

Evaluación de la respuesta molecular profunda sostenida (RM^{4.0}, RM^{4.5}, RM^{5.0}) en población argentina con leucemia mieloide crónica tratada con inhibidores de tirosina kinasa

Evaluation of the sustained deep molecular response (RM^{4.0}, RM^{4.5}, RM^{5.0}) in the Argentine population with chronic myeloid leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors.

Ferrulli M¹, Icardi G², Martorell Caro M¹, Bianchini M³, Larripa I⁴

¹ IIHEMA, Academia Nacional de Medicina (ANM)

² Laboratorio de Salud Pública de Tucumán

³ CIO-Fuca, Instituto Alexander Fleming, Buenos Aires

⁴ Lab. Genética Hematológica IMEX. CONICET-ANM

ibl@hematologia.anm.edu.ar

Trabajo presentado en sesión plenaria a premio en el marco del XXIII Congreso Argentino de Hematología.

Fecha recepción: 23/03/2018

Fecha aprobación: 19/04/2018



ARTÍCULO ORIGINAL

HEMATOLOGÍA
Volumen 22 n° 1: 7-12
Enero - Abril 2018

Palabras claves: leucemia mieloide crónica, respuesta molecular, remisión libre de tratamiento, transcritos BCR-ABL1.

Keywords: CML, molecular response, TFR, BCR-ABL1 transcripts.

Resumen

La mayoría de los pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC) en fase crónica en tratamiento con inhibidores de tirosina kinasa (ITK) alcanzan respuesta molecular (RM) profunda, lo cual determina bajo riesgo de progresión y supervivencia de largo plazo. Varios ensayos clínicos han mostrado que los pacientes que han logrado una respuesta molecular estable y sostenida en el tiempo pueden discontinuar el tratamiento con ITK y mantener una remisión libre de tratamiento (RLT). La reducción logarítmica

de los transcritos BCR-ABL1 en escala internacional (EI) define el nivel de profundidad que los pacientes han alcanzado después del tratamiento. La RM^{4.0}, RM^{4.5} o RM^{5.0} corresponde a $\leq 0,01\%$, $\leq 0,0032\%$ y $\leq 0,001\%$ niveles de transcritos BCR-ABL1 respectivamente.

El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de casos con LMC con seguimiento regular en la Academia Nacional de Medicina que se encuentran en condiciones de discontinuar del tratamiento en la

vida real. Para realizar la selección se tuvo en cuenta: presencia de transcriptos típicos (b2a2 ó b3a2), $RM \leq 4.0$ sostenida por ≥ 24 meses y tratamiento con ITK por más de 54 meses.

Desde marzo 2009 hasta septiembre de 2017 ingresaron 2.449 pacientes. De éstos se seleccionaron 539 casos que tenían tratamiento ininterrumpido ≥ 54 meses (rango 54-96 meses). Dentro de esta cohorte 192/539 (36%) tenían una $RM \geq 4$ log sostenida por

≥ 24 meses (rango 24-72 meses), los restantes casos 347/539 (64%) tenían $MR < 4.0$.

Analizando nuestra base de datos hemos podido identificar un grupo de 192 casos que representa un 8% (192/2449) del total de casos ingresados a nuestro centro que se encuentran en condiciones de suspender el tratamiento bajo estricto control molecular.

Abstract

Most patients with chronic phase CML in treatment with tyrosine kinase inhibitors (TKI) achieve profound molecular responses, which determine a very low risk of progression and a high rate long-term survival. Several clinical trials have shown that patients with sustained deep and stable molecular response can safely discontinue ITK therapy, achieving treatment-free remission (TFR). The logarithmic reduction of the *BCR-ABL1* transcripts in international scale (IS) defines the level of depth that the patient has achieved after treatment. The $MR^{4.0}$, $MR^{4.5}$ or $MR^{5.0}$ correspond to $\leq 0.01\%$, $\leq 0.0032\%$, and $\leq 0.001\%$ transcript levels respectively.

The objective of this work was to determine the frequency of cases with typical *BCR-ABL1* transcripts (b2a2 or b3a2) that achieve deep molecular response ($MR \geq 4.0$) sustained for ≥ 24 months in patients with CML treated with ITKs for ≥ 54 months and

monitored at the National Academy of Medicine, in order to estimate the number of cases that would be able to be included in a discontinuation protocol in the real life.

From 2009 to date, 2.449 patients were studied. Of these, only those cases that had a follow-up of at least 54 uninterrupted months (range of 54 to 96 months) were selected, which allowed to choose a group of 539 cases. Within this cohort, 192/539 (36%) cases were identified with deep $MR \geq 4$ logs reduction ($MR^{4.0}$, $MR^{4.5}$, $MR^{5.0}$), sustained for a period ≥ 24 months (range 24-72 months); the remaining patients, 347/539 (64%) had $MR < 4.0$.

Analyzing our casuistry we have been able to identify a group of 192 cases that represent 8% (192/2449) of the total of patients monitored in our center that would be able to discontinue treatment under strict molecular control.

Introducción

El advenimiento de los inhibidores de tirosina kinasa (ITK) ha producido una verdadera revolución en el tratamiento y pronóstico de los pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC), dado que los mismos actúan inhibiendo específicamente la oncoproteína BCR-ABL1 responsable de la etiopatogenia de la enfermedad. Teniendo en cuenta la excelente respuesta observada en la mayoría de los casos, la LMC es considerada, actualmente, el paradigma de la terapia dirigida contra el cáncer.

La alteración genética característica de la LMC es la $t(9;22)(q34;q11)$, la cual determina la yuxtaposición de las secuencias *BCR* y *ABL1*, originando el gen de fusión *BCR-ABL1*, que codifica la proteína oncogénica BCR-ABL1 (P210), la cual desregula la

proliferación, diferenciación y apoptosis celular.

La respuesta al tratamiento se evalúa a nivel hematológico, citogenético y molecular teniendo en cuenta el tiempo que demora el paciente en alcanzar cada una de ellas. Numerosos trabajos han podido demostrar que la respuesta genética se asocia con la respuesta clínica, incluyendo sobrevida global, sobrevida libre de progresión y sobrevida libre de evento⁽¹⁻⁴⁾. Debido a la fuerte asociación entre la respuesta molecular (RM) y los resultados a largo plazo, es que los estudios moleculares actualmente juegan un rol esencial en el manejo clínico del paciente^(5,6).

La cuantificación de los transcriptos *BCR-ABL1* usando la metodología de *real time* con sonda taq-

man (qRT-PCR) en escala internacional (EI) es considerado el *gold standard* para realizar el monitoreo molecular de los pacientes bajo tratamiento con ITKs⁽⁷⁾. El European Leukemia Net (ELN) considera que una respuesta óptima al tratamiento implica un nivel de transcritos *BCR-ABL1* $\leq 10\%$ a los 3 meses, $\leq 1\%$ a los 6 meses y $\leq 0.1\%$ a los 12 meses. Los pacientes con niveles de transcritos $\geq 10\%$ a los 6 meses y $\geq 1\%$ a los 12 meses son considerados con fallo a la terapia, por lo cual se recomienda un cambio de ITK⁽⁵⁾.

La mayoría de los pacientes con LMC en fase crónica tratados in ITK alcanzan una RM profunda (reducción de los transcritos ≥ 4 log), lo cual se asocia con una supervivencia larga con muy bajo riesgo de progresión^(4,8). Varios ensayos clínicos han demostrado que aproximadamente el 40% de los pacientes con RM profunda y sostenida pueden suspender con seguridad el tratamiento y alcanzar una remisión libre de tratamiento o TFR (*Treatment Free Remission*)⁽⁹⁻¹⁶⁾. Por lo tanto es de fundamental importancia la selección de los casos que se encuentran en condiciones de interrumpir el tratamiento.

Objetivo

Determinar la frecuencia de casos con transcritos *BCR-ABL1* típicos (b2a2 ó b3a2) que logran respuesta molecular profunda (RM ≥ 4.0) sostenida por ≥ 24 meses en pacientes con LMC tratados con ITKs por ≥ 54 meses y monitoreados en la Academia Nacional de Medicina, con la finalidad de poder estimar el número de casos que estarían en condiciones de ser incluidos en protocolos de discontinuación.

Material y métodos

Monitoreo molecular de los pacientes con LMC

Se realizó la extracción de RNA a partir de una muestra de sangre periférica extraída con EDTA (7 ml), mediante el método trizol-cloroformo. La cuantificación relativa de los transcritos *BCR-ABL1* (P210) respecto al gen control *ABL1* se realizó mediante *real time* PCR (qRT-PCR) utilizando el kit Molecular MD y el equipo Rotor Gene (Qiagen). Este kit se basa en la técnica Taqman, incluye los *primers* y sondas para detectar el reordenamiento *BCR-ABL1* y el gen control. Además posee plásmidos en diluciones seriadas para realizar las curvas de calibración de cada gen y controles de respuesta

molecular nula, mayor y completa. Los valores se expresan en escala internacional teniendo en cuenta el factor de conversión de nuestro laboratorio (0,7).

Análisis de los datos

Los datos de los pacientes y los resultados de los estudios fueron ingresados a una base de datos diseñada especialmente para el seguimiento de estos pacientes. Dicha base de datos fue desarrollada utilizando el software Microsoft Office Access 2007®, se escribieron códigos para facilitar el análisis estadístico, la visualización de la información y la impresión de informes con gráficos de evolución de las respuestas moleculares. Se analizó la base de datos del programa de monitoreo molecular qRT-PCR, realizado en la Academia Nacional de Medicina (subsidiado por Novartis, Argentina), visualizando los resultados mediante Microsoft Excel 2010.

Resultados

Desde marzo 2009 a septiembre 2017 se estudiaron 2.449 pacientes, de éstos se seleccionaron los casos que tenían una duración del tratamiento con ITKs ≥ 54 meses ininterrumpidos (rango de 54 a 96 meses), lo cual permitió seleccionar un 22% (539/2449) de casos (**Figura 1 A**). De estos 539 pacientes, el 36% (192/539) presentaba RM profunda ≥ 4.0 (RM^{4.0}, RM^{4.5} o RM^{5.0}) sostenida por un periodo ≥ 24 meses (rango 24-72 meses) y el 64% (347/539) restante presentó RM < 4.0 (**Figura 1 B**).

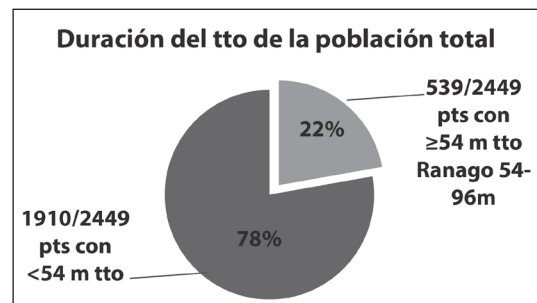


Figura 1 A

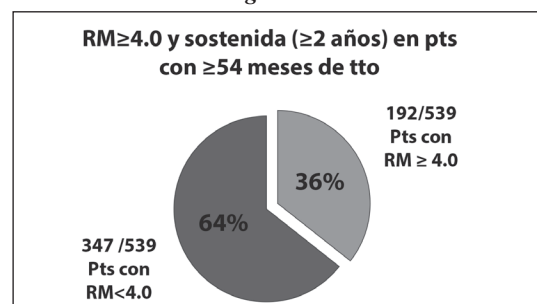


Figura 1 B

Dentro del grupo de casos con $RM < 4.0$ se incluyeron los casos con: RM profunda pero inestable 51/347 (15%), RM 4.0 y 4.5 pero con menos de 2 años de estabilidad 58/347 (17%), los casos con RM mayor (43%), RM menor (7%), RM mínima (7%) y RM nula (11%) (**Figura 2 A**). El 69% (132/192) de los casos con $RM \geq 4.0$ recibieron tratamiento de primera línea: 121/132 imatinib, 3/132 nilotinib y 8/132 dasatinib. El 28% (54/192) recibió tratamiento de segunda línea: 30/54 nilotinib y 24/54 dasatinib, y un grupo pequeño del 3% (6/192) recibieron tratamiento de 3ra línea (**Figura 2 B**).

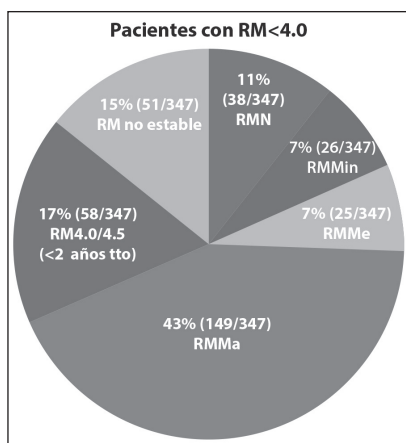


Figura 2 A

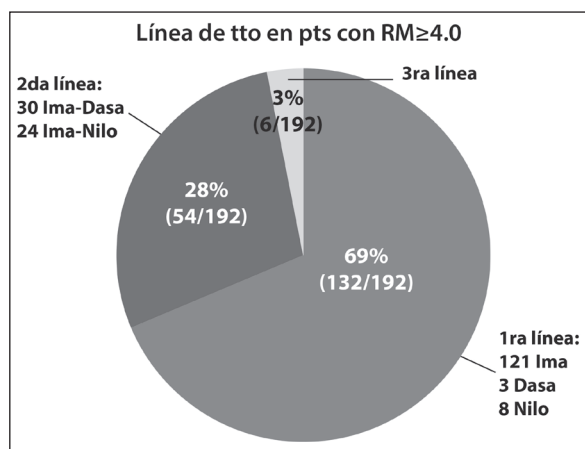


Figura 2 B

Cuando se compara la eficacia del tratamiento con ITK original vs. copia teniendo en cuenta la respuesta molecular, tanto con imatinib (original (244) vs. copia (37) (**Figura 3A**) como con dasatinib (original (52) vs. copia (21) (**Figura 3B**), no se observaron diferencias significativas (Fisher's exact test $p=0.22$). (En el gráfico no se incluyeron 17 casos con imatinib y 22 con dasatinib porque no se especificaba si era copia u original).

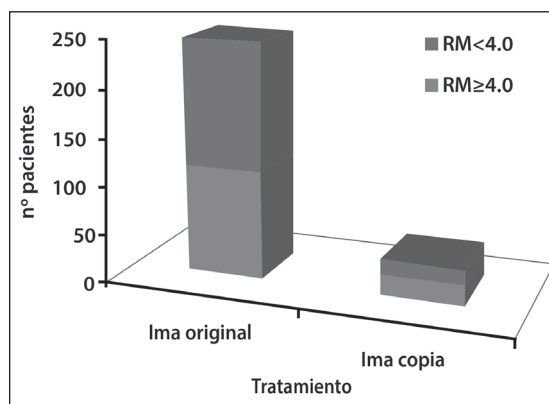


Figura 3 A

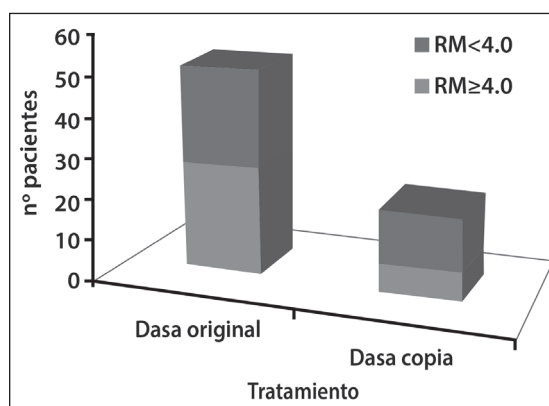


Figura 3 B

Discusión

Las recomendaciones del ELN y del NCCN sugieren mantener indefinidamente el tratamiento en todos los pacientes, aun en los buenos respondedores. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que una proporción de pacientes sufre efectos secundarios no deseados por el tratamiento. Las reacciones adversas más frecuentemente descritas son: hipertensión arterial, derrame pleural y eventos vasculares, lo cual produce un deterioro en la calidad de vida. Además, el tratamiento de por vida representa un costo significativo para el sistema de salud. Por lo tanto poder seleccionar un grupo de pacientes en condiciones de discontinuar el tratamiento representaría una decisión terapéutica favorable para la calidad de vida, además de optimizar los recursos económicos disponibles.

Estudios originales de suspensión han encontrado que alrededor de un 40% de los casos mantienen el TFR^(11,14,15). El estudio STIM (Stop Imatinib), recientemente publicado⁽¹⁶⁾ demostró con un largo seguimiento molecular (mediana de más de 6 años) que después de la discontinuación del tratamiento,

el 38% de los pacientes continuaban sin recaída molecular. Mientras que los casos que perdían la respuesta molecular, la recuperaban luego de reestablecida la terapia; con una mediana de tratamiento de 4 meses, indicando que los pacientes permanecen sensibles al ITK.

A partir de estos estudios clínicos importantes se pudieron identificar algunos factores pronósticos además de la profundidad de la respuesta molecular (RM > 4.0) y la persistencia de la misma (> 2 años), a tener en cuenta en la selección de los pacientes con potencialidad de ingresar a un protocolo de discontinuación. Estos factores a tener en cuenta son: 1- duración del tratamiento. Aquellos pacientes que tenían un tiempo > a 54 meses tienen mayor probabilidad de sostener la respuesta molecular luego de la suspensión, 2- índice de Sokal. Los pacientes con índice de Sokal alto poseen mayor probabilidad de perder la RM alcanzada. Teniendo en cuenta estos parámetros es que seleccionamos los pacientes aptos para ingresar a un protocolo de discontinuación a partir de nuestra base de datos, considerando: 1- profundidad de la respuesta (RM^{4.0}), 2- duración de la respuesta (24 meses), 3- tiempo de tratamiento (54 meses) y tipo de transcripto b2a2 ó b3a2. Lamentablemente no pudimos aplicar el índice Sokal por falta de datos en la mayoría de los casos. Analizando nuestra casuística hemos podido caracterizar un grupo de 192 pacientes, lo cual representa un 36% de los casos en tratamiento con ITK por más de 54 meses. Estos casos corresponden a un 8% del total de los pacientes monitoreados en nuestro centro (192/2.449), los cuales estarían en condiciones de discontinuar el tratamiento bajo estricto monitoreo molecular.

Las fluctuaciones observadas entre RM^{4.0} y RM^{5.0} en estos pacientes podrían atribuirse al número de copias del gen control, lo cual estaría relacionado con la calidad de la muestra y no con pérdida de la RM, por esta razón incluimos la RM^{4.0} como criterio de inclusión.

Nuestros resultados muestran que las drogas originales así como las copias permiten alcanzar una respuesta molecular profunda con eficacia similar. No se pudo determinar si aquellos pacientes que discontinúan el tratamiento con un ITK genérico tienen la misma probabilidad de sostener la respuesta molecular en el tiempo respecto de los que toman un ITK original.

A pesar de las limitaciones que tiene este análisis, debido fundamentalmente a que la información clínica a veces es insuficiente, posee la ventaja de analizar la posibilidad de discontinuar la terapia en la “vida real” de los pacientes. Los cuales son monitoreados con metodologías estandarizadas gracias el enorme esfuerzo que se hizo en estos últimos años con respecto a la armonización a la escala internacional⁽¹⁷⁾. Nuestros resultados muestran que un 36% de los pacientes en tratamiento con ITKs por ≥ 54 meses cumplen los requisitos para poder suspender el tratamiento. Teniendo en cuenta los resultados de los protocolos de suspensión de la literatura internacional podemos estimar que alrededor de un 40% de los casos seleccionados se mantendrán en TFR con el consiguiente costo beneficio.

Agradecimientos:

CONICET, ANPCyT, Novartis Argentina

Declaración de conflictos de interés:

Los autores declaran que no poseen conflictos de interés

Bibliografía

1. Hanfstein B, Muller M, Hehlmann R et al. Early molecular and cytogenetic response is predictive for long-term progression-free and overall survival in chronic myeloid leukemia (CML). *Leukemia*. 2012;26:2096-2102.
2. Marin D, Ibrahim A, Lucas C et al. Assessment of BCR-ABL1 transcript at 3 months is the only requirement for predicting outcome for patients with chronic myeloid leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors. *J Clin Oncol*. 2012;30:232-238.
3. Etienne G, Dulicq S, Nicolini F et al. Achieving deeper molecular response is associated with a better clinical outcome in chronic myeloid leukemia patients on imatinib front-line therapy. *Haematologica*. 2014;99:458-464.
4. Hehlmann R, Muller M, Lauseker M et al. Deep molecular response is reached by the majority of patients treated with imatinib, predicts survival and is achieved more quickly by optimized high-dose imatinib. Results from the randomized CML-study IV. *J Clin Oncol*. 2014;32:415-423.

5. Baccarani M, Deininger M, Rist G et al. European Leukemia Net recommendations for the management of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2013;122:872-884.
6. NCCN, Clinical Practice Guidelines in Oncology Chronic Myelogenous Leukemia. Version 1. 2016.
7. Hughes T and Branford S. Molecular monitoring of BCR-ABL1 as a guide to clinical management in chronic myeloid leukemia. *Blood Rev*. 2006;20:29-41.
8. Hughes T, Hochhaus A, Branford S et al. Long-term prognostic significance of early molecular response to imatinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. An analysis from the International Randomized Study of Interferon and STI571 (IRIS). *Blood*. 2010;116:3758-3765.
9. Mahon F, Rea D, Guilhot J et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: The prospective multicenter Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol*. 2010;11:1029-1035.
10. Rousselot P, Hugues F, Rea D et al. Imatinib mesylate discontinuation in patients with chronic myelogenous leukemia in complete molecular remission for more than 2 years. *Blood*. 2007;109:58-60.
11. Ross D, Branford S, Seymour J et al: Safety and efficacy of imatinib cessation for CML patients with stable undetectable minimal residual disease: Results from the TWISTER study. *Blood*. 2013;122:515-522.
12. Thielen N, van der Holt B, Comelissen JJ et al. Imatinib discontinuation in chronic phase myeloid leukemia patients in sustained complete molecular response. *Eur J Cancer*. 2013;49:3242-3246.
13. Takahashi N, Kyo T, Maeda Y et al. Discontinuation of imatinib in Japanese patients with chronic myeloid leukemia. *Haematologica*. 2012;97:903-906.
14. Mori S, Vagge E, la Coutre P et al. Age and dPCR can predict relapse in CML patients who discontinued imatinib: The ISAV study. *Am J Hematol*. 2015;90:910-914.
15. Lee S, Choi S, Bang J et al. Predictive factors for successful imatinib cessation in chronic myeloid leukemia patients treated with imatinib. *Am J Hematol*. 88: 2013;449-454.
16. Etienne G, Guilhot J, Rea D et al. Long-Term follow up of the French Stop Imatinib (STIM1) Study in Patients with chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2016;35:298-305.
17. Ruiz M, Medina M, Tapia I et al. Standardization of molecular monitoring for CML in Latin America using 2 locally produced secondary cellular calibrators. *Leukemia*. 30: 2016;2258-2260.