaign Guidelines for Management of Severe Sepsis and the Septic Shock. Society Critical Care Medicine. Revised June 2004.
27. [www.intermedicina.com/Servicios/especialidades/hemato.htm](http://www.intermedicina.com/Servicios/especialidades/hemato.htm) Revista Cubana de Hematología Inmunología y Hemoterapia.
28. [www.portalesmedicos.com](http://www.portalesmedicos.com). Cuidados Intensivos. Cuidados Críticos. La revista Chilena de Medicina Intensiva es el órgano Oficial de la Sociedad Chilena de Medicina.

### XIII. ANEXOS

#### XIII.1. Cronograma

Variables	Tiempo: 2015-2017	
Selección del tema	2015	Octubre
Búsqueda de referencias		Octubre-abril
Elaboración del anteproyecto		Octubre-noviembre
Sometimiento y aprobación del anteproyecto		Diciembre
Ejecución de las encuestas	2017	Enero
		Febrero
Tabulación y análisis de la información		Febrero
		Febrero
Redacción del informe		Febrero
Revisión del informe		Marzo
Encuadernación		Abril
Presentación		junio

### XIII.2. INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE LOS DATOS

EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA HEMATOLÓGICA Y MOLECULAR EN LOS PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA- FASE CRÓNICA EN TRATAMIENTO CON INHIBIDORES DE TIROSINA QUINASA, CORRESPONDIENTE AL DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGÍA DEL HOSPITAL SALVADOR B. GAUTIER DURANTE PERIODO JUNIO 2014 - JULIO 2016

Fecha: \_\_\_\_\_

Expediente: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ años

Sexo:  Fem  Masc

1. Presencia de signos y síntomas. ¿Cuáles signos y síntomas de leucemia mieloide crónica, presento el paciente al inicio de tratamiento, a los 3 meses, a los 6 meses y al año?

Signos y síntomas	Al inicio de tratamiento	A los 3 meses de tratamiento	A los 6 meses de tratamiento	Al año de tratamiento
Fiebre				
Escalofríos				
Disnea				
Pérdida de peso				
Adenopatías				
Infiltrado en piel				
Priapismo				
Anemia				
Debilidad general				
dolor óseo				
Hemorragia				
Dolor abdominal y/o pesantez abdominal				
Alteración de la conciencia				

Astenia				
cefalea				

2. Recuento de glóbulos blanco. ¿Qué valores de glóbulos blancos presento el paciente al inicio de tratamiento, a los 3 meses, a los 6 meses y al año?

Glóbulos blancos	Al inicio de tratamiento	A los 3 meses de tratamiento	A los 6 meses de tratamiento	Al año de tratamiento
Neutrófilos				
Basófilos				
Eosinófilos				
Linfocitos				
bandas				

3. Recuento de plaquetas. ¿Qué valores de plaquetas presento el paciente al del inicio de tratamiento, a los 3 meses, a los 6 meses y al año?

Valores de plaquetas	Al inicio de tratamiento	A los 3 meses de tratamiento	A los 6 meses de tratamiento	Al año de tratamiento
plaquetas				

4. Ausencia o presencia de células inmaduras (Blastos, Promielocitos, Metamielocitos) en sangre periférica al inicio de tratamiento, a los 3 meses, a los 6 meses y al año.

Células inmaduras	Al inicio de tratamiento	A los 3 meses de tratamiento	A los 6 meses de tratamiento	Al año de tratamiento
Blastos				
Promielocitos				
Mielocitos				
Metamielocitos				
bandas				

5. Persistencia de esplenomegalia y/o hepatomegalia al examen físico o por sonografía al inicio de tratamiento, a los 3 meses, a los 6 meses y al año.

Células inmaduras	Al inicio de tratamiento	A los 3 meses de tratamiento	A los 6 meses de tratamiento	Al año de tratamiento
Esplenomegalia				
Hepatomegalia				

6. Cuantificación de los transcripto de fusión del gen BCR-ABL y el reordenamiento de los puntos de ruptura del gen BCR al inicio de tratamiento, a los 3 meses, a los 6 meses y al año y respuesta hematológica.

Respuesta molecular	Al inicio de tratamiento	A los 3 meses de tratamiento	A los 6 meses de tratamiento	Al año de tratamiento
RM. Mayor				
RM. Menor				
RM. Mínima				
RM. Nula				

Respuesta hematológica	Al inicio de tratamiento	A los 3 meses de tratamiento	A los 6 meses de tratamiento	Al año de tratamiento
RH. Completa				
RH. Parcial				
RH. Nula				

### XIII.3. Costos y recursos

IXIII.3.1. Humanos			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 sustentante</li> <li>• 1 asesor (metodológico y clínico)</li> <li>• Personal médico calificado en número de cuatro</li> <li>• Personas que participaron en el estudio</li> </ul>			
XIII.3.2. Equipos y materiales	Cantidad	Precio	Total
Papel bond 20 (8 1/2 x 11)	1 resmas	80.00	240.00
Papel Mistique	1 resmas	180.00	540.00
Lápices	2 unidades	3.00	36.00
Borras	2 unidades	4.00	24.00
Bolígrafos	2 unidades	3.00	36.00
Sacapuntas	2 unidades	3.00	18.00
Computador Hardware: Pentium III 700 Mhz; 128 MB RAM; 20 GB H.D.;CD-ROM 52x Impresora HP 932c Scanner: Microteck 3700 Software: Microsoft Windows XP Microsoft Office XP MSN internet service Omnipage Pro 10 Dragon Naturally Speaking Easy CD Creator 2.0 Presentación: Sony SVGA VPL-SC2 Digital data projector			
Cartuchos HP 45 A y 78 D	2 unidades	600.00	1,200.00
Calculadoras	2 unidades	75.00	150.00
XIII3.3. Información			
Adquisición de libros Revistas Otros documentos Referencias bibliográficas			

(ver listado de referencias)			
XIII.3.4. Económicos*			
Papelería (copias )	1200 copias	00.35	420.00
Encuadernación	12 informes	80.00	960.00
Alimentación			1,200.00
Transporte			5,000.00
Inscripción al curso			2,000.00
Inscripción del anteproyecto			
Inscripción de la tesis			
Imprevistos			
			Total \$11,824.00

\* Los costos totales de la investigación fueron cubiertos por el sustentante.



## XII.4. Evaluación

Sustentante:

---

Dra. Ada Marlena Guzmán Morales

Asesores

---

Dra. Claridania Rodríguez Berroa

Metodológico

---

Dr. Cesar A. Matos Moronta

Clínico

Jurado:

---

Autoridades:

---

Dr. Cesar Augusto Matos Moronta

Coordinador de la Residencia

---

Dr. Pedro Sing Ureña

Jefe Departamento de Hematología

---

Dr. John González

Jefe de Enseñanza e investigaciones científicas

Autoridades:

---

Dr. William Duke

Decano Facultad de Ciencias de la Salud

Fecha de presentación: \_\_\_\_\_

Calificación: \_\_\_\_\_