

PAUTAS de DIAGNÓSTICO y TRATAMIENTO en Hematología

Noviembre 2005; 1 (3). Cátedra de Hematología. Departamento Clínico de Medicina. HOSPITAL DE CLÍNICAS «DR. MANUEL QUINTELA»

Equipo docente

| | |
|-------------------------|---------------------|
| Dra. Martha Nese | PROFESORA DIRECTORA |
| Dra. Lilián Díaz | PROFESORA AGREGADA |
| Dr. Pablo Muxi | PROFESOR AGREGADO |
| Dra. Silvia Pierri | PROFESORA ADJUNTA |
| Dra. Laura Topolansky | ASISTENTE |
| Dra. Gabriela de Gálvez | ASISTENTE |
| Dr. Gabriel Borelli | ASISTENTE |
| Dra. Mariana Stevenazzi | ASISTENTE |

Dirección:
Hospital de Clínicas 8° piso.
Avda. Italia s/n.
CP 11.400. Montevideo, Uruguay.
Teléfono: (598 2) 487 69 81

Sitio web:
<http://www.dcmecina.edu.uy>



Imágenes que ilustran las actividades desarrolladas en la Cátedra de Hematología durante estos cursos. Al finalizar las actividades, un momento de amena confraternización es captado por la cámara.

CONTENIDO

| | |
|----------------------------------------------------|----|
| Introducción | 29 |
| Pautas de diagnóstico en LMC | 30 |
| Opciones de tratamiento LMC en fase crónica | 33 |
| Tratamiento de primera línea | 33 |
| Fase crónica | |
| Fase acelerada | |
| Fase blástica | |
| Criterios de respuesta hematológica y citogenética | 34 |
| Trasplante de médula ósea | 35 |
| Anexo 1 | 39 |
| Anexo 2. Fase blástica | 39 |
| Bibliografía | 39 |

Prof. Dra. Martha Nese
DIRECTORA DE LA CÁTEDRA DE HEMATOLOGÍA

PARTICIPANTES

Dra. Acosta Giselle
Prof. de Anatomía Patológica

Dra. Bengochea Milka
Prof. Agda. Banco Nacional de Órganos y Tejidos

Dra. Beñarán Beatriz
Ex Prof. Adj. de Medicina y Asistente de Hematología, CRAMI

Dr. Bodega Enrique
Ex Prof. Adj. de Clínica Hematológica. Dir. Serv. hematología H. Maciel

Dra. Bonomi Rossana
Hematóloga Asoc. Española

Dr. Borelli Gabriel
Asistente Clínica Hematológica, Serv. Hematología Hospital Maciel

Dra. Bruzone Margarita
Clínica Médica C

Dr. Camacho Luis
Clínica Médica C

Dra. Caneiro Ada
Hematóloga Hospital Británico

Dra. Canessa Cecilia
Asistente Lab. Central Hospital de Clínicas

Dra Cardeza Adriana
Ex Asistente Clínica Hematológica

Dra. Cardozo Alicia
Prof. Agda. Clínica de Infectología

Dra. Carnelli Alicia
Oncóloga COMEPA, Hospital Escuela del Litoral Paysandú FEMI

Dra. Carrizo Cecilia
Ex Asistente de Clínica Hematológica Prof. Adj. Clínica Médica Hosp. Maciel

Dra. Castro Marcela
Residente Laboratorio Clínico H de C

Dra. Costa Virginia
Ex Asistente de Clínica Hematológica Prof. Adj. Clínica Médica 2 Hospital Pasteur, Hospital Militar

Dr. Correa Fernando
Ex Asistente de Clínica Hematológica Prof. Adj. Clínica Médica

Dra. Chevalier Silvana
Clínica Hematológica

Dra. Damiano Sandra
Hematóloga INDO

Dau Carlos
Hematólogo INDO

Dr. De Bellis Roberto
Prof. de Hematología, Hospital Británico

Dra. de Galvez Gabriela
Asistente, Clínica Hematológica

Dr. Desiervo Andrés
Clínica Hematológica

Dra. Díaz Andrea
Ex Asistente Clínica Hematológica

Dra. Díaz Lilian
Prof. Agda. Clínica Hematológica

Dra Di Matteo Carina
Prof. Adj. Anatomía Patológica

Dra. Estévez Ana Laura
Hematóloga Hospital de San José, AMSJ, FEMI

Dr. Estévez Francisco
Prof. Agdo. Cátedra de Farmacología

Dra. Foren Lina
Ex Asistente Clínica Hematológica

Dra. Flores Karina
Dr. Gabus Raúl
Hematólogo Servicio Hematología Hospital Maciel, Hosp. Evangélico

Dr. Galeano Sebastián
Hematólogo, Servicio Hematología Hospital Maciel

Dra. García Ana María
Ex Prof. Adj. Clínica Hematológica, Prof. Agdo. Laboratorio de Patología Clínica Hospital Pereira Rossell

Dr. Giordano Hugo
Esp. Laboratorio Clínico Asoc. Española

Dra. González Marianela
Hematóloga Hospital de Salto

Dra. Gossio Elvira
Hematóloga Casa de Galicia, CUDAM, CAMEDUR, Durazno FEMI

Dra. Gualco Gabriela
Esp. Anatomía Patológica Hosp. Militar

Consenso Nacional de Leucemia mieloide crónica

COORDINADORA GENERAL Prof. Dra. Martha Nese

Directora de la Cátedra de Hematología, Departamento Clínico de Medicina

ELABORACIÓN PRE CONSENSO

Dra. Silvia Pierri. Prof. Adj. Clínica Hematológica

Dra. Laura Topolansky. Asistente Clínica Hematológica

Dra. Cecilia Carrizo. Ex Asistente Clínica Hematológica

Dra. Rosana Bonomi. Hematóloga. Citogenetista

Dra. Rosario Uriarte. Ciencias Biológicas. Investigadora PEDECIBA

Dra. Carina Di Matteo. Prof. Adj. Anatomía Patológica

Dra. Ana Mariño. Prof. Agda. de Cátedra y Departamento de Anatomía Patológica

Dr. Roberto Pintos Páez. Prof. de Patología. San Pablo, Brasil

Dra. Milka Bengochea. Prof. Agda. Banco de Órganos y Tejidos

Dra. Alicia Cardozo. Prof. Agda. Clínica de Infectología

Dra. Lina Foren. Ex Asistente Clínica Hematológica

Dra Adriana Cardeza. Ex Asistente Clínica Hematológica

Dra. Martha Nese. Prof. Directora de la Cátedra de Hematología.

INTRODUCCIÓN

La leucemia mieloide crónica (LMC) es una hemopatía clonal, caracterizada por presentar una anomalía citogenética, en el 95% de los pacientes, el cromosoma Philadelphia (Ph1) que resulta de la translocación recíproca entre los brazos largos del cromosoma 9 y el 22. Esta translocación produce la transferencia del oncogén Abelson del cromosoma 9 al 22 en la región donde se encuentra el gen BCR.(1,2) Esto resulta en un gen de fusión BCR-ABL y en la producción de una proteína anormal con acción tirosin-quinasa aumentada.

Los pacientes con LMC Ph1-negativos tienen peor respuesta al tratamiento y sobrevida más corta, los que presentan el gen BCR/ABL tienen pronósticos equivalentes a los Ph1-positivos.(3,4,5)

El tratamiento de primera línea de la LMC en fase crónica es polémico y tema de investigación activa. El único tratamiento curativo de la LMC para más de la mitad de los pacientes es el trasplante alogénico de médula ósea (6,7)

Muchos pacientes no reúnen las condiciones para este método, por la edad, el terreno o la ausencia de un donante. Por otra parte, la mortalidad relacionada con el tratamiento es del orden de 15% a 30%,

Con el interferón alfa (8,9) aproximadamente 10% a 20% de los pacientes, tiene una respuesta citogenética completa y se logra mejorar la expectativa de vida.

El Imatinib, inhibidor específico de la tirosin-quinasa del BCR/ABL, produce una respuesta citogenética completa en 80% de los pacientes en primera línea, con muy pocos efectos secundarios.(10) No existen datos hasta el momento sobre la durabilidad de esta respuesta ni de la eficacia del interferón alfa o trasplante alogénico después del fracaso del Imatinib. La mayoría de los pacientes que responden completamente presentan persistencia del BCR/ABL, por RT-PCR.(11,12,13)

Con la Hidroxiurea sólo se logran respuestas hematológicas, pero se puede conseguir un rápido descenso de la leucocitosis, se puede usar en situaciones de urgencia.(14)

No se recomienda el uso del Busulfán como tratamiento, reservándose únicamente para los regímenes condicionantes en el alo-TPH.(15)

Las técnicas de aféresis pueden usarse como medidas de soporte, para disminuir el riesgo del síndrome de lisis tumoral.

Dra. Iglesias Teresa
Lab. Central Hospital de Clínicas

Dr. Isaurralde Hugo
Ex Asistente Clínica Hematológica

Dra. Jordan Ximena
Clínica Hematológica

Dra. Kescherman Francis
Asistente Clínica Médica A

Dra. Kollar Patricia
Ex Asistente Clínica Hematológica Servicio Hematología Hospital Maciel

Dra. Lens Daniela
Hematóloga, Prof. Adj. Dpto. Básico de Medicina

Dra. Lizarralde Adelina
Hematóloga CAMS Soriano, AMEDRIN Fray Bentos, FEMI

Dr. Lorenzelli Amilcar
FEMI

Dra. Magariños Alicia
Ex Asistente Clínica Hematológica Serv. Hematología Hospital Maciel, CASMU, Casa de Galicia

Dr. Marchetti Nicolás
Hematólogo Maldonado FEMI

Dra. Mariño Ana
Prof. Agda. Patología Clínica

Dra. Martínez Claudia
Clínica Hematológica, Casa de Galicia

Dra. Moirano Claudia
Hematóloga Hospital Rivera

Dra. Monteserín Noela
Clínica Hematológica

Dra. Moro Isabel
Clínica Hematológica

Dra. Motta Gabriela
CH Pereira Rossell, MUCAM

Dra. Murieda Berta
Hematóloga INDO

Dr. Muxi Pablo
Prof. Agdo. Clínica Hematológica, Hospital Británico, Presidente Soc. Uruguay de Hematología

Dra. Nese Martha
Prof. de Clínica Hematológica, Directora de la Cátedra de Hematología

Dr. Noble Marcelo
Hospital de Florida, FEMI

Dra. Novoa María de los Angeles
Hematóloga Hospital Militar, Asociación Española

Dr. Novoa Ernesto
Ex Prof. Adj. Clínica Hematológica Dir. Serv. Hematología Hospital Policial, FEMI

Dra. Parodi Mónica
Clínica Hematológica, SMI, CUDAM

Dra. Pierri Silvia
Prof. Adj. Clínica Hematológica, Hospital Británico

Dr. Pintos Páez Roberto
Prof. de Patología. San Pablo, Brasil

Dra. Piriz Beatriz
Hematóloga Hospital Lavalleja- FEMI

Dr. Pomoli Santiago
Hematólogo Hospital Militar, Serv. Hematología Hospital Maciel

Dra. Rettig Karen
Clínica Hematológica

Dra. Rocca Alejandra
Clínica Hematológica

Dr. Rodríguez Robinsón
Prof. Agdo. Oncología Clínica

Dra. Rodríguez Rosana
Residente Laboratorio H de C

Dra. Rojo Ana Luz
Ex Asistente de Clínica Hematológica, Hematóloga Hospital Policial

Dra. San Martín Rosario
Lab. Central Hospital de Clínicas

Dr. Sclavi Jorge
Hematólogo Hospital de Rivera

Dra. Sevriñ Inés
Ex Asistente de Clínica Hematológica Prof. Adj. Clínica Médica A

Dra. Stevenazzi Mariana
Asistente Clínica Hematológica

Dra. Sundberg Florencia
H Pereira Rossell, CRAMI

Dra. Tejeira Natalia
Clínica Hematológica

PAUTAS DE DIAGNÓSTICO EN LMC

- 1. Historia clínica y examen completo.**
- 2. Hemograma con lámina periférica:** anemia generalmente normocítica normocrómica, hiperleucocitosis con mielema cuantificada por lámina periférica, el porcentaje de blastos define la fase de la enfermedad. Plaquetas aumentadas, normales o disminuidas.
- 3. Mielograma:** con cuantificación porcentual de blastos y promielocitos. En general se observa hiperplasia granulocítica. Relación G/E aumentada.
- 4. BMO.** Se recomienda obtener un cilindro de hueso esponjoso de 10 a 20 mm de longitud de la espina iliaca postero-superior con un trócar afilado para impedir la fragmentación y desplazamiento del hueso trabecular y asegurar que el parénquima hematopoyético permanezca en las cavidades medulares. Fijación en líquido de Bouin, fijador en base a ácido pícrico, que permite una buena fijación y una buena decalcificación del material. Inclusión en parafina y obtención de cortes finos de 1 a 2 micras de espesor. Las técnicas de tinción standard recomendadas son: Hematoxilina-Eosina, Giemsa, Reticulina, Perls y PAS. Si se requiere, el material procesado de esta manera es pasible también de estudio inmunohistoquímico.

La BMO es útil para:

Apoyar el diagnóstico de LMC y excluir otros diagnósticos diferenciales.

Poner en evidencia acúmulos focales de blastos.

Evaluar la fibrosis medular.

Aportar datos pronósticos en la clasificación de pacientes con LMC Ph+ fase crónica.

Valorar los efectos del tratamiento.

4.1. Apoya el diagnóstico de LMC y excluye otros diagnósticos diferenciales.

La BMO puede sugerir el diagnóstico de LMC fase crónica cuando presenta las siguientes características histomorfológicas:

- Médula ósea hiper celular (95% de los casos) sin representación prácticamente del tejido adiposo con casi 100% de tejido hematopoyético.
- Hiper celularidad a expensas de hiperplasia de la serie granulocítica.
- Aumento de las capas de células granulocíticas inmaduras a nivel periosteal y perivascular (normalmente son 2 a 3 capas de células inmaduras, mientras que en la LMC llegan a ser 5 a 10 capas).
- Dicha serie granulocítica presenta maduración conservada hacia el centro del espacio medular.
- Puede acompañarse de aumento de la serie megacariocítica. Los megacariocitos son pequeños, hipolobulados, con tendencia a agruparse en la región central intertrabecular cerca de los sinusoides medulares.
- El componente eritroide puede ser normal, estar disminuido o más raramente aumentado.
- Presenta fibrosis reticulínica en un porcentaje no despreciable al inicio de la enfermedad. Su valoración en el momento del diagnóstico tiene significancia pronóstica.

Estas características histomorfológicas de la fase crónica de la enfermedad permiten hacer diagnóstico diferencial con: reacciones leucemoides, LMC atípica, LMMC, LNC y con otros SMPC (PV, TE, MMA).

4.2. Pone en evidencia acúmulos focales de blastos.

Acúmulos focales de blastos pueden pasar inadvertidos en el aspirado de médula ósea. La fase blástica de la LMC puede ser focal y sólo puede reconocerse por la evaluación de la BMO.

4.3. Evaluación de la fibrosis medular.

La frecuencia de mielofibrosis al diagnóstico de LMC varía en la literatura de 15 a 65%. La mielofibrosis reticulínica manifiesta y la fibrosis colagénica presentan un pronóstico desfavorable, sin embargo por estudios de morfometría se demostró que ya la mielofibrosis temprana o mínima se asocia con menor sobrevida.

4.4. Aporta parámetros histológicos como factores pronósticos en el diagnóstico de LMC.

Kvasnicka y col, 2001 propusieron un nuevo sistema de score pronóstico para pacientes con LMC Ph+ fase crónica. Los aspectos morfológicos más importantes en la BMO como parámetros pronósticos en todos los grupos de riesgo e independientes del tratamiento, son:

- **Mielofibrosis:** es uno de los aspectos morfológicos más importantes. Tiene correlación con pronóstico y sobrevida independiente de los regímenes terapéuticos utilizados. Las fibras de reticulina se ponen en evidencia por técnicas de impregnación argéntica y las de colágeno por técnicas de tricrómico. El aumento de las fibras argirofílicas se asocia a peor pronóstico. Análisis de multivariados enfatizan que no solamente la fibrosis manifiesta se correlaciona con mal pronóstico, sino que un aumento borderline de fibras de reticulina (*score* 1) refleja estadios más avanzados de la enfermedad y se asocia con menor sobrevida.
- **Precursores eritroides nucleados de la médula ósea:** la disminución de la cantidad de precursores eritroides refleja la expansión de la masa celular granulocítica leucémica y la

Dra. Testa Graciela

Hematóloga Hospital Salto-FEMI

Dra. Topolansky Laura

Asistente Clínica Hematológica

Dra. Touriño Cristina

Hematóloga Prof. Adj. Dpto. Básico de Medicina

Dra. Rosario Uriarte

Licenciada en Ciencias

Dr. Vázquez Alberto

Serv. Hematología Hospital Maciel

Dra. Vilas Ana María

Asistente de Anatomía Patológica Hosp. Pasteur

Dra. Yapar Mónica

Asistente de Anatomía Patológica Hosp. Maciel

progresión de la enfermedad. La marcación con un anticuerpo monoclonal dirigido contra la glicoforina C, polipéptido de membrana presente en los eritrocitos y sus precursores y la morfometría demuestran una disminución significativa del linaje eritroide en aproximadamente un tercio de los pacientes con LMC Ph+ fase crónica, comparado con BMO normales. Si se utilizan sistemas de graduación semicuantitativos, una desviación de la relación mielo /eritroide (M/E) a un valor de 10–12: 1 en la BMO, es indicador de mal pronóstico. Existe correlación entre una marcada disminución de la eritropoiesis medular, estados más avanzados de la enfermedad y disminución significativa de la sobrevida.

- **Megacariocitopoiesis:** dada la correlación biológica y funcional de la fibrosis y los megacariocitos, éstos también tendrían un valor pronóstico. En la literatura existen datos controversiales en relación al impacto pronóstico del número de megacariocitos. La LMC Ph+ subtipo megacariocítica evoluciona más frecuentemente a una forma mielofibrótica reticulínica y colagénica, condicionando un curso pronóstico desfavorable. Se puede utilizar la inmunomarcación con un anticuerpo monoclonal (CD61–glicoproteína antiplaquetaria IIIa) para identificar los megacariocitos, promegacarioblastos, megacarioblastos y microformas anormales. Estos elementos pueden cuantificarse por métodos morfométricos. El aumento de más de 60–70 megacariocitos/ mm² se asocia a peor pronóstico.
- **Células de pseudo–Gaucher:** constituyen uno de los parámetros histológicos en médula ósea que se consideran de buen pronóstico y posibles indicadores de mayor sobrevida. Las células de pseudo–Gaucher son macrófagos modificados que presentan en su citoplasma restos de células fagocitadas. Se ponen en evidencia por las características de su citoplasma fibrilar birrefringente ó el patrón estriado del citoplasma con técnica de PAS. Los resultados analizados en la literatura con respecto al impacto pronóstico de las células de pseudo–Gaucher son ambiguos. La frecuencia con que aparecen en médula ósea de pacientes portadores de LMC Ph+ es mucho mayor de lo que se cree, según algunos autores como Busche G y col, 1997, su frecuencia puede llegar a alrededor del 70%. Esto hace dudar de su importancia pronóstica.

4.5. Valora los efectos del tratamiento.

El patólogo debe conocer los antecedentes del tratamiento realizado.

Los patrones histológicos no son estables y cambian en el curso de la LMC por la propia evolución de la enfermedad y por efectos del tratamiento. Estos cambios a nivel de la BMO ocurren relativamente temprano. Destacando las modalidades terapéuticas más importantes podemos resaltar los siguientes puntos:

- **Interferón:** la monoterapia con interferón en LMC tiene un efecto fibrogénico sobre la médula ósea y éste aparece alrededor de los 6 meses del comienzo del tratamiento. En pacientes con tratamiento prolongado con interferón no debe interpretarse la mielofibrosis como un signo de fase acelerada. Asimismo existe aumento del número de megacariocitos.
- **Imatinib:** los cambios que produce a nivel de la médula ósea son, normalización de la eritropoiesis, marcada reducción de la granulopoiesis, disminución significativa del número de megacariocitos con reaparición de formas de tamaño normal y disminución significativa de la mielofibrosis en pacientes con fibrosis inicial.
- **Trasplante de médula ósea (TMO):** la presencia de fibrosis empeora el pronóstico, entelece la reconstitución de la hematopoyesis y aumenta el tiempo en adquirir independencia de la transfusión. En el periodo inicial (9 a 30 días post–TMO) hay una regresión de la fibrosis, a largo plazo (3 meses post–TMO) estos pacientes tienen tendencia a desarrollar un estadio más fibrótico en áreas de reconstitución hematopoyética. El aumento de las fibras de reticulina en el periodo post–TMO temprano se correlaciona con enfermedad de injerto versus huésped (GVHD) aguda severa. Se observó una correlación significativa entre la fibrosis, la disminución de los precursores eritroides, el número de megacariocitos y el número de macrófagos calculados por área de tejido hematopoyético en post–TMO con el tiempo de recuperación de la hematopoyesis y el tiempo para independizarse de la transfusión.

5. Estudio citogenético.

El estudio citogenético (EC) aporta elementos de valor diagnóstico y pronóstico, permitiendo asimismo la evaluación de la respuesta a las diferentes modalidades terapéuticas. Los pacientes portadores de LMC, tienen en el 90–95% de los casos, un cromosoma del par 22 de tamaño inferior al normal denominado cromosoma Philadelphia (Ph). Esta anomalía detectada en la década del 60 mediante técnicas de coloración estándar, fue considerada inicialmente como una simple delección del par 22 por Nowell y Hungerford (Science 1960). La mayor precisión de las técnicas de bandedo cromosómico, permitió establecer a J. Rowley (Nature 1973), que esta anomalía cromosómica específica, era el resultado de la translocación recíproca entre los pares 9 (a nivel del brazo largo banda 34 9q34) y 22 (brazo largo banda 11, 22q11) t(9;22)(q34;q11). Lleva el nombre de la ciudad en la que fue descrita y fue la primera alteración cromosómica asociada a una patología neoplásica, confirmando la hipótesis de T. Boveri, en cuanto a la relación existente entre alteración genética y desarrollo neoplásico.

ACTIVIDADES

Se realizará una actualización del tema propuesto seguido por discusión de historias clínicas y evaluación con sistemas de preguntas múltiple opción.

Los docentes trabajarán en colaboración con los graduados del curso de Hematología, que participarán en la selección e interpretación de los casos clínicos y evaluación final.

Actividad curricular

De marzo a diciembre de 2005.

Clases clínicas

8.00 a 9.00 horas los lunes, miércoles y viernes.

Grados 3, 4 y 5.

Clases básicas

Seminarios taller, martes de 11.00 a 12.00 horas.

Dirigido por grados 2, con participación de integrantes del Dpto. Básico de Medicina, Anatomía Patológica, Laboratorio, Biología Molecular y Citogenética.

Ateneos clínicos

Martes de 10.00 a 11.00 horas.

Lectura de revistas

Jueves de 10.00 a 11.00 horas.

Cierre de historias y auditoría

Último jueves de cada mes de 10.00 a 11.00 horas.

Curso 2005

Inscripciones en secretaría de la Cátedra de Hematología. Piso 8, de lunes a viernes de 8.30 a 12.00 horas. Tel/fax (598 2) 487.58.42.

Para la entrega del certificado se requiere una asistencia mayor al 80%.

Se estableció más tarde la presencia del cromosoma Philadelphia en un bajo porcentaje de leucemias agudas linfoides y excepcionalmente en leucemias agudas mieloides. Los hallazgos citogenéticos guiaron los estudios moleculares hacia los puntos de ruptura involucrados. Ello permitió identificar los genes allí ubicados: a nivel 9 q34 el gen de la leucemia murina de Abelson (ABL) y localizado en 22q11 el denominado BCR por *break cluster region*. La t(9;22) lleva a la yuxtaposición de los genes antes mencionados, produciéndose un gen quimérico denominado BCR-ABL. El mismo codifica una proteína con actividad tirosin-quinasa alterada, quien juega un rol fundamental en la etiopatogenia de la leucemia mieloide crónica.

5.1. Variantes del Cromosoma Philadelphia

Alrededor de un 5% no presentan el Ph clásico sino, variantes del cromosoma Ph simples o complejas. Las simples son aquellas en donde la translocación se produce entre el cromosoma 22 y un par diferente al 9, ej. t(17;22)(p13;q11). Las complejas son aquellas en las cuales junto con los pares 9 y 22 un tercer cromosoma participa del reordenamiento t(2;9;22)(p23;q34;q11).

En un 5% de los pacientes el estudio citogenético no logra establecer la presencia del cromosoma Ph. Dada la implicancia diagnóstica es fundamental el análisis molecular del gen quimérico BCR-ABL. La negatividad a este nivel, plantea el diagnóstico diferencial con otras entidades clínicas, entre ellas LMMC.

5.2. Evolución Clonal

Durante la evolución hacia la fase acelerada de la enfermedad, nuevas alteraciones cromosómicas se asocian al cromosoma Ph en el 75% al 80% de los casos, las mismas preceden en varios meses a las manifestaciones clínicas y hematológicas. De acuerdo a la frecuencia del tipo de anomalías asociadas, se ha reconocido la existencia de 2 rutas denominadas: ruta mayor y menor.

En la ruta mayor observada en un 70% de los casos, se pueden detectar la trisomía del par 8, +8 (11%), el isocromosoma 17, i(17q) (12%) y la duplicación del Ph, +Ph (15%). Incluida también en la ruta mayor con una frecuencia muy inferior (1%) se encuentra la trisomía del par 19, +19.

La ruta menor está constituida por la pérdida del cromosoma Y, la monosomía del par 7 (-7) la monosomía del par 17 (-17) y la trisomía de los pares 17 y 21 (+17) (+21). Como única anomalía estructural, forma parte de este grupo la translocación entre los pares 3 y 21, t(3;21)(q26;q22).

La ausencia de enfermedad y la sobrevida libre de enfermedad se mide por el patrón de respuesta citogenética en médula ósea respuesta citogenética completa (RCC) 0% Ph+; respuesta citogenética mayor (RCMa) menos de 35% Ph+ y respuesta citogenética menor (RCMe) persistencia entre 36-65% Ph+. Se recomienda que los estudios CG se realicen, hasta que se logre la RCC, cada 6 meses. Luego de lograda la RCC se sugiere utilizar la técnica de FISH como complementaria para confirmar la ausencia del cromosoma Ph

6. Estudio molecular por PCR

En el momento del diagnóstico se debe realizar en forma simultánea el estudio citogenético y molecular. El ensayo molecular no requiere la presencia de células en división y puede ser realizado tanto en muestras de sangre periférica como médula ósea con resultados equivalentes. Permite la identificación de la expresión del gen BCR-ABL y sus isofomas variantes (e1a2, b2a2/b3a2, e19a2) contribuyendo: al diagnóstico diferencial de LAL Ph (+), LNC o LMC y a identificar el 5% de los pacientes BCR-ABL (+) con cariotipo normal. La caracterización molecular del clon anómalo en el inicio de la patología es fundamental también para la evaluación de la ERM durante el seguimiento. Se debe considerar realizar en sangre periférica la determinación de deleciones en el cromosoma derivado, 9q(+), mediante FISH y establecer los niveles de transcrito BCR-ABL presentes en la muestra al debut mediante PCR cuantitativo (Kantarjian y col., 2004).

6.1. Seguimiento y evaluación terapéutica

La evaluación de ERM en la LMC permite la detección de recaídas precoces y con ello la rápida intervención terapéutica. Debe realizarse en sangre periférica cada 6 meses mediante RT-PCR (PCR cualitativo) o Q-PCR (PCR cuantitativo). La cuantificación de transcritos BCR-ABL en SP y MO ha demostrado resultados similares y una buena correlación de ambos. Estudios recientes han mostrado el valor del Q-PCR en predecir un buen pronóstico en aquellos pacientes que mostraron una reducción del contenido leucémico mayor de 3 log (respuesta molecular mayor). En cuanto a su valor predictivo de recaída los datos preliminares sugieren una correlación positiva si bien se requieren estudios con un mayor número de pacientes para establecer conclusiones válidas (Cortes y col. 2004)

6.2 Resistencia al Imatinib

Se ha descrito un grupo de pacientes que desarrollan resistencia al tratamiento con Imatinib. Esta puede ser primaria (previa a la exposición al imatinib) o secundaria (post-exposición) siendo los mecanismos de resistencia la amplificación genómica, sobre-expresión de BCR/ABL, mutaciones puntuales en el dominio tirosinquinasa del Abl. Estas mutaciones son poco frecuentes en fase crónica (FC) y su incidencia aumenta significativamente en estados avan-

zados de la enfermedad y con el aumento del transcrito BCR-ABL post-remisión. Por ello se aconseja investigar la presencia de las mutaciones asociadas a la resistencia pretratamiento para conocer la línea de base y predecir pacientes con alto riesgo de recaída. Durante el tratamiento en los casos con resistencia clínica o respuesta inadecuada al imatinib se sugiere analizar principalmente las mutaciones que afectan el dominio quinasa del Abl (P loop y T315) que son las más comunes y de mal pronóstico (Tefferi A y col., 2005).

7. **Ecografía abdominal con medición de los diámetros esplénicos** para control evolutivo.
8. **Fosfatasa alcalina leucocitaria** opcional.
9. **Determinación de vitamina B12** opcional.
10. **Estudios de valoración generales:**
 - 10.1. **Funcionalidad renal:** azoemia, creatinemia, examen de orina.
 - 10.2. **Uricemia.**
 - 10.3. **Ionograma.**
 - 10.4. **Funcional y enzimograma hepático.**
11. **Estudio de HLA en pacientes candidatos a trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH).**

Análisis de quimerismo en el post-trasplante de células hematopoyéticas

OPCIONES DE TRATAMIENTO

LMC EN FASE CRÓNICA

La LMC fue descrita por Bennett, Virchow y Craigie, en 1845 y desde esa fecha, se han utilizado distintas modalidades terapéuticas. Durante años se empleó la irradiación esplénica, el busulfán o la hidroxiurea. En la década de 1970 se introdujo el trasplante alogénico de médula ósea como tratamiento de elección en aquellos pacientes que tenían un donante histocompatible. La introducción del interferón, a mediados de la década de 1980, constituyó el tratamiento estándar para aquellos pacientes que no tenían un donante histocompatible. El interferón demostró prolongar la supervivencia y respuesta citogenética completa o mayor en 10-38% de los casos.(1,2).

El descubrimiento del gen de fusión BCR-ABL, su actividad tirosin-quinasa y la demostración de que constituía el único evento patogénico en el desarrollo de la LMC, condujo a la búsqueda de un fármaco que actuara a nivel molecular. La actividad del transcrito BCR - ABL se definió como blanco de acción terapéutica. El STI571 o mesilato de imatinib, actúa inhibiendo en forma competitiva la fosforilación de quinasas: BCR - ABL y al receptor del factor de crecimiento plaquetario. El mecanismo de acción del Imatinib es unirse al receptor del ATP en la molécula del BCR - ABL, impidiendo la fosforilación de los residuos de tirosina de ese transcrito y de otras proteínas. Estudios preclínicos revelaron que el imatinib inhibe específicamente la población de células proliferantes que expresan BCR- ABL, in vitro e in vivo.(3) Se ha demostrado su actividad en todas las fases de la LMC, pero el mayor número de respuestas estables se ha observado en la fase crónica.(4-8)

Instituto Nacional del Cáncer 2005. *El Imatinib inhibe la oncoproteína BCR/ABL. En 454 pacientes con LMC en fase crónica resistentes al interferón (INF), el Imatinib indujo respuestas citogenéticas en 60% de los pacientes y respuesta hematológica completa en 95%. El 89% no evolucionaron a fase acelerada o blástica con un seguimiento medio de 18 meses.(16) [Nivel de prueba: 3iiiDiii] En 261 pacientes con LMC en fase crónica, resistentes al INF que fueron tratados con Imatinib, con un seguimiento medio de 45 meses, 26%, presentaron a 4 años negativización del BCR/ABL por RT-PCR.(17) [Nivel de prueba: 3iiiDiii]*

Un ensayo aleatorio de 1106 pacientes sin tratamiento previo, recibieron Imatinib o INF más citarabina. La tasa de respuesta citogenética completa (RCC) fue del 76% con Imatinib en comparación con 14% para el INF más citarabina con un seguimiento mediano de 19 meses.(18) [Nivel de prueba: 1iiDii] A los 18 meses, 96,7% de los pacientes que recibía Imatinib había logrado evitar la evolución a una fase acelerada o blástica en comparación con 91,5% del grupo que recibía INF más citarabina (P<0,001).

En un ensayo de 114 pacientes tratados en 1era línea con el doble de la dosis regular de Imatinib (400 mg dos veces al día), después de un seguimiento mediano de 15 meses, ningún paciente ha evolucionado a la fase acelerada o blástica y 63% no mostró BCR/ABL por RT-PCR.(19) [Nivel de prueba: 3iiiDiii]

Hasta que no se realicen estudios aleatorios, no se sabrá claramente si la dosis aumentada dará como resultado respuestas más prolongadas o ventajas de supervivencia.

Todos estos temas han llevado a una reevaluación activa de las recomendaciones a fin de obtener una terapia de primera línea óptima para la LMC en fase crónica.

TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA

LMC en fase crónica

Recomendación:

Mesilato de imatinib a la dosis de 400 mg/d.(20-22) Los comprimidos deben administrarse con

| | |
|--------------------------|-------------------------------|
| Respuesta mínima (RCMi) | persistencia entre 65–95% Ph+ |
| Respuesta menor (RCMe) | persistencia de 36–65% Ph+ |
| Respuesta mayor (RCMa) | menos de 35% Ph+ |
| Respuesta completa (RCC) | 0% Ph+ |

En aquellos casos en que el tratamiento logre alcanzar la negativización del cromosoma Ph mediante técnicas de citogenética clásica, debe evaluarse la persistencia de células Ph+, mediante técnicas de mayor sensibilidad. Pueden ser utilizadas para ello:

- Técnicas cito–moleculares de hibridación in situ fluorescente (FISH). La utilización de sondas específicas, permite el análisis de células en metafase así como en núcleos interfásicos.
- Técnicas moleculares de PCR (reacción en cadena de la polimerasa).

Se ha detectado la aparición de clones Ph negativos portadores de otras anomalías citogenéticas (más frecuentemente trisomía del par 8) en el tratamiento con STI. Esto ha llevado a que, aún después de la desaparición del cromosoma Philadelphia, se evalúe citogenéticamente estos pacientes, a efectos de establecer cuales anomalías surgen y que implicancias pronósticas pueden tener.

TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA

En 1957, Ed. Thomas realiza los primeros trasplantes alogénicos (alo–TMO) en humanos. En 1985 el Prof. Roberto De Bellis y su equipo, integrado por los Dres. Martha Nese, Jorge Dilandro, Ada Caneiro, Laura Bello y Andrés Miller introducen la técnica de trasplante en Uruguay. El alo–TMO es la única opción potencialmente curativa para la LMC hasta el momento. Se acepta que los pacientes con LMC que reciben un alo–TMO y logran una remisión molecular con desaparición del rearreglo BCR ABL, mantenido durante años (indetectable por RT–PCR) pueden considerarse curados. En 5.725 alo–TMO reportados al IBMTR, entre 1996 y 2001, la probabilidad de sobrevivir a los 6 años fue de: 71% en 2.720 trasplantes realizados en el primer año luego del diagnóstico y 59% en 1.317 pacientes trasplantados luego del año. La morbilidad del procedimiento y la probabilidad de obtener un donante haploidéntico limitan el procedimiento, sólo un 30% de los pacientes tiene un donante HLA idéntico. La supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global son claramente superior si se realiza el procedimiento del TMO en fase crónica, que en fase acelerada o crisis blástica.

Se recomienda realizar el trasplante en fase crónica en el primer año del diagnóstico.

RECOLECCIÓN DE CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS

Se comparó la cosecha de células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica (CPSP) vs médula ósea (CPMO) y se comprobó en la CPSP tiempos de *engraftment* más rápidos, con un riesgo equivalente de enfermedad injerto *versus* huésped (GVHD) aguda y una GVHD crónica manejable. Champion et al. en una revisión sobre la experiencia del IBMTR y el *European Group for Blood and Marrow Transplantation* (EBMT), analiza retrospectivamente la evolución de 288 pacientes sometidos a TMO con CPSP vs. 536 con CPMO, todos con donantes relacionados HLA idénticos, sin depleción de linfocitos, con una media de seguimiento de 12 meses. La recuperación de neutrófilos y plaquetas es significativamente más corta con CPSP (14 vs. 19 días y 18 vs. 25 días), lo que acortó los tiempos de internación a favor del primer grupo. La incidencia de GVHD aguda no es diferente, pero sí de la forma crónica que es mayor con CPSP. La probabilidad de recaída es similar. La mortalidad relacionada al trasplante (MRT) y la SLE también son similares en leucemias en estadios tempranos; siendo la CPSP mejor opción cuando se trata de leucemias avanzadas. La LMC necesita asociado a la GVHD, el efecto injerto vs. leucemia (GVL) como uno de los mecanismos de curación.

Las técnicas estándar de depleción de linfocitos en el inóculo disminuyen drásticamente la GVHD pero aumenta los riesgos de falla de *engraftment* y recaída de la enfermedad.

Recomendación

Cosecha de progenitores de sangre periférica (CPSP).

Segun protocolo del centro o caso clínico puede realizarse CPMO y/o CPSP

TRATAMIENTOS CONDICIONANTES

Los **tratamientos condicionantes clásicos** para la LMC asocian altas dosis de quimioterapia e irradiación corporal total o quimioterapia sola. Uno de los más usados en busulfán y ciclofosfámid (Bu/Cy). Con estos planes se provoca una adecuada inmunosupresión para lograr el *engraftment* y mayor posibilidad de eliminación de células leucémicas remanentes, asociando el efecto de la quimioterapia al de GVL.

Recomendación Bu/Cy

Los **regímenes semiablativos** (mini–alo) se basan en el uso de regímenes condicionantes de menor intensidad, provocan una mejor tolerancia, una menor toxicidad y una menor GVHD aguda. Su objetivo es controlar la enfermedad por medio del efecto inmunológico originado por la

reacción injerto versus leucemia (GVL). Está indicado en pacientes en los cuales se espera una alta mortalidad relacionada al trasplante, ya sea por la edad u otros factores de riesgo. Con esta modalidad de trasplante en general se logra inicialmente un quimerismo parcial, transformándose en completo con la supresión de la inmunosupresión o con la infusión de linfocitos del donante (ILD).

Recomendación: pacientes en los cuales se espera una alta mortalidad relacionada al trasplante, ya sea por la edad u otros factores de riesgo.

El plan de condicionamiento de elección depende del protocolo del centro. Los regímenes más empleados son:

- Bu/Cy/fuldarabina
- Bu/fuldarabina
- Ciclofosfamida / fludarabina/ATG
- Fludarabina/melfalan
- Irradiación corporal total fracionada a dosis reducida.

Profilaxis de la GVHD

La profilaxis de la GVHD depende del protocolo del centro. Se puede realizar ciclosporina con o sin metotrexate o micofenolato mofetilico entre otros.

Mantenimiento

Está en estudio el uso de imatinib como mantenimiento después de un mini-alo; se plantea que esta opción aumente la proporción de pacientes en los que se logre una remisión molecular adecuada, duradera y una posible curación.

TRASPLANTE CON DONANTE NO RELACIONADO

Uno de los principales problemas del alo-TMO es la dificultad para obtener un donante relacionado. Es posible realizar trasplantes con una fuente alternativa de células hematopoyéticas: donante no relacionado compatible (histoiéntico), donante relacionado no histoiéntico, células progenitoras hematopoyéticas de cordón umbilical (CPCU). La LMC es la patología con mayor incidencia de TMO no relacionado en los EUA. La posibilidad de conseguir un donante a trabes de los diferentes registros de donante es de 60% y los tiempos de búsqueda son de un promedio de 4 meses. El TMO con donante no relacionado es un procedimiento de mayor riesgo con una mortalidad mayor pero con un claro potencial curativo. Los pacientes sometidos a trasplantes de donantes no emparentados generalmente son más jóvenes y tienen un intervalo de tiempo mayor entre el diagnóstico y el trasplante. El National Marrow Donor Program (NMDP) sobre un total de 1423 pacientes con LMC, con una media de edad de 35 años, presenta a los 3 años una sobrevida del 37%.

Para el IBMTR la sobrevida en trasplante no relacionado idéntico, realizado antes del año del diagnóstico en 677 pacientes registrados entre 1996–2001 es del 55% a los 3 años, y cuando se realiza después del año es del 52% (N=951).

La mayoría de las recaídas ocurren en los primeros 5 años, pero han ocurrido hasta 9 años después del TPH. Los trasplantes de donantes no relacionados están asociados con un riesgo mayor de rechazo del injerto e infección, la frecuencia de recaída es más baja.

La posibilidad de utilizar donantes no histoiénticos relacionados, sería una opción en la decisión de pacientes sin otras alternativas terapéuticas y sin donante histoiéntico no relacionado, que además requeriría de procedimientos especiales, como ser depleción linfocitaria del inóculo, tratando de manejar la EICH y su morbimortalidad.

El trasplante con células de cordón se realiza principalmente en niños, por el número de progenitores que se obtienen con la técnica y la LMC es excepcional en el niño.

ROL DEL TMO AUTÓLOGO

Al comienzo de la década de 1990 el grupo del Hospital San Martino de Génova Italia, empezó a realizar TMO autólogos, con recolección de *stem cell* periféricas Ph-, Usando esquemas de movilización tipo ICE, mini ICE y G-CSF, en LMC en fase crónica tempranas colectadas precozmente. Se realizó esta técnica en 33 pacientes donde la reconstrucción hematopoyética Ph- la observaron en 48% de los pacientes. Todos recibían mantenimiento con INF e IL2. Nueve pacientes permanecían en respuesta citogenética completa a los 31 meses. No hay hasta el momento resultados concluyentes.

El advenimiento del imatinib abre una nueva perspectiva en paciente que logran la negativización citogenética y molecular, se requieren estudios prospectivos para poder sacar conclusiones definitivas.

PACIENTES CANDIDATOS A TMO:

Primera decisión

Pacientes en tratamiento con Imatinib (23–26)

A los pacientes con respuesta subóptima al imatinib debe ofrecerse un alo-TMO. (ASH 2004)

Se considera respuesta subóptima con el tratamiento, en base de 400 mg x 6 a 12 meses cuando:

- 1.- No hay remisión hematológica luego de los 3 meses
- 2.- No hay respuesta citogenética luego de 6 meses
- 3.- No hay respuesta citogenética mayor luego de 12 meses

- Si se puede realizar RT-PCR (cuantitativo)
- 1.- Se observa menos de 3 log de reducción de la relación BCR/ABL/ABL, con relación al pre tratamiento.
 - 2.- Hay aumento de 2 log en la relación BCR/ABL/ABL por RT-PCR o detección de mutaciones en la región quinasa del ABL.

Segunda decisión

Si el paciente es candidato para TMO, si tiene < 45 años debemos evaluar si tiene un donante histocompatible relacionado (DIR) y si tiene < de 35 años, y no tiene DIR se debe realizar una búsqueda en el Registro Internacional de Donantes. Si es un paciente de alto riesgo (Anexo 1) el límite etario para la realización del TMO aumenta en 10 años, y si es una LMC de bajo riesgo, disminuye en 10 años.

Tercera decisión Índice de Gratwohl

El grupo de Gratwohl y colaboradores (23), de acuerdo a los datos aportados por el grupo Europeo de trasplantes definieron 5 factores pronósticos principales, confeccionando un Score de riesgo que permite estratificar la posibilidad de sobrevida y mortalidad relacionada al alo-TMO en la LMC.

Estos factores son:

| | |
|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| El tipo de donante: | 0 = donante hermano HLA idéntico 1 = donante compatible no relacionado |
| Fase de la enfermedad: | 0 = 1 ^{era} fase crónica FC 1 = fase acelerada FA 2 = fase blástica o posteriores FC |
| Edad del paciente: | 0 ≤ 20 años 1 = 20 – 40 años 2 ≥ 40 años |
| Combinación de sexo: | 0 = iguales, masculino/ femenino 1 = donante femenino, receptor masculino |
| Intervalo del diagnóstico al trasplante: | 0 ≤ 12 meses 1 ≥ 12 meses |

El cálculo de estos factores de riesgo se correlaciona con la sobrevida actuarial. Es muy útil para el clínico en el momento que tiene que optar por realizar o recomendar un alo-TMO.

De acuerdo a la puntuación obtenida en cada paciente se calcula cual es la posibilidad de sobrevida libre de enfermedad a los 5 años expresada en % y cual es la mortalidad relacionada al trasplante.

| Factores de riesgo | SLE a los 5 años | MRT |
|--------------------|------------------|-----------|
| 0-1 | 60% | 20% – 23% |
| 2 | 47% | 31% |
| 3 | 37% | 46% |
| 4 | 35% | 51% |
| 5-6-7 | 19-16% | 71 – 73% |

La presencia del CMV es otro de los factores a tener en cuenta.

El índice de Sokal se utiliza con fines similares y valora: Edad, tamaño del bazo, número de plaquetas y porcentaje de blastos en sangre periférica.

Si no tiene donante o el paciente se niega a recibir un TMO, se sigue la línea de tratamiento como para un paciente que no es candidato a trasplante.

Seguimiento pos trasplante

Pacientes en RC hematológica post-trasplante raramente presentan persistencia de metafases Ph(+) en cambio el estudio molecular detecta el transcrito BCR-ABL en aproximadamente el 50% de ellos en el primer trimestre post-trasplante no asociándose en la mayoría de los casos a recaída hematológica. La incidencia de PCR (+) decrece con el tiempo siendo menor al 10% luego del primer año post-trasplante. Se ha demostrado que el RT-PCR, predice el riesgo de recaída en trasplante dependiendo del momento específico en que se detectó la ERM. Cabe recordar que existe un grupo de pacientes con largo tiempo de sobrevida que expresan bajos niveles de ERM. La detección de ERM luego TPH identifica pacientes con alto riesgo de recaída cuando es detectada por PCR entre 6-12 meses post-trasplante o Q-PCR (+) entre los 3-6 m.

La técnica de FISH en trasplante es menos indicada ya que es menos sensible que RT-PCR y su valor comparativo para establecer recaídas permanece sin ser determinado. Tefferi y cols sugieren realizar la evaluación post-trasplante cada 6 meses durante los 2 primeros años tanto

por PCR como por Q-PCR.

Recomendación

Realizado el TMO si se logró la RCC, se debe continuar pos trasplante, con monitoreo del ABL-BCR por PCR en sangre periférica cada 6 meses durante 2 años y luego anualmente (27-32).

Si el estudio es negativo se controla cada 6 meses durante 2 años y luego anualmente.

Si el PCR es (+) se realiza estudio citogenético en médula ósea, si es negativo entra en protocolos de seguimiento.

Si el citogenético en médula ósea es (+) debemos tener en cuenta si desarrolló o no enfermedad injerto versus huésped (GVHD).

Si desarrolló GVHD se puede continuar con Imatinib, o pasar a tratamiento con IFN, o entrar en estudios clínicos.

Si no desarrolló GVHD, se suspende la inmunosupresión y se espera si aparece la GVHD y la reacción injerto contra leucemia (GVL) e instala la RCC.

Si logra RCC, se realiza estudio ABL-BCR si es negativo control. Si es + se aconseja realizar RT-PCR cuantitativo, si aumenta, se realiza infusión de linfocitos del donante (DLI) o se trata con Imatinib, con IFN, o entra en ensayos clínicos.

Análisis de quimerismo

En el trasplante alogénico la infusión de progenitores hematopoyéticos, además de reconstituir el sistema inmune del receptor, induce un efecto «antitumoral» de las células del donante contra las células neoplásicas del receptor conocido como «efecto injerto contra leucemia» especialmente en protocolos no ablativos.

Después del trasplante, es importante poder monitorear la dinámica del implante hematopoyético. La coexistencia de células de distinto origen en un mismo individuo «quimerismo» revela grados diferentes de relación entre las poblaciones celulares de ambos orígenes: receptor/donante.

Esto ha permitido clasificar dicho quimerismo en total, mixto, micro o de linaje, de acuerdo a la relación porcentual existente y a la población celular analizada.

Múltiples técnicas han sido utilizadas para «medir» este quimerismo.

En los casos de trasplantes entre individuos del mismo sexo, grupo sanguíneo, HLA idénticos, el análisis de regiones variables del ADN resulta útil para identificar diferencias entre donante y receptor, que permiten analizar el estado de quimerismo post-trasplante.

Estudio de quimerismo post TPH en LMC

1. Qué sistemas estudiar.
2. Cómo.
3. En qué muestras.
4. Cuándo y con qué frecuencia.
5. En qué poblaciones celulares.

A) Trasplante convencional:

1. Microsatélites – Inicialmente 10 loci en TPH emparentado y 6 en no relacionado para encontrar por lo menos 2 discriminantes.
2. PCR múltiple-Electroforesis en poliacrilamida en secuenciador automático.
3. De rutina en sangre periférica. Sólo en situaciones particulares se coordinarán estudios en médula ósea.
4. Al mes.
 - 4.1. Si existe quimerismo total, cada 3 meses en el primer año y cada 6 en el 2º año.
 - 4.2. Si no existe quimerismo total: 3 estudios consecutivos mensuales.
5. El primer estudio (al mes) no analizar subpoblaciones. El 2º estudio (mes 3 post TPH) subpoblaciones. Si existe quimerismo mixto en alguna subpoblación continuar análisis secuencial en subpoblaciones.

B) TPH con regímenes de condicionamiento de intensidad reducida o no mieloablativo:

1. Microsatélites – Inicialmente 10 loci en TPH emparentado.
2. PCR múltiple-Electroforesis en poliacrilamida en secuenciador automático.
3. De rutina en sangre periférica. Sólo en situaciones particulares se coordinarán estudios en médula ósea.
4. Mensual el primer trimestre. Luego de acuerdo a situación QM/QT, respuesta de la enfermedad y posibles complicaciones.
5. Sub poblaciones: linfocitos T, B, neutrófilos.

ANEXO 1

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE FASE ACCELERADA

| Sokal | IBMTR | WHO |
|----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ≥ 5% blastos en MO o SP | Leucocitosis difícil de controlar con Hidroxiurea | 10–19% de blastos en SP o MO |
| Basófilos > 20% | Duplicación de GB en < 5 días | Basófilos ≥ 20% en SP |
| Plaquetas > 1.000 x 10 ⁹ /l | ≥ 10% blastos en MO o SP | Trombocitopenia persistente < 100 x 10 ⁹ /l no relacionada con tratamiento o trombocitosis > 1000 x 10 ⁹ /l que no responde al tratamiento |
| Evolución clonal | Promielocitos + blastos ≥ 20% en SP o MO | Aumento de la esplenomegalia y de los GB, que no responden al tratamiento |
| Pelger–Huet, eritroblastos, fragmentos de megacariocitos | Basófilos + Eosinófilos en SP ≥ 20% | Evidencia citogenética de evolución clonal |
| Fibrosi medular colágena | Anemia o plaquetopenia que no responde a hidroxiurea | |
| Anemia o plaquetopenia no relacionada con tratamiento | Trombocitosis persistente | |
| Esplenomegalia progresiva | Evolución clonal | |
| Duplicación de GB en < 5 días | Esplenomegalia progresiva | |
| Fiebre de causa no aclarada | Desarrollo de mielofibrosis | |

ANEXO 2.

FASE BLÁSTICA

| WHO | IBMTR |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------|
| ≥ 20% blastos en SP o MO | ≥ 30% de blastos en SP o MO o ambos |
| Proliferación blástica extramedular | Infiltrado extramedular de células leucémicas |
| Grandes focos de blastos en BMO | |

ÍNDICE PRONÓSTICO DE SOKAL

Edad.

Tamaño del bazo.

Cifras de plaquetas.

Porcentaje de blastos.

Son elementos de mal pronóstico edad avanzada, trombocitosis > 700 x 10⁹/L, tamaño del bazo, porcentaje de blastos, anomalías citogenéticas adicionales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kurzrock R, Kantarjian HM, Druker BJ, et al.: Philadelphia chromosome–positive leukemias: from basic mechanisms to molecular therapeutics. *Ann Intern Med* 138 (10): 819–30, 2003.
2. Deininger MW, Goldman JM, Melo JV: The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* 96 (10): 3343–56, 2000
3. Onida F, Ball G, Kantarjian HM, et al.: Characteristics and outcome of patients with Philadelphia chromosome

- negative, bcr/abl negative chronic myelogenous leukemia. *Cancer* 95 (8): 1673–84, 2002
4. Martiat P, Michaux JL, Rodhain J: Philadelphia–negative (Ph–) chronic myeloid leukemia (CML): comparison with Ph+ CML and chronic myelomonocytic leukemia. The Groupe Français de Cytogénétique Hématologique. *Blood* 78 (1): 205–11, 1991
 5. Cortes JE, Talpaz M, Beran M, et al.: Philadelphia chromosome–negative chronic myelogenous leukemia with rearrangement of the breakpoint cluster region. Long–term follow–up results. *Cancer* 75 (2): 464–70, 1995
 6. Goldman JM, Melo JV: Chronic myeloid leukemia—advances in biology and new approaches to treatment. *N Engl J Med* 349 (15): 1451–64, 2003
 7. Lee SJ, Anasetti C, Horowitz MM, et al.: Initial therapy for chronic myelogenous leukemia: playing the odds. *J Clin Oncol* 16 (9): 2897–903, 1998.
 8. Ozer H, George SL, Schiffer CA, et al.: Prolonged subcutaneous administration of recombinant alpha 2b interferon in patients with previously untreated Philadelphia chromosome–positive chronic–phase chronic myelogenous leukemia: effect on remission duration and survival: Cancer and Leukemia Group B study 8583. *Blood* 82 (10): 2975–84, 1993
 9. Kantarjian HM, Smith TL, O'Brien S, et al.: Prolonged survival in chronic myelogenous leukemia after cytogenetic response to interferon–alpha therapy. The Leukemia Service. *Ann Intern Med* 122 (4): 254–61, 1995.
 10. Long–term follow–up of the Italian trial of interferon–alpha versus conventional chemotherapy in chronic myeloid leukemia. The Italian Cooperative Study Group on Chronic Myeloid Leukemia. *Blood* 92 (5): 1541–8, 1998
 11. Bhatia R, Holtz M, Niu N, et al.: Persistence of malignant hematopoietic progenitors in chronic myelogenous leukemia patients in complete cytogenetic remission following imatinib mesylate treatment. *Blood* 101 (12): 4701–7, 2003.
 12. Hughes TP, Kaeda J, Branford S, et al.: Frequency of major molecular responses to imatinib or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 349 (15): 1423–32, 2003
 13. Rosti G, Martinelli G, Bassi S, et al.: Molecular response to imatinib in late chronic–phase chronic myeloid leukemia. *Blood* 103 (6): 2284–90, 2004
 14. Kantarjian HM, Deisseroth A, Kurzrock R, et al.: Chronic myelogenous leukemia: a concise update. *Blood* 82 (3): 691–703, 1993.
 15. Clift RA, Buckner CD, Thomas ED, et al.: Marrow transplantation for chronic myeloid leukemia: a randomized study comparing cyclophosphamide and total body irradiation with busulfan and cyclophosphamide. *Blood* 84 (6): 2036–43, 1994
 16. Kantarjian H, Sawyers C, Hochhaus A, et al.: Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 346 (9): 645–52, 2002.
 17. Kantarjian HM, Cortes JE, O'Brien S, et al.: Long–term survival benefit and improved complete cytogenetic and molecular response rates with imatinib mesylate in Philadelphia chromosome–positive chronic–phase chronic myeloid leukemia after failure of interferon–alpha. *Blood* 104 (7): 1979–88, 2004
 18. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, et al.: Imatinib compared with interferon and low–dose cytarabine for newly diagnosed chronic–phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 348 (11): 994–1004, 2003
 19. Kantarjian H, Talpaz M, O'Brien S, et al.: High–dose imatinib mesylate therapy in newly diagnosed Philadelphia chromosome–positive chronic phase chronic myeloid leukemia. *Blood* 103 (8): 2873–8, 2004
 20. Peggs K, Mackinnon S: Imatinib mesylate—the new gold standard for treatment of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 348 (11): 1048–50, 2003
 21. Druker BJ, Sawyers CL, Kantarjian H, et al.: Activity of a specific inhibitor of the BCR–ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome. *N Engl J Med* 344 (14): 1038–42, 2001
 22. Rosti G, Martinelli G, Bassi S, et al.: Molecular response to imatinib in late chronic–phase chronic myeloid leukemia. *Blood* 103 (6): 2284–90, 2004
 23. Gratwohl A, Hermans J: Allogeneic bone marrow transplantation for chronic myeloid leukemia. Working Party Chronic Leukemia of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant* 17 (Suppl 3): S7–9, 1996
 24. Wagner JE, Zahurak M, Piantadosi S, et al.: Bone marrow transplantation of chronic myelogenous leukemia in chronic phase: evaluation of risks and benefits. *J Clin Oncol* 10 (5): 779–89, 1992
 25. Goldman JM, Szydlo R, Horowitz MM, et al.: Choice of pretransplant treatment and timing of transplants for chronic myelogenous leukemia in chronic phase. *Blood* 82 (7): 2235–8, 1993
 26. Clift RA, Appelbaum FR, Thomas ED: Treatment of chronic myeloid leukemia by marrow transplantation. *Blood* 82 (7): 1954–6, 1993.
 27. Pichert G, Roy DC, Gonin R, et al.: Distinct patterns of minimal residual disease associated with graft–versus–host disease after allogeneic bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia. *J Clin Oncol* 13 (7): 1704–13, 1995
 28. Beelen DW, Graeven U, Elmaagacli AH, et al.: Prolonged administration of interferon–alpha in patients with chronic–phase Philadelphia chromosome–positive chronic myelogenous leukemia before allogeneic bone marrow transplantation may adversely affect transplant outcome. *Blood* 85 (10): 2981–90, 1995
 29. Giralt SA, Kantarjian HM, Talpaz M, et al.: Effect of prior interferon alfa therapy on the outcome of allogeneic bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia. *J Clin Oncol* 11 (6): 1055–61, 1993
 30. Giralt S, Szydlo R, Goldman JM, et al.: Effect of short–term interferon therapy on the outcome of subsequent HLA–identical sibling bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia: an analysis from the international bone marrow transplant registry. *Blood* 95 (2): 410–5, 2000.
 31. Hehlmann R, Hochhaus A, Kolb HJ, et al.: Interferon–alpha before allogeneic bone marrow transplantation in chronic myelogenous leukemia does not affect outcome adversely, provided it is discontinued at least 90 days before the procedure. *Blood* 94 (11): 3668–77, 1999
 32. Morton AJ, Gooley T, Hansen JA, et al.: Association between pretransplant interferon–alpha and outcome after unrelated donor marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia in chronic phase. *Blood* 92 (2): 394–401, 1998
 33. Goldman J. Stem Cell Transplantation for CML: Its place in treatment Algorithms 2001. *Hematology* 2001:103–108.

BIBLIOGRAFIA ANATOMÍA PATOLÓGICA BMO

1. Kvasnicka HM, Thiele J, Schmitt–Graeff A, et al. Bone marrow features improve prognostic efficiency in multivariate risk classification of chronic–phase Ph+ chronic myelogenous leukemia: a multicenter trial. *J Clin Oncol* 19: 2994–3009, 2001.
2. Kvasnicka HM, Thiele J, Schmitt–Graeff A, et al. Impact of bone marrow morphology on multivariate risk classi-

- fication in chronic myelogenous leukemia. *Acta Haematol* 109: 53–56, 2003.
3. Thiele J, Kvasnicka HM, Schmitt-Graeff A, et al. Changing patterns of histological subgroups during therapy of Ph + chronic myelogenous leukemia. *Histopathol* 37: 355–362, 2000.
 4. Kvasnicka HM, Thiele J, Schmitt-Graeff A, et al. Prognostic impact of bone marrow erythropoietic precursor cells and myelofibrosis at diagnosis of Ph + chronic myelogenous leukemia – a multicentre study on 495 patients. *Br J Haematol* 112: 727–739, 2001.
 5. Buesche G, Georgii A, Duensing A, et al. Evaluating the volume ratio of bone marrow affected by fibrosis: a parameter crucial for the prognostic significance of marrow fibrosis in chronic myelogenous leukemia. *Hum Pathol* 34: 391–401, 2003.
 6. Thiele J, Kvasnicka HM, Schmitt-Graeff A, et al. Effects of interferon and hydroxyurea on bone marrow fibrosis in chronic myelogenous leukemia: a comparative retrospective multicentre histological and clinical study. *Br J Haematol* 108: 64–71, 2000.
 7. Beham-Schmid C, Apfelbeck U, Tsybrovsky O, et al. Treatment of chronic myelogenous leukemia with the tyrosine kinase inhibitor ST1571 results in marked regression of bone marrow fibrosis. *Blood* 99: 381–383, 2002.
 8. Brazier RM, Launder TM, Druker BJ, et al. Hematopathologic and cytogenetic findings in imatinib mesylate-treated chronic myelogenous leukemia patients: 14 months' experience. *Blood* 100: 435–441, 2002.
 9. Buesche G, Helmann R, Hecker H, et al. Marrow fibrosis, indicator of therapy failure in chronic myeloid leukemia – prospective long-term results from a randomized-controlled trial. *Leukemia* 17: 2444–2453, 2003.
 10. Thiele J, Kvasnicka HM, Beelen DW, et al. Erythropoietic reconstitution, macrophages and reticulin fibrosis in bone marrow specimens of CML patients following allogeneic transplantation. *Leukemia* 14: 1378–1385, 2000.
 11. Thiele J, Kvasnicka HM, Beelen DW, et al. Relevance and dynamics of myelofibrosis regarding hematopoietic reconstitution after allogeneic bone marrow transplantation in chronic myelogenous leukemia – a single center experience on 160 patients. *Bone Marrow Transplant* 26: 275–281, 2000.
 12. Busche G, Majewski H, Schlue J, et al. Frequency of pseudo-Gaucher cells in diagnostic bone marrow biopsies from patients with Ph+ chronic myeloid leukemia. *Virchow Archiv* 430: 139–148, 1997.

PAUTAS DE DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO GENÉTICO-MOLECULAR EN LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA

Bibliografía

1. Buchdunger E, Cioffi CL, Law N, Stover D et al. ABL protein tyrosine kinase inhibitor ST1571 inhibits in vitro signal transduction mediated by c-kit and platelet derived growth factor receptors. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000 ; 295 : 139–145.
2. Cortes J, Talpaz M, O'Brien S, et al. Clinical significance of molecular monitoring in CML in chronic phase with imatinib therapy. Abstract 272. *Blood* 2004; 104: 81a.
3. Kantarjian HM, Cortes JE, O'Brien S et al. Long-term survival benefit and improved complete cytogenetic and molecular response rates with imatinib mesylate in Philadelphia-chromosome positive chronic phase chronic myeloid leukaemia after failure of interferon-alpha. *Blood* 2004; 104–: 1979–1988.
4. Melo JV. The diversity of BCR-ABL fusion protein and their relationship to leukemia phenotype. *Blood.* 1996; 88: 2375–2384.
5. Rowley JD. A new consistent chromosomal abnormality in CML identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature.* 1973; 243: 290-293.
6. Tefferi A, Dewald G, Litzow M et al. Chronic Myeloid Leukemia : Current Application of Cytogenetics and Molecular Testing for Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin Proc.* 2005 ; 80 (3) : 390–402

© **Cátedra de Hematología.** Noviembre 2005. Montevideo, Uruguay

Versión electrónica especialmente producida para el Departamento Clínico de Medicina del Hospital de Clínicas «Dr. Manuel Quintela» y la Cátedra de Hematología (FM, UdelaR).

Edición | diseño: dp@arena.com.uy | Montevideo, Uruguay

Se agradece y estimula la reproducción de este material siempre que lo autoricen sus autores.