

Fisiopatologia e tratamento da leucemia mielóide crônica:

novos conceitos e perspectivas

Physiopathology and treatment of chronic myeloid leukemia: new concepts and perspectives

Bernardo Garicochea¹, Pedro Enrique Dorlhiac-Llacer²

Resumo

Descobertas recentes sobre a atividade do gene quimérico BCR/ABL têm auxiliado na elucidação de diversos mecanismos envolvidos na gênese e progressão da leucemia mielóide crônica (LMC). Apesar de a LMC ser ainda, uma doença incurável para os pacientes que não podem submeter-se a um transplante alogênico de medula óssea, a sobrevida geral tem aumentado progressivamente, devido especialmente a medidas capazes de prolongar a fase crônica. A técnica de reação da polimerase em cadeia (PCR) para a detecção do gene quimérico BCR/ABL tem sido um teste bastante valioso para a identificação de casos Philadelphia negativos que apresentam o rearranjo genético ao nível molecular e para a detecção de doença residual mínima, especialmente em indivíduos transplantados. Novas formas de tratamento devem traduzir-se em maior sobrevida nos próximos anos quando utilizadas em estágios precoces da doença: transplante autólogo de células-tronco com células mobilizadas e coletadas após quimioterapia em altas doses, o uso de interferon e a terapia gênica. O interferon já é a droga de escolha para o tratamento da maioria dos pacientes. O transplante autólogo é um procedimento promissor que tem sido aplicado por vários centros como uma alternativa ao transplante alogênico. Os resultados de diferentes estratégias de terapia gênica têm sido desapontadores até o momento, mas a melhoria tecnológica neste campo do conhecimento será extremamente interessante para o tratamento da LMC, considerando-se o papel biológico central do gene BCR/ABL nas células malignas.

Unitermos: leucemia mielóide crônica; cromossomo Philadelphia; translocação BCR/ABL, transplante de medula óssea; interferon-alfa

Médico Assistente da Disciplina de Hematologia e Hemoterapia da Faculdade de Medicina da USP, Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo. Pós-Doutor em Biologia Molecular pela Royal Postgraduate School of Medicine, Londres, Reino Unido¹, Diretor Técnico-Científico da Fundação Hemocentro de São Paulo. Médico Assistente da Disciplina de Hematologia e Hemoterapia da Faculdade de Medicina da USP, Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo².

Endereço para correspondência: Bernardo Garicochea - Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155, 1º andar, bl. 12 - 05403-000 - São Paulo - SP.

Abstract

Recent breakthroughs on the functional activity of the BCR/ABL chimeric gene translated in further insights on the genesis and progression of chronic myeloid leukemia (CML). Despite CML still is an incurable disease for those patients not eligible for a bone marrow transplant, the overall survival is progressively increasing specially because of prolongation of chronic phase. PCR for BCR/ABL gene is proving a valuable tool in identifying Ph-patients who present the rearrangement at molecular level and to detect minimal residual disease specially in transplanted patients. New forms of treatment might translate in survival gain in the next years mainly when used at early stages of the disease: autologous stem cell transplant (ASCT) with cells mobilised and collected after high dose chemotherapy; the use of interferon and genetherapy. Interferon is already the principal choice of treatment for the majority of the cases. ASCT is a promising procedure and has been used in many institutions as an alternative to allo-BMT. Results of different approaches of genetherapy are disappointing so far, but the improvement of technology in this field will be of most interest in treating CML considering the ubiquitous and functional role of the BCR/ABL gene in the malignant cells.

Key words: chronic myelogenous leukemia; Philadelphia chromossome; BCR/ABL translocation; bone marrow transplantation; alpha-interferon

Introdução

A leucemia mielóide crônica (LMC) é possivelmente a neoplasia hematológica mais investigada, apesar de ser uma doença com baixa incidência na população geral. A razão deste interesse vem de uma particularidade única desta doença: mais de 90% dos pacientes portadores de LMC apresentam uma anormalidade citogenética peculiar, o cromossomo Philadelphia (Ph+), o que garante à doença a característica incomum de possuir um marcador constante e de alta prevalência. Além disso, sabe-se que a história natural da doença inclui a evolução inexorável da fase crônica, a fase "benigna" desta leucose, para um quadro de leucemia aguda, o que permite que encaremos a fase crônica como uma "pré-leucemia", ou melhor ainda, um modelo excelente de estudo para as leucemias agudas em fases pré-clínicas. Além disso, a LMC apresenta uma característica extremamente interessante raramente observada em outras neoplasias: o clone maligno não perdeu a capacidade de se diferenciar. A vasta maioria dos tumores malignos perde o potencial de diferenciação e é por isso que todas as células de uma leucemia aguda ou de um carcinoma de mama apresentam um aspecto fenotípico monótono quando examinadas ao microscópio. Na LMC, pode-se observar, durante a fase crônica, o espectro completo de elementos da família mielóide.

Mais do que isto, hoje sabemos que a doença se estende por todos os compartimentos hematopoiéticos, poupando possivelmente em fases iniciais somente os linfócitos T. Pela sua uniformidade, a LMC passou a ser tratada como o modelo de estudo de outras neoplasias hematológicas. Não causa surpresa, portanto, que a citogenética decolou de mera curiosidade laboratorial para o poderoso teste que é hoje na definição de prognósticos e diagnósticos, a partir da determinação do cromossomo Philadelphia em 1960⁽¹⁾.

A LMC como modelo molecular de oncogênese

Os dois grandes vilões responsáveis pela transformação maligna nos tumores sólidos são alterações estruturais envolvendo proto-oncogenes e genes supressores de tumores (anti-oncogenes). Nas leucemias, no entanto, as translocações são as anomalias mais encontradas, e a LMC não foge desta regra. Na LMC, parte do gene ABL, localizado no cromossomo 9, transloca-se para uma região variável do gene BCR, no cromossomo 22. Parte do gene BCR no cromossomo 22, por sua vez, transloca-se para o gene ABL, e como esta translocação envolve quantidade maior de material genético, o cromossomo 22 que resta é de tamanho bastante reduzido e facilmente identificado por análise citogenética simples, o cromossomo Philadelphia^(2,3).

Todas as evidências apontam para esta translocação como evento iniciador da doença. Experimentos em camundongos onde o gene BCR/ABL foi introduzido em stem-cells, demonstraram que estes animais produziam uma leucose extremamente semelhante à LMC⁽⁴⁾. Mais ainda, todos os pacientes transplantados que permanecem livres de doença por mais de cinco anos não apresentam sinais desta translocação quando estudados por técnicos extremamente sensíveis como PCR^(5,6).

O gene quimérico BCR/ABL transcreve uma proteína com atividade tirosino-quinase, conhecida como p210, cuja atividade biológica é muito mais intensa que a da proteína sintetizada pelo gene ABL isoladamente⁽⁷⁾. O gene ABL em células normais localiza-se no cromossomo 9q34 e parece ser fundamental como ativador transcripcional⁽⁸⁾. Alguns autores sugerem que este gene agiria em vias relacionadas com morte celular programada (apoptose)⁽⁹⁾. A proteína codificada pelo gene BCR parece participar em vias de sinalização dependentes de guanosina tri-fosfato (GTP) e de fosfoquinase. Em células em interfase esta proteína localiza-se no citoplasma, mas quando a célula entra em mitose a proteína passa a localizar-se em sítios pericromossômicos, especialmente em heterocromatina. Estes achados sugerem que a proteína BCR tenha participação na regulação do ciclo celular⁽¹⁰⁾. A fusão destes genes leva à ativação direta da proteína produzida pelo exon 1 do gene BCR ao domínio SH2 tirosina-quinase da proteína ABL com amplificação da capacidade quinase de ABL⁽¹¹⁾. Os elementos intermediários nas vias de sinalização induzidas pelo produto do gene BCR/ABL ainda não são conhecidos em sua totalidade. Recentemente, um grande avanço foi dado com a descoberta que BCR/ABL ativa múltiplas vias de sinalização para RAS⁽¹²⁾, um sistema de sinalização que envolve proteínas intranucleares e que é bastante frequente em eucariotos. Este achado é especialmente interessante quando se considera que desregulações no sistema de sinalização conhecido como RAS estão presentes em diversos tipos de leucemias humanas. Nos próximos anos toda a cascata de sinalização que se encontra desregulada pela ação

da proteína quimérica BCR/ABL deverá ser elucidada. O significado desta descoberta não somente será importante para a melhor compreensão sobre os mecanismos pelos quais uma translocação causa leucemia, mas especialmente possibilitar alternativas específicas de terapêutica. (Tabela 1)

	Características moleculares	Tipo de tirosina-quinase
Normal	Ph- e BCR/ABL-	p 145
LMC	Ph+ e BCR/ABL+	p 210
	Ph- e BCR/ABL+	p 210
	Ph+ e BCR/ABL-	p 145 (mielodisplasia?)
LLA	Ph+ e BCR/ABL+	p 210 (LMC em crise blástica?)
	Ph+ e BCR/ABL-	p 190 (LLA de novo)
	Ph- e BCR/ABL-	p 145 (LLA de novo)

Tabela 1 - Tipos de tirosina quinases e transcritos envolvendo os genes BCR e ABL encontrados em doenças hematológicas.

Qual a células de origem da LMC?

Um conceito que está definitivamente associado à LMC é que esta doença surge em uma "stem cell"⁽¹³⁻¹⁶⁾. Durante vários anos perguntou-se se esta "stem-cell" seria a célula progenitora mais precoce da escala hematopoiética ou se seria um progenitor mais diferenciado, especificamente comissionado para a linhagem mielóide. Se a primeira hipótese se mostrasse verdadeira, é possível que a cura desta doença só poderia ser obtida com a substituição total da medula óssea, ou seja, por transplante alogênico. Esta questão começou a ser respondida através de estudos elegantes feitos por Fialkow et al. na década de 70 que sugeriam que alguns linfócitos B, mas não linfócitos T, faziam parte do clone maligno⁽¹⁷⁾. Nós demonstramos recentemente que linfócitos T não possuem a translocação 9;22 utilizando-se um método bastante sensível, a hibridização in situ⁽¹⁸⁾. O significado mais importante destes achados é a constatação clara que a fase crônica da LMC, ainda restam células pluripotenciais que não pertencem ao clone maligno e que são capazes de diferenciarem-se em linfócitos e seguramente outros elementos hematopoiéticos normais⁽¹⁹⁻²⁰⁾. O impacto destes achados tem influenciado radicalmente tanto o nosso

conhecimento sobre a gênese e progressão da doença, como possibilitado o surgimento de novas armas terapêuticas que começaram a emergir nos últimos anos, como o interferon, os estudos promissores com terapia gênica e os métodos de remoção de progenitores Ph+ para subsequente transplante de células Ph-selecionadas.

Portanto, hoje parece claro que a translocação BCR/ABL causa a LMC, e que pelo menos durante etapas iniciais da doença, os portadores desta doença apresentam uma convivência, não tão pacífica, de stem-cells normais e leucêmicas.

Como e porque ocorre evolução da fase crônica da LMC para estágios clinicamente mais agressivos?

Existe um grande empenho no meio científico na busca dos possíveis genes e na melhor compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos no processo de aceleração e agudização da LMC. Este esforço não foi muito recompensador até o momento: mutações de proto-oncogenes, como o RAS, foram observados em uma minoria de pacientes⁽²¹⁾; deleções ou mutações de genes supressores de tumores como p53 e p16 também acometem alguns pacientes⁽²²⁻²³⁾. Especialmente no que tange a deleções homozigóticas do gene supressor tumoral p16, que está envolvido normalmente na regulação do ciclo celular, Sill et al. demonstraram uma preferência para a perda deste gene em alguns casos de transformações linfóides mas não de agudização mielóide em LMC⁽²⁴⁾. Genes supressores de tumores (como NF-1, RB e WT por exemplo), cujas mutações são freqüentes em diversos tipos de neoplasias, aparentemente estão intactos em LMC durante todo o curso da doença⁽²⁴⁻²⁵⁾. Estes achados foram também observados pelo nosso grupo⁽²⁶⁾. Oncogenes nucleares como c-myc, por outro lado, apresentam níveis altos de expressão nas células BCR/ABL e a sua implicação na progressão da doença vem sendo estudada⁽²⁷⁾. Ao nível cromossômico, os achados citogenéticos mais freqüentes nas fases de aceleração e crise blástica são a aquisição de cópias extras do cromossomo Ph+, hipodiploidia e deleções cromossômicas diversas, se bem que nem todos os pacientes apresentam alterações citogené-

ticas durante a transformação da doença⁽²⁸⁾. Parece claro que novas alterações genéticas devam ocorrer no processo de progressão da fase crônica para as fases acelerada e aguda. No entanto, esta ou estas alterações ainda são obscuras e a descoberta de novos genes envolvidos em transformação maligna não contribuirão somente para melhorar a nossa compreensão a respeito da biologia deste distúrbio, mas especialmente pelo potencial de se utilizar estes genes como marcadores de evolução da doença, permitindo a utilização de tratamentos mais eficientes previamente à instalação das fases de aceleração e crise blástica.

Existe de fato LMC Ph -, ou trata-se de outra doença?

Parece um paradoxo que ao se demonstrar que a translocação 9;22 causa a LMC, continue-se considerando sob o nome de LMC as doenças onde esta anormalidade citogenética não é encontrada. Isto é parcialmente verdadeiro, 85 a 90% dos casos de LMC são cromossomos Ph+. Dos restantes 10 a 15%, mais da metade apresentam a translocação quando avaliados por técnicas mais sofisticadas, como a reação em cadeia da polimerase (PCR)⁽²⁹⁾. Nestes casos, existem translocações complexas envolvendo mais de dois cromossomos, ou, mais comumente, não há translocação recíproca, ou seja, parte do gene BCR não desloca-se para o cromossomo 9, e portanto o cromossomo 22 afetado não diminui de tamanho⁽³⁰⁾. Estes pacientes, apesar de não possuírem a translocação visível à citogenética, comportam-se clinicamente da mesma forma que os pacientes classicamente Ph+. Os pacientes restantes não apresentam sinais da translocação a nível molecular. A doença nestes casos tem evolução distinta da LMC com translocação 9;22, e possivelmente trata-se de uma forma variante de mielodisplasia ou de mieloproliferação⁽³¹⁾.

Avanços no diagnóstico da LMC

Até meados dos anos 80, o diagnóstico de LMC dependia exclusivamente da citologia, histologia de medula óssea e da citogenética e da determinação dos níveis de fosfatase de neutrófilos. O exame de medula óssea é de valor limitado na LMC, já que o único achado na maioria das vezes é um aumento

expressivo na celularidade às custas de elementos das linhagens mielóides e eritróide e megacariocítica. A presença do cromossomo Ph+ à citogenética segue sendo o principal teste diagnóstico nesta doença, apesar de não específico dela. Trinta por cento dos casos de LLA comum em adultos e 2% dos casos de LMA também apresentam esta translocação⁽³²⁻³³⁾. Mas a associação dos achados clínicos e histopatológicos na medula óssea com o cromossomo Ph+ são suficientes para elaborar-se o diagnóstico de LMC em virtualmente todos os casos. No entanto, como já foi dito, uma parte dos casos de LMC não cursa com o cromossomo Ph+. A introdução rotineira de técnicas muito sensíveis de biologia molecular a partir do início da década de 90, como o PCR, solucionou este problema. A PCR é uma técnica capaz de identificar a presença de determinado fragmento de material genético contido em uma célula diluída em até um milhão de células que não apresentem esta seqüência. Tal sensibilidade logo mostrou-se inestimável não somente para fins diagnósticos em LMC, mas também para o acompanhamento de doença residual mínima após tratamento com interferon ou transplante de medula óssea⁽³⁴⁻³⁵⁾. Vale a pena ressaltar que a citogenética é capaz de identificar uma célula leucêmica em 100 células normais. Além disso, a PCR fornece resultados em menos de 24 horas e é uma técnica bastante confiável e de mais simples execução nas mãos de um técnico relativamente experiente, ao contrário da citogenética, onde o tempo de preparo do material pode levar vários dias, os resultados podem ser prejudicados pela ausência de células em divisão e exige um profissional altamente qualificado para sua interpretação. No laboratório de biologia molecular da Disciplina de Hematologia e Hemoterapia da USP nós temos utilizado a PCR como teste diagnóstico associado à citogenética desde agosto de 1994. A utilidade desta técnica ficou evidenciada nos casos de cinco pacientes que haviam sido classificados como LMC Ph - com citogenética em períodos que precederam o uso da PCR como rotina. Quatro destes casos apresentavam transcritos BCR/ABL ao estudo com PCR e um paciente era PCR negativo. Este paciente teve resposta pobre ao tratamento com hidroxiuréia e se apresen-

tou ao diagnóstico com leucocitose pouco importante para os padrões normais de LMC, sugerindo a possibilidade de tratar-se de outra doença. O acompanhamento a longo prazo deste caso pode vir a fornecer mais elementos para confirmarmos esta suposição.

Avanços no tratamento da LMC

Estudos prospectivos multicêntricos cujos resultados foram revelados nos últimos três anos modificaram radicalmente algumas das condutas tradicionais dedicadas à LMC. Alternativas atuais para o tratamento desta doença estão representados na Tabela 2. O único tratamento comprovadamente curativo que dispomos no momento é o transplante alogênico de medula óssea⁽³⁶⁾. É consenso científico que a todo o paciente jovem, com menos de dois anos de diagnóstico, e que possua um doador HLA-compatível deve ser oferecida esta opção de tratamento preferencialmente. Como apenas um terço dos pacientes vão apresentar um doador nestas condições, o esforço em se obter terapêuticas mais eficientes para os demais indivíduos tornou-se prioridade nos diversos centros de referência para o tratamento da LMC.

A sobrevida dos pacientes com LMC vem aumentando substancialmente nas últimas décadas e este fato não se deve somente à introdução e melhoria do procedimento de transplante de medula. A doença vem sendo diagnosticada mais precocemente - possivelmente pela disseminação de hemogramas feitos rotineiramente para exames de saúde e para admissão em empregos - e este fato, aliado ao uso de drogas menos tóxicas e mais eficientes durante a fase crônica possivelmente atuam de forma muito eficiente no controle da carga de células leucêmicas. Mesmo os pacientes que se encontram em fases acelerada e em crise blástica apresentam sobrevida maior hoje do que há alguns anos⁽³⁷⁾. Neste caso específico, no entanto, o prolongamento da sobrevida tem menos relação com melhor controle da doença por novos esquemas quimioterápicos, do que com o surgimento de novos antibióticos e melhoria nos serviços hemoterápicos e de terapia intensiva. Inúmeros esquemas quimioterápicos foram tentados nestes pacientes com resultados pouco convincentes⁽³⁸⁻³⁹⁾. O mesmo ocorreu com o uso do transplante

	Vantagens	Desvantagens	Doses preconizadas
Bussulfan	Remissão hematológica na grande maioria dos casos; baixo custo; administração via oral	Aplasia medular em 10% dos pacientes; difícil controle de dosagem	Terapêutica inicial: 4 a 8 mg/kg por dia manutenção: 2 a 4 mg/kg por dia
Hidroxiuréia	Remissão hematológica na grande maioria dos casos; baixo custo; fácil controle de dosagem; poucos efeitos colaterais; administração via oral	Não induz supressão completa do clone maligno	Inicial: 1 a 2 g por dia manutenção: variável, dependendo da leucometria, plaquetometria e níveis de Hb (sugerido: 20 a 30 mg/kg por dia)
Interferon	Remissão hematológica na maioria dos casos; remissão citogenética parcial ou total em 30% dos pacientes	Alto custo; efeitos colaterais importantes; administração subcutânea ou intramuscular	3 a 5 milhões de unidades/m ² dia
Transplante alogênico de medula óssea	Curativo em 50% dos casos	Disponibilidade de doadores; alto custo; alta taxa de morbimortalidade associada ao procedimento	
Transplante autólogo de medula óssea	Não necessita de doador HLA-compatível; custo menor que o TMO alogênico; prolonga a sobrevida mesmo nos pacientes que recaem; permite manipulação do enxerto "ex vivo"; possivelmente é curativo em uma minoria de casos	Alto custo; maior morbimortalidade que o tratamento convencional; menor índice de sobrevida livre de doença após cinco anos que o TMO alogênico	

Tabela 2 - Alternativas terapêuticas atuais para LMC.

de medula alogênico na fase de crise blástica da doença, ou seja, os resultados são tão pobres que muitos centros internacionais de transplante são relutantes em transplantar estes pacientes baseados na possibilidade de até reduzir a sobrevida dos mesmos em nome de uma remissão da doença que é muito provável. Presentemente possuímos apenas duas certezas: 1) Crises blásticas linfóides respondem melhor à quimioterapia que crises mielóides e 2) nenhum esquema quimioterápico se mostrou melhor que outros para crises mielóides. Nós temos recomendado o uso inicial de vincristina (2 mg semanal) e prednisona (60 mg/m² diário) até

que os resultados de imunofenotipagem identifiquem o tipo celular predominante dos blastos. Se a crise for de origem linfóide, mantém-se o esquema acima; se for de origem mielóide, temos sugerido o uso de protocolos que contenham antracíclicos e citosino-arabinosídeo ou VP16 em doses moderadas, já que o objetivo nestes casos não é a cura do paciente, mas o prolongamento da sobrevida em alguns meses, com os menores efeitos tóxicos possíveis.

Estudos randomizados com longos "follow-up" comprovaram que a hidroxiuréia definitivamente aposentou o bussulfan como

droga preferencial na fase crônica. Os dados comparativos entre ambas as drogas mostram uma vantagem incontestável da hidroxiuréia em termos de sobrevida (58 meses contra 45 meses com o bussulfan) e morbidade⁽⁴⁰⁾. Dez por cento dos pacientes que são tratados cronicamente com bussulfan apresentam hipoplasias medulares irreversíveis; além disso, se reconhece há muito tempo as desagradáveis complicações pulmonares e dermatológicas associadas a esta droga. A hidroxiuréia, por sua vez, apresenta como complicação mais freqüente a mielotoxicidade, que é rapidamente corrigida ao se suspender a droga. Portanto, ao nosso ver, no momento, não se justifica iniciar-se o tratamento de um caso recém-diagnosticado de LMC com bussulfan, se a hidroxiuréia é disponível.

O interferon é uma citoquina que tem sido usado com efeitos mais satisfatórios nestes pacientes. A grande vantagem desta droga reside na sua capacidade de conseguir suprimir parcial ou totalmente o clone Ph+ em 15 a 35% dos pacientes, coisa que nem a hidroxiuréia, nem o bussulfan, em doses terapêuticas normais, conseguem^(41, 42). Esta redução no número de células Ph+ no entanto, só se dá à nível citogenético, já que virtualmente todos os pacientes permanecem PCR positivos⁽⁴³⁾. As desvantagens do interferon residem no seu alto custo e nos efeitos colaterais, que não são desprezíveis. Agudamente, o paciente pode se apresentar com quadro de dores musculares e ósseas, calafrios e febre. Estes sintomas são facilmente controláveis com drogas como paracetamol, ou evitáveis, iniciando-se a administração da droga com metade da dose alvo (que é de 3 a 5 milhões de unidades/m² subcutâneo) três vezes por semana. O uso crônico do interferon pode ser complicado por quadros auto-imunes, como púrpura trombocitopênica, anemia hemolítica ou tireoidite e especialmente por distúrbios psiquiátricos, que podem se manifestar por episódios de mania ou de depressão profunda eventualmente seguidos até de suicídio⁽⁴⁴⁾.

A capacidade do interferon em suprimir o clone Ph+ parece mudar a história da doença. A sobrevida dos pacientes que apresentam remissões citogenéticas maiores à droga (isto

é, mais de 65% de células Ph-) é significativamente maior do que nos não respondedores⁽⁴⁵⁾. Mesmo nos casos onde não se obtém resposta citogenética o interferon ainda parece ser uma melhor opção terapêutica. Estudo recente publicado por um grupo cooperativo do Reino Unido demonstrou resultados também bastante convincentes em termos de superioridade nos pacientes que receberam interferon alfa em comparação com os tratados com hidroxiuréia⁽⁴⁶⁾. Portanto, apesar do ainda pequeno número de estudos, e da controvérsia a respeito da superioridade do interferon sobre a quimioterapia convencional pode-se inferir que, no momento, a meta central nos pacientes com LMC em fase crônica sem um doador compatível para transplante é a remissão hematológica, ou seja, reduzir-se a contagem de leucócitos para menos de $12.000 \times 10^9/\text{mm}^3$. Se o interferon em doses diferentes ou em grupos selecionados é capaz de promover sobrevida maior do que a quimioterapia convencional, é ainda uma questão a ser respondida. Mas o que parece claro é que ainda estamos subutilizando medicamentos bastante eficientes em LMC. Se a redução da massa tumoral retarda a evolução da LMC e prolonga a sobrevida - e esta conclusão está claramente refletida no fato que o controle da leucocitose associa-se a fase crônica mais duradoura - é provável que o potencial total das drogas que hoje utilizamos não esteja sendo adequadamente explorado. Nos próximos anos deveremos observar incrementos de sobrevida em LMC às custas do prolongamento da fase crônica da doença simplesmente pela melhor classificação dos pacientes, definindo em que grupos a terapia deve ser mais agressiva. Recentemente, iniciamos um estudo randomizado no Departamento de Hematologia e Hemoterapia da USP no qual um grupo de pacientes recebe doses mais altas de hidroxiuréia buscando manter-se a contagem de leucócitos entre 3.000 e 5.000/mm³ e outro grupo recebe doses para sustentar-se a contagem de leucócitos entre 5.000 e 12.000/mm³. Um terceiro grupo vem sendo tratado com interferon. O período de acompanhamento ainda é pequeno, mas a expectativa é que o controle mais rígido da leucocitose possa influir na capacidade de evolução do clone maligno e portanto a agudização da doença.

O transplante autólogo constitui-se no maior avanço dos últimos cinco anos para o tratamento da LMC. À primeira vista, transplantar-se uma medula repleta de células malignas parece um contra-senso. Este tipo de procedimento foi tentado inicialmente com medula coletada durante a fase crônica e transplantada durante a evolução para fase acelerada e crise blástica da doença, na tentativa de reconstituir-se uma fase crônica⁽⁴⁷⁾. A maioria dos pacientes reverteu o quadro agudo da doença, mas de forma temporária. Na tentativa de reduzir-se a carga tumoral, alguns autores transplantaram pacientes durante a fase crônica, e surpreendentemente, alguns pacientes recuperaram a medula após o transplante com uma grande percentagem de células Ph-!⁽⁴⁸⁾ A explicação para este fenômeno ainda é puramente teórica, mas como já foi dito, especialmente nas fases iniciais da doença, existem lado a lado na medula óssea progenitores Ph+ e Ph-. É possível supor-se que quando estas células são reinfundidas em uma medula tornada aplásica pelo condicionamento pré-transplante, que células Ph- sejam recrutadas ao acaso para o repovoamento hematopoiético⁽⁴⁹⁾. Mais que isto, já foi bem documentada a capacidade de progenitores Ph-, capazes de entrar em ciclo, de apresentarem índices proliferativos maiores a curto prazo para progenitores Ph+⁽⁵⁰⁾. Tem sido também sugerido que a redução maciça de células malignas remova fatores humorais que bloqueavam a proliferação de progenitores normais⁽⁵¹⁾. De qualquer maneira, transplantes autólogos para LMC passaram a ser feitos em diversos centros do mundo e os resultados destes procedimentos são indubitavelmente promissores.

As vantagens do transplante autólogo sobre o transplante alogênico são claras. A morbidade e a mortalidade do primeiro são consideravelmente menores, assim como o custo e a possibilidade de ser aplicado a qualquer indivíduo abaixo dos 60 anos por não necessitar de doador HLA-compatível. Por outro lado, a sobrevida livre de doença é indiscutivelmente maior nos pacientes que receberam transplantes alogênicos. Nos últimos anos tem havido uma grande cooperação entre vários grupos internacionais na tentativa de se melhorarem os resultados do

transplante autólogo. A grande estratégia parece ser a máxima remoção de células Ph+ do material a ser transplantado, ou alternativamente, fornecer vantagens proliferativas "in vitro" para os progenitores Ph-.

Entre os métodos utilizados para promover "purping" da medula coletada "ex-vivo" o mais bem sucedido foi o protocolo do grupo de Vancouver cujos resultados foram publicados no início da década de 90⁽⁵²⁾. Este grupo observou que células de medula óssea de pacientes com LMC colocadas em cultura de longo termo (tipo Dexter) apresentavam ao final de 14 dias de incubação a presença quase que exclusiva de colônias Ph-. Aparentemente as células Ph+ morrem ao serem mantidas em culturas deste tipo por não possuírem mecanismos de adesão ao estroma adequados. As células Ph- foram então transplantadas e diversos pacientes que receberam este material mantiveram longos períodos de remissão citogenética e molecular, sendo que alguns mantêm-se desta forma há mais de cinco anos (Coutinho L, comunicação pessoal). O procedimento de Vancouver ainda é feito em alguns centros, mas o seu custo elevado, a difícil operacionalidade e o fato que um número razoável de pacientes não obteve pega do enxerto, talvez pelo baixo número de células progenitoras transplantadas, desestimulou o seu uso de forma mais ampla.

Mais simples do que tratar-se a medula "in vitro" é tentar o "purping" no próprio paciente. Esta idéia não é recente. Já há algum tempo é conhecida a possibilidade de se induzir parcial ou total remissão citogenética em pacientes submetidos a doses altas de quimioterapia⁽⁵³⁾. O trabalho do grupo de Genova⁽⁵⁴⁾, mostrou a eficiência no uso de um esquema de quimioterapia em altas doses composto por etoposide, idarrubicina e ciclofosfamida seguido da coleta de células progenitoras periféricas⁽⁵⁴⁾. A maior parte do material coletado era Ph- e os pacientes transplantados subsequentemente permaneceram Ph- por períodos variados. O grupo de Simonsson⁽⁵⁵⁾, obteve resultados similares utilizando-se de estratégia parecida com a de Carella, e utilizando como método de "purging" diversos esquemas de quimioterapia em altas doses, sugerindo que o efeito

de recrutamento de células Ph- em pacientes com LMC em fase crônica é perfeitamente factível e pode fornecer resultados ainda melhores quando estudos prospectivos já em andamento definirem qual o esquema citoreduzidor mais adequado e menos tóxico^(56, 57). Uma metanálise publicada recentemente mostra que 60% dos pacientes que foram submetidos a transplantes autólogos em diversos centros europeus utilizando-se ou não de técnicas de "purging" permanecem vivos oito anos após o transplante e 35% do total de transplantados estão livres de doença⁽⁵⁸⁾. Estes resultados são especialmente animadores em pacientes que submeteram-se ao transplante até dois anos após o diagnóstico de LMC.

As perspectivas terapêuticas para a LMC são muito otimistas para a próxima década. É interessante observar que a melhoria na sobrevivência destes pacientes observada nos anos 80 ocorreu paralelamente com o progresso no conhecimento da biologia da doença. Avanços em pesquisa básica na LMC deverão determinar com maior precisão subgrupos de pacientes que podem se beneficiar de tratamentos mais agressivos; mais ainda, o conhecimento mais detalhado a respeito do comportamento biológico das células Ph+, deve-se refletir na descoberta de novas drogas e em técnicas mais eficientes para "purging" em transplante autólogo de medula ou sangue periférico, que possivelmente será a principal forma de tratamento curativo desta doença na próxima década.

Referências Bibliográficas

1. Nowell, P.C.; Hungerford, D.A. - A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia, *Science*, 132: 1497, 1960.
2. Rowley, J.D. - A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature*, 243: 290-293, 1973.
3. Heisterskamp, N.; Stephenson, J.R.; Groffen, J.; Hansen, P.; De Klein, F.; Bartram, C.R.; Grosveld, G. - Localization of the C-ABL oncogene adjacent to a translocation breakpoint in chronic myelocytic leukemia. *Nature*, 306: 239-242, 1983.
4. Heisterkamp, N.; Jenster, G.; Ten Hoeve, J.; Zovich, D.; Patengale, P.K.; Groffen, J. - Acute leukemia in bcr/abl transgenic mice. *Nature*, 344: 251-253, 1990.
5. Guerrasio, A.; Martinelli, G.; Saglio, G.; Rosso, C.; Zaccaria A.; Rosti, G.; Testoni, N.; Ambrosetti, A.; Izzi, T.; Sessarego, M.; Frassoni, F.; Gasparini, P.; Chiamenti, A.; Di Bartolomeo, A.; Pignatti, P.F. - Minimal residual disease status in transplanted chronic myelogenous leukemia patients: low incidence of polymerase chain reaction positive cases among 48 long disease-free subjects who received unmanipulated allogeneic bone marrow transplants. *Leukemia* 6: 507-512, 1992.
6. Arnold, R.; Janssen, J.W.G.; Heize, B.; Bunjes, D.; Herteistein, B.; Wiesneth, M.; Kubanek B.; Heimpel H.; Bartram, C.R. - Influence of graft-versus-host disease on the eradication of minimal residual leukemia detected by polymerase chain reaction in chronic myeloid leukemia patients after bone marrow transplantation. *Leukemia*, 7: 47-751, 1993.
7. Yinon, B.N.; Daley, G.Q.; Mes-Masson, A.M.; Witte, O.N.; Baltimore, D. - The chronic myelogenous leukemia-specific p210 protein is the product of the BCR/ABL hybrid gene. *Science*, 233: 212-214, 1986.
8. Clarkson, B.; Strife, A. - Linkage of proliferative and maturational abnormalities in chronic myelogenous leukemia and relevance to treatment. *Leukemia*, 7: 1683-1721, 1993.
9. McGahon, A.; Bissonette, R.; Schmitt, M.; Cotter, K.M.; Green, D.R.; Cotter, T.G. - BCR-ABL maintains resistance of chronic myelogenous leukemia cells to apoptotic cell death. *Blood*, 83: 1179-1187, 1994.
10. Wetzler M.; Talpaz M.; Yee, G.; Stass, A.S.; Van Etten, R.A.; Andreef, M.; Goodacre, A.M.; Kleine, H-D.; Mahadevia, R.K.; Kuzrock, R. - Cell cycle-related

- shifts in subcellular localization of BCR: Association with mitotic chromosomes and with heterochromatin. *Blood*, 84: 1391, 1994.
11. Witte, O.N. - Role of the BCR-ABL oncogene in human leukemia: fifteenth Richard and Hinda Rosenthal Foundation Award Lecture. *Cancer Res*, 53: 485, 1993.
 12. Goga, A.; McLaughlin, J.; Afar, D.E.H.; Saffran, D.C.; Witte, O.N. - Alternative signals to RAS for hematopoietic transformation by the BCR-ABL oncogene. *Cell*, 82: 981, 1995.
 13. Fialkow, P.J.; Gartler, S.M.; Yoshida, A. - Clonal origin in chronic myelocytic leukemia in man. *Proc natl Acad Sci USA*, 58: 1468, 1987.
 14. Fialkow, P.J.; Martin P.J.; Najfeld, V.; Penfold, G.F.; Jacobsen, R.J.; Hansen, J.A. - Evidence for a multistep pathogenesis for chronic myeloid leukemia. *Blood*, 58: 158, 1981.
 15. Goldman, J.M.; Shiota, F.; Th'ng, K.H. - Circulating granulocytes and erythroid progenitor cells in chronic granulocyt leukemia. *Br J Haematol*, 46: 7, 1980.
 16. Dubé, I.D.; Kalousek, D.; Coulombel, I. - Cytogenetic studies in early myeloid progenitor compartments in Ph1 - positive chronic myeloid leukemia. II. Long term culture reveals the persistence of Ph1-negative progenitors in treated as well as newly diagnosed patients. *Blood*, 63: 1172, 1984.
 17. Fialkow, P.J.; Jacobson, R.J.; Papayannopoulou, T. - chronic myelocytic leukemia. Clonal origin in a stem cell common to the granulocyte, erythrocyte, platelet and monocyte/macrophage. *Am J Med*, 63: 125, 1977.
 18. Garicochea, B.; Chase, A.; Lazaridou, A.; Goldman, J.M. - T-lymphocytes in CML: No evidence of the BCR/ABL fusion gene detected by fluorescence in situ hybridization. *Leukemia*, 8: 1197, 1994.
 19. Bernstein, I.; Singer, J.; Smith, F.; Andrews, R.; Flowers, D.; Petersens, J.; Steinmann, N.; Najfeld, V.; Savage, D.; Fruchtman, S.; Arlin, Z.; Fialkow, P. - Differences in the frequency of normal and clonal precursors of colony-forming cells in chronic myelogenous leukemia and acute myelogenous leukemia. *Blood*, 79: 1811, 1992.
 20. Pichert, G.; Alyea, E.P.; Soiffer, R.J.; Roy, D.C.; Ritz, J. - Persistence of myeloid progenitor cells expressing BCR/ABL mRNA after allogenic bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia. *Blood*, 84: 2109, 1994.
 21. Serra, A.; Guerrasio, A.; Gaidano, G.; Rosso, C.; Rege-Cambrin, G.; Petroni, D.; Mazza, U.; Saglio, G. - Molecular defects associated with the acute phase CML. *Leukemia Lymphoma*, 11(supl 1): 25, 1993.
 22. Ahuja, H.G.; Bar-Eli, M.; Advani, S.H.; Benshimol, S.; Cline, M.J. - Alterations in the p53 gene and the clonal evolution of the blast crisis of chronic myelocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86: 6783, 1989.
 23. Sill, H.; Goldman, J.M.; Cross, N.C.P. - Homozygous deletions of the p16 tumor-suppressor gene are associated with lymphoid transformation of chronic myeloid leukemia. *Blood*, 85: 2013.
 24. Nakai, H.; Misawa, S.; Horiike, S.; Taniwake, M.; Seriu, T.; Shimazaki, C.; Fujii, H.; Maekawa, T.; Furukawa, T.; Abe, T.; Ishizaki, K.; Kashima, K. - Analysis of mutations and expression of GAP-related domain of neurofibromatosis type 1 (NF1) gene in the progression of chronic myelogenous leukemia. *Leukemia*, 8: 1994, 1027.
 25. Wetzler, M.; Talpaz, M.; Estrov, Z.; Kurzrock, R. - CML mechanisms of disease initiation and progression. *Leukemia Lymphoma*, 11: 1993, suppl 1, 47.
 26. Bendit, I.; Garicochea B.; Manzella, L.; Dorlhiac-Llacer, P.E.; Chamone, D.A.F.;

- Bydlowski, S.P. - Neurofibromatosis type 1 (NF1) mutational analysis by PCR-SSCP in chronic myelogenous leukemia in chronic phase and blast crisis. *Acta Haematol*, 93: 180, 1995.
27. Sawyers, C.L.; Callahan, W.; Witte, O.N. - Dominant negative MYC blocks transformation by ABL oncogenes. *Cell*, 70: 901, 1992.
 28. Alimena, G.; Brandt, L.; Dallapiccola, B.; Mitelman, F.; Milsson, P.G. - Secondary chromosome changes in chronic myeloid leukemia: Relation to treatment. *Cancer Genet Cytogenet*, 1: 79, 1979.
 29. Dobrovic, A.; Trainor, K.J.; Morley, A.A. - Detection of the molecular abnormality in chronic myeloid leukemia by use of the polimerase chain reaction. *Blood*, 72: 2063, 1988.
 30. Rowley, J.D. - A consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature*, 243: 290, 1973.
 31. Kantarjian, H.M.; Deisseroth, A.; Kurzrock, R.; Estrov, E.; Talpaz, M. - Chronic myelogenous leukemia: A concise update. *Blood*, 82: 691, 1993.
 32. Saglio, G.; Guerrasio, A.; Tassinari, A.; Ponzetto, C.; Zaccaria, A.; Testoni, P.; Celso, B.; Rege Cambrin, G.; Serra, A.; Pegoraro, L.; Avanzi, G.C.; Attadia, V.; Falda, M.; Gavosto, F. - Variability of the molecular defects corresponding to the presence of a Philadelphia chromosome in human hematologic malignancies. *Blood*, 72: 1203, 1988.
 33. Crist, W.; Carrol, A.; Shuster, J.; Jackson, J.; Head, D.; Borowitz, M.; Behm, F.; Link, M.; Steuber, P.; Ragab, A.; Hirt, A.; Brock, B.; Land, V.; Pullen, J. - Philadelphia chromosome positive childhood acute lymphoblastic leukemia: Clinical and cytogenetic characteristics and treatment outcome. A pediatric oncology group study. *Blood*, 76: 498, 1990.
 34. Hughes, T.P.; Morgan, G.J.; Martia, P.; Goldman, J.M. - Detection of residual leukemia after bone marrow transplant for chronic myeloid leukemia: Role of the polymerase chain reaction in predicting relapse. *Blood*, 77: 874, 1991.
 35. Cross, N.C.P.; Feng, L.; Chase, A.; Bungey, J.; Hughes, T.P.; Goldman, J.M. - Competitive polymerase chain reaction to estimate the number of BCR/ABL transcripts in chronic myeloid leukemia patients after bone marrow transplantation. *Blood*, 82: 1929, 1993.
 36. Baccarini, M. - For the Italian Cooperative Study Group on Chronic Myeloid Leukemia: Evaluating survival after allogenic bone marrow transplant for chronic myeloid leukemia in chronic phase: A comparison of transplant versus no-transplant in a cohort of 258 patients first seen in Italy between 1984 and 1986. *Br J Haematol*, 85: 292, 1993.
 37. Goldman, J.M. - The treatment of chronic myeloid leukaemia - much still to be achieved. *J Intern Med* 1994; 235: 289.
 38. Allen, S.L.; Coleman, M. - Terminal-phase chronic myelogenous leukemia: Approaches to treatment. *Cancer Invest*, 3: 491, 1985.
 39. Kantarjian, H.M.; Keating, M.J.; Estey, E.H.; O'Brien, S.; Pierce, S.; Beran, M.; Koller, C.; Feldman, E.; Talpaz, M. - Treatment of advanced stages of Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia with interferon- α and low-dose cytarabine. *J Clin Oncol*, 10: 772, 1992.
 40. Hehlmann, R.; Heimpel, H.; Hasford, J.; Kolb, H.J.; Pralle, H.; Hossfeld, D.K. et al. - Randomized comparison of busulphan and hydroxyurea in chronic myelogenous leukemia: Prolongation survival by hydroxyurea. *Blood*, 82: 398, 1993.
 41. Alimena, G.; Morra, E.; Lazzarino, M. et al. - Interferon Alpha 2b as therapy

for Ph1-positive chronic myelogenous leukemia. A study of 82 patients treated with intermittent or daily administration. *Blood*, 72: 642, 1988.

42. Baccarani, M.; Tura, S. - For the Italian Cooperative Study Group on Chronic Myeloid Leukemia. Interferon α 2a as compared with conventional chemotherapy for the treatment of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*, 330: 820, 1994.
43. Lee, M-S.; Kantarjian, H.; Talpaz, M.; Freireich, E.J.; Deissroth, A.; Trujillo, J.M.; Stass, S.A. - Detection of minimal residual disease by polymerase chain reaction in Philadelphia chromosome-positive myelogenous leukemia following interferon therapy. *Blood*, 79: 1920, 1992.
44. Ronnblom, L.E.; Alm, F.V.; Oberg, K.E. - Autoimmunity after alpha-interferon therapy for malignant carcinoid tumors. *Ann Intern Med*, 115: 178, 1991.
45. Hehlmann, R.; Heimpel, H.; Hasford, J.; Kolb, H.J.; Pralle, H.; Hossfeld, D.K.; Queisser, W.; Loffler, H.; Hochhaus, A.; Heinze, B.; Ansari, H. and the German CML study group - Randomized comparison of interferon- α with busulfan and hydroxyurea in chronic myelogenous leukemia (CML). *Blood*, 84: 382a, 1994.
46. Allan, N.C.; Richards, S.M.; Shepherd, P.C.A. - UK Medical Research Council randomised, multicentric trial of interferon-alpha for chronic myeloid leukaemia: improved survival irrespective of cytogenetic response. *Lancet*, 345: 1392, 1995.
47. Butturini, A.; Keating, A. Goldman, J.M.; Gale, R.P. - Autotransplants in CML: Strategies and results. *Lancet* 1990; 335: 1255.
48. Hughes, T.; Brito-Babapulle, F.; Marcus, R.E. - Transient Ph-negativity after autografting with blood-derived stem-cells for patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase. *Bone Marrow Transplant*, 4(suppl 1): 51, 1989.
49. Eaves, C.; Udomsakdi, C.; Cashman, J.; Barnett, M.; Eaves, A. - The biology of normal and neoplastic stem-cells in CML. *Leuk Lymph*, 11(suppl 1): 245, 1993.