



Ministério da Saúde
Instituto Nacional de Câncer
Coordenação de Ensino
Programa em Residência Médica de Hematologia e Hemoterapia

LAÍS SANTOS TUNHOLI

**MECANISMOS DE PROGRESSÃO DE DOENÇA NA LEUCEMIA MIELOIDE
CRÔNICA E RESISTÊNCIA AOS INIBIDORES DE TIROSINA QUINASE**

Rio de Janeiro
2023

LAÍS SANTOS TUNHOLI

**MECANISMOS DE PROGRESSÃO DE DOENÇA NA LEUCEMIA MIELOIDE
CRÔNICA E RESISTÊNCIA AOS INIBIDORES DE TIROSINA QUINASE**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Nacional de
Câncer como requisito parcial para a
conclusão do programa de Residência
Médica de Hematologia e Hemoterapia.

Orientadora: Dra. Ingrid Luise Soares Pinto
Revisão: Dra. Shirley Burburan

Rio de Janeiro

2023

T926m Tunholi, Laís Santos

Mecanismos de progressão de doença na leucemia mieloide crônica e resistência aos inibidores de tirosina quinase. / Laís Santos Tunholi. – Rio de Janeiro, 2023.
30 f.: il. Color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Residência Médica em Hematologia e Hemoterapia) – Instituto Nacional de Câncer, 2023.

Orientadora: Dra. Ingrid Luise Soares Pinto.

1. Leucemia Mielogênica Crônica BCR-ABL Positiva. 2. Proteínas Tirosina Quinases. 3. Instabilidade Genômica. 4. Resistência a Medicamentos Antineoplásicos. I. Pinto, Ingrid Luise. (Orient.). II. Instituto Nacional de Câncer. III. Título.

CDD 616. 994 19

Catálogo na fonte
Núcleo de Sistema Integrado de Bibliotecas / INCA
Kátia Simões CRB7/5952

LAÍS SANTOS TUNHOLI

**Mecanismos de progressão de doença na Leucemia Mieloide Crônica e
resistência aos Inibidores de Tirosina Quinase**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Nacional de Câncer
como requisito parcial para a conclusão do
Programa de Residência Médica em Hematologia e Hemoterapia

Aprovado em: de de .

Banca examinadora:

Ingrid Luise Soares Pinto

Roberta Coutinho da Silva

Rio de Janeiro
2023

RESUMO

TUNHOLI, Laís Santos. **Mecanismos de progressão de doença na Leucemia Mieloide Crônica e resistência aos Inibidores de Tirosina Quinase**. Monografia. (Residência Médica em Hematologia e Hemoterapia) — Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, 2023.

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal caracterizada pela translocação t(9;22), resultando no gene de fusão BCR-ABL que codifica uma oncoproteína com atividade tirosina quinase constitutiva, sendo essencial no desenvolvimento da doença. A maioria dos pacientes é diagnosticada em uma fase inicial, conhecida como Fase Crônica (FC), porém se não for adequadamente tratada, poderá evoluir para Fase Acelerada (FA) ou Crise Blástica (CB). Pacientes em FC geralmente obtêm sucesso no tratamento com Inibidores de Tirosina Quinase (TKI), porém alguns não respondem (resistência primária) e outros recaem após resposta (resistência secundária). O principal mecanismo de resistência está relacionado à mutações no oncogene BCR-ABL, induzindo a intensificação das vias de proliferação/sobrevivência, aumento da instabilidade genômica, ativação de vias que levam ao bloqueio da diferenciação mieloide, aquisição da capacidade de auto-renovação e inibição de supressores tumorais. O tratamento de pacientes em CB geralmente apresenta resultados ruins tanto com TKIs isoladamente ou combinado com quimioterapia, logo, pacientes aptos devem proceder ao transplante alogênico de medula óssea em primeira remissão. Pode-se concluir que a melhor estratégia no tratamento da doença seria prevenir a evolução para fases avançadas, já que, obtemos resultados pobres com os tratamentos disponíveis atualmente para os pacientes em CB.

Palavras-chave: leucemia mieloide crônica; BCR-ABL; inibidores de tirosina quinase; mecanismos de progressão; mecanismos de resistência.

ABSTRACT

TUNHOLI, Laís Santos. **Mechanisms of disease progression in Chronic Myeloid Leukemia and resistance to Tyrosine Kinase Inhibitors.** Monograph. (Medical Residency in Hematology and Hemotherapy) — Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, 2023.

Chronic Myeloid Leukemia (CML) is a clonal myeloproliferative disease characterized by the t(9;22) translocation, resulting in the BCR-ABL fusion gene that encodes an oncoprotein with constitutive tyrosine kinase activity, being essential in the development of the disease. Most patients are diagnosed in an initial phase, known as the Chronic Phase (CF), but if not properly treated, it can progress to Accelerated Phase (AP) or Blastic Crisis (BC). CF patients are usually successful in treatment with Tyrosine Kinase Inhibitors (TKI), but some do not respond (primary resistance) and others relapse after response (secondary resistance). The main mechanism of resistance is related to mutations in the BCR-ABL oncogene, inducing the intensification of proliferation/survival pathways, increased genomic instability, activation of pathways that lead to blockage of myeloid differentiation, acquisition of self-renewal capacity and inhibition of tumor suppressors. The treatment of patients with BC generally has poor results either with TKIs alone or combined with chemotherapy, therefore, able patients should proceed with allogeneic bone marrow transplantation in first remission. It can be concluded that the best strategy in the treatment of the disease would be to prevent the progression to advanced stages, since we obtain poor results with the treatments currently available for patients with BC.

Keywords: chronic myeloid leukemia; BCR-ABL; tyrosine kinase inhibitors; progression mechanisms; resistance mechanisms.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 — Vias dependentes de BCR-ABL1 para transformação blástica	5
Figura 2 — Papel do BCR-ABL1 na instabilidade genômica	7

LISTA DE ABREVIATURAS

CO ₂	dióxido de carbono
DNA	ácido desoxirribonucleico
GABA _A	receptor do ácido gama-aminobutírico do tipo A
2G-TKIs	Inibidores de Tirosina Quinase de segunda geração
ACAs	Anormalidades cromossômicas adicionais
AFS	Anelamento de fita simples
CB	Crise blástica
CILs	Células iniciadoras de leucemia
CPLs	Células progenitoras da leucemia
CTH	Célula tronco hematopoiética
CTLs	Células tronco leucêmicas
DLI	Infusão de linfócitos do doador
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DQ	Domínio quinase
EC	Evolução clonal
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FA	Fase acelerada
FC	Fase crônica
IC 50	Concentração inibitória
JENH	Junção de extremidade não homóloga
LLA	Leucemia Linfocítica Aguda
LMC	Leucemia Mieloide Crônica
MI	Mesilato de Imatinibe
MiRNAs	MicroRNAs
MO	Medula óssea
OMS	Organização Mundial de Saúde
Ph	Philadelphia
QFD	Quebra de fita dupla
REB	Reparo por excisão de base
RMM	Resposta molecular maior

RNA	Ácido rionucleico
RRH	Reparo por recombinação homóloga
SRI	Sistema de reparo de incompatibilidade
TCTH	Transplante de células tronco hematopoiéticas
TKI	Inibidores de Tirosina Quinase
UNG2	Uracil-N-glicosilase 2

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	VISÃO GERAL DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA	2
3	MECANISMOS DE PROGRESSÃO DE DOENÇA CONHECIDOS	4
3.1	BCR-ABL1 e instabilidade genômica	5
3.2	Mecanismos de resistência independentes de BCR-ABL1	7
3.3	Anormalidades cromossômicas adicionais	8
3.4	Aberrações centrossomais	9
3.5	Mutações genéticas	9
3.6	Perda não genômica da função supressora de tumor	10
3.7	O papel dos microRNAs	10
4	Resistência aos inibidores de tirosina quinase	12
4.1	Biodisponibilidade dos TKIs	13
5	Terapêutica da doença avançada	14
5.1	TKIs recomendados	15
5.1.1	Imatinibe	15
5.1.2	Dasatinibe	15
5.1.3	Nilotinibe	15
5.1.4	Bosutinib	15
5.1.5	Ponatinibe	16
6	Evolução	17
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	18
	REFERÊNCIAS	19

1 INTRODUÇÃO

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é caracterizada pela presença do gene de fusão BCR-ABL1, que codifica uma tirosina quinase ativa constitutiva considerada o condutor patogênico capaz de iniciar e manter a doença (BAVARO et al., 2019).

Ocorre com uma incidência anual de 1,0–1,5 por 100.000 pessoas, e muito raramente em crianças. No mundo ocidental, a idade média de início é de 50 a 60 anos, o que reflete a idade média da população (PERROTTI et al., 2010).

Apesar da notável eficácia dos inibidores de tirosina quinase (TKIs) direcionados ao BCR-ABL1, alguns pacientes podem não responder (resistência primária) ou podem recidivar após uma resposta inicial (resistência secundária) (BAVARO et al., 2019).

Acredita-se que o aumento nos níveis de transcrição de BCR-ABL1 promova o aparecimento de defeitos cromossômicos ou genéticos secundários, induza a interrupção da diferenciação, perturbe a transcrição do RNA, edição e tradução que, juntamente com alterações epigenéticas e metabólicas, podem levar à expansão de células malignas altamente proliferativas e com interrupção da diferenciação (BAVARO et al., 2019).

O presente trabalho tem por objetivo fornecer uma revisão sobre o que é conhecido acerca dos mecanismos de progressão da LMC e mecanismos de resistência aos TKIs, assim como uma breve revisão sobre o tratamento proposto para as fases avançadas da doença.

A compreensão destes mecanismos é importante para o futuro desenvolvimento de estratégias a fim de evitar a progressão da doença, visto que a mesma apresenta bons resultados ao tratamento em fase inicial e prognóstico sombrio em fases avançadas.

2 VISÃO GERAL DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal decorrente de uma célula-tronco hematopoiética (CTH) multipotente. A LMC é caracterizada por uma anormalidade citogenética única envolvendo os braços longos dos cromossomos 9 e 22, a translocação $t(9;22)(q34;q11)$, resultando em um derivado 22q- tradicionalmente conhecido como cromossomo Philadelphia (Ph) (BAVARO et al., 2019).

Essa translocação gera o gene de fusão BCR/ABL, que é traduzido na oncoproteína p210 em quase todos os pacientes com LMC. Duas outras proteínas BCR/ABL, p190 e p230, geradas por genes de fusão variantes, são detectadas apenas ocasionalmente na LMC clássica (CALABRETTA; PERROTTI, 2004).

Nas células hematopoiéticas da LMC portadoras do cromossomo Ph, o gene de fusão BCR/ABL codifica p210, uma oncoproteína que, ao contrário da p145 c-Abl normal, possui atividade tirosina quinase constitutiva e está predominantemente localizada no citoplasma. A atividade da tirosina quinase é essencial para a transformação celular e a localização citoplasmática de BCR/ABL permite a montagem de substratos fosforilados em complexos multiproteicos que transmitem sinais mitogênicos e antiapoptóticos (HEHLMANN, 2012).

A LMC é caracterizada por um curso clínico trifásico. Mais de 90% dos casos de LMC são diagnosticados em uma fase inicial conhecida como fase crônica (FC). Até 50% dos pacientes são assintomáticos nesta fase e a doença é diagnosticada por exames de sangue de rotina (BAVARO et al., 2019).

Se não for tratada de forma eficaz, a LMC pode progredir para uma fase acelerada (FA), que é variável em duração e pode ser seguida por uma crise blástica (CB), que se assemelha morfológicamente à leucemia aguda: a diferenciação mielóide e/ou linfóide cessa e os blastos imaturos se acumulam na medula óssea (MO) espalhando-se então para tecidos e órgãos. Vinte a 25% dos pacientes podem desenvolver CB sem passar pela FA intermediária. A OMS define a porcentagem de blastos necessária para a definição da CB em 20% (BAVARO et al., 2019).

A maioria dos casos de LMC CB pertence à linhagem mielóide, mas até um terço pode se transformar em linfóide (YOHANNAN; GEORGE, 2022).

CB linfóide é responsável por quase 30% da LMC CB, sendo a linhagem de células B mais comum. Muito raramente, os pacientes podem apresentar CB de células T. A troca de linhagem é um evento raro em que os pacientes começam com CB mielóide e mudam para CB linfóide ou vice-versa (YOHANNAN; GEORGE, 2022).

Pacientes com LMC FC podem ser tratados com sucesso com inibidores de tirosina quinase (TKIs) ABL1. O primeiro a ser introduzido foi o mesilato de imatinibe, que mostrou uma alta taxa de respostas e um perfil de efeitos colaterais aceitável quando avaliado como terapia inicial para LMC FC recém-diagnosticada no estudo IRIS. No entanto, alguns pacientes podem não responder ao imatinibe (resistência primária) e outros recaem após uma resposta inicial (resistência secundária). Em uma pequena proporção de casos, o desenvolvimento de resistência é acompanhado ou logo seguido pela progressão para CB (BAVARO et al., 2019).

O problema da resistência tem sido o principal gatilho para o desenvolvimento dos TKIs de segunda geração (2G-TKIs) – primeiro aprovados para pacientes resistentes ao imatinibe e posteriormente como terapia de primeira linha. Hoje, três 2G-TKIs (bosutinibe, dasatinibe e nilotinibe) estão disponíveis e um benefício clínico significativo em comparação com o imatinibe foi demonstrado por ensaios clínicos randomizados (BAVARO et al., 2019).

Um TKI de terceira geração (ponatinibe) também está disponível para pacientes com uma mutação peculiar de resistência a TKI no gene BCR-ABL1 (o T315I, contra o qual o imatinibe e os 2G-TKIs são ineficazes) ou para quem nenhum outro TKI é indicado (BAVARO et al., 2019).

Um esforço para manter a capacidade de direcionar a mutação T315I, mas evitar possíveis toxicidades fora do alvo, levou ao desenvolvimento do asciminib (ABL001), o primeiro inibidor alostérico da ABL1 quinase a alcançar a avaliação clínica (BRAUN; EIDE; DRUKER, 2020).

Estudos pré-clínicos demonstraram que o asciminib é um inibidor potente e altamente seletivo de ABL1 com atividade contra muitas mutações pontuais de BCR-ABL1, incluindo T315I (BRAUN; EIDE; DRUKER, 2020).

A resistência adquirida pode ainda ser categorizada como dependente de Bcr-Abl ou independente de Bcr-Abl. A maioria dos pacientes que são inicialmente sensíveis ao tratamento com TKIs, mas depois se tornam insensíveis, desenvolvem resistência adquirida que está associada a mutações no oncogene Bcr-Abl (ICHIM, 2014).

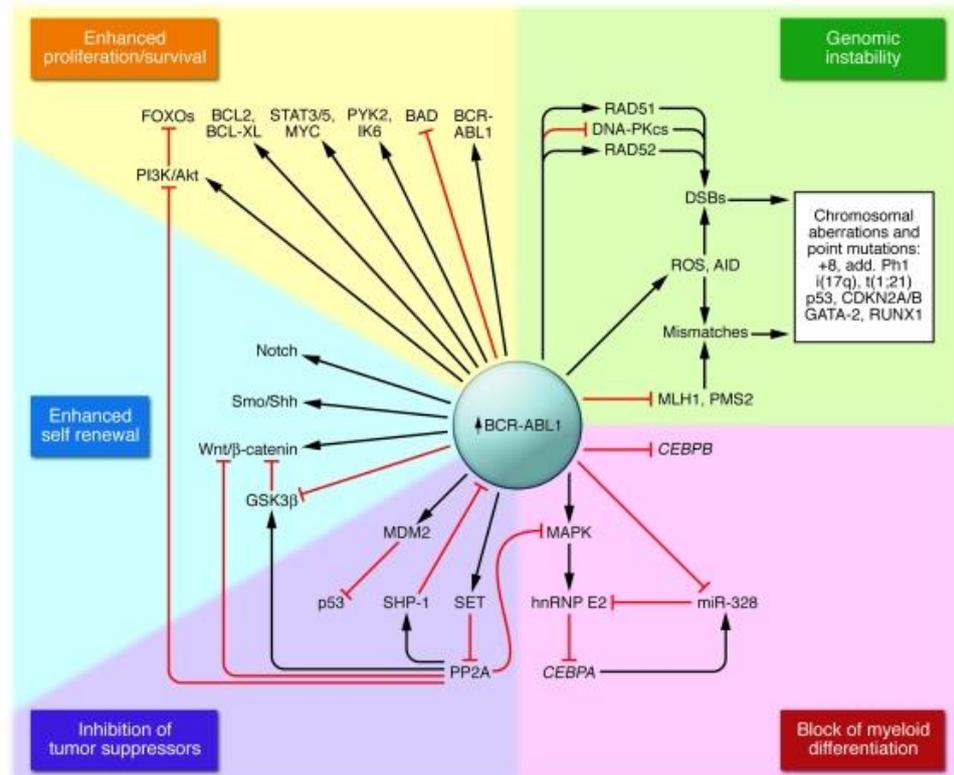
3 MECANISMOS DE PROGRESSÃO DE DOENÇA CONHECIDOS

O BCR-ABL1 é necessário para a transformação maligna, mas não é suficiente para sustentar a CB. De fato, os níveis de expressão de BCR-ABL1 (tanto no nível de RNAm quanto de proteína) aumentam com a progressão da doença, promovendo o aparecimento de "hits" moleculares e cromossômicos secundários que, em última análise, levam à expansão de clones de células malignas altamente proliferativas e paradas na diferenciação (BAVARO et al., 2019).

O fato de alguns pacientes progredirem repentinamente durante o tratamento com TKI sugere que a progressão da doença também pode envolver mecanismos independentes de BCR-ABL1 (BAVARO et al., 2019).

A evolução da FC para a CB é um fenômeno multifatorial e provavelmente de várias etapas. Acredita-se que a progressão da doença pode ser desencadeada por uma série de eventos distintos, mas funcionalmente equivalentes em diferentes pacientes, em que o aumento nos níveis de transcrição de BCR-ABL1 coopera com a instabilidade genômica dependente e independente de BCR-ABL1 para determinar o acúmulo de eventos-chave no nível de DNA, RNA e proteína que convergem para subverter o controle do ciclo celular, diferenciação, apoptose (BAVARO et al., 2019).

Figura 1. Vias dependentes de BCR-ABL1 para transformação blástica



A expressão/atividade relativamente alta de BCR-ABL1 em células tronco CD34⁺ CD38⁻ e/ou progenitores precoces CD34⁺ em comparação com progenitores mais comprometidos, resulta no seguinte: intensificação das vias de proliferação/sobrevivência; aumento da instabilidade genômica; ativação de vias que levam ao bloqueio da diferenciação mieloide, aquisição da capacidade de auto-renovação e inibição de supressores tumorais com amplas funções reguladoras celulares (PERROTTI et al., 2010).

3.1 BCR-ABL1 e instabilidade genômica

A instabilidade genômica é provavelmente responsável por dois grandes problemas na LMC: resistência aos TKI e progressão da doença. Ambos os fenômenos podem ser induzidos pelo acúmulo de mutações pontuais e aberrações cromossômicas adicionais em células LMC FC, alterando irreversivelmente seu fenótipo em direção ao de LMC CB (PERROTTI et al., 2010).

BCR-ABL1 é considerado uma causa direta de instabilidade genômica, uma vez que sua expressão e atividade são responsáveis pela geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), interrupção das vias de reparo do DNA e inibição da apoptose induzida por dano ao DNA que pode resultar em aneuploidia, alterações

cromossômicas, deleções e inserções de DNA e mutações pontuais (BAVARO et al., 2019).

Experimentos *in vitro* demonstraram que a expressão da proteína BCR-ABL sensibiliza as células à radiação ionizante e faz com que as células acumulem danos ao DNA induzidos por drogas (JABBOUR et al., 2014).

O controle dos níveis de ERO intracelulares é um dos mecanismos necessários para garantir a integridade genômica, pois as ERO podem danificar tanto as nucleobases e a desoxirribose incorporada no DNA quanto os nucleotídeos livres, levando a bases oxidadas e quebras de fita dupla (QFD) do DNA. Verificou-se que a atividade da quinase BCR-ABL1 eleva os níveis intracelulares de ERO, e isso foi marcadamente mais evidente em células LMC CB, exibindo níveis mais altos de BCR-ABL1, do que em células LMC FC (BAVARO et al., 2019).

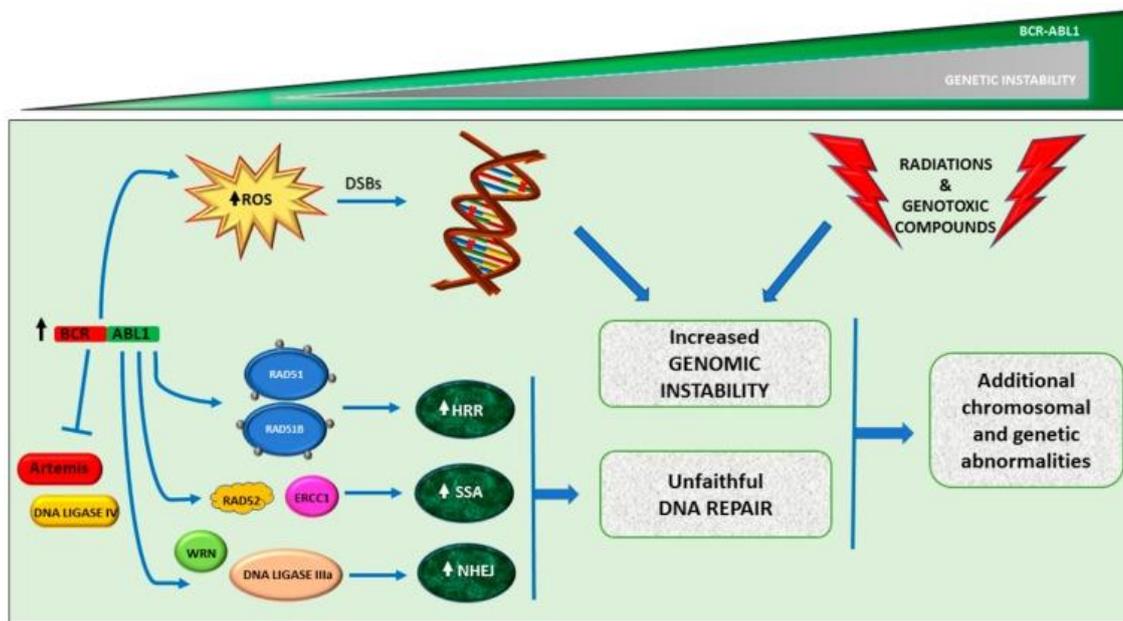
As células humanas podem usar três mecanismos de reparo diferentes: reparo por recombinação homóloga (RRH), junção de extremidade não homóloga (JENH) e anelamento de fita simples (AFS) para reparar QFD. RRH é considerado um mecanismo fiel, enquanto JENH e AFS geralmente geram pequenas ou grandes deleções. A quinase BCR-ABL1 estimula todos os três mecanismos de reparo de QFD para aumentar a instabilidade genômica (SKORSKI, 2011).

O sistema de reparo de incompatibilidade (SRI) tem o papel de manter a estabilidade genômica, detectando nucleotídeos mal incorporados, agindo como um reparo por excisão antes que surjam mutações pontuais e induzindo a apoptose celular em caso de danos irreparáveis no DNA. Stoklosa et al. demonstraram que a quinase BCR-ABL1 é responsável pela redução da atividade da SRI. A atividade prejudicada de SRI em células de leucemia foi associada ao acúmulo de p53, mas não de p73, e à falta de ativação da caspase 3 após o tratamento com agentes indutores de dano ao DNA. Isso resultou em um aumento de 15 vezes na taxa de mutação em células positivas para BCR-ABL1. O "fenótipo mutante" resultante pode ser o principal responsável pelo acúmulo de mutações pontuais na sequência do domínio BCR-ABL1 quinase e em outros genes-chave, causando resistência a TKI e promovendo a progressão da doença (BAVARO et al., 2019).

O reparo por excisão de base (REB) defeituoso também pode contribuir para o acúmulo de mutações pontuais. O REB é o principal responsável pela correção de danos ao DNA por processos de oxidação, alquilação e desaminação. No compartimento da célula-tronco/progenitora, BCR-ABL1 inibe de maneira dependente

da quinase a atividade da uracil-N-glicosilase 2 (UNG2), uma das principais enzimas que inicia o REB reconhecendo e eliminando as bases de DNA danificadas (BAVARO et al., 2019).

Figura 2. Papel do BCR-ABL1 na instabilidade genômica



Altos níveis de BCR-ABL1 são responsáveis pela geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) e estimulam mecanismos de reparo de DNA infiel (RRH = reparo de recombinação homóloga, JENH = junção de extremidade não homóloga, AFS = anelamento de fita simples), levando assim ao aumento do dano ao DNA (BAVARO et al., 2019).

3.2 Mecanismos de resistência independentes de BCR-ABL1

Embora as mutações do domínio quinase BCR-ABL1 sejam identificadas em muitos indivíduos com LMC que recidivam no tratamento com TKI, a resistência pode se desenvolver em outros sem mutações aparentes no domínio quinase. Há também evidências de que a resistência a TKI pode se desenvolver por meio da reativação das vias de sinalização a jusante de BCR-ABL1, incluindo MAPK, PI3K, SRC e JAK/STAT, apesar da inibição efetiva de BCR-ABL1 (BRAUN; EIDE; DRUKER, 2020).

A resistência independente de mutação do domínio quinase BCR-ABL1 também está associada à presença de mutações nos reguladores epigenéticos ASXL1, DNMT3A, IDH1 e SETBP1. Além disso, essas mutações também estão associadas à progressão para crise blástica (BRAUN; EIDE; DRUKER, 2020).

Não está claro exatamente como essas mutações conduzem à resistência ao TKI na LMC, embora os estudos na LMA forneçam evidências de que essas mutações facilitam algum grau de interrupção da diferenciação em blastos leucêmicos, o que pode resultar em diminuição da sensibilidade ao TKI (BRAUN; EIDE; DRUKER, 2020).

Os níveis do fator de crescimento placentário derivado da medula óssea estão aumentados na LMC e promovem a proliferação de células LMC independentes de BCR-ABL1 (BRAUN; EIDE; DRUKER, 2020).

O fator de crescimento de fibroblastos 2 liberado do estroma da medula óssea também impulsiona a resistência ao imatinibe por meio da ativação da sinalização MAPK a jusante (BRAUN; EIDE; DRUKER, 2020).

3.3 Anormalidades cromossômicas adicionais

Em clones positivos para Philadelphia, o clássico $t(9;22)(q34;q11)$ pode ser encontrado em combinação com aberrações cromossômicas secundárias conhecidas como anormalidades cromossômicas adicionais (ACAs) (BAVARO et al., 2019).

As recomendações da European LeukemiaNet sugerem que a presença de ACAs no momento do diagnóstico deve ser considerada um sinal de “alerta” para pacientes em FC inicial, exigindo um acompanhamento mais próximo desse subconjunto de pacientes (BAVARO et al., 2019).

O aparecimento de ACAs no tratamento é bem conhecido como evolução clonal (EC) e tem sido associado à evolução da doença, uma vez que a frequência de ACAs é maior em fases avançadas, FA ($\approx 30\%$) e CB ($\approx 80\%$) (BAVARO et al., 2019).

Os ACAs mais comuns envolvidos na evolução do cariótipo são a trissomia 8 (a mais frequente), um segundo cromossomo Ph, um isocromossomo 17 ($i(17q)$) e a trissomia 19. Essas aberrações são chamadas de “alterações de rota maior” (BAVARO et al., 2019).

Algumas das alterações citogenéticas infrequentes são trissomias dos cromossomos 17 e 21, monossomias dos cromossomos 7, 17 e 21, translocações $t(3;12)$, $t(4;6)$, $t(2;16)$ e $t(1; 21)$. Elas são conhecidas como “alterações de rota menor” (BAVARO et al., 2019).

3.4 Aberrações centrossomais

O centrossomo é uma organela celular eucariótica que organiza o fuso mitótico e garante a separação bipolar fiel das cromátides irmãs durante a mitose e a meiose. Defeitos na função do centrossomo podem levar à segregação incorreta dos cromossomos, representando outra causa potencial de instabilidade genômica observada na LMC. Essas observações, vistas à luz da evidência de que a proteína BCR-ABL interage com a proteína centrossomal, pericentrina, sugere que a atividade BCR-ABL pode, em parte, causar e/ou propagar aberrações centrossomais que resultam, em última análise, na perda da integridade cromossômica (JABBOUR et al., 2014).

3.5 Mutações genéticas

O gene mais frequentemente mutado na LMC é o próprio *BCR-ABL1*. Mutações pontuais dentro do domínio quinase (DQ) *ABL1* podem, de fato, ser selecionadas durante a terapia com TKI, levando à falha do tratamento (BAVARO et al., 2019).

As mutações interrompem os resíduos de contato críticos entre os TKIs e seu alvo ou induzem uma mudança para uma conformação que os TKIs podem ser incapazes de se ligar (por exemplo, da conformação fechada para a aberta da quinase, que o imatinibe e o nilotinibe não conseguem reconhecer) (BAVARO et al., 2019).

No nível molecular, as mutações mais comuns detectáveis (além daquelas no domínio *BCR-ABL1* quinase) ocorrem nos loci dos genes supressores de tumor *P53* (20% a 30% dos casos) e no gene do fator de transcrição relacionado ao runt. (*RUNX1*) (38% dos casos) na CB mieloide e nos loci do inibidor 2A/2B da quinase dependente de ciclina (*CDKN2A/B*) (50% dos casos) e fator de transcrição Ikaros (*IKZF1*) (55% dos casos) na CB linfoide (PERROTTI et al., 2010).

Pacientes com CB, muito mais frequentemente do que pacientes com FC, podem acumular múltiplas mutações BCR-ABL1 DQ como resultado da terapia sequencial com TKIs (BAVARO et al., 2019).

3.6 Perda não genômica da função supressora de tumor

Os efeitos pós-transcricionais, translacionais e pós-traducionais dos altos níveis de BCR-ABL1 resultam na ativação constitutiva de fatores com atividade mitogênica, antiapoptótica e antidiferenciação relatada (por exemplo, MAPK^{ERK1/2}, MYC, JAK2, YES-1, LYN, hnRNP-E2, MDM2, STAT5, BMI-1 e BCL-2) e inibição dos principais reguladores-chave de processos celulares, como aqueles regulados pelos supressores de tumor p53, CCAAT/proteína de ligação potenciadora- α (C/EBP α), e PP2A (PERROTTI et al., 2010).

A inativação de PP2A no nível genético ou funcional demonstrou desempenhar um papel crucial na progressão do câncer. Na LMC, a inibição de PP2A é conseguida principalmente através da formação de um complexo inibitório com a fosfoproteína SET (BAVARO et al., 2019).

Assim, a incorporação de drogas ativadoras de PP2A nos protocolos terapêuticos atuais para pacientes com LMC-CB e resistentes a imatinibe/dasatinibe (incluindo T315I) tem não apenas o potencial de tratar a LMC CB, mas também de erradicar a LMC no nível das células-tronco (PERROTTI et al., 2010).

STAT3 é um mediador da resistência extrínseca ao TKI conferida às células da LMC por fatores derivados da medula óssea. STAT3^{Y705} é fosforilado em células LMC primárias resistentes a TKI de uma forma celular autônoma (intrínseca), sugerindo que pSTAT3^{Y705} integra vias de resistência intrínseca e extrínseca (EIDE; O'HARE, 2015).

3.7 O papel dos microRNAs

MicroRNAs (miRNAs) são conhecidos por desempenhar um papel essencial na tumorigênese pela regulação pós-transcricional da expressão gênica. A expressão aberrante de vários miRNAs foi descrita na LMC, em associação com a sobrevivência e autorrenovação de células-tronco, sensibilidade ou resistência à terapia com TKI e progressão da doença. Neste último contexto, uma análise de microarray revelou perfis de expressão diferencial de vários miRNAs - ou seja, a regulação positiva de miR-19a, miR-19b, miR-17, miR-20a, miR-92a, miR-221, miR-222, miR-126, miR-146a, miR-181a, miR-181b, let7c e miR-155 e a regulação negativa de miR-150, miR-452, miR-103 e miR-144- em amostras de CB. Outro miRNA chave é o miR-328, que está envolvido na regulação negativa de C/EBP α e no subsequente bloqueio da diferenciação mieloide (BAVARO et al., 2019).

O miR-378, aumentado na medula óssea de pacientes com LMC, demonstrou aumentar a expressão de múltiplos marcadores de células-tronco, incluindo Nanog, Oct4 e c-MYC. Estudos anteriores ligaram esses fatores de transcrição a leucemias da linhagem mieloide. Os pesquisadores caracterizaram ainda mais as funções oncogênicas do miR-378 validando que o FUS1, um supressor de tumor, é um alvo do miR-378 nas linhagens de células K562; assim, o miR-378 induz a proliferação de LMC (RUDICH; GARZON; DORRANCE, 2022).

4 RESISTÊNCIA AOS INIBIDORES DE TIROSINA QUINASE

Atualmente, o termo "resistência" é usado para rotular um amplo e heterogêneo espectro de níveis "não ótimos" de resposta à terapia com TKI, variando desde a falha em atingir uma resposta molecular maior (RMM; definida como níveis de transcrição BCR-ABL1 igual ou inferior a 0,1%) ou aumento nos níveis de transcrição de BCR-ABL1 levando a uma perda de RMM, a uma franca perda de resposta hematológica (BAVARO et al., 2019).

Até o momento, várias vias e mecanismos intrínsecos e extrínsecos celulares foram sugeridos para contribuir para o fenótipo CTH resistente a TKI. Dentre os mecanismos intrínsecos à célula, as vias Foxo, Sonic Hedgehog e Wnt/ β -catenina são as mais extensivamente investigadas (BAVARO et al., 2019).

Várias vias estão implicadas na resistência extrínseca, incluindo JAK/STAT e CXCR4/CXCL12, e evidências sugerem que fatores extrínsecos promovem a sobrevivência de células LMC primitivas apesar da inibição de BCR-ABL1 por TKI, resultando na persistência da doença (EIRING et al., 2015).

Foxo3a desempenha um papel fundamental na via de sinalização do TGF- β , conduzindo a sobrevivência das células iniciadoras de leucemia (CILs) durante o tratamento com TKI (BAVARO et al., 2019).

A ativação da β -catenina nuclear e a expressão de seus alvos transcricionais promovem a progressão da LMC, resistência ao inibidor da tirosina quinase e auto-renovação das células-tronco leucêmicas. β -catenina nuclear desempenha um papel na resistência ao TKI intrínseca, mas não extrínseca da célula leucêmica BCR-ABL1 quinase independente (EIRING et al., 2015).

Existem várias explicações possíveis para a instabilidade genômica persistente durante o tratamento com TKI. Primeiro, embora os TKIs inibam a atividade da quinase BCR-ABL1 em células progenitoras da leucemia (CPLs) na LMC FC, sua eficácia em células tronco leucêmicas (CTLs) da LMC FC é questionável. O efeito dos TKIs na sinalização induzida por BCR-ABL1 quinase pode ser obscurecido por fatores de crescimento, geralmente resultando em inibição incompleta ou mesmo estimulação de vias de sinalização, como aquelas envolvendo STAT5, AKT e MAPKs. Portanto, os TKIs não podem eliminar completamente os efeitos da BCR-ABL1 quinase e podem não inibir efetivamente a instabilidade genômica. Em segundo lugar, o imatinibe pode exercer atividade mutagênica para induzir centrossoma e aberrações cromossômicas.

Em terceiro lugar, se as células LMC FC exibirem uma instabilidade genômica preexistente ativa responsável pela geração de t(9;22), esse processo deve ser independente da quinase BCR-ABL1 e continuará gerando erros apesar do tratamento. Esta especulação implica instabilidade genômica dependente e independente de quinase BCR-ABL1 em células LMC (PERROTTI et al., 2010).

Sabe-se que o STAT5 tem vários papéis importantes nas funções das células hematopoiéticas e imunes, como proliferação, diferenciação e apoptose celular. O STAT5 pode ser ativado em condições normais, geralmente por citocinas, como fator de crescimento, por meio das vias JAK-STAT, mas também pode ser desregulado na hematopoiese leucêmica ou outra malignidade hematológica (PUTRI et al., 2019).

Acionado pela oncoproteína BCR-ABL1, STAT5 tem quatro papéis para apoiar na LMC. A primeira é a capacidade de estimular a proliferação celular. Em segundo lugar, aumenta a viabilidade celular pela regulação positiva de genes anti-apoptóticos, como BCLXL e MCL1. Em terceiro lugar, a capacidade de neutralizar a morte celular induzida por TKI e, por último, aumentar a probabilidade de adquirir mutações de BCR-ABL1 (PUTRI et al., 2019).

Ainda, outro mecanismo de resistência a drogas que desempenha um papel importante na LMC é regulado por miRNAs: os transportadores de drogas. Os transportadores de efluxo permitem que as células evitem a terapia bombeando a molécula para fora do citosol. As células mononucleares do sangue periférico de pacientes com LMC resistentes a imatinibe em comparação com pacientes responsivos mostraram uma diminuição no miR-214. Curiosamente, o miR-214 se liga ao 3' UTR de ABCB1, que codifica para um transportador de efluxo de drogas conhecido por ser regulado positivamente em malignidades multirresistentes a drogas, embora o faça com homologia de sequência limitada (RUDICH; GARZON; DORRANCE, 2022).

4.1 Biodisponibilidade dos TKIs

Todos os TKIs usados na LMC sofrem extenso metabolismo hepático de primeira passagem pelo CYP3A4 e fortes indutores do CYP3A4 podem contribuir para a resistência ao TKI. Os pacientes em TKIs devem passar por uma reconciliação completa da medicação para evitar possíveis interações medicamentosas que podem afetar negativamente a eficácia do TKI (PATEL; O'HARE; DEININGER, 2017).

5 TERAPÊUTICA DA DOENÇA AVANÇADA

Ao decidir sobre a terapia apropriada para LMC CB, muitos fatores precisam ser considerados, o que afetará a escolha da terapia. Os principais entre eles são (1): a CB é uma apresentação de novo ou uma progressão com TKI ou outra terapia? (2) A CB tem fenótipo mielóide, linfóide ou misto? (3) A quais TKIs anteriores (se houver) o paciente foi exposto? (4) O paciente é conhecido por ter uma mutação no domínio BCR-ABL1 quinase? (5) O paciente está apto para quimioterapia intensiva e a consideração de transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) para terapia de consolidação pós-remissão é apropriada? (COPLAND, 2022).

A remissão a longo prazo é incomum na LMC avançada, mas o TCTH representa a melhor opção para pacientes em estágios avançados da LMC alcançarem remissão ou cura (JABBOUR et al., 2014).

Quando confirmada falha de tratamento, a análise de mutações pode identificar as relacionadas à resistência que podem auxiliar no planejamento do tratamento, dependendo da sensibilidade ao determinado inibidor de TK, que pode ser avaliado através da concentração inibitória (IC 50), um índice que avalia o quanto a droga é capaz de inibir a linhagem mutante. Quanto maior o IC 50, mais medicamento é necessário para inibir a TK e, portanto, mais resistente é a mutação. Mutações com baixo grau de insensibilidade ao mesilato de imatinibe (M244V, M351T e F359V) podem responder ao aumento de dose. Mutações com alto grau de insensibilidade (Y253F, E255K/V) necessitam mudança no tratamento (PAGNANO, 2008).

Dados In vitro e in vivo demonstraram que tanto o dasatinib como o nilotinib têm um conjunto pequeno e distinto de mutações que conferem sensibilidade diminuída: Y253H, E255K/V e F359C/V para o nilotinib e Q252H, E255K/V, V299L e F317L para o dasatinib. Portanto, se a análise de mutação revelar qualquer uma dessas mutações, esse TKI de segunda geração em particular deve ser evitado (JABBOUR et al., 2011).

Os dados sobre o uso de TKI pós-transplante são limitados. Quando os pacientes com LMC CB demonstraram sensibilidade ao TKI antes do TCTH ou não esgotaram todas as opções de TKI, então o TKI pós-transplante é recomendado, especialmente após o TCTH de intensidade reduzida (COPLAND, 2022).

Indicadores de resposta precoce são provavelmente os melhores preditores de progressão. Estes incluem respostas citogenéticas e moleculares determinadas pelo

monitoramento de todos os pacientes. A falha em alcançar marcos definidos detectará pacientes de alto risco já 3 meses após o diagnóstico. Pacientes que não respondem satisfatoriamente e são classificados como de alto risco precisam de abordagens alternativas, como TKI precoce de segunda geração, intensificação do tratamento ou alo-TCTH precoce (HEHLMANN, 2012).

Para pacientes recém-diagnosticados com LMC FA/CB ou com sinais que possam indicar alto risco de progressão para FA/CB (*por exemplo*, alto escore de risco de Sokal ou Hasford, citogenética desfavorável), recomenda-se que sejam tratados intensivamente (JABBOUR et al., 2014).

A LMC CB linfóide é frequentemente tratado com protocolos de quimioterapia para LLA Ph+ em combinação com um TKI (YOHANNAN; GEORGE, 2022).

5.1 TKIs recomendados

5.1.1 Imatinibe

A dose recomendada de imatinibe na LMC CB é de 800 mg uma vez ao dia; no entanto, muitos pacientes serão intolerantes a essa dose, e 400 ou 600 mg uma vez ao dia podem ser mais atingíveis (COPLAND, 2022).

5.1.2 Dasatinibe

A dose recomendada de dasatinib na LMC CB é de 140 mg uma vez por dia. Existem algumas evidências de que o dasatinibe atravessa a barreira hematoencefálica, o que o torna uma opção mais atraente para pacientes com CB linfóide ou evidência de doença do sistema nervoso central (COPLAND, 2022).

5.1.3 Nilotinibe

Nilotinib não está licenciado em LMC CB (COPLAND, 2022).

5.1.4 Bosutinib

A dose recomendada de bosutinib na LMC CB é de 500 mg uma vez por dia (COPLAND, 2022).

5.1.5 Ponatinibe

No Reino Unido, o ponatinib está aprovado para uso em pacientes com LMC CB que falharam com um TKI de segunda geração ou têm uma mutação T315I. O ensaio clínico PACE avaliou a eficácia de 45 mg de ponatinib em doentes com todas as fases de LMC e LLA Ph+, incluindo 62 doentes com LMC CB. As respostas foram de curta duração, com uma mediana de sobrevida livre de progressão de 3,7 meses (COPLAND, 2022).

6 EVOLUÇÃO

A maioria dos pacientes com LMC-CB não tratados previamente com TKIs responde inicialmente ao tratamento com esses agentes, isoladamente ou em combinação com drogas quimioterápicas convencionais, mas a maioria ainda apresenta recaída dentro de alguns meses após atingir uma resposta hematológica ou mesmo citogenética aparentemente completa. (PERROTTI et al., 2010).

Os resultados para pacientes com LMC CB são universalmente ruins após TKI ou TKI em combinação com quimioterapia. Portanto, pacientes que são biologicamente aptos o suficiente e com um doador adequado devem receber TCTH (COPLAND, 2022).

Novas estratégias são necessárias para reduzir o risco de recaída após o TCTH, incluindo a redução da carga da doença pré-transplante e, sempre que possível, o retorno dos pacientes à segunda fase crônica. Outras estratégias para melhorar o resultado incluem TKI pós-transplante e otimização do efeito enxerto versus leucemia por meio da redução precoce da imunossupressão e consideração de DLI profilático (COPLAND, 2022).

Extrapolando os bons resultados clínicos do tratamento de LMC FC com TKIs e as respostas ruins alcançadas no tratamento de LMC CB, pode-se razoavelmente concluir que a melhor abordagem para LMC CB seria a prevenção (PERROTTI et al., 2010).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso dos TKIs no tratamento dos pacientes com LMC FC modifica positivamente o desfecho clínico destes pacientes, porém na LMC CB, os resultados permanecem insatisfatórios a longo prazo.

Os mecanismos de progressão e resistência geralmente são multifatoriais e não estão totalmente elucidados até o presente momento. A compreensão destes mecanismos contribuirá no desenvolvimento de estratégias a fim de evitar a progressão da LMC.

Para pacientes em CB, os resultados ao tratamento são ruins tanto com o uso de TKI isoladamente quanto combinado com quimioterapia. O TCTH constitui a melhor estratégia para pacientes em fases avançadas da doença para alcançarem a remissão ou a cura.

A LMC apresenta bons resultados ao tratamento em fase inicial e prognóstico sombrio em fases avançadas, logo a melhor abordagem seria a prevenção da progressão, instituindo intervenções precoces para pacientes que não alcançam os marcos definidos.

REFERÊNCIAS

BAVARO, L. *et al.* **Mechanisms of Disease Progression and Resistance to Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy in Chronic Myeloid Leukemia: An Update.** *Int J Mol Sci.* 2019 Dec 5;20(24):6141.

BRAUN, T. P.; EIDE, C. A.; DRUKER, B. J. **Response and Resistance to BCR-ABL1-Targeted Therapies.** *Cancer Cell.* 2020 Apr 13;37(4):530-542.

CALABRETTA, B.; PERROTTI, D. **The biology of CML blast crisis.** *Blood* 2004; 103 (11): 4010–4022.

COPLAND, M. **Treatment of blast phase chronic myeloid leukaemia: A rare and challenging entity.** *Br J Haematol.* 2022; 199: 665– 678.

EIDE, C. A.; O'HARE, T. **Chronic myeloid leukemia: advances in understanding disease biology and mechanisms of resistance to tyrosine kinase inhibitors.** *Curr Hematol Malig Rep.* 2015 Jun;10(2):158-66.

EIRING, A. M. *et al.* **β -Catenin is required for intrinsic but not extrinsic BCR-ABL1 kinase-independent resistance to tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia.** *Leukemia.* 2015 Dec;29(12):2328-37.

HEHLMANN, R. **How I treat CML blast crisis.** *Blood* 2012; 120 (4): 737–747.

ICHIM, C. V. **Kinase-independent mechanisms of resistance of leukemia stem cells to tyrosine kinase inhibitors.** *Stem Cells Transl Med.* 2014 Apr;3(4):405-15.

JABBOUR, E. *et al.* **Chronic myeloid leukemia: mechanisms of resistance and treatment.** *Hematol Oncol Clin North Am.* 2011 Oct;25(5):981-95, v.

JABBOUR, E. J. *et al.* **Potential mechanisms of disease progression and management of advanced-phase chronic myeloid leukemia.** *Leuk Lymphoma.* 2014 Jul;55(7):1451-62.

PAGNANO, K. B. B. **Leucemia Mielóide Crônica: causas de falha do tratamento com mesilato de imatinibe.** Rev Bras Hematol Hemoter. 2008Apr;30(Rev. Bras. Hematol. Hemoter., 2008 30 suppl 1).

PATEL, A. B.; O'HARE, T.; DEININGER, M. W. **Mechanisms of Resistance to ABL Kinase Inhibition in Chronic Myeloid Leukemia and the Development of Next Generation ABL Kinase Inhibitors.** Hematol Oncol Clin North Am. 2017 Aug;31(4):589-612.

PERROTTI, D. *et al.* **Chronic myeloid leukemia: mechanisms of blastic transformation.** J Clin Invest. 2010 Jul;120(7):2254-64.

PUTRI, A. *et al.* **The Role of STAT5 in Tyrosine Kinase Inhibitor (IMATINIB) Resistance in CML Patients.** Acta Med Indones. 2019 Oct;51(4):348-352.

RUDICH, A.; GARZON, R.; DORRANCE, A. **Non-Coding RNAs Are Implicit in Chronic Myeloid Leukemia Therapy Resistance.** Int J Mol Sci. 2022 Oct 14;23(20):12271.

SKORSKI, T. **Chronic myeloid leukemia cells refractory/resistant to tyrosine kinase inhibitors are genetically unstable and may cause relapse and malignant progression to the terminal disease state.** Leuk Lymphoma. 2011 Feb;52 Suppl 1(01):23-9.

YOHANNAN, B.; GEORGE, B. **B-Lymphoid Blast Phase-Chronic Myeloid Leukemia: Current Therapeutics.** Int J Mol Sci. 2022 Oct 5;23(19):11836.