



ARTIGO ORIGINAL

Análise de mutações do domínio BCR-ABL quinase em pacientes com leucemia mielóide crônica refratários ao tratamento com mesilato de imatinibe

BCR-ABL kinase domain mutations analysis in chronic myeloid leukaemia patients that are not responsive to imatinib mesylate

Laine Celestino Pinto^{1,+} , Livia de Oliveira Sales^{2,+} , Tereza Cristina de Brito Azevedo³ ,
Caroline Aquino Moreira-Nunes^{2,*} , José Alexandre Rodrigues de Lemos⁴ 

¹Laboratório Experimental de Neuropatologia (Lanex), Universidade Federal do Pará (UFPA). Belém, Pará, Brasil.

²Laboratório de Farmacogenética, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), Universidade Federal do Ceará (UFC). Fortaleza, Ceará, Brasil. ³Departamento de Pesquisa Clínica e Acadêmica, Hospital Ophir Loyola. Belém, Pará, Brasil. ⁴Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará. Belém, Pará, Brasil.

+Esses autores contribuíram igualmente neste trabalho.

Submetido em 29 de maio de 2020, aceito em 13 de setembro de 2020, publicado em 10 de dezembro de 2020

PALAVRAS-CHAVE

Adesão terapêutica
Antineoplásicos
Genes ABL
Leucemia mielóide crônica
Mesilato de imatinibe

RESUMO

Objetivo: A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é um distúrbio clonal de células progenitoras hematopoiéticas, caracterizada por uma translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22, que resulta no gene híbrido *BCR-ABL1*. Mesmo com o progresso no tratamento da doença permitido pelos inibidores de tirosina quinase, mutações pontuais no domínio desse gene são as principais causas de resistência terapêutica, principalmente ao mesilato de imatinibe. O objetivo desse estudo foi analisar as mutações pontuais de alta resistência em paciente com LMC e sua possível correlação com a resposta ao tratamento.

Métodos: Estudo transversal com 58 pacientes com LMC em tratamento com imatinibe e com resposta subótima à terapia. As amostras de sangue foram analisadas por PCR em tempo real usando a química TaqMan® para avaliar as seguintes mutações pontuais: T315I, E255V e Y253H.

Resultados: Nenhum dos 58 pacientes apresentou alguma das mutações investigadas. Houve uso irregular da medicação em 16% (n = 9), dos quais 44% (n = 4) relataram uso descontínuo e interrupção por conta própria, e 56% (n = 5) apresentaram intolerância ao tratamento e trocaram de fármaco.

Conclusão: A ausência das mutações pontuais nos pacientes portadores de LMC analisados neste estudo demonstrou que a falha na terapia não tem correlação molecular com as mutações analisadas e pode estar relacionada à menores taxas de adesão ao tratamento. Estes achados foram demonstrados em um número considerável de pacientes avaliados, apontando a necessidade da educação sobre a importância de seguir as recomendações sobre seu tratamento para evitar complicações futuras.

*Autora de correspondência:

Laboratório de Farmacogenética, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), Universidade Federal do Ceará (UFC). R. Coronel Nunes de Melo, no. 1000. Rodolfo Teófilo. Fortaleza, CE, Brasil | CEP: 60430-275
E-mail: carolfam@gmail.com (Moreira-Nunes CA)

Este estudo foi realizado no Hospital Ophir Loyola (Belém, Pará) e Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia do Pará (HEMOPA).

<https://doi.org/10.21876/rcshci.v10i4.994>

Como citar este artigo: Pinto LC, Sales LO, Azevedo TCB, Moreira-Nunes CA, Lemos JAR. Análise de mutações do domínio BCR-ABL quinase em pacientes com leucemia mielóide crônica refratários ao tratamento com mesilato de imatinibe. Rev Cienc Saude. 2020;10(4):XX-XX. <https://doi.org/10.21876/rcshci.v10i4.994>

2236-3785/© 2020 Revista Ciências em Saúde. Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob uma licença CC BY-NC-SA (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.pt_BR)



KEYWORDS

Antineoplastics
BCR-ABL proto-
oncogenes
chronic myeloid
leukemia
imatinib mesylate
therapeutic adherence

ABSTRACT

Objective: Chronic Myeloid Leukemia (CML) is a clonal disorder of hematopoietic progenitor cells, characterized by a reciprocal translocation between chromosomes 9 and 22, which results in the hybrid gene BCR-ABL1. Even with the progress in the treatment of the disease allowed by tyrosine kinase inhibitors, point mutations in this gene's domain are the main causes of therapeutic resistance, mainly to imatinib mesylate. This study aimed to analyze the point mutations of high resistance in a patient with CML and its possible correlation with treatment response.

Methods: Cross-sectional study with 58 CML patients undergoing treatment with imatinib and with suboptimal response to therapy. Blood samples were analyzed by real-time PCR using TaqMan® chemistry to evaluate the following point mutations: T315I, E255V and Y253H.

Results: None of the 58 patients had any of the investigated mutations. There was irregular use of the medication in 16% (n = 9), of which 44% (n = 4) reported discontinuous use and interruption on their own, and 56% (n = 5) showed intolerance to treatment and switched drugs.

Conclusion: The absence of point mutations in CML patients analyzed in this study demonstrated that failure in therapy has no molecular correlation with the analyzed mutations and may be related to lower treatment adherence rates. These findings were demonstrated in a considerable number of evaluated patients, pointing out the need for education on the importance of following the recommendations on their treatment to avoid future complications.

INTRODUÇÃO

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal de células progenitoras hematopoiéticas, com incidência de 0,9 a 1,1 casos por 100 mil habitantes/ano, sendo predominante em adultos do sexo masculino^{1,2}. A LMC é caracterizada por uma translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22, que resulta no oncogene *BCR-ABL1*, responsável por codificar uma proteína tirosina quinase hiperativa, que estimula a proliferação e a resistência à morte celular³.

As primeiras terapias desenvolvidas para a LMC estavam limitadas a agentes inespecíficos como hidroxiuréia, bussulfan ou interferon-alfa (IFN α). No entanto, com o entendimento da patogênese dessa doença, o tratamento de primeira linha para passou a ser realizado com o mesilato de imatinibe (IM), um inibidor de tirosina quinase (ITK), que tem como alvo terapêutico o gene *BCR-ABL1*, permitindo uma maior sobrevida global para esses pacientes^{2,4}. Todavia, mesmo com o surgimento de novas alternativas terapêuticas, com uma resposta mais rápida e profunda, aproximadamente 40% dos pacientes são refratários a medicação e avançam para a fase acelerada (FA) e/ou fase blástica (FB), estando associado a um acúmulo de mutações⁵.

Dentre esses mecanismos de escape terapêutico, as mutações pontuais no domínio quinase (DQ) do *BCR-ABL1* são as mais envolvidas na falha clínica ao imatinibe, responsável por cerca de 20% dos casos de resistência adquirida, apresentando-se com maior frequência a T315I, Y253F e E255K⁶⁻⁸. Estas mutações dispõem de variações de sensibilidade, tanto para os ITK de primeira geração, quanto para os de segunda geração - nilotinibe e dasatinibe - prejudicando e reduzindo o efeito desses inibidores em seu alvo terapêutico. À medida que a doença progride, a instabilidade genômica pode favorecer mutações duplas nessa oncoproteína, como T315I/Q252H, T315I/Y253H, T315I/E255V, T315I/M351T, T315I/E255V, que estão associadas a um mau prognóstico^{8,9}.

Conforme a sensibilidade de uma mutação a um ITK específico, uma dose mais alta do fármaco é necessária

para inibir a proteína *BCR-ABL1*, logo, sendo considerada uma mutação com um maior padrão de resistência. Mutações com baixo grau de insensibilidade (M244V, M351T e M387L) podem responder ao aumento de dose. Entretanto, mutações com alto grau de insensibilidade (T315I, Y253F/H, E255K/V) necessitam de mudança no tratamento^{10,11}. Desse modo, a análise precoce destas mutações é um importante indicador para definir a causa da resistência, auxiliando na escolha de terapias mais eficientes e na sua substituição antes da evolução da doença¹². Além disso, a identificação de mutações no DQ é a principal ferramenta de avaliação molecular para a estimativa de resposta ao tratamento^{13,14}.

Neste contexto, a resposta terapêutica é um considerável fator de prognóstico, sendo classificada como ótima, subótima e falha. Uma resposta ótima representa que não há indicação de mudança terapêutica, estando associada a uma maior sobrevida; a subótima, indica que a medicação atual ainda é benéfica, mas requer um monitoramento mais frequente para permitir mudanças oportunas na terapia em caso de resistência ao tratamento; enquanto, a falha significa que o paciente deve receber uma terapia diferente para limitar o risco de progressão e morte¹³⁻¹⁵.

Portanto, além da importância prognóstica, a detecção de novas mutações do DQ que possam estar relacionadas com o desenvolvimento da resistência quimioterápica, pode ser útil no desenvolvimento de novas terapias direcionadas a esses mecanismos. Assim, esse estudo teve como objetivo avaliar o perfil mutacional do gene *BCR-ABL1* em pacientes com LMC e analisar sua possível correlação com a resposta terapêutica.

MÉTODOS*Pacientes*

Estudo descritivo, observacional, transversal, realizado no Hospital Ophir Loyola (Belém, Pará). A amostra inicial foi composta por 153 pacientes com LMC, no entanto, para a identificação de mutações apenas 58

foram considerados elegíveis para as análises por apresentarem uma resposta subótima à terapia com IM segundo os critérios internacionais do *LeukemiaNet*¹³. O monitoramento molecular foi realizado na Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia do Pará (HEMOPA).

Todos os pacientes haviam sido previamente tratados com Hidroxiuréia e/ou IFN α de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde e iniciaram o tratamento com IM após apresentarem o resultado positivo para o transcrito *BCR-ABL* pela técnica de PCR em Tempo Real.

Os dados dos pacientes foram obtidos através de análise de prontuários durante atendimento clínico realizado no Hospital Ophir Loyola. Das variáveis coletadas, os dados incluíram sexo, idade, estágio da LMC no diagnóstico, leucometria e intervalo entre o diagnóstico e o início do tratamento. A presença de intolerância ao tratamento com IM também foi considerada uma variável, que foi definida pelo aparecimento de eventos adversos a posologia recomendada para a terapia. A idade foi classificada por faixas etárias, estratificada de acordo como que foi sugerido por Bacarani *et al.*, que compreende: crianças e adolescentes (< 18 anos), adultos jovens (18 a 40 anos), adultos (41 a 65 anos), idosos (66 a 80 anos) e muito idosos (> 80 anos)¹².

A subdivisão leucométrica seguiu as diretrizes da Organização Mundial de Saúde (OMS), nas quais um valor < 10.000/mm³ representaria sucesso terapêutico, \geq 50.000/mm³ e >100.000/mm³ estariam mais associados à fase crônica e acelerada da doença, respectivamente¹⁶. Os dados ausentes sobre essas variáveis não foram utilizados ou considerados durante a análise.

Ética

As coletas do material biológico foram realizadas após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemopa sob parecer no. 0015.0.324.000-08. Todos os pacientes que concordaram em participar do estudo foram informados quanto aos objetivos de pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, e todos os métodos foram realizados de acordo com as diretrizes e regulamentos de Helsinki.

Critérios de Falha ao Tratamento

O estudo utilizou como parâmetro as recomendações propostas pela *European LeukemiaNet* (ELN)¹³, descritos na Tabela 1.

Extração de DNA

O DNA das amostras de sangue dos pacientes foi extraído com o reagente TRIzol[®], de acordo com as instruções do fabricante (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA).

Análise de Mutações Ponto Resistentes

A detecção de mutação pontual foi baseada em

polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), através da presença das variantes de resistência que não respondem ao tratamento com IM e que são mais frequentemente relatados na literatura⁶⁻¹³, apresentados na Tabela 2.

Tabela 1 - Definições de resposta ao tratamento com base na expressão gênica do *BCR-ABL1*, de acordo com a Escala Internacional (IS), proposta pela *European LeukemiaNet*¹³.

Período	Resposta Terapêutica		
	Ótima	Subótima	Falha
3 meses	$\leq 10\%$	>10%	>10% se confirmado entre 1-3 meses
6 meses	$\leq 1\%$	>1-10%	>10%
12 meses	$\leq 0,1\%$	>0,1-1%	>1%

Tabela 2 - Mutações ponto no Domínio Quinase *BCR-ABL* utilizados no estudo^{11,13}.

Mutações Genômicas	Aminoácidos	Localização/ <i>ABL</i> *	IC ₅₀ (μ M)
C 68721 T	T315I	Exon 6	> 6400
A 58802 T	E255V	Exon 4	> 6400
T 58795 C	Y253H	Exon 4	> 6400

*A posição do nucleotídeo *ABL* refere-se ao locus U07563.1 extraída do banco de dados NCBI.

Para a análise de mutações pontuais, foram utilizados *primers* e sondas *TaqMan*[®] *SNP Genotyping Assay* (*ThermoFisher*[®]), de acordo com as sequências fornecidas pelo fabricante. A detecção das mutações foi realizada pela técnica de PCR em tempo real (qPCR), utilizando o *ABI Prism 7000* (*Applied Biosystems*[®]). As seguintes concentrações foram usadas para cada amostra: 2 μ l de cDNA; 1,25 μ l de *primers*/sondas; 12,5 μ l *TaqMan*[®] *Genotyping Master Mix* (*Applied Biosystems*[®], Foster City, CA, EUA); 9,25 μ l de água ultrapura. Cada ensaio foi realizado pelo menos três vezes, de acordo com as Diretrizes de Informações Mínimas para Publicação de Experimentos Quantitativos de PCR em Tempo Real¹⁷.

Análise Estatística

Os dados foram apresentados em frequência absoluta e relativa utilizando o programa estatístico GraphPad Prism v.8 (San Diego, CA, USA).

RESULTADOS

Todos os 153 pacientes com LMC foram previamente diagnosticados com critérios clínicos, hematológicos e moleculares, de acordo com as recomendações propostas pelo ELN¹³. Entre esses, 58 pacientes que apresentaram resposta subótima ao IM foram selecionados e 4 (6,9%) apresentaram intolerância

ao tratamento de primeira linha. A intolerância foi definida pela presença de efeitos colaterais relacionados a posologia recomendada, e então iniciaram prontamente a terapia com outros inibidores de tirosina quinase.

Vinte e sete (47%) dos 58 pacientes eram do sexo feminino e trinta e um (53%) do sexo masculino. A mediana de idade foi de 46 anos (variando de 9 a 79 anos). Destes, 48 (83%) estavam em fase crônica da doença, 10 (17%) na fase acelerada e nenhum paciente encontrava-se em fase blástica.

Desse modo, para melhor observar as características dos pacientes inclusos no estudo, seus diferentes aspectos clínicos e laboratoriais, de acordo com a fase da doença, são descritos na Tabela 3. Vale ressaltar que dos 58 pacientes, 6 em fase crônica e 2 em fase acelerada apresentavam valores desconhecidos de leucócitos devido à perda de prontuário ou a ausência de dados presentes nestes, o que de fato foi um dos maiores limitantes deste estudo.

Entre os diferentes estágios, a frequência da doença foi maior no sexo masculino, tanto em fase crônica (n = 25; 52%), quanto em fase acelerada (n = 6; 60%). Para a distribuição de faixas etárias, os pacientes entre 18 a 40 (n = 19; 40%) anos e 41 a 65 (n = 22; 46%)

anos apresentaram maior incidência, principalmente em fase crônica.

Quanto ao número total de leucócitos, 27 (64%) pacientes em fase crônica e 7 (88%) em fase acelerada apresentaram valor maior que 100.000 leucócitos/mm³. Em relação à resposta molecular, 11 (23%) pacientes em fase crônica e 1 (10%) em fase acelerada apresentaram redução de 1 log com remissão hematológica. Enquanto, 37 (77%) pacientes em fase crônica e 9 (90%) em fase acelerada não apresentaram redução logarítmica.

Para a avaliação das medidas terapêuticas utilizadas nos pacientes com resposta subótima, foi possível avaliar 20 (34,5%) dos 58 pacientes inclusos no estudo, pois apenas esses apresentavam o acompanhamento completo descrito no prontuário. Observamos que 1 paciente teve prescrição inicial de imatinibe com dose de 370 mg, 3 de 600 mg e 7 de 800 mg. Além disso, 4 pacientes relatavam uso irregular, devido à pancitopenia ou para a realização de alguma atividade que não poderia estar em uso da medicação. Outro motivo para não adesão foi a intolerância ao tratamento de primeira linha. Dentre os pacientes do estudo, 4 iniciaram a terapia com dasatinibe e apenas 1 aguardava a chegada do medicamento ao serviço médico (Tabela 4).

Tabela 3 - Aspectos clínicos e laboratoriais dos pacientes em fase crônica e fase acelerada.

Parâmetros dos Pacientes (n= 58)		Estadiamento	
		FC (n = 48)	FA (n = 10)
Gênero	Masculino	25 (52%)	6 (60%)
	Feminino	23 (48%)	4 (40%)
Idade (anos)	<18	1 (2%)	0 (0%)
	18 a 40	19 (40%)	3 (30%)
	41 a 65	22 (46%)	4 (40%)
	66 a 80	6 (12%)	3 (30%)
	>80	0 (0%)	0 (0%)
Leucometria (/mm ³)	<10.000	0 (0%)	0 (0%)
	11.000 a 49.000	11 (26%)	0 (0%)
	50.000 a 100.000	4 (10%)	1 (12%)
	>100.000	27 (64%)	7 (88%)
Resposta Molecular	-1 log	11 (23%)	1 (10%)
	= log	37 (77%)	9 (90%)

*FC, fase crônica; FA fase acelerada; -1 log, redução de um log; = log, permanência dos valores de log.

Tabela 4 - Padrões de Terapia adotados no estudo.

Parâmetros Terapêuticos		
Dose Inicial com IM (n = 11)	370 mg	1 (9%)
	600 mg	3 (27%)
	800 mg	7 (64%)
Causas de Não Adesão (n = 9)	Uso descontinuo	4 (44%)
	Intolerância	5 (56%)

Ademais, o intervalo entre o diagnóstico e o início do tratamento foi dividido em dois grupos: menor que 1 ano e maior que 1 ano, sendo que 40 (69%) pacientes deram início ao tratamento em menos de 1 ano e 18 (31%) iniciaram após 1 ano o diagnóstico. Com relação à análise do perfil mutacional, a sinalização durante a reação de cadeia da polimerase revelou que os 58 pacientes não apresentavam o alelo selvagem para as mutações T315I, E255V e Y253H. As mutações analisadas e as características dos pacientes com LMC tratados com imatinibe podem ser encontradas na Tabela 5.

Tabela 5 - Perfil de Mutações dos pacientes com LMC.

Pacientes	Idade	Sexo	Fase	Resposta (Log)	Intervalo D/T	Mutações		
						T315I	Y253H	E255V
LMC 01	38	M	FC	-0,59	< 1 ano	S	S	S
LMC 02	47	F	FC	1,6	> 1 ano	S	S	S
LMC 03	71	F	FC	-0,02	< 1 ano	S	S	S
LMC 04	43	M	FA	-0,54	< 1 ano	S	S	S
LMC 05	34	M	FC	0,47	< 1 ano	S	S	S
LMC 06	24	M	FA	-0,22	< 1 ano	S	S	S
LMC 07	43	M	FA	-0,84	< 1 ano	S	S	S
LMC 08	49	M	FC	1,76	> 1 ano	S	S	S
LMC 09	44	M	FC	-0,09	> 1 ano	S	S	S
LMC 10	50	M	FC	-0,36	< 1 ano	S	S	S
LMC 11	36	F	FC	-0,78	< 1 ano	S	S	S
LMC 12	34	F	FC	0,04	< 1 ano	S	S	S
LMC 13	36	F	FC	-1,11	< 1 ano	S	S	S
LMC 14	45	F	FC	2,04	< 1 ano	S	S	S
LMC 15	37	F	FC	-0,01	< 1 ano	S	S	S
LMC 16	32	F	FC	1,45	> 1 ano	S	S	S
LMC 17	44	F	FC	-1,45	> 1 ano	S	S	S
LMC 18	41	F	FC	-0,42	< 1 ano	S	S	S
LMC 19	58	F	FC	-0,34	< 1 ano	S	S	S
LMC 20	30	M	FC	-0,35	< 1 ano	S	S	S
LMC 21	64	M	FC	-0,5	> 1 ano	S	S	S
LMC 22	42	M	FC	2,44	> 1 ano	S	S	S
LMC 23	63	M	FC	1,73	< 1 ano	S	S	S
LMC 24	27	M	FA	0,42	< 1 ano	S	S	S
LMC 25	49	F	FC	-1,09	< 1 ano	S	S	S
LMC 26	20	M	FC	-1,48	< 1 ano	S	S	S
LMC 27	53	M	FC	0,94	> 1 ano	S	S	S
LMC 28	71	M	FC	-1,5	< 1 ano	S	S	S
LMC 29	20	M	FC	-1,84	< 1 ano	S	S	S
LMC 30	35	F	FC	0,03	< 1 ano	S	S	S
LMC 31	22	F	FC	-0,79	< 1 ano	S	S	S
LMC 32	61	F	FA	-1,12	> 1 ano	S	S	S
LMC 33	9	F	FC	-0,29	< 1 ano	S	S	S
LMC 34	75	M	FC	-1,59	< 1 ano	S	S	S
LMC 35	62	M	FC	-0,4	< 1 ano	S	S	S
LMC 36	44	M	FC	-0,22	> 1 ano	S	S	S
LMC 37	79	M	FC	0,65	> 1 ano	S	S	S
LMC 38	52	M	FC	0,21	> 1 ano	S	S	S
LMC 39	38	F	FC	-1,01	< 1 ano	S	S	S
LMC 40	27	M	FC	-1,5	< 1 ano	S	S	S
LMC 41	68	F	FC	1,93	< 1 ano	S	S	S
LMC 42	70	F	FA	0,01	> 1 ano	S	S	S
LMC 43	47	F	FA	-0,46	< 1 ano	S	S	S
LMC 44	38	F	FC	-0,13	< 1 ano	S	S	S
LMC 45	36	M	FC	0,1	< 1 ano	S	S	S
LMC 46	44	F	FC	-1,9	> 1 ano	S	S	S
LMC 47	72	M	FC	-0,43	< 1 ano	S	S	S

*M, masculino; F, feminino; FC, fase crônica; FA, fase acelerada; Intervalo D/T, intervalo diagnóstico/tratamento; S, alelo selvagem.

Tabela 5 - Perfil de Mutações dos pacientes com LMC (cont.).

Pacientes	Idade	Sexo	Fase	Resposta (Log)	Intervalo D/T	Mutações		
						T315I	Y253H	E255V
LMC 48	42	M	FC	-1,08	< 1 ano	S	S	S
LMC 49	34	F	FC	0,18	< 1 ano	S	S	S
LMC 50	72	M	FA	-0,35	< 1 ano	S	S	S
LMC 51	49	M	FC	0,18	< 1 ano	S	S	S
LMC 52	39	F	FC	-0,9	> 1 ano	S	S	S
LMC 53	53	F	FC	0,05	> 1 ano	S	S	S
LMC 54	58	M	FC	0,1	< 1 ano	S	S	S
LMC 55	73	F	FA	0,21	> 1 ano	S	S	S
LMC 56	25	M	FA	2,05	> 1 ano	S	S	S
LMC 57	30	M	FC	1,30	< 1 ano	S	S	S
LMC 58	50	F	FC	-0,15	< 1 ano	S	S	S

*M, masculino; F, feminino; FC, fase crônica; FA, fase acelerada; Intervalo D/T, intervalo diagnóstico/tratamento; S, alelo selvagem.

DISCUSSÃO

O surgimento de mutações pontuais no *BCR-ABL1*, especialmente nos diferentes domínios estruturais do *ABL1*, representa a forma mais encontrada de resistência *BCR-ABL* dependente, responsável por interromper a ligação dessa proteína ao mesilato imatinibe. Dessa forma, a identificação precoce e o monitoramento quantitativo de mutações em casos de falha no tratamento ou resposta subótima é uma importante ferramenta no manejo e no acompanhamento ideal de pacientes com LMC, já que podem representar uma marca biológica de progressão da doença^{8,12,18}.

Nesse estudo, observamos predomínio da doença no sexo masculino (53%), com mediana de idade de 46 anos, semelhante aos achados de um grupo brasileiro no estado de Pernambuco, realizado com 367 pacientes diagnosticados com LMC, destes, 55% eram homens, com mediana de idade de 47 anos¹⁹. A maioria dos pacientes com LMC de países em desenvolvimento são mais jovens, quando comparado àqueles de países desenvolvidos. Assim, o sexo e a idade de apresentação da doença parecem resultar de interações de fatores como estilo de vida, etnia, desenvolvimento do país e acesso a um diagnóstico de qualidade^{12,19-21}.

Devido à grande variação na distribuição etária dos pacientes com a doença entre países ocidentais, europeus e asiáticos, e levando em consideração que o estilo de vida de um jovem é diferente do estilo de vida de um adulto, um idoso e de um paciente muito idoso, o estudo de Bacarani *et al.* sugere a distribuição em cinco faixas etárias: crianças e adolescentes (< 18 anos), adultos jovens (18 a 40 anos), adultos (41 a 65 anos), idosos (66 a 80 anos) e muito idosos (> 80 anos), além de ser uma variável significativa para avaliar as necessidades individuais de cada paciente, auxiliando na escolha do tratamento mais adequado¹².

Em relação aos parâmetros leucocitários, não foi encontrado nenhum estudo correlacionando seus índices e os valores de prognósticos. No entanto, alguns estudos consideram uma contagem de leucócitos < 10x10⁹/L como uma resposta hematológica completa. Além de descrever diferenças nessa contagem associadas ao

diferente tipo de transcrito do gene *BCR-ABL1*^{16,22}.

Sobre o intervalo entre o diagnóstico e o início do tratamento, 69% dos pacientes iniciaram o tratamento em menos de 1 ano. Estudos recentes descrevem uma maior probabilidade de melhores respostas moleculares quando o tratamento é iniciado previamente²³. Assim, levantamos a hipótese de que, mesmo com uma intervenção medicamentosa rápida, a não adesão à terapia pode resultar em falha terapêutica.

Em relação às mutações pontuais no domínio quinase, em nosso estudo, nenhum paciente apresentou as mutações analisadas, indicando que outros fatores podem ser responsáveis pela quimiorresistência ou ausência de resposta ótima segundo definido pelo *LeukemiaNet*¹³. Uma das possíveis causas seria a falta de adesão ao tratamento, em que 9 pacientes do estudo relataram não adesão devido ao uso descontínuo (44%) ou intolerância (56%). Outros autores também apoiam a ideia de que a adesão adequada ao tratamento com imatinibe é inversamente proporcional a progressão da doença^{24,25}. Uma pesquisa recentemente realizada em população brasileira na cidade de Belém mostrou que cerca de 22% dos pacientes são considerados não aderentes. Os motivos mais comuns são desinteresse e abandono do tratamento²⁶.

Embora o IM melhore a taxa de sobrevivência global dos pacientes, uma dose contínua e adequada é necessária para obter uma resposta satisfatória, além de diminuir ou evitar custos adicionais de assistência médica associados ao tratamento e a progressão da doença. Dessa forma, a adesão adequada à terapia com ITK está consideravelmente associada a obtenção de respostas moleculares mais profundas, enquanto uma menor adesão está relacionada a maior gravidade dos sintomas e menor qualidade de vida^{27,28}.

De fato, é sabido que a identificação de mutações no domínio *BCR-ABL1* quinase é uma ferramenta importante para monitorar pacientes com LMC refratários à terapia com IM, ajudando a escolher terapias mais específicas para o perfil genético de cada paciente, além de servir como marcador precoce de progressão da doença e piora do prognóstico. Assim, a avaliação frequente e a identificação precoce de fatores

que contribuem para a baixa adesão, podem colaborar com o delineamento de intervenções que favoreçam a adesão e a resposta ao tratamento de pacientes tratados com ITKs^{9,25,28}.

CONCLUSÃO

A ausência das mutações pontuais nos pacientes portadores de LMC analisados neste estudo demonstrou que a falha na terapia parece não ter correlação

molecular com as mutações analisadas e pode estar relacionada à menores taxas de adesão ao tratamento, dados estes que foram demonstrados em um número considerável de pacientes avaliados, apontando a necessidade de educar esses pacientes sobre a importância de seguir as recomendações sobre seu tratamento para evitar complicações futuras. No entanto, estudos em uma população atual com um maior número de participantes são fundamentais para determinar a real contribuição das mutações no domínio *BCR-ABL1* e a adesão ao tratamento.

REFERÊNCIAS

- Li W, Ji M, Lu F, Pang Y, Dong X, Zhang J, et al. Novel AF1q/MLLT11 favorably affects imatinib resistance and cell survival in chronic myeloid leukemia. *Cell Death Dis.* 2018;9(9):855. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0900-7> PMID:30154435 PMCID:PMC6113287
- Awad AS, Kankainen M, Ojala T, Koskenvesa P, Eldfors S, Ghimire B, et al. Mutation accumulation in cancer genes relates to nonoptimal outcome in chronic myeloid leukemia. *Blood Adv.* 2020;4(3):546-59. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000943> PMID:32045476 PMCID:PMC7013270
- Bugler J, Kinstrie R, Scott MT, Vetrie D. Epigenetic reprogramming and emerging epigenetic therapies in CML. *Front Cell Dev Biol.* 2019;7:136. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00136> PMID:31380371 PMCID:PMC6652210
- Hochhaus A, Saussele S, Rosti G, Mahon F-X, Janssen, JJWM, Hjorth-Hansen H. Chronic myeloid leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2017;28(suppl_4):iv41-iv51. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx219>
- Jain P, Kantarjian HM, Ghorab A, Sasaki K, Jabbour EJ, Gonzalez GN. Prognostic factors and survival outcomes in patients with chronic myeloid leukemia in blast phase in the tyrosine kinase inhibitor era: Cohort study of 477 patients. *Cancer.* 2017;123(22):4391-402. <https://doi.org/10.1002/cncr.30864> PMID:28743165 PMCID:PMC5673547
- Tripathi AK, Verma, SP, Kumar N. Mutation Analysis in chronic myeloid leukemia patient in chronic phase on imatinib having delayed achievement of milestones or loss of response. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2016;33(3):316-20. <https://doi.org/10.1007/s12288-016-0755-y> PMID:28824231 PMCID:PMC5544645
- Ru Y, Wang Q, Liu X, Zhang M, Zhong D, Ye M, et al. The chimeric ubiquitin ligase SH2-U-box inhibits the growth of imatinib-sensitive and resistant CML by targeting the native and T315I-mutant BCR-ABL. *Sci Rep.* 2016;6:28352. <https://doi.org/10.1038/srep28352> PMID:27329306 PMCID:PMC4916441
- Muselli F, Peyron JF, Mary D. Druggable Biochemical pathways and potential therapeutic alternatives to target leukemic stem cells and eliminate the residual disease in chronic myeloid leukemia. *Int J Mol Sci.* 2019;20(22):5616-46. <https://doi.org/10.3390/ijms20225616> PMID:31717629 PMCID:PMC6888542
- Nath A, Wang J, Huang, SR. Pharmacogenetics and pharmacogenomics of targeted therapeutics in chronic myeloid leukemia. *Mol Diag Ther.* 2017;21(6):621-31. <https://doi.org/10.1007/s40291-017-0292-x> PMID:28698977 PMCID:PMC5693681
- O'Hare T, Eide CA, Deininger MWN. Bcr-Abl kinase domain mutations, drug resistance, and the road to a cure for chronic myeloid leukemia. *Blood.* 2007;110(7):2242-9. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-03-066936> PMID:17496200
- Cuellar S, Vozniak M, Rhodes J, Forcello N, Olszta D. BCR-ABL1 tyrosine kinase inhibitors for the treatment of chronic myeloid leukemia. *J Oncol Pharm Pract.* 2017;24(6):433-52. <https://doi.org/10.1177/1078155217710553> PMID:28580869 PMCID:PMC6094551
- Baccarani M, Abruzzese E, Accurso V, Albano F, Annunziata M, Barulli S, et al. Managing chronic myeloid leukemia for treatment-free remission: a proposal from the GIMEMA CML WP. *Blood Adv.* 2019;3(24):4280-90. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000865> PMID:31869412 PMCID:PMC6929396
- Hochhaus A, Baccarani M, Silver RT, Schiffer C, Apperley JF, Cervantes F, et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2020;34(4):966-84. <https://doi.org/10.1038/s41375-020-0776-2> PMID:32127639 PMCID:PMC7214240
- Branford S, Kim DDH, Apperley JF, Eide CA, Mustjoki S, Ong ST, et al. Laying the foundation for genomically-based risk assessment in chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2019;33(8):1835-50. <https://doi.org/10.1038/s41375-019-0512-y> PMID:31209280 PMCID:PMC6893870
- Bonifacio M, Stagno F, Scaffidi L, Krampera M, Di Raimondo F. Management of chronic myeloid leukemia in advanced phase. *Front Oncol.* 2019;9:1132. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01132> PMID:31709190 PMCID:PMC6823861
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood.* 2016;127:2391-405. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-643544> PMID:27069254
- Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, et al. The MIQE Guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin Chem.* 2009;55(4):611-22. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797> PMID:19246619
- Chandrasekhar C, Kumar PS, Sarma PVGK. Novel mutations in the kinase domain of BCR-ABL gene causing imatinib resistance in chronic myeloid leukemia patients. *Sci Rep.* 2019;9(1):2412-29. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38672-x> PMID:30787317 PMCID:PMC6382822
- Neves WB, Brito AM, Vasconcelos AP, Melo FCBC, Melo RAM. Incidence and spatial distribution of chronic myeloid leukemia by regions of economic development in the state of Pernambuco, Brazil. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2019;41(3):212-15. <https://doi.org/10.1016/j.htct.2018.08.009> PMID:31085146 PMCID:PMC6732521
- Mendizabal AM, Younes N, Levine PH. Geographic and income variations in age at diagnosis and incidence of chronic myeloid leukemia. *Int J Hematol.* 2015;103(1):70-8. <https://doi.org/10.1007/s12185-015-1893-y> PMID:26547571
- Levine PH, Ajmera K, O'Neill B, Venkatesh V, Garcia-Gonzalez P, Hoffman HJ. Demographic factors related to young age at diagnosis of chronic myeloid leukemia in India. *Clin Epidemiol*

- Global Health. 2016;4(4):188-92.
<https://doi.org/10.1016/j.cegh.2016.06.001>
22. Khazaal MS, Hamdan FB, Al-Mayah QS. Association of BCR/ABL transcript variants with different blood parameters and demographic features in Iraqi chronic myeloid leukemia patients. *Mol Genet Genomic Med*. 2019;7(8):e809.
<https://doi.org/10.1002/mgg3.809> PMID:31206255
PMCID:PMC6687619
23. Vieira-Mion AL, Pereira NF, Funke VAM, Pasquini R. Molecular response to imatinib mesylate of Brazilian patients with chronic myeloid leukemia. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2017;39(3):210-15.
<https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2017.04.007> PMID:28830599
PMCID:PMC5568590
24. Geissler J, Sharf G, Bombaci F, Daban M, Jong J, Gavin T. Factors influencing adherence in CML and ways to improvement: Results of a patient-driven survey of 2546 patients in 63 countries. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2017;143(7):1167-76. <https://doi.org/10.1007/s00432-017-2372-z> PMID:28289895
25. Kvarnström K, Airaksinen M, Liira H. Barriers and facilitators to medication adherence: a qualitative study with general practitioners. *BMJ Open*. 2018;8(1):e015332.
<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-015332>
PMid:29362241 PMCID:PMC5786122
26. Andrade AR, Leitão DS, Paz IP, Evangelista TR, Mello VJ, Hamoy M. Analysis of imatinib adherence in chronic myeloid leukemia: a retrospective study in a referral hospital in the Brazilian Amazon. *Hematol Transfus Cell Ther*. 2019;41(2):106-13.
<https://doi.org/10.1016/j.htct.2018.09.006> PMID:31079656
PMCID:PMC6517621
27. Shen C, Zhao B, Liu L, Shih Y-CT. Adherence to tyrosine kinase inhibitors among Medicare Part D beneficiaries with chronic myeloid leukemia. *Cancer*. 2017;124(2):364-73.
<https://doi.org/10.1002/cncr.31050> PMID:28976559
PMCID:PMC5764158
28. Rychter A, Jerzmanowski P, Hołub A, Specht-Szwoch Z, Kalinowska V, Tęgowska U. Treatment adherence in chronic myeloid leukaemia patients receiving tyrosine kinase inhibitors. *Med Oncology*. 2017;34(6):104-13.
<https://doi.org/10.1007/s12032-017-0958-6> PMID:28444623
PMCID:PMC5405100

Conflitos de interesse: Os autores informam não haver conflitos de interesse relacionados a este artigo.

Contribuição individual dos autores:

Concepção e desenho do estudo: JARL, TCBA, CAMN

Análise e interpretação dos dados: LCP, LOS, CAMN

Coleta de dados: LCP, LOS.

Redação do manuscrito: LCP, LOS, CAMN.

Revisão crítica do texto: LCP, LOS, CAMN, JARL.

Aprovação final do manuscrito*: LCP, TCBA, CAMN, JARL

Análise estatística: LCP, LOS, CAMN.

Responsabilidade geral pelo estudo: CAMN, JARL

*Todos os autores leram e aprovaram a versão final do manuscrito submetido para publicação da Rev Cienc Saude.

Informações sobre financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).