



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Médicas

IRAMAIA ANGELICA NERI NUMA

*CYP3A4 -290A>G POLYMORPHISM, ENROLLED IN METABOLISM OF
IMATINIB MESYLATE, IN PROGNOSIS OF CHRONIC MYELOGENOUS
LEUKEMIA PATIENTS*

POLIMORFISMO *CYP3A4* -290A>G, RELACIONADO AO
METABOLISMO DO MESILATO DE IMATINIBE, NO PROGNÓSTICO
DE PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA

Campinas
2012



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Médicas

IRAMAIA ANGELICA NERI NUMA

*CYP3A4 -290A>G POLYMORPHISM, ENROLLED IN METABOLISM OF IMATINIB
MESYLATE, IN PROGNOSIS OF CHRONIC MYELOGENOUS LEUKEMIA PATIENTS*

Orientadora: Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima

POLIMORFISMO CYP3A4 -290A>G, RELACIONADO AO METABOLISMO DO
MESILATO DE IMATINIBE, NO PROGNÓSTICO DE PACIENTES COM LEUCEMIA
MIELÓIDE CRÔNICA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica
Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas
para obtenção do título e Mestra em Clínica médica, área de concentração Ciências
Básicas

Master's Dissertations presented to the Internal Medicine Prograduate Program of
the Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas, for obtainment of
the M.D. degree Internal Medicine, specialization in Basic Sciences

ESTES EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL
DA DISSERTAÇÃO PELA ALUNA IRAMAIA ANGELICA
NERI NUMA E ORIENTADA PELA PROFA. DRA.
CARMEN SILVIA PASSOS LIMA

Assinatura da Orientadora

Campinas
2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARISTELLA SOARES DOS SANTOS – CRB 8/8402
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP

N916p	Numa, Iramaia Angelica Neri, 1978- Polimorfismo CYP3A4 -290A>G, relacionado ao Metabolismo do mesilato de imatinibe, no prognóstico de pacientes com leucemia mielóide crônica / Iramaia Angelica Neri Numa. -- Campinas, SP : [s.n.], 2012. Orientador : Carmen Silvia Passos Lima. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas. 1.Leucemia mielóide crônica. 2. Polimorfismo CYP3A4 -290A>G. 3. Mesilato de imatinibe. I. Lima, Carmen Silvia Passos, 1957-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III.Título.
-------	---

Informações para Biblioteca Digital

Título em ingles: *CYP3A4 A-290G polymorphism, enrolled in metabolism of imatinib mesylate, in prognosis of chronic myelogenous leukemia patients*

Palavras-chave em inglês:

Chronic myelogenous leukemia

CYP3A4 -290A>G polymorphism

Imatinib mesylate

Área de concentração: Ciências básicas

Titulação: Mestra em Clínica Médica

Banca examinadora:

Carmen Silvia Passos Lima [orientadora]

Afonso Celso Vigorito

Marilda de Souza Gonçalves

Data da defesa: 19-12-2012

Programa de pós-graduação: Clínica Médica

Folha de Aprovação

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

IRAMAIA ANGÉLICA NERI NUMA

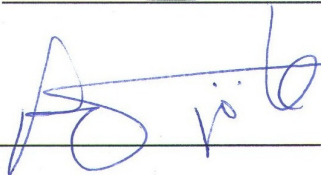
Orientadora PROFA. DRA. CARMEN SILVIA PASSOS LIMA

MEMBROS:

1. PROFA. DRA. CARMEN SILVIA PASSOS LIMA



2. PROF. DR. AFONSO CELSO VIGORITO



3. PROFA. DRA. MARILDA DE SOUZA GONÇALVES



Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas

Data: 19 de dezembro de 2012

DEDICATÓRIAS

Dedico este trabalho a todos os pacientes portadores de leucemia mielóide crônica, esperando que todas as informações aqui relatadas venham de alguma maneira contribuir para que tenham uma qualidade de vida melhor.

Ofereço também, minha formação acadêmica e meu sucesso profissional aos meus queridos pais que são verdadeiros exemplos de vida e ao meu estimado esposo pelo apoio, incentivo e compreensão nas inúmeras noites, feriados e finais de semana de estudo.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço **a Deus, Pai Todo Poderoso**, por ter me dado forças para prosseguir, sem Ele eu jamais teria conseguido.

À **Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima**, pela orientação, pela paciência, apoio e por sua idoneidade, ética e rigor científico, que tanto contribuíram em minha formação profissional.

À **Dra. Márcia Torresan Delamain**, pela solicitude, disposição e ajuda no atendimento aos pacientes, registro de dados, correções e sugestões que foram fundamentais para a conclusão desse trabalho.

Aos docentes do Departamento de Clínica Médica, que tão prontamente nos transmitiram seus conhecimentos.

À **Dra. Márcia Torresan Delamain**, pela solicitude, disposição e ajuda no atendimento aos pacientes, registro de dados e sugestões que foram fundamentais para a conclusão desse trabalho.

À **Dra. Kátia e a Dulcinéia** pelas sugestões durante a qualificação para a defesa.

À **Profa. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo**, que me recebeu gentilmente em seu laboratório e contribuiu com sugestões importantes no trabalho.

Ao **Anderson, Cristiane e Gustavo**, socorro nos momentos difíceis, pelo inestimável auxílio no desenvolvimento deste trabalho.

Aos **companheiros** do Laboratório de Genética do Câncer da FCM da Unicamp, pela importante colaboração. Aprendi muito com cada um de vocês.

A **todos os funcionários e equipe de enfermagem** do ambulatório de Hematologia do Hemocentro, pela ajuda na coleta de sangue dos pacientes e suporte indispensável ao funcionamento do ambulatório de leucemias.

Ao Laboratório de Rotinas Hematológicas na pessoa de **Mônica Almeida Falconi e a toda equipe do laboratório**, pela presteza e colaboração na separação das amostras.

Ao Laboratório de Citogenética nas pessoas de **Maristela Zocca e Rosemeire Bognoni** pela colaboração na execução dos cariótipos.

Às funcionárias do Laboratório de Diagnóstico Molecular de Doenças Oncohematológicas pela colaboração na execução da RT-PCR e QT-PCR.

A **todos os pacientes** que colaboraram para a realização deste trabalho.

Ao **Roberto Zulli** que me auxiliou na análise estatística, pela dedicação e competência.

À **Cristiane** e a **Adriana** da secretaria de pós-graduação, pelo apoio neste período.

A todos os outros que, de uma forma direta ou indireta, colaboraram e participaram do trabalho, o meu muito obrigado!

*“A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus.
Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem
compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço
claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais- notável”.*
Galileu Galilei

RESUMO

+

O mesilato de imatinibe (MI) é o tratamento de escolha para pacientes com leucemia mielóide crônica (LMC) em fase crônica, mas a resposta ao medicamento é variável em indivíduos distintos. A CYP3A4 é a principal enzima responsável pelo metabolismo hepático do MI. O alelo variante G do polimorfismo *CYP3A4* A-290G codifica menor quantidade de enzima do que o alelo selvagem A, mas o papel do referido polimorfismo em pacientes com LMC tratados com MI é desconhecido. Os objetivos deste trabalho foram os de avaliar a eficácia, a toxicidade a sobrevida livre de progressão (SLP) e global (SG) de pacientes com LMC durante a administração de MI e verificar se estes parâmetros são alterados pela variabilidade interindividual no metabolismo do fármaco, relacionada ao polimorfismo *CYP3A4* A-290G. Foram avaliados 100 pacientes com LMC em FC precoce atendidos no Centro de Hematologia e Hemoterapia da UNICAMP. O diagnóstico da LMC, o exame hematológico, o cariótipo, a pesquisa do gene *BCR-ABL* e os genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-290G foram realizados por métodos convencionais. Os pacientes receberam o MI na dose de 400mg e a resposta ao tratamento foi avaliada segundo os critérios do *European Leukemia Net*. Identificamos respostas hematológica, citogenética e molecular similares às previamente descritas. A taxa de resposta hematológica foi de 95% ao longo do estudo. Aos doze meses, as respostas citogenética completa ou parcial foram de 72% e 11% respectivamente. Já as taxas de respostas molecular completa e maior aos 22 meses foram de 28% e 26%, respectivamente. A sobrevida global foi de 94% aos 92 meses bem como a sobrevida livre de progressão para as fases avançadas da doença. Observamos que pacientes com resposta citogenética completa ou parcial e molecular

completa ou maior apresentaram maior SLP e SG do que os demais. Cerca de 13% dos pacientes era portadores do genótipo AG do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, o qual esteve associado à obtenção de resposta molecular completa tardia e tendência à menor SLP e SG. Apesar da hipótese do alelo variante (G) exibir um fenótipo metabolizador lento associado à uma menor taxa de biotransformação do MI e portando maior risco de reações tóxicas, não observamos diferenças entre as toxicidades hematológica e não hematológica ($P=0,28$). Assim, concluímos que nossos pacientes respondem de forma similar ao MI do que os demais e que o polimorfismo *CYP3A4* A-290G pode vir a funcionar como biomarcador de resposta ao fármaco.

Palavras chave: leucemia mielóide crônica, *CYP3A4* A-290G, mesilato de imatinibe

ABSTRACT

Imatinib (IM) is widely recognized as the standard of care in the first-line treatment of CML but the response to the drug is variable in different subjects. *CYP3A4* is the main enzyme responsible for the hepatic metabolism of Imatinib. The G variant allele of the polymorphism A-290G encoding least amount of enzyme than the wild-type allele, but the role of this polymorphism in CML patients treated with Imatinib is unknown. The aims of this study were to assess the efficacy, toxicity, progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) of patients with CML during the administration of Imatinib and check if these parameters are affected by interindividual variability in drug metabolism, the polymorphism related to *CYP3A4* A-290G. We evaluated 100 patients with CML newly diagnosed at Center of Hematology and Hemotherapy of UNICAMP. The diagnosis of CML, hematology, karyotyping, research the BCR-ABL gene polymorphism and *CYP3A4* genotypes A-290G were performed by conventional methods. Patients received a dose of 400mg IM and treatment response was assessed according to the criteria of the *European Leukemia Net* responses identified hematologic, cytogenetic and molecular similar to those previously described. The hematologic response rate was 95% throughout the study. At 22 months the complete or partial cytogenetic responses were 72% and 11% respectively. The complete molecular response rates at 22 months were 28% and 26%, respectively. Overall survival (OS) was 94% at 92 months and the progression-free survival (PFS) for advanced stages of the disease. We observed that patients with partial or complete cytogenetic response and major molecular and complete PFS and OS showed higher than other. We observed that patients with partial or complete cytogenetic response and major molecular

and complete PFS and OS showed higher than others. About 13% of patients were of AG genotype polymorphism of the *CYP3A4* -290A>G, which was associated with achieving complete molecular response and late tendency to lower PFS and OS. Despite the possibility of variant allele (G) display a slow metabolizer phenotype associated with a lower rate of biotransformation of IM and carrying greater risk of toxic reactions, no significant differences between hematological and non hematological toxicities ($P= 0,28$). Thus, we conclude that our patients respond similar to IM than others and that the polymorphism *CYP3A4* -290A>G might function as a biomarker of response to the drug.

Key words: chronic myelogenous leukemia, *CYP3A4* A-290G, imatinib mesylate

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Definições de respostas ao mesilato de imatinibe a cada três meses em pacientes com leucemia mielóide crônica segundo o <i>European Leukemia Net</i>	46
Tabela 2. Definições de respostas ao mesilato de imatinibe em pacientes com leucemia mielóide crônica avaliadas aos três, seis, doze e dezoito meses de tratamento, segundo o <i>European Leukemia Net</i>	47
Tabela 3. Respostas dos pacientes com leucemia mielóide crônica que receberam terapia com mesilato de imatinibe em estudos de fase II	51
Tabela 4. Respostas em leucemia mielóide crônica adquiridas no estudo IRIS (<i>International Randomised Study of Interferon vs. STI571</i>).	53
Tabela 5. Resultados de estudos brasileiros relacionados ao tratamento de pacientes com leucemia mielóide crônica com o mesilato de imatinibe.....	62
Tabela 6. Representação esquemática dos possíveis resultados a serem obtidos na avaliação do gene <i>BCR-ABL</i> por transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase.....	82
Tabela 7. Características clínicas dos pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce ao diagnóstico.....	96
Tabela 8. Eficácia do mesilato de imatinibe em leucemia mielóide crônica.....	98
Tabela 9. Perfil de toxicidade do mesilato de imatinibe em leucemia mielóide crônica ..	102
Tabela 10. Duração da sobrevida livre de progressão de pacientes com leucemia mielóide crônica estratificados por índices de Sokal.....	108

Tabela 11. Duração da sobrevida livre de progressão de pacientes com leucemia mielóide crônica estratificados por índices de Hasford.....	111
Tabela 12. Duração da sobrevida global de pacientes com leucemia mielóide crônica estratificados por índices de Sokal	117
Tabela 13. Duração da sobrevida global de pacientes com leucemia mielóide crônica estratificados por índices de Hasford	118
Tabela 14. Genótipos do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica e aspectos clínicos.....	123
Tabela 15. Genótipos do polimorfismo A-290G do gene <i>CYP3A4</i> em 100 pacientes estratificados por índices hematimétricos	124
Tabela 16. Genótipos do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica e índices de Sokal	125
Tabela 17. Genótipos do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica e índices de Hasford.....	126
Tabela 18. Genótipos do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica e tempo para alcançar resposta hematológica.....	130
Tabela 19. Genótipos do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica e tempo para alcançar resposta citogenética.	137
Tabela 20. As proporções de respostas citogenética completa ou parcial obtidas em períodos menor ou maior ou igual a doze meses por pacientes estratificados por genótipos do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G	138

Tabela 21. Genótipos do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica e tempo para alcançar resposta molecular.	142
Tabela 22. Proporções de respostas molecular completa ou maior obtidas em períodos menor ou maior que doze meses por pacientes estratificados por genótipos do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G.	143
Tabela 23. Toxicidades ao mesilato de imatinibe em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica estratificados por genótipos do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G.	145
Tabela 24. Sobrevida de 100 pacientes com leucemia mieloide crônica tratados com mesilato de imatinibe e estratificados por genótipos do polimorfismo <i>CY3A4</i> A-290G ...	151

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática da formação do cromossomo Filadélfia (Ph).	34
Figura 2. Representação esquemática dos pontos de quebras dos genes <i>BCR</i> e <i>ABL</i> e suas proteínas correspondentes em leucemia mielóide crônica	36
Figura 3. Representação esquemática das principais vias de sinalização intracelular ativadas pela proteína Bcr-Abl do gene <i>BCR-ABL</i> em leucemia mielóide crônica.....	39
Figura 4. Representação esquemática do mecanismo de ação da oncoproteína proteína Bcr-Abl e sua inibição pelo mesilato de imatinibe (MI).	44
Figura 5. Representação esquemática do mecanismo de resistência ao mesilato de imatinibe (MI).	57
Figura 6. Estrutura química do mesilato de imatinibe e seu principal metabólito o piperazínico N-demetilado, (CGP74588).	64
Figura 7. Relação entre diferentes grupos de resposta a fármacos e variações no perfil metabólico de enzimas metabolizadoras.	66
Figura 8. Reações metabólicas de fase I (oxidação, redução e hidrólise) do sistema enzimático CYP P450.....	69
Figura 9. Diagrama de fluxo do acompanhamento dos pacientes tratados com MI.....	75
Figura 10. Cariótipo 46, XY, t(9,22) (q34;q11) em pacientes com leucemia mielóide crônica.	78
Figura 11. Eletroforese dos produtos da transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase do gene <i>BCR-ABL</i> em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídio.	80

Figura 12. Eletroforese dos produtos da reação da cadeia da polimerase do gene <i>CYP3A4</i> -290A>G em gel de agarose a 2%, corado pelo brometo de etídio em pacientes com leucemia mielóide crônica.	87
Figura 13. Eletroforese dos produtos da digestão enzimática do gene <i>CYP3A4</i> A-290G em gel de poliacrilamida a 14%, corado com brometo de etídio em pacientes com leucemia mielóide crônica	89
Figura 14. Taxas de resposta hematológica dos 95 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce que puderam ser avaliados durante terapêutica com mesilato de imatinibe	99
Figura 15. Taxas de resposta citogenética completa (A) (n= 72) e de resposta citogenética completa ou parcial (B) (n= 83) de pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce durante terapêutica com mesilato de imatinibe	100
Figura 16. Taxas de resposta molecular completa (n= 26) ou maior (n= 24) de 93 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce que puderam ser avaliados durante terapêutica com mesilato de imatinibe	101
Figura 17. Taxas de sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce durante terapêutica com mesilato de imatinibe.	104
Figura 18. Taxas de sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados pelos índices de Sokal baixo, intermediário e alto, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.....	106
Figura 19. Taxas de sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados pelos índices de Sokal baixo <i>versus</i> intermediário e alto e baixo e intermediário <i>versus</i> alto, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.	107

Figura 20. Taxas de sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados pelos índices de Hasford baixo, intermediário e alto, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.	109
Figura 21. Taxas de sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados pelos índices de Hasford <i>versus</i> intermediário e alto e baixo e intermediário <i>versus</i> alto, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.	110
Figura 22. Taxas de sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por resposta citogenética completa, parcial ou sem resposta citogenética e <i>versus</i> não completa, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.	113
Figura 23. Taxas de sobrevida livre de progressão de 93 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce estratificados por resposta molecular completa, maior e sem resposta molecular e completa e maior <i>versus</i> sem resposta, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.	114
Figura 24. Taxa de sobrevida global dos 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce durante terapêutica com mesilato de imatinibe.	116
Figura 25. Taxas de sobrevida global de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce estratificados por resposta citogenética completa, parcial ou sem de resposta citogenética e completa) <i>versus</i> não completa, durante terapêutica com mesilato de imatinibe	120
Figura 26. Taxas de sobrevida global de 93 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce estratificados por resposta molecular completa , maior ou sem resposta molecular e completa e maior <i>versus</i> durante terapêutica com mesilato de imatinibe.	121

Figura 27. Taxas de resposta hematológica em 95 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoc, estratificados por genótipos homozigoto selvagem AA, (metabolizador normal), heterozigoto AG (metabolizador intermediário) e homozigoto variante GG (metabolizador lento) do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.	128
Figura 28. Taxas de resposta hematológica em 95 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos homozigoto selvagem AA e heterozigoto AG <i>versus</i> homozigoto variante GG e homozigoto selvagem AA <i>versus</i> heterozigoto AG e homozigoto variante GG do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.	129
Figura 29. Diagrama de fluxo das taxas de respostas citogenética, molecular e toxicidades associadas ao polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G.	132
Figura 30. Taxas de resposta citogenética completa em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos homozigoto selvagem AA (metabolizador normal), heterozigoto AG (metabolizador intermediário) e homozigoto variante GG (metabolizador lento) do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.	133
Figura 31. Taxas de resposta citogenética completa em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipo homozigoto selvagem (AA) e heterozigoto (AG) <i>versus</i> homozigoto variante (GG) e homozigoto selvagem (AA) <i>versus</i> heterozigoto e homozigoto variante (GG) do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.	134
Figura 32. Taxas de resposta citogenética completa ou parcial em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos homozigoto selvagem AA (metabolizador normal), heterozigoto AG (metabolizador intermediário) e homozigoto variante GG (metabolizador lento) do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.	135

Figura 33. Taxas de resposta citogenética completa ou parcial em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos (A) homozigoto selvagem AA e heterozigoto AG *versus* homozigoto variante GG e homozigoto selvagem AA *versus* heterozigoto e homozigoto variante GG do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe. 136

Figura 34. Taxas de resposta molecular completa ou maior em 93 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos homozigoto selvagem AA (metabolizador rápido), heterozigoto AG (metabolizador intermediário) e homozigoto variante GG (metabolizador lento) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.. 140

Figura 35. Taxas de resposta molecular completa ou maior em 93 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos homozigoto selvagem (AA) e heterozigoto (AG) *versus* homozigoto variante (GG) e homozigoto selvagem (AA) *versus* heterozigoto e homozigoto variante (GG) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.. 141

Figura 36. Sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos homozigoto selvagem (AA), heterozigoto (AG) e homozigoto variante (GG) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe. 147

Figura 37. Sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos homozigoto selvagem (AA) e heterozigoto *versus* homozigoto variante (GG) e homozigoto selvagem (AA) heterozigoto (AG) e homozigoto variante (GG) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe. 148

Figura 38. Sobrevida global de pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos homozigoto selvagem (AA), heterozigoto (AG) e homozigoto variante (GG) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe. 149

Figura 39. Sobrevida global de pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos (A) homozigoto selvagem (AA) heterozigoto (AG) *versus* homozigoto variante (GG) e homozigoto selvagem (AA) *versus* heterozigoto e homozigoto variante (GG) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe..... 150

LISTA DE ABREVIATURAS

+

<i>ABL</i>	Proto-oncogene de Abelson
<i>Ara-C</i>	Citarabina, arabinosil-citosina
<i>ATP</i>	Adenosina trifosfato
<i>BCR</i>	<i>Gene breakpoint cluster region</i>
<i>BCR-ABL</i>	Gene híbrido obtido da fusão de partes dos genes <i>BCR</i> e <i>ABL</i>
<i>Bcr-Abl</i>	Proteína híbrida codificada pelo gene <i>BCR-ABL</i>
<i>CYP 3A4</i>	Gene citocromo p450 subfamília 3A4
<i>Cyp3a4</i>	Isoenzima da subfamília 3A4 do citocromo P450
<i>DNA</i>	Ácido desoxirribonucleico
<i>IFN-α</i>	Interferon alfa
<i>IRIS</i>	<i>International Randomized Interferon versus STI571</i>
<i>LLA</i>	Leucemia linfóide aguda
<i>LMA</i>	Leucemia mielóide aguda
<i>LMC</i>	Leucemia mielóide crônica
<i>M-bcr</i>	<i>Major breakpoint cluster region</i> , ponto de quebra maior
<i>m-bcr</i>	<i>Minor breakpoint cluster region</i> , ponto de quebra menor
<i>MDR1</i>	Gene de resistência à múltiplas drogas
<i>MO</i>	Medula óssea
<i>OMS</i>	Organização mundial da saúde
<i>PCR</i>	Reação da cadeia da polimerase

Ph	Cromossomo Filadélfia
PI3K	<i>Phosfatidil-inosito-3-kinase</i>
RQ-PCR	Reação da cadeia da polimerase quantitativa
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa
RCC	Resposta citogenética completa
RCP	Resposta citogenética parcial
RCM	Resposta citogenética maior
RCMin	Resposta citogenética mínima
RHC	Resposta hematológica completa
RMC	Resposta molecular completa
RMM	Resposta molecular maior
SG	Sobrevida global
SLP	Sobrevida livre de progressão
TCTH	Transplante de células tronco hematopoéticas
TKR	<i>Tyrosine kinase receptor</i> , receptor tirosina quinase

SUMÁRIO

<i>RESUMO</i>	xiii
<i>ABSTRACT</i>	xv
<i>LISTA DE TABELAS</i>	xvii
<i>LISTA DE FIGURAS</i>	xxi
<i>INTRODUÇÃO</i>	31
1. Considerações gerais	31
2. Eventos citogenético e molecular	33
2.1. Cromossomo Filadélfia	33
2.2. O gene <i>BCR-ABL</i> e a proteína Bcr-Abl.....	35
2.3. Proteína Bcr-Abl, proliferação e sobrevivência celular	37
3. Aspectos clínicos de portadores da leucemia mieloide crônica	40
3.1. Fases da doença.....	40
3.2. Fatores prognósticos.....	41
4. Terapêuticas para portadores da leucemia mieloide crônica	42
5. Mesilato de imatinibe em leucemia mieloide crônica	43
5.1. Estrutura, função e indicações.....	43
5.2. Avaliação de respostas terapêuticas e toxicidades	45
5.3. Tratamento de pacientes	48
5.4. Resistência ao mesilato de imatinibe	56
5.5. Eficácia e toxicidade do medicamento no Brasil	58
5.6. Farmacocinética	63
<i>OBJETIVOS</i>	72
<i>CASUÍSTICA E MÉTODOS</i>	73
1. Avaliação clínica e laboratorial dos pacientes.....	73
1.1. Avaliação clínica	73
1.2. Análise citogenética convencional	76
1.3. Transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase (RT-PCR)	79
1.5. Análise molecular do polimorfismo <i>CYP3A4</i> -290A>G.....	85
1.6. Extração do DNA genômico	85

1.7.	Amplificação do fragmento do gene <i>CYP3A4</i>	86
1.8.	Amplificação do fragmento do gene <i>CYP3A4</i> A-290G	88
2.	Terapêutica e seguimento dos pacientes.....	90
2.1.	Critérios de resposta hematológica, citogenética e molecular	90
2.2.	Critérios de resistência ao mesilato de imatinibe na fase crônica	91
4.	Análise estatística	92
<i>RESULTADOS</i>		94
1.	Grupo total de pacientes com leucemia mieloide crônica	94
1.1.	Dados clínicos e laboratoriais	94
1.2.	Eficácia e resistência ao mesilato de imatinibe.....	97
1.3.	Toxicidade do mesilato de imatinibe	102
2.	Pacientes estratificados por genótipos do polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G	122
2.1.	Polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G e aspectos clínicos	122
2.2.	Polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G e eficácia do mesilato de imatinibe	127
2.4.	Polimorfismo <i>CYP3A4</i> A-290G e sobrevidas livre de progressão e global	146
<i>DISCUSSÃO</i>		152
<i>CONCLUSÕES</i>		163
<i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>		164
<i>ANEXOS</i>		188

1. Considerações gerais

As primeiras descrições de cunho científico sobre a leucemia mielóide crônica (LMC) foram publicadas em 1845, independentemente, por dois jovens patologistas, o escocês John Hughes Bennet e o alemão Robert Virchow (CHAMPLIN & GOLDE, 1985; SATTLER & SALGIA, 1997; GEARY, 2000). Estes trabalhos foram considerados marco relevante na descrição da LMC, pois apresentaram observações *post-mortem* detalhadas, análise microscópica do sangue e medula óssea (MO), que foram importantes para a compreensão da doença (HENDERSON *et al.*, 1996; GEARY, 2000; DRUKER, 2003).

Em 1847, Virchow propôs o termo “sangue branco” ou “*leukamie*” para descrever a aparência e a diferença proporcional entre células brancas e vermelhas no sangue dos indivíduos doentes. Pouco depois, outro pesquisador alemão, Ernst Neuman, aventou a hipótese de que a doença era originária das células brancas da MO, sugerindo o termo “*myelogenous leukaemia*” (WEAVER, 1953; GEARY, 2000).

O grande avanço para o entendimento da doença ocorreu em 1960, com a descrição por Nowell e Hungerford de um pequeno cromossomo em culturas de sangue de sete portadores de LMC, o cromossomo Filadélfia (Ph), que recebeu esta denominação em homenagem a cidade onde se encontrava o instituto de pesquisa em que trabalhavam (NOWELL & HUNGERFORD, 1960).

Entre as décadas de 70 e 80, concluiu-se que o cromossomo Ph resultava da translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22, a t(9;22)(q34;q11), com a fusão dos

genes *BCR* e *ABL* e a produção de proteína funcional, a Bcr-Abl, com importância na proliferação celular (ROWLEY, 1973; GROFFEN *et al.*, 1984; LICHTMAN & LIESVELD, 2001; NARDI *et al.*, 2003).

Em 1990, foi verificada a habilidade da proteína Bcr-Abl em transformar células mielóides e induzir uma doença semelhante à LMC em camundongos (DALEY *et al.*, 1990, WONG & WITTE, 2004).

Interesse ainda maior sobre a LMC teve início em 2001 com a disponibilidade do mesilato de imatinibe (MI) para os portadores da doença (DAGHER *et al.*, 2004; COHEN *et al.*, 2005). O medicamento possibilita remissões hematológica, citogenética e molecular de longa duração e, de fato, mudou a história de vida de pacientes com LMC (DOBBIN & GADELHA, 2002; SOUZA & PAGNANO, 2004).

A LMC representa cerca de 15% de todos os casos de leucemias com uma incidência de 2 casos por 100.000 pessoas a cada ano. Geralmente afeta indivíduos com idade média entre 40 e 60 anos, apresentando discreta prevalência em pacientes do sexo masculino (MICHOR *et al.*, 2006; HEHLMANN *et al.*, 2007; THE LEUKEMIA & LYMPHOMA SOCIETY, 2009).

Foram estimados cerca de 5.150 casos novos de LMC nos Estados Unidos para o ano de 2011 pela *American Cancer Society* (*American Cancer Society*, 2011). Já para o Brasil, em 2012, estimam-se 8.510 casos novos de leucemias (INCA, 2011).

Embora as causas para o desenvolvimento da leucemia ainda não sejam bem conhecidas, existem evidências para alguns fatores de risco, como exposição à radiação ionizante, medicamentos utilizados em quimioterapia e exposição ocupacional ao benzeno (INCA, 2011). Não há diferenças geográficas ou étnicas óbvias com relação à incidência ou prevalência da doença (REDAELLI *et al.*, 2004; HEHLMANN *et al.*, 2007).

2. Eventos citogenético e molecular

2.1. Cromossomo Filadélfia

O diminuto cromossomo Ph está presente em cerca de 95% dos pacientes com LMC (FARDEL *et al.*, 1999; SAWYERS, 1999a; MELO *et al.*, 2003). No entanto, ele também é detectado em cerca de 10-20% das leucemias linfóides agudas (LLA) em adultos, 2-5% das LLAs da infância e eventualmente em pacientes portadores de leucemia mieloide aguda (LMA), linfoma e mieloma múltiplo (ROWLEY, 1990; MELO, 1996). Apesar deste cromossomo não ser exclusivo de uma única doença, ele é reconhecido como marcador citogenético da LMC e sua detecção tem implicações no diagnóstico, prognóstico e terapêutica dos portadores da doença (**Figura 1**) (FARDEL *et al.*, 1999; SAWYERS, 1999; MELO *et al.*, 2003).

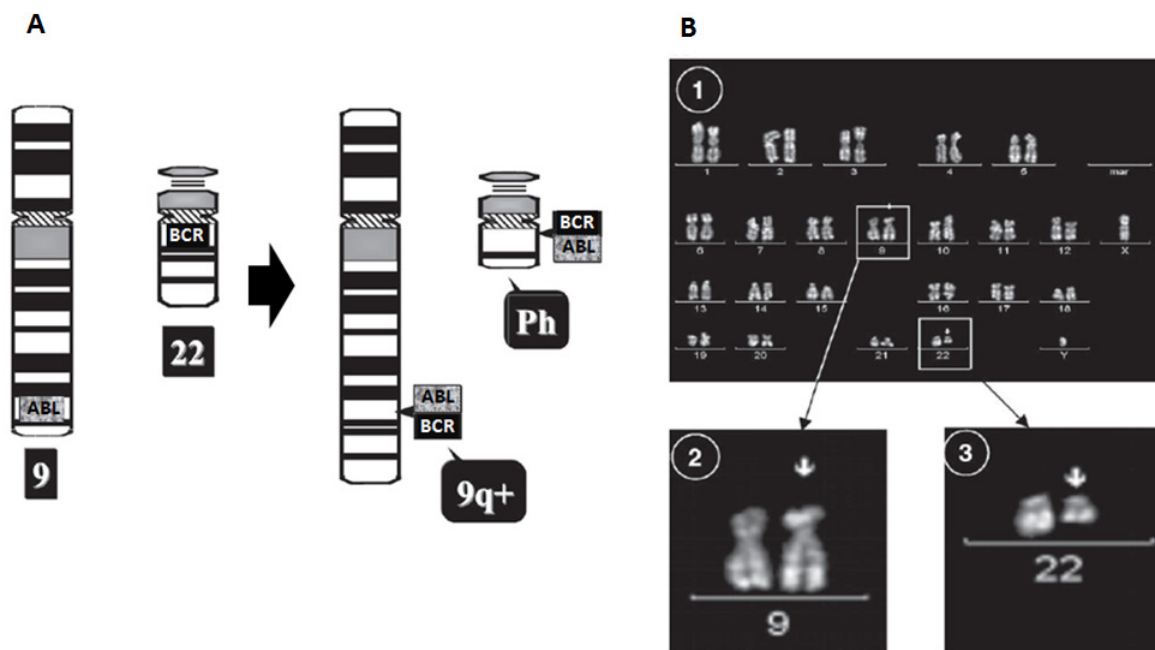


Figura 1. Representação esquemática da formação do cromossomo Filadélfia (Ph). **A)** O cromossomo Ph resulta da translocação recíproca e equilibrada entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22. Essa translocação move o proto-oncogene *ABL* (*Abelson murine leukemia*) de sua posição normal no cromossomo 9q34 para o oncogene *BCR* (*breakpoint cluster region*) do cromossomo 22q11, gerando dois cromossomos derivados 9q+ e 22q⁻. O cromossomo 22q⁻ possui tamanho menor que o normal e também é conhecido como cromossomo Filadélfia em homenagem a cidade onde foi descoberto **B)** (1) Cariótipo [46XY, t(9;22)(q34;q11)] de um paciente com LMC; (2) cromossomo 9q+; (3) cromossomo 22q⁻ ou Ph. FONTE: Adaptado de DEINIGER & DRUKER, 2003.

2.2. O gene *BCR-ABL* e a proteína Bcr-Abl

A consequência molecular da translocação t(9;22)(q34;q11) é a justaposição do oncogene *ABL* (*Abelson murine leukemia*), do cromossomo 9q34, ao oncogene *BCR* (*breakpoint cluster region*), do cromossomo 22q11 (SAWYERS, 1999; KURZROCK *et al.*, 2003). O gene híbrido *BCR-ABL* originário do evento, codifica proteínas híbridas com diferentes pesos moleculares (190kDa, 210kDa e 230kDa), que são determinadas por distintos fragmentos de gene *BCR* fusionados com o gene *ABL*, e possíveis diferentes fenótipos da doença (SAWYERS, 1999; KURZROCK *et al.*, 2003; REBECCHI, 2003) (**Figura 2**).

O gene híbrido predominante na LMC é o derivado da cisão do gene *BCR* nos segmentos b2 ou b2b3 da região maior (M-*BCR*), que se unem ao segmento a2 do gene *ABL*, com produção de proteína de 210kDa (p210) (MELO, 1996; LAURENTE *et al.*, 2001; ARLINGHAUS, 2002; PASQUINI, 2006).

O ponto de quebra no gene *BCR* no seguimento menor (m-*BCR*), de localização *e1* e fusão com o segmento a2 do gene *ABL*, leva a expressão de proteína com 190 kDa (p190), associada com as LLAs mas, também presente em casos raros de LMC (MELO, 1996; CARVALHO *et al.*, 2003; HANTSCHHEL & SUPERTI-FURGA, 2004; REN, 2005).

Por fim, a fusão do éxon 19 do seguimento micro do gene *BCR* (μ -*BCR*) ao segmento a2 do gene *ABL* produz a proteína com 230 kDa, responsável pela forma de LMC de curso mais brando, definida como leucemia neutrofílica crônica (CILLONI & SAGLIO, 2007; HAZLEHURST *et al.*, 2009).

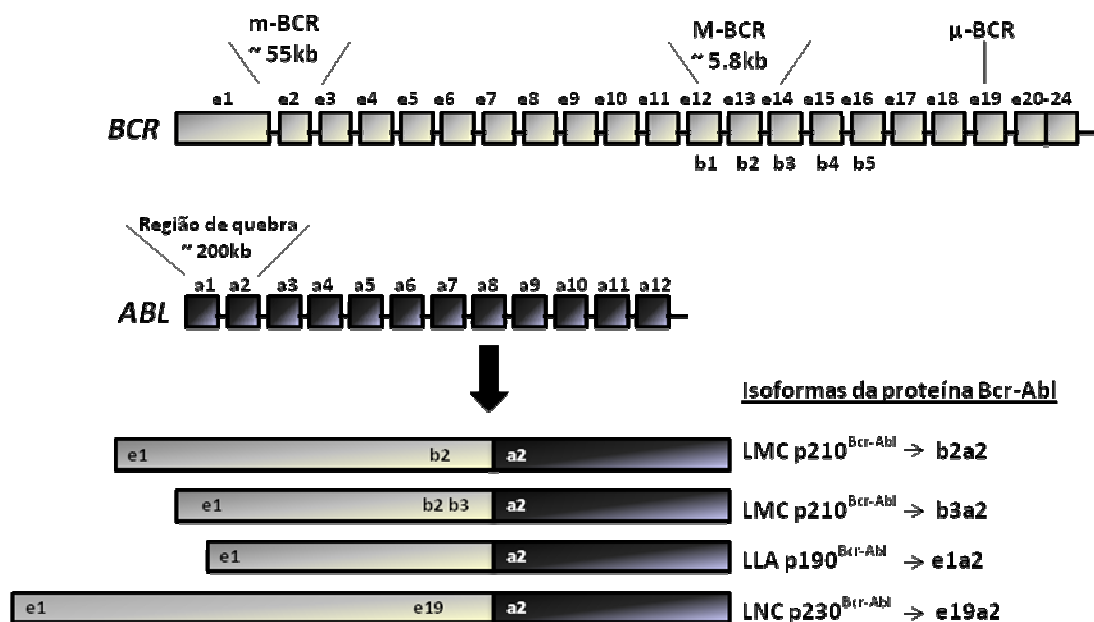


Figura 2. Representação esquemática dos pontos de quebras dos genes *BCR* e *ABL* e suas proteínas correspondentes em leucemia mielóide crônica. m-BCR, M-BCR e μ-BCR: pontos de quebra menor, maior e micro no gene *BCR*, respectivamente. LMC: leucemia mielóide crônica, LLA: leucemia linfóide aguda e LNC: leucemia neutrofílica crônica. p210, p190 e p230 são as isoformas da proteína Bcr-Abl codificadas pelos fragmentos b2a2, b3a2, e1a2 e e19a2 dos genes *BCR* e *ABL*, respectivamente. FONTE: Adaptado de HAZLEHURST *et al.*, (2005).

2.3. Proteína Bcr-Abl, proliferação e sobrevivência celular

A oncoproteína Bcr-Abl possui atividade tirosina quinase desregulada que caracteriza a transformação de células tronco hematopoéticas normais em malignas (DEININGER & DRUKER, 2003).

A dimerização das proteínas Bcr e Abl induz a fosforilação cruzada dos resíduos tirosina da p210^{Bcr-Abl}. Esta fosforilação anormal por sua vez, favorece a interação de diversas moléculas adaptadoras, como a Bap-1, a Grb2, a Sos, a Cbl, a Shc e a Crkl, que ativam vias de sinalização intracelular, como a via do gene *RAS* (*rat sarcoma*)/MAPK (*mitogenic activated protein kinase*) e a via JAK/STAT (*janus kinase-signal transducer and activator of transcription*) relacionadas com o estímulo da proliferação celular, e a via PI3k (*phosphatidylinositol 3-kinase*) relacionada com a resistência à apoptose (ROMÁN, 2003; CHU *et al.*, 2004; STEELMAN, 2004; DEMOTES-MAINARD, 2006; KANTARJIAN *et al.*, 2006; FUNKE *et al.*, 2008; AOKI *et al.*, 2008). A proteína Bcr-Abl também interage com as proteínas importantes na adesão celular e na mobilidade, tais como: talina, actina, paxilina, vinculina e FAK, o que parece causar o defeito de adesão e as anormalidades do citoesqueleto vistas nas células Bcr-Abl positivas. Ao transformar linhagens celulares para expressar o gene *BCR-ABL*, surgem várias anormalidades na função do citoesqueleto destas células, tal como o grande aumento verificado na mobilidade (SALGIA *et al.*, 1997; FUNKE, 2005) (**Figura 3**).

Vários domínios da proteína Bcr-Abl servem de substrato para proteínas adaptadoras na leucemogênese. O domínio Sh2 da Grb2 se fixa a um resíduo conservado de tirosina, que por sua vez liga a proteína Bcr-Abl à via RAS/MAPK, que desempenha papel essencial na transdução de sinais a partir de receptores na superfície celular até os fatores de

transcrição no núcleo, com consequente proliferação celular (RAMÓN, 2003; CHU *et al.*, 2004; STEELMAN, 2004; AOKI *et al.*, 2008). A via RAS também pode ser ativada por outras moléculas adaptadoras que se ligam à proteína Bcr-Abl nos domínios Sh2 (Shc) ou Sh3 (Crkl) (FARDEL *et al.*, 1999; DEININGER *et al.*, 2000; CILLONI & SAGLIO, 2007).

A via JAK/STAT foi considerada chave importante no entendimento da LMC. A fosforilação de membros da família STAT ocorre ao longo da ativação de Jaks por meio da ligação fisiológica de citocinas ou fatores de crescimento aos seus respectivos receptores, resultando na dimerização e translocação para o núcleo (DEININGER *et al.*, 2000; DI BACCO *et al.*, 2000). Alguns genes alvos de Stats são os genes antiapoptóticos *BCL-X_L*. A proteína Bcr-Abl pode ativar diretamente Stat1 e Stat5 independentemente da fosforilação das Jaks (DEININGER *et al.*, 2000; DI BACCO *et al.*, 2000).

A via PI3-K/AKT inclui proteínas citosólicas intracelulares envolvidas na proliferação, diferenciação, sobrevivência e malignização das células (MONROY *et al.*, 2007), mas não se sabe como a proteína Bcr-Abl ativa a via PI3-K. Aparentemente, a tirosina Y177 da oncoproteína tem papel na cascata de sinalização, por requerer o complexo Grb2/Gab2 e fosforilar a Gab2, que se transforma em sítio de ligação para o domínio SH2 da subunidade p85 da PI3-k (SATTLER *et al.*, 2002). A PI3-K ativada pode, então, fosforilar a Akt, que por sua vez leva à inativação da proteína pró-apoptótica Bad, com sobrevivência de células (YANG *et al.*, 1995; DEININGER *et al.*, 2000; STEELMAN *et al.*, 2004).

A proteína adaptadora Crkl interage com a proteína Bcr-Abl, sinalizando para a paxicilina, moléculas de adesão focal constitutivamente fosforilada na LMC. A Crkl pode ainda interagir com a proteína Cbl (*Casitas B-lineage lymphoma*), que em ratos é capaz de induzir leucemia mieloide e linfoma B (FUNKE, 2005).

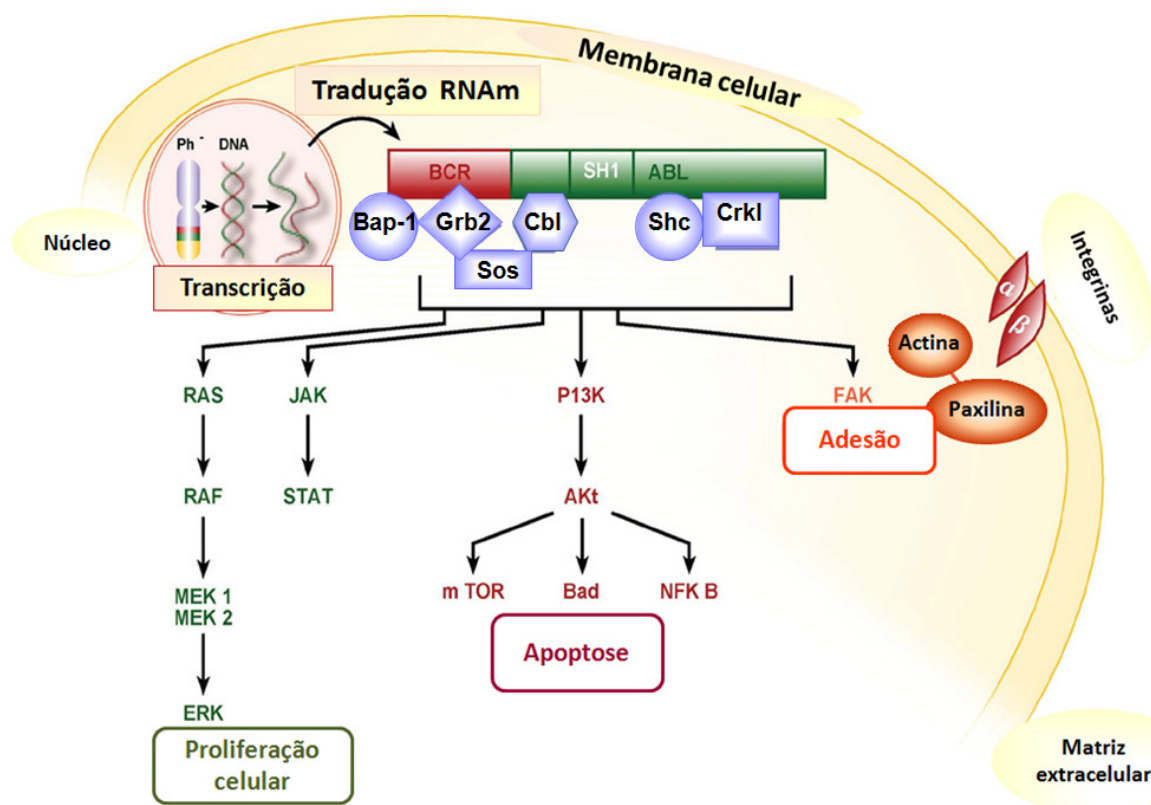


Figura 3. Representação esquemática das principais vias de sinalização intracelular ativadas pela proteína Bcr-Abl do gene *BCR-ABL* em leucemia mieloide crônica. Via do gene *RAS* (*rat sarcoma*)/MAPK (*mitogenic activated protein kinase*) e a via JAK/STAT (*janus kinase-signal transducer and activator of transcription*), relacionadas com proliferação celular, a via PI3k (*phosphatidylinositol 3-kinase*), relacionada com apoptose, e a via FAK (*focal adhesion kinase*), relacionada com adesão celular. FONTE: Adaptado de FRAZER *et al.*, (2007).

3. Aspectos clínicos de portadores da leucemia mielóide crônica

3.1. Fases da doença

A LMC evolui em três fases clínicas distintas: a fase crônica (FC), a fase acelerada (FA) e a crise blástica (CB) (KALIDAS *et al.*, 2001; COHEN *et al.*, 2002; CONDUTAS DO INCA, 2003).

Cerca de 85% dos casos de LMC são diagnosticados na fase crônica (FC) em exames de rotina, sendo as queixas mais comuns fadiga, perda de peso e desconforto abdominal. A esplenomegalia é o achado mais comum ao exame físico. A fase crônica é caracterizada por leucocitose com neutrofilia, anemia e trombocitose em sangue periférico, e um curso clínico indolente com duração aproximada de quatro a cinco anos (SAVAGE *et al.*, 1997; FARDEL *et al.*, 1999).

A fase acelerada (FA) caracteriza-se por emagrecimento, dores ósseas e febre. Em geral, o tamanho do baço não regride com o uso de medicamentos. Ao hemograma, observa-se anemia, aumento do número de blastos e redução do número de plaquetas. A fase acelerada tem duração aproximada de seis meses (CONDUTAS DO INCA, 2003; FRAZER *et al.*, 2007; SERDLOW, 2008).

Já a crise blástica (CB) assemelha-se à leucemia aguda dos pontos de vista clínico e laboratorial. Os pacientes referem fraqueza, febre e sangramento cutâneo-mucoso. Ocorre anemia, predomínio de blastos, neutropenia e plaquetopenia em exame do sangue periférico. Durante esta fase, a resposta a regimes quimioterápicos agressivos é apenas eventual e o óbito ocorre em três a seis meses (KANTARJIAN *et al.*, 1985; LICHTMAN & LIESVELD, 2001; CALABRETTA & PERROTTI, 2004).

3.2. Fatores prognósticos

Com o intuito de identificar precocemente pacientes em fase cônica da doença que pudessem ter uma evolução desfavorável com a terapia convencional, alguns pesquisadores desenvolveram um sistema para sub-classificar estes doentes em relação à sobrevida e de acordo com os dados de características clínicas e laboratoriais coletados ao diagnóstico.

Dois escores prognósticos são utilizados no manejo de pacientes com LMC: o índice de Sokal e o índice de Hasford (HEHLMANN *et al.*, 1997; BONIFAZI *et al.*, 2000; THOMAS *et al.*, 2001).

O índice de Sokal considera a idade, o tamanho do baço, a porcentagem de blastos e o número de plaquetas no sangue periférico. Este modelo permite identificar três categorias de risco na população de pacientes. Valores menores que 0,8 indicam baixo risco, com sobrevida mediana de 60 meses. Valores entre 0,8 e 1,2 indicam risco intermediário com sobrevida estimada de cerca de 30 meses e valores maiores que 1,2 indicam alto risco, com sobrevida mediana de 24 meses (SOKAL *et al.*, 1984).

O índice de Hasford acrescenta as porcentagens de basófilos e eosinófilos do sangue periférico aos parâmetros do índice de Sokal. Valores menores que 780 indicam baixo risco, com sobrevida mediana de 98 meses. Valores entre 781 e 1.480 indicam risco intermediário, com sobrevida estimada em cerca de 65 meses e valores maiores que 1.480 indicam alto risco, com sobrevida mediana de 42 meses (HASFORD *et al.*, 1998).

Os índices de Sokal e de Hasford são calculados para cada paciente por fórmulas apresentadas no endereço eletrônico <http://leukemia-net.org>

4. Terapêuticas para portadores da leucemia mielóide crônica

A partir dos anos 50, foram desenvolvidos os medicamentos bussulfano, hidroxiuréia e interferon-alfa (INF- α), todos com atividade citostática contra as células leucêmicas, mas, incapazes de erradicar a doença (MUGHAL & GOLDMAN, 2007; ARANHA, 2008).

A utilização do termo “cura” para pacientes com LMC só foi possível após a introdução do transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) em 1986. Por mais de 20 anos esta modalidade terapêutica foi utilizada como prática frequente no tratamento de pacientes com LMC em 1ª fase crônica com doador compatível. Entretanto, a toxicidade inerente ao procedimento e a associação com o risco de morte, bem como a falta de doadores de células compatíveis ao paciente, levaram a busca de outras modalidades terapêuticas (APPERLEY, 2007; ARANHA, 2008; CONCHON, 2009; FUNKE *et al.*, 2010).

Não obstante, a partir do advento dos inibidores de tirosinoquinases, drogas de alta eficiência e baixa toxicidade, houve uma mudança no algoritmo de tratamento da LMC (FUNKE *et al.*, 2010). O mesilato de imatinibe (MI) foi desenvolvido na década de 90, tendo como base a compreensão do mecanismo molecular do gene *BCR-ABL* e das vias de sinalização celular ativadas pela proteína Bcr-Abl (DRUKER *et al.*, 1996; BUCHDUNGER *et al.*, 2000; DRUKER & LYDON, 2000; HENKES *et al.*, 2008).

Apesar do TCTH ainda ser a única terapia curativa para a LMC, os resultados alcançados com o uso do MI são suficientes para indicarmos o TCTH como um tratamento de segunda ou terceira linha, onde a decisão de realizar o transplante reside numa variedade de momentos como a falha em se conseguir remissão hematológica, citogenética ou

molecular, ou quando se perde a melhor resposta conseguida ou por progressão da doença para uma fase avançada (ARANHA, 2008).

5. Mesilato de imatinibe em leucemia mielóide crônica

5.1. Estrutura, função e indicações

O MI é um fármaco derivado da fenilaminopirimidina-4-[(4-Metil-1-piperazinil) metil]-N-[4-Metil-3-[[4-(3-pirimidil-2-pirimidil)amino]-fenil] benzamidametanosulfano GOLDMANN, 2000). Inibe as quinases do oncogene *BCR-ABL*, *c-ABL*, do receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR) e a proteína tirosina quinase C (c-Kit) (DRUKER, 2003; PENG *et al.*, 2005); ocupa a região de ligação do ATP à proteína Bcr-Abl, mantendo-a em forma inativa (GAMBACORTI-PASSERINI *et al.*, 2003; DONATO *et al.*, 2004; HOCHHAUS *et al.*, 2004) (**Figura 4**).

O MI foi aprovado, em 2001, para uso em pacientes com LMC em CB, FA ou em FC resistente ou intolerante ao IFN- α (MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2001; DOBBIN & GADELHA, 2002). Em 2002, foi aprovado como terapia de primeira linha para pacientes em FC recém diagnosticada (DAGHER *et al.*, 2004).

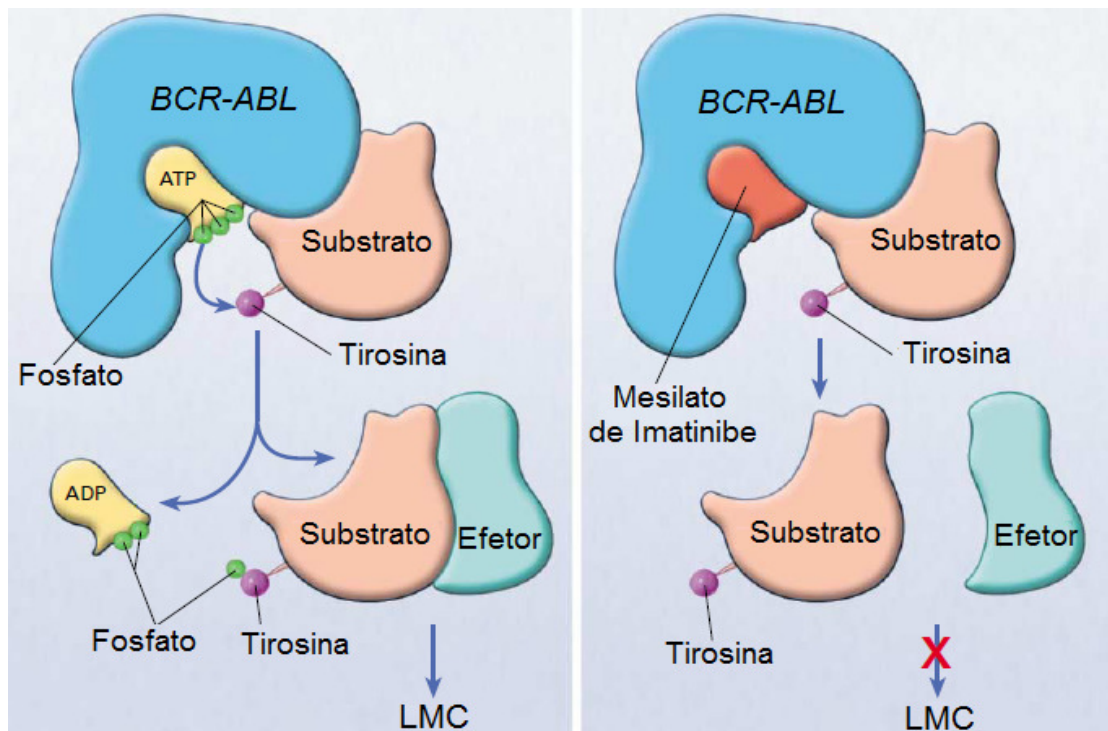


Figura 4. Representação esquemática do mecanismo de ação da oncoproteína proteína Bcr-Abl e sua inibição pelo mesilato de imatinibe (MI). A oncoproteína possui um sítio de ligação para uma molécula de ATP. O substrato é ativado pela fosforilação de um resíduo de tirosina pelo ATP. Fosforilada, esta proteína pode interagir com sua molécula efetora e desencadear a leucemia mieloide crônica (LMC). Quando o MI se liga ao sítio de ligação do ATP, a ação $p^{Bcr-Abl}$ é inibida, evitando a fosforilação do substrato. ATP, adenosina trifosfato; ADP, adenosina difosfato. FONTE: Adaptado de SAVAGE & ANTMAN, (2002).

5.2. Avaliação de respostas terapêuticas e toxicidades

Respostas completa ou parcial ao tratamento com MI ocorrem a nível hematológico (normalização ou melhora na contagem das células do sangue periférico e do tamanho do baço), citogenético e molecular (ausência ou redução do número de cromossomos Ph e de transcritos *BCR-ABL*), respectivamente (HUGHES *et al.*, 2003; DRUKER *et al.*, 2006; HUGHES *et al.*, 2006; BACCARANI *et al.*, 2008).

A realização periódica do hemograma, da avaliação do cariótipo por análise citogenética convencional e da avaliação dos transcritos *BCR-ABL* por meio da reação da cadeia da polimerase quantitativa (RQ-PCR) possibilitaram classificar as respostas obtidas durante a terapêutica de pacientes com LMC com MI, segundo critérios definidos pela *European Leukemia Net* (BACCARANI *et al.*, 2006) (**Tabela 1**).

Em 2009, novos critérios de resposta terapêutica ao MI foram propostos por especialistas do *European Leukemia Net* (BACCARINI *et al.*, 2009) para pacientes com LMC em FC. Segundo eles, as respostas hematológica, citogenética e molecular devem ser avaliadas aos três, seis, doze e dezoito meses de terapêutica e os pacientes devem ser agrupados em categorias de respostas definidas como, resposta ótima, sub-ótima ou falha de resposta (BACCARANI *et al.*, 2009) (**Tabela 2**).

Os pacientes que obtêm resposta ótima provavelmente conseguirão mantê-la por longo prazo e podem ser monitorizados em períodos mais longos (*NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK-NCC*, 2008). Já aqueles que obtêm resposta sub-ótima ou falha de resposta devem se monitorizados de forma mais rigorosa (KANTARJIAN *et al.*, 2007).

Tabela 1. Definições de respostas ao mesilato de imatinibe a cada três meses em pacientes com leucemia mielóide crônica segundo o *European Leukemia Net*.

Hematológica Completa	Citogenética	Molecular
Plaquetas < 450x10 ⁹ /L	RCC: 0% de Ph+	RMC: transcritos não quantificáveis e não detectáveis
Leucócitos < 10x10 ¹⁰ /L com ausência de precursores no sangue (mielócitos, promielócitos ou blastos)	RCP: 1-35% de Ph+	RMM: ≤ 0,1% (redução de 3-log)
Basófilos no sangue < 5%	RCM: 36-65% de Ph+	
Ausência de esplenomegalia	RCMin: 66-95% de Ph+	
	Ausência: >95% de Ph+	
Checar a cada 2 semanas até a confirmação da RHC. Após, verificar trimestralmente	Verificar a cada seis meses até que a RCC seja alcançada. Após, pelo menos a cada 12 meses	Checar a cada três meses Realizar análise mutacional em caso de falha ao tratamento, resposta subótima ou aumento do nível de transcrição

RHC, RCC e RMC necessitam confirmação em pelo menos duas ocasiões posteriores ao seu alcance. **RHC**, resposta hematológica completa; **RCC**, resposta citogenética completa; **RCP**, resposta citogenética parcial; **RCM**, resposta citogenética menor; **RCMin**, resposta citogenética mínima; **RMC**, resposta molecular completa e **RMM**, resposta molecular menor. FONTE: BACCARINI *et al.* (2006).

Tabela 2. Definições de respostas ao mesilato de imatinibe em pacientes com leucemia mielóide crônica avaliadas aos três, seis, doze e dezoito meses de tratamento, segundo o *European Leukemia Net*

Tempo pós início de tratamento	Resposta ótima	Resposta sub-ótima	Falha
3 meses	RHC	Menor que RHC	Sem qualquer RH
6 meses	RCP	Menor que RCP	Sem qualquer RC,
	Ph ⁺ ≤ 35%	Ph ⁺ > 35%	Ph+ > 95%
12 meses	RCC	Menor que RCC	Menor que RCP Ph ⁺ > 35%
18 meses	RMM	Menor que RMM	Menor que RCC
A qualquer momento		ACA além do Ph+, perda de RMM ^a , mutações ^b	Perda de RHC, RCC ^c , mutações ^d

RHC, remissão hematológica completa; **RCP**, remissão citogenética parcial; **RCC**, remissão citogenética completa; **RMM**, remissão molecular maior; **ACA**, anomalias cromossômicas adicionais. **a**, a ser confirmada em duas ocasiões, salvo a associação da perda da RHC ou RCC; **b**, nível reduzido de resistência ao mesilato de imatinibe; **c**, a ser confirmada em duas ocasiões, salvo a associação da perda da RHC ou progressão da fase acelerada e/ou crise blástica; **d**, nível elevado de resistência ao mesilato de imatinibe

FONTE: BACCARINI *et al.* (2009).

5.3. Tratamento de pacientes

Os primeiros estudos clínicos com o MI em pacientes com LMC datam de 1998 (SAWYERS *et al.*, 2002); inúmeros outros foram conduzidos a seguir. Apresentamos abaixo alguns estudos relevantes na definição da terapêutica de portadores da LMC com o MI.

DRUKER *et al.*, em 2001, iniciaram os estudos clínicos de fase I para avaliar a eficácia clínica do MI em 83 pacientes com LMC em FC sem resposta ou intolerantes ao tratamento com IFN- α . Os pacientes foram subdivididos em grupos e receberam doses escalonadas de MI entre 25-1.000mg/dia por via oral (DRUKER *et al.*, 2001). Os efeitos colaterais foram em sua maioria leves (graus 1 e 2) e incluíram náuseas, mialgias, edema e diarreia. Dos 54 pacientes tratados com doses maiores que 300mg/dia, 53 (98%) obtiveram resposta hematológica nas primeiras quatro semanas de tratamento. Ainda neste subgrupo, 29 (54%) obtiveram resposta citogenética dos quais 17 (31%) alcançaram a RCM e sete (13%) RCC (DRUKER *et al.*, 2001). As respostas citogenéticas ocorreram entre dois a dez meses após o início do tratamento com o mesilato de imatinibe, sendo que o tempo médio para alcançar a melhor resposta citogenética foi de 148 dias (DRUKER *et al.*, 2001). Pacientes tratados com doses menores que 300mg apresentaram índices menores de resposta. Desde então, a dose de 400mg é recomendada para portadores da doença em FC (DRUKER *et al.*, 2001).

Foram conduzidos três grandes estudos internacionais, abertos, não controlados, de fase II incluindo pacientes com LMC em FC, FA ou CB, outras leucemias Ph+ ou em LMC em FC com falha à terapêutica anterior ao IFN- α .

KANTARJIAN *et al.*, em 2002, avaliaram 532 pacientes com LMC em FC resistentes ou intolerantes ao IFN- α , em estudo de fase II. Todos os pacientes receberam dose oral diária de 400mg de MI (KANTARJIAN *et al.*, 2002). Dos 454 pacientes com LMC em FC confirmada, 55% obtiveram RCM e 91% RHC após seguimento mediano de 18 meses (KANTARJIAN *et al.*, 2002). Dentre estes pacientes não houve progressão para a CB em 89% dos pacientes, com sobrevida global no período de 95%. Apenas 2% dos pacientes descontinuaram o tratamento devido a efeitos adversos e não ocorreram mortes relacionadas ao tratamento (KANTARJIAN *et al.*, 2002).

Em outro estudo de fase II em fase acelerada, conduzido por TALPAZ *et al.* (2002), 181 pacientes com diagnóstico confirmado de LMC receberam terapêutica com MI, cujo objetivo primário era avaliar a taxa de resposta hematológica. Dentre estes pacientes, 62 receberam MI na dose de 400mg/ dia e 119 pacientes receberam MI 600mg/dia do fármaco (TALPAZ *et al.*, 2002). O MI induziu uma taxa de RHC, RCM e RCC em 34%, 24% e 17% dos pacientes, respectivamente. Cerca de 59% de SLP e 74% de SG foram estimadas em 12 meses (TALPAZ *et al.*, 2002). Ao comparar a eficácia clínica entre doses, a dose de 600mg/dia induziu, significativamente, menor progressão da doença e maior SG em 12 meses com nenhum aumento clínico relevante na toxicidade (TALPAZ *et al.*, 2002). No momento da análise o tempo mediano de seguimento dos pacientes em uso de 400mg era de 10 meses e 11 meses para os pacientes em uso de 600mg. Assim, a dose de 600mg foi considerada padrão para tratar os pacientes em fase acelerada (TALPAZ *et al.*, 2002).

A eficácia e a segurança do MI na CB foi comprovada por um estudo desenvolvido por SAWYERS *et al.* (2002), envolvendo 260 pacientes com LMC em CB que receberam o MI nas doses de 400mg/dia (37 pacientes) e 600mg/dia (223 pacientes). Cerca de 52% dos pacientes obtiveram resposta hematológica, que se manteve em 31% destes por mais de

quatro semanas, sendo que 8% dos pacientes atingiram RHC. A RCM e RCC foram obtidas em 16% e 7% dos pacientes, respectivamente com sobrevida mediana de 6,9 meses. (SAWYERS *et al*, 2002). Em cerca de 50% dos pacientes de cada grupo a dose do fármaco foi reduzida ou o tratamento foi interrompido devido aos efeitos adversos. Cerca de 47 pacientes (18%) apresentaram eventos graves caracterizados como hematológicos (neutropenia, trombocitopenia, neutropenia febril ou sepse por neutropenia), gastrointestinais (náusea, vômitos, irritação gastroesofágica e hemorragia), febre, fadiga, dor óssea, desidratação, distúrbios cardíacos e de pele e retenção hídrica (SAWYERS *et al*, 2002).

Um resumo das respostas em LMC observadas nos três estudos de fase II acima descritos está apresentado na **Tabela 3**.

Tabela 3. Respostas dos pacientes com leucemia mieloide crônica que receberam terapia com mesilato de imatinibe em estudos de fase II

	Estudo 0110 37 meses	Estudo 0109 40,5 meses	Estudo 0102 38 meses
	Fase crônica Falha ao IFN- α (n= 532) 400 mg	Fase acelerada (n= 235) 600 mg (n= 158) 400 mg (n= 77)	Crise blástica mieloide (n=260) 600 mg(n= 223) 400mg (n= 37)
Resposta hematológica ¹	95% (92,3-96,3%)	71% (65,3%-77,2%)	31% (25,2-36,8%)
Resposta hematológica completa (RHC)	95%	42%	8%
Sem evidência de leucemia (SEL)	Não aplicável	12%	5%
Retorno à fase crônica (RFC)	Não aplicável	17%	18%
Resposta citogenética maior ²	65% (61,2-69,5%)	28%(22,0-33,9%)	15% (11,2-20,4%)
Completa	53%	20%	7%
Parcial	12%	7%	8%

¹Critérios de resposta hematológica (após 4 semanas): RHC estudo 0110 [leucócitos $<10 \times 10^9/L$, plaquetas $<450 \times 10^9/L$, mielócito + metamielócito $<5\%$ no sangue, ausência de blastos e promielócitos no sangue, basófilos $<20\%$, ausência de comprometimento extramedular] e nos estudos 0102 e 0109] *CAN $\geq 1,5 \times 10^9/L$, plaquetas $\geq 100 \times 10^9/L$, ausência de blastos no sangue, blastos na medula óssea $<5\%$ e ausência de doença extramedular]. SEL: mesmos critérios utilizados para RHC, mas CAN $\geq 1 \times 10^9/L$ e plaquetas $\geq 20 \times 10^9/L$ (somente 0102 e 0109).RFC: $<15\%$ blastos na medula óssea e sangue periférico, $<30\%$ blastos + promielócitos na medula óssea e no sangue periférico, $<20\%$ basófilos no sangue periférico, ausência de doença extramedular exceto no baço e no fígado (somente 0102 e 0109). ²Critérios de resposta citogenética: RCM combina as repostas citogenéticas completas e parciais: completas (0% metáfases Ph+) e parciais (1-35%). *CAN (contagem absoluta de neutrófilos após um mês de tratamento). FONTE: SAWYERS & CAPDEVILLE (2001)

O estudo IRIS (*International Randomized Study of Interferon and STI-571*) foi um estudo de fase III randomizado, aberto, multicêntrico, que comparou o MI ao IFN- α associado a citarabina (Ara-C) em baixa dose (O'BRIEN *et al.*, 2003). Um total de 1106 pacientes (553 pacientes em cada braço) portadores de LMC em FC recém diagnosticadas foi avaliado. Para o braço do MI, os pacientes receberam oralmente uma dose de 400mg/dia e para o braço do IFN- α + Ara-C, foram tratados com uma dose alvo de 5 MUI/m²/dia por via subcutânea em combinação com Ara-C 20mg/m²/dia por via subcutânea por 10 dias/mês (O'BRIEN *et al.*, 2003). O *cross-over* entre os braços foi permitido em casos de resposta insatisfatória, falha ao tratamento ou intolerância grave ao medicamento (O'BRIEN *et al.*, 2003).

Após um seguimento mediano de 19 meses, a taxa estimada de resposta citogenética aos 18 meses de tratamento foi maior para o grupo do MI comparado ao grupo que recebeu INF- α + Ara-C (87,1% *versus* 34,7%) (O'BRIEN *et al.*, 2003). As taxas estimadas de RCC foram de 76,2% e 14,5%, respectivamente (**Tabela 4**). Aos 18 meses, a sobrevida livre de progressão para FA ou CB, neste momento, foi também maior no grupo tratado com MI do que no grupo tratado com INF- α + Ara-C (96,7% *versus* 91,5%) (O'BRIEN *et al.*, 2003).

Um total de 79 pacientes (14,3%) no grupo do MI e 493 pacientes (89,2%) no grupo do IFN- α + Ara-C descontinuaram ou mudaram o tratamento inicial, devido a eventos adversos graus 3 e 4, explicando em parte o índice maior de troca de tratamento (O'BRIEN *et al.*, 2003). Assim, o MI foi significativamente melhor do que a combinação de IFN- α + Ara-C quanto às respostas hematológica e citogenética, tolerabilidade e probabilidade de progressão para FA e CB em pacientes com LMC recém-diagnosticada (O'BRIEN *et al.*, 2003).

Tabela 4. Respostas em leucemia mieloide crônica adquiridas no estudo IRIS (*International Randomised Study of Interferon vs. STI571*).

Melhores taxas de resposta	Mesilato de imatinibe (MI) n= 553	Interferon associado à citarabina (IFN- α + Ara-C) n= 553
Taxa de resposta hematológica completa ¹ n (%)	534 (96,6%)*	313 (56,6%)*
Resposta citogenética maior (RCM) n (%)	490 (88,6%)	129 (23,3%)
Resposta citogenética completa (RCC) n (%)	456 (82,5%)	64 (11,6)
Resposta citogenética parcial (RCP) n (%)	34 (6,1%)	65 (11,8%)
Resposta molecular maior (RMM) aos 12 meses	40%*	2%*
Resposta molecular maior (RMM) aos 24 meses	54%	NA**

* $P < 0,001$, teste de *Fischer*. ** dados insuficientes, somente dois pacientes com amostras disponíveis. ¹Critérios de resposta hematológica (todas as respostas devem ser confirmadas após período $\geq$ quatro semanas): leucócitos $<10 \times 10^9/L$, plaquetas $< 450 \times 10^9/L$, mielócito + metamielócito $<5\%$ no sangue, ausência de blastos e promielócitos no sangue, basófilos $<20\%$, ausência de comprometimento extramedular. ²Critérios de resposta citogenética: completa (RCC: 0% metáfases Ph+), parcial (RCP: 1-35%) e maior (RCM: 36-65%). ³ Critérios de resposta molecular: maior (RMM: redução $\geq 3 \log$ de transcritos Bcr-Abl através da reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa). FONTE: O'BRIEN *et al.* (2003).

Na atualização de cinco anos deste estudo, o MI foi capaz de induzir resposta citogenética completa em 87% dos pacientes e sobrevida livre de progressão em 93%. Além disso, houve aumento crescente no percentual de pacientes que atingem respostas moleculares maiores e completas. A tolerabilidade boa desta medicação foi também evidente no estudo (DRUKER *et al.*, 2006).

Para pacientes com resposta sub-ótima ao MI, a primeira recomendação é escalonar a dose para 600 mg ao dia. Acredita-se que esta intervenção evite que os pacientes desenvolvam falha real, permitindo que eles continuem a se beneficiar com o tratamento com imatinibe. Esta suposição baseia-se em dados obtidos de pacientes que deixaram de responder ao MI na dose padrão e para os quais as doses foram escalonadas (KANTARJIAN *et al.*, 2007; JABBOUR *et al.*, 2009).

No entanto, até a presente data, apenas no âmbito de protocolo de pesquisa clínica, um inibidor de segunda geração poderá ser substituído pelo MI nesta situação. Esta pergunta ainda está sendo testada em protocolos de pesquisa clínica de fase III. O TCPH também deve ser considerado na ausência de outra via alternativa medicamentosa e quando o paciente possui um doador compatível. (KANTARJIAN *et al.*, 2007; JABBOUR *et al.*, 2009).

Os pacientes tratados com MI apresentaram sintomas indesejáveis, em geral durante o primeiro mês de tratamento. A maioria desses efeitos foram de intensidade leve a moderada, mensurados de acordo com os Critérios de Terminologia Comum para Eventos Adversos) (CTCAE) do *National Cancer Institute (NCI)*, versão 3.0. (http://ctep.info.nih.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/ctcae3.pdf.)

Apenas 2-5% dos pacientes com diagnóstico recente de LMC descontinuaram a terapia por efeitos adversos ao MI. Os eventos adversos relacionados ao medicamento que

ocorreram em maior frequência foram: náusea, vômito, câimbras musculares e dor muscular, diarreia e erupção cutânea (DEININGER & DRUKER, 2003; HOCHHAUS, 2007; KOGEL & SCHELLENS, 2007).

Edemas superficiais, como o periorbital e de membros inferiores, foram comuns durante tratamento com o MI (DRUKER *et al.*, 2006). Entretanto, esses edemas raramente foram graves e puderam ser controlados com o uso de diuréticos ou a redução da dose do fármaco. Derrame pleural, ascite, edema pulmonar e ganho rápido de peso com ou sem edema superficial, descritos como “retenção de líquidos”, foram bem controlados com medidas de suporte e por vezes descontinuação temporária da medicação (DEININGER & DRUKER, 2003; HOCHHAUS, 2007; KOGEL & SCHELLENS, 2007).

As citopenias, particularmente neutropenia e plaquetopenia, ocorreram com frequência em pacientes com LMC tratados com o fármaco em todas as fases da doença (FC, FA e CB). Neutropenia e plaquetopenia de graus 3 ou 4 foram observadas em 16,7% e 8,9% dos pacientes com a FC da LMC recém diagnosticada. Neutropenia de grau 4 e plaquetopenia de grau 4 foram observadas em 3,6% e menos de 1% desses pacientes, respectivamente. Houve, em geral, recuperação do número de neutrófilos com a redução da dose do MI ou a administração de fator de crescimento (G-CSF) (DRUKER *et al.*, 2006). Novas ocorrências ou agravamentos de eventos adversos hematológicos de graus 3 e 4 foram incomuns após dois anos de tratamento com o fármaco (DRUKER *et al.*, 2006).

Toxicidade hepática com elevação acentuada de transaminases e bilirrubinas ocorreu em aproximadamente 5% dos pacientes com LMC e menos de 1% destes pacientes necessitaram descontinuar o tratamento de forma definitiva (DEININGER & DRUKER, 2003; HOCHHAUS, 2007; KOGEL & SCHELLENS, 2007).

A avaliação dos efeitos adversos em pacientes com estágios avançados da LMC é dificultada pela variedade de sintomas relacionados à doença subjacente, sua progressão e a administração concomitante de outras medicações (DEININGER *et al.*, 2003).

5.4. Resistência ao mesilato de imatinibe

Cerca de 20-30% dos pacientes desenvolvem resistência ao MI; esta ocorre em qualquer fase da doença, mas, é mais frequente em fases avançadas (HOCHHAUS, 2007; PICARD *et al.*, 2007; QUINTAS-CARDAMA *et al.*, 2007). A recidiva da doença após resposta inicial ao MI é identificada em todos os pacientes em CB, em cerca de 50% dos pacientes em FA e em 15-20% dos pacientes em FC (HUGHES & BRANDFORD, 2007). A resistência é dita primária, se o paciente nunca apresentou resposta ao MI e secundária quando é adquirida (PAGNANO, 2008).

Cinco diferentes mecanismos podem determinar a resistência ao MI em LMC. O maior efluxo de MI nas células leucêmicas por ação de transportadores de membrana, como as proteínas de drogas multiresistentes (MDR1), pode reduzir as concentrações intracelulares do agente (mecanismo A). A maior ligação do fármaco a proteínas plasmáticas, como a α -glicoproteína ácida, pode reduzir sua concentração intracelular (mecanismo B). Mutações no domínio quinase *BCR-ABL* podem reduzir o seu efeito terapêutico (mecanismo C). A ativação das vias de sinalização celular por membros da família *Src* pode determinar proliferação celular contínua (mecanismo D). Ainda, a amplificação do gene *BCR-ABL* induz a superprodução da proteína alvo que pode não ser inibida completamente pela terapia com MI (mecanismo E) (HEANEY & HOLYOAKE, 2007; QUINTAS-CARDAMA *et al.*, 2009) (**Figura 5**).

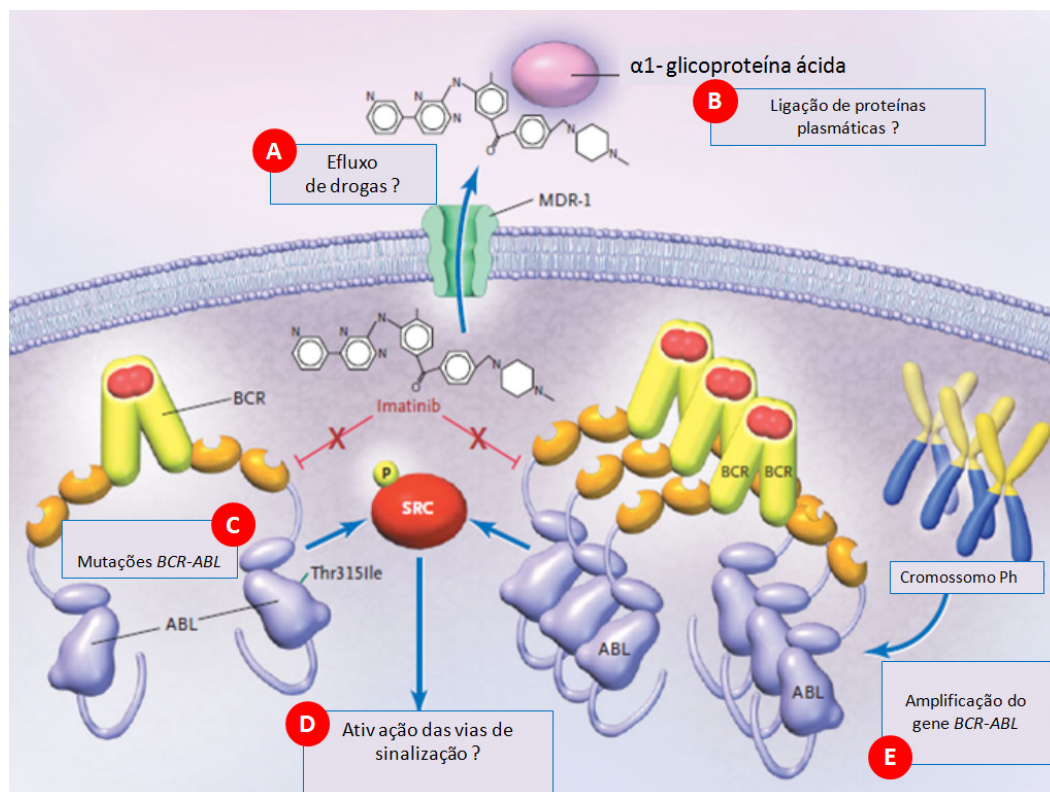


Figura 5. Representação esquemática do mecanismo de resistência ao mesilato de imatinibe (MI). O aumento do efluxo de drogas das células leucêmicas por ação de transportadores de membrana, como as proteínas multirresistentes a drogas (MDR-1), pode diminuir as concentrações intracelulares do MI (mecanismo A). A maior ligação do fármaco a α -glicoproteína ácida pode diminuir sua concentração efetiva (mecanismo B). Mutações no domínio quinase *BCR-ABL*, incluindo Thr315Ile, podem diminuir ou inibir o efeito terapêutico do MI (mecanismo C). A ativação das vias de sinalização por membros da família Src estimula continuamente a proliferação celular (mecanismo D). A amplificação do gene *BCR-ABL* induz a superprodução da proteína alvo que deve ser inibida pela terapia com MI (mecanismo E). FONTE: Adaptado de KRAUSE & VAN ETEN, (2005).

5.5. Eficácia e toxicidade do medicamento no Brasil

No Brasil, há uma grande heterogeneidade entre diferentes regiões e centros de tratamento, no que se refere à sua capacidade de diagnosticar e tratar os pacientes com LMC. Em meados de 2008 foi autorizada a utilização de MI para tratamento de primeira linha para os pacientes com LMC em FC (BRASIL- DOU, 2008). Mas, são poucos os resultados de estudos sobre a eficácia e toxicidade de tratamento com o MI no país.

Um grupo de pesquisadores do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná verificou a eficácia e segurança do MI e identificou fatores que influenciavam o desfecho clínico (vivo ou óbito) e a sobrevida de 98 pacientes com LMC (FUNKE *et al.*, 2005). Vinte e oito pacientes em FC refratários ou intolerantes ao INF- α receberam 400mg/dia de MI e os pacientes nas fases avançadas receberam doses de 600mg/dia (FUNKE *et al.*, 2005).

Após uma mediana de seguimento de 545 dias (7-862), obteve-se 86% de RHC na FC, 47% na FA e 13% na CB. A RCM foi de 68%, 33% e 0% respectivamente. Cerca de 9% dos pacientes apresentaram ausência de transcritos Bcr-Abl detectáveis por RT-PCR (FUNKE *et al.*, 2005). Toxicidade hematológica grau 3 ou 4 ocorreu em 21% na FC, 74% na FA e 87% na CB. Toxicidade não hematológica grau 3 ou 4 foi observada em 11% dos pacientes em FC, 51% daqueles em FA e em 53% em CB (FUNKE *et al.*, 2005). No total, 62 (64%) pacientes permaneceram vivos, sendo 27/28 pacientes em FC e 36/35 em FA (FUNKE *et al.*, 2005). Após dois anos, observou-se uma taxa de sobrevida global de 96% em pacientes em FC e 36% em pacientes em FA. Todos os pacientes em CB faleceram, com mediana de 60 dias (15-180) (FUNKE *et al.*, 2005).

Em São Paulo, no Hospital Israelita Albert Einstein, TODARO *et al.*, (2006) avaliaram a evolução clínica de 66 pacientes que receberam o MI durante 48 meses. Destes, 28 estavam em FC, 23 em FA e 15 em CB. Durante o tratamento 13 pacientes faleceram, sendo que a maioria deles estavam em CB. Trinta e seis meses após o início do tratamento, 62,12% dos pacientes permaneceram vivos. De modo geral, o tratamento com o MI mostrou melhora na taxa de sobrevida dos pacientes com LMC, particularmente no grupo de FA, em que se observaram respostas hematológica e citogenética boas em mais de 65% dos casos.

Já no Hospital Universitário Walter Cantídio no Ceará, Aquino *et al.* (2009) avaliaram 26 pacientes com LMC, sendo nove em FC e intolerantes ao IFN- α , seis em FA e 11 em CB. Os pacientes em FC receberam dose de 400mg/dia de MI e os pacientes nas fases avançadas receberam 600 mg/dia. A mediana de idade foi de 50 anos (26-77) e a mediana do tempo de seguimento dos pacientes em FC foi de 45 meses (6-216), 38 meses para FA (5-71) e 20 meses para CB (1-69). Os pacientes em FC obtiveram 78% de RHC, os em FA, 17% e os em CB 9%. Quarenta e quatro por cento dos pacientes em FC e nenhum dos pacientes nas fases avançadas obtiveram RCC.

Ao final do estudo, 18 pacientes permaneceram vivos e destes, apenas quatro (22,2%) não tiveram queixas. Os efeitos adversos mais comuns nos demais foram: edema (50%), adinamia (33,3%), dor óssea e/ou articular (33,3%), cefaléia (27,8%), câimbra (16,7%), diarreia (16,7%), insônia (16,7%), prurido (16,7%), equimoses (11,1%), náuseas (11,1%), dor epigástrica (5,6%), eritema (5,6%), lacrimejamento (5,6%), ressecamento da pele e lábios (5,6%), rush (5,6%) e sudorese (5,6%).

Recentemente, SILVEIRA *et al.*, (2012) avaliaram 105 pacientes com LMC no Hospital de Base do Distrito Federal. Os pacientes estavam em FC precoce e receberam

400mg de MI diariamente. Alguns deles necessitaram de ajuste na dose, tanto por toxicidade (quando necessitaram de redução), como por resposta insatisfatória (aumento da dose para 600-800mg/dia).

O seguimento mediano dos pacientes foi de 23 meses (3-97 meses), sendo que 90 (85,7%) deles foram avaliados até 48 meses e somente 15 (14,3%) foram acompanhados por tempo maior que 48 meses. Aos três meses, a taxa de RHC foi alcançada em 83,8% dos pacientes. A incidência cumulativa de RCM e RCC aos seis meses foi de 52,4% e 35,5%, respectivamente; aos 12 meses, de 71,7% e 65,9% respectivamente, enquanto que aos 48 meses as mesmas taxas foram de 83,7% e 80,5%, respectivamente, e se mantiveram até os 60 meses. Sete pacientes não obtiveram qualquer resposta citogenética durante o período de avaliação.

As taxas cumulativas de RMM aos 18 e 48 meses foram de 32,3% e 59,5%, respectivamente. A sobrevida livre de eventos aos 48 meses foi de 65,7% (50,6-77,1). No final da avaliação, 73 (69,5%) pacientes continuaram o tratamento com o MI, enquanto 32 (30,5%) descontinuaram sua utilização. As principais razões para interrupção foram falha ou progressão da doença (17,1%), perda de seguimento (3,8%), morte (3,8%), intolerância (1,9%), decisão do paciente (1,9%) gravidez (1%) e TCPH (1%). Vinte e cinco (23,8%) pacientes precisaram de ajuste de dose do medicamento que os pacientes escalonados para doses elevadas apresentaram toxicidade hematologia de graus 3 e 4.

Os resultados dos estudos publicados relacionados ao tratamento da LMC em nosso país estão apresentados na **Tabela 5**.

Tendo em vista as disparidades sócio-econômicas observadas em nosso país, esses resultados podem não refletir a realidade nacional do tratamento de nossos pacientes com LMC com o medicamento.

Tabela 5. Resultados de estudos brasileiros relacionados ao tratamento de pacientes com leucemia mielóide crônica com o mesilato de imatinibe

Estudos	Tempo/Doses	Pacientes	Respostas
FUNKE <i>et al.</i> , 2005	28 meses 600 mg 400 mg	(n= 98)	FC, RHC: 86% e RCC: 61%
		FC (n= 28)	FA, RHC: 47% e RCC: 24%
		FA (n= 55)	CB, RHC: 13% e RCC: 0%
		CB (n= 15)	SG: 64% todos os pacientes (Óbitos: 96% na FC; 36% na FA e 100% na CB)
TODARO <i>et al.</i> , 2006	48 meses 600 mg 400mg	(n= 66)	
		FC (n= 28)	SG: 62%
		FA (n= 23)	RHC e RCC >65% na FA
		CB (n= 15)	
AQUINO <i>et al.</i> , 2009	45 meses 600 mg 400mg	(n= 26)	
		FC (n= 28)	FC, RHC: 78% e RCC: 44%
		FA (n= 23)	FA, RHC: 17% e RCC:0%
		CB (n= 15)	CB, RHC: 9% e RCC: 0%
SILVEIRA <i>et al.</i> , 2012	48 meses 400mg	(n= 105)	RHC: 83,8%
		FC	RCC: 80,5% SG e SLP: 92,1% e 89,3%

FC, fase crônica; **FA**, fase acelerada; **CB**, crise blástica; **RHC**, resposta hematológica completa; **RCC**, resposta citogenética completa; **SG**, sobrevida global; **SLP**, sobrevida livre de progressão

5.6. Farmacocinética

O MI é bem absorvido no trato gastrointestinal, passa pelo fígado e atinge pico de concentração plasmática duas a quatro horas após ingestão (PENG *et al.*, 2004). A biodisponibilidade média para o fármaco por via oral, independente da forma farmacêutica ou dosagem, é de 90% (PENG *et al.*, 2005; APPERLEY, 2007).

No tecido hepático, as reações de biotransformação do fármaco são catalisadas por isoenzimas do citocromo P450 (CYP450) em reações de fase I (oxidação, redução e hidrólise) (AUDI & PUSSI, 2000). O MI atua como um substrato para as isoformas Cyp3A4 e Cyp3A5 (DRUKER *et al.*, 2001; GRÉEN *et al.*, 2010), que dão origem por reações de N-demetilação, ao principal metabólito circulante com atividade terapêutica o piperazínico N-demetilado (CGP74588) (**Figura 6**) (DRUKER *et al.*, 2001; GSCHWIND *et al.*, 2005; APPERLEY, 2007; CHABNER *et al.*, 2007). O MI se liga extensivamente (95%) às proteínas plasmáticas, principalmente à albumina e à α -glicoproteína ácida; somente uma pequena fração livre tem a possibilidade de entrar nas células e exercer seu efeito farmacológico (AJIMURA, 2010).

Após uma dose oral de MI marcado com carbono 14 (C^{14}), cerca de 81% da dose foi eliminada pelas fezes (68%) e urina (13%) no período de sete dias. O MI inalterado respondeu por 25% da dose (5% urina, 20% fezes), sendo o restante representado pelos metabólitos (M19.8, M20.0b, M21.4, M21.6, M22.8, M23.6, M24.0, M25.2, M26.4, M26.8, M27.8a, M27.8b, M29.2, M31.0, M39.4, e M39.8 no plasma, urina, e/ou fezes) (GSCHWIND *et al.*, 2005).

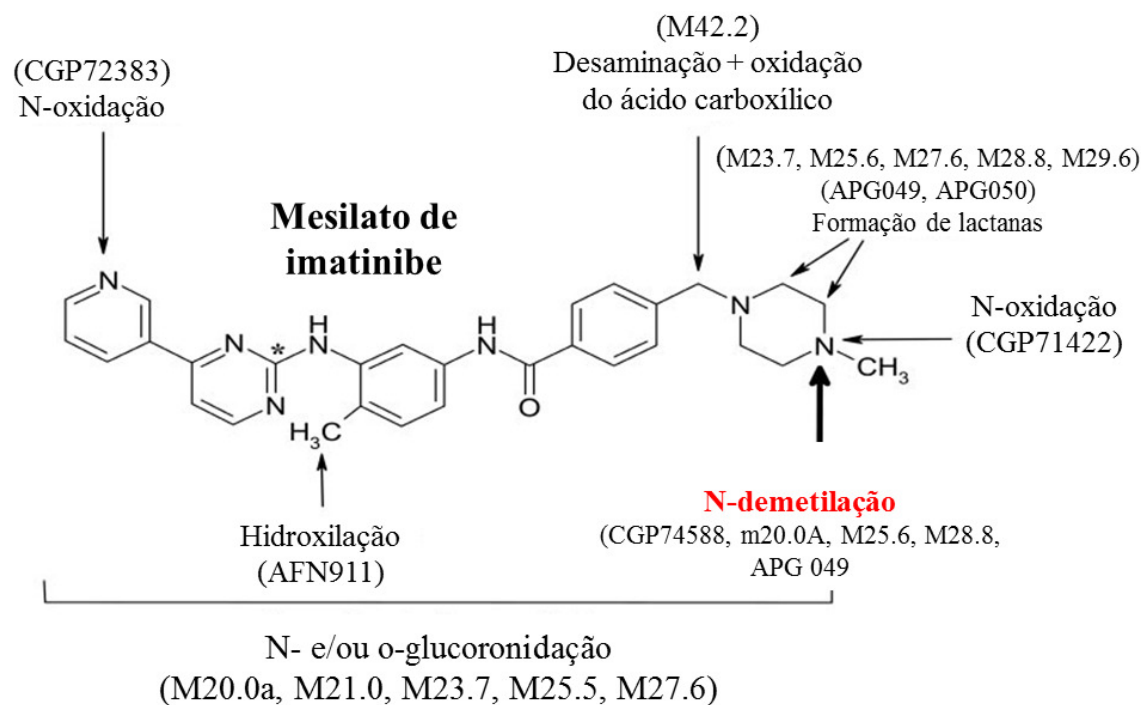


Figura 6. Estrutura química do mesilato de imatinibe e seu principal metabólito o piperazínico N-demetilado, (CGP74588). CGP74588, *N*-[4-methyl-3-(4-pyridin-3-yl-pyrimidin-2-ylamino)-phenyl]-4-piperazin-1-ylmethyl-benzamide; CGP72383, *N*-4-methyl-3-[4-(1-oxy-pyridin-3-yl)-pyrimidin-2-ylamino]-phenyl}-4-(4-methyl-piperazin-1-ylmethyl)-benzamide; CGP71422, 4-(4-methyl-4-oxy-piperazin-1-ylmethyl)-*N*-[4-methyl-3-(4-pyridin-3-yl-pyrimidin-2-ylamino)-phenyl]-benzamide; AFN911, *N*-[4-hydroxymethyl-3-(4-pyridin-3-yl-pyrimidin-2-ylamino)-phenyl]-4-(4-methyl-piperazin-1-ylmethyl)-benzamide; APG050, 4-(4-methyl-3-oxo-piperazin-1-ylmethyl)-*N*-[4-methyl-3-(4-pyridin-3-yl-pyrimidin-2-ylamino)-phenyl]-benzamide; APG049, *N*-[4-methyl-3-(4-pyridin-3-yl-pyrimidin-2-ylamino)-phenyl]-4-(3-oxo-piperazin-1-ylmethyl)-benzamide. *O asterisco indica a posição do C¹⁴ radioativo. FONTE: Adaptado de GSCHWIND *et al.*, (2005).

5.7. Farmacogenética

As isoenzimas Cyp3a4 atuam no início do metabolismo de fármacos administrados por via oral (MA *et al.*, 2002; ROBERTSON *et al.*, 2002). Atuam em diversas reações de fase I do metabolismo, incluindo N-demetilação e N-dealquilação (AUDI & PUSSI, 2000; ROBERTSON *et al.*, 2002; METZGER *et al.*, 2006).

Polimorfismos em genes codificadores destas enzimas podem alterar os processos de transcrição e tradução de enzimas, afetando a farmacocinética de fármacos (AUDI & PUSSI, 2000; METZGER *et al.*, 2006). Tais polimorfismos podem alterar a expressão e/ou a atividade de sítios de ligação de medicamentos, por reduzirem a estabilidade do RNA mensageiro (RNAm) correspondente, ou modificarem a estrutura conformacional da proteína correspondente (METZGER *et al.*, 2006).

Sendo assim, o perfil metabólico de um fármaco em um indivíduo pode ser modificado pela presença de polimorfismos gênicos, ocasionando fenótipos variados como os metabolizadores lentos, intermediários e rápidos (METZGER *et al.*, 2006). Os metabolizadores lentos, em geral, são indivíduos com diminuição ou ausência da enzima metabolizadora, o que pode decorrer na deleção do gene ou instabilidade do RNAm. Os metabolizadores intermediários são os que apresentam metabolismo “normal”, comum à maioria dos indivíduos. Já o fenótipo de metabolizadores rápidos pode ser decorrente de um aumento na produção da enzima metabolizadora associado a uma ou múltiplas duplicações do gene que codifica a enzima (**Figura 7**) (METZGER *et al.*, 2006; SINGH, 2007).

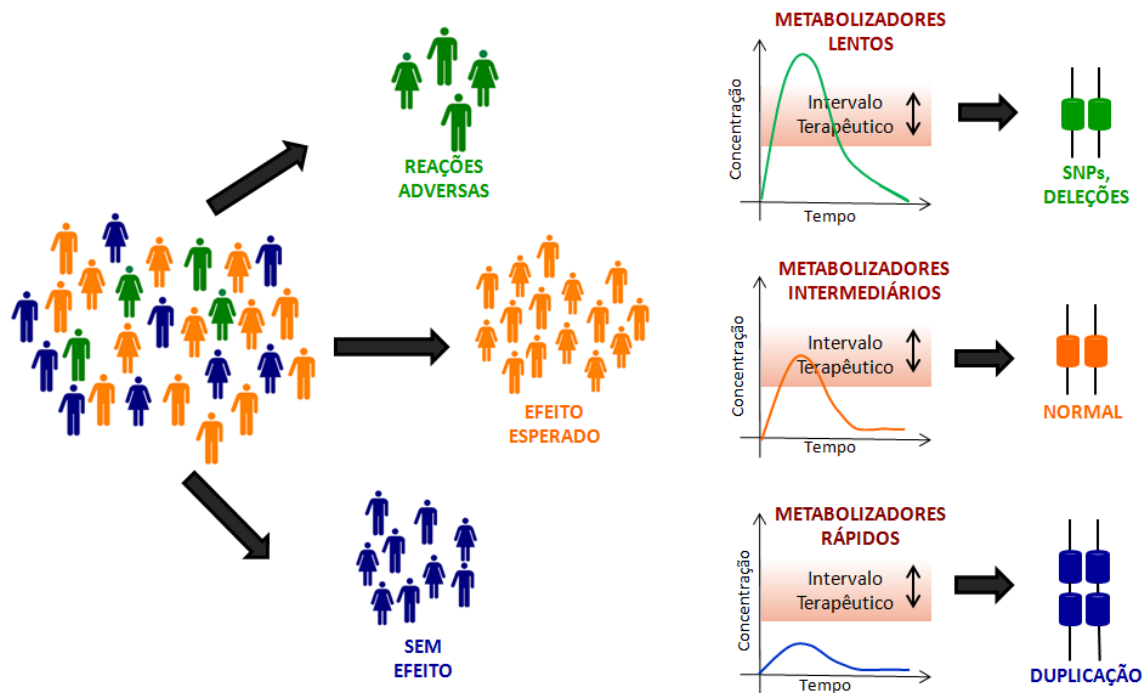


Figura 7. Relação entre diferentes grupos de resposta a fármacos e variações no perfil metabólico de enzimas metabolizadoras. Três grupos de indivíduos são identificados: os metabolizadores lentos, portadores de deleções e polimorfismos de base única (SNPs) em gene codificador de enzima metabolizadora do fármaco, que apresentam reações adversas e efeitos terapêuticos significativos; os metabolizadores intermediários, sem anormalidades no gene codificador da enzima metabolizadora do fármaco, que apresentam efeitos adversos e terapêuticos esperados; metabolizadores rápidos, com duplicação de gene codificador de enzima metabolizadora do fármaco, que não apresentam efeitos adversos e terapêuticos. FONTE: Adaptado de LUIZON *et al.*, (2010).

5.8. Enzima Cyp3a4

A enzima Cyp3a4 é responsável pelo metabolismo oxidativo de inúmeros fármacos, como os benzodiazepínicos midazolan e alprazolam, antiarrítmicos, antibióticos, anticonvulsivos, propafenona e quinidina; os anti-histamínicos astemizol e terfenadina; o antipsicótico clozapina; os bloqueadores dos cálcio diltiazem, felodipina, nifedipina e verapamil, os antidepressivos amitriptilina, clomipramina e imipramina, e ainda a carbamazepina, a cisaprida, a eritromicina e o tamoxifeno (AUDI & PUSSI, 2000). A eritromicina, a midazolan e o omeprazol foram utilizados como testes *in vivo* para medir a atividade da isoenzima em questão. O cetoconazol, a fluvoxamina e a nefazodona são potentes inibidores da atividade da Cyp3a4, enquanto a carbamazepina e a fenitoína são fármacos indutores de sua atividade (**Figura 8**) (AUDI & PUSSI, 2000).

O MI é metabolizado principalmente pela enzima Cyp3a4. O produto desta reação é o metabólito farmacologicamente ativo piperazínico N-demetilado (CGP74588) (GREEN *et al.*, 2010).

A atividade do MI variou em até dez vezes em indivíduos diversos (BOTTORFF & HANSTEN, 2000; WIDMER *et al.*, 2004).

Tal variabilidade pode ter resultado de interações entre o MI e indutores ou inibidores da atividade da Cyp3A4 (VAN ERP *et al.*, 2007; AJIMURA, 2010). Substâncias inibidoras da Cyp3a4 como o cetoconazol, itraconazol, eritromicina e claritromicina, são capazes de interagir com o MI através da diminuição do metabolismo e consequente aumento dos níveis plasmáticos em até 40% (KOGEL & SCHELLENS, 2005; CHABNER, *et al.*, 2012).

Já a coadministração de drogas que induzem a atividade da Cyp3a4 (rifampicina, carbamazepina, e fenobarbital) podem aumentar o metabolismo do MI em até 70%. De

forma semelhante, o MI, por ser um substrato competitivo da Cyp3a4, inibindo o metabolismo da sinvastatina e aumentando sua concentração plasmática em até 3,5 vezes (KOGEL & SCHELLENS, 2005; CHABNER, *et al.*, 2012).

Mais recentemente, GRÉEN *et al.* (2010) observaram que pacientes com LMC que apresentaram resposta molecular completa ao MI, apresentaram maior atividade da enzima Cyp3A4 do que os demais.

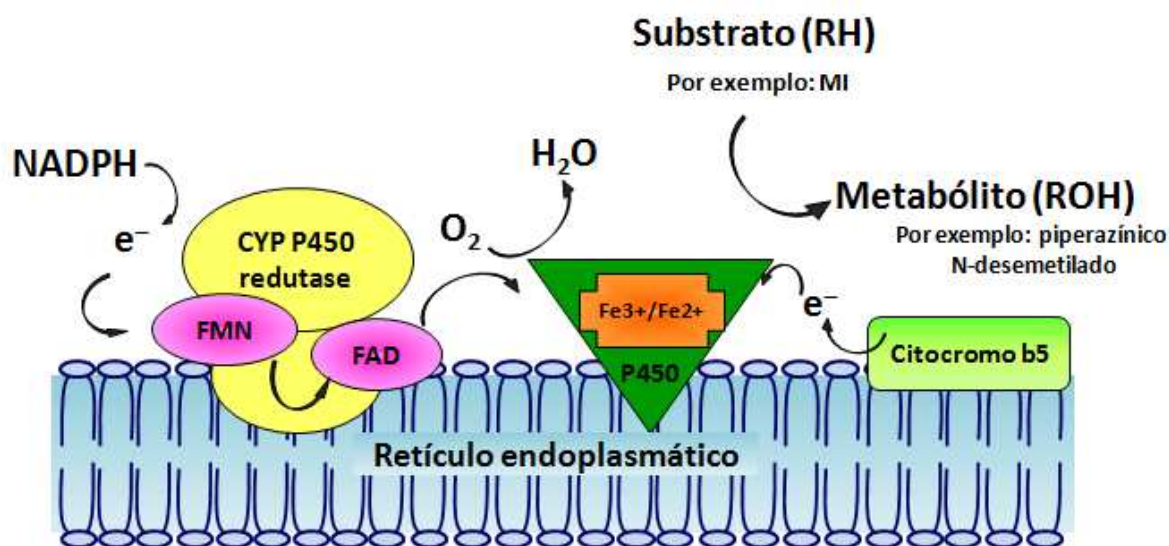


Figura 8. Reações metabólicas de fase I (oxidação, redução e hidrólise) do sistema enzimático CYP P450. Os componentes eletrônicos do sistema CYP P450 estão localizados no citoplasma e o sítio ativo hidrofóbico no lúmen do retículo endoplasmático. As isoenzimas Cyp3a4 estão presentes majoritariamente no fígado e apresentam dois componentes proteicos, sendo uma proteína heme P-450 e uma flavoproteína NADPH CYP 450 redutase contendo tanto a FMN como FAD. O P450, que contém ferro férrico (Fe^{+3}), combina-se com uma molécula do fármaco (RH), recebe um elétron da NADPH P450 redutase, que reduz o ferro férrico para ferroso (Fe^{+2}), combina-se com oxigênio molecular, um próton e um segundo elétron (da NADPH P450 redutase ou do citocromo b5) para formar um complexo $\text{Fe}^{2+} \text{OOH-RH}$. Esse complexo se combina com outro próton para produzir água e o complexo oxeno férrico $(\text{FeO})^{3+} \text{RH}$. O $(\text{FeO})^{3+}$ extrai um átomo de hidrogênio do RH, com formação de um par de radicais livres de curta duração, liberação do fármaco oxidado (ROH) do complexo e regeneração da enzima P450. FAD, flavina adenina dinucleotídeo; FMN, flavina dinucleotídeo, NADPH, nicotinamida adenina dinucleotídeo-P. FONTE: Adaptado de GARCÍA, (2011).

5.9. Polimorfismo -290A>G do gene *CYP3A4*

O gene *CYP3A4* está localizado no braço longo do cromossomo 7, na região 7q21.3-q2 e codifica a proteína Cyp3a4/nifedipina oxidase do citocromo P450 (P450-PCN1), presente principalmente no fígado e intestino delgado (LAMBA *et al.*, 2000). Entre os polimorfismos fármaco-relevantes deste gene, está o -290A>G, que determina a substituição da base nitrogenada adenina por guanina na região promotora, com diferenças funcionais entre as enzimas codificadas pelos alelos selvagem e variante (SATA *et al.*, 2000; CAVALLI *et al.*, 2001; RUND *et al.*, 2005).

Indivíduos com alelo selvagem A produzem a enzima Cyp4A4 em quantidade normal e são comuns (selvagens) na população. Já os portadores do alelo variante G codificam enzima com atividade reduzida ou nula (NOGAL *et al.*, 2007). Indivíduos com genótipo homozigoto variante GG são considerados metabolizadores lentos e os com genótipo heterozigoto AG são considerados metabolizadores intermediários. Aqueles com o genótipo homozigoto selvagem AA são denominados metabolizadores ultra-rápidos (SILVADO, 2008).

A frequência do genótipo variante difere em indivíduos de distintas etnias, sendo 69-81% em africanos, 48-67 em afro-americanos, 9,3-10,7% em hispânicos, 3,8-9,6% em caucasianos, 1% em árabes e não identificado em asiáticos (PARIS *et al.*, 1999; WANDEL *et al.*, 2000; MA *et al.*, 2002; KESHAHA, 2004; TAYEB, 2002; REYES-HERNANDEZ *et al.*, 2004). Já a frequência do genótipo variante descrita para a população brasileira foi de 13,3% (CAVALLI *et al.*, 2001).

A presença do alelo variante foi considerada fator de proteção durante tratamento de leucemia, pois ativa menos a epipodofilotoxina, um antineoplásico que atua como agente

indutor de leucemias com translocações no gene *MLL*, do que o alelo selvagem (CAVALLI *et al.*, 2001). Ainda, acredita-se que pacientes com atividade enzimática reduzida apresentam maior toxicidade por docetaxel (HIRT *et al.*, 2000).

Sabe-se que a expressão da Cyp3a4 RNAm é afetada pela expressão dos fatores de transcrição, PXR (*pregnane X receptor*), RXRa (*retineoid X receptor*), CAR (*constitutive androgen receptor*) e HNF4a (*hepatocyte nuclear factor 4a*).

Até onde atinge o nosso conhecimento, são desconhecidos os papéis do polimorfismo *CYP3A4* A-290G na resposta terapêutica e efeitos colaterais de pacientes com LMC tratados com MI.

Frente ao exposto, foram definidos os objetivos do presente estudo.

OBJETIVOS

Foram avaliados pacientes com LMC em FC precoce recém diagnosticada atendidos no Hemocentro da Unicamp e que fizeram uso do MI como terapêutica de primeira linha para a doença, tendo como objetivos:

- Avaliar a eficácia do tratamento dos pacientes com o MI através das respostas hematológica, citogenética e molecular;
- Avaliar o tipo e grau de toxicidade (hematológica e não hematológica) apresentada pelos pacientes durante o tratamento dos pacientes com o MI;
- Verificar o papel do MI no prognóstico dos pacientes através da associação da resposta inicial com as respostas citogenética e molecular;
- Verificar se os genótipos distintos do referido polimorfismo (-290 A>G) gênico estão associados á eficácia, à toxicidade e ao prognóstico dos pacientes.
- Investigar a influência do polimorfismo *CYP3A4* -290 A>G associados às variáveis idade, sexo, raça, dados hematimétricos iniciais, riscos prognósticos de Sokal e Hasford, fase da doença, tempo decorrido do diagnóstico ao início do tratamento, desenvolvimento de toxicidade hematológica e não hematológica, curso do tratamento nas respostas citogenéticas em relação a SLP e SG.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

1. Avaliação clínica e laboratorial dos pacientes

1.1. Avaliação clínica

Foram avaliados 100 pacientes consecutivos com LMC recém diagnosticada e que receberam o MI como primeira linha terapêutica na Divisão de Hematologia e Hemoterapia do Hemocentro da UNICAMP, no período de Abril de 2003 a Novembro de 2010 de acordo com o fluxograma de acompanhamento representado pela **Figura 9**.

Foram incluídos no estudo os pacientes que obedeceram aos seguintes critérios:

- Forneceram consentimento livre e esclarecido por escrito;
- Idade ≥ 18 anos;
- Pacientes em FC ($< 10\%$ blastos, $< 20\%$ basófilos e $< 30\%$ blastos e promielócitos no SP ou MO; número de plaquetas $> 100.000/\text{mm}^3$) precoce (menos de seis meses do diagnóstico), com cromossomo Ph+ e rearranjo *BCR-ABL*;
- Pacientes em FC que usaram o MI como primeira linha terapêutica;
- Pacientes em FA ou CB;

Foram excluídos do estudo os pacientes com baixa aderência ao tratamento ou condições clínicas insatisfatórias que não permitiam a adesão ao tratamento proposto.

As contagens dos números globais de células do sangue foi realizada em contador automatizado (Advia® 120 *Hematology System*; BAYER®, Tarrytown, NY, USA). Os números dos diferentes leucócitos foram obtidos por contagem manual de 200 leucócitos em esfregaço de células do sangue periférico corados pelo Leishman.

O diagnóstico da LMC foi realizado com base nos resultados da análise do sangue periférico, aspirado e biópsia de medula óssea, de acordo com os critérios convencionais (SHERDLOW, 2008). A identificação do cromossomo Ph ou do rearranjo gênico *BCR-ABL* serviram para confirmação adicional do diagnóstico.

Os índices prognósticos de Sokal e Hasford foram calculados para cada paciente com base nos resultados do exame físico e do exame hematológico, conforme descrições prévias (SOKAL *et al.*, 1984; HASFORD *et al.*, 1998).

Os pacientes receberam o MI na dose de 400mg/dia por via oral. O exame hematológico foi realizado para avaliação de resposta hematológica.

O cariótipo foi obtido por meio da análise citogenética convencional e a pesquisa do gene *BCR-ABL* foi realizada por meio do método da transcrição reversa, de acordo com os métodos descritos nas sessões específicas.

Os genótipos do polimorfismo *CYP3A4* -290A>G foram avaliados em DNA obtidos de leucócitos de sangue periférico no momento do diagnóstico da LMC.

Foram avaliadas as respostas (hematológica, citogenética e molecular) a toxicidade ao MI e a sobrevida dos pacientes no período do estudo. Os dados clínicos e laboratoriais dos pacientes foram obtidos por interrogatório específico ou prontuário médico aplicados pela Dra. Márcia Torresan Delamain.

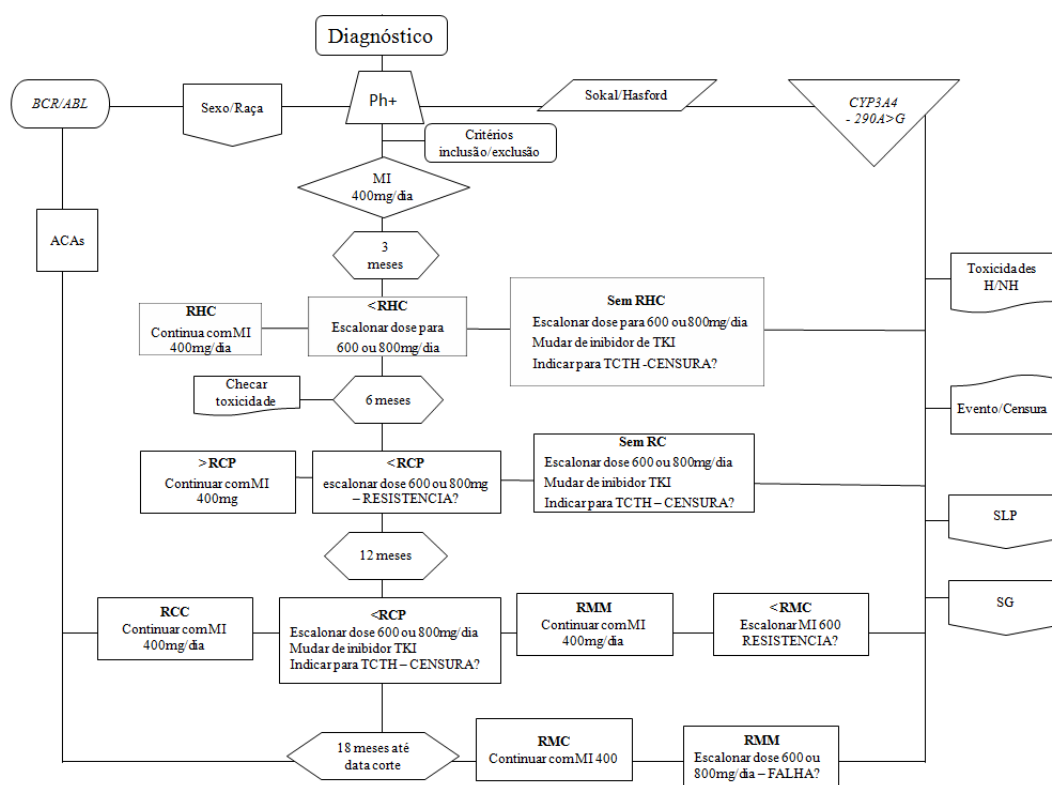


Figura 9. Diagrama de fluxo do acompanhamento dos pacientes tratados com MI. **RHC**, resposta hematológica completa, **RCC**, resposta citogenética completa; **RCP**, resposta citogenética parcial; **SRC**, sem resposta citogenética **RMM**, resposta molecular maior; **RMC**, resposta molecular completa; **SRM**, sem resposta molecular; **H**, hematológica; **NH**, não hematológica, **ACAs**, alterações cromossômicas adicionais

1.2. Análise citogenética convencional

Os cariótipos foram realizados em amostras de MO dos pacientes inseridos no estudo pelas biólogas Maristela Zocca e Rosemeire Bognoni no Laboratório de Citogenética do Hemocentro da UNICAMP.

A técnica de cultura de células utilizada foi a descrita por SWANSBURY (1997). De forma sucinta, foram coletados 5mL de MO em heparina de cada paciente. As células obtidas foram contabilizadas em sistema automatizado (Advia[®] 120 *Hematology System*; BAYER[®], Tarrytown, NY, USA). De forma ideal, $1,0 \times 10^7$ células foram cultivadas em 10mL de meio de cultura RPMI 1640, suplementado com 20% de soro fetal bovino e 1mL de penicilina-estreptomicina. As culturas foram estimuladas com 100 μ L de demecolcine na concentração de 1 μ g/mL e foram mantidos a 37°C, em atmosfera úmida com 5% de CO₂, por 24 horas. Após o período de incubação com demecolcine, as células foram tratadas com solução hipotônica de cloreto de potássio 0,075M por 20 minutos; fixadas em solução de metanol:ácido acético glacial (3:1), por três vezes, durante 30 minutos e distribuídas em lâminas de vidro, após flambagem em bico de Bunsen, para melhor espalhamento dos cromossomos. A seguir, os materiais foram processados para obtenção de bandas G, utilizando tampão fosfato 0,06M, pH 6.8 e tripsina 0,02 μ g, sendo que os núcleos interfásicos e os cromossomos em metáfase contidos nas lâminas foram corados posteriormente com solução Wright.

Foram analisadas ao menos 20 metáfases de cada caso, sempre que possível, segundo as normas do Sistema Internacional de Nomenclatura de Citogenética Humana (MITELMAN, 1995), em sistema automatizado de cariotipagem (Cytovision Version 4.4, *Applied Imaging Corporation*, Santa Clara, CA, USA), que possibilitou o emparelhamento

e a ampliação do tamanho dos cromossomos e facilitou a identificação de anormalidades cromossômicas. Um cariótipo de paciente do estudo está apresentado na **Figura 10**.

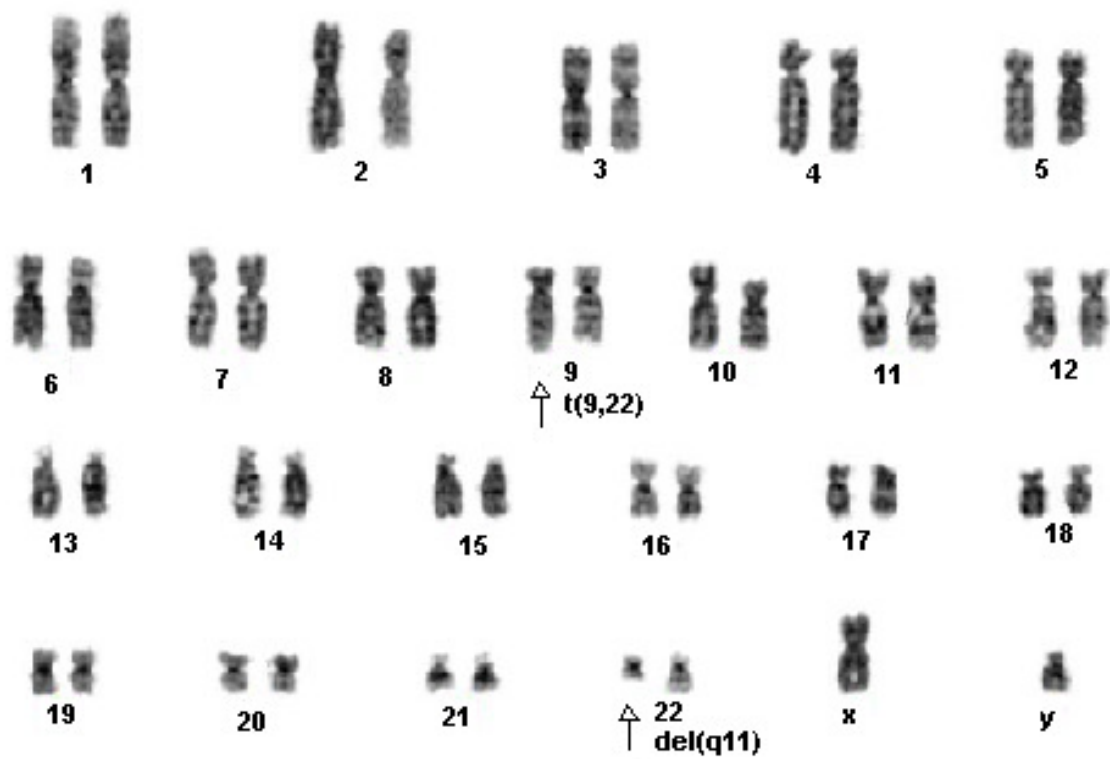


Figura 10. Cariótipo 46, XY, $t(9,22)$ (q34;q11) em pacientes com leucemia mielóide crônica.

1.3. Transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase (RT-PCR)

A avaliação do gene *BCR-ABL* por meio da transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) foi realizada no Laboratório de Diagnóstico Molecular de Doenças Oncohematológicas do Hemocentro da UNICAMP, coordenado pela Dra. Kátia Barbosa Borgia Pagnano.

O ácido ribonucleico (RNA) foi isolado de leucócitos de sangue periférico ou da medula óssea obtidas de pacientes. O RNA foi transcrito em uma fita de DNA complementar (c-DNA) por transcrição reversa. Este produto foi então submetido a reação de PCR, usando-se iniciadores específicos para os pontos de quebra maior ou menor do gene *BCR* e do gene *ABL*. A amplificação das regiões de interesse foi obtida com a utilização dos procedimentos descritos por FRENOY *et al.* (1994). Esta amplificação produziu dois fragmentos de 234 ou 304 pares de base (pb) dependentes da presença ou não do éxon 3 do gene *BCR* no rearranjo *BCR-ABL*, em casos com ponto de quebra na região maior do gene *BCR*. Os fragmentos de 196pb foram obtidos em casos com ponto de quebra na região menor do gene *BCR*. Os produtos da amplificação do c-DNA foram visualizados em gel de agarose a 2%. Pontos de quebra na região menor do gene *BCR* (m-*BCR*) foram identificados em apenas um paciente (**Figura 11**).

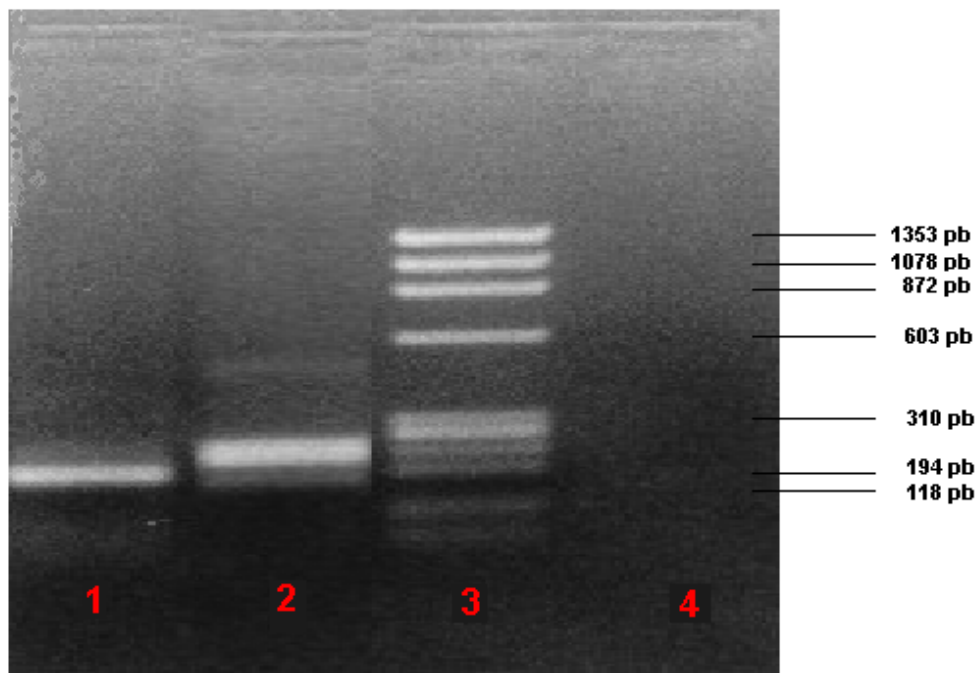


Figura 11. Eletroforese dos produtos da transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase do gene *BCR-ABL* em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídio. Sendo: 1. paciente com leucemia mielóide crônica com uma banda de 196 pares de bases correspondente a p190, produto do gene; 2. controle positivo representado por um paciente com leucemia linfóide aguda pré B com a p190; 3. marcador do tamanho dos fragmentos de RNA ϕ X 174RF; 4. controle negativo (H₂O).

A sensibilidade do método da RT-PCR foi avaliada por meio da utilização de duas diluições diferentes de um controle positivo e de um controle negativo, constituídos pelas linhagens celulares K562 e HL60, respectivamente. A avaliação da integridade do RNA extraído foi realizada pela amplificação da região de 370pb do gene da $\beta 2$ microglobulina por RT-PCR.

A representação esquemática dos resultados obtidos na pesquisa do gene *BCR-ABL* nas amostras examinadas e a interpretação dos mesmos estão apresentados na **Tabela 6.**

Tabela 6. Representação esquemática dos possíveis resultados a serem obtidos na avaliação do gene *BCR-ABL* por transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase

<i>BCR-ABL</i>	β_2 microglobulina	Controle positivo	Controle negativo	Interpretação
+	+	+	-	<i>BCR-ABL</i> positivo
-	+	+	-	<i>BCR-ABL</i> negativo
+	+	+	+	Sem interpretação
-	-	-	-	Sem interpretação
-	+	+	+	Sem interpretação

Considerou-se como presença do gene *BCR-ABL* as amostras onde foram identificados produtos com 234, 304 ou 196pb. Resultados negativos em amostras de água com DEPC e controle negativo foram necessários para a validação dos resultados obtidos em amostras de pacientes. A não amplificação do controle negativo e as amplificações do controle positivo e da β_2 microglobulina foram também necessárias para a validação dos resultados obtidos em amostras de pacientes. Foram também consideradas como tendo o gene *BCR-ABL* as amostras com fragmentos de 196pb.

1.4. PCR quantitativo em tempo real (RQ-PCR)

Os genes quantificados por RQ-PCR foram *ABL* (gene controle) e o *BCR-ABL*. A RQ-PCR foi realizado em sistema de PCR *Real-Time* (ABI 7300®; APPLIED BIOSYSTEMS, Foster City, CA, USA), utilizando kit TaqMan® Universal PCR Master Mix 7300 contendo: *AmpliTaq Gold DNA polimerase*, *AmpErase* UNG com dUTP, referência passiva (ROX) e componentes do tampão (Cat. N° 4304437; APPLIED BIOSYSTEMS, Foster City, CA. USA), os iniciadores: gene *ABL* 80.000pmol (direto: 5'GAT ACG AAG GGA GGG TGT ACC A 3' e reverso: 5'CTC GGC CAG GGT GTT GAA 3'), gene *BCR-ABL* 80.000pmol (b3a2; direto: 5'TCC GCT CGC CAT CAA TAA GGA 3' e reverso: CAC TCA GAC CCT GAG GCT CAA 3') (Cat. No 4304437; APPLIED BIOSYSTEMS, Foster City, CA. USA). As sondas: *ABL* 6.000pmol (6^{FAM} TSC TTC TGA TGG CAA GCT CTA CGT CTC CTT^{TAMRA}), *BCR-ABL* 6.000pmol (6^{FAM} CCC TTC AGC GGC CAG TAG CAT CTG A^{TAMRA}) (APPLIED BIOSYSTEMS, Foster City, CA. USA), todos com concentração de uso de 5µM de acordo com o método descrito por BRANDFORD *et al.*, (1999). Placas ópticas para RQ-PCR (APPLIED BIOSYSTEMS, Foster City, CA, USA) foram utilizadas para o preparo das reações de PCR que tiveram um

volume final de 15µL. Foi utilizado 3µL de cDNA para cada uma das amostras quantificadas. A curva de diluição foi realizada em triplicata, assim como as amostras dos pacientes e dos controles positivo (linhagem celular K562) e negativo (linhagem celular HL60) e o branco. Além desses controles, foram realizados testes de controle de qualidade utilizando pacientes com alto e baixo níveis de transcritos.

De acordo com BRANDFORD *et al.* (2006) após a corrida foram aplicados o *threshold* 0,05 e o *baseline* de corrida (Ct de início da corrida -4Cts, por exemplo: Ct_{inicial}=21-4-17). Após a análise automatizada do programa de corrida foram verificados parâmetros como a eficiência da reação ($R^2 = 0,99$, ou seja, 99%), e o *slope* (inclinação da curva, -3,3 e 3,6). Posteriormente, os dados foram exportados para o Windows Excel (Microsoft®) onde todos os cálculos foram realizados, calculando-se a média dos Ct para cada um dos genes estudados. Em seguida, calculou-se a relação entre a quantidade de transcritos encontrados nos genes *ABL* e *BCR/ABL*, onde:

$$\frac{\text{BCR/ABL}}{\text{ABL}} \times 100 = 100\%$$

Os valores finais foram reportados em porcentagem e os resultados das quantificações tiveram como valor de referência o *baseline* de pacientes pré-tratamento. Esse valor foi determinado pelo do cálculo da mediana dos valores das quantificações dos transcritos dos pacientes.

1.5. Análise molecular do polimorfismo *CYP3A4* -290A>G

1.6. Extração do DNA genômico

Os genótipos do polimorfismo *CYP3A4* -290A>G foram avaliados em DNA genômico de amostras de sangue periférico de pacientes com LMC ao diagnóstico. O método utilizado foi o descrito por WOODHEAD *et al.* (1986) com modificações. Foram coletados 4mL de sangue periférico de cada paciente, em frasco estéril com anticoagulante ácido etilenodiaminotriacético (EDTA). A amostra foi centrifugada a 1300 rpm durante dez minutos. Após o descarte do plasma, os eritrócitos contidos em 500µL da solução remanescente foram lisados em tampão de lise (320mM, Tris-HCl 10mM pH 7.5, MgCl₂ 5Mm e Triton X-100 1%). A camada de leucócitos, a seguir, foi ressuspensa em tampão de digestão protéica (Tris-HCl pH 7,5, EDTA 10mM, NaCl 10mM e dodecil sulfato de sódio (SDS) 20%), juntamente com a proteinase K 20mg/mL. A suspensão permaneceu em banho-maria a 55°C por duas horas. A seguir, foram adicionados 200µL de cloreto de lítio a suspensão, que foi levada ao freezer a -20°C durante quinze minutos. Após as etapas anteriores, a solução foi centrifugada por dez minutos a 13.000rpm e o sobrenadante foi transferido para outro microtubo. A seguir, o DNA obtido dos leucócitos foi precipitado em etanol absoluto, re-hidratado em etanol 70% e diluído em água estéril a 37°C. O DNA obtido foi quantificado em espectrofotômetro (ND-1000 NanoDrop[®] 3.2.1; THERMO SCIENTIFIC, Wilmington, DE, USA) e visualizado após corrida eletroforética em gel de agarose 1%.

1.7. Amplificação do fragmento do gene *CYP3A4*

A amplificação da região do gene *CYP3A4* onde está localizado o polimorfismo -290A>G foi realizada por meio da reação da cadeia da polimerase de acordo com o protocolo descrito por CAVALLI *et al.* (2001). De forma sucinta, foram adicionados em um microtubo de 0,6mL 1uL (50ng/uL) de DNA a ser estudado, 5uL de tampão da enzima (10x), 2,5uL (2mM) de cloreto de magnésio, 0,5uL de mistura de dNTPs (200uM) (dATP, dGTP, dCTP, dTGP), 0,5µL (10pmol) dos iniciadores (direto: 5' GGA ATG AGG ACA GCC ATA GA 3' e reverso: 5' CCT TTC AGC TCT GTG TTG CTC TTT GCT G 3'), 0,5µL (1U) de *Taq* DNA polimerase (INVITROGEN, Grand Island, USA) e 39µL água estéril, para volume final de 50µL. A reação foi conduzida inicialmente por um ciclo a 98°C durante cinco minutos, para inativação de proteases que pudessem interferir com a reação enzimática e, posteriormente, por 35 ciclos de amplificação em termociclador (Mastercycler; EPPENDORFF, Barkhausenweg, Hamburg, Germany). Cada ciclo foi realizado sob as seguintes condições: 95°C durante um minuto (para desnaturação do DNA); 60°C durante dois minutos (para a ligação complementar entre os iniciadores e o DNA) e 72°C durante dois minutos (para síntese do DNA, com a enzima *Taq* DNA polimerase). Ao término dos 35 ciclos, o produto da amplificação foi mantido a 72°C durante dez minutos (período final da síntese de DNA), completando um único ciclo. A seguir, as amostras foram mantidas sob refrigeração a 4°C. Os produtos da PCR (8µL) foram submetidos a corrida eletroforética, em cuba de eletroforese horizontal, em gel de agarose 2% corados pelo brometo de etídio, para a visualização dos fragmentos de 385 pb amplificados sob luz ultravioleta (**Figura 12**).

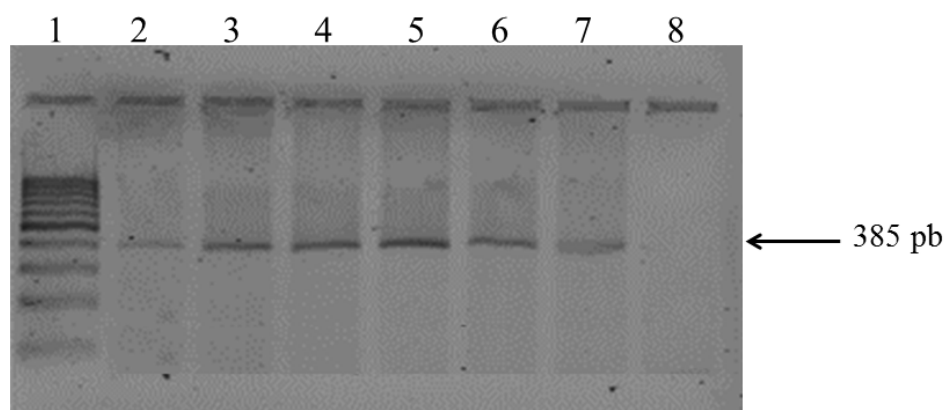


Figura 12. Eletroforese dos produtos da reação da cadeia da polimerase do gene *CYP3A4* -290A>G em gel de agarose a 2%, corado pelo brometo de etídio em pacientes com leucemia mielóide crônica. Sendo: **1**, marcador *ladder* 100 pares de base, **2-7**, fragmentos de 385 pares de base e **8**, controle negativo

1.8. Amplificação do fragmento do gene *CYP3A4* A-290G

Os genótipos distintos do polimorfismo -290A>G no gene *CYP3A4* foram avaliados por meio da digestão enzimática dos fragmentos amplificados, com a utilização de uma mistura de 10µL do produto da PCR, 2,5µL de água estéril, 1,5µL de tampão e 0,5µL de enzima *Mbo*II no volume total de 15uL. A seguir, a mistura foi colocada em banho-maria, a 37°C durante doze horas. O produto da reação foi analisado por eletroforese em gel de acrilamida a 10%, para visualização dos fragmentos amplificados sob luz ultravioleta. Os fragmentos de 175, 169 e 41pb foram obtidos de indivíduos com o genótipo selvagem (AA), fragmentos de 210, 175, 169 e 41pb de indivíduos com o genótipo heterozigoto (AG) e fragmentos de 210 e 175pb de indivíduos com o genótipo variante (GG) (**Figura 13**).

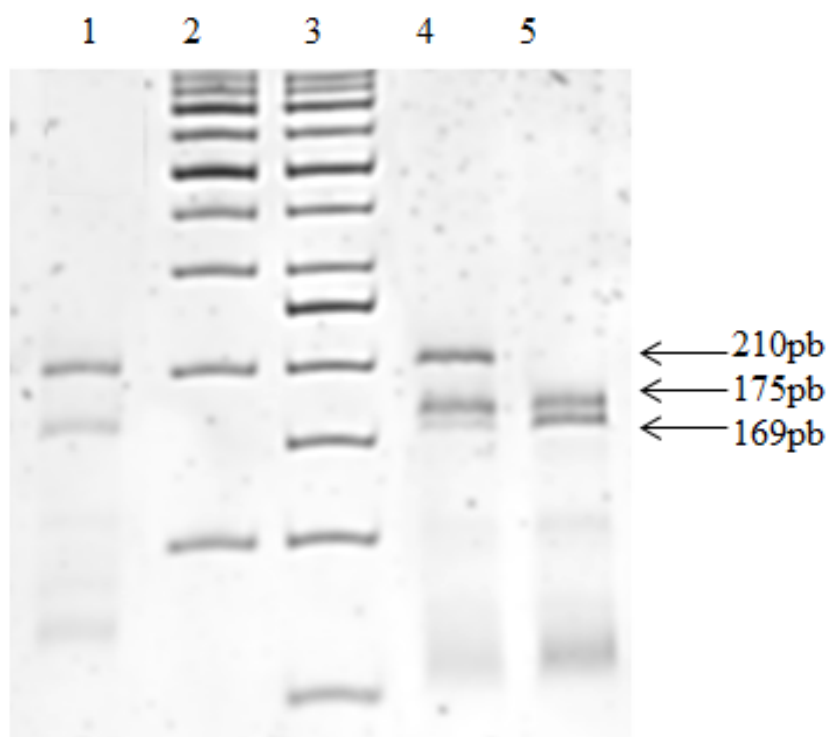


Figura 13. Eletroforese dos produtos da digestão enzimática do gene *CYP3A4* A-290G em gel de poliacrilamida a 14%, corado com brometo de etídio em pacientes com leucemia mielóide crônica, sendo: **1**, variante GG com 210 pares de base e 175 pares de base; **2**, marcador *ladder* 100 pares de base; **3**, marcador *ladder* 50 pares de base; **4**, heterozigoto AG com 210 pares de base, 175 pares de base, 169 pares de base e 41 pares de base*; **5**, selvagem AA com 175 pares de base e 169 pares de base e *, fragmentos não visualizados nos géis de poliacrilamida

2. Terapêutica e seguimento dos pacientes

Os pacientes receberam o MI na dose de 400mg por via oral. A avaliação clínica e laboratorial foi mensal nos primeiros seis meses e posteriormente a cada dois ou três meses. A dose do fármaco foi reduzida ou suspensa quando os pacientes apresentaram eventos adversos hematológicos ou não hematológicos de graus 3 ou 4 e que após a reintrodução do mesmo voltaram a apresentar as mesmas toxicidades. Foram censurados (sem evento) do estudo os pacientes que tiveram o fármaco suspenso devido à toxicidade ou falta de resposta, aqueles que receberam inibidor de tirosina-quinase de segunda geração após o uso do MI e aqueles que foram encaminhados para TCTH. Os pacientes que necessitaram aumento da dose do MI para 600mg ao dia permaneceram no estudo.

A toxicidade ao MI foi avaliada por meios dos critérios do NCI (*National Cancer Institute*) (<http://ctep.info.nih.gov/reporting/ctc.html>) para os pacientes do estudo. O exame hematológico foi realizado a cada duas semanas até a confirmação de resposta hematológica completa e a seguir, trimestralmente. O cariótipo foi obtido por meio da análise citogenética convencional e a pesquisa do rearranjo gênico *BCR-ABL* foi realizada por meio da reação da transcrição reversa ao diagnóstico e a cada seis meses e o teste da reação em cadeia da polimerase a cada três meses.

2.1. Critérios de resposta hematológica, citogenética e molecular

Foram considerados em resposta hematológica completa (RHC) os pacientes que apresentaram a concentração da hemoglobina maior que 10,0g/dL e os números de leucócitos e plaquetas menores que $10,0 \times 10^3/\text{mm}^3$ e $500,0 \times 10^3/\text{mm}^3$, com ausência de formas imaturas e basófilos < 5% no sangue periférico e sem baço palpável, por período mínimo de três meses.

Foram considerados em resposta citogenética completa (RCC) os pacientes sem células Ph+, em resposta citogenética parcial (RCP) os pacientes com 1 a 35% de células Ph+; em resposta citogenética menor (RCM) os pacientes com 36 a 65% de células Ph+, em resposta citogenética mínima (RCMin) os pacientes com 66 a 99% de células Ph+, sem resposta citogenética aqueles com 100% de células Ph+ e não avaliáveis aqueles com menos de dez metáfases ou núcleos interfásicos.

Foram considerados em resposta molecular completa (RMC) e resposta molecular maior (RMM) os pacientes com ausência de transcritos do gene *BCR-ABL* e transcritos $\leq 0,1\%$ (redução de 3-log) em amostras de sangue periférico avaliadas por meio da QT-PCR (BEILLARD, 2003; BACCARINI *et al.*, 2006).

2.2. Critérios de resistência ao mesilato de imatinibe na fase crônica

Apresentaram resistência ao MI os pacientes com perda ou falta de normalização referente às contagens celulares do sangue, com diferencial normal e tamanho do baço (RHC deve ser obtida até 12 meses) ou progressão para FA ou CB.

De acordo com os critérios da *European Leukemia Net* aqueles pacientes que não atingiram RCP e RCC (em 12 e 18 meses, respectivamente) ou que apresentaram alterações cromossômica complexas/Ph+ em qualquer momento, foram considerados resistentes ao MI.

A falha em se atingir uma RMM aos 18 meses de tratamento foi considerada como resposta sub-ótima e a recaída com o aumento dos transcritos *BCR-ABL* pelo menos em 1 log naqueles que estavam em RMC (BACCARINI *et al.*, 2006).

3. Aspectos éticos

Todos os procedimentos foram realizados após a obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e aprovação pelo Comitê de Ética da FCM da UNICAMP para participar do estudo clínico CSTI571K2301 (No 354/2005), com consentimento adicional para verificar o papel de polimorfismo *CYP3A4* A-209G nas respostas ao MI (No 530/2008, **Anexo 1**).

4. Análise estatística

Foram confeccionadas tabelas de frequência das categorias e estatísticas descritivas, como, a média, o desvio-padrão, a mediana e os valores mínimo e máximo para descrever o perfil do grupo estudado segundo os níveis de resposta ao MI.

A análise estatística foi dirigida à pesquisa das variáveis (idade ao diagnóstico, contagens de leucócitos, hemoglobina e plaquetas, riscos de Sokal e Hasford, tempo entre o diagnóstico e início de tratamento, meses de uso do MI, tipo e grau de toxicidade, tempo até aquisição das respostas hematológica, citogenética e molecular) que influenciaram a respostas hematológica, citogenética e molecular e a sobrevida dos pacientes.

O equilíbrio de Hardy-Weiberg foi calculado com o intuito de verificar a distribuição preferencial de alguns dos genótipos do polimorfismo -290A>G do gene *CYP3A4* avaliados no grupo dos pacientes estudados (BEIGUELMAN, 1995).

Para comparação entre o polimorfismo e as variáveis categóricas foram utilizados os testes de Wilcoxon, Fisher e Kruskal-Wallis, considerando nível de significância de 5% ($P= 0,05$) e intervalo de confiança de 95%.

O método de Kaplan-Meier foi utilizado para estimar a sobrevida global (SG) e sobrevida livre de progressão (SLP). A SG é definida como a morte por quaisquer causas,

onde os pacientes são censurados apenas quando ocorre perda de seguimento ou quando eles estão vivos por ocasião da análise. Por outro lado, a SLP é caracterizada pelo tempo decorrido entre o início do tratamento e a progressão da doença ou morte por quaisquer causas. Já o Evento é definido como a progressão da doença (avanço para FA e CB), recidiva ou morte por qualquer causa.

A censura também é feita quando ocorre perda de seguimento ou quando os pacientes encontram-se vivos e sem progressão por ocasião da análise. diagnóstico e a ausência de remissão, recaída ou morte em remissão.

Um desfecho análogo, o tempo para progressão de doença, consiste no tempo transcorrido entre o início do tratamento e a progressão de doença, com censura se houver morte por quaisquer causas (MACHADO *et al.*, 2010).

Para verificar a influência dos diversos fatores analisados de interesse na sobrevida foi utilizada a análise de Cox multivariável com modelo de riscos proporcionais (variáveis com $P < 0,20$).

Todas as análises foram realizadas com o programa estatístico R-2.12.0 *R-Development Core Team*, ISBN 3-900051-07-0, Copyright 2011 (Viena, Austria).

RESULTADOS

1. Grupo total de pacientes com leucemia mieloide crônica

Foram incluídos no estudo 100 pacientes com LMC em FC precoce recém diagnosticada, atendidos nos ambulatórios de Oncohematologia do Hemocentro da UNICAMP, no período de abril de 2003 a novembro de 2010 (92 meses).

1.1. Dados clínicos e laboratoriais

As características clínicas dos pacientes estão apresentadas na **Tabela 7**.

A idade média $\pm$ DP dos pacientes foi de 47 ± 15 anos, com mediana de 47 anos (variação: 18-81). Houve predominância de pacientes com idade menor que 65 anos.

A distribuição dos pacientes por sexo mostrou proporções similares entre homens e mulheres, guardando uma relação entre si de 1,2:1,0.

Com relação aos achados laboratoriais do hemograma ao diagnóstico, 63% dos pacientes apresentaram anemia. A leucocitose da maioria dos pacientes (56%) esteve acima de $100.000/\text{mm}^3$, sendo que blastos e promielócitos ocorreram em 79% e 61% deles, respectivamente. A trombocitose foi observada em 37% dos pacientes.

Os índices de Sokal intermediário e alto foram identificados em 60% dos pacientes. Cerca de metade do número de pacientes apresentaram índice de Hasford baixo enquanto os demais apresentaram índices intermediário e alto.

Os rearranjos gênicos mais comuns nos pacientes foram o b2a2 e o b3a2.

Nosso grupo de pacientes apresentou desvios significativos entre a proporção de heterozigotos e homozigotos variantes observada e a esperada de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P=0,77$ e $\chi^2=0,24$), sendo que 70% dos pacientes foram portadores do genótipo homozigoto selvagem AA, 13% heterozigoto AG e 17% homozigoto variante GG, cujos fenótipos foram por nós definidos como metabolizadores normais, intermediários e lentos, respectivamente.

Os pacientes foram avaliados sistematicamente por período mediano de 29 meses (variação: 1-92 meses).

O tempo médio $\pm$ DP entre o diagnóstico da doença e o início da terapêutica foi de 78 ± 67 dias, com mediana de 61 dias (variação: 41-78 dias). O MI foi administrado aos pacientes por um tempo médio $\pm$ DP de 33 ± 22 meses, com mediana de 29 meses (variação: 1-92 meses).

Tabela 7. Características clínicas dos pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce ao diagnóstico

Características clínicas	Mediana ou número (variação, %)
Idade ao diagnóstico (anos)	47 (18-81)
Sexo (M/F)	54/46
Raça	
Caucasóides	84 (84,0)
Negróides	16 (16,0)
Esplenomegalia (baço $\geq$ 10cm)	24 (24,0)
Características do sangue periférico	
Hemoglobina (g/dL)	11,8 (5,1-15,8)
Leucócitos ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	112,0 (6,6-659,0)
Plaquetas ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	378,0 (112,0-1.268,0)
Índice de Sokal	
Baixo	40 (40)
Intermediário	32 (32)
Alto	28 (28)
Índice de Hasford	
Baixo	49 (49)
Intermediário	40 (40)
Alto	11 (11)
Gene <i>BCR-ABL</i>	
b2a2	39 (39)
b2a2+b3a2	06 (6)
b3a2	35 (35)
Não analisados	20 (20)
<i>CYP3A4</i> A-290G	
AA	70 (metabolizador normal)
AG	13 (metabolizador intermediário)
GG	17 (metabolizador lento)

Genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-290G. **AA**, homozigoto selvagem; **AG**, heterozigoto; **GG**, homozigoto variante

1.2. Eficácia e resistência ao mesilato de imatinibe

A eficácia do MI na terapêutica dos pacientes com LMC está apresentada na **Tabela 8 e Figuras 14 a 16**.

Noventa e cinco (95%) pacientes alcançaram a RHC em um tempo médio de 34 ± 23 dias e mediana de 25 dias (variação: 7-307). Cinco pacientes (5%) não foram avaliados quanto à resposta hematológica devido ao curto tempo entre o início do tratamento e a análise de dados.

A maioria dos pacientes (83%) obtiveram RCC (72%) ou RCP (11%) em tempo médio de 12 ± 9 meses e mediana de nove meses (variação: 3-44 meses) de terapêutica com o MI. Cinquenta e cinco pacientes (66%) obtiveram RCC ou RCP em período menor que 12 meses.

Vinte e seis (28%) pacientes obtiveram RMC e 24 (26%) pacientes obtiveram RMM após um período médio de 25 ± 17 meses e mediana de 22 meses (variação: 3-71 meses) de terapêutica com o MI. Dezesesseis pacientes (32%) obtiveram RMC ou RMM em período menor que 12 meses.

Um único paciente (usuário de drogas) não aderiu ao tratamento com o MI. Treze pacientes foram considerados resistentes ao MI, sendo um portador da mutação T315I no domínio quinase do gene *BCR-ABL*.

Tabela 8. Eficácia do mesilato de imatinibe em leucemia mielóide crônica

Resposta ao tratamento	Número de pacientes (%)
Hematológica completa	100 (100)
Sim	95 (95)
Não avaliada	05 (5)
Tempo para RHC (mediana)	95 (100)
< 25 dias	45 (47)
≥ 25 dias	50 (53)
Citogenética	100 (100)
Completa	72 (72)
Parcial	11 (11)
Outras ou sem resposta	17 (17)
Tempo para RCC ou RCP (mediana)	83 (100)
< 9 meses	39 (47)
≥ 9 meses	44 (53)
Tempo para RCC ou RCP	83 (100)
< 12 meses	55 (66)
≥ 12 meses	28 (34)
Molecular	93 (100)
Completa	26 (28)
Maior	24 (26)
Sem resposta	43 (46)
Não avaliados	07 (07)
Tempo para RMC ou RMM (mediana)	50 (100)
< 22 meses	26 (26)
≥ 22 meses	24 (24)
Tempo para RMC ou RMM	50 (100)
< 12 meses	16 (32)
≥ 12 meses	34 (68)

RCC, resposta citogenética completa; **RCP**, resposta citogenética parcial; **RMC**, resposta molecular completa, **RMM**, resposta molecular maior.

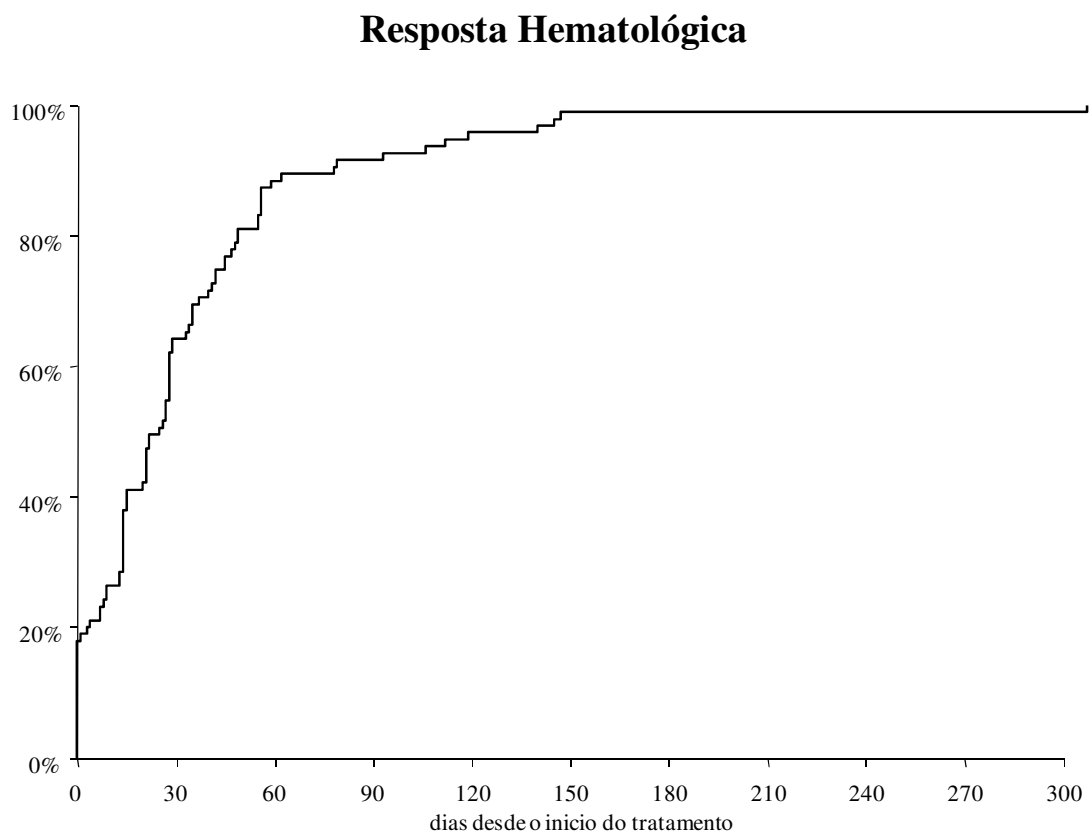


Figura 14. Taxas de resposta hematológica dos 95 pacientes com leucemia mieloide crônica em fase crônica precoce que puderam ser avaliados durante terapêutica com mesilato de imatinibe

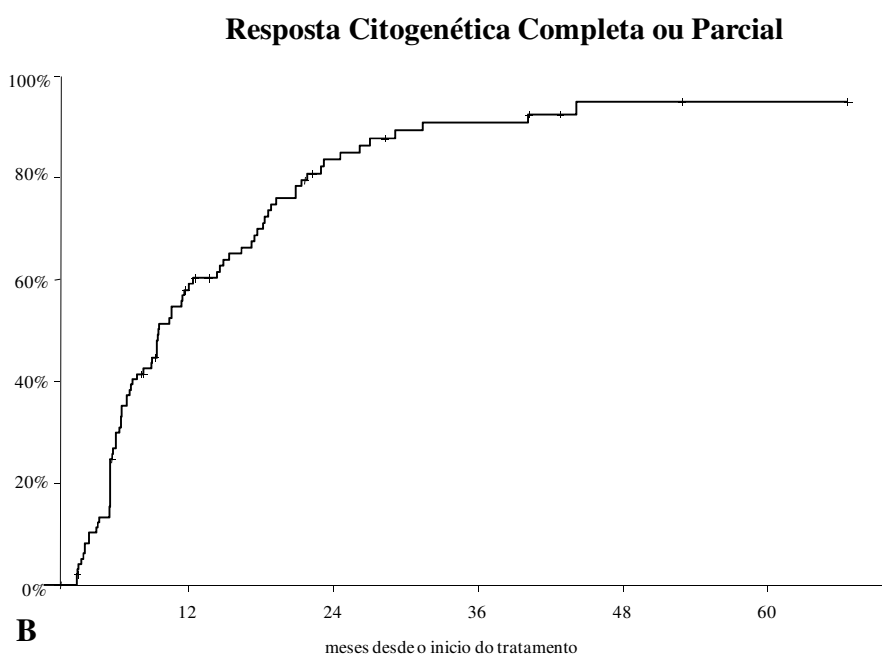
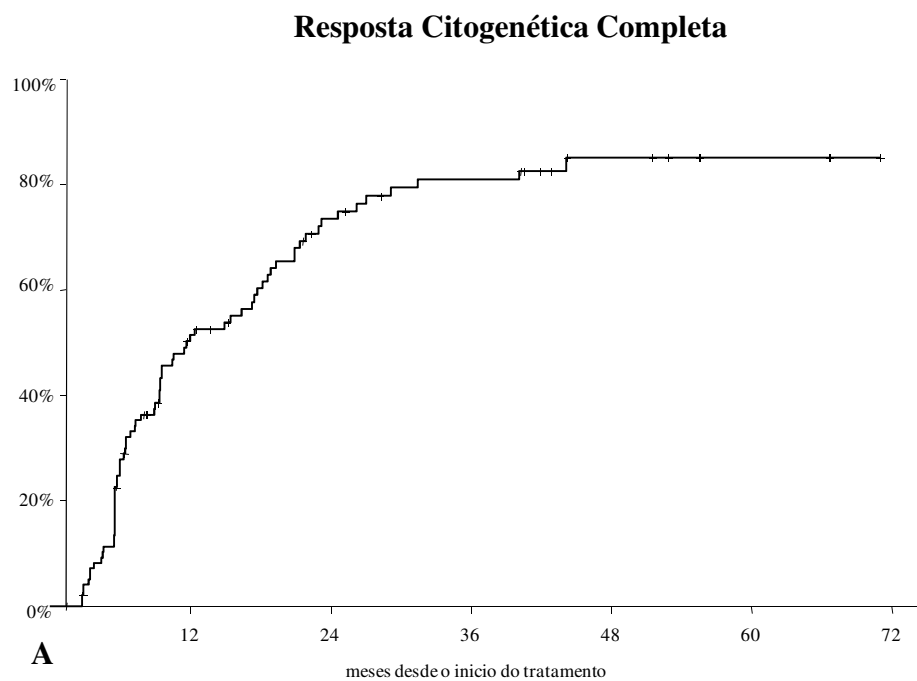


Figura 15. Taxas de resposta citogenética completa (A) (n= 72) e de resposta citogenética completa ou parcial (B) (n= 83) de pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce durante terapêutica com mesilato de imatinibe

Resposta Molecular Completa ou Maior

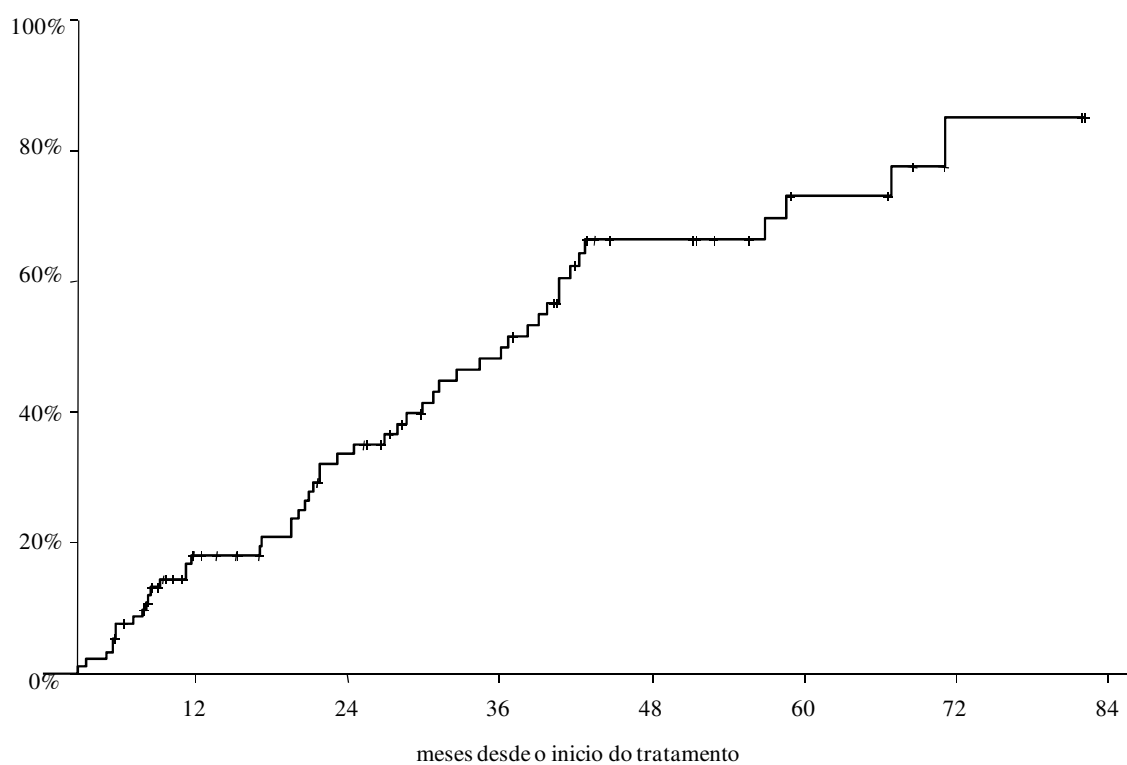


Figura 16. Taxas de resposta molecular completa (n= 26) ou maior (n= 24) de 93 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce que puderam ser avaliados durante terapêutica com mesilato de imatinibe

1.3. Toxicidade do mesilato de imatinibe

Dezenove (19%) de 100 pacientes apresentaram toxicidade ao MI (**Tabela 9**).

Os eventos adversos hematológicos observados foram neutropenia e plaquetopenia. Já os eventos não-hematológicos mais frequentes foram diarreia, erupção cutânea e alteração hepática associada ou não a lesões de pele. Com exceção da ocorrência de diarreia (grau 2) em dois pacientes, a toxicidade atribuída ao MI foi predominantemente graus 3 e 4.

Tabela 9. Perfil de toxicidade do mesilato de imatinibe em leucemia mielóide crônica

Toxicidade	Número de pacientes (%)
Presente	19 (100)
Hematológica	10 (10)
Neutropenia	05 (05)
Plaquetopenia	05 (05)
Não hematológica	09 (100)
Cutânea	03 (03)
Diarreia e cutânea	01 (01)
Hepática e cutânea	05 (05)
Grau de toxicidade	100 (100)
Sem toxicidade	81 (81)
≤ 2	02 (2)
3 e 4	17 (17)

Vinte e quatro (24%) dos 100 pacientes analisados necessitaram redução de dose, suspensão temporária ou troca do MI por inibidor de tirosina quinase de segunda geração no decorrer do estudo devido à resistência primária ($n= 5$) ou toxicidade ($n= 19$) ao medicamento. Quatro indivíduos conseguiram retornar com o MI dando prosseguimento ao estudo. Aqueles que necessitaram trocar a medicação foram censurados da análise.

Não observamos associação estatisticamente significativa entre o tipo e o grau de toxicidade em relação ao tempo (± 12 meses) para obtenção da RCP e RCC ($P=0,423$). Já para RMM e RMC observamos associação significativa ($P=0,012$), sendo que os pacientes que apresentaram toxicidade ao MI alcançaram a RMC tardiamente.

1.4. Sobrevida livre de progressão

Ao término do estudo (92 meses), 94% dos pacientes estavam vivos e livres de progressão da doença (**Figura 17**).

Seis pacientes (6%) faleceram durante o período de avaliação sendo dois deles por causas não relacionada à doença de base, (sangramento do trato gastrointestinal e assassinato), três por progressão da doença para CB e um paciente devido à falência hepática.

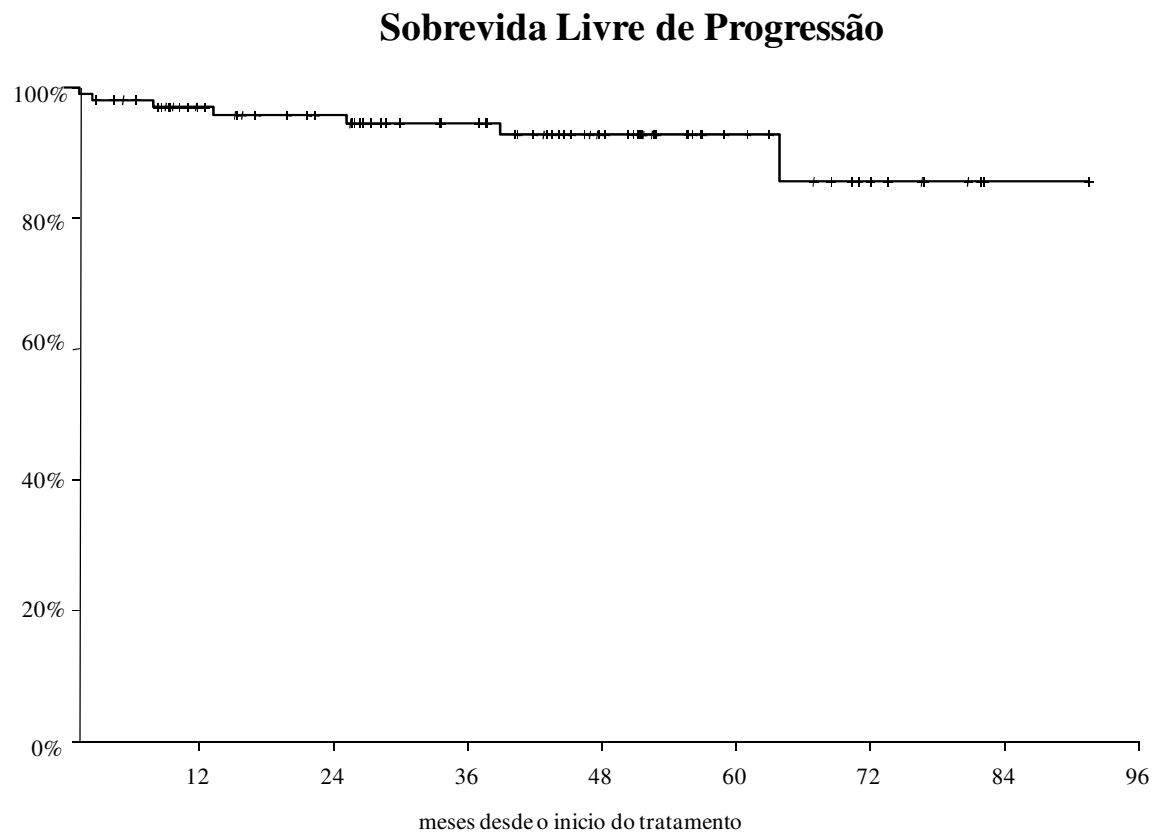


Figura 17. Taxas de sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

SLP similares foram identificadas em pacientes estratificados pelos índices de Sokal isolados e agrupados. SLP de 84% em 82 meses, 97% em 82 meses e 83% em 92 meses caracterizaram os grupos de pacientes de baixo, intermediário e alto riscos, respectivamente ($P= 0,207$) (**Figura 18**). As SLP de 84% em 82 meses e 90% em 92 meses caracterizaram pacientes com baixo risco e riscos intermediário+alto ($P= 0,463$). Já as SLP de 88% em 82 meses e 83% em 92 meses caracterizaram pacientes com baixo riscos+intermediário e alto risco ($P= 0,9$) (**Figura 19**). Durações similares de SLP foram também observadas em pacientes estratificados por índices de Sokal isolados ou agrupados (**Tabela 10**).

Similares SLP foram também identificadas em pacientes estratificados pelos índices de Hasford isolados e agrupados. SLP de 85% em 82 meses, de 91% em 92 meses e de 90% em 71 meses caracterizaram pacientes de risco, intermediário e alto riscos, respectivamente ($P=0,9$) (**Figura 20**). As SLP de 85% em 82 meses e 91% em 92 meses caracterizaram pacientes com baixo risco e riscos intermediário+alto ($P= 0,654$). Já as SLP de 85% em 92 meses e 90% em 71 meses foram observadas em pacientes com riscos baixo+intermediário e alto risco, respectivamente ($P=0,796$). (**Figura 21**). Durações similares de SLP foram também observadas em pacientes estratificados por índices de Hasford isolados ou agrupados (**Tabela 11**).

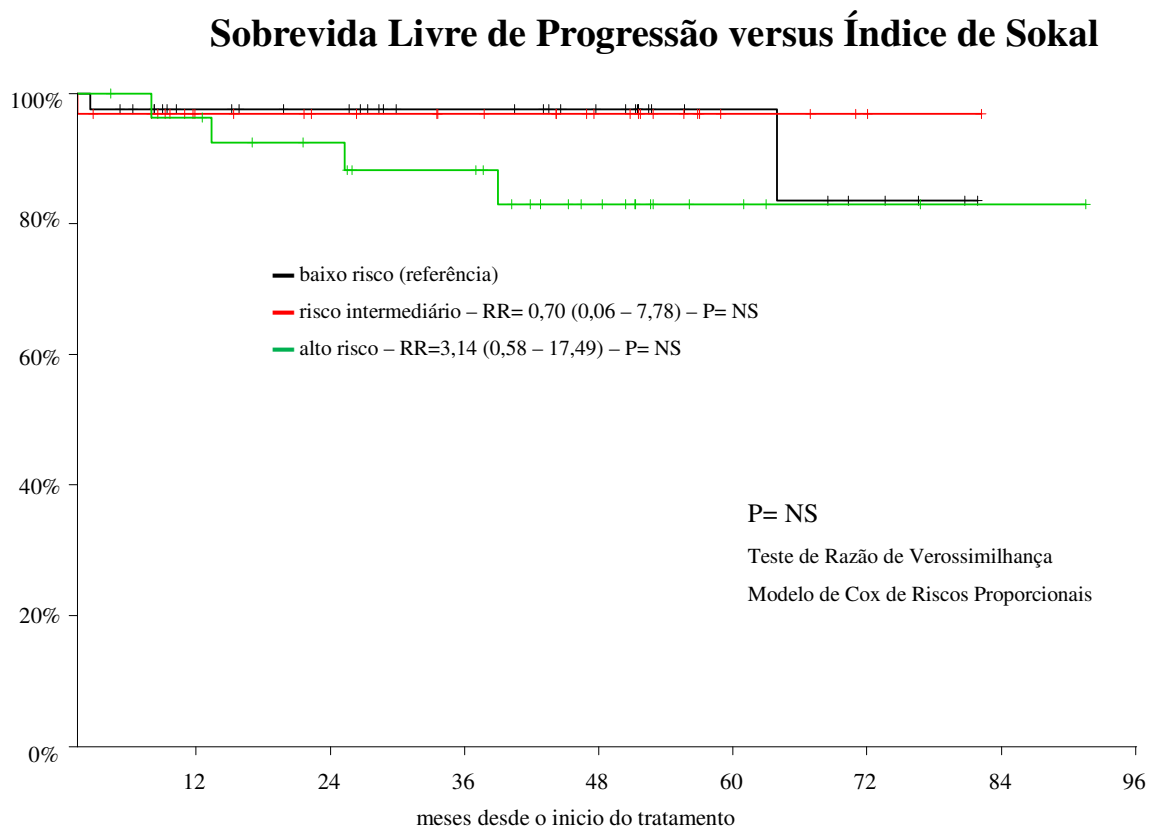


Figura 18. Taxas de sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados pelos índices de Sokal baixo (—) (n= 40), intermediário (—) (n= 32) e alto (—) (n= 28), durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

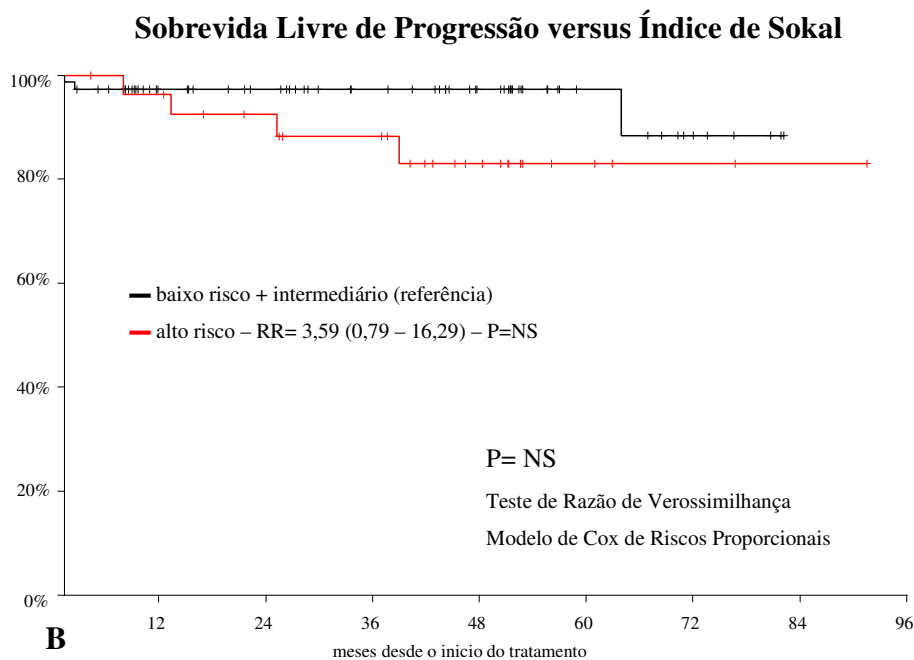
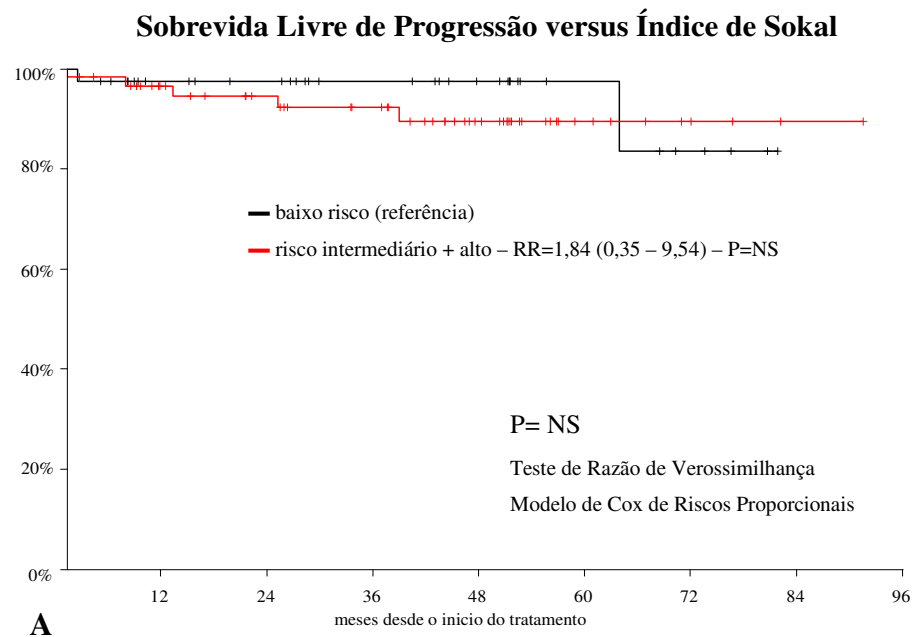


Figura 19. Taxas de sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados pelos índices de Sokal (A) baixo (—) (n= 40) *versus* intermediário e alto (—) (n= 60) e (B) baixo e intermediário (—) (n= 72) *versus* alto (—) (n= 28), durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

Tabela 10. Duração da sobrevida livre de progressão de pacientes com leucemia mielóide crônica estratificados por índices de Sokal

Índice de Sokal	N	Eventos (progressão ou óbito)	Duração SLP (mediana em meses)
Baixo	40 (100)	2	43
Intermediário	32 (100)	1	41
Alto	28 (100)	4	42
Baixo	40 (100)	2	43
Intermediário+alto	60 (100)	5	42
Baixo+intermediário	72 (100)	3	43
Alto	28 (100)	4	42

N, número de casos; **SLP**, sobrevida livre de progressão. A **SLP** consiste no tempo decorrido entre o início do tratamento e a progressão da doença ou morte por quaisquer causas.

Sobrevida Livre de Progressão versus Índice de Hasford

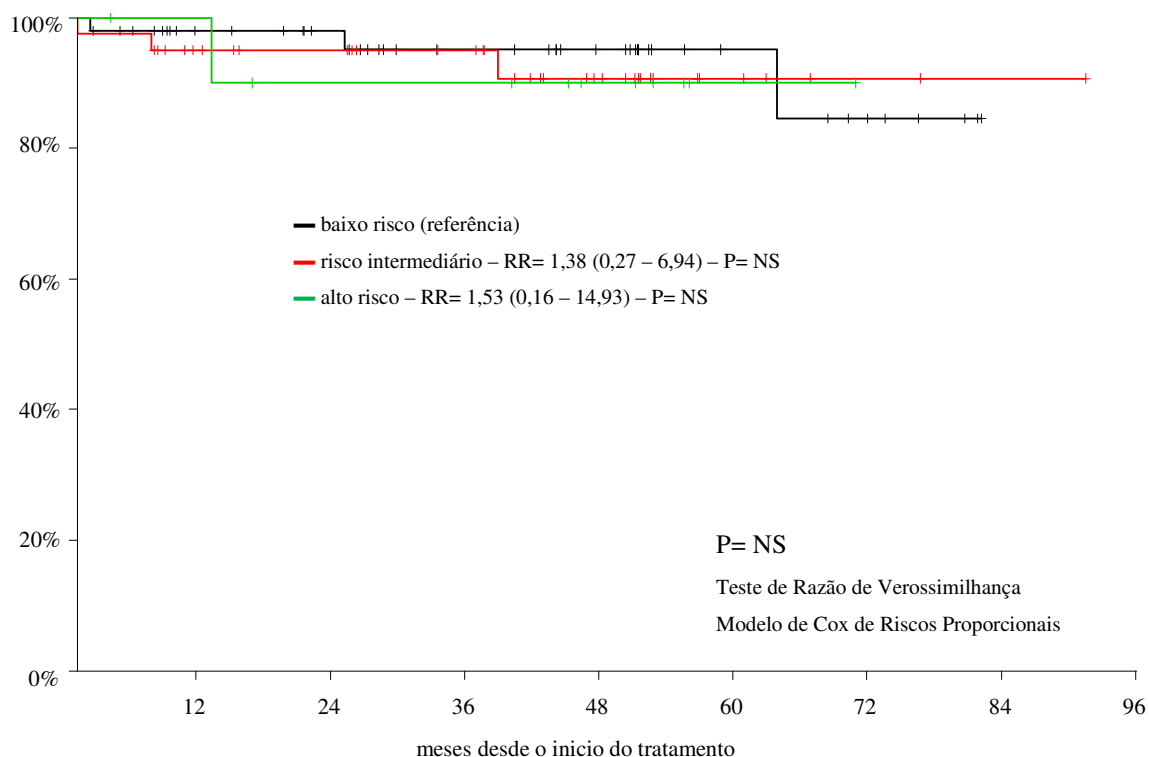
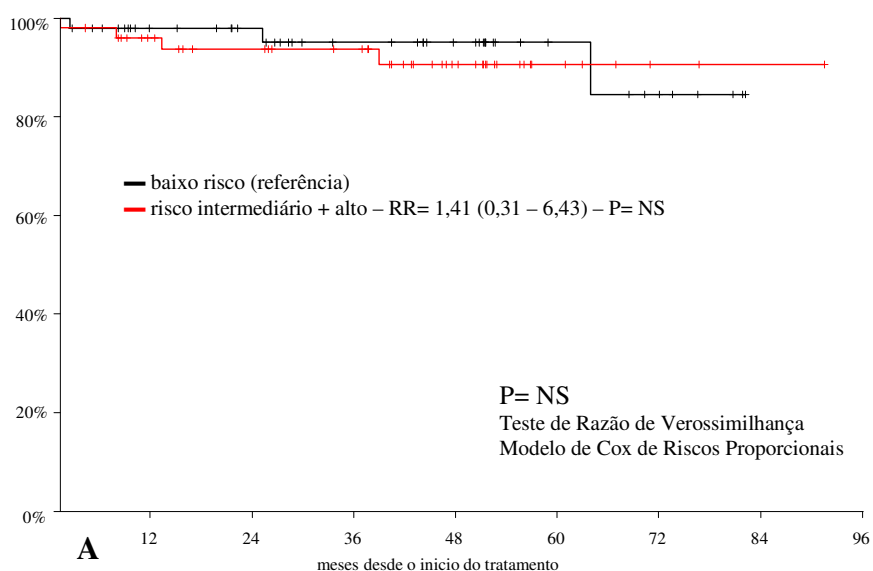


Figura 20. Taxas de sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados pelos índices de Hasford baixo (—) (n= 49), intermediário (—) (n=40) e alto (—) (n= 11), durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

Sobrevida Livre de Progressão versus Índice de Hasford



Sobrevida Livre de Progressão versus Índice de Hasford

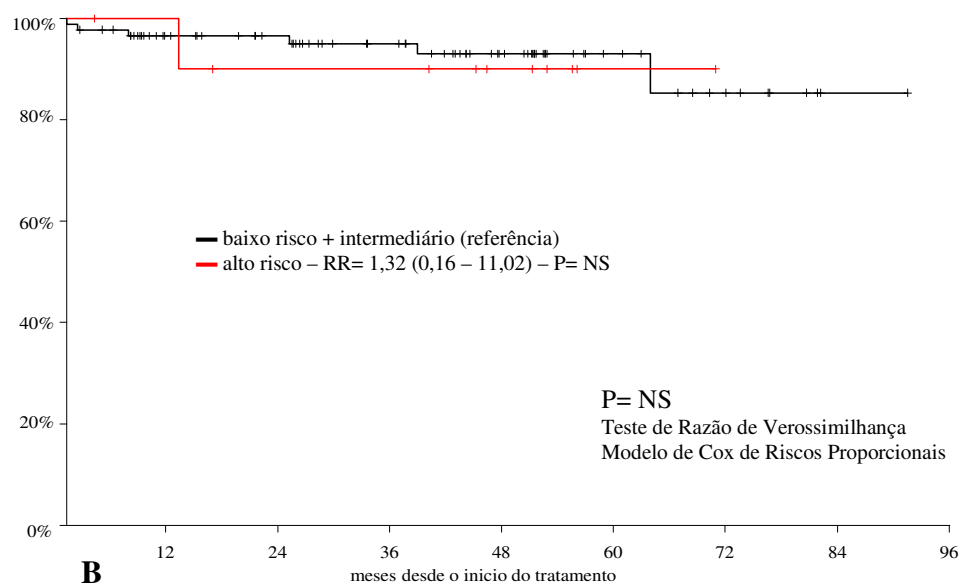


Figura 21. Taxas de sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados pelos índices de Hasford (A) baixo (—) (n= 49) *versus* intermediário e alto (—) (n=51) e (B) baixo e intermediário (—) (n= 89) *versus* alto (—) (n= 11), durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

Tabela 11. Duração da sobrevida livre de progressão de pacientes com leucemia mielóide crônica estratificados por índices de Hasford

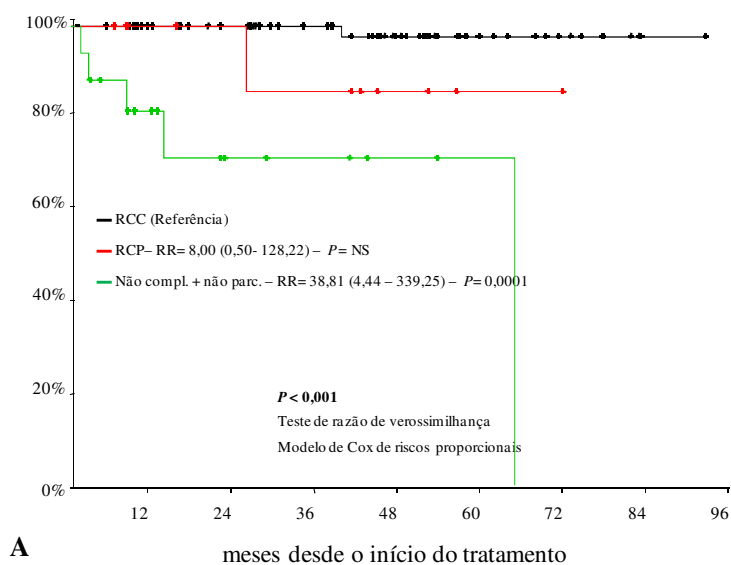
Índice de Hasford	N	Eventos (SLP ou óbito)	Duração SLP (mediana em meses)
Baixo	49 (100)	3	44
Intermediário	40 (100)	3	41
Alto	11 (100)	1	46
Baixo	49 (100)	3	44
Intermediário+alto	51 (100)	4	43
Baixo+intermediário	89 (100)	6	42
Alto	11 (100)	1	46

N, número de casos; **SLP**, sobrevida livre de progressão. A SLP consiste no tempo decorrido entre o início do tratamento e a progressão da doença ou morte por quaisquer causas.

Observamos que pacientes que alcançaram RCC e RCP apresentaram maior SLP quando comparados aos demais. SLP de 98% em 92 meses, 86% em 71 meses e 0% em 64 meses caracterizaram os grupos de pacientes com RCC, RCP e os que não alcançaram resposta citogenética ou que alcançaram outras respostas citogenéticas, respectivamente ($P \leq 0,001$). Já SLP de 98% em 92 meses e 38% em 71 meses foram observadas em pacientes que obtiveram RCC e os demais, respectivamente ($P \leq 0,001$) (**Figura 22**).

A SLP foi também maior em pacientes que obtiveram RMC e RMM do que naqueles que não alcançaram resposta molecular. SLP de 95% em 81 meses, 100% em 92 meses e 70% em 82 meses caracterizaram os grupos de pacientes com RMC, RMM e os que não alcançaram resposta molecular, respectivamente ($P = 0,062$). Já SLP de 97% em 92 meses e 70% em 82 meses foram observadas em pacientes que obtiveram RMC+RMM e os pacientes que não conseguiram a resposta molecular, respectivamente ($P = 0,021$) (**Figura 23**).

Sobrevida Livre de Progressão *versus* Resposta Citogenética



Sobrevida Livre de Progressão *versus* Resposta Citogenética

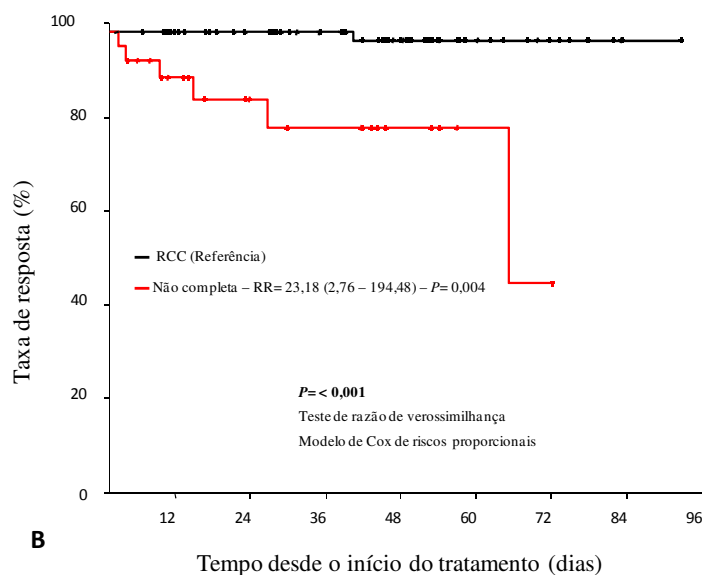


Figura 22. Taxas de sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por resposta citogenética (A) completa (—) (n= 72), parcial (—) (n= 11) ou sem resposta citogenética (—) (n= 17) e (B) completa (—) (n= 72) *versus* (—) não completa (n= 28), durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

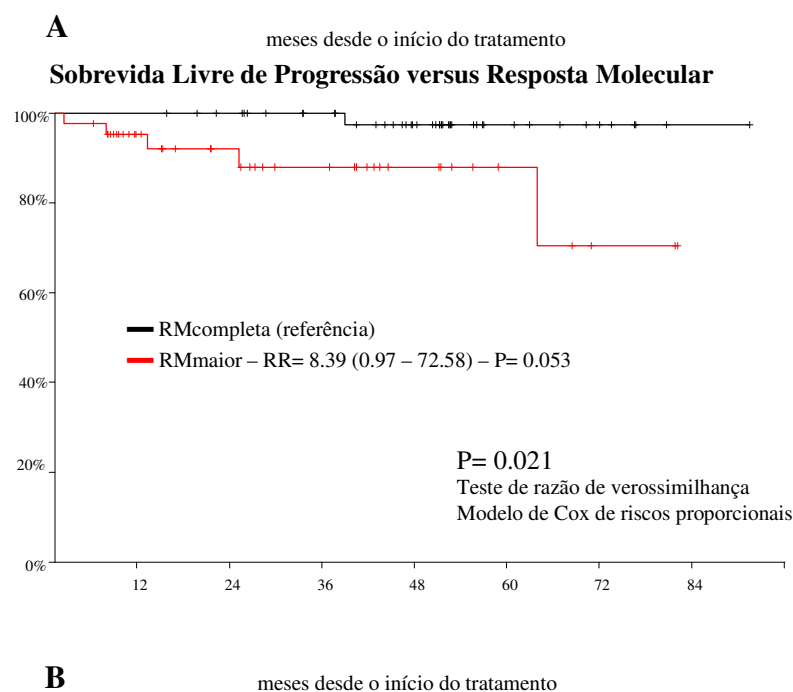
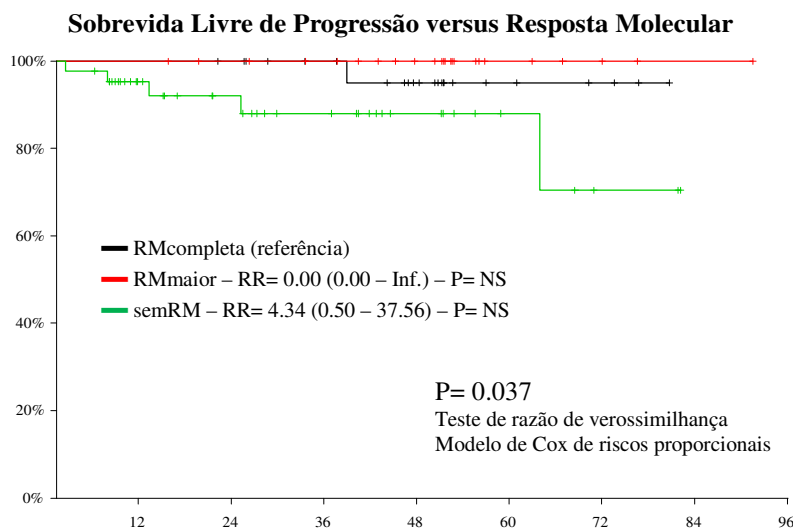


Figura 23. Taxas de sobrevida livre de progressão de 93 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce estratificados por resposta molecular (**A**) completa (—) (n= 26), maior (—) (n= 24) e sem resposta molecular (—) (n= 43) e (**B**) completa e maior (—) (n= 50) *versus* (—) sem resposta (n= 43), durante terapêutica com mesilato de imatinibe. Sete pacientes inseridos no estudo não foram avaliados quanto a resposta molecular e não foram representados nesta figura.

1.5. Sobrevida global

Ao término do estudo (92 meses), 94 dos nossos pacientes estavam vivos (**Figura 24**).

Similares SG foram identificadas em pacientes estratificados pelos índices de Sokal isolados e agrupados. SG de 97% em 82 meses, 97% em 82 meses e 90% em 92 meses, caracterizaram grupos de pacientes de baixo, intermediário e alto riscos, respectivamente ($P=0,652$). SG 97% em 82 meses e 93% em 92 meses foram observados em pacientes de baixo risco e em pacientes com riscos intermediário+alto, respectivamente ($P=0,524$). Já as SG de 97% em 82 meses e 90% em 92 meses foram observadas em pacientes de riscos baixo+ intermediário e em pacientes de alto risco, respectivamente ($P=0,365$). Durações similares de SG foram também observadas em pacientes dos três grupos isolados de índices de Sokal (**Tabela 12**).

Foram também similares as SG identificadas em pacientes estratificados pelos índices de Hasford isolados e agrupados. SG de 95% em 82 meses, 93% em 92 meses e 100% em 71 meses, caracterizaram grupos de pacientes de baixo, intermediário e alto riscos, respectivamente ($P=0,752$). SG 95% em 82 meses e 95% em 92 meses foram observados em pacientes de baixo risco e em pacientes com riscos intermediário+alto, respectivamente ($P=0,938$). Já as SG de 94% em 92 meses e 100% em 71 meses foram observados em pacientes de riscos baixo risco+intermediário e em pacientes de alto risco, respectivamente ($P=0,465$). Durações similares de SG foram também observadas em pacientes dos três grupos isolados de índices de Hasford (**Tabela 13**).

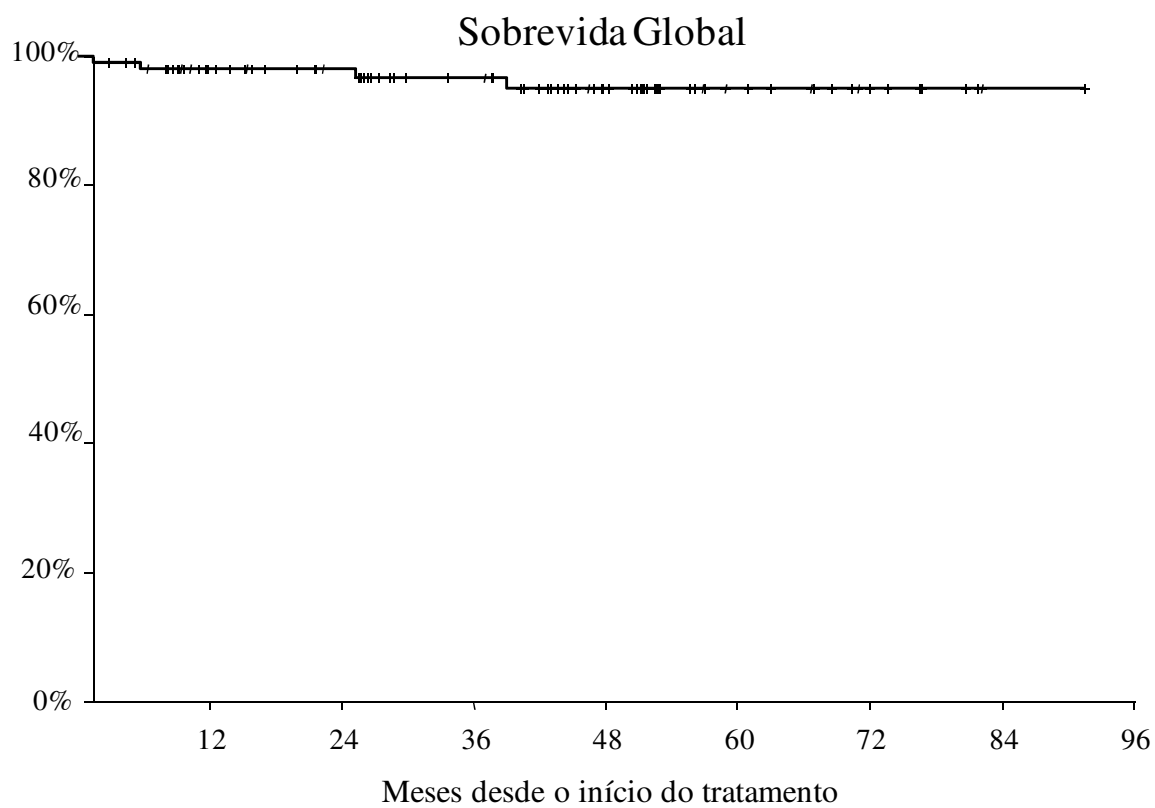


Figura 24. Taxa de sobrevida global dos 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

Tabela 12. Duração da sobrevida global de pacientes com leucemia mielóide crônica estratificados por índices de Sokal

Índice Sokal	N	Eventos (Óbito)	Duração SG (mediana em meses)
Baixo	40 (100)	1	43
Intermediário	32 (100)	1	41
Alto risco	28 (100)	2	42
Baixo risco	40 (100)	1	43
Intermediário e alto	60 (100)	3	42
Baixo e intermediário	72 (100)	2	43
Alto risco	28 (100)	2	42

N, número de casos; **SG**, sobrevida global. A SG consiste no tempo decorrido entre o diagnóstico e o óbito por quaisquer causas ou data da última avaliação clínica

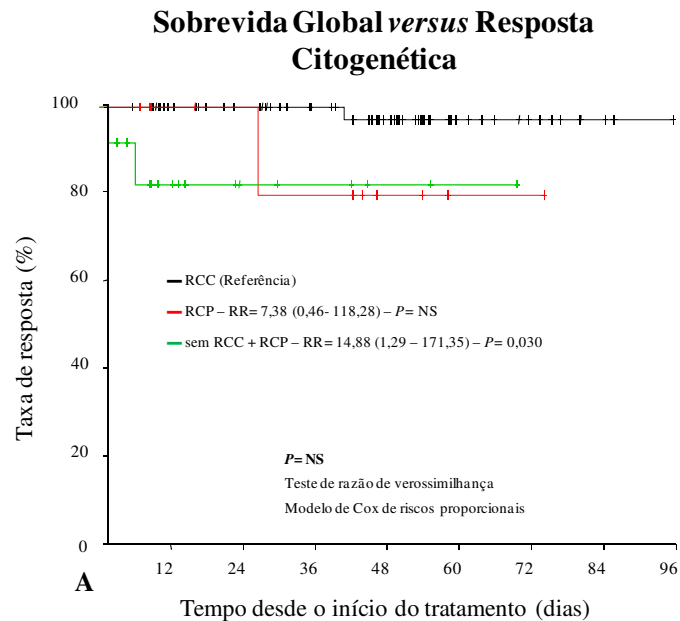
Tabela 13. Duração da sobrevida global de pacientes com leucemia mielóide crônica estratificados por índices de Hasford

Índice Hasford	N	Eventos (Óbito)	Tempo final (meses)
Baixo	49 (100)	2	44
Intermediário	40 (100)	2	41
Alto risco	11 (100)	0	46
Baixo risco	49 (100)	2	44
Intermediário e alto	51 (100)	2	43
Baixo e intermediário	89 (100)	4	42
Alto risco	11 (100)	0	46

N, número de casos; **SG**, sobrevida global. A SG consiste no tempo decorrido entre o diagnóstico e o óbito por quaisquer causas ou data da última avaliação clínica

Observamos que pacientes que alcançaram RCC e RCP apresentaram maior SG do que os demais. SG de 98% em 92 meses, 86% em 71 meses e 87% em 67 meses caracterizaram os grupos de pacientes com RCC, RCP e os que não alcançaram resposta citogenética ou que alcançaram outras respostas citogenéticas, respectivamente ($P=0,158$). Já SG de 98% em 92 meses e 85% em 71 meses foram observadas em pacientes que obtiveram RCC e os demais, respectivamente ($P=0,039$) (**Figura 25**).

A SG foi também maior em pacientes que obtiveram RMC e em pacientes que obtiveram RMM do que naqueles que não alcançaram resposta molecular. SG de 95% em 81 meses, 100% em 92 meses e 93% em 82 meses foram observadas em pacientes que obtiveram RMC, RMM e nos demais, respectivamente ($P=0,422$). Entretanto, foram similares as SG dos pacientes que alcançaram RMC e RMM (97% em 92 meses) comparados aos demais (93% em 82 meses) ($P=0,264$) (**Figura 26**).



Sobrevida Global *versus* Resposta Citogenética

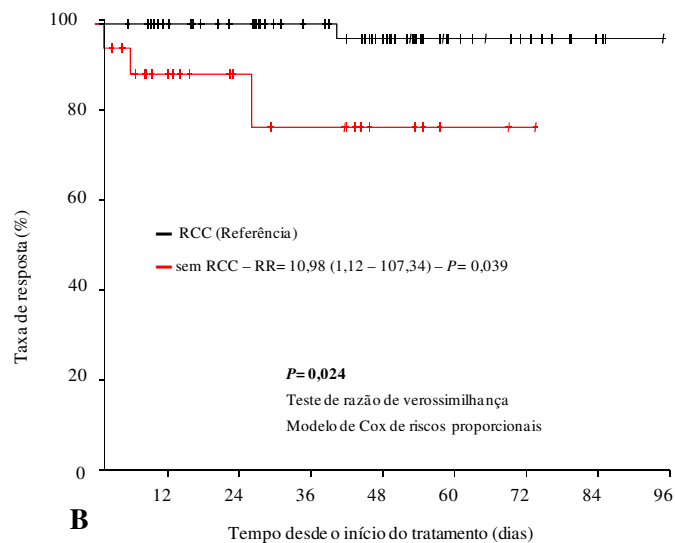
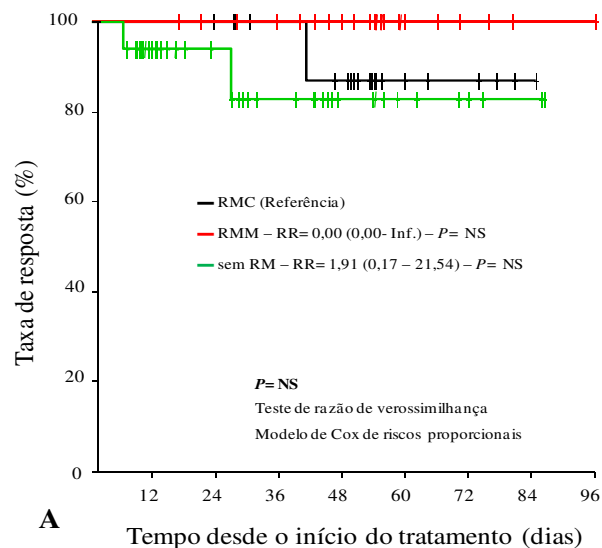


Figura 25. Taxas de sobrevida global de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce estratificados por resposta citogenética **(A)** completa (—) (n= 72), parcial (—) (n= 11) ou sem de resposta citogenética (—) (n= 17) e **(B)** completa (—) (n=72) *versus* não completa (—) (n=28), durante terapêutica com mesilato de imatinibe

Sobrevida Global *versus* Resposta Molecular



Sobrevida Global *versus* Resposta Molecular

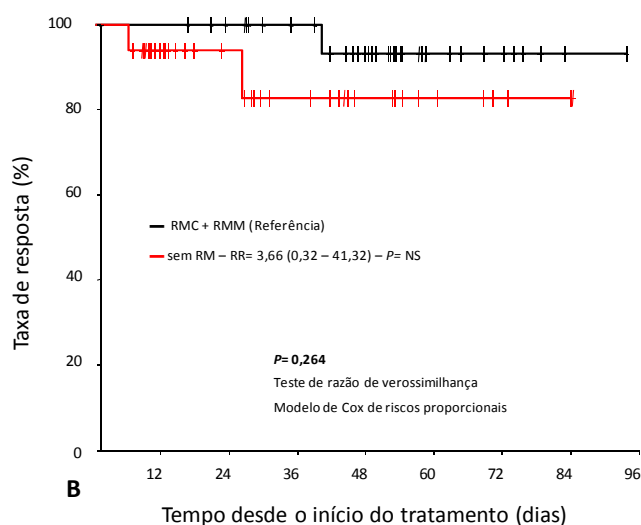


Figura 26. Taxas de sobrevida global de 93 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce estratificados por resposta molecular **(A)** completa (—) (n= 26), maior (—) (n= 24) ou sem resposta molecular (—) (n= 43) e **(B)** completa e maior (—) (n= 50) *versus* (—) (n= 43) durante terapêutica com mesilato de imatinibe. Sete pacientes inseridos no estudo não foram avaliados quanto a resposta molecular e não foram representados nesta figura.

2. Pacientes estratificados por genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-290G

2.1. Polimorfismo *CYP3A4* A-290G e aspectos clínicos

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências dos genótipos AA (metabolizador rápido), AG (metabolizador intermediário) e GG (metabolizador lento) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G em pacientes estratificados por idade, sexo e raça (**Tabela 14**), índices hematimétricos (**Tabela 15**) e índices de Sokal (**Tabela 16**) e de Hasford (**Tabela 17**).

Tabela 14. Genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-290G em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica e aspectos clínicos

Variável	Genótipos isolados				Genótipos combinados					
	AA	AG	GG	Valor	AA+AG	GG	Valor	AA	AG+GG	Valor
	70(70%)	13(13%)	17 (17%)	P	83(83%)	17 (17%)	P	70 (70%)	30(30%)	P
Idade										
Mediana	46,5	53,3	50,5	0,26	47,0	50,5	0,14	46,5	50,4	0,05
(variação)	(17,9-73,5)	(21,3-24,5)	(24,5-79,3)		(17,9-24,5)	(24,5-79,3)		(17,9-73,5)	(21,3-80,5)	
< 65 anos	62	9	14	0,17	71	14	0,72	62	23	0,14
≥ 65 anos	8	4	3		12	3		8	7	
OR (IC 95%)	3,38 (0,62-16,22)				1,26 (0,2-5,6)			2,34 (0,64-8,35)		
Sexo										
Masculino	37	8	9	0,91	45	9	1,00	37	17	0,83
Feminino	33	5	8		38	8		33	13	
OR (IC 95%)	0,7 (0,16-2,73)				1,05 (0,32-3,42)			0,86 (0,33-2,2)		
Raça										
Caucasóide	84	61	9	14	70	9		84	23	
Negróide	16	9	4	3	13	4		1	7	
OR (IC 95%)										

n, número de casos; **AA**, genótipo selvagem (metabolizador rápido); **AG**, genótipo heterozigoto (metabolizador intermediário); **GG**, genótipo variante (metabolizador lento); **OR**, razão das chances; *, ajustada por idade, sexo e raça; **IC 95%**, intervalo de confiança de 95%. Testes de Wilcoxon, Fisher e Kruskal-Wallis.

Tabela 15. Genótipos do polimorfismo A-290G do gene *CYP3A4* em 100 pacientes estratificados por índices hematimétricos

Variável	n	Genótipos isolados			Genótipos combinados	
		AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	AA+AG n (%)	AG+GG n (%)
Hemoglobina (g/dL)						
Mediana (variação)	100	11,5 (5,9-15,7)	12,5 (1,02-15,3)	11,6 (5,1-15,8)	12 (5,9-15,7)	11,9 (5,1-15,8)
< 12	63	45 (71,4)	6 (9,5)	12 (19,0)	51 (81,0)	18 (28,6)
≥ 12	37	25 (67,56)	7 (18,9)	5 (13,5)	32 (86,4)	12 (32,4)
P valor			0,22		0,17	0,36
Leucócitos (x10 ⁹ /L)						
Mediana (variação)	10	111,75 (6,6-659,0)	94,4 (27,7-275,0)	113,8 (26,9-483,6)	111,2 (6,6-659,0)	106,2 (26,9-483,6)
< 10x10 ⁹	44	30 (68,2)	8 (18,2)	8 (18,2)	38 (86,4)	16 (36,4)
≥10x10 ⁹	56	40 (71,4)	6 (10,7)	10 (17,9)	46 (10,7)	16 (28,6)
P valor			0,74		0,29	0,50
Plaquetas (x10 ⁹ /L)						
Mediana (variação)	100	377,5 (111,9-1163,0)	431 (129,0-1268,0)	355 (141,0-1179,0)	378 (11,9-1268,0)	373 (129,0-1268,0)
< 450.000	63	44 (69,84)	8 (61,53)	10 (58,82)	52 (82,5)	19 (30,15)
≥ 450.000	37	26 (41,26)	5 (38,46)	7 (41,17)	31 (49,20)	11 (17,46)
P valor			0,93		0,47	0,59

n, número de casos; **AA**, genótipo selvagem (rápido); **AG**, genótipo heterozigoto (intermediário); **GG**, genótipo variante (lento).

Tabela 16. Genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-290G em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica e índices de Sokal

Índice Sokal	Genótipos isolados			Valor <i>P</i>
	AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	
Baixo	30	5	5	0,15
Intermediário	23	6	3	
Alto	17	2	9	
Baixo	30	5	5	0,63
Intermediário e alto	40	8	12	
OR* (IC 95%)				
Baixo e intermediário	53	11	8	0,05
Alto	17	2	9	
OR* (IC 95%)				

n, número de casos; **AA**, genótipo selvagem (metabolizador rápido); **AG**, genótipo heterozigoto (metabolizador intermediário); **GG**, genótipo variante (metabolizador lento); **OR**, razão das chances; *, ajustada por idade, sexo e raça; **IC 95%**, intervalo de confiança de 95%. Testes de Wilcoxon, Fisher e Kruskal-Wallis.

Tabela 17. Genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-290G em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica e índices de Hasford

Índice Hasford	Genótipos isolados			Valor <i>P</i>
	AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	
Baixo	39	7	4	0,14
Intermediário	26	5	9	
Alto	6	1	4	
Baixo	38	7	4	0,07
Intermediário e alto	32	6	13	
OR* (IC 95%)				
Baixo e intermediário	64	12	13	0,17
Alto	6	1	4	
OR* (IC 95%)				

n, número de casos; **AA**, genótipo selvagem (metabolizador rápido); **AG**, genótipo heterozigoto (metabolizador intermediário); **GG**, genótipo variante (metabolizador lento); **OR**, razão das chances; *, ajustada por idade, sexo e raça; **IC 95%**, intervalo de confiança de 95%. Testes de Wilcoxon, Fisher e Kruskal-Wallis.

2.2. Polimorfismo *CYP3A4* A-290G e eficácia do mesilato de imatinibe

Dos 100 pacientes incluídos no estudo, 95 obtiveram RHC e cinco não puderam ser avaliados. Todos os pacientes com os genótipos AA, AG e GG, isolados e agrupados obtiveram RHC (**Figuras 27 e 28**). Os tempos necessários para obtenção de RHC em pacientes dos três grupos foram também similares (**Tabela 18**).

Nove pacientes (AA, n= 6; AG , n= 1; GG, n= 2) perderam RHC após duração mediana de 406 dias (variação: 62-938 dias). Destes, quatro (AA, n=3 e AG, n=1) progrediram para as fases avançadas da doença. Os demais conseguiram restabelecer a RHC após ajustes na dose do MI.

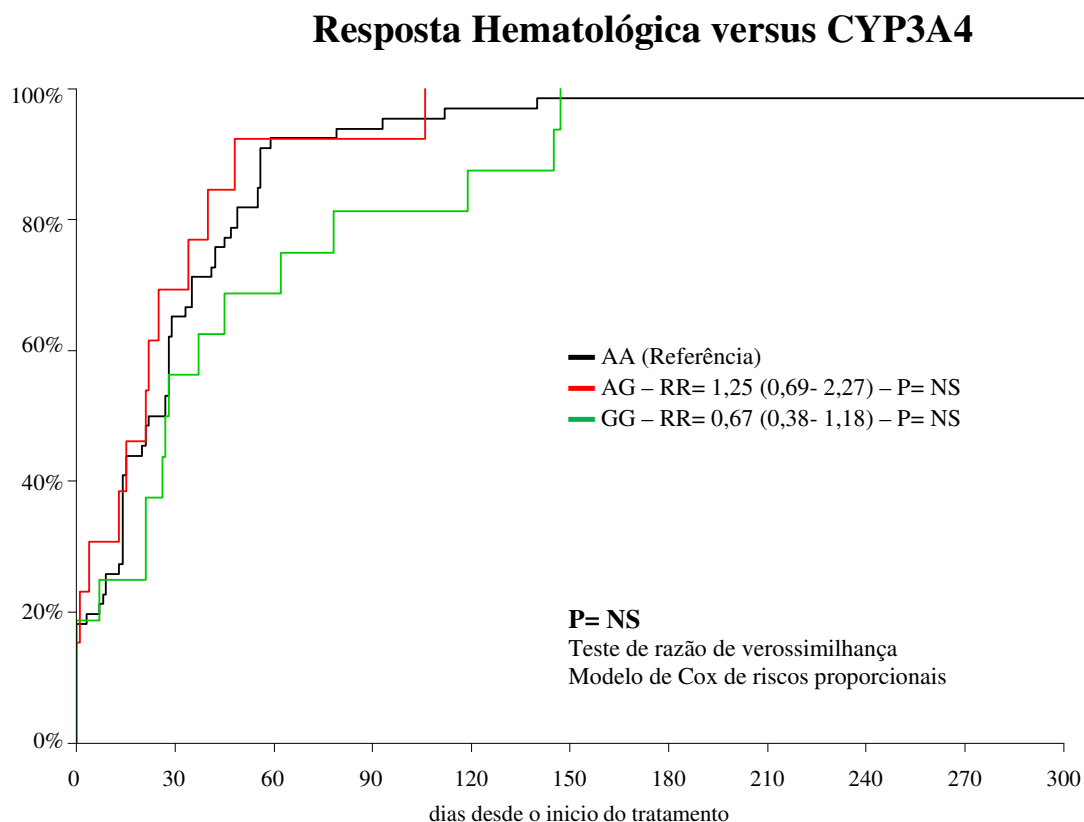


Figura 27. Taxas de resposta hematológica em 95 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoc, estratificados por genótipos homozigoto selvagem AA, (metabolizador normal) (—) (n= 66), heterozigoto AG (metabolizador intermediário) (—) (n= 13) e homozigoto variante GG (metabolizador lento) (—) (n= 16) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe. Cinco pacientes inseridos no estudo não foram avaliados quanto a resposta hematológica e não foram representados nesta figura.

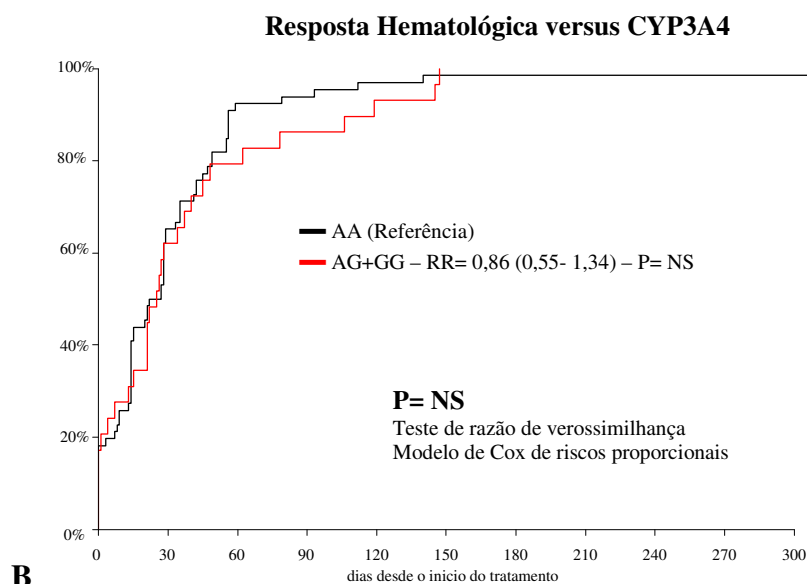
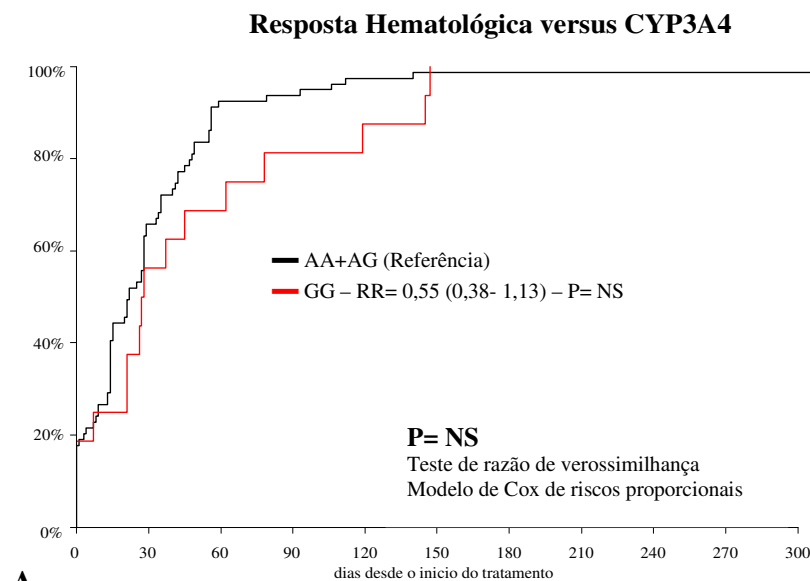


Figura 28. Taxas de resposta hematológica em 95 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos (A) homozigoto selvagem AA e heterozigoto AG (—) (n= 79) *versus* homozigoto variante GG (—) (n= 16) e (B) homozigoto selvagem AA (—) (n= 66) *versus* heterozigoto AG e homozigoto variante GG (—) (n= 29) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe. Cinco pacientes inseridos no estudo não foram avaliados quanto a resposta hemaológica e não foram representados nesta figura.

Tabela 18. Genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-290G em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica e tempo para alcançar resposta hematológica.

Genótipo	N	Eventos	Tempo (mediana em dias)	Valor <i>P</i>
AA	66	66	25	referência
AG	13	13	21	0,47
GG	16	16	28	0,17
AA+AG	79	79	22	referência
GG	16	16	28	0,13
AA	66	66	25	referência
AG+GG	29	29	25	0,50

N, número de casos; **AA**, genótipo selvagem (metabolizador normal); **AG**, genótipo heterozigoto (metabolizador intermediário); **GG**, genótipo variante (metabolizador lento); **RHC**, resposta hematológica completa; IC intervalo de confiança.

As taxas das respostas citogenética, molecular e toxicidades associadas ao polimorfismo *CYP3A4* -290A>G estão apresentados na **Figura 29**.

As RCC e RCP foram obtidas em 72 e 11 pacientes, respectivamente, com mediana de nove meses. Cinquenta e cinco pacientes obtiveram RCC ou RCP em período menor que 12 meses e vinte e oito pacientes em período maior ou igual a 12 meses.

Frequências similares de RCC foram observadas em pacientes estratificados pelos genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-209G, isolados e agrupados (**Figuras 30 e 31**). Frequências similares de RCC ou RCP foram observadas em pacientes estratificados pelos genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-209G, isolados e agrupados (**Figuras 32 e 33**).

Os tempos necessários para obtenção de RCC isolada e de RCC combinada a RCP em pacientes dos três grupos foram também similares (**Tabela 19**).

Dos pacientes que alcançaram resposta citogenética, cinco (AA, n= 4; GG, n= 1) perderam a RCC ou RCP após uma duração mediana de sete meses (variação: 5-26).

Proporções similares de pacientes estratificados pelos genótipos distintos do polimorfismo *CYP3A4* A-209G alcançaram resposta citogenética precoce antes e após doze meses (**Tabela 20**).

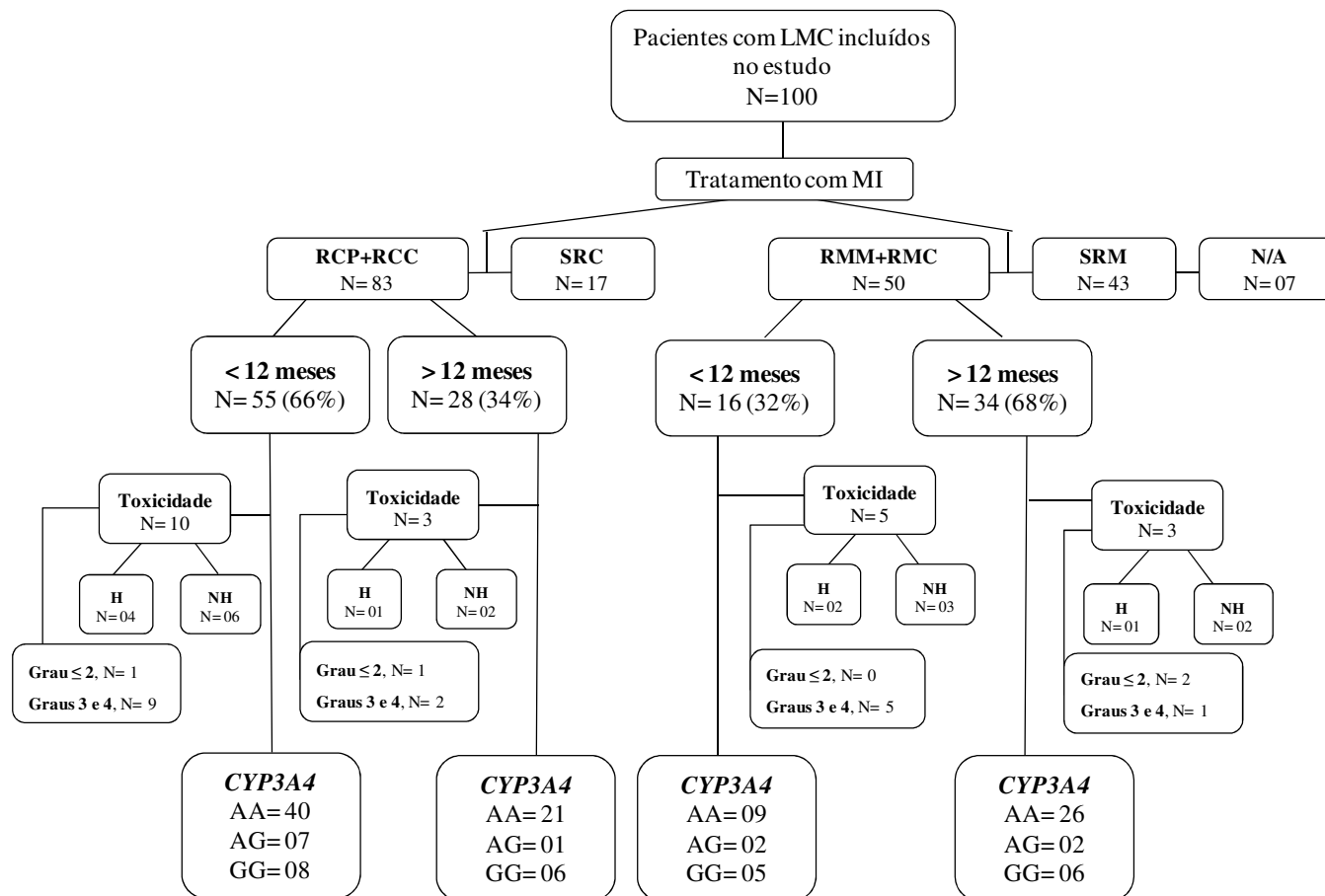


Figura 29. Diagrama de fluxo das taxas de respostas citogenética, molecular e toxicidades associadas ao polimorfismo *CYP3A4* A-290G. N, número de casos; AA, genótipo selvagem; AG, genótipo heterozigoto; GG, genótipo variante; RCC, resposta citogenética completa; RCP, resposta citogenética parcial; SRC, sem resposta citogenética RMM, resposta molecular maior; RMC, resposta molecular completa;; SRM, sem resposta molecular; H, hematológica; NH, não hematológica; N/A, não avaliado.

Resposta Citogenética Completa versus CYP3A4

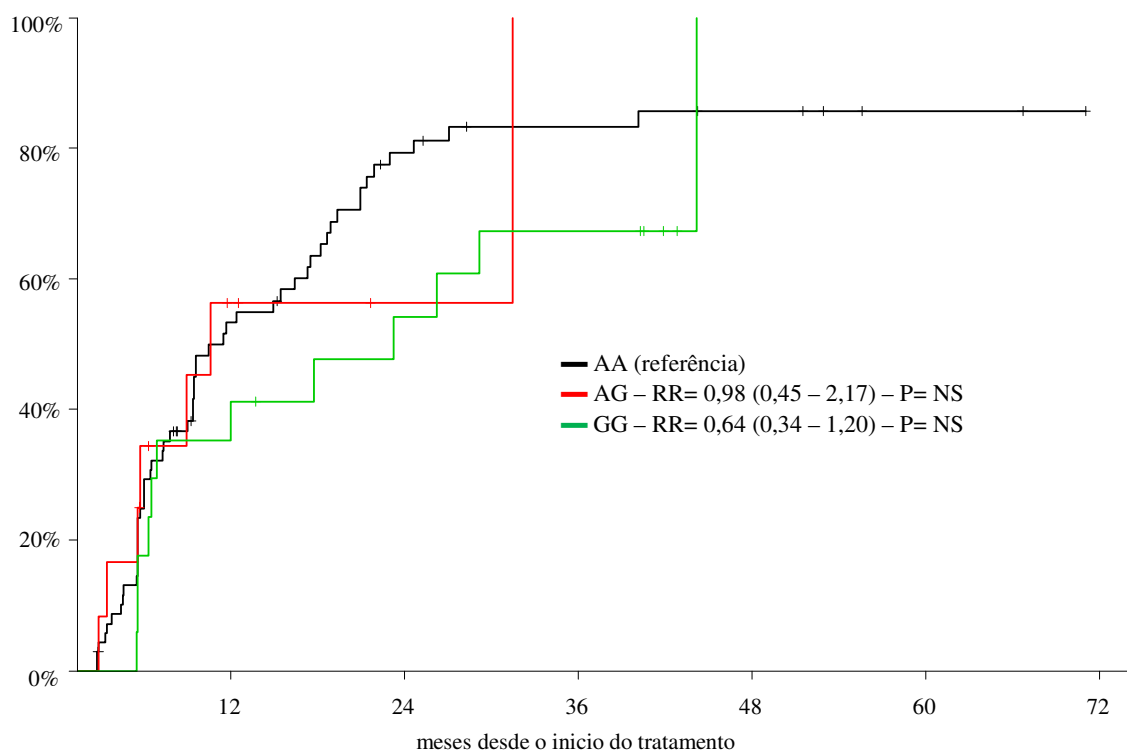
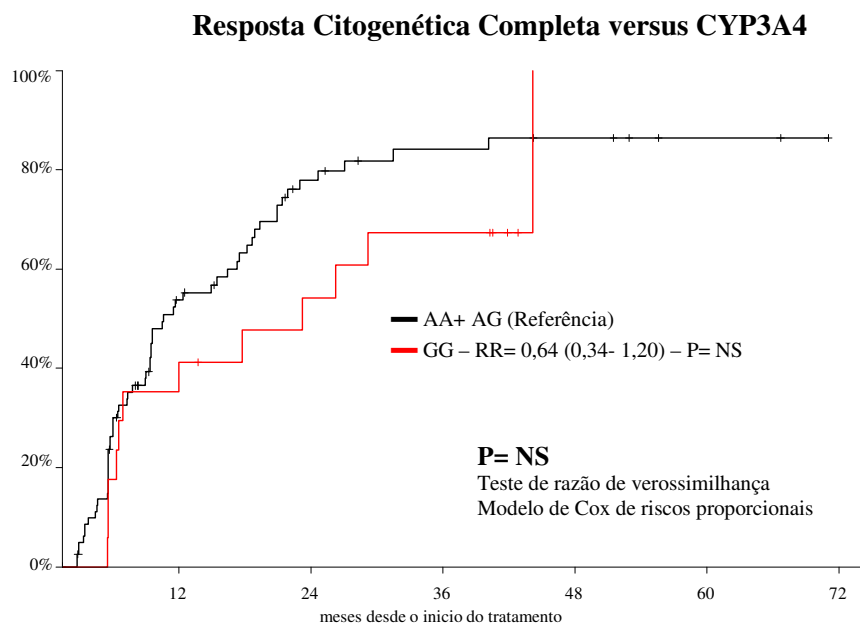
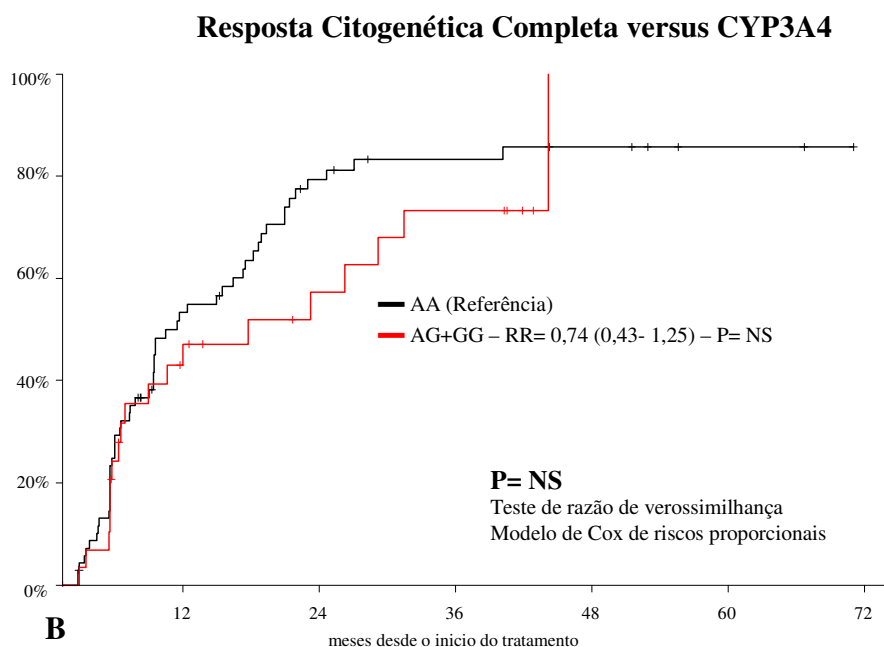


Figura 30. Taxas de resposta citogenética completa em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos homozigoto selvagem AA (metabolizador normal) (—) (n= 70), heterozigoto AG (metabolizador intermediário) (—) (n= 13) e homozigoto variante GG (metabolizador lento) (—) (n= 17) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.



A



B

Figura 31. Taxas de resposta citogenética completa em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipo (A) homozigoto selvagem (AA) e heterozigoto (AG) (—) (n= 83) *versus* homozigoto variante (GG) (—) (n= 17) e (B) homozigoto selvagem (AA) (—) (n= 70) *versus* heterozigoto e homozigoto variante (GG) (—) (n= 30) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

Resposta Citogenética Completa ou Parcial versus CYP3A4

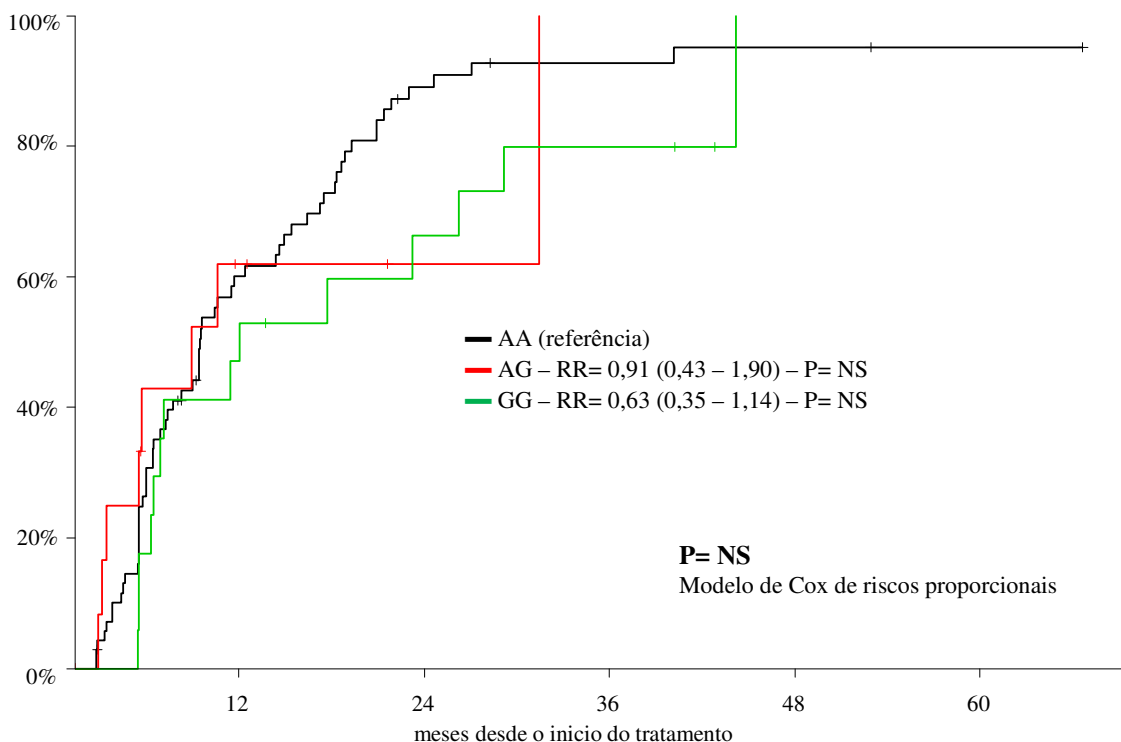
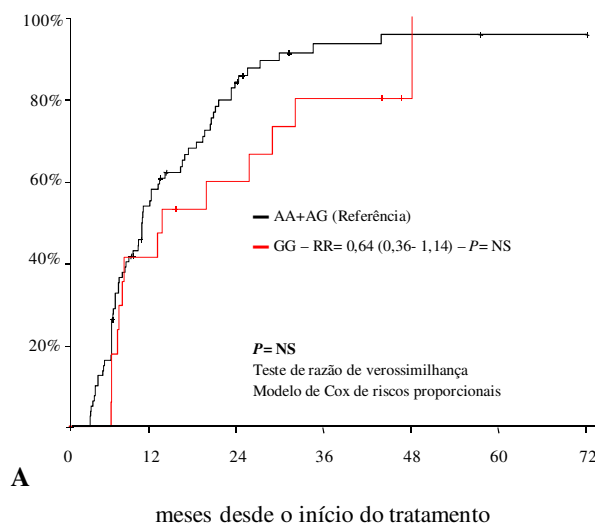


Figura 32. Taxas de resposta citogenética completa ou parcial em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos homozigoto selvagem AA (metabolizador normal) (—) (n= 70), heterozigoto AG (metabolizador intermediário) (—) (n=13) e homozigoto variante GG (metabolizador lento) (—) (n= 17) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

Resposta Citogenética Completa+Parcial *versus* CYP3A4 A-290G



Resposta Citogenética Completa+Parcial *versus* CYP3A4 A-290G

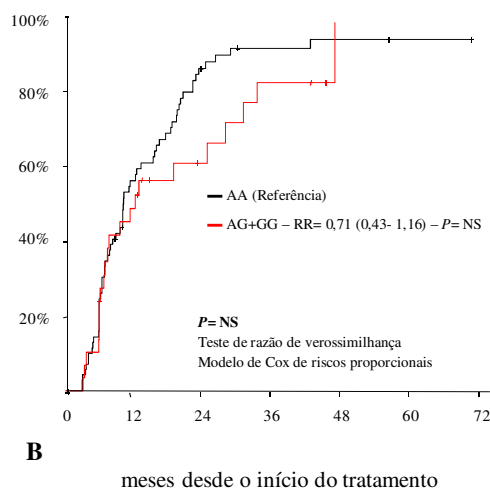


Figura 33. Taxas de resposta citogenética completa ou parcial em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos (A) homozigoto selvagem AA e heterozigoto AG (—) (n= 83) *versus* homozigoto variante GG (—) (n= 17) e (B) homozigoto selvagem AA (—) (n= 70) *versus* heterozigoto e homozigoto variante GG (—) (n= 30) do polimorfismo CYP3A4 A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

Tabela 19. Genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-290G em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica e tempo para alcançar resposta citogenética.

Genótipo	N total	Eventos (RCC)	Tempo RCC (mediana em meses)	Valor <i>P</i>	Eventos (RCC+RCP)	Tempo RCC+RCP (mediana em meses)	Valor <i>P</i>
AA	70	53	12	referência	61	9	referência
AG	13	7	11	0,97	8	9	0,79
GG	17	12	23	0,17	14	12	0,13
AA+AG	83	60	11	referência	69	9	referência
GG	17	12	23	0,16	14	12	0,13
AA	70	53	12	referência	61	9	referência
AG+GG	30	19	18	0,26	22	11	0,18

N, número de casos; **AA**, genótipo selvagem; **AG**, genótipo heterozigoto; **GG**, genótipo variante; **RCC**, resposta citogenética completa; **RCP**, resposta citogenética parcial.

Tabela 20. As proporções de respostas citogenética completa ou parcial obtidas em períodos menor ou maior ou igual a doze meses por pacientes estratificados por genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-290G

Genótipo	RCC + RCP < ou > 12 meses	OR (IC 95%)	Valor P
AA	40/21		
AG	07/01		0,37
GG	08/06		
AA+AG	47/22	1,59 (0,4-5,99)	0,54
GG	08/06		
AA	40/21	10,89 (0,26-2,78)	1,00
AG+GG	15/07		

AA, genótipo selvagem (metabolizador normal); **AG**, genótipo heterozigoto (metabolizador intermediário); **GG**, genótipo variante (metabolizador lento); **RCC**, resposta citogenética completa; **RCP**, resposta citogenética parcial; **OR**, razão das chances; **IC 95%**, intervalo de confiança de 95%. Critérios de reposta citogenética aos 12 meses: RCC (ausência de metáfases Ph+), RCP (1%-35% de metáfases Ph+) ou falha (não atingir Ph+> 35%).

Cinquenta dos nossos pacientes obtiveram resposta molecular, sendo que 26 (28%) alcançaram RMC e 24 (26%) RMM. Dezesesseis pacientes obtiveram RMC ou RMM em período menor que 12 meses e trinta e quatro pacientes em período maior ou igual a 12 meses.

Frequências similares de RMC ou RMM foram observadas em pacientes estratificados pelos genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-209G isolados e agrupados (**Figuras 34 e 35**).

Intervalos similares de tempo foram necessários para que pacientes de cada grupo pudessem alcançar resposta molecular (**Tabela 21**).

Proporções similares de pacientes estratificados pelos genótipos distintos do polimorfismo *CYP3A4* A-209G alcançaram resposta molecular precoce antes e após doze meses (**Tabela 22**).

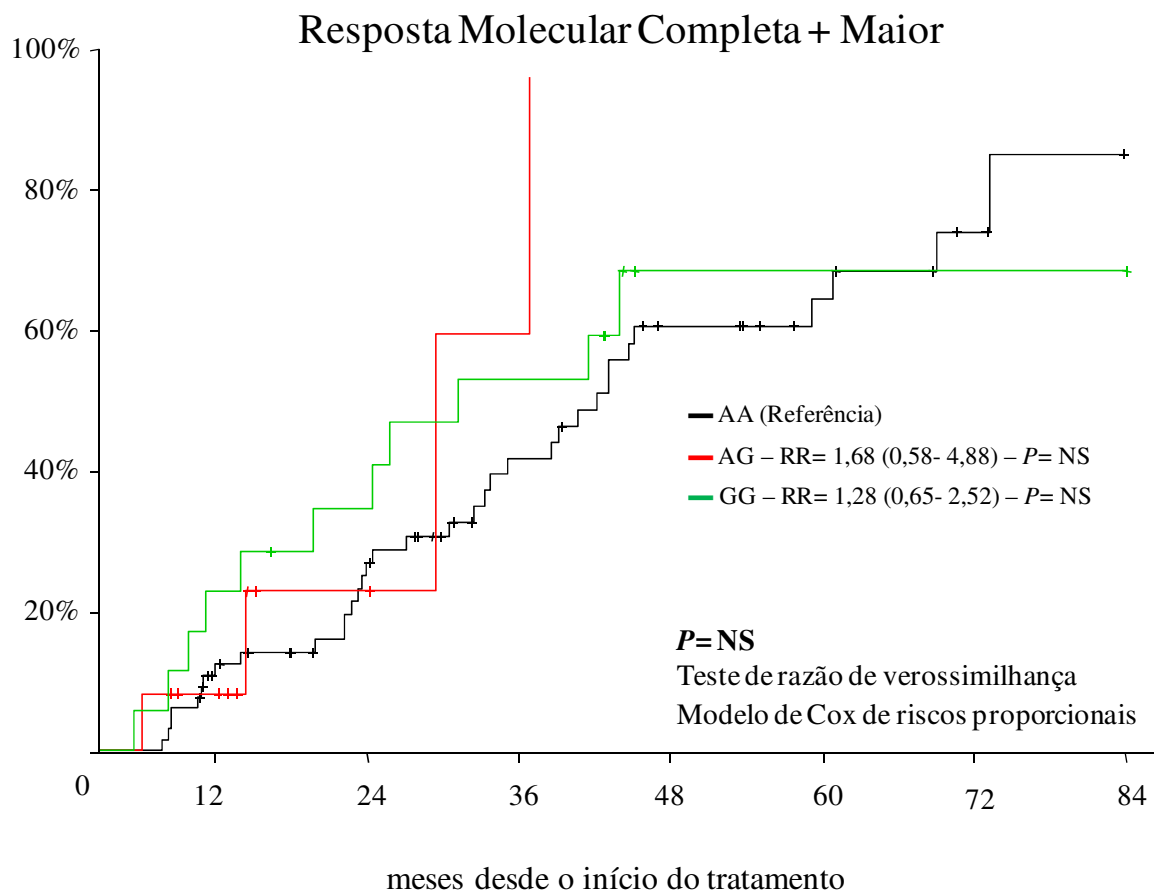


Figura 34. Taxas de resposta molecular completa ou maior em 93 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos homozigoto selvagem **AA** (metabolizador rápido) (—) ($n= 64$), heterozigoto **AG** (metabolizador intermediário) (—) ($n= 12$) e homozigoto variante **GG** (metabolizador lento) (—) ($n= 17$) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe. Sete pacientes inseridos no estudo não foram avaliados quanto a resposta molecular e não foram representados nesta figura.

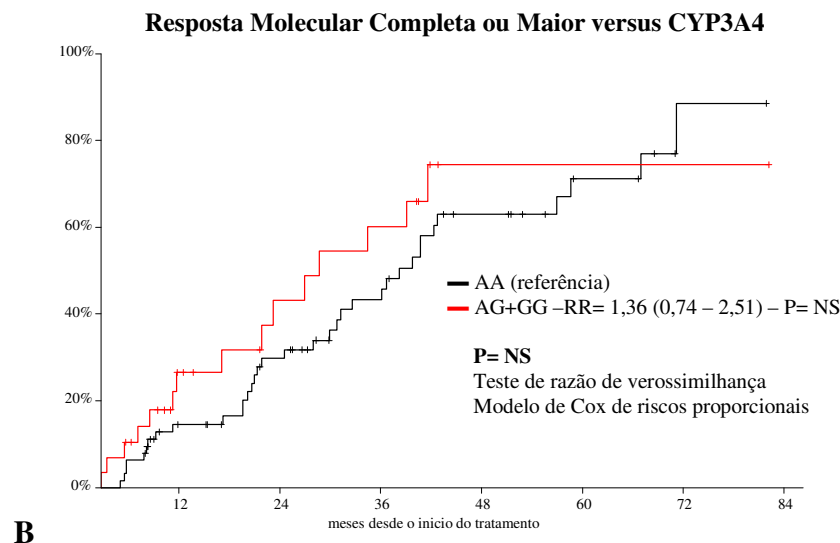
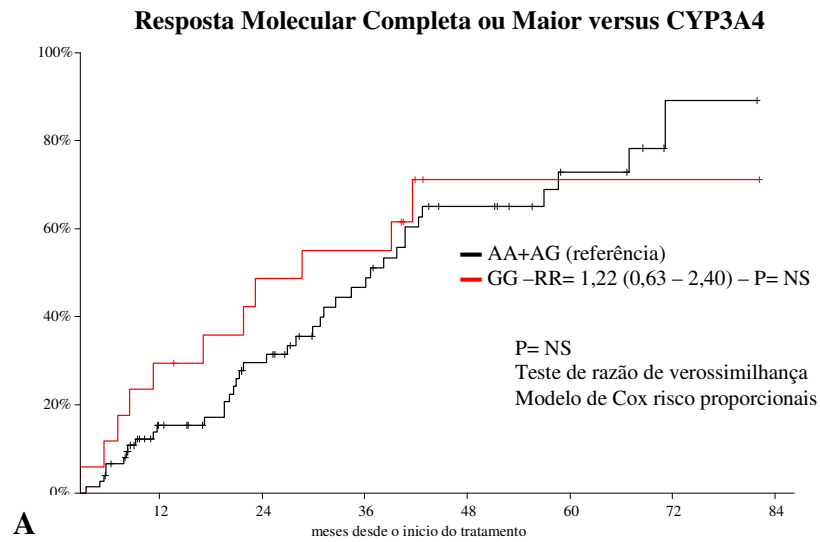


Figura 35. Taxas de resposta molecular completa ou maior em 93 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos (A) homozigoto selvagem (AA) e heterozigoto (AG) (—) (n= 76) *versus* homozigoto variante (GG) (—) (n= 17) e (B) homozigoto selvagem (AA) (—) (n= 64) *versus* heterozigoto e homozigoto variante (GG) (—) (n= 29) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe. Sete pacientes inseridos no estudo não foram avaliados quanto a resposta molecular e não foram representados nesta figura.

Tabela 21. Genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-290G em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica e tempo para alcançar resposta molecular.

Genótipo	N	Eventos (RMC + RMM)	Tempo para RMC+RMM (mediana em meses)	Valor <i>P</i>
AA	64	35	38	referência
AG	12	04	27	0,34
GG	11	11	29	0,48
AA+AG	76	39	37	referência
GG	17	11	29	0,55
AA	64	35	38	referência
AG+GG	29	15	29	0,32

AA, genótipo selvagem (metabolizador normal); **AG**, genótipo heterozigoto (metabolizador intermediário); **GG**, genótipo variante (metabolizador lento); **RMC**, resposta molecular completa; **RMM**, resposta molecular maior.

Tabela 22. Proporções de respostas molecular completa ou maior obtidas em períodos menor ou maior que doze meses por pacientes estratificados por genótipos do polimorfismo CYP3A4 A-290G.

Genótipo	RMC+RMM < ou > 12 meses	OR (IC 95%)	Valor de <i>P</i>
AA	09/26		
AG	02/02		0,32
GG	05/06		
AA+AG	11/28	0,48 (0,10-2,42)	0,30
GG	05/06		
AA	09/26		
AG+GG	07/08	0,40 (0,09-1,71)	0,19

AA, genótipo selvagem (metabolizador normal); **AG**, genótipo heterozigoto (metabolizador intermediário); **GG**, genótipo variante (metabolizador lento); **RMC**, resposta molecular completa; **RMM**, resposta molecular maior; **OR**, razão das chances; **IC 95%**, intervalo de confiança de 95%.

2.3. Polimorfismo *CYP3A4* A-290G e toxicidade do mesilato de imatinibe

Não observamos diferenças de toxicidades hematológica e não hematológica associadas aos diferentes genótipos isolados e agrupados do polimorfismo *CYP3A4* A-290G (**Tabela 23**).

Dezenove (19%) pacientes experimentaram efeitos tóxicos ao tratamento. Dos pacientes com toxicidade hematológica (n= 10), cinco eram portadores do genótipo homozigoto selvagem (AA, metabolizador normal), um heterozigoto (AG, metabolizador intermediário) e quatro homozigotos variantes (GG, metabolizador lento). As toxicidades apresentadas na maioria dos casos foram neutropenia ($< 0,5 \times 10^9/L$) e trombocitopenia ($< 10,0 \times 10^9/L$) de graus 3 e 4.

A maioria dos pacientes com toxicidades não hematológicas (n= 9) apresentaram mais de um efeito adverso, cujas frequências em ordem decrescente foram as seguintes: elevação das transaminases, hiperbilirrubinemia, alterações de pele e do trato gastrointestinal. Estes efeitos foram dos graus 3 e 4 predominantemente. Seis desses pacientes eram homozigotos selvagens (AA), um heterozigoto (AG) e dois homozigotos variantes (GG).

Tabela 23. Toxicidades ao mesilato de imatinibe em 100 pacientes com leucemia mielóide crônica estratificados por genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-290G.

Variável	n	AA n (%)	Genótipos isolados		AA+AG n (%)	Genótipos combinados		
			AG	GG		GG	AA	AG+GG
			n (%)	n (%)		n (%)	n (%)	n (%)
Toxicidade								
Sem toxicidade	81	59	11	11	70	11	59	22
Hematológica	10	5 (26,3)	1 (1,6)	4 (21,0)	6 (31,5)	4 (21,0)	5 (26,3)	5 (26,3)
Não hematológica	9	6 (31,5)	1 (1,6)	2 (10,5)	7 (36,8)	2 (10,5)	6 (31,5)	3 (15,8)
Valor de <i>P</i>			0,28			0,09		0,27
Grau toxicidade								
Sem toxicidade	81	59	11	11	70	11	59	22
≤ 2	2 (22,2)	2 (22,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (22,2)	0 (0,00)	2 (22,2)	0 (0,00)
3 e 4	7 (77,7)	9 (100)	2 (22,2)	6 (66,6)	11 (12,2)	6 (66,6)	9 (100,0)	8 (88,8)
Valor de <i>P</i>			0,26			0,12		0,22

AA, genótipo selvagem (metabolizador normal); **AG**, genótipo heterozigoto (metabolizador intermediário); **GG**, genótipo variante (metabolizador lento); **hematológica** (anemia, neutropenia e plaquetopenia); **não hematológica** (alterações hepática, de pele e trato gastrointestinal).

2.4. Polimorfismo *CYP3A4* A-290G e sobrevidas livre de progressão e global

Observamos que os pacientes com genótipo heterozigoto AG apresentaram tendência a menor SLP do que os demais (**Tabela 24**). SLP de 86% em 92 meses, 85% em 46 meses e 94% em 82 meses foram observadas em pacientes com o genótipo AA, AG e GG, respectivamente (**Figura 36**). SLP similares foram observados em pacientes com os genótipos AA+AG (85% em 92 meses) *versus* GG (94% em 82 meses) e AA (86% em 92 meses) *versus* AG+GG (98% em 82 meses) (**Figura 37**).

Também observamos menor SG em pacientes com o genótipo heterozigoto AG do que em pacientes com os outros genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-209G (**Figura 38**). Similares SG foram observados em pacientes com os genótipos AA+AG (93% em 92 meses) *versus* GG (100% em 82 meses) e AA (96% em 92 meses) *versus* AG+GG (93% em 82 meses) (**Figura 39**).

Ao final do estudo, seis pacientes foram a óbito. Três eram homozigotos selvagem AA, dois heterozigotos AG e um homozigoto variante GG. Desta forma, 94% dos pacientes se mantiveram vivos durante os 92 meses de acompanhamento. Os óbitos aconteceram após o 46º mês de tratamento com o MI. Dois destes pacientes já haviam manifestado resistência secundária ao tratamento e progressão para CB.

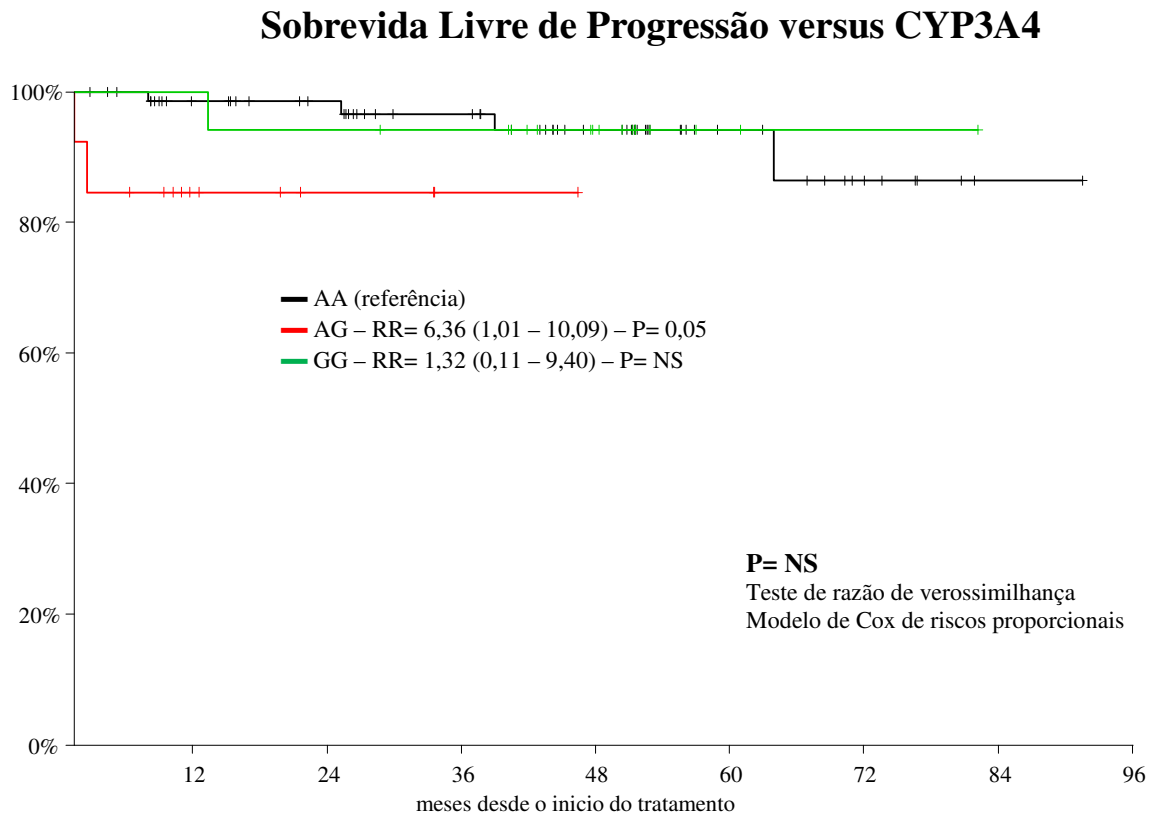


Figura 36. Sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos homozigoto selvagem (AA) (—) (n= 70), heterozigoto (AG) (—) (n= 13) e homozigoto variante (GG) (—) (n= 17) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

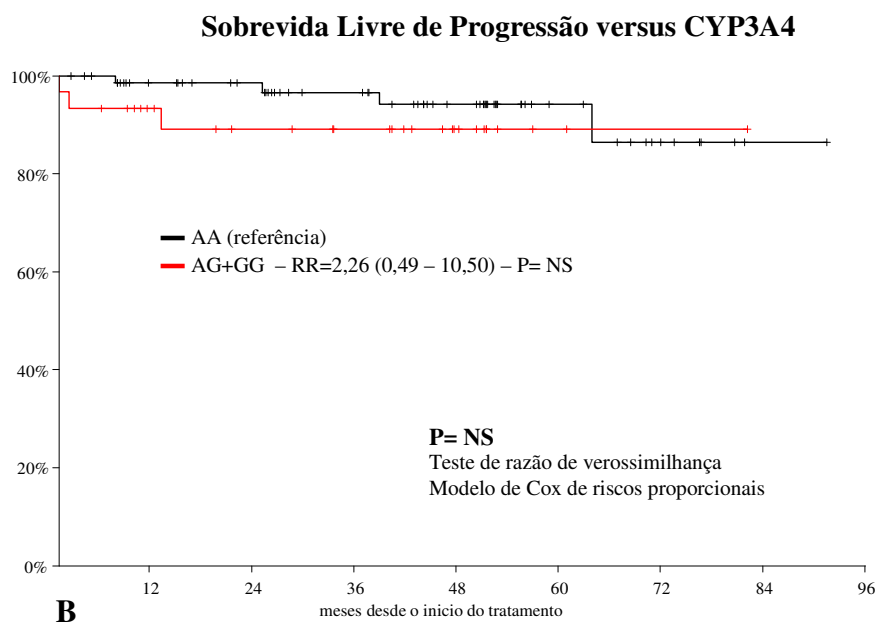
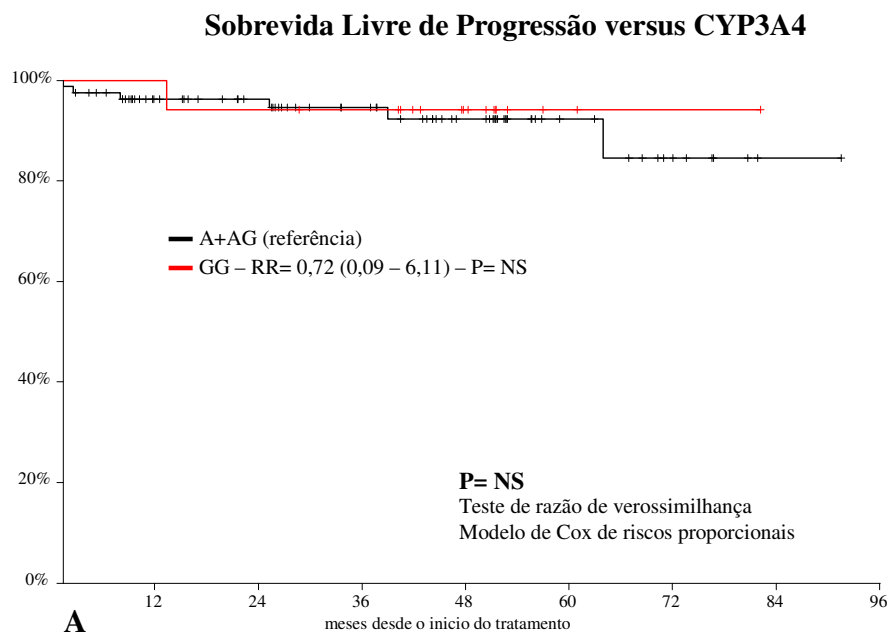


Figura 37. Sobrevida livre de progressão de 100 pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos **(A)** homozigoto selvagem (AA) e heterozigoto (—) (n= 83) *versus* homozigoto variante (GG) (—) (n= 17) e **(B)** homozigoto selvagem (AA) (n= 70) *versus* heterozigoto (AG) e homozigoto variante (GG) (—) (n= 30) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

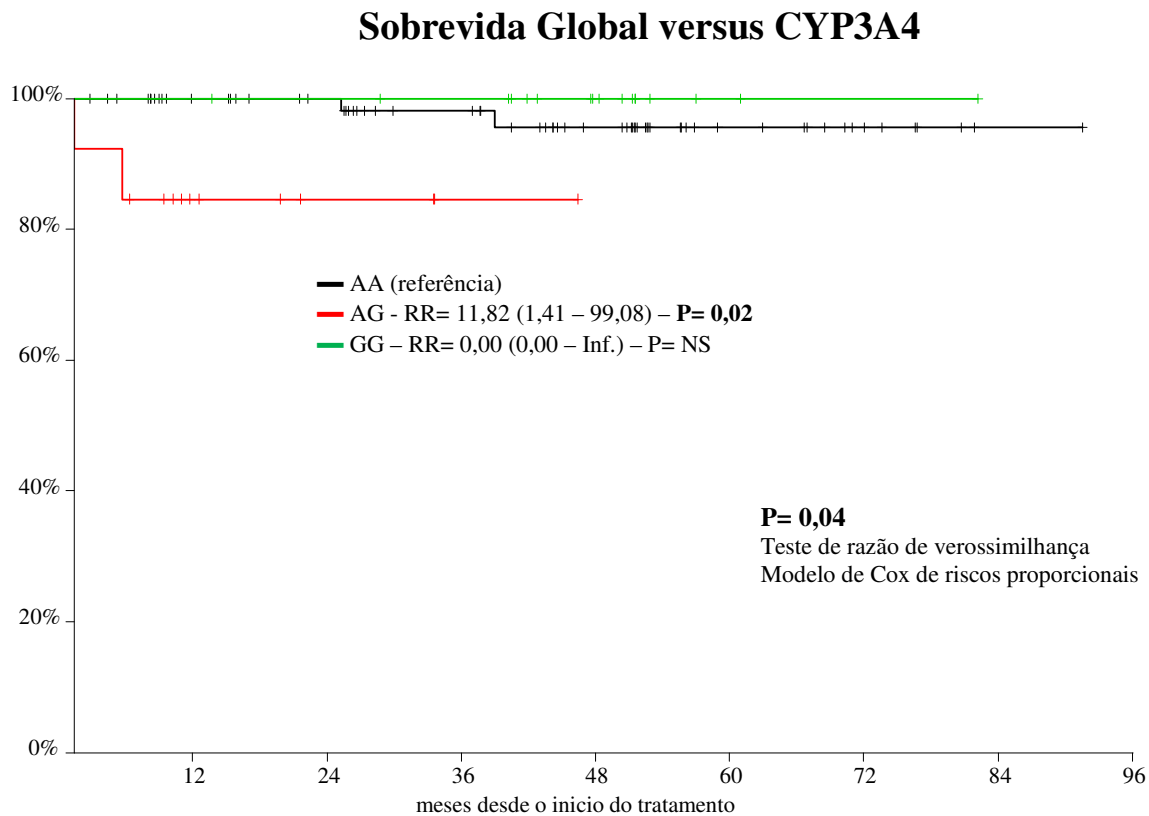


Figura 38. Sobrevida global de pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos homozigoto selvagem (AA) (—) (n=70), heterozigoto (AG) (—) (n= 13) e homozigoto variante (GG) (—) (n= 17) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

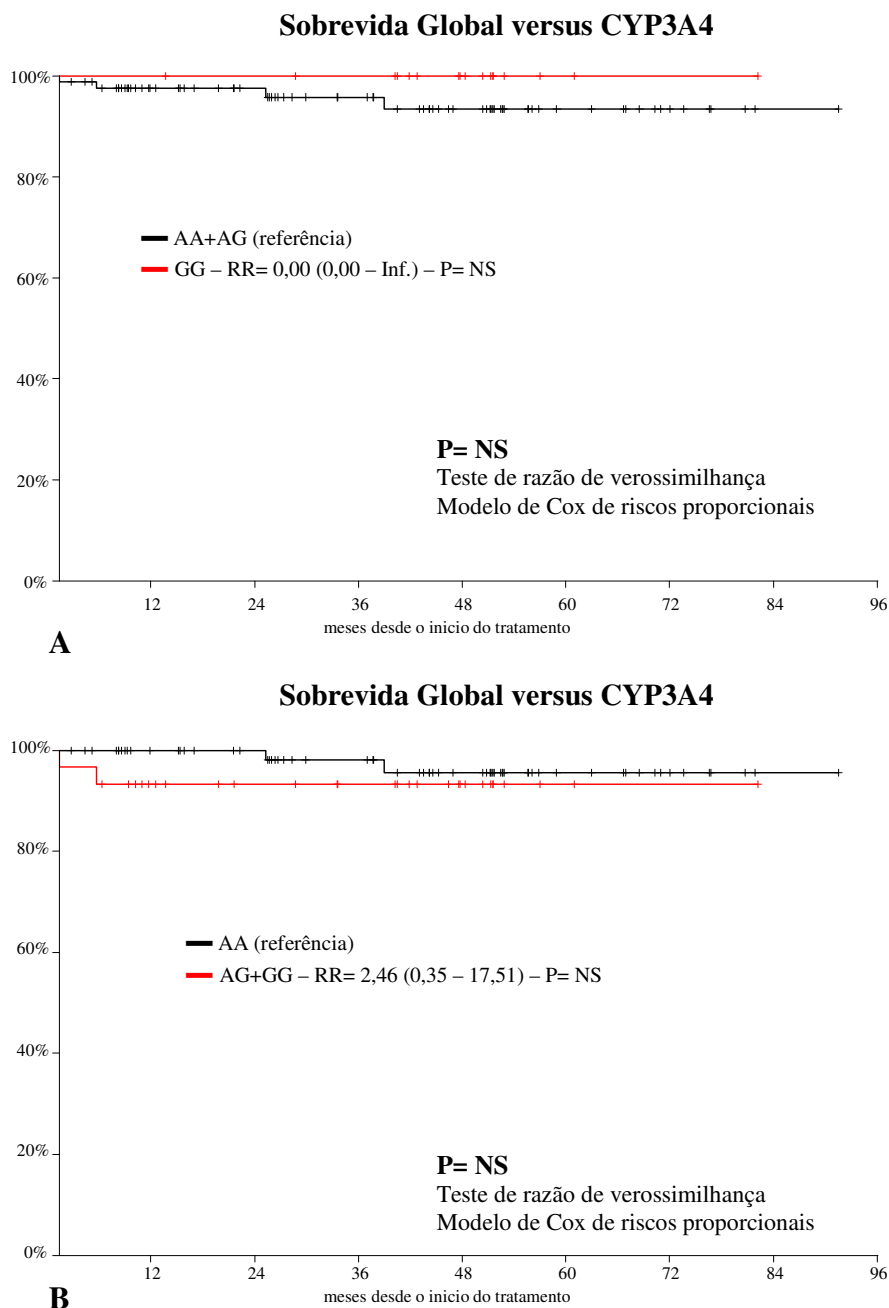


Figura 39. Sobrevida global de pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica precoce, estratificados por genótipos **(A)** homozigoto selvagem (AA) (—) e heterozigoto (AG) (n= 83) *versus* homozigoto variante (GG) (—) (n= 17) e **(B)** homozigoto selvagem (AA) (—) (n= 70) *versus* heterozigoto e homozigoto variante (GG) (—) (n= 30) do polimorfismo *CYP3A4* A-290G, durante terapêutica com mesilato de imatinibe.

Tabela 24. Sobrevida de 100 pacientes com leucemia mieloide crônica tratados com mesilato de imatinibe e estratificados por genótipos do polimorfismo *CY3A4* A-290G

Genótipo	N	Eventos (SLP)	Tempo SLP (mediana em meses)	RR	Valor P	Eventos (SG)	Tempo SG (mediana em meses)	RR	Valor P
AA	70	4	44	referência	referência	2	44	referência	referência
AG	13	2	12	6,4	0,05	2	12	11,8	0,02
GG	17	1	48	1,0	0,99	0	48	0,0	1,00
AA+AG	83	6	38	referência	referência	4	38	referência	referência
GG	17	1	48	0,7	0,77	0	48	0,0	1,00
AA	70	4	44	referência	referência	21	44	referência	referência
AG+GG	30	3	40	2,3	0,30	2	40	2,5	0,37

AA, genótipo selvagem (metabolizador normal); **AG**, genótipo heterozigoto (metabolizador intermediário); **GG**, genótipo variante (metabolizador lento); **SLP**; sobrevida livre de progressão; **SG**; sobrevida global; **RR**; risco relativo.

DISCUSSÃO

A leucemia mielóide crônica (LMC) é uma neoplasia hematológica causada pela presença do gene híbrido *BCR-ABL* oriundo da translocação cromossômica t(9;22) (q34;q11), que surge após a fusão de parte dos cromossomos 9 e 22. O oncogene *BCR-ABL* leva à produção da proteína Bcr-Abl, com atividade tirosina quinase relacionada com a proliferação de leucócitos (LICHTMAN & LIESVELD, 2001).

O fato da proteína Bcr-Abl ser essencial para a transformação leucêmica fez com que inúmeros estudos fossem conduzidos para obter medicamentos capazes de impedir sua ação e, desta forma, inibir a proliferação do clone leucêmico (DAGHER *et al.*, 2004; COHEN *et al.*, 2005).

Embora sejam inequívocos os efeitos do MI na terapêutica de portadores de LMC (BRASIL – DOU, 2008), são poucas as publicações de estudos sistematizados realizados com o fármaco em indivíduos da nossa população. Por outro lado, já é bem estabelecido que a eficácia ou a toxicidade do MI é maior em alguns pacientes do que outros e que há pacientes resistentes ou intolerantes ao fármaco (HOCHHAUS, 2007; PICARD *et al.*, 2007; QUINTAS-CARDAMA *et al.*, 2007).

Diante da necessidade de se conhecer a eficácia e toxicidade do MI em pacientes do nosso meio, este constituiu o objetivo inicial do presente estudo. Outro objetivo essencial foi o de identificar fatores preditivos de resposta ao fármaco. Optamos por investigar o papel do polimorfismo *CYP3A4* A-290G na resposta terapêutica, no padrão de toxicidade e na sobrevida dos pacientes em fase crônica ao diagnóstico.

Observamos que a mediana de idade ao diagnóstico de nossos pacientes foi de 48 anos, menor do que a de pacientes incluídos em publicações da Organização Mundial da Saúde (VARDIMAN *et al.*, 2008). No entanto, casuísticas nacionais mostram que a mediana de idade desses pacientes no Brasil é, no mínimo, dez vezes menor que a encontrada na literatura internacional (BORTOLHEIRO & CHIATTONE, 2008). Uma hipótese seria o fato da expectativa de vida nos países em desenvolvimento ser bem menor do que em países onde o estudo IRIS (*International Randomized Interferon versus STI571*) foi realizado. Dá suporte à nossa hipótese, o fato de que a idade mediana em outros países subdesenvolvidos, como a China, é de 49 anos e, portanto, similar àquela observada em nossos pacientes (KANTARJIAN *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 2010).

A distribuição dos pacientes por sexo mostrou um discreto predomínio da doença em pacientes do sexo masculino em relação aos do sexo feminino (relação= 1,2:1), conforme relatado na literatura (PASQUINI *et al.*, 2001).

Nossos casos ocorreram predominantemente em caucasianos, conforme descrição prévia (WANDEL *et al.*, 2000; CAVALLI *et al.*, 2001; VAN ERP *et al.*, 2007). Entretanto, vale comentar que a diferenciação entre caucasóide e negróide no nosso estudo foi realizada de forma subjetiva baseada somente na cor da pele. Ainda, tendo em vista a mistura étnica da população brasileira, ocasionada pela origem tri-híbrida (europeia, africana e ameríndia) e contínuos fluxos migratórios (SUAREZ-KUTZ, 2010), não podemos afirmar com certeza a etnia de indivíduos incluídos em nosso estudo.

Os valores medianos pré-tratamento de hemoglobina (11,8 g/dL *versus* 12,5 g/dL) e de leucócitos (11.200/ μ L *versus* 21.000/ μ L) em nossos pacientes foram menores do que os observados em pacientes de estudo de fase II conduzido por KANTARJIAN *et al.* (2002).

Em contraste, a mediana do número de plaquetas (378.000 *versus* 303.000) e a porcentagem de esplenomegalia maior de 10 cm a partir do rebordo costal (24% *versus* 2%) em nosso estudo foram maiores do que as observadas em pacientes incluídos no estudo de KANTARJIAN *et al.* (2002). É possível que estes dados reflitam que nossos pacientes podem ser diagnosticados com doença mais avançadas, em decorrência de dificuldades de acesso a serviços médicos. Por outro lado, nossos resultados de pacientes com LMC foram muito semelhantes aos obtidos em pacientes com LMC de uma instituição de saúde do Reino Unido (Hb: 11,6 g/dL; leucócitos: 14.000/ μ L; plaquetas: 393.000 e esplenomegalia: 25,5%) (LAVALLADE *et al.*, 2008).

Cerca de 60% e 51% dos nossos pacientes apresentaram índices Sokal e Hasford de riscos intermediário e alto, respectivamente, cujas taxas foram maiores do que as observadas em outros países (28-34% e 5-7%, respectivamente) (KANTARJIAN *et al.*, 2003; CERVANTES *et al.*, 2010).

Tanto o risco de Sokal como o de Hasford predizem a resposta citogenética (O'BRIEN *et al.*, 2003), mas apenas o índice de Sokal está relacionado à resposta molecular e sobrevida dos pacientes tratados com o MI (BACCARANI *et al.*, 2006). Pacientes com riscos baixo, intermediário e alto que atingem resposta citogenética em 12 meses tem probabilidade de 97%, 94% e 90% de sobrevida, respectivamente (SOUZA *et al.*; 2012).

Observamos que a maioria dos rearranjos dos genes *BCR-ABL* foram dos tipos b2a2 e b3a2, conforme relatado em outras populações (CERVANTES *et al.*, 2010).

As frequências observadas para os polimorfismos *CYP3A4* -290A>G foram de 70%, 13% e 17% para os genótipos AA, AG e GG, respectivamente. Infelizmente a distribuição

genotípica observada foi diferente da esperada de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg (HW).

A frequência do alelo mutado do polimorfismo *CYP3A4* -290A>G difere em indivíduos de distintas etnias, sendo observada entre 2,8-9,6% em caucasianos, 69-81% em africanos, 48-67% em afro-americanos e estando ausente na população asiática (KESHAVA, 2004; TAYEB, 2002; REYES-HERNANDEZ *et al.*, 2004). Já a frequência observada em um único estudo conduzido na população brasileira foi de 13,3% demonstrando ser maior que aquela observada em indivíduos brancos nos Estados Unidos ($P=0,0021$) (CAVALLI *et al.*, 2001).

Uma explicação plausível para as diferenças nas distribuições de genótipos e de alelos do polimorfismo *CYP3A4* -290A>G entre os estudos é a variação de composição étnica das populações estudadas e da miscigenação de indivíduos. A miscigenação de subgrupos étnicos entre duas ou mais populações favorecem a "ligação" entre *loci* distantes normalmente independentes e conferem frequências próprias de determinados genótipos (SHAM, 1997).

As frequências dos genótipos distintos do polimorfismo *CYP3A4* -290A>G em nossos casos esteve entre as observadas em euro-americanos, o que pode indicar a miscigenação racial existente em nosso país (KITTLES, *et al.*, 2002; SUAREZ-KUTRZ, 2010). É evidente que foram incluídos neste estudo um pequeno número de casos de uma única região do país e, portanto, nossos resultados são insuficientes para possibilitar conclusões consistentes sobre o assunto. Estudos adicionais com número maior de indivíduos representantes das diferentes regiões do país são necessários para estabelecer a frequência real dos genótipos distintos do polimorfismo -290A>G do gene *CYP3A4* no Brasil.

O tempo mediano entre o diagnóstico da doença e o início da terapia com o MI foi de 61 dias. Esta informação foi coletada considerando que o tratamento é mais eficaz em pacientes em fase crônica recém-diagnosticada (DRUKER *et al.*, 2001; KANTARJIAN *et al.*, 2002). Visto que o início do tratamento com o MI logo após o diagnóstico (precoce) pode diferir do tratamento iniciado após 24 meses de tratamento prévio com α -IFN (tardia), em relação a toxicidade e eficácia. O tratamento precoce reduz o risco de efeitos adversos graus I e II em 52% e graus III e IV em 81 (SOUZA *et al.*, 2012).

No tratamento precoce há aumento de RCC de 16%, redução de risco de recorrência em 2% e aumento na SLP de 15%. O tratamento precoce aumenta a probabilidade de RMM em 20%, e aumenta a probabilidade de manutenção da resposta em 30 meses em 36%, em comparação ao tratamento tardio. Após um ano de tratamento com MI a probabilidade de perda ou de não atingir a resposta molecular é 58% menor nos pacientes tratados precocemente (SOUZA *et al.*, 2012).

A respeito da eficácia do tratamento com o MI, nossos pacientes alcançaram uma taxa de 100% de RHC, 85% de RCC e 85% RMM ou RMC. Estes dados são semelhantes aos obtidos no estudo IRIS (*International Randomized Interferon versus STI571*) ao final de cinco anos de seguimento de pacientes, no qual foram observadas taxas de respostas de 98% para RHC, 82% para RCC, 66% de RMM e 12% de RMC (HOCHHAUS *et al.*, 2009).

Quando analisamos o tempo de obtenção da RCP+RCC em relação a presença e grau de toxicidade, não obtivemos diferenças estatísticas significativas no que se refere à menor progressão para as fases avançadas da doença ($P=0,528$ e $P=0,709$) em relação àqueles pacientes que não apresentaram toxicidade ao MI. Já para as RMM+RMC os resultados foram significantes tanto para presença quanto para o grau de toxicidade ($P=0,012$ e $P=0,014$).

A RMM e RMC foram obtidas em 54%, dos pacientes, cujas taxas de SLP e SG foram de cerca de 92% em 40 e 42 meses, respectivamente. A atualização dos resultados do estudo IRIS, apresentado em dezembro de 2004 no *ASH Meeting*, mostrou que os indivíduos que atingem resposta molecular $> 3 \log$ apresentam taxa de SLP de 98% em quatro anos (SOUZA & PAGNANO, 2004). Segundo os resultados do estudo IRIS, a taxa de SG de pacientes com LMC tratados com o MI em cinco e oito anos é de 89% e de 85%, respectivamente, sendo que nenhum dos pacientes com RCC e RMM aos doze meses de tratamento progrediu para as fases avançadas da doença após 60 meses de acompanhamento (DRUKER *et al.*, 2006).

De modo geral o MI foi bem tolerado, com 10% dos pacientes mostrando toxicidade hematológica 19% dos pacientes com toxicidade não hematológica graus 3 e 4, respectivamente. Estes dados são equivalentes aos relatados no estudo IRIS (DRUKER *et al.*, 2006).

Ao término do estudo (92 meses), 83% dos pacientes estavam vivos e livres de progressão da doença. Estes resultados são concordantes com a literatura onde, as taxas de SLP observadas após 6 anos de *follow-up* variaram entre 83-90% (HOCHHAUS, *et al.*; 2009; BACCARANI & DREYLING, 2010).

Observamos correlação significativa entre a obtenção da resposta citogenética e a SLP. Aos 71 e 92 meses, as taxas estimadas da SLP foram de 86% e 98% para RCP e RCC, respectivamente, contra 64% dos pacientes não atingiram resposta citogenética ($P \leq 0,001$). Estes resultados estão de acordo com HOCHHAUS *et al.* (2006).

Da mesma forma, quando analisamos os grupos de pacientes estratificados com RMM+RMC (97% em 92 meses) e outro sem essa resposta (70% em 82 meses),

observamos uma associação significativa no que se refere a SLP ($P=0,05$). Tais dados são concordantes com os de HELHMANN *et al.* (2011) ($P=0,023$).

As taxas de SLP em 81,8, 82 e 92 meses não foram diferentes entre os três grupos de risco, de acordo com risco prognóstico de Sokal ($P=0,207$), sendo que os grupos de baixo risco, intermediário e alto apresentaram taxas de 84%, 97% e 83%, respectivamente. ROY *et al.* (2006) descreveram taxas de 78%, 68% e 51%, para os respectivos grupos num período de 42 meses.

Também não foram encontradas associações significativas entre a SLP e os escores de Hasford. Observou-se taxas de 85% em 82 meses, de 91% em 92 meses e de 90% em 71 meses para os pacientes com riscos baixo, intermediário e alto, respectivamente ($P=0,900$). Já na literatura foram relatadas taxas de 76%, 55% e 25% para cada respectivo risco em 5 anos de acompanhamento (SOUZA *et al.*, 2003).

Em relação à SG, ao final do estudo (92 meses) 95% dos nossos pacientes estavam vivos (CORTES *et al.*, 2005). Observamos uma correlação significativa entre a obtenção da resposta citogenética e a SG. Aos 71 e 92 meses, as taxas estimadas da SG foram de 86% e 98% para RCP e RCC, respectivamente, contra 87% dos pacientes que não atingiram resposta citogenética ($P\leq 0,030$) (HOCHHAUS, *et al.*, 2008).

No entanto, quando analisamos os grupos de pacientes estratificados com RMM+RMC (97% em 92 meses) e outro sem essa resposta (93% em 82 meses), não verificamos diferenças sobre a SG ($P=0,264$). Entretanto, a taxa de SG em 60 meses obtida no estudo IRIS foi de 89%, após a censura de pacientes que morreram de causas não relacionada à doença ou TMO (DRUKER *et al.*, 2005).

Também não foram encontradas associações significativas entre a SG e os escores de Sokal e Hasford. Para os riscos baixo e intermediário de Sokal, observamos taxas de

97% em 82 meses e para o risco alto, 90% em 92 meses. Já para Hasford: 95% em 82 meses, 93% em 92 meses e 100% em 71 meses para os riscos baixo, intermediário e alto, respectivamente. Ao contrário de DRUKER *et al.*(2005), onde os pacientes considerados de alto risco de Sokal tiveram uma menor taxa de RCC (69%) do que os pacientes que eram baixo risco ou risco intermediário (89% e 82%, respectivamente) ($P < 0,001$) .

Na segunda parte do nosso trabalho, verificamos a possível influência do polimorfismo *CYP3A4* -290A>G nas características clínicas de nossos pacientes, na eficácia e toxicidade da terapêutica com o MI e com a SLP e SG de nossos pacientes.

Não houve diferença na distribuição na frequência dos genótipos distintos do polimorfismo *CYP3A4* -290A>G em relação as características clínicas, sugerindo que o referido polimorfismo não interfere com manifestações clínicas e laboratoriais em portadores de LMC.

Apesar das hipóteses de que a variação no perfil metabólico de indivíduos portadores do genótipo homozigoto selvagem (AA) estaria associada a duplicações do gene *CYP3A4*, traduzindo um excesso na atividade da enzima Cyp3a4 (metabolizador ultrarrápido), representada por risco de falha ou ausência da resposta terapêutica quando utilizada dose padrão; ou, que a presença do alelo variante (G) exibiria um fenótipo metabolizador lento associado à uma menor taxa de biotransformação do fármaco, representada por risco de reações tóxicas mesmo em doses terapêuticas usuais (AUDI & PUSSI, 2000; METZGER *et al.*, 2006; GARCÍA, 2011), não observamos diferenças de frequências dos genótipos distintos do polimorfismo *CYP3A4* -290A>G em pacientes estratificados por respostas hematológica, citogenética e molecular, sugerindo que o referido polimorfismo não interfere com a obtenção das referidas respostas em portadores de LMC.

Também não observamos diferenças entre as toxicidades hematológica e não hematológica associadas aos diferentes genótipos isolados e agrupados do polimorfismo *CYP3A4* -290A>G sugerindo que o referido polimorfismo não interfere com os efeitos colaterais em portadores de LMC durante terapêutica com o MI.

Da mesma forma não observamos associação significativa entre os diferentes genótipos isolados e agrupados do polimorfismo *CYP3A4* -290A>G em relação a SLP de nossos pacientes. O referido genótipo esteve associado com menor SG de nosso pacientes..

Sabemos que diversos fatores podem interferir no metabolismo de fármacos (GARCÍA, 2011). No entanto, não observamos associação significativa entre a faixa etária acima de 65 anos e a progressão da doença em relação ao polimorfismo ($P= 0,167$). Este dado nos chamou a atenção porque a idade avançada é considerada um prognóstico ruim para pacientes com LMC e também pelo fato da atividade metabólica da *Cyp3a4* ser dependente da idade. Apesar da faixa etária relacionada á eficácia terapêutica de diversos quimioterápicos, CORTES *et al.* (2003) relataram que a idade não está relacionada com a resposta citogenética ou a sobrevida em pacientes tratados com MI.

Para o índice de Sokal, encontramos uma associação significativa entre os riscos baixo+ intermediário e alto em relação aos genótipos distintos ($P= 0,045$) e também entre a frequência combinada de AA+ AG em relação aos riscos de Sokal isolados e agrupados (baixo+ intermediário e alto) ($P= 0,049$ e $P= 0,049$, respectivamente). De acordo com o estudo IRIS, o risco de Sokal é capaz de predizer os prognósticos para a RCM. Aos 12 meses, 38% dos pacientes com alto risco, 45% dos pacientes com risco intermediário e 66% dos pacientes com baixo risco apresentaram redução de 3 log na dos transcritos *BCR-ABL* (HUGHES *et al.*, 2004).

As variáveis independentes que influenciaram a progressão da doença foram: risco alto para o índice de Sokal, resposta citogenética e presença do genótipo AA ($P \leq 0,20$). A taxa de resposta citogenética completa+ parcial foi de 95% em 67 meses. Dos quais, 63 pacientes (AA, n= 45; AG, n= 10 e GG, n= 8) atingiram a RCC em um tempo menor que 12 meses e 37 pacientes (AA, n= 25; AG, n= 03 e GG, n= 9) em um período maior que 12 meses.

De acordo com DRUKER *et al.* (2006) a obtenção da RCC independe da RMM, sendo que a associação significativa entre a SLP (98%) foi observada apenas nos grupos com RCC em relação aos pacientes que não obtiveram resposta satisfatória aos 60 meses de acompanhamento ($P= 0,001$).

Ao fim de 82 meses de acompanhamento 16/48 (64%), 8/4(12%) e 5/12(17%) pacientes com genótipos AA, AG e GG respectivamente, atingiram a RMM+RMC em 12 meses de tratamento em um intervalo de 11,2 meses. A taxa de redução dos transcritos *BCR-ABL* alcançada logo no início do tratamento com MI é um bom indicador de resposta subsequente. Pacientes que não atingiram 10% na relação *BCR-ABL/BCR* aos 3 meses possuem menor probabilidade de atingir RMM (13%) aos 30 meses quando comparados com aqueles que apresentam menos de 1% (100%) e entre 1% e 10% (69%) (HUGHES & BRANDFORD, 2006).

GRÉEN *et al* (2010) demonstraram em um estudo piloto a influência da Cyp3a4 em pacientes tratados com MI. Quatorze indivíduos foram fenotipados para a atividade da Cyp3a *in vivo* utilizando sonda de quinino, onde os níveis de quinino e seus metabólitos foram utilizados para avaliar a atividade da enzima. Ao final de 12 meses de tratamento com o MI de acordo com a resposta molecular em respondedores com níveis indetectáveis de *BCR-ABL* e aqueles que falharam na obtenção da resposta. Os pacientes que alcançaram

a RMC apresentaram uma atividade enzimática muito maior do que aqueles com resposta parcial ($P=0,013$). Nota-se que aqueles pacientes com atividade enzimática Cyp3a4 alta (provavelmente carregam maior quantidade do metabólito) respondem melhor ao tratamento com o MI do que aqueles pacientes com baixa atividade enzimática (GRÉEN *et al.*, 2010).

Referente á influência do polimorfismo *CYP3A4* -290A>G sobre as taxas de SLP e SG observamos que os portadores do genótipo AG apresentaram riscos relativos aumentados em 6,36 e 11,82 vezes, respectivamente ($P= 0,049$ e $P=0,023$). De acordo com esses resultados, os pacientes portadores do alelo G apresentam uma SG inferior em comparação com os pacientes com genótipo AA. Esta diferença, apesar de não ser significativa, poderá ter como consequência funcional uma menor degradação do MI e, conseqüentemente, uma menor efetividade da terapia. Vale ressaltar que pacientes com LMC com atividade Cyp3A4 alta (provavelmente levando a uma maior quantidade de metabólito) respondem melhor ao tratamento com MI do que os pacientes com baixa atividade (GRÉEN *et al.*, 2010).

CONCLUSÕES

O MI induziu respostas hematológica, citogenética e molecular em nossos pacientes com LMC compatíveis com as previamente descritas;

A toxicidade ao MI em nossos pacientes com LMC foi semelhante às previamente descritas;

O genótipo heterozigoto do polimorfismo *CYP3A4* -290A>G esteve associado com tendência para menor SLP e menor SG em nossos pacientes com LMC, podendo vir a funcionar como marcador farmacogenético de resposta ao MI.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJIMURA, T.O. – Análise do mesilato de imatinibe em plasma empregando a eletroforese capilar – Dissertação de mestrado apresentada a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP. – Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos sob a orientação de Cristiane Masetto de Gaitane, 2010

AMERICAN CANCER SOCIETY – What are the key statistics about chronic myeloid leukemia? Disponível em: <http://www.cancer.org/Cancer/Leukemia-ChronicMyeloidCML/DetailedGuide/leukemia-chronic-myeloid-myelogenous-key-statistics>. Acesso em 02 de Janeiro de 2012.

AOKI, Y.; NIIHORI, T.; NARUMI, Y.; KURE, S.; MATSUBARA, Y. – The Ras/MAPK syndromes: novel roles of the Ras pathway in human genetic disorders. – **Hum Mutat.** 29(8): 992-1006, 2008.

APPERLEY, J. – Part I: mechanism of resistance to imatinibe in chronic myeloid leukaemia. – **Lancet Oncol.** 8:1018-1029, 2007.

AQUINO, S.S.; GONÇALVES, R.P.; SILVA, L.B. – Acompanhamento farmacoterapêutico dos pacientes com leucemia mielóide crônica em uso de mesilato de imatinibe na Universidade Federal do Ceará. – **Rev Bras Hematol Hemoter.** 31(3); 134-142, 2009.

ARANHA, F.J.P.- Leucemia mielóide crônica : transplante de medula óssea. – **Rev Bras Hematol Hemoter.** 30(supl.1): 41-46, 2008.

ARLINGHAUS, R.B. – BCR: a negative regulator of the BCR-ABL oncoprotein in leukemia. – **Oncogene**. 21: 8560-8567, 2002.

AUDI, E.A.; PUSSI, F.D. – Isoenzimas do CYP450 e biotransformação de drogas. – **Acta Scientiarum**. 22(2): 599-604, 2000.

BACCARANI , M.; CORTE, J.; PANE, F.; NIEDERWIESER,D.; SAGLIO, D.; APPERLEY, J.; CERVANTES, F.; DEININGER, M.; GRATWOHL, S.; GUILHOT, F.; HOCHHAUS, A.; HUGHES, T.; KANTARJIAN,H.; LARSON, R.; RADICH, J.; SIMONSSON, B.; SILVER, R.T.; GOLDMAN, J.; HEHLMANN, R.; EUROPEAN LEUKEMIANET – Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. – **J Clin Oncol**. 27(35): 6041-6051, 2009.

BACCARANI, M.; SAGLIO, G.; GOLDMAN, J.; HOCHHAUS, A.; SIMONSSON, B.; APPELBAUM, F.; APPERLEY, J.; CERVATNES, F.; CORTES, J.; DEINIGER, M.; GRATWOHL,A.; GUILHOT, F.; HOROWITZ, M.; HUGHES, T.; KANTARJIAN, H.; LARSON R.; NIEDERWIESER, D.; SILVER, R.; HEHLMANN, R. – Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. – **Blood**. 108: 1809-1820, 2006.

BACCARANI, M.; PANE, F.; SAGLIO, G. – Monitoring treatment of chronic myeloid leukemia. – **Haematologica**. 93(2): 161-166, 2008.

BACCARANI, M.; DREYLING, M. – Chronic myeloid leukaemia: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up – *Ann Oncol*. 2009; 20(Suppl 4): iv 05-iv 07

BEILLARD, E.; PALLISGAARD, N.; VAN DER VELDEN, V.H.; BI, E.; DEE, R.; VAN DER SCHOOT, E.; DELABESSE, E.; MACINTYRE, E.; GOTTARDI, E.; SAGLIO, G.; WATZINGER, F.; LION,T.; VAN DONGEN, J.J.; GABERT, J. – Evaluation of candidate

control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using “real-time” quantitative reverse –transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR): A Europe against cancer program. – **Leukemia**. 17: 2474-2486, 2003.

BOLUFER, P.; COLLADO, M.; BARRAGAN, E.; CERVERA, J.; CALASANZ, M.J.; COLOMER, D.; ROMAN-GOMEZ, J.; SANZ, M.A. – The potential effect of gender in combination with common genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes on the risk of developing acute leukemia. – **Haematologica**. 92: 308-314, 2007.

BONIFAZI, F.; VIVO, A.; ROSTI, G.; TIRIBELLI, M.; RUSSO, D.; TRABACCHI, E.; FIACCHINI, M.; MONTERFUSCO, E.; BACCARANI, M. – Testing Sokal’s and the new prognostic score for chronic myeloid leukaemia treated with α -interferon. – **Br J Haematol**. 111: 587-595, 2000.

BORTOLHEIRO, T.C.; CHIATTONE, C.S. – Leucemia mielóide crônica: história natural e classificação – **Rev Bras Hematol Hemoter**. 30 (1): 3-7, 2008.

BOTTORFF, M.; HANSTEN, P. – Long-term safety of hepatic hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitors: the role of metabolism-monograph for physicians. – **Arch Intern Med**. 160(15): 2273-2280, 2000.

BRANDFORD, S.; HUGHES, T.P.; RUDZIKI, Z. – Monitoring chronic myeloid leukaemia therapy by real-time quantitative PCR in blood is a reliable alternative to bone marrow cytogenetics. – **Brit J Haematol**. 107: 587-599, 1999.

BRANDFORD,S.; CROSS, N.C.; HOCHHAUS, A.; RADICH, J.; SAGLIO, G.; KAEDA, J. – Rationale for the recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts in patients with chronic myeloid leukaemia . – **Leukemia**. 20(11): 1925-1930, 2006.

BRASIL. Portaria no 347, de 23 de junho de 2008. Altera o item 4 do anexo da portaria SAS/MS No 431, de 03 de outubro de 2001, conforme anexo desta portaria. Diário Oficial da União, Brasília, p.54, cI., 25 de junho de 2008, Seção I.

BUCHDUNGER, E.; CIOFFI, C.L.; STOVER, D.; OHNO-JONES, S.; DRUKER, B.J.; LYDON, N.B. – Abl protein-tyrosine kinase inhibitor STI571 inhibits in vitro signal transduction mediated by c-kit and platelet-derived growth factor receptors. – **J Pharmacol Exp Ther.** 295: 139-145, 2000.

CALABRETTA, B. & PERROTTI, D. – The biology of CML blast crisis. – **Blood.** 103(11): 4009-4022, 2004.

CARVALHO, P.V.B.; LOURENÇO, G.J.; ZOCCA, M.; PAGNANO, K.B.B.; LORAND-METZE, I.; SOUZA, C.A.; LIMA, C.S.P. – Expression of p190 *BCR-ABL* fusion gene in a patient with chronic myeloid leucemia. – **Rev Bras Hematol Hemoter.** 25(3): 173-176, 2003.

CAVALLI, S.A.; HIRATA, M.H.; HIRATA, R.D.C. – Detection of *MboII* at the 5' promoter region of CYP3A4. – **Clin Chem.** 47(2): 348-351, 2001.

CERVANTES, F.; LÓPEZ-GARRIDO, P.; MONTERO, M.I.; JONTE, F.; MARTINEZ, J.; HERNANDEZ-BOLUDA, J.C.; CALBACHO, M.; SUREDA, A.; PEREZ-RUZ, G.; NIETO, J.B.; PEREZ-LOPES, C.; ROMAN-GOMEZ, J.; GONÇALES, M.; PEREIRA, A.; COLOMER, D. – Early intervention during imatinib therapy in patients with newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: a study of the Spanish PETHEMA group – **Hematologia.** 95(8): 1317-1324, 2010.

CHABNER, B.A.; AMREIN, P.C.; DRUKER, B.J.; MICHAELSON, M.D.; MITSIADES, C.S.; GOSS, P.E.; RYA, D.P.; RAMACHANDRA, S.; RICHARDSON, P.G.; SUPKO,

J.G.; WILSON, W.H. – Agentes antineoplásicos, *IN*: GOODMAN & GILMAN. As bases farmacológicas da terapêutica. 11 ed. Rio de Janeiro: MCGRAW, H. 2007, 1264p

CHAMPLIN, R.E. & GOLDE, D.W. – Chronic myelogenous leukemia: recent advances. – **Blood**. 65(5): 1039-1047, 1985.

CHABNER, B.A.; BARNES, J.; NEAL, J.; OLSON, E.; MUJAGIC, H.; SEQUIST, L.; WILSON, E.; LONGO, D.L.; MITSIADES, C.; RICHARDSON, P. – Terapias dirigidas para alvos: inibidores da tirosinocinase, anticorpos monoclonais e citocinas – In: Brunton, LL.- **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**, New York: McGraw-Hill Companies, Inc. New York, 2007, 2079p.

CHU, S.; HOLTZ, M.; GUPTA, M.; BATIA, R. – BCR-ABL kinase inhibition by imatinib mesylate enhances MAP kinase activity in chronic myelogenous leukemia CG34+ cell. – **Blood** 103 (8): 3166-3174, 2004.

CILLONI, D.; SAGLIO, G. – BCR-ABL and Signal Transduction – In: Melo, J.V.; Goldman, J.M.- **Hematologic Malignancies: Myeloproliferative Disorders**, New York: Springer Berlin Heidelberg New York, 2007, 349p.

COHEN, M.H.; WILLIAMS, G.; JOHNSON, J.R.; DUAN, J.; GOBBURU, J.; RAHMAN, A.; BENSON, K.; LEIGHTON, J.; KIM, S.K.; WOOD, R.; ROTHMAN, M.; CHEN, G.; MAUNG U, K.; STATEN, A.M.; PAZDUR, R. – Approval summary for imatinib mesylate capsules in the treatment of chronic myelogenous leukemia – **Clin Cancer Res**. 8: 935-942, 2002.

CONCHON, M. – Leucemia mielóide crônica: diagnóstico e tratamento. – **Prática Hospitalar**. 65: 37-41, 2009.

CONDUTAS DO INCA – Leucemia mielóide crônica. – **Rev Bras Cancer**. 4(1): 5-8, 2003.

CORTES, J.; TAPAZ, M.; O'BRIEN, S.; JONES, D.; LUTHRA, R.; SHAN, J. – Molecular responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase treated with imatinibe mesylate – **Clin Cancer Res.** 11(9):3425-3432, 2005.

DAGHER, R.; JOHNSON, J.; WILLIAMS, G.; KEEGAN, P.; PAZDUR, R. – Accelerated approval of oncology products: a decade of experience. – **J Natl Cancer Inst.** 96: 1500-1509, 2004.

DALEY, C.Q.; VAN ETTEN, R.A.; BALTIMORE, D. – Induction of chronic myelogenous leukemia in mice by p210BCR-ABL gene of Philadelphia chromosome. – **Science.** 247: 824-830, 1990.

DEININGER, M.W.N.; DRUKER, B.J. – Specific targeted therapy of chronic myelogenous leukemia with imatinibe. – **Pharmacol Rev.** 55 (3): 401-423, 2003a.

DEININGER, M.W.N.; DRUKER, B.J. – Specific targeted therapy of chronic myelogenous leukemia with imatinibe – **Pharmacol Rev.** 55(3): 401-423, 2003.

DEININGER, M.W.N.; GOLDMAN, J.M.; MELO, J.V. – The molecular biology of chronic myeloid leukemia. – **Blood.** 96(10): 3343-3356, 2000.

DEININGER, M.W.N.; STEPHEN, G.O.; FORD, J.M.; DRUKER, B.J. – Pratical management of patients with chronic myeloid leukemia receiving imatinibe. – **J Clin Oncol** 21: 1637-1647, 2003.

DEMOTES-MAINARD, J. – Comunicação celular – In: KAMOUN, P.; LAVOINNE, A.; VERNEUIL, H. – **Bioquímica e Biologia Molecular.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 4200p.

DI BACCO, A.; KEESHAN, K.; MCKENNA, S.L.; COTTER, T.G. – Molecular abnormalities in chronic myeloid leukemia: deregulation of cell growth and apoptosis. – **Oncologist.** 5: 405-415, 2000.

DOBBIN, J.A.; GADELHA, M.I.P. – Mesilato de imatinibe para tratamento da leucemia mielóide crônica - **Rev Bras Cancer.** 48(3): 429-438, 2002.

DONATO, N.J.; WU, J.Y.; STAPLEY, J.; LIN, H.; ARLINGHAUS, R.; AGGARWAL, B.; SHISHODIN, S.; ALBITAR, M.; HAYES, K.; KANTARJIAN, H.; TALPAZ, M. – Imatinib mesylate resistance through BCR-ABL independence in chronic myelogenous leukemia - **Cancer Res.** 64: 672-77, 2004.

DRUKER, B.J. – Imatinib as a paradigm of targeted therapies. – **J Clin Oncol.** 239s-245s, 2003.

DRUKER, B.J. – Imatinib as a paradigm of targeted therapies. – **J Clin Oncol.** 239s-245s, 2003.

DRUKER, B.J., TALPAZ, M.; RESTA, D.J.; PENG, B.; BUCHDUNGER, E.; FORD, J.M., LYDON, N.B.; KANTARJIAN, H.; CAPDEVILLE, R.; OHNO-JONES, S.; SAWYERS, L – Efficacy and safety of a specific inhibitor of BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. – **N England J Med.** 344 (14): 1031-1037, 2001.

DRUKER, B.J.; GUILHOT, F.; O'BRIEN, S.G.; GATHMAN, I.; KANTARJIAN, H.; GATTERMANN, N.; DEININGER, M.W.N.; STONE, R.; CERVANTES, F.; HOCHHAUS, A.; POWELL, B.L.; GABRILOVE, J.L.; ROUSSELOT, P.; REIFFERS, J.; CORNELISEN, J.J.; HUGHES, T.; AGIS, H.; FISCHER, T.; VERHOEF, G.; SHEPHERD, J.; SAGLIO, G.; GRATWOHL, A.; NIELSEN, J.L.; BACCARANI, M.; SO, C.; PHARM, D.; LETVAK, L.; LARSON, R. – Five –year follow-up of patients receiving imatinibe for chronic myeloid leukemia – **N Engl J Med.** 355: 2408-2417, 2006.

DRUKER, B.J.; LYDON, N.B – Lessosn leanerd from the development of an Abl tyrosine kinase inhibitor for chronic myelogenous leukemia. – **J Clin Invest.** 105: 3-7, 2000.

DRUKER, B.J.; TAMURA, S.; BUCHDUNGER, E.; OHNO, S.; SEGAL, G.M.; FANNING, S.; ZIMMERMANN, J.; LYDON N.B. . – Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. – **Nat Med.** 2: 561-566, 1996.

DRUKER, B.J.; GUILHOT, F.; O'BRIEN, S.G.; GATHMANN, I.; KANTARJIAN, H.; GATTERMANN, N.; DEININGER, M.W.N.; SILVER, R.T.; GOLDMAN, J.M.; STONE, R.M.; CERVANTES, F.; HOCHHAUS, A.; POWELL, B.L.; GABRILOVE, J.L.; ROUSSELOT, P.; REIFFERS, J.; CORNELISSEN, J.J.; HUGHES, T.; AGIS, H.; FISCHER, T.; VERHOEF, G.; SHEPHERD, J.; SAGLIO, G.; GRATWOHL, A.; NIELSEN, J.L.; RADICH, J.P.; SIMONSSON, B.; TAYLOR, K.; BACCARANI, M.; SO, C.; LETVAK, C.L.; LARSON, R.A – Five-year follow-up of patients receiving imatinibe for chronic myeloid leukemia – **N Engl J Med.** 355: 24808-2417, 2006.

DRUKER, B.J.; GUILHOT, F.; O'BRIEN, S.G.; GATHMANN, I.; KANTARJIAN, H.; GATTERMANN, N.; DEININGER, M.W.N.; SILVER, R.T.; GOLDMAN, J.M.; STONE, R.M.; CERVANTES, F.; HOCHHAUS, A.; POWELL, B.L.; GABRILOVE, J.L.; ROUSSELOT, P.; REIFFERS, J.; CORNELISSEN, J.J.; HUGHES, T.; AGIS, H.; FISCHER, T.; VERHOEF, G.; SHEPHERD, J.; SAGLIO, G.; GRATWOHL, A.; NIELSEN, J.L.; RADICH, J.P.; SIMONSSON, B.; TAYLOR, K.; BACCARANI, M.; SO, C.; LETVAK, C.L.; LARSON, R.A – Five-year follow-up of patients receiving imatinibe for chronic myeloid leukemia. – **N Engl J Med.** 355: 24808-2417, 2006.

FARDEL, S.; MOSHE, S.; TALPAS, M.; ESTROV, Z.; O'BRIEN, S.; KURZROCK, R., KANTARJIAN, H.M. – The biology of chronic myeloid leukemia. – **N Engl J Med.** 341: 164-172, 1999.

- FRAZER, R.; IRVINE, A.E.; MCMULLIN, M.F. – Chronic myeloid leukaemia in the 21st century. – **Ulster Med.** 76(1): 8-17, 2007.
- FRENOY, N.; CHABLI, A.; SOL, O.; GOLDSCHMIT, E.; LEMONNIER, M.P.; MISSET, J.L.; DEBUIRE, B. – Application of a new protocol for nested PCR to the detection of minimal residual bcr-abl transcripts. – **Leukemia**. 8(8): 1411-1414, 1994.
- FUNKE, V.A.M.; MEDEIRO, C.R.; LIMA, D.H.; SETUBAL, D.C.; BITENCOURT, M.A.; RUIZ, J.; NETO, J.Z.; PASQUINI, R. – Terapy of chronic myeloid leukemia with imatinibe mesylate in Brazil: a study of 98 cases. – **Rev Bras Hematol Hemoter**. 27(3): 159-165, 2005.
- FUNKE, V.M.; SETUBAL, D.C.; RUIZ, J.; AZAMBUJA, A.P.; LIMA, D.H.; KOJO, T.K.; PASQUINI, R. – O tratamento da leucemia mielóide crônica com o mesilato de imatinibe. – **Rev Bras Hematol Hemoter**. 30(supl.1): 27-31, 2008.
- FUNKE, V.M.; BIETENCOURT, H.; VIGORITO, A.C.; ARANHA, F.J. – Leucemia mielóide crônica e outras doenças mieloproliferativas crônicas – **Rev Bras Hematol Hemoter**. 32(supl.1): 71-90, 2010.
- GAMBACORTI-PASSERINI, C.B.; GUNBY, R.H.; PIAZZA, R.; GALIETTA, A.; ROSTAGNO, R.; SCAPOZZA, L. – Molecular mechanisms of resistance to imatinibe in Philadelphia chromossome – positive leucemias – **Lancet Oncol**. 4(2): 75-85, 2003.
- GEARY, C.G. – Historical Review: The story of chronic myeloid leukaemia. – **Br J Haematol**. 110(1): 2-11, 2000.
- GARCIA, M.A.S. – Aspectos farmacológicas del citocromo P450: importância clínica – In: MÓYA, F.B.; ARBIOL, E.A. – **Aspectos fundamentales del citocromo P450**. Madri: Eptisa Salud Casta, 2011, 177p.

GRÉEN, H.; SKOGLUND, K.; ROMMEL, F.; MIRGHANI, R.A.; LOFTI, K. – CYP3A4 activity influences imatinibe response in patients with chronic myeloid leukemia: a pilot study on in vivo CYP3A4 activity. – **Eur J Clin Pharmacol.** 66: 383-386, 2010.

GROFFEN, J.; STEPHENSON, J.R.; HEINTERKAMP, N.; DE KLEIN, A.; BARTRAM, C.R.; GROSVELD, G. – Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr on chromosome 22 – **Cell.** 36: 93-99, 1984.

GSCHWIND, P.H.; PFAAR, U.; WALDMEIER, F.; ZOLLINGER, M.; SAYER, C.; ZBINDEN, P.; HAYES, M.; POKORNY, R.; SEIBERLING, M.; BEN-AM.; PENG, B.; GROSS, G. – Metabolism and disposition of imatinibe mesylate in healthy volunteers – **Drug Metab Dispos.** 33(10): 1503-1512, 2005.

HANTSCHHEL, O. & SUPERTI-FURGA, G. – Regulation of the c-abl and BCR-ABL tyrosine kinases. – **Nat Rev.** 5: 33-44, 2004.

HASFORD, J.; PFIRRMANN, M.; HEHLMANN, R.; ALLAN, N.C.; BACCARANI, M.; KLUIN-NELEMAS, J.C.; ALIMENA, G.; STEEGMANN, J.L.; ANSARI, H.A. – New prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. – **J Natl Cancer Inst.** 90: 850-858, 1998.

HAZLEHURST, L.; BEWRY, N.N.; NAIR, R.R.; PINILLA-IBARZ, J. – Signaling networks associated with BCR-ABL: dependent transformation. – **Cancer Control.** 16 (2): 100-107, 2009.

HEANEY, N.N.; HOLYOAKE, T.L. – Therapeutic targets in chronic myeloid leukaemia – **Hematol Oncol.** 5(2): 66-75, 2007.

HEHLMANN, R.; ANSARI, H.; HEIMPEL, H.; HOSSFELD, D.K.; KOLB, H.J.; LUFFLER, H.; PRALLE, H.; QUEISSER, W.; REITER, A.; HOCHHAUS, A.; GERMAN CML-STUDY GROUP. – Comparative analysis of the impact of risk profile and of drug

therapy on survival in CML using Sokal's index and a new score. - **Br J Haematol.** 97: 76-85, 1997.

HEHLMANN, R.; HOCHHAUS, A.; BACCARANI, M. – Chronic myeloid leukaemia. – **Lancet.** 370: 342-350, 2007.

HEHLMANN, R.; LAUSEKER, M.; JUNG-MUNKWITZ, S.; LEITNER, A.; MULLHER, M.C.; PLESTCH, N.; PROETEL, U. – Tolerability-adapted imatinibe 800mg/d versus 400mg/d plus interferon in newly diagnosed chronic myeloid leykemia – **J Clin Oncol.** 29: 1634-1642, 2011.

HENDERSON E.S.; LISTER, T.A.; GREAVES, M.F. – **Leukemia** – Philadelphia: W.B. Saunders. 1996. 619p.

HENKES, M.; VAN DER KUIP, H.; AULITZKY, W.E. – Therapeutic options for chronic myeloid leukemia: focus on imatinibe (glivec®, gleevec™). – **Ther Clin Risk Manag.** 1: 163-187, 2008.

HIRT, J.; WATKINS, P.B.; STRAWDERMAN, M.; SCHOTT, A.; BRUNO, R.; BAKER, L.H – The effect of an individual-s cytochrome CYP3A4 activity on docetaxel clearance. **Clin Cancer Res.** 6(4): 1255-1258, 2000.

HOCHHAUS, A. – Treatment with tyrosine kinase inhibitors – In: Melo, J.V.; GOLDMAN, J.M. – **Myeloproliferative disorders: Hematologic Malignancies.** New Yourk: Springer, 2004, 347p.

HOCHHAUS, A. – Advances in the treatment of haematological malignancies: optimal sequence of CML treatment – **Ann. Oncol.** 18(9): 58-96, 2007.

HOCHHAUS, A.; DRUKER, B.; SAWYERS, C.; GUILHOT, F.;SHCIFFER, C.A.; – Favorable long-term follow-up results over 6 years for response, survival, and safety with

imatinibe mesylate therapy in chronic-phase chronic myeloids leukemia after failure of interferon- α treatment – **Blood**. 111: 1039-1043, 2008.

HOCHHAUS A.; O'BRIEN, S.G.; GUILHOT, F. – Six-years follow-up of patients receiving imatinibe for the first-line treatment of chronic myeloid leukemia. – **Leukemia**. 23: 1054-1061, 2009.

HUGHES, T.; BRANFORD, S. – Monitoring disease response – In: Melo, J.V.; Goldman, J.M.- **Hematologic Malignancies: Myeloproliferative Disorders**. New York: Springer Berlin Heidelberg New York, 2007, 349p.

HUGHES, T.; KAEDA, J.; BRANDFORD, S.; RUDZKI, Z.; HOCHHAUS, A.; HENSLEY, M.L.; GATHMANN, I.; BOLTON, A.E.; VAN HOOMISSEN, I.C.; GOLDMAN, J.M.; RADICH, J. – Frequency of major molecular responses to imatinibe or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed chronic myeloid leucemia – **N Engl J Med**. 349: 1423-1432, 2003.

INCA – INSTITUTO NACIONAL DO CANCER – Estimativa da incidência e mortalidade por câncer no Brasil: Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012>. Acesso em 02 de Janeiro de 2012.

JABBOUR, E.; KANTARJIAN, H.M.; DAN, J.; SHAN, J.; O'BRIEN, S.; REDDY, N.; WIERDA, W.G.; FARDEL, S.; GARCIA-MANERO, G.; VERSTOVSED, S.; RIOS, M.B.; CORTES, J. – Imatinib mesylate dose escalation is associated with durable responses in patients with chronic myeloid leukemia after failure on standard-dose imatinibe therapy – **Blood**. 113: 2154-2160, 2009.

KAJINAMI, K.; BROUSSEAU, M.E.; ORDOVAS, J.M.; SCHAEFER, E.J. – CYP3A4 genotypes and plasma lipoprotein levels before and after treatment with atorvastatin in primary hypercholesterolemia – **Am J Cardiol**. 93(1): 104-107, 2004.

KALIDAS, M.; KANTARJIAN, H.; TALPAZ, M. – Chronic myelogenous leukemia. – **JAMA**. 286 (8): 895-898, 2001.

KANTARJIAN, H.; GATTERMANN, N.; DEININGER, M.W.N.; SILVER, R.T.; GOLDMAN, J.M.; STONE, R.M.; CERVANTES, F.; HOCHHAUS, A.; POWELL, B.L.; GABRILOVE, J.L.; ROUSSELOT, P.; REIFFERS, J.; CORNELISSEN, J.J.; HUGHES, T.; AGIS, H.; FISCHER, T.; VERHOEF, G.; SHEPHERD, J.; SAGLIO, G.; GRATWOHL, A.; NIELSEN, J.L.; RADICH, J.P.; SIMONSSON, B.; TAYLOR, K.; BACCARANI, M.; SO, C.; LETVAK, C.L.; LARSON, R.A. – Five-year follow-up of patients receiving imatinibe for chronic myeloid leucemia. – **N Engl J Med**. 355: 24808-2417, 2006.

KANTARJIAN, H.; SAWYERS, C.; HOCHHAUS, A.; GUILHOT, F.; SCHIFFER, C.; GAMBACORTI-PASSERINI, C.; NIEDERWIESSER, D.; RESTA, D.; GAPDEVILLE, R.; ZOELLNER, U.; TALPAZ, M.; DRUKER, B. – Hematologic and cytogenetic responses to imatinibe mesylate in chronic myelogenous leukemia. - **N Engl J Med**. 346 (9): 645-652, 2002.

KANTARJIAN, H.M.; O'BRIEN, S.; CORTES, J. ; GILES, F.;– Imatinib mesylate therapy improves survival in patients with newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in the chronic phase. – **Cancer**. 15(98): 2636-2642, 2003.

KANTARJIAN, H.M.; GILES, F.; QUINTÁS-CARDAMA, Q.; CORTES, J. – Important therapeutic targets in chronic myelogenous leukemia. – **Clin Cancer Res**. 13: 1089-1097, 2007.

KANTARJIAN, H.M.; SMITH, T.L.; MACCREDIE, K.B.; KEATING, M.J.; WALTERS, R.S.; TALPAZ, M.; HESTER, J.P.; BLIGHAM, G.; GEHAN, E.; FREIREICH, E.J. –

Chronic myelogenous leukemia: a multivariate analysis of the association of patient characteristics and therapy with survival. – **Blood**. 66: 1326-1335, 1985.

KESHAHA, C., MCCANLIES, E.C. AND WESTON, A. – CYP3A4 polymorphisms – potential risk factors for breast and prostate cancer: a HuGE review. **Am J Epidemiol**. 160: 825-841, 2004.

KITTLES, R.A.; CHEN, W.; PANGULURI, R.K.; AHAGHOTOU, C.; JACKSON, A.; ADEBAMOWO, C.A. – *CYP3A4-V* and prostate cancer in African Americans: casual or confounding association because of population stratification? – **Human Genet**. 110: 553-560, 2002.

KOGEL, C.E.; SCHELLENS, J.M. – Imatinib – **Oncologist**. 12: 1390-1394, 2007.

KRAUSE, D.S.; VAN ETEN, R. – Tyrosine kinases as targets for cancer therapy. – **N Engl J Med**. 353: 172-187, 2005.

KURZROCK, R.; KANTARJIAN, H.M.; DRUKER, B.J.; TALPAZ, M. – Philadelphia chromosome – Positive leukemias: from basic mechanisms to molecular therapeutics – **Ann Intern Med**. 138: 819-830, 2003.

LAMBA, J.K.; LIN, Y.S.; THUMMEL, K.; DALY, A.; WATKINS, P.B.; STROM, S.; ZHANG, J.; SCHETZ, E.G. – Common allelic variants of cytochrome P4503A4 and their prevalence in different populations. – **Pharmacogenetics**. 12: 121-132, 2002.

LAURENTE, E.; TALPAZ, M.; KANTARJIAN, H.; KURZROCK, R. – The BCR gene and Philadelphia chromosome-positive leukemogenesis. – **Cancer Res**. 61: 2343-4355, 2001.

LAVALLADE, H.; APPERLEY, J.A.; KHORASHAD, J.S.; MILOJKOVIC, D.; REID, A.G.; BUA, M.; SZYDLO, R.; OLAVARRIA, E.; KAEDA, J.; GOLDMAN, J.M.; MARIN, D. – Imatinib for newly diagnosed patients with chronic myeloid leukemia:

incidence of sustained responses in an intention to treat analysis – **J Clin Oncol.** 26: 3358-3363, 2008.

LICHTMAN, M.A. & LIESVELD, J.L. – Chronic myeloid leukemia and related disorders. In: Beutler, E; Lichtman, M.A.; Coller, B.S.; Kipps, T.J; Seligsohn, U. – **Hematology**. 6th. New York: McGraw-Hill, 2001, 1085p.

LUIZONL, M.R.; METZGER, I.F.; SANDRINI, V.C.; SANTOS, J.E.T. – Bases da Farmacogenética. – **RGE**. 05(1): 39-42, 2010.

MA, M.K.; WOO, M.H.; MCLEOD, H.L. – Genetic basis of drug metabolism. – **Am J Health- Syst Pharm**. 59: 2061-2069, 2002.

MACHADO, K.K.; KATZ, A.; SAAD, E.D. – Sobrevida global e outros desfechos clínicos em câncer de mama: situação atual e controvérsias. – **Rev Assoc Med Bras**. 56:493-516, 2010.

MELO, J.V. – The diversity of BCR-ABL fusion proteins and their relationship to leukemia phenotype. – **Blood**. 88(7): 2375-2384, 1996.

MELO, J.V; HUGHES, T.P; APPERLEY, J.F. – Chronic myeloid leukemia – **Hematology**. 132-152, 2003.

METZGER, I.F.; SOUZA-COSTA, D.C.; TANUS-SANTOS, J.E. – Farmacogenética: princípios, aplicações e perspectivas. – **Medicina, Ribeirão Preto**. 39(4); 515-521, 2006.

MICHOR, F.; IWASA, Y.; NOWAK, M.A. – The age incidence of chronic myeloid leukemia can be explained by a one- mutation model. – **Proc Natl Acad Sci USA**. 103(40): 14931-14934, 2006.

MINISTERIO DA SAÚDE DO BRASIL – Portaria SAS/MS 431, de 03/10/2001- Aprova o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para o tratamento da leucemia mielóide crônica do adulto, com retificação publicada em 29/10/2001.

- MITELMAN, F. – Banded Preparations. In: An international system for human cytogenetic nomenclature 1995. – **ISCN 1995**. Basel: S. Karger Publishers, Inc, 1995, 144p.
- MONROY, R.H.; VIVEROS, P.V.; FRANCO, J.C. – Chronic myeloid leucemia current concepts in physiopathology and treatment. – **Cancerologia**. 2: 137-147, 2007.
- MUGHAL, T.; GOLDMAN, J.M. – Therapeutic and concepts of cure in CML – In: Melo, J.V.; Goldman, J.M.- **Hematologic Malignancies: Myeloproliferative Disorders**, New York: Springer Berlin Heidelberg New York, 2007, 349p.
- NARDI, V.; AZAM, M.; DALEY, G.Q. – Mechanisms and implications of imatinib resistance mutations in BCR-ABL. – **Curr Opin Hematol**. 11: 35-43, 2003.
- NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK-NCC, 2008. DISPONÍVEL EM: <http://www.nccn.org/about/news/ebulletin/2008-06-14/nccn-sherman.asp>. Acesso em junho de 2008.
- NOWELL, C.G.; HUNGERFORD, D.A. – A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia – **Science**. 142: 1497, 1960.
- O'BRIEN, S.G.; GUILHOT, F.; LARSON, R.A.; GATHMANN, I.; BACARANI, M.; CERVANTES, F.; CORNELISSEN, J.J.; FISCHER, T.; HOCHHAUS, A.; HUGHES, T.; LECHNER, K.; NIELSEN, J.L.; ROUSSELOT, P.; REIFFERS, J.; SAGLIO, G.; SHEPHERD, J.; SIMONSSON, B.; GRATWOHL, A.; GOLDMAN, J.M.; KANTARJIAN, H.; TAYLOR, K.; VERHOEF, G.; BOLTON, A.E; CAPDEVILLE, R.; DRUKER, B.J. – Imatinib compared with interferon and low dose cytarabine for newly diagnosed phase chronic myeloid leukemia. – **N Engl J Med**. 348: 994-1004, 2003.
- PAGNANO, K.B.B. – Leucemia mielóide crônica: causas de falha do tratamento com mesilato de imatinibe. – **Rev Bras Hematol Hemoter** 30(1s): 22-26, 2008.

PARIS, P.L., KUPELIAN, P.A., HALL, J.M., WILLIAMS, T.L., LEVIN, H., KLEIN, E.A., CASEY, G. AND WITTE, J.S. – Association between a CYP3A4 genetic variant and clinical presentation in African-American prostate cancer patients. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** 8: 901-905, 1999.

PASQUINI, R. – Leucemia mielóide crônica: variantes da leucemia mielóide crônica – In: ZAGO, M.A.; FALCÃO, R.P.; PASQUINI, R. – **Hematologia: Fundamentos e Prática.** Ribeirão Preto: Atheneu, 2001. 680p.

PENG, B.; HAYES, M.; RESTA, D.; RACINE-POON, A.; DRUKER, B.J.; TALPAZ, M.; SAWYERS, C.L.; ROSAMILIA, M.; FORD, J.; LLOYDE, P.; CAPDEVILLE, R. – Pharmacokinetics and pharmacodynamics of imatinibe in a phase I trial with chronic myeloid leukemia patients. – **J Clin Oncol.** 22(5): 935-942, 2004.

PFAFF, S.L.; PARRA, E.J.; BONILLA, C.; HIESTER, K.; MCKEIGUE, P.M.; KAMBOH, M.I.; HUTCHINSON, R.G.; FERRELL, R.E.; BOERWINKLE, E.; SHRIVER, M.D. – Population structure in admixed populations: effect of admixture dynamics on the pattern of linkage disequilibrium – **Am J Hum Genet.** 68: 198-207, 2001.

PICARD, S.; TITIER, K.; ETIENNE, G.; TEILHET, E.; DUCINT, D.; BERNARD, M.A.; LASSALLE, R.; REIFFERS, J.; BEGAUD, B.; MOORE, N.; MOLIMARD, M.; MAHONN, F.X. – Trough imatinibe plasma levels are associated with both cytogenetic and molecular responses to standard-dose imatinibe in chronic myeloid leukemia. – **Blood.** 109: 3496-3499, 2007.

QUINTAS-CARDAMA, A.; KANTARJIAN, H.; CORTES, J. – New therapies for chronic myeloid leukemia – In: Melo, J.V.; Goldman, J.M. – **Hematologic Malignancies: Myeloproliferative Disorders.** New York: Springer Berlin Heidelberg New York, 2007, 349p.

QUINTAS-CARDAMA, A.; KANTARJIAN, H.M.; CORTES, J.E. – Mechanisms of primary and secondary resistance to imatinib in chronic myeloid leukemia. – **Cancer Control**. 16 (2): 122-131, 2009.

REBECCHI, I.M.M. – Leucemia mielóide crônica: estratégias terapêuticas atuais e mecanismos de resistência. – **Rev Bras Cien Saude**. 1(2): 49-58, 2003.

REDAELLI, A.; BELL, C.; CASAGRANDE, J.; STEPHENS, J.; BOTTEMAN, M.; LASKIN, B.; PASHOS, C. – Clinical and epidemiologic burden of chronic myelogenous leukemia – **Expert Rev Anticancer Ther**. 4(1): 85-96, 2004.

REN, R. – Mechanisms of BCR-ABL in the pathogenesis of chronic myelogenous leukaemia. – **Nat Rev**. 5: 172-183, 2005.

REYES-HERNANDEZ, O.D.; ARTEAGA-ILLÁN, G.; ELIZONDO, G. – Detection of CYP3A4*1B and CYP3A4*2 polymorphisms by RFLP: distribution frequencies in a Mexican population. – **Clin Genet**. 66(2): 166-168, 2004.

ROBERTSON, J.A.; BRODY, B.; BUCHANAN, A.; KAHN, J.; MCPHERSON, E. – Pharmacogenetic challenges for the health care system: genetically based drug metabolism could decrease overall health costs and fuel new drug development. – **Health Aff**. 21(4): 155-167, 2002.

ROMÁN, J.; JIMENEZ, A.; CASTILLEJO, J.A.; BARRIOS, M.; HEINIGER, A.; TORRES, A. – Nuevos aspectos em la biología molecular de la leucemia mielóide crónica. – **Hematologia**. 87(6): 171-178, 2003.

ROWLEY, J.D. – A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. – **Nature**. 5405(243): 290-291, 1973.

ROWLEY, J.D. – The Philadelphia chromosome translation: A paradigm for understanding leukemia. – **Cancer**. 65: 2178-2184, 1990.

ROY, L.; GUILHOT, J.; KRAHNKE, T.; GUERCI-BRESLER, A.; DRUKER, B.J.; LARSON, R.; O'BRIEN, S.; SO, C.; MASSIMINI, G.; GUILHOT, F. – Survival advantage from imatinib compared with the combination interferon- α plus cytarabine in chronic-phase chronic myelogenous leukemia: historical comparison between two phase 3 trials – **Blood**. 108: 1478-1484, 2006.

RUND, D.; KRICHEVSKY, S.; BAR-COHEN, S.; GOLDSCHMIDT, N.; MALIK, E.; GURAL, A.; SHAFRAN-TKVA, S.; BEN-NERIAH, S.; YEHUDA, B.D. – Therapy-related leukemia: clinical characteristics and analysis of new molecular risk factors in 96 adult patients. – **Leukemia**. 19: 1919-1928, 2005.

SALGIA, R.; JIAN-LIANG, L.; EWANIUK, D.S.; PEAR, W.; PISICK, E.; BURKY, S.A.; ERNST, T.; SATTTLER, M.; CHEN L.B.; GRIFFIN, J.D. – BCR/ABL induces multiple abnormalities of cytoskeletal function. – **J Clin Invest**. 100: 46-57, 1997.

SATA, F.; SAPONE, A.; ELIZONDO, G.; STOCKER, P.; MILLER, V.P.; ZHENG, W.; RAUNIO, H.; CRESPI, C.L.; GONZALEZ, F.J. - CYP3A4 allelic variants with amino acid substitutions in exons 7 and 12: Evidence for an allelic variant with altered catalytic activityCYP3A4 allelic variants with amino acid substitutions in exons 7 and 12: Evidence for an allelic variant with altered catalytic activity. – **Clin Pharmacol Ther**. 64: 48-59, 2000.

SATTTLER, M. & SALGIA, R. – Activation of hematopoietic growth factor signal transduction pathways by the human oncogene BCR/ABL. – **Cytokine Growth Factor Rev**. 8(1): 63-79, 1997.

SATTler, M.; MOHI, M.G.; PRIDE, Y.B.; QUINNAN, L.R.; MALOUR, N.A.; PODRA, K.; GESBERT, F.; IWASAKI, H.; LI, S.; VAN ETTEN, R.A.; GU, H.; GRIFFIN, J.F.; NEEL, B.G. – Critical role for Gab2 in transformation by BCR/ABL. – **Cancer Cell**. 5: 479-492, 2002.

SAVAGE, D.C. & ANTMAN, K.H. – Imatinib mesylate: a new oral targeted therapy. – **N Engl J Med**. 346 (9): 683-693, 2002.

SAWYERS, C.L. – Chronic myeloid leukemia. - **N Engl J Med**. 340 (17): 1330-1340, 1999.

SAWYERS, C.L.; CAPDEVILLE, R. – Clinical development on STI-571 in chronic myelogenous leukemia – **Hematology**. 87-91, 2001.

SAWYERS, C.L.; HOCHHAUS, A.; FELDMAN, E.; GOLDMAN, J.M.; MILLER, C.B.; OTTMANN, O.G.; SCHIFFER, C.A.; TALPAZ, M.; GUILHOT, F.; DEININGER, M.W.N.; FISCHER, T.; O'BRIEN, S.G.; STONE, R.M.; GAMBACORTI-PASERINI, C.B.; RUSSELL, N.H.; REIFFERS, J.J.; SHEA, T.C.; CHAPUIS, B.; COUTRE, S.; TURA, S.; MORRA, E.; LARSON, R.A.; SAVEN, A.; PESCHEL, C.; GRATWOHL, A.; MANDELI, F.; BEN-AM, M.; GATHMANN, I.; CAPDEVILLE, R.; PAQUETTE, R.L.; DRUKER, B.J. - Imatinib induces hematologic and cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in myeloid blast crisis: results of a phase II study. – **Blood**. 99 (10): 3530-3539, 2002.

SERDLOW, SR; CAMPO, E.; HARRIS, N.L.; JAFFE, E.S.; PILERI, S.A.; STEIN, H.; THIELE, J.; VARDIMAN, J.W. – World Health Organization classifications of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. – **IARC Press. Lyon, France**, 2008.

SHAM, P. – Transmission/disequilibrium tests for multiallelic loci . – **Am J Hum Genet**. 61: 774-778, 1997.

SILVADO, C. – Farmacogenética e antiepilépticos: farmacologia das drogas antiepilépticas: da teoria à prática – **J Epilepsy Clin Neurophysiol.** 14 (2): 51-56, 2008

SILVEIRA, C.A.P.; FERRARI, I. – First-line treatment with imatinibe mesylate in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia: experience of a public hospital in a developing country of South America. – **Leuk Lymphoma.** 2012 Jan 31, [Epub aheadof print] 1-3p.

SINGH, K- Cytochrome P450 enzyme isoforms and their therapeutic implications: an update. – **Indian J Med Sci.** 61(2): 102-116, 2007.

SOKAL, J.E.; COX, E.B.; BACCARANI, M. – Prognostic discrimination in good risk chronic granulocytic leukemia; The Italian cooperative CML study group. – **Blood.** 63: 789-799, 1984.

SOUZA, C.A. & PAGNANO, F. – Os desafios no tratamento da leukemia mielóide crônica na era do mesilato de imatinibe. – **Rev Bras Hematol Hemoter.** 24(4): 282-284, 2004.

SOUZA, C.A.; PAGNANO, F.; BENDIT, I.; CONCHON, M.; FREITAS, C.M.B.M.; COELHO, A.M.; FUNKE, V.A.M.; BERNARDO, W.M. – Projeto Diretrizes: leucemia mielóide crônica – **Associação Brasileira de Hematologia e Conselho Federal de Medicina**, 2012.

STEELMAN, L.S.; POHNERT, S.C.; SHELTON, J.G.; FRANKLIN, R.A.; BERTRAND, F.E.; MCCUBREY, J.A. – JAK/STAT, Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt and BCR-ABL in cell cycle progression and leukemogenesis. – **Leukemia.** 18: 189-218, 2004.

SUAREZ-KURTZ, G. – Pharmacogenomics in the Brazilian population – **Front Pharmacol.** 118:1-10, 2010.

SWANSBURY GJ. – Cytogenetic technique for human leukaemias. In: Pollard, JM, Walker, JM. Methods in Molecular Biology. Totowa: N.J., Human Press Inc., 1997, 323p.

TALPAZ, M.; SILVER, R.T.; DRUKER, B.J.; GOLDMANN, J.M.; GAMBACORTI-PASSERINI, C.; GUILHOT, F.; SCHIFFER, C.A.; DEININGER, W.N.; LENNARD, A.L.; HOCHHAUS, A.; OTTMANN, O.G.; GRATWOHL, A.; BACCARANI, M.; STONE, R.; TURA, S.; FRANCOIS-XAVIER, M.; FERNANDES-REESE, S.; GATHMANN, I.; CAPDEVILLE, R.; KANTARJIAN, H.M.; SAWEYRS, C.L. – Imatinib induces durable hematologic and cytogenetic responses in patients with accelerated. – **Blood**. 99: 1028-1937, 2002.

TAYEB, M.T., CLARK, C., SHARP, L., HAITES, N.E., ROONEY, P.H., MURRAY, G.I., PAYNE, S.N. AND MCLEOD, H.L. – CYP3A4 promoter variant is associated with prostate cancer risk in men with benign prostate hyperplasia. – **Oncol Rep**. 9: 653-655, 2002.

THE LEUKEMIA & LYMPHOMA SOCIETY: Leukemia facts and statistics from Leukemia, Lymphoma, Myeloma, Facts 2009-2010. http://www.leukemia-lymphoma.org/all_page?item_id=9346. Acesso em 18 de Janeiro de 2010.

THOMAS, M.J.; Irving, J.A.E.; LENNARD, A.L.; PROCTOR, S.J.; TAYLOR, P.R.A. – Validation of the Hasford score in a demographic study in chronic granyulocytic leukaemia. – **J Clin Pathol**. 54: 491-493, 2001.

TODARO, J.; FERREIRA, E.; HAMERSCHAK, N.; SIMON, S.D.; KUTNER, J.M.; PIETROCOLO, M.; BOROVNIK, C.L. – Imatinib improves survival of CML patients in accelerated phase: A 48-month follow-up. – **Einstein**. 4(10): 16-21, 2005.

VAN ERP, N.P.; GELDERBLUM, H.; KARLSSON, M.O.; LI, J.; ZHAO, M.; OUWERKERK, J.; NORTIER, J.W.; GUCHELAAR, H.J.; BAKER, S.F.;

SPARREBOOM, A. – Influence of CYP3a4 inhibitor on the steady-state pharmacokinetics of imatinib. – **Clin Cancer Res.** 13(24): 7394-7400, 2007.

VARDIMAN, J.E.; MELO, J.V.; BACCARANI, M.; THIELE, J. – Chronic myelogenous leukemia, BCR-ABL1 positive. In: In: Swerdlow, S.H.; Campo, E.; Harris, N.L.; Jaffe, E.S.; Pileri, S.A.; Stein, H. – **WHO classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.** Lyon: IARC, 2008, 32-37p.

WANDEL, C.; WITTE, J.S.; JEFFEREY, M.; STEIN, M.; WOOD, A.J.J.; WILKINSON, G.R. – CYP3A4 activity in African American and European American men: Population differences and functional effect of the CYP3A4*1B 5'- promoter region polymorphism. – **Clin Pharmacol Ther.** 68 (1): 82-91, 2000.

WANG, A.H.; WANG, Y.Y.; YAO, Y.; XU, Z.Z.; ZHOU, L.; WANG, L.; ZHANG, L.; CHEN, Y.; SHEN, Z.X.; HU, J.; LI, J.M. – Summary of 615 patients of chronic myeloid leukemia in Shanghai from 2001 to 2006. – **J Exp Clin Cancer Res.** 29 (20): 1-6, 2010.

WANG, D.; GUO, Y.; WRIGHTON, S.A.; COOKE, G.E.; SADEE, W.; – Intronic polymorphism in *CYP3A4* affects hepatic expression and response to statin drugs – **Pharmacogenomics J** (1): 1-13, 2010.

WEAVER, A.D. – The development of the knowledge of the leucocyte. – **The Bull.** 988-992, 1953.

WIDMER, N.; DECOSTERD, L.A.; CSAJKA, C.; LEYVRAZ, S.; DUCHOSAL, M.A.; ROSSELET, A.; ROCHAT, B.; EAP, C.B.; HENRY, H.; BIOLLAZ, J.; BUCLIN, T. – Population pharmacokinetics of imatinib and the role of α 1-acid glycoprotein. – **Br J Clin Pharmacol.** 62(1): 97-112, 2006.

- WITTKE-THOMPSON, J.; PLUZHNIKOV, A.; COX, N.J. – Rational inferences about departures from Hardy-Weinberg equilibrium – **Am J Hum Genet.** 76: 967-986, 2005.
- WONG, S. & WITTE, O.N. – The BCR-ABL story: bench to bedside – **Annu Rev Immunol.** 22: 247-306, 2004.
- WOODHEAD, J.L.; FALLON, R.; FIGUERED, H.; LONGDALE, J.; MALCON, A.D. – Alternative methodology of gene diagnosis in human genetic disease: a practical approach. – Oxford: IRL Press, K.E. Davies (ed), 1986, p. 51-64.
- XU, J.; TURNER, A.; LITTLE, J.; BLEECKER, E.R.; MEYERS, D.A. – Positive results in association studies are associated with departure from Hardy-Weinberg equilibrium: hint to genotyping error? – **Hum Genet.** 111: 573-574, 2002.
- YANG, T.; KOZOPAS, K.M.; CRAIG, R.W. – The intracellular distribution and pattern of expression of Mcl-1 overlap with, but are not identical to, those of Bcl-2. – **J Cell Biol.** 2(60: 1173-1178, 1995.



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 28/07/08.
(Grupo III)

PARECER CEP: N° 530/2008 (Este n° deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)
CAAE: 0424.0.146.000-08

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: "IDENTIFICAÇÃO DOS POLIMORFISMOS A290G E T673C DO GENE *CYP3A4* ASSOCIADOS COM O METABOLISMO DO MESILATO DE IMATINIBE, NO TRATAMENTO DE PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA"
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Iramaia Angélica Neri
INSTITUIÇÃO: Laboratório de Genética do Câncer/DCM/FCM/UNICAMP
APRESENTAÇÃO AO CEP: 10/07/2008
APRESENTAR RELATÓRIO EM: 22/07/09 (O formulário encontra-se no site acima)

II - OBJETIVOS

Em uma amostra de pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica atendidos no Hemocentro/Unicamp que fazem uso de mesilato de imatinibe 400 mg ao dia como terapêutica para a doença, determinar a frequência dos genótipos dos polimorfismos A290G e T673C do gene *CYP3A4* e verificar se tais polimorfismos estão associados à resposta terapêutica e o padrão de toxicidade deste medicamento.

III - SUMÁRIO

A pesquisadora esclarece que a leucemia mielóide crônica (LMC) é uma doença clonal de células-tronco, caracterizada pela proliferação de elementos mielóides em vários estágios de diferenciação. O mesilato de imatinibe, ou STI571, é o medicamento padrão para pacientes com essa doença e é metabolizado pela enzima *CYP3A4*, sendo que polimorfismos nesse gene podem influenciar na resposta terapêutica. O presente estudo visa identificar os polimorfismos A290G e T673C do gene *CYP3A4* em 100 indivíduos com LMC em fase crônica, atendidos no Hemocentro/Unicamp, que receberam mesilato de imatinibe na dose de 400 mg ao dia. A estratégia será através da amplificação das regiões de interesse por meio de PCR e digestão enzimática. As porcentagens de resposta hematológica (avaliada a cada três meses) e citogenética (avaliada a cada seis meses) serão comparadas aos grupos de pacientes com genótipos distintos através do teste de Wilcoxon. O estudo molecular será realizado em DNA extraído por técnica padrão a partir de amostras de sangue periférico obtidas por ocasião da punção venosa realizada para a coleta de exames necessários ao diagnóstico ou acompanhamento clínico dos pacientes, de modo que nenhum material adicional será coletado. Esta pesquisa complementa o estudo clínico "Estudo aberto randomizado com Gleevec/Glivec (mesilato de imatinibe) 400 mg x 800 mg em pacientes com leucemia mielóide crônica em fase crônica (LMC-FC) recentemente diagnosticada sem tratamento prévio, usando endpoints moleculares" (CEP 351/2005), já aprovado e em andamento no Hemocentro/Unicamp. Serão avaliados retrospectivamente 120 pacientes com LMC em fase crônica precoce que receberam o mesilato

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13084-971 Campinas - SP

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br

- 1 -

de imatinibe como terapêutica específica única. Serão incluídos indivíduos de ambos os gêneros, com idades entre 18 e 75 anos, com LMC com cromossomo Philadelphia e rearranjo BCR-ABL, LMC esta documentada com determinadas definições (< 15% de blastos no sangue periférico e na medula óssea, < 30% de blastos mais promielócitos no sangue periférico e na medula óssea, < 20% de basófilos no sangue periférico e contagem igual ou superior a 100.000 plaquetas por mm³), com nenhuma evidência de envolvimento leucêmico extramedular (com exceção de hepatoesplenomegalia), com função de órgão adequada e, no caso das mulheres, com teste sérico para gravidez negativo até sete dias antes do início do estudo. Serão excluídos os sujeitos que receberam outra terapêutica ou com outras fases da doença, bem como aqueles que receberam a medicação por qualquer duração antes da entrada no estudo, que receberam qualquer tratamento para LMC antes da entrada no estudo por período maior que um mês (com exceção de hidroxiuréia ou anagrelida), com outro tumor primário, gestantes e lactantes, com outra condição médica grave e não controlada, que tenham recebido radioterapia ou cirurgia de grande porte até quatro semanas antes da entrada no estudo, com escore do estado de desempenho do ECOG maior ou igual a 3, com relação normalizada internacional ou tempo de tromboplastina parcial superior a 1,5, com sorologia positiva para HIV, com histórico de não-adesão a regimes médicos ou incapaz de compreender o TCLE e pacientes com irmãos doadores identificados, onde um transplante de medula óssea é eleito como tratamento de primeira linha.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Projeto destinado para dissertação de mestrado, acompanhado de folha de rosto da CONEP com assinatura do Prof. Cármino A. de Souza como responsável pela instituição onde será realizado o estudo, além de currículo lattes da pesquisadora responsável. Foi anexada folha de orçamento que descreve gastos de R\$ 7.492,90 com material de consumo, a ser arcada pelo laboratório onde será realizada a pesquisa. Para as amostras já estocadas pelo projeto 351/2005, a pesquisadora solicita dispensa do TCLE, visto que alguns pacientes já faleceram. Para os casos novos que deverão ser inseridos no grupo a ser estudado, será aplicado o TCLE anexado ao projeto. O TCLE apresentado está adequado e contempla as resoluções 196/96 e 347/05, entretanto informa o telefone errado do CEP. Este relator considera que o projeto está bem redigido e não oferece riscos aos sujeitos, entretanto não necessitaria entrar como novo projeto, pois é derivado de outro já em andamento.

Pendências: 1. Cancelar este registro de projeto e solicitar inclusão como adendo ao projeto 351/2005. 2. No TCLE, atualizar o telefone do CEP para (19) 3521-8936. 3. Embora tenha sido mencionada a resolução 347/05, seria adequado que a pesquisadora fizesse considerações a respeito da resolução 340/04, especialmente com relação ao capítulo III.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96 e suas complementares, manifesta-se por aguardar o atendimento às questões acima para emissão do seu parecer final.

SITUAÇÃO: projeto com pendências

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13084-971 Campinas - SP

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br



- ✓ *** As pendências deverão ser respondidas preferencialmente no prazo de 10 dias, a partir da data de envio pelo CEP/FCM.***
- ✓ **A resposta deve ser encaminhada pelo Protocolo da FCM em envelope fechado e acompanhado por fora do Formulário de Encaminhamento de Outros Documentos, disponível no site do CEP.**
- ✓ **Projetos de Grupo II e III deverão vir em 01 via e de Grupo I em 02 vias.**

* Quando após 60 dias de ter recebido um parecer pendente, o pesquisador não se manifestar quanto aos quesitos apresentados pelo CEP em seu parecer o projeto será considerado retirado e posteriormente havendo interesse, deverá ser apresentado novo protocolo e reiniciado o processo de registro (Res. CNS 196/96).

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - DATA DA REUNIÃO

VII Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 22 de julho de 2008.

Profa. Dra. Carmen Sílvia Bertuzzo
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

III - SUMÁRIO

A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença clonal de células-tronco, caracterizada pela proliferação de elementos mielóides em vários estágios de diferenciação. O resultado de inibição, ou T11211, é o medicamento padrão para pacientes com essa doença e é metabolizado pela enzima CYP3A4, sendo que polimorfismos dessa gene podem influenciar na resposta terapêutica. O presente estudo visa investigar os polimorfismos CYP3A4 e CYP2C8 do gene CYP3A4 em pacientes com LMC em fase crônica, avaliando se há influência na resposta terapêutica. O estudo é realizado em 400 mg de imatinib por via oral, duas vezes ao dia, em pacientes com LMC em fase crônica. A farmacocinética de resposta farmacológica (avalada a cada seis meses) é avaliada em cada seis meses, sendo acompanhados nos grupos de pacientes com genótipos distintos através do teste de Yamanaka. O estudo molecular será realizado em DNA extraído por técnica padrão a partir de amostras de sangue periférico obtidas por ocasião da punção venosa realizada para a coleta de exames laboratoriais de diagnóstico ou acompanhamento clínico dos pacientes, de modo que nenhuma amostra extraída será coletada. Esta pesquisa somará ao estudo clínico "Estudo aberto randomizado com Clevorilivoc (mimetismo de imatinib) 400 mg e 800 mg em pacientes com leucemia mieloide crônica em fase crônica (LMC-N) recentemente diagnosticada em comparação com imatinib 400 mg por via oral" (CEP 15/2007), já aprovado e em andamento no Hospital de Câncer de São Carlos, avaliando a resposta clínica em 120 pacientes com LMC em fase crônica, sendo que o estudo

Dados relativos à idade, ao sexo, à raça e índices hematimétricos dos 100 pacientes com leucemia mielóide crônica ao diagnóstico

Caso	Paciente	Idade (anos)	Sexo	Raça	Data diagnóstico	Hemoglobina (g/dL)	Leucócitos ($\times 10^9/L$)	Plaquetas ($\times 10^9/L$)
1	AJS	47,1	M	C	24/06/2008	14,1	94,3	186,0
2	APC	36,7	F	C	02/06/2005	10,7	104,0	213,0
3	ASS	29,9	M	C	16/05/2006	11,1	180,5	344,0
4	AGB	67,1	F	C	24/04/2008	12,3	120,6	377,0
5	AMG	29,5	M	C	24/11/2004	15,7	30,4	1163,0
6	ACC	57,0	F	C	05/09/2006	11,0	190,0	464,0
7	AAC	51,8	M	P	20/01/2009	12,3	70,5	200,0
8	ACP	28,1	F	C	16/11/2005	12,5	190,0	424,0
9	AC	41,8	M	C	27/05/2009	15,3	27,7	129,0
10	BJOC	62,5	F	C	20/09/2006	12,0	26,9	524,0
11	CL	50,6	M	C	09/09/2005	14,0	258,0	418,0
12	CLD	44,8	M	C	27/10/2006	11,6	27,9	3155,0
13	CCS	24,6	F	N	29/02/2008	8,9	99,5	247,0
14	CAS	34,9	F	C	07/05/2007	5,1	406,7	141,0
15	CLS	28,4	M	P	16/01/2006	9,5	266,1	794,0
16	CVBZ	62,5	F	C	28/05/2007	11,0	181,0	604,0
17	DMM	47,8	M	C	22/02/2006	15,4	28,3	202,0
18	DMA	63,0	F	C	09/11/2005	9,9	204,8	434,0
19	EVF	71,8	F	C	30/08/2007	12,5	113,0	494,0
20	EPP	63,9	M	C	27/05/2009	10,4	97,8	200,0
21	ES	21,0	M	C	15/12/2009	11,9	294,6	430,0
22	EFAJ	45,7	M	C	07/08/2006	12,8	113,8	206,0
23	ESD	50,2	M	C	19/07/2005	8,9	286,9	1179,0
24	ECTS	44,3	F	C	31/01/2006	12,6	175,2	158,0
25	ERL	37,5	F	C	19/01/2006	12,6	21,4	919,0
26	ES	33,7	F	P	06/12/2005	13,0	55,7	910,0
27	ENN	54,4	F	C	25/05/2009	10,8	261,0	545,0
28	EBSS	28,5	F	P	09/03/2005	9,8	161,6	352,0
29	EL	69,1	M	C	14/05/2008	14,2	104,2	526,0

Continuação

Caso	Paciente	Idade (anos)	Sexo	Raça	Data diagnóstico	Hemoglobina (g/dL)	Leucócitos (x10 ⁹ /L)	Plaquetas (x10 ⁹ /L)
30	EGL	39,0	M	C	18/04/2006	13,2	111,2	129,0
31	ES	25,6	M	C	18/02/2008	9,8	230,0	516,0
32	EAS	66,1	F	C	02/06/2007	12,1	183,8	378,0
33	EMM	66,2	M	C	22/11/2006	8,9	61,3	340,0
34	FMDA	39,1	F	C	10/08/2006	12,1	137,3	305,0
35	FFBN	43,7	M	C	01/03/2004	9,0	36,0	189,0
36	GN	80,6	M	C	02/07/2009	13,1	94,4	255,0
37	GMCG	65,6	F	C	20/03/2009	12,8	60,9	944,0
38	HRS	24,2	M	C	30/03/2006	13,3	134,0	190,0
39	IMGM	55,0	F	C	30/10/2007	9,7	67,0	608,0
40	IBS	72,0	F	C	07/01/2009	10,4	137,1	431,0
41	IMD	68,2	F	C	26/09/2006	11,0	148,8	1268,0
42	IAC	51,7	M	C	28/03/2006	13,7	23,4	219,0
43	IASB	35,4	F	C	16/11/2004	10,1	37,2	342,0
44	ISC	58,7	M	C	16/05/2006	11,0	167,4	989,0
45	JBS	54,0	M	C	04/11/2009	13,7	55,8	334,0
46	JCBV	31,9	M	C	27/10/2009	11,4	95,9	136,0
47	JBS	46,9	F	N	07/08/2007	12,1	141,3	737,0
48	JAO	48,0	M	C	05/01/2007	9,9	162,0	243,0
49	JAF	50,4	M	P	19/11/2009	14,1	53,0	222,0
50	JF	57,0	M	C	23/04/2004	11,4	659,0	111,9
51	JNQ	64,9	M	C	18/11/2009	14,6	75,5	365,0
52	JMSP	49,2	F	N	04/03/2009	10,2	179,0	580,0
53	JJJ	63,0	F	C	22/05/2007	7,0	271,4	757,0
54	JMSA	25,3	F	C	08/08/2007	10,5	364,2	439,0
55	JXB	32,5	M	C	25/10/2007	13,3	6,6	170,0
56	LRA	21,3	M	C	20/08/2009	12,0	275,0	1025,0
57	LAGS	26,9	M	C	10/04/2007	13,2	208,0	437,0
58	LVF	20,4	M	C	13/12/2005	11,3	2715,0	661,0
59	LJS	69,2	M	C	21/10/2009	13,9	60,3	183,0
60	LMS	40,2	M	C	08/03/2005	12,3	72,7	133,0
61	LCF	48,1	M	C	15/03/2003	11,0	150,0	137,0
62	LFM	31,7	M	C	21/10/2004	12,5	248,0	593,0
63	MFS	53,0	F	C	19/03/2009	12,9	112,3	328,0
64	MR	38,5	M	C	04/02/2004	10,3	155,0	421,0
65	MLR	35,3	M	C	03/10/2008	5,9	337,5	684,0
66	MLP	47,4	F	C	19/11/2009	12,5	36,0	652,0

Continuação

Caso	Paciente	Idade (anos)	Sexo	Raça	Data diagnóstico	Hemoglobina (g/dL)	Leucócitos (x10 ⁹ /L)	Plaquetas (x10 ⁹ /L)
67	MSL	39,9	F	C	22/09/2009	10,3	75,7	755,0
68	MIAP	63,8	F	C	13/06/2006	10,9	121,7	261,0
69	MLRA	59,4	F	C	26/11/2009	13,8	114,0	491,0
70	MAMS	46,2	F	C	26/02/2003	13,7	17,8	295,0
71	MPS	33,6	M	C	30/05/2006	14,8	48,3	260,0
72	NNC	53,5	F	C	11/07/2006	11,1	119,9	221,0
73	NNG	43,9	F	C	19/12/2006	10,7	29,5	217,0
74	NBL	63,7	F	C	22/02/2005	11,4	75,7	390,0
75	OV	35,4	M	C	03/11/2009	7,7	74,4	502,0
76	OV	38,1	M	P	01/10/2009	13,1	64,8	299,0
77	OFM	73,5	F	C	08/08/2002	10,2	108,9	310,0
78	PPO	33,6	M	N	02/06/2009	12,1	80,5	354,0
79	PSC	36,2	M	N	10/08/2006	11,6	203,0	251,0
80	PSM	35,1	M	C	06/02/2007	9,6	483,6	431,0
81	PRN	35,2	M	C	12/02/2004	6,7	479,6	1149,0
82	PR	53,8	M	C	01/06/2006	15,8	77,3	269,0
83	PSM	27,8	F	C	01/11/2006	8,9	165,0	818,0
84	RCM	79,4	F	C	09/10/2006	11,8	68,8	889,0
85	RDGFF	17,9	M	C	09/05/2007	9,8	483,0	236,0
86	RVO	31,9	M	P	13/05/2008	12,7	89,2	185,0
87	RTR	37,2	M	C	13/10/2005	11,7	81,3	584,0
88	REFA	48,3	F	C	08/11/2007	13,0	11,6	370,0
89	RBS	55,3	F	C	01/03/2007	10,9	139,3	167,0
90	RCJ	65,9	M	N	01/08/2002	12,7	43,0	255,0
91	SNC	60,7	F	C	18/06/2007	12,2	202,8	626,0
92	SRO	54,0	M	P	01/06/2006	12,9	13,0	388,0
93	SBS	65,9	F	C	12/04/2006	9,3	85,2	391,0
94	SDAM	31,5	F	C	29/07/2004	10,9	91,7	1103,0
95	VLS	67,5	M	P	13/12/2005	10,2	153,4	256,0
96	WBM	57,2	M	C	04/09/2008	14,5	22,3	583,0
97	ZMS	48,9	F	C	06/12/2006	13,4	85,8	280,0
98	MESO	51,8	F	P	24/02/2010	9,8	318,0	664,0
99	KBS	37,7	F	C	07/01/2010	8,6	187,0	444,0
100	LL	49,4	M	C	22/04/2010	12,0	107,0	523,0

C, causacóide; P, pardo; N, negróide

Dados relativos aos índices de Sokal e Hasford, cromossomo Ph+ e tipo de rearranjo *BCR-ABL*, genótipos do polimorfismo *CYP3A4* A-290G dos 100 pacientes com leucemia mielóide crônica ao diagnóstico

Caso	Paciente	Índice Sokal	Índice Hasford	Ph	<i>CYP3A4</i>	
					<i>BCR-ABL</i>	A-290G
1	AJS	baixo	baixo	S	b2a2	AA
2	APC	alto	intermediário	S	b2a2	AA
3	ASS	intermediário	baixo	S	b2a2	AA
4	AGB	alto	intermediário	S	b3a2	AA
5	AMG	baixo	baixo	S	b3a2	AA
6	ACC	intermediário	intermediário	S	b3a2	AA
7	AAC	baixo	baixo	S	b3a2	AG
8	ACP	baixo	baixo	S	b2a2	AA
9	AC	baixo	baixo	S	positivo	AG
10	BJOC	intermediário	intermediário	S	b2a2	GG
11	CL	intermediário	intermediário	S	b2a2	GG
12	CLD	alto	intermediário	S	b2a2+b3a2	GG
13	CCS	baixo	baixo	S	b2a2	GG
14	CAS	baixo	intermediário	S	b2a2+b3a2	GG
15	CLS	intermediário	alto	S+Tr. 8	b2a2+b3a2	AA
16	CVBZ	alto	alto	S	b3a2	GG
17	DMM	baixo	baixo	S	b3a2	AA
18	DMA	alto	alto	S	positivo	AA
19	EVF	intermediário	baixo	S	b3a2	AG
20	EPP	intermediário	intermediário	S	positivo	AA
21	ES	baixo	baixo	S	b2a2	AA
22	EFAJ	alto	intermediário	S	b2a2+b3a2	GG
23	ESD	alto	intermediário	S	b2a2	GG
24	ECTS	baixo	baixo	S	b2a2	AA
25	ERL	alto	intermediário	S	b2a2	AA
26	ES	baixo	baixo	S	b2a2	AA
27	ENN	alto	alto	S	b2a2	AA
28	EBSS	baixo	baixo	S	b2a2+b3a2	AA
29	EL	intermediário	intermediário	S	b2a2	AA
30	EGL	baixo	baixo	S	b2a2	AA
31	ES	baixo	baixo	S	b2a2	AA

Continuação

Caso	Paciente	Índice Sokal	Índice Hasford	Ph	BCR-ABL	CYP3A4
						A-290G
32	EAS	alto	intermediário	S	b3a2	AA
33	EMM	alto	alto	S	b3a2	AA
34	FMDA	baixo	baixo	S	b3a2	AA
35	FFBN	baixo	baixo	S	degradado	AA
36	GN	intermediário	intermediário	S	b2a2	AG
37	GMCG	intermediário	baixo	S	b3a2	AA
38	HRS	intermediário	baixo	S	b3a2	AA
39	IMGM	alto	intermediário	S	b3a2	AA
40	IBS	intermediário	baixo	S	positivo	AG
41	IMD	alto	alto	S	b3a2	AG
42	IAC	baixo	baixo	S	p210/p190	AA
43	IASB	baixo	baixo	S	b3a2	AA
44	ISC	alto	intermediário	S	b2a2+b3a2	AA
45	JBS	baixo	baixo	S	degradado	AG
46	JCBV	baixo	baixo	S	degradado	AA
47	JBS	alto	baixo	S	b3a2	AA
48	JAO	intermediário	baixo	S	b3a2	AA
49	JAF	baixo	baixo	S	degradado	AG
50	JF	intermediário	intermediário	S	b2a2	AA
51	JNQ	intermediário	baixo	S	degradado	AA
52	JMSP	intermediário	intermediário	S	degradado	AG
53	JJJ	alto	alto	S	b3a2	GG
54	JMSA	intermediário	intermediário	S	degradado	AA
55	JXB	baixo	baixo	S	b3a2	AA
56	LRA	alto	intermediário	S	degradado	AG
57	LAGS	intermediário	intermediário	S	b3a2	AG
58	LVF	intermediário	intermediário	S	b3a2	AA
59	LJS	intermediário	baixo	S	b3a2	AA
60	LMS	intermediário	baixo	S	positivo	AA
61	LCF	baixo	baixo	S	b2a2	AA
62	LFM	intermediário	alto	S	b3a2	AA
63	MFS	baixo	intermediário	S	b2a2	AA
64	MR	baixo	baixo	S	b2a2	AA
65	MLR	alto	baixo	S	b2a2	AA
66	MLP	intermediário	intermediário	S	degradado	AA
67	MSL	intermediário	intermediário	S	degradado	AG

Continuação

Caso	Paciente	Índice Sokal	Índice Hasford	Ph	BCR-ABL	CYP3A4
						A-290G
68	MIAP	alto	alto	S	b3a2	GG
69	MLRA	baixo	intermediário	S	b3a2	AA
70	MAMS	baixo	baixo	S	b2a2	AA
71	MPS	baixo	baixo	S	b2a2	GG
72	NNC	intermediário	intermediário	S	b3a2	AA
73	NNG	baixo	baixo	S	degradado	AA
74	NBL	alto	intermediário	S	b3a2	AA
75	OV	intermediário	intermediário	S	degradado	AA
76	OV	baixo	baixo	S	b3a2	AG
77	OFM	alto	intermediário	S	b3a2	AA
78	PPO	baixo	baixo	S	b3a2	AA
79	PSC	baixo	baixo	S	b2a2	GG
80	PSM	alto	intermediário	S	degradado	GG
81	PRN	alto	intermediário	S	degradado	AA
82	PR	baixo	intermediário	S	b3a2	GG
83	PSM	baixo	baixo	S	b2a2	AA
84	RCM	alto	intermediário	S	b3a2	GG
85	RDGFF	baixo	baixo	S	degradado	AA
86	RVO	baixo	baixo	S	b3a2	AA
87	RTR	baixo	baixo	S	b2a2	AA
88	REFA	baixo	baixo	S	degradado	AA
89	RBS	baixo	intermediário	S	degradado	AA
90	RCJ	intermediário	baixo	S	degradado	GG
91	SNC	alto	intermediário	S	b2a2	AA
92	SRO	intermediário	intermediário	S	b2a2	AA
93	SBS	alto	alto	S	b3a2	GG
94	SDAM	intermediário	baixo	S	b2a2	AA
95	VLS	intermediário	intermediário	S	b2a2	AA
96	WBM	alto	intermediário	S	b3a2	AA
97	ZMS	intermediário	baixo	S	degradado	AA
98	MESO	alto	alto	S	degradado	AA
99	KBS	intermediário	intermediário	S	b2a2	AA
100	LL	baixo	baixo	S	b2a2	AA

Dados relativos à obtenção e duração da respostas hematológica, citogenética e molecular dos 100 pacientes com leucemia mielóide crônica ao diagnóstico

Caso	Paciente	RH S/N	RH Duração (meses)	RCC S/N	RCC Duração (meses)	RMC S/N	RMC Duração (meses)	SLP (meses)	SG (meses)
1	AJS	S	27,3	S	21,7	N	-	27,0	27,7
2	APC	S	62,3	S	36,4	S	6,1	63,0	63,9
3	ASS	S	51,1	S	45,9	S	40,1	52,0	51,6
4	AGB	S	25,9	S	18,9	S	8,9	29,0	26,3
5	AMG	S	70,4	S	61,8	S	49,7	71,0	71,3
6	ACC	S	47,1	S	39,7	S	38,3	47,0	47,6
7	AAC	S	19,0	S	9,4	S	8,2	20,0	20,1
8	ACP	S	53,4	S	43,7	S	23,1	55,0	53,4
9	AC	S	5,2	N	-	N	-	3,2	5,7
10	BJOC	S	48,1	S	36,1	S	26,1	50,0	48,3
11	CL	S	55,8	S	28,2	S	15,6	59,0	57,8
12	CLD	S	42,5	N	-	N	-	47,0	43,4
13	CCS	S	29,2	S	11,2	S	17,7	29,0	29,2
14	CAS	S	38,5	N	-	N	-	41,0	41,1
15	CLS	S	55,9	N	-	N	-	56,0	56,4
16	CVBZ	S	36,0	N	-	N	-	40,0	40,8
17	DMM	S	52,7	S	47,6	S	28,3	54,0	53,2
18	DMA	S	56,9	S	34,7	S	25,2	57,0	56,9
19	EVF	S	34,0	S	28,2	S	30,6	34,0	34,0
20	EPP	S	15,7	S	8,2	N	-	16,0	15,6
21	ES	S	8,6	N	-	N	-	8,0	8,4
22	EFAJ	S	50,4	S	24,5	S	11,4	51,0	51,1
23	ESD	S	61,2	S	38,3	S	38,3	63,0	61,9
24	ECTS	S	52,1	S	32,5	S	29,9	53,0	52,1
25	ERL	S	51,6	S	32,2	S	12,1	53,0	53,4
26	ES	S	56,2	S	34,8	S	13,1	56,0	56,5

Continuação

Caso	Paciente	RH S/N	RH Duração (meses)	RCC S/N	RCC Duração (meses)	RMC S/N	RMC Duração (meses)	SLP (meses)	SG (meses)
27	ENN	S	16,6	S	11,7	N	-	17,0	17,3
28	EBSS	S	66,5	N	-	N	-	67,0	67,6
29	EL	S	25,8	S	20,3	S	6,3	28,0	26,8
30	EGL	S	50,3	S	46,7	S	15,6	53,0	52,3
31	ES	S	25,2	S	8,1	N	-	28,0	27,0
32	EAS	S	37,8	S	28,5	S	9,8	39,0	38,2
33	EMM	S	45,0	S	22,9	S	7,2	46,0	45,9
34	FMDA	S	47,4	S	45,5	S	45,5	51,0	51,1
35	FFBN	S	77,7	S	68,2	S	9,8	77,0	77,7
36	GN	S	0,7	N	-	N	-	15,0	1,4
37	GMCG	S	0,2	N	-	N	-	18,0	2,9
38	HRS	S	21,7	N	-	S	5,6	54,0	22,6
39	IMGM	S	8,1	N	-	N	-	0,0	8,1
40	IBS	S	20,4	N	-	N	-	22,0	22,0
41	IMD	S	47,1	S	15,2	S	12,2	49,0	47,1
42	IAC	S	51,8	S	47,6	S	19,1	53,0	0,0
43	IASB	S	67,7	S	55,5	N	-	70,0	69,5
44	ISC	S	50,3	S	41,6	N	-	51,0	52,0
45	JBS	S	9,1	S	6,1	N	-	12,0	9,6
46	JCBV	S	9,0	S	5,3	N	-	11,0	9,1
47	JBS	S	23,8	N	-	N	-	38,0	25,6
48	JAO	S	44,4	S	27,1	S	23,8	45,0	44,8
49	JAF	S	5,6	N	-	N	-	9,0	6,4
50	JF	S	66,5	S	46,7	N	-	70,0	67,9
51	JNQ	S	9,5	S	6,5	S	-	10,0	9,8
52	JMSP	S	11,0	S	2,1	S	-	13,0	11,2
53	JJJ	S	13,9	N	1322,3	S	-	0,4	13,9
54	JMSA	S	37,1	S	21,6	S	18,4	38,0	38,3
55	JXB	S	28,0	N	-	N	-	34,0	28,7
56	LRA	S	9,2	N	-	N	-	13,0	12,7
57	LAGS	S	33,4	S	28,5	S	6,8	42,0	34,1
58	LVF	S	57,0	S	45,1	S	14,7	57,0	57,7
59	LJS	S	11,6	S	2,5	N	-	12,0	12,1
60	LMS	S	59,8	S	53,7	N	-	61,0	59,8
61	LCF	S	74,7	S	51,3	S	15,2	78,0	74,7
62	LFM	S	71,1	N	-	S	-	71,0	72,0
63	MFS	S	16,6	S	13,3	S	8,1	17,0	16,1
64	MR	S	81,4	S	79,1	S	73,4	81,0	81,9
65	MLR	S	21,2	S	16,4	N	-	24,0	21,9
66	MLP	S	9,8	N	-	N	-	9,0	8,1
67	MSL	S	11,9	N	-	N	-	13,0	11,9
68	MIAP	S	52,0	S	46,4	S	43,4	51,0	52,0

Continuação

Caso	Paciente	RH S/N	RH Duração (meses)	RCC S/N	RCC Duração (meses)	RMC S/N	RMC Duração (meses)	SLP (meses)	SG (meses)
69	MLRA	S	7,9	N	-	N	1348,1	10,0	8,4
70	MAMS	S	82,8	S	31,7	N	1345,8	86,0	83,1
71	MPS	S	51,1	S	46,0	S	35,0	53,0	52,3
72	NNC	S	51,1	S	40,8	S	21,2	52,0	52,5
73	NNG	S	43,8	S	33,5	N	-	46,0	44,1
74	NBL	S	37,7	S	35,2	S	18,4	63,0	39,6
75	OV	S	7,7	S	5,2	N	-	10,0	8,7
76	OV	S	9,1	S	7,5	N	-	11,0	10,4
77	OFM	S	92,9	S	73,7	S	4,2	91,0	92,9
78	PPO	S	14,5	N	-	N	-	16,0	15,4
79	PSC	S	47,6	S	41,9	S	19,4	49,0	48,5
80	PSM	S	43,4	N	24,0	N	-	43,0	42,5
81	PRN	S	67,7	S	37,2	S	5,7	78,0	77,9
82	PR	S	50,8	S	46,7	S	46,7	53,0	52,3
83	PSM	S	44,1	S	28,9	N	-	46,0	45,3
84	RCM	S	44,1	S	42,0	S	41,8	48,0	49,0
85	RDGFF	S	38,0	S	35,0	S	3,8	42,0	41,1
86	RVO	S	25,0	S	20,2	S	21,0	28,0	26,1
87	RTR	S	51,3	N	21,5	N	-	55,0	52,2
88	REFA	S	30,3	S	18,4	N	-	33,0	30,3
89	RBS	S	42,7	S	37,1	S	35,4	43,0	43,7
90	RCJ	S	79,4	S	31,7	N	-	91,0	83,4
91	SNC	S	37,5	S	22,4	N	-	37,0	37,5
92	SRO	S	47,6	S	46,6	S	46,5	52,0	52,3
93	SBS	S	52,8	S	48,1	S	50,9	54,0	53,7
94	SDAM	S	71,7	S	55,5	S	53,2	73,0	73,1
95	VLS	S	53,7	N	-	N	-	53,0	53,7
96	WBM	S	25,9	S	7,4	N	-	25,0	25,9
97	ZMS	S	43,9	N	-	N	-	46,0	44,9
98	MESO	S	2,8	N	-	N	-	6,0	4,4
99	KBS	S	7,5	N	-	N	-	10,0	9,4
100	LL	S	3,7	S	2,3	N	-	6,0	5,2

RH, resposta hematológica; RCC, resposta citogenética completa; RMC, resposta molecular completa; SLP, sobrevida livre de progressão; SG, sobrevida global