

# Tratamiento de la leucemia mieloide crónica en 2011

COORDINADORES: F. CERVANTES. *Barcelona*  
J.C. HERNÁNDEZ BOLUDA. *Valencia*

## Presentación

La leucemia mieloide crónica (LMC) constituye el paradigma de cómo un tratamiento dirigido frente a la diana molecular causante de una enfermedad puede permitir un control altamente efectivo de la misma. De hecho, el éxito incuestionable de la introducción del imatinib en el manejo de la LMC ha estimulado de forma intensa la investigación sobre nuevas dianas terapéuticas en las distintas neoplasias humanas. Con todo, en ninguna otra enfermedad oncológica el tratamiento selectivo frente a una alteración molecular se ha acompañado de unos resultados tan excepcionales, lo que confirma el papel primordial de BCR-ABL en la patogénesis de la LMC.

El presente simposio se centrará en el estado actual del tratamiento de la LMC y sus perspectivas futuras. En primer lugar, el doctor Cervantes repasará el desarrollo clínico del imatinib en los últimos 10 años, mencionando los resultados de su uso en monoterapia a distintas dosis y en combinación con otros fármacos, así como la información disponible de los ensayos clínicos en curso de suspensión de imatinib en pacientes con respuesta molecular sostenida. A su vez, el doctor Román abordará los mecanismos de resistencia primaria y secundaria a los inhibidores de la tirosina cinasa disponibles en la clínica. Por su parte, el doctor Rosti actualizará los resultados del empleo de inhibidores de la tirosina cinasa de segunda generación como tratamiento de primera línea de la LMC. Por último, el doctor Olavarria expondrá el papel del trasplante alogénico en la LMC, centrándose en sus indicaciones actuales, la selección del esquema de acondicionamiento y el manejo de las recaídas postrasplante.



## IMATINIB EN LA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA EN 2011

F. CERVANTES

*Servicio de Hematología. Institut Clínic de Hematología y Oncología. Hospital Clínic. IDIBAPS. Universidad de Barcelona*

---

### Resumen

Imatinib mesilato, el primer inhibidor de la proteína tirosina cinasa BCR-ABL, constituye el paradigma de cómo el conocimiento de los mecanismos moleculares implicados en la patogénesis de una neoplasia hace posible el desarrollo de tratamientos altamente efectivos para la misma. Tras demostrarse su eficacia en pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC) resistentes o intolerantes a interferón- $\alpha$  (IFN), el estudio *IRIS*, que comparaba imatinib frente a IFN más citarabina (Ara-C) en pacientes con LMC en fase crónica de nuevo diagnóstico, estableció imatinib como tratamiento de primera línea de la enfermedad, dada su elevada tasa de respuestas citogenéticas completas y moleculares mayores. El seguimiento de los pacientes tratados con imatinib ha mostrado que dichas respuestas son duraderas y que tienen un gran impacto en la supervivencia de los pacientes. Se ha intentado optimizar el tratamiento con imatinib aumentando la dosis del fármaco o combinándolo con otros agentes eficaces en la LMC, como el IFN. Aunque alguna de estas estrategias ha conseguido respuestas más precoces o más profundas, por el momento ello no se ha traducido en una mayor supervivencia de los pacientes. Por otra parte, ensayos de interrupción de imatinib en pacientes en respuesta molecular completa han evidenciado que ello sería factible en algunos casos.

---

### Introducción

La LMC es una neoplasia mieloproliferativa crónica caracterizada por la presencia en las células proliferantes de una anomalía molecular adquirida, el oncogén BCR-ABL, que da lugar a la síntesis de una proteína quimérica con actividad tirosina cinasa aumentada esencial en la génesis y mantenimiento de la enfermedad<sup>(1,2)</sup>. El conocimiento de los mecanismos moleculares implicados en la patogénesis de la LMC condujo al desarrollo del imatinib mesilato, el primer inhibidor selectivo de la proteína tirosina cinasa BCR-ABL<sup>(3)</sup>. Tras demostrarse la eficacia del imatinib en la LMC y su buena tolerancia clínica<sup>(4-6)</sup>, este fármaco pasó a constituir la terapéutica de primera línea de la enfermedad<sup>(6)</sup>. El seguimiento a largo plazo de los pacientes tratados con imatinib ha demostrado que la mayoría de las respuestas obteni-

das son duraderas y que ello prolonga de forma sustancial su supervivencia, estando la mayoría en situación de enfermedad mínima residual<sup>(7,8)</sup>. A fin de mejorar los resultados obtenidos con imatinib a la dosis estándar (400 mg/día), se han ensayado estrategias de optimización terapéutica, fundamentalmente el aumento de dosis de imatinib o su combinación con otros agentes de eficacia conocida en la LMC.

En la presente ponencia se revisa de forma somera la experiencia acumulada con el empleo de imatinib en la fase crónica (FC) de la LMC y los resultados de las estrategias encaminadas a mejorar los resultados obtenidos con este innovador fármaco.

---

### Estudios fase 1 y 2 en la leucemia mieloide crónica en fase crónica

En 1998 se inició un estudio fase 1 de tratamiento con imatinib en pacientes con LMC en FC resistentes o intolerantes a interferón- $\alpha$  (IFN)<sup>(4)</sup>. Un total de 83 pacientes recibieron dosis escalonadas de imatinib, de 25 a 1.000 mg/día, por vía oral. Un 98% de los que recibieron una dosis  $\geq 300$  mg/día alcanzaron la respuesta hematológica, habitualmente en las primeras 4 semanas de tratamiento. Los efectos secundarios fueron moderados y consistieron fundamentalmente en la aparición de edema periorbitario o superficial, calambres musculares o mialgias, náuseas, diarrea, dolores óseos y, con menor frecuencia, erupciones cutáneas. Si bien no se alcanzó la dosis máxima tolerable de imatinib, se observó un aumento significativo en la frecuencia de efectos secundarios, tanto hematológicos como extrahematológicos, al administrar dosis superiores a 750 mg/día.

Posteriormente, en un ensayo clínico fase 2 se trató a 454 enfermos con LMC en FC intolerantes o resistentes a IFN con una dosis de 400 mg/día de imatinib<sup>(5)</sup>. Tras año y medio de seguimiento, la mayoría de los pacientes seguían recibiendo el fármaco, siendo los motivos principales de suspensión la progresión de la enfermedad (9%) y, más raramente, los efectos adversos (3%). Las tasas de respuesta hematológica y respuesta citogenética completa (RCC) fueron del 95 y el 41%, respectivamente, y la probabilidad de supervivencia libre de progresión y supervivencia global del 89 y el 95%, respectivamente, a los 18 meses. La toxicidad hematológica fue frecuente pero transitoria y los efectos adversos extrahematológicos, por lo general, leves.

---

### Imatinib a dosis estándar en la leucemia mieloide crónica en fase crónica de nuevo diagnóstico

El ensayo multicéntrico internacional *IRIS* aleatorizó 1.106 pacientes con LMC en FC de nuevo diagnósti-

**Tabla 1. Criterios de respuesta a imatinib (400 mg/día) en la leucemia mieloide crónica en fase crónica de nuevo diagnóstico según las recomendaciones de la European LeukemiaNet**

Tiempo	Respuesta óptima	Respuesta subóptima	Fracaso	Signos de alerta
Basal	NA	NA	NA	· LMC alto riesgo · ACCLon/Ph <sup>a</sup>
3 meses	RHC y al menos cierta R. Cit. (Ph+ ≤ 65%)	Ninguna R. Cit. (Ph+ > 95%)	Menos de RHC	NA
6 meses	Al menos RCP (Ph+ ≤ 35%)	No RCP (Ph+ > 35%)	Ninguna R. Cit. (Ph+ > 95%)	NA
12 meses	RCC	RCP	Ph+ > 35%	Menos de RMM
18 meses	RMM	Menos de RMM	Menos de RCC	· Cualquier aumento de los transcritos · ACCLon/Ph <sup>b</sup>
En cualquier momento	RMM estable o mejorando	· Pérdida de RMM · ACCLon en las células Ph <sup>a</sup> · Mutaciones <sup>c</sup>	· Pérdida de RHC · Pérdida de RCC · Mutaciones <sup>d</sup> · ACCLon en las células Ph <sup>a</sup>	· Cualquier aumento de los transcritos · ACCLon en las células Ph <sup>b</sup>

LMC: leucemia mieloide crónica; NA: no aplicable; R. Cit.: respuesta citogenética; RCC: respuesta citogenética completa; RCP: respuesta citogenética parcial; RHC: respuesta hematológica completa; RMM: respuesta molecular mayor

<sup>a</sup> ACCLon: alteración citogenética clonal en la clona Ph+

<sup>b</sup> Alteración citogenética clonal en la clona Ph-

<sup>c</sup> Bajo nivel de insensibilidad a imatinib

<sup>d</sup> Alto nivel de insensibilidad a imatinib

co a recibir imatinib (400 mg/día) o la combinación de IFN y Ara-C a dosis bajas<sup>(6)</sup>. Los resultados a los 18 meses de seguimiento mostraron diferencias altamente significativas a favor de imatinib, tanto en eficacia como en tolerancia<sup>(6)</sup>. Así, la tasa de RCC fue del 76% en los enfermos tratados con imatinib frente al 14% en los que recibieron IFN y Ara-C. Además, con un seguimiento tan corto, los pacientes tratados con imatinib presentaron una menor tasa de progresión a las fases de aceleración y crisis blástica. Por otra parte, en menos del 3% de los pacientes asignados a imatinib fue preciso suspenderlo por intolerancia, frente a un 31% de los tratados con IFN y Ara-C. Estos resultados sirvieron como base para la aprobación de imatinib como tratamiento de primera línea en la LMC.

El seguimiento a largo plazo del brazo de imatinib del estudio *IRIS* ha puesto de manifiesto la obtención de una RCC en el 83% de los pacientes<sup>(7,8)</sup>. Por ello, para poder definir de manera más precisa la profundidad de la respuesta, se introdujo el concepto de respuesta molecular mayor (RMM), que permite el seguimiento de la enfermedad mínima residual<sup>(9)</sup>. Dicho grado de respuesta se alcanza en más del 80% de los pacientes y en una tercera parte de los casos la enfermedad llega a hacerse indetectable con los métodos actuales de análisis molecular, situación que se conoce como respuesta molecular completa (RMC).

En el estudio *IRIS*, la supervivencia global de los pacientes tratados con imatinib en primera línea es del 85% a los 8 años, alcanzando el 93% si se conside-

ran únicamente las muertes debidas a progresión de la LMC<sup>(8)</sup>. Un hecho interesante ha sido comprobar cómo la mayoría de los eventos de progresión a las fases avanzadas de la enfermedad ocurren dentro de los 3 primeros años de tratamiento, siendo infrecuentes a partir de entonces. Así, en la actualización más reciente del estudio se ha evidenciado que, en los últimos años de seguimiento, se han registrado más muertes por causas no relacionadas con la LMC que por la enfermedad en sí<sup>(8)</sup>. La obtención de una RCC dentro de los primeros 18 meses del tratamiento, acompañada de una RMM, se asocia a una supervivencia global cercana al 100% a los 8 años y a una supervivencia libre de progresión del 95%. Por ello, el logro de una RMM dentro de ese plazo constituye el objetivo deseado en el tratamiento con imatinib de la LMC.

En 2006 un grupo de expertos internacionales, bajo el patrocinio de la European LeukemiaNet, estableció los criterios de respuesta a imatinib en los pacientes con LMC en FC de nuevo diagnóstico tratados con la dosis estándar del fármaco (400 mg/día). Dichos criterios fueron actualizados en 2009 para recoger los datos proporcionados por el seguimiento más prolongado del estudio *IRIS* y la información procedente de otras fuentes<sup>(10)</sup>. La Tabla 1 recoge los signos de alerta y los criterios de respuesta a imatinib según las recomendaciones actuales del citado grupo. En esencia, se tiene en cuenta el grado de respuesta obtenido a los 3, 6, 12 y 18 meses desde el inicio del tratamiento, así como la pérdida de una respuesta previamente obte-

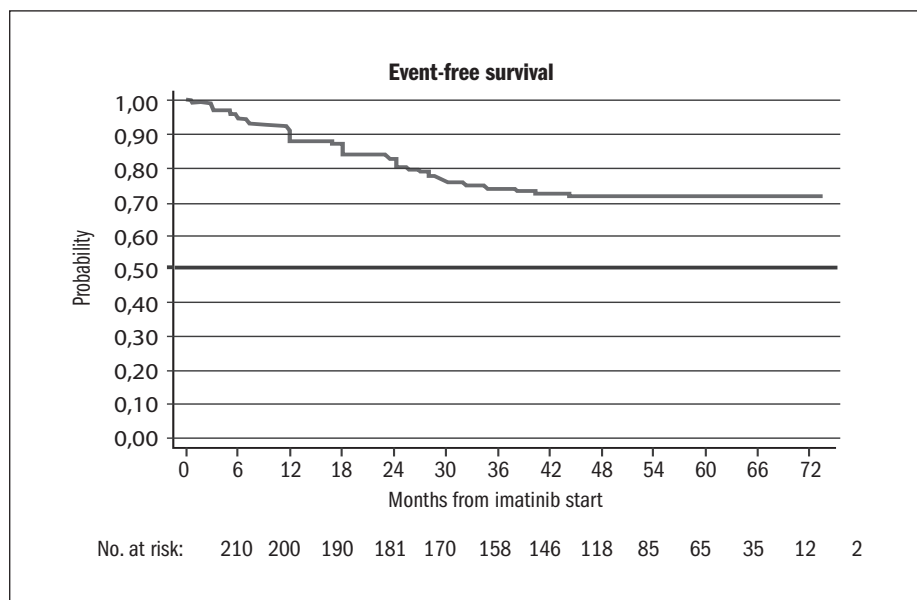


Figura 1. Curva actuarial de supervivencia libre de evento (incluyendo fracaso, progresión, muerte e interrupción definitiva del tratamiento, independientemente de la causa) en 210 pacientes con leucemia mieloide crónica en fase crónica de nuevo diagnóstico tratados con imatinib en primera línea en el estudio del grupo español PETHEMA.

nida o la aparición de mutaciones, para considerar la respuesta como óptima, subóptima o fracaso. En el caso de fracaso, el cambio de tratamiento es obligado. Por su parte, cuando la respuesta es subóptima se aconseja el aumento de dosis de imatinib o el cambio de tratamiento. En este sentido, existe una evidencia creciente a favor de aplicar esta última estrategia en los pacientes con respuesta subóptima a nivel citogenético<sup>(11)</sup>.

Los resultados del estudio *IRIS* se han visto corroborados y, de hecho, son incluso mejores, en otras series, como la del hospital Hammersmith<sup>(12)</sup> o la del grupo español PETHEMA<sup>(13)</sup>. Como contrapartida, se ha confirmado que, a largo plazo, ya sea por respuesta inadecuada o por intolerancia, un tercio de los pacientes deben abandonar definitivamente imatinib para recibir otros tratamientos, habitualmente inhibidores de segunda generación como dasatinib o nilotinib (Figura 1).

Los enfermos resistentes a imatinib pueden serlo de entrada (resistencia primaria) o tras presentar una respuesta (resistencia secundaria). En los últimos años se ha profundizado en el conocimiento de los mecanismos de resistencia a imatinib, destacando en este sentido el papel de las mutaciones del gen BCR/ABL<sup>(14)</sup>. La frecuencia de resistencias varía dependiendo de la fase evolutiva de la LMC y de si la resistencia es primaria o secundaria. Así, en los pacientes en FC con resistencia primaria a imatinib pocas veces se detectan mutaciones, siendo éstas más frecuentes en las resistencias secundarias y, sobre todo, en las fases avanzadas de la enfermedad.

## Imatinib a dosis altas

Una forma de optimizar el tratamiento con imatinib ha sido el aumento de la dosis del fármaco. En el estudio *TOPS*<sup>(15)</sup>, en el que se compararon las dosis de 400 y 800 mg/día en la LMC en FC de nuevo diagnóstico, los pacientes asignados al brazo de 800 mg alcanzaron más rápidamente la RCC y la RMM, pero los resultados se igualaron a partir de los 12 meses, sin que el logro de una respuesta más rápida se tradujese en una mayor supervivencia global o libre de progresión. En cambio, la toxicidad fue mayor que con la dosis estándar, obligando a reducir la dosis en un porcentaje apreciable de los pacientes. Un estudio similar en LMC de alto riesgo mostró resultados parecidos<sup>(16)</sup>, es decir, una respuesta más precoz en los pacientes que recibieron dosis altas, con convergencia de los resultados a los pocos meses y sin diferencias significativas en la supervivencia global o libre de progresión. En la misma dirección, el estudio *SPIRIT* del grupo francés no ha mostrado diferencias entre los pacientes que recibieron 400 y 600 mg de imatinib<sup>(17)</sup>. Finalmente, los resultados de un estudio aleatorizado del grupo alemán han mostrado una ventaja en la tasa de RMM a los 12 meses a favor del brazo de imatinib a dosis altas (800 mg/día), pero sin observarse diferencias significativas en la supervivencia a los 5 años<sup>(18)</sup>. En conjunto, los resultados disponibles no han logrado demostrar de forma convincente la superioridad de las dosis altas de imatinib frente a la dosis estándar y sí su mayor toxicidad.

## Imatinib en combinación con otros fármacos

Entre los fármacos con actividad terapéutica en la LMC candidatos a combinarse con el imatinib cabe destacar el IFN que, en monoterapia, es capaz de inducir respuestas citogenéticas, incluyendo un 10% de RCC. Una ventaja adicional es su mecanismo de acción diferente al del imatinib, puesto que, además de su actividad antiproliferativa y proapoptótica, ejerce un efecto inmunomodulador y restaura la adhesión de los progenitores hemopoyéticos al estroma medu-

lar. Estudios en fase 1/2 combinando imatinib con IFN a dosis bajas mostraron una tasa elevada de respuestas citogenéticas precoces, pero también una toxicidad apreciable, que obligó a reducir la dosis de IFN o a abandonar el tratamiento en una proporción apreciable de los pacientes<sup>(19)</sup>. En un estudio aleatorizado del grupo alemán, en el que se añadió IFN recombinante, no se observaron diferencias ni en la respuesta ni en la supervivencia respecto a imatinib a dosis estándar<sup>(18)</sup>. En cambio, en el estudio francés *SPIRIT*<sup>(17)</sup>, la combinación de imatinib e IFN pegilado consiguió una tasa de respuestas moleculares profundas significativamente superior, aunque sin diferencias significativas en la supervivencia global o libre de progresión. Por ello, convendrá disponer del seguimiento a largo plazo de este estudio para determinar el posible papel de IFN como tratamiento adyuvante de los inhibidores de tirosina cinasa en la LMC.

### Estudios de interrupción de imatinib

Hasta el momento se han llevado a cabo 2 estudios de interrupción de imatinib en pacientes en situación de respuesta molecular completa persistente (más de 2 años de duración). En un estudio del grupo francés<sup>(20)</sup>, de los 69 pacientes con más de 1 año de seguimiento desde la discontinuación de imatinib, se observó recaída de la enfermedad a nivel molecular en el 61% de los casos, mayoritariamente dentro de los 6 primeros meses tras parar el tratamiento. Algunos de los que no han recaído tienen un seguimiento que llega a los 3 años. Todos los pacientes que recayeron respondieron rápidamente a la reinstauración de imatinib. Por su parte, los resultados preliminares de un estudio del grupo de Adelaida confirman una tasa de recaída del 62%, casi siempre en los primeros meses tras la interrupción. Estas observaciones abren la puerta a la posibilidad de que algunos pacientes que consiguen una RMC persistente con imatinib estuvieran eventualmente curados.

### Referencias bibliográficas

- Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, Kurzrock R, Kantarjian HM. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999; 341: 164-72.
- Daley GQ, Van Etten RA, Baltimore D. Induction of chronic myelogenous leukaemia in mice by the P210bcr/abl gene of the Philadelphia chromosome. *Science* 1990; 247: 824-30.
- Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med* 1996; 2: 561-6.
- Druker BJ, Talpaz M, Debra J, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the Bcr-Abl tyrosine kinase in chronic myeloid leukaemia. *N Engl J Med* 2001; 344: 1031-37.
- Kantarjian H, Sawyers C, Hochhaus A, et al. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 2002; 346: 645-52.
- O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, et al. The IRIS International study: imatinib versus interferon and low-dose Ara-C in patients with newly-diagnosed chronic phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2003; 348: 994-1004.
- Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, et al. Five-year follow-up of imatinib therapy for newly diagnosed chronic myelogenous leukemia in chronic-phase. *N Engl J Med* 2006; 355: 2408-17.
- Deininger M, O'Brien SG, Guilhot F, et al. International Randomized Study of Interferon and STI571 (IRIS) 8-year follow-up: sustained survival and low risk for progression or events in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase treated with imatinib. *Blood* 2009; 114: abstract 1126.
- Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-Abl transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. *Blood* 2006; 108: 28-37.
- Baccarani M, Cortes J, Pane F, et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 2009; 27: 6041-51.
- Cervantes F, Mauro M. Practical management of patients with chronic myeloid leukemia. *Cancer* 2011; 117 (19): 4343-54.
- De Lavallade H, Apperley JF, Khorashad JS, et al. Imatinib for newly diagnosed patients with chronic myeloid leukemia: incidence of sustained responses in an intention-to-treat analysis. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3358-63.
- Cervantes F, López-Garrido P, Montero MI, et al. Early intervention during imatinib therapy in patients with newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: a study of the Spanish PETHEMA group. *Haematologica* 2010; 95: 1317-24.
- Apperley JF. Part I. Mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncol* 2007; 8: 1018-29.
- Cortes J, Baccarani M, Guilhot F, et al. Phase III, randomized, open-label study of daily imatinib mesylate 400 mg versus 800 mg in patients with newly diagnosed, previously untreated chronic myeloid leukemia in chronic phase using molecular end points: tyrosine kinase inhibitor optimization and selectivity study. *Blood* 2010; 28: 424-30.
- Baccarani M, Rosti GA, Castagnetti F, et al. Comparison of imatinib 400 mg and 800 mg daily in the front-line treatment of high-risk, Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia: a European LeukemiaNet study. *Blood* 2009; 113: 4497-504.
- Preudhomme C, Guilhot J, Nicolini FE, et al. Imatinib plus peginterferon alfa-2a in chronic myeloid leukemia *N Engl J Med* 2010; 363: 2511-21.
- Hehlmann R, Lauseker M, Junk-Muntwitz S, et al. Tolerability-adapted imatinib 800 mg/d versus 400 mg/d versus 400 mg/d plus interferon-[alpha] in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1634-42.
- Palandri F, Castagnetti F, Iacobucci I, et al. The response to imatinib and interferon-alpha is more rapid than the response to imatinib alone: a retrospective analysis of 495 Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia patients in early chronic phase. *Haematologica* 2010; 95: 1415-9.
- Mahon FX, Rea D, Guilhot F, et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol* 2010; 11: 1029-35.

## MECANISMOS DE RESISTENCIA A INHIBIDORES DE TIROSINA CINASA

J. ROMÁN GÓMEZ, V. MARTÍN PALANCO, M.V. GARCÍA ORTIZ, M. MUÑOZ CALERO, A. TORRES

*Unidad de Hematología. Laboratorio de Biología Molecular. Hospital Reina Sofía. Instituto Maimónides para la Investigación Biomédica. Córdoba*

El imatinib es un inhibidor de la oncoproteína BCR-ABL que, a la dosis habitual de 400 mg/día, ha mostrado una extraordinaria eficacia en los pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC) y se considera, en la actualidad, el tratamiento de primera línea para todos los pacientes con LMC, incluidos aquellos que hasta hace unos años eran elegibles para un trasplante alogénico de médula ósea en primera fase crónica. Tras 9 años de seguimiento del estudio *IRIS*, la supervivencia global es del 86% con una supervivencia libre de eventos del 81% y con un 82% de los pacientes manteniendo una respuesta citogenética completa (RCC) de forma estable<sup>(1)</sup>. Estos resultados son superiores a los obtenidos con otros tratamientos clásicos como el interferón, pero también superiores, en términos de supervivencia a los 5 años y global proyectada, a los que se obtienen con el trasplante alogénico de médula ósea. Además, imatinib ha sido capaz, por primera vez, de modificar la historia natural de la enfermedad, de tal forma que cuanto más tiempo pasa el paciente bajo tratamiento, mayor es la profundidad de la respuesta obtenida y menor la posibilidad de desarrollar una crisis blástica, siendo esta probabilidad prácticamente nula si el paciente ha obtenido una RCC y lleva más de 5 años bajo tratamiento. Sin embargo, nuevos estudios tanto clínicos como biológicos sugieren, de forma evidente, que el imatinib puede tener un limitado potencial curativo (entendido como una erradicación completa y permanente del clon tumoral) en esta enfermedad, al menos empleado como monoterapia.

### Resistencia al imatinib de la célula madre quiescente

En la LMC existe una población de células madres pluripotentes muy primitivas (Lin-CD34+CD38-) y de bajo poder proliferativo (compartimento quiescente) que muestran una insensibilidad a la acción del imatinib y que son las responsables del mantenimiento de la enfermedad *in vivo* y de la reaparición de la misma en pacientes con respuesta molecular completa (RMC) cuando el tratamiento es suspendido<sup>(2)</sup>. Ade-

más, la permanencia de estas células madre en los pacientes con LMC favorece la aparición de mutaciones que conducen a la resistencia clínica a la terapia. Dicha falta de sensibilidad depende de varios mecanismos:

- Alteraciones en la actividad de las moléculas transportadoras del fármaco y que se encuentran en la membrana celular. En este sentido, existe una expresión disminuida de OCT1, el transportador que introduce imatinib dentro de la célula, mientras que hay sobreexpresión de los transportadores ABCG2 y ABCB1 que se encargan de la expulsión del fármaco<sup>(3-5)</sup>.
- Mayor nivel en la expresión de BCR-ABL (un incremento de 100 veces en los transcritos y de 3-10 veces en la expresión de la proteína/actividad cinasa) que parece ser independiente del estado del ciclo en el que se encuentre la célula.
- Las células evaden su reconocimiento por parte del sistema inmunitario del paciente gracias a una reducción en la expresión de moléculas HLA, de los antígenos específicos de leucemia y de las señales coestimuladoras de los linfocitos T<sup>(6)</sup>.
- El perfil genético de las células primitivas pone de manifiesto una reducción significativa de los principales mediadores de la apoptosis, incluyendo las caspasas, Fas y receptores del factor de necrosis tumoral (TNFR)<sup>(7)</sup>. Esta prevalencia de las señales antiapoptóticas se debe a la producción autocrina/exocrina de interleucina-3<sup>(8)</sup> y a una interacción anómala con la estroma medular<sup>(9)</sup>.

Un hecho determinante es que mutaciones en el dominio ABL cinasa están presentes en estas células CD34+CD38- primitivas en un considerable número de pacientes con LMC (~ 30%) antes de comenzar la terapia con imatinib. Estas células proliferan bajo la presión positiva de la droga hasta constituir la celularidad predominante que determina la resistencia clínica a la misma. De ahí la importancia de erradicar dicha población de manera precoz<sup>(10,11)</sup>.

### Resistencias primarias al tratamiento con imatinib

La resistencia primaria al imatinib hace referencia a la incapacidad para obtener un nivel adecuado de respuesta en un determinado momento tras comenzar la terapia según los criterios definidos por la European LeukemiaNet (ELN)<sup>(12)</sup>. Esta resistencia puede ser subdividida en resistencia primaria hematológica (2-4% de los pacientes) y resistencia primaria citogenética (15-20%). En primera fase crónica, la falta de respuesta inicial al tratamiento con imatinib es más frecuente que la pérdida de respuesta y, a diferencia de los pacientes que presentan una resistencia secundaria, las mutaciones del dominio ABL cinasa raramente cons-

tituyen la causa, apareciendo en un 10-15% de los pacientes<sup>(13)</sup>.

Múltiples factores pueden contribuir a la resistencia primaria al imatinib, incluyendo la disponibilidad intracelular alterada del medicamento, causada por los transportadores de entrada-salida de la droga. La sobreexpresión del gen ABCB1, que codifica la bomba de expulsión de drogas, glicoproteína-P, se ha observado en líneas celulares resistentes a imatinib<sup>(14,15)</sup> y la adición de PSC833 (valsopodar), un inhibidor de la glicoproteína-P, puede aumentar la sensibilidad al imatinib de las células derivadas de pacientes resistentes. Además, un estudio de 33 pacientes que estaban recibiendo imatinib demostró que aquellos que no alcanzaron al menos una respuesta citogenética mayor (RCM) y los que experimentaron progresión de la enfermedad presentaban sobreexpresión de glicoproteína-P<sup>(16)</sup>. Determinados polimorfismos del gen ABCB1 se han relacionado con la probabilidad de obtener una respuesta molecular mayor (RMM) y con las concentraciones plasmáticas de imatinib. Los pacientes con el genotipo T1236T consiguieron de forma significativa mayor porcentaje de RMM y presentaban niveles plasmáticos de imatinib más elevados que los que poseían los genotipos C1236C o C1236T<sup>(17)</sup>. El mecanismo mejor descrito hasta la fecha como causante de resistencia primaria es la disminución de expresión del transportador OCT1. Los pacientes resistentes presentan niveles significativamente más bajos de OCT1 que los buenos respondedores. Estos niveles bajos sólo aparecen en la fracción CD34+ de los pacientes y no en la fracción CD34-, que presenta niveles normales aun en resistentes primarios. En aquellos pacientes tratados con dosis inferiores a 600 mg de imatinib y baja actividad de OCT1, sólo un 18% presentaron una RMM a los 18 meses, frente a un 83% de los que presentaban una actividad normal de OCT1. Estas diferencias en la respuesta desaparecen parcialmente cuando los pacientes son tratados con dosis superiores a 600 mg. Además, a los 60 meses de tratamiento, los pacientes con OCT1 baja presentaban una supervivencia global y libre de eventos significativamente inferior a los pacientes con OCT1 normal<sup>(18)</sup>. Sin embargo, en una reciente actualización de los datos realizada por el mismo grupo, se ha comprobado que la probabilidad de RMM en los pacientes con OCT1 baja no mejora a largo plazo con la escalada de dosis o el cambio a nilotinib, a pesar de que este inhibidor de la tirosina cinasa (TKI) no necesita de OCT1 para su entrada celular. Estos datos sugieren que los pacientes con baja actividad de OCT1 presentan una insensibilidad generalizada a los TKI que no puede ser sólo explicada por un problema de transporte<sup>(19)</sup>.

Los niveles altos de transcripción de la prostaglandina-endoperoxido sintetasa 1/ciclooxigenasa 1 (PTGS1/

COX1), que codifica una enzima que metaboliza el imatinib, pueden estar asociados con la resistencia primaria y podría servir como un biomarcador para identificar a dichos pacientes<sup>(20)</sup>.

Los resultados de diversos estudios diseñados para comprobar el cumplimiento del tratamiento con imatinib han puesto de manifiesto que la adherencia a la terapia constituye el factor individual más importante, determinando el grado de respuesta molecular y la pérdida de la respuesta citogenética. Se ha encontrado una correlación fuerte entre la tasa de adherencia ( $\leq 90\%$  o  $> 90\%$ ) y la probabilidad de alcanzar RMM (28,4 vs. 94,5%;  $p = 0,001$ ) o RMC (0 vs. 43,8;  $p = 0,002$ ), la probabilidad de perder la RCC (26,8 vs. 1,5%;  $p = 0,0002$ ) y la probabilidad de permanecer en tratamiento con imatinib (64,5 vs. 90,6%;  $p = 0,006$ )<sup>(21,22)</sup>. Esta falta de adhesión puede ser la causante de la variabilidad en los niveles plasmáticos de imatinib y la relación de estos niveles con la respuesta al mismo. En un subanálisis del estudio IRIS se determinó el valor de los niveles plasmáticos del fármaco en el día 29 de tratamiento, en relación con la respuesta obtenida. Los pacientes se dividieron en 3 grupos en función del cuartil donde se hallaban sus niveles (Q1 < 647 ng/mL; Q2-Q3  $\geq 647$ -1.170 ng/mL y Q4 > 1.170 ng/mL). Aquellos con niveles comprendidos dentro del grupo Q1 presentaron una menor probabilidad de obtener una RCC durante los 5 años de seguimiento<sup>(23)</sup>.

Como causa de resistencia primaria o respuesta subóptima, hemos de destacar aquellos mecanismos que son independientes de BCR-ABL y que, por lo tanto, escaparían a la acción de los inhibidores específicos de la tirosina cinasa BCR-ABL<sup>(24)</sup>. El más estudiado es la vía de la SRC cinasa Lyn, la cual se ha visto que puede estar activada, de forma independiente de BCR-ABL, en líneas celulares resistentes a imatinib y también en algunos pacientes con resistencia sobre todo en fases avanzadas de la enfermedad<sup>(25)</sup>.

### Resistencias adquiridas al tratamiento con inhibidores de la tirosina cinasa

Las mutaciones en el dominio BCR-ABL cinasa acontecen en el 50-90% de los pacientes con resistencia al imatinib en las fases avanzadas de la enfermedad, mientras que la frecuencia es considerablemente menor en la fase crónica<sup>(26-28)</sup>. Estructuralmente, el dominio ABL cinasa se compone de 3 regiones altamente conservadas: el bucle-p (*p-loop*), el dominio catalítico y el bucle de activación. Una mutación puede afectar a la unión del imatinib en 2 formas: la inhibición directa mediante la alteración de un aminoácido implicado en la unión del fármaco a la cinasa (mutaciones T315I, F317L y F359C/V)<sup>(27,29)</sup> o la inhibición indirecta alteran-

do la conformación de la proteína BCR-ABL (mutaciones G250E, Q252H, Y253H y E255K/V)<sup>(27)</sup>. La mutación T315I se identifica en el 4-15% de los pacientes resistentes a imatinib<sup>(30)</sup> y se le denomina comúnmente la mutación *gatekeeper*, ya que su efecto estructural confiere resistencia a los TKI de segunda generación, nilotinib y dasatinib<sup>(31)</sup>. La mutación T315I forma un enlace de hidrógeno con imatinib a través de la inserción de una isoleucina voluminosa, que se cree interrumpe los puentes de hidrógeno y, por tanto, impide estéricamente la unión del imatinib a BCR-ABL<sup>(32)</sup>. Además, la mutación T315I se asocia con una mayor afinidad por el ATP que puede contribuir a la resistencia<sup>(33)</sup>.

### Mutaciones y tratamiento con imatinib

La presencia de una mutación en BCR-ABL no conduce necesariamente a la resistencia clínica; de hecho, la potencia observada *in vitro* no necesariamente se traduce a la respuesta *in vivo*, en parte debido a que los ensayos *in vitro* no predicen directamente las concentraciones plasmáticas del compuesto *in vivo* ni en el interior de la célula leucémica<sup>(34)</sup>. Los datos son contradictorios acerca de la importancia pronóstica de las mutaciones de BCR-ABL en pacientes. En varios análisis retrospectivos de los pacientes con LMC en fase crónica que han desarrollado resistencia, las mutaciones en el *p-loop* y en T315I se asociaron con una peor supervivencia libre de progresión y supervivencia global<sup>(35-37)</sup>. En contraste, un estudio realizado por Jabbour *et al.*<sup>(38)</sup> en el MD Anderson Cancer Center (MDACC) mostró que las mutaciones en *p-loop* no tenían ningún efecto sobre la supervivencia. El tratamiento que los pacientes recibieron después de fracasar imatinib puede explicar estos resultados contradictorios. Por ejemplo, el estudio de Branford *et al.*<sup>(35)</sup> se llevó a cabo antes de la aprobación de dasatinib y nilotinib, mientras que los pacientes en el estudio del MDACC<sup>(38)</sup> recibieron un inhibidor de segunda generación. Datos recientes, sin embargo, demuestran claramente que tanto las mutaciones de *p-loop* como la T315I ensombrecen el pronóstico de los pacientes en fase crónica<sup>(39,40)</sup>. Una especial mención merecen los pacientes que presentan más de una mutación en el momento de desarrollar la resistencia. Dichos pacientes presentan los peores resultados, tanto en respuesta como en supervivencia libre de progresión<sup>(41)</sup>. A la hora de entender el papel de las mutaciones en la resistencia al imatinib, es importante tener en consideración 4 puntos: (i) el origen de los clones mutantes es a menudo al azar, tanto en muestras tratadas como no tratadas con TKI; (ii) los clones mutados siempre presentan una menor actividad cinasa comparada con los clones no mutados y, por tanto, no pueden proliferar y constituir el clon dominante en ausencia del TKI; (iii) los clones resistentes sólo pue-

den adquirir una ventaja proliferativa y convertirse en el clon dominante bajo la presión del tratamiento con TKI; y (iv) la interrupción temporal del TKI y el cambio a un tratamiento no específico puede ser una opción válida para el tratamiento de las resistencias<sup>(42)</sup>.

### Mutaciones y tratamiento con inhibidores de segunda generación

En los casos de resistencia al imatinib, la utilidad de emplear los datos *in vitro* sobre las mutaciones para seleccionar el inhibidor de segunda generación más apropiado, es todavía materia de controversia. Recientemente, Redaelli *et al.*<sup>(43)</sup> analizó la actividad *in vitro* de imatinib, bosutinib, nilotinib y dasatinib contra 18 mutaciones de BCR-ABL. Las 8 mutaciones más comunes (T315I, Y253F/H, E255D/K/R/V, M351T, G250A/E, F359C/L/V, H396P/R y M244V), las cuales se identifican en el 85% de los pacientes, se incluyeron en el análisis. Las mutaciones se estratificaron de acuerdo a los valores IC<sub>50</sub> como sensibles, moderadamente resistentes, resistentes o altamente resistentes<sup>(43)</sup>. Las conclusiones del trabajo sugieren que estos datos ofrecen una información importante a los clínicos para seleccionar la terapia de segunda línea. Sin embargo, Laneuville *et al.*<sup>(34)</sup> ofrece otro punto de vista sobre el empleo de los datos *in vitro* para predecir la respuesta *in vivo*, argumentando que los datos de eficacia *in vitro* no toman en cuenta otros factores relevantes, tales como si la exposición a la droga es adecuada para bloquear la actividad cinasa de BCR-ABL *in vivo*. Estos datos, junto a 3 hechos evidentes: a) los datos clínicos sobre la eficacia de los TKI contra muchas de las mutaciones de BCR-ABL son muy limitados; b) la propuesta de emplear los valores IC<sub>50</sub> para seleccionar un inhibidor de segunda generación no ha sido evaluada prospectivamente; y c) los valores IC<sub>50</sub> difieren entre diferentes publicaciones, hace que las decisiones clínicas basadas en el tipo de mutación deban tomarse con mucha cautela.

### Monitorización de mutaciones en el tratamiento con inhibidores de la tirosina cinasa

La detección de mutaciones en el momento del diagnóstico de la LMC no ha demostrado ningún beneficio para la predicción de la respuesta<sup>(44)</sup> y no debe utilizarse de forma rutinaria. En un estudio que utilizó técnicas altamente sensibles de secuenciación del ADN, no se observó correlación entre la situación basal de mutación y la respuesta<sup>(44)</sup>. Un trabajo adicional ha confirmado que la identificación de mutaciones antes de la terapia no predice la resistencia<sup>(45)</sup>. El estudio de mutaciones en pacientes en RCC no se recomienda de forma rutinaria. Sin embargo, en un trabajo publicado por el grupo

del Hospital Hammmersmith se detectaron mutaciones en cerca del 5% de los pacientes en RCC y este hallazgo (especialmente mutaciones en *p-loop*) fue predictivo de la pérdida de la RCC. En el análisis multivariante, la detección de una mutación durante el seguimiento de los pacientes en RCC fue el único factor predictivo independiente de la pérdida de respuesta<sup>(57)</sup>. La ELN y el National Comprehensive Cancer Network (NCCN) han establecido guías para la monitorización de los pacientes con LMC<sup>(12,46)</sup> y han definido los criterios para una respuesta óptima, subóptima y fallo al tratamiento. Tanto el NCCN como la ELN recomiendan el análisis de mutaciones en los casos con una respuesta inadecuada y sugieren que el estudio de éstas puede ayudar a la selección de un TKI de segunda generación. Sin embargo, ni el NCCN ni la ELN proporcionan guías claras sobre cómo alterar o seleccionar la terapia basada en dicho análisis mutacional y tampoco discuten el significado de mutaciones particulares (con la excepción de T315I). En este sentido, también se debería tener en cuenta un reciente informe de la Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ) sobre la detección de mutaciones en BCR-ABL y su utilidad en la predicción de la respuesta. La AHRQ revisó 31 publicaciones en las que se analizaban mutaciones (20 con dasatinib, 7 con imatinib, 3 con nilotinib y 1 con varios TKI)<sup>(47)</sup>. El informe concluye que, con la excepción de T315I, la presencia de mutaciones no predice el pronóstico clínico de los pacientes bajo tratamiento con TKI. Por tanto, el valor de la detección de mutaciones en el manejo de los pacientes es incierto y debería ser evaluado con datos prospectivos procedentes de registros internacionales.

Dentro de los métodos de laboratorio empleados para el estudio de mutaciones, la secuenciación Sanger directa de BCR-ABL sigue siendo el método de referencia para el análisis rutinario en Europa. En general, esta técnica permite la detección de los alelos mutados cuando éstos suponen al menos el 20%. Sin embargo, tanto resultados falsos positivos como falsos negativos aparecen en una proporción sustancial de muestras con alelos mutados por encima del 20% (casi un 14% de los casos) y, en la mayoría de las ocasiones, la técnica no es válida para una proporción de alelos del 10% o menor<sup>(48)</sup>. En estos casos se pueden emplear técnicas más sensibles como la reacción en cadena de polimerasa cuantitativa específica de secuencia (ASO-PCR) con un límite de detección del alelo mutante de 100 copias, la pirosecuenciación con un nivel de sensibilidad del 5% o la cromatografía (D-HPLC)<sup>(49)</sup>.

### Otros mecanismos de resistencia adquirida a los inhibidores de la tirosina cinasa

Dos estudios han demostrado que la amplificación génica de BCR-ABL se asocia al desarrollo de resistencia

al imatinib. Esto fue demostrado por la presencia de múltiples copias del gen BCR-ABL evidenciadas por hibridación fluorescente *in situ* (FISH) en los núcleos en interfase. En más de la mitad de los pacientes con amplificación, también se detectó evolución clonal con aparición de nuevas anomalías cromosómicas en adición a t(9;22)(q34;q11)<sup>(52,50)</sup>. Otro mecanismo de resistencia recientemente descrito es el determinado por *splicing* alternativos anómalos que conducen a la pérdida de la región c-terminal de BCR-ABL. Hasta ahora son 4 los tipos de transcritos asociados a este mecanismo: i) 35 nucleótidos insertados entre el exón 8 y 9 del gen ABL; ii) inserción de 79 nucleótidos en la unión de los exones 8-9 de ABL; iii) secuencia de 84 nucleótidos procedentes del intrón 7 insertados entre los exones 7-8 de ABL; y iv) secuencia de 231 nucleótidos procedentes del intrón 4 y retenidos en la unión de los exones 4-5 de ABL<sup>(51)</sup>.

### Agradecimientos

*Este trabajo ha sido financiado por la beca JA 2009/0206 (Consejería de Salud, Junta de Andalucía), beca CSD 2009/0080 (Ministerio de Ciencia e Innovación) y Fondos de la Asociación Pablo Ugarte. Vanesa Martín-Palanco ha recibido una beca del programa Río Hortega (Instituto de Salud Carlos III).*

### Referencias bibliográficas

1. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2006; 355: 2408-17.
2. Graham SM, Jorgensen HG, Allan E, et al. Primitive, quiescent, Philadelphia-positive stem cells from patients with chronic myeloid leukemia are insensitive to STI571 *in vitro*. *Blood* 2002; 99: 319-25.
3. White DL, Saunders VA, Dang P, et al. Most CML patients who have a suboptimal response to imatinib have low OCT-1 activity: higher doses of imatinib may overcome the negative impact of low OCT-1 activity. *Blood* 2007; 110: 4064-72.
4. Burger H, van Tol H, Boersma AW, et al. Imatinib mesylate (STI571) is a substrate for the breast cancer resistance protein (BCRP)/ABCG2 drug pump. *Blood* 2004; 104: 2940-2.
5. Thomas J, Wang L, Clark RE, Pirmohamed M. Active transport of imatinib into and out of cells: implications for drug resistance. *Blood* 2004; 104: 3739-45.
6. Yong AS, Keyvanfar K, Hensel N, et al. Primitive quiescent CD34+ cells in chronic myeloid leukemia are targeted by *in vitro* expanded natural killer cells, which are functionally enhanced by bortezomib. *Blood* 2009; 113: 875-82.
7. Jedema I, van Dreunen L, Hagedoorn RS, Falkenburg JHF. Multi-dimensional resistance phenotype allows subpopulation of quiescent chronic myeloid leukemia Stem cells to universally escape from therapeutic attack. *Blood* 2010; 116: abstract 203.
8. Dorsey JF, Cunnick JM, Lanehart R, et al. Interleukin-3 protects Bcr-Abl-transformed hematopoietic progenitor cells from apoptosis induced by Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitors. *Leukemia* 2002; 16: 1589-95.

9. Jin L, Tabe Y, Konoplev S, Xu Y, et al. CXCR4 up-regulation by imatinib induces chronic myelogenous leukemia (CML) cell migration to bone marrow stroma and promotes survival of quiescent CML cells. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 48-58.
10. Iqbal Z, Iqbal M, Akhtar T, et al. Presence of prior-to-treatment BCR-ABL mutations in CD34+CD38- stem cells of newly diagnosed chronic phase CML patients and their correlation with imatinib resistance: implications of cancer pharmacogenomics and pre-therapeutic genetic testing in personalized treatment of BCR-ABL+ leukemia. *Blood* 2010; 116: abstract 2278.
11. Naka K, Hoshii T, Hirao A. Novel therapeutic approach to eradicate tyrosine kinase inhibitor resistant chronic myeloid leukemia stem cell. *Cancer Sci* 2010; 101: 1577-81.
12. Baccarani M, Cortes J, Pane F, et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 2009; 27: 6041-51.
13. Soverini S, Colarossi S, Gnani A, et al. Contribution of ABL kinase domain mutations to imatinib resistance in different subsets of Philadelphia-positive patients: by the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 7374-9.
14. Mahon FX, Belloc F, Lagarde V, et al. MDR1 gene overexpression confers resistance to imatinib mesylate in leukemia cell line models. *Blood* 2003; 101: 2368-73.
15. Mukai M, Che XF, Furukawa T, et al. Reversal of the resistance to STI571 in human chronic myelogenous leukemia K562 cells. *Cancer Sci* 2003; 94: 557-63.
16. Galimberti S, Cervetti G, Guerrini F, et al. Quantitative molecular monitoring of BCR-ABL and MDR1 transcripts in patients with chronic myeloid leukemia during imatinib treatment. *Cancer Genet Cytogenet* 2005; 162: 57-62.
17. Dulucq S, Bouchet S, Turcq B, et al. Multidrug resistance gene (MDR1) polymorphisms are associated with major molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. *Blood* 2008; 112: 2024-7.
18. White DL, Dang P, Engler J, et al. Functional activity of the OCT1 protein is predictive of long-term outcome in patients with chronic-phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2761-67.
19. White DL, Saunders V, Frede A, et al. Early switching from imatinib to nilotinib in CML patients filing to achieve early molecular targets may not be an effective approach in patients with very low OCT1 activity: a TIDEL II sub-study. *Blood* 2010; 116: abstract 356.
20. Zhang WW, Cortes JE, Yao H, et al. Predictors of primary imatinib resistance in chronic myelogenous leukemia are distinct from those in secondary imatinib resistance. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3642-9.
21. Marin D, Bazeos A, Mahon FX, et al. Adherence is the critical factor for achieving molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia who achieve complete cytogenetic responses on imatinib. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2381-8.
22. Ibrahim AR, Milojkovic D, Bua M, Khorshad JS, Szydlo R, Eliasson L. Poor adherence is the main reason for loss of CCyR and imatinib failure for CML patients on long term imatinib therapy. *Blood* 2010; 116: abstract 3414.
23. Larson RA, Druker BJ, Guilhot F, et al. Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: a subanalysis of the IRIS study. *Blood* 2008; 111: 4022-8.
24. Jilani I, Kantarjian H, Gorre M, et al. Phosphorylation levels of BCR-ABL, CrkL, AKT and STAT5 in imatinib-resistant chronic myeloid leukemia cells implicate alternative pathway usage as a survival strategy. *Leuk Res* 2008; 32: 643-9.
25. Mahon FX, Hayette S, Lagarde V, et al. Evidence that resistance to nilotinib may be due to BCR-ABL, Pgp, or Src kinase overexpression. *Cancer Res* 2008; 68: 9809-16.
26. Soverini S, Colarossi S, Gnani A, et al. Contribution of ABL kinase domain mutations to imatinib resistance in different subsets of Philadelphia-positive patients: by the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 7374-9.
27. Shah NP, Nicoll JM, Nagar B, et al. Multiple BCR-ABL kinase domain mutations confer polyclonal resistance to the tyrosine kinase inhibitor imatinib (STI571) in chronic phase and blast crisis chronic myeloid leukemia. *Cancer Cell* 2002; 2: 117-25.
28. Ernst T, Erben P, Muller MC, et al. Dynamics of BCR-ABL mutated clones before hematologic or cytogenetic resistance to imatinib. *Haematologica* 2008; 93: 186-92.
29. Azam M, Latek RR, Daley GQ. Mechanisms of autoinhibition and STI-571/imatinib resistance revealed by mutagenesis of BCR-ABL. *Cell* 2003; 112: 831-43.
30. Jabbour E, Kantarjian H, Jones D, et al. Characteristics and outcomes of patients with chronic myeloid leukemia and T315I mutation following failure of imatinib mesylate therapy. *Blood* 2008; 112: 53-5.
31. Mauro MJ. Defining and managing imatinib resistance. *Haematology Am Soc Hematol Educ Program* 2006: 219-25.
32. Gorre ME, Mohammed M, Ellwood K, et al. Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification. *Science* 2001; 293: 876-80.
33. Griswold JJ, MacPartlin M, Bumm T, et al. Kinase domain mutants of Bcr-Abl exhibit altered transformation potency, kinase activity, and substrate utilization, irrespective of sensitivity to imatinib. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 6082-93.
34. Laneville P, Di Lea C, Yin O, Woodman R, Mestan J, Manley P. Comparative in vitro cellular data alone are insufficient to predict clinical responses and guide the choice of BCR-ABL inhibitor for treating imatinib-resistant chronic myeloid leukemia [serial online]. *J Clin Oncol* 2010; 28: e169-e171.
35. Branford S, Rudzki Z, Walsh S, et al. Detection of BCR-ABL mutations in patients with CML treated with imatinib is virtually always accompanied by clinical resistance, and mutations in the ATP phosphate-binding loop (P-loop) are associated with a poor prognosis. *Blood* 2003; 102: 276-83.
36. Soverini S, Martinelli G, Rosti G, et al. ABL mutations in late chronic phase chronic myeloid leukemia patients with up-front cytogenetic resistance to imatinib are associated with a greater likelihood of progression to blast crisis and shorter survival: a study by the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol* 2005; 23: 4100-9.
37. Khorshad JS, de Lavallade H, Apperley JF, et al. Finding of kinase domain mutations in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia responding to imatinib may identify those at high risk of disease progression. *J Clin Oncol* 2008; 26: 4806-13.
38. Jabbour E, Kantarjian H, Jones D, et al. Frequency and clinical significance of BCR-ABL mutations in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib mesylate. *Leukemia* 2006; 20: 1767-73.
39. Naqv K, Kantarjian H, Quintás-Cardama A, et al. Characteristics and outcome of chronic myeloid leukemia patients with E255K and E255V BCR-ABL kinase domain mutations. *Blood* 2010; 116: abstract 1226.
40. Nicolini FE, Morisset S, Hochhaus A, et al. The presence of the BCR-ABL T315I mutation in chronic phase chronic myelogenous leukemia resistant to tyrosine kinase inhibitors profoundly compromises overall survival and progression free survival. Preliminary results of a matched pair analysis. *Blood* 2010; 116: abstract 3410.
41. Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Shah NP, et al. Patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase carrying more than one BCR-ABL kinase domain mutation exhibit poorer response rates and outcomes to second-line dasatinib compared to those with no or only one BCR-ABL mutation. *Blood* 2010; 116: abstract 2297.

42. Liu H, Zhu P, Tong C, et al. Clonal evolution of BCR-ABL1 kinase domain mutation in tyrosine kinase inhibitor treatment patient. *Blood* 2010; 116: abstract 597.
43. Redaelli S, Piazza R, Rostagno R, et al. Activity of bosutinib, dasatinib, and nilotinib against 18 imatinib-resistant BCR-ABL mutants. *J Clin Oncol* 2009; 27: 469-71.
44. Willis SG, Lange T, Demehri S, et al. High-sensitivity detection of BCR-ABL kinase domain mutations in imatinib-naive patients: correlation with clonal cytogenetic evolution but not response to therapy. *Blood* 2005; 106: 2128-37.
45. Khorashad JS, Anand M, Marin D, et al. The presence of a BCR-ABL mutant allele in CML does not always explain clinical resistance to imatinib. *Leukemia* 2006; 20: 658-63.
46. National Comprehensive Cancer Network. NCCN: Clinical practice guidelines in oncology. Chronic myelogenous leukemia. Version 2. Jenkintown, PA: NCCN; 2010.
47. Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ). Technology assessment: report on the relative efficacy of oral cancer therapy for medicare beneficiaries versus currently covered therapy. Part 3. Imatinib for chronic myeloid leukemia (CML). Rockville, MD: AHRQ; 2009. Disponible en: <http://www.ahrq.gov/clinic/ta/cml/cml.pdf> (Acceso: 26 de octubre de 2010).
48. Ernst T, Lin F, White HE, La Rosée P, Lion T, Mitterbauer-Hohendanner G, et al. Harmonized testing for BCR-ABL kinase domain mutations In CML: Results of a survey and first control round within 28 national reference laboratories in Europe. *Blood* 2010; 116: abstract 894.
49. Press RD, Yang F. Comparison of different laboratory methods for quantification of BCR-ABL kinase domain mutations in CML patients undergoing tyrosine kinase inhibitor therapy. *Blood* 2010; 116: abstract 2760.
50. Hochhaus A, Kreil S, Corbin AS, et al. Molecular and chromosomal mechanisms of resistance to imatinib (STI571) therapy. *Leukemia* 2002; 16: 2190-6.
51. Ma W, Giles F, Zhang X, et al. Three novel alternative splicing mutations in BCR-ABL1 detected in CML patients with resistance to kinase inhibitors. *Int J Lab Hematol* 2011; 33 (3): 326-31. doi: 10.1111/j.1751-553X.2010.01291.x.

## CURRENT ROLE OF ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN THE MANAGEMENT OF CHRONIC MYELOID LEUKAEMIA

E. OLAVARRÍA

*Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona*

### Introduction

Imatinib has been for over 10 years the treatment of choice for all newly diagnosed patients with chronic myeloid leukaemia (CML)<sup>(1-4)</sup>. Recently, second generation tyrosine kinase inhibitors (TKI) like dasatinib and nilotinib have shown superior efficacy compared to imatinib in achieving complete cytogenetic remissions and major molecular remissions<sup>(5,6)</sup>. However, the recent European approvals of the second generation BCR-ABL inhibitors (dasatinib and nilotinib) for the

treatment of patients newly diagnosed were based on the relatively short-term data from the phase III clinical studies. Longer-term data from those studies are eagerly awaited. It is of note, however, that long-term clinical experience with second-generation BCR-ABL inhibitors is available from the second-line treatment of CML-CP (chronic phase)<sup>(7,8)</sup>. Indeed, the 4-year follow-up of the phase III dasatinib dose-optimisation study in CML-CP patients with resistance, suboptimal response or intolerance to imatinib (*Study-034*) showed a progression-free survival of 66% and an overall survival of 82% with excellent tolerability<sup>(7)</sup>.

A new concept is emerging (Figure 1): TKI therapy should be exploited and maximised for all patients from diagnosis (with a judicious use of all available TKI) in order to avoid and minimise failure and sub-optimal responses. After TKI therapy failure, the decision to proceed with allogeneic stem cell transplantation (SCT) should be based on the risk of the transplant (EBMT risk score) and the likelihood of responding to a different TKI. Clonal evolution, failure to achieve at least mCyR to imatinib, high Sokal score, loss of a previously achieved CHR, mutations resistant to second generation TKI and progression to accelerated or blast phase are some of the factors to be considered. Prior exposure to imatinib does not seem to impact negatively on transplant related mortality, although information regarding the pre-SCT use of dasatinib and nilotinib is lacking. Reduced intensity regimens have decreased the toxicity of allogeneic SCT and T cell depletion strategies have successfully reduced the risk of GVHD, but there is still a high relapse rate in CML patients. Imatinib and, to a lesser extent, dasatinib and nilotinib have been used to successfully postpone the need for DLI in this context and to treat relapse of CML at different stages after SCT.

### Reduced intensity conditioning and imatinib

Reduced intensity conditioning (RIC) regimens have decreased the toxicity of allogeneic SCT and permitted its extension to older patients in whom it was previously contra-indicated<sup>(9,10)</sup>. However, graft-versus-host disease (GVHD) remains a major cause of morbidity and mortality using such protocols and this has resulted in an increased use of T cell depletion (TCD) strategies. Whilst incorporation of antibodies with T cell specificity, such as ATG and alemtuzumab, have been shown to successfully reduce the risk of severe GVHD without compromising stem cell engraftment there is concern that the concomitant abrogation of an immunologically mediated graft-versus-leukaemia effect contributes to the high relapse rate reported after RIC SCT<sup>(10)</sup>.

Efforts to reduce the relapse rate after TCD RIC SCT have focused on the restoration of a GVL effect

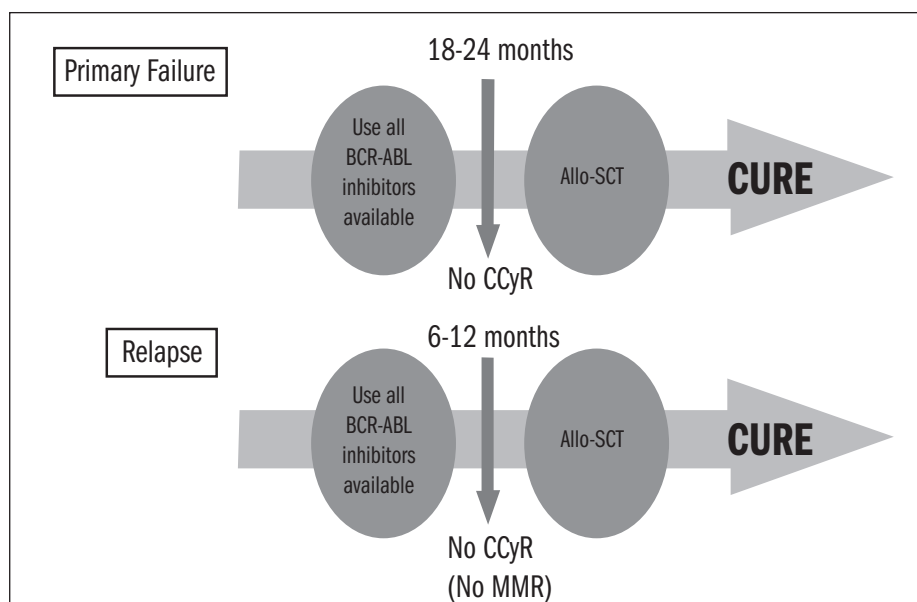


Figura 1. Possible role of stem cell transplantation (SCT) in chronic myeloid leukaemia (CML). CCyR: complete cytogenetic response; MMR: major molecular response.

by the use of prophylactic or pre-emptive donor lymphocyte infusions (DLI) although its utility after RIC SCT is compromised by the high incidence of severe GVHD associated with DLI administered within the first year post-transplant<sup>(11,12)</sup>.

Imatinib has been shown to achieve cytogenetic and molecular remission when given to patients relapsing after standard conditioning SCT<sup>(43)</sup>. In light of its ability to target residual leukaemic cells, the group at the Hammersmith Hospital in London combined a TCD RIC SCT protocol with adjunctive imatinib administered until one year post-transplant with the aim of optimising the anti-leukaemic activity of the transplant procedure and postponing the requirement for DLI to a time when its toxicity is limited<sup>(14)</sup>.

This pilot study confirmed the feasibility of starting imatinib therapy after reduced intensity conditioning allogeneic sibling stem cell transplantation. Imatinib was well tolerated with no patient discontinuing Imatinib therapy due to side effects. Nevertheless, three patients were unable to increase the dose of Imatinib to 400 mg daily as planned as a result of fear of producing more severe myelosuppression and two patients temporarily discontinued Imatinib for a few weeks due to gastro-intestinal problems. Of note, three patients developed secondary graft failure after Imatinib therapy: one patient developed reactivation of CMV, severe hepatitis and severe grade IV GVHD at the same time, so it would seem impossible to discontinue the role of Imatinib in this case.

In this cohort of patients, there was a reduced TRM at 100 days of 0% and at 12 months post SCT of 4%. The incorporation of alemtuzumab as *in vivo* T-cell de-

pletion reduced the risk of acute GVHD to 4% and completely eradicated chronic GVHD post SCT in the study. Furthermore, the use of adjuvant imatinib post RIC-SCT resulted in 95% of patients achieving a 3 log reduction in the bcr-abl/abl ratio with 7 patients achieving a complete molecular remission at 12 months. This suggests a synergistic effect between the immunotherapeutic effect of the allograft (GVL) and the inhibition of the bcr-abl tyrosine kinase activity with imatinib. However, the majority of patients who discontinued imatinib showed evidence of MRD

by RT-PCR requiring DLI. Alternatively, patients could have prolonged the period of imatinib administration.

### Management of patients with resistance to tyrosine kinase inhibitors

The optimal management of patients who are 'failing' or have 'sub-optimal' responses to TKI is far from clear. It is self-evident that one of the causes of seeming resistance to imatinib is failure to take the drug. Although there are no data regarding adherence to second generation TKIs, poor compliance is a problem well-known within the pharmaceutical industry particularly with long-term medication for chronic disorders. Assuming that the TKI is being taken the approach to management will vary with the definition of resistance.

#### Failure to achieve complete cytogenetic response by 12 months

If there is a poor cytogenetic response by 12 months with no evidence of a decline then mutation analysis is indicated. The presence of a T315I mutation would be an indication for allogeneic SCT whenever possible. If there is no mutation or the mutant is sensitive to the second generation TKI, then such therapy would be indicated. However, once resistance to second generation TKI has been established, then an allogeneic SCT should be performed in patients with an EBMT score of 0-5.

Table 1. Indications for allogeneic stem cell transplantation in chronic myeloid leukaemia

	EBMT score 0-2	EBMT score 3-5
First line*	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Not indicated in CP</li> <li>Exceptionally if all of:               <ul style="list-style-type: none"> <li>· Patient's own request</li> <li>· Young (&lt; 40 years)</li> <li>· High Sokal/Hasford score</li> <li>· Fully matched donor.</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Not indicated in CP</li> </ul>
Second line (primary failure)	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Failure to achieve CCyR with first line</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Failure to achieve CCyR with first line and one of the following:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Clonal evolution</li> <li>- Less than mCyR to TKI</li> <li>- High Sokal score at diagnosis</li> <li>- Loss of CHR to TKI</li> </ul> </li> </ul>
Second line (at relapse)	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Mutation resistant to second generation TKI</li> <li>· Clonal evolution</li> <li>· Failure to achieve at least MCyR to second TKI in 6-12 months</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Mutation resistant to second generation TKI</li> <li>· Presentation in AP at diagnosis</li> <li>· Failure to second TKI</li> <li>· Intolerance to all TKI</li> </ul>
Any line	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Progression to AP/BC</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Progression to AP/BC</li> </ul>

CCyR: complete cytogenetic response; CP: chronic phase; MCyR: major cytogenetic response

\* First line: use of all available tyrosine kinase inhibitors (TKI) (alone, sequentially or in combination)

### Failure to achieve major molecular response

The more recent update of the *IRIS* study suggests very little difference, if any, in survival between patients in complete cytogenetic response (CCyR) with or without a major molecular response (MMR)<sup>(4)</sup>. This makes the current management of this group more difficult but it would be reasonable to continue on the same TKI or to change to a different one. No clear indication for allogeneic SCT should be made in this group of patients at present.

### Loss of haematological, cytogenetic and molecular response

Loss of CCyR or CHR indicates a higher degree of tumour load. In this situation the nature of the mutation might direct treatment. In the absence of a mutation then a trial with a different TKI would be reasonable, although the trial should be time-limited. Patients with a low EBMT score<sup>(15)</sup> (0-2) could proceed to SCT at the time of best response to second generation TKI therapy. Responses to nilotinib and dasatinib are usually obtained early (6-12 months) and in the absence of such a response all patients suitable for allogeneic SCT should be offered this procedure; regardless of their EBMT score.

### Progression to advanced phase

Progression to accelerated phase or blast crisis whilst on TKI therapy is indicative of a clinical situation that

is incurable without allogeneic SCT. For those patients of a suitable age and with a suitable donor every effort should be made to achieve a second CP (either with conventional AML-like chemotherapy or with new TKI). Once obtained, an allogeneic SCT should be performed as soon as possible, since responses are short-lived. For patients unsuitable for allogeneic SCT then the aim of the treatment is to prolong survival.

### Indications for stem cell transplantation

In principle, all patients under 55 years should be considered *potential* HCT candidates if they fail to maintain a response to TKI. Patients 55-70 years might also be considered for HCT with reduced intensity conditioning regimens (Table 1).

The ability to use HCT effectively depends on timely identification of a suitable donor. The search for such a donor should be undertaken as soon as there is an indication that a patient is at risk for requiring second line therapy. A donor search should be initiated immediately for patients with accelerated phase or blast crisis at diagnosis; for patients with chronic phase disease the donor search should start at onset of warnings, suboptimal response or failure.

### First line therapy

For patients in chronic phase, the role of allogeneic SCT is very limited and should be restricted to exceptional cases. Early HSCT might only be considered at the patient's own request in young (< 40 years) patients with

high Sokal/Hasford score and with an EBMT score of 0-2 and the presence of a fully matched donor.

### Second line therapy

Second line therapy for patients who do not achieve a CCyR after judicious use of all TKI available (alone or sequentially) should consider allogeneic SCT for candidate patients with a suitable donor and an EBMT score of 0-2.

Other patients with a higher EBMT score of 3-5 may proceed to allogeneic SCT if they also: a) had high risk Sokal score at diagnosis; b) achieved less than a minor cytogenetic remission to TKI therapy; c) have evidence of clonal evolution; or d) have lost a complete hematological remission.

Second line therapy for patients who relapse after an initial response to TKI should be based on the risk of the transplant (EBMT risk score) and the likelihood of responding to a different TKI. Patients with ABL mutations resistant to second generation TKI should proceed to allogeneic SCT directly. Patients without those ABL mutations may proceed to SCT after a second TKI has been initiated. In these cases before a final decision regarding allogeneic SCT is made, careful and early evaluation of their response to a second TKI is warranted.

SCT should be considered as preferential therapy, at the time of best response to the second TKI in patients with an EBMT score 0-2 and one of the following:

- Clonal evolution.
- Failure to achieve at least mayor cytogenetic response to second line TKI therapy in 6-12 months.

SCT should be considered in patients with an EBMT score 0-5 in the case of failure or intolerance to the second TKI, presentation in accelerated phase at diagnosis and in the case of newly developed ABL mutations resistant to second generation TKI (i.e., T315I mutation).

SCT should be considered as preferential therapy, regardless of EBMT score if there is progression to accelerated or blast phase during TKI therapy and after attempts to regain a second chronic phase have been made.

### Third line therapy

Third line therapy is usually defined as treatment for CML after imatinib failure (first line) and failure, insufficient response or intolerance to second generation TKI (this may include one or more second generation TKI agents). However, a new emerging concept discussed in this article, focuses on defining first line therapy for CML as the use of all available TKI (either alone, sequentially or even in combination). In this model, the second line for many patients would be an allogeneic

SCT and therefore, leaving the third line for either experimental new therapies or conventional palliative treatments such as hydroxyurea or interferon.

### References

1. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, et al. Five-year follow-up of patients receiving Imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2006; 355: 2408-17.
2. Goldman JM. How I treat chronic myeloid leukemia in the Imatinib era. *Blood* 2007; 110: 2828-37.
3. Baccarani M, Saglio G, Goldman J, et al. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2006; 108: 1809-20.
4. O'Brien SF, Guilhot J, Goldman A, et al. International Randomized Study of Interferon Versus STI571 (IRIS) 7-Year Follow-up: sustained survival, low rate of transformation and increased rate of major molecular response in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase treated with imatinib. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2008; 112: abstract 186.
5. Saglio G, Kim DW, Issaragrisil S, et al. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2010; 362 (24): 2251-9.
6. Kantarjian H, Shah NP, Hochhaus A, et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2010; 362 (24): 2260-70.
7. Shah N, Cortes JE, Schiffer CA, et al. Four-year follow-up of patients with chronic-phase chronic myeloid leukemia (CP-CML) receiving 100 mg of dasatinib once daily. *ASCO Annual Meeting 2010: poster presentation 6512*.
8. Kantarjian HM, Giles F, Bhalla K, et al. Nilotinib is effective in chronic myeloid leukemia in chronic phase after Imatinib resistance or intolerance: 24-month follow-up results. *Blood* 2011; 117: 1141-5.
9. McSweeney PA, Niederwieser D, Shizuru JA, et al. Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. *Blood* 2001; 97: 3390-400.
10. Ringhoffer M, Harsdorf S, Schmitt M, et al. Reduced-intensity conditioning followed by T-cell depleted allogeneic stem cell transplantation for patients with chronic myeloid leukaemia and minimal residual disease at the time of transplant: high risk of molecular relapse. *Br J Haematol* 2007; 136: 127-30.
11. Dazzi F, Szydlo RM, Craddock C, et al. Comparison of single-dose and escalating-dose regimens of donor lymphocyte infusion for relapse after allografting for chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000; 95: 67-71.
12. Peggs KS, Thomson K, Hart DP, et al. Dose-escalated donor lymphocyte infusions following reduced intensity transplantation: toxicity, chimerism, and disease responses. *Blood* 2004; 103: 1548-56.
13. Olavarria E, Ottmann OG, Deininger M, et al. Response to Imatinib in patients who relapse after allogeneic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2003; 17: 1707-12.
14. Olavarria E, Siddique S, Griffiths MJ, et al. Post-transplant imatinib as a strategy to postpone the requirement for immunotherapy in patients undergoing reduced intensity allografts for chronic myeloid leukemia. *Blood* 2007; 110: 4614-7.
15. Gratwohl A, Hermans J, Goldman JM, et al. Risk assessment for patients with chronic myeloid leukaemia before allogeneic blood or marrow transplantation. Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Lancet* 1998; 352: 1087-92.

