



Diagnóstico Bioquímico y Genómico

LMC: Armonización para la cuantificación de transcriptos BCR-ABL1 a la escala internacional y su importancia en el seguimiento del tratamiento



7 min.



La leucemia mieloide crónica (LMC) es una neoplasia mieloproliferativa definida por la presencia del gen de fusión BCR-ABL1 en la células madre hematopoyéticas. Actualmente la cuantificación del transcripto BCR-ABL1 en sangre periférica o Médula Ósea es importante para el seguimiento del tratamiento y pronóstico de los pacientes. Laboratorio MANLAB realizó la Armonización para la cuantificación de transcriptos BCR-ABL1 a la escala internacional que permitirá asegurar la calidad del análisis, la sensibilidad, reproducibilidad y asegurar un resultado confiable considerando su importancia en el seguimiento del tratamiento.



Maldonado AC*, Pérez MS**

*Bioquímica. Magister en Biología Molecular Médica (UBA). Medicina Genómica. Oncología Molecular.

**Bioquímica. Dra. Biología Molecular (UBA). Gerente del Área Medicina Genómica.

E-mail: cecilia.maldonado@manlab.com.ar



La leucemia mieloide crónica

(LMC) representa el 20% de las leucemias en adulto. Es una neoplasia mieloproliferativa definida por la presencia del gen de fusión BCR-ABL1 en la células madre hematopoyéticas, producto de la translocación recíproca t(9;22)(q34;q11.2) entre los brazos largos de los cromosomas 9 y 22, que genera el cromosoma Filadelfia (Ph+); el gen de fusión BCR-ABL1 codifica para una proteína tirosina quinasa con actividad oncogénica que provoca la alteración de los mecanismos reguladores de proliferación, diferenciación y apoptosis. (1)

Se han descripto distintos puntos de ruptura a nivel de ADN en el gen BCR que dan origen a distintos transcriptos de fusión. En LMC se observa la presencia de 2 transcriptos de fusión b2a2 y b3a2 que codifican para una proteína quimérica de 210 kDa presente en más del 90% de los pacientes con LMC- (2)

A partir del estudio IRIS (International Randomized Study of Interferon and STI571) que introdujo la respuesta molecular y la aparición de drogas inhibidoras de la actividad tirosina quinasa (ITKs), el tratamiento de LMC cambió radicalmente. Su eficacia logró introducir el tratamiento en primera línea, mejorando las tasas de respuesta, sobrevida global a largo plazo y los pacientes logran niveles bajos o indetectables del gen de fusión. (3)

Actualmente la cuantificación del transcripto BCR-ABL1 en sangre periférica o Médula Ósea permite el seguimiento de la enfermedad residual mínima una vez lograda la respuesta citogenética completa y

se recomienda cuantificar cada 3 o 6 meses según las guías clínicas europeas European Leukemia Net, (ELN) y americanas, National Comprehensive Cancer Network, (NCCN) respectivamente.

La metodología utilizada para la cuantificación del transcripto de fusión es una RT-qPCR cuantitativa en tiempo real, la cual permite definir la respuesta molecular. (4)

Dada la importancia de cuantificar los niveles de transcripto BCR-ABL1 para el seguimiento del tratamiento y pronóstico de los pacientes, se han llevado a cabo un consenso a fin de armonizar la cuantificación del transcripto a la escala internacional, para las distintas metodologías de RT-qPCR minimizando las variaciones interlaboratorio a través de calibradores y recomendaciones relacionadas a la obtención de la muestra, procesamiento, cuantificación, análisis e informe de los resultados. (5)

La estrategia para obtener valores de BCR-ABL1 comparables, consiste en calcular un factor de conversión específico para cada laboratorio con el cual se corrigen los valores obtenidos utilizando calibradores secundarios validados por el laboratorio de referencia.

La estandarización nos permite evaluar la calidad de los procesos además de la sensibilidad, reproducibilidad, especificidad analítica y poder asegurar un resultado confiable. (4,6)

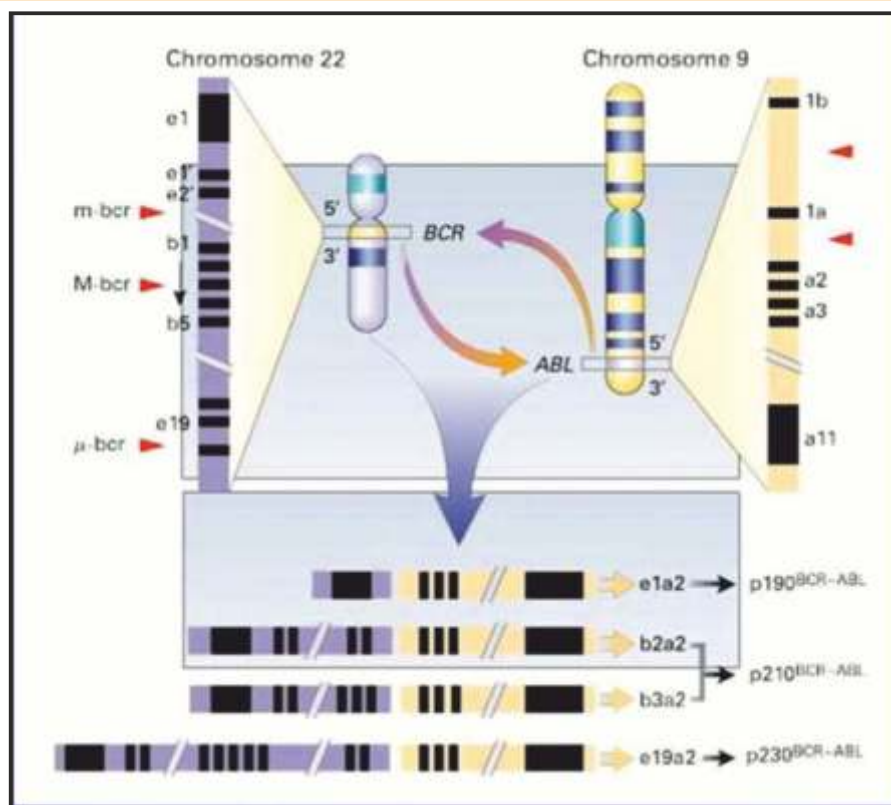
En MANLAB se realizó la armonización utilizando calibradores secundarios validados que provienen del programa Nacional de Estadarización llamado LABS (Latin America BCR-ABL1 Standaritation) a cargo del Dr. Michele Bianchini y que hoy se producen en Argentina.

El grupo liderado por Dr. M Bianchini publicó "Recomendaciones Metodológicas para el monitoreo Molecular BCR-ABL1 en pacientes con LMC por PCR cuantitativa en tiempo Real" con el objetivo de unificar criterios para el procedimiento, presentación e interpretación de los resultados. (7,8)

La aparición de los inhibidores de la tirosina quinasa ha logrado un cambio en el tratamiento y seguimiento de los pacientes con LMC. La cuantificación precisa por técnicas de biología molecular es importante tanto para el diagnóstico como para un eficaz seguimiento de la terapia, con alto valor pronóstico.

Poder detectar variaciones en forma temprana en los niveles de BCR-ABL1 durante el tratamiento permite evaluar la respuesta, adherencia, recaída o resistencia al mismo, lo cual puede impactar en el seguimiento clínico del paciente y la evolución a largo plazo. Con la validación MANLAB se incorpora a los laboratorios que hoy ofrecen la cuantificación del transcripto de fusión BCR-ABL1 normalizada a la escala internacional ofreciendo de esta manera un resultado comparable que permite evaluar fehacientemente la respuesta del paciente al tratamiento.

Agradecimiento: Dr. Michele Bianchini por su asesoramiento y colaboración. CIO-FUCA, Inst. Alexander Fleming.



Referencias

1. Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M; European LeukemiaNet. Chronic myeloid leukaemia. *Lancet*. 2007 Jul 28;370(9584):342-50.
2. Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, Bi W, Grimwade D, Pallisgaard N, Barbany G, Cazzaniga G, Cayuela JM, Cavé H, Pane F, Aerts JL, De Micheli D, Thirion X, Pradel V, González M, Viehmann S, Malec M, Saglio G, van Dongen JJ. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. *Leukemia*. 2003 Dec;17(12):2318-57.
3. Deininger M, O'Brien SG, Guilhot F, Goldman JM, Hochhaus A, Hughes TP, Radich JP, Hatfield AK, Mone M, Filian J, Reynolds J, Gathmann I, Larson RA, Druker BJ. International Randomized Study of Interferon vs ST1571 (IRIS) 8-Year Follow up: sustained survival and low risk for progression or events in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) treated with imatinib. *Am Soc Hematology*, 2009.
4. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, Cervantes F, Clark RE, Cortes JE, Guilhot F, Hjorth-Hansen H, Hughes TP, Kantarjian HM, Kim DW, Larson RA, Lipton JH, Mahon FX, Martinelli G, Mayer J, Müller MC, Niederwieser D, Pane F, Radich JP, Rousselot P, Saglio G, Sauñe S, Schiffer C, Silver R, Simonsson B, Steegmann JL, Goldman JM, Hehlmann R. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*. 2013 Aug 8;122(6):872-84.
5. Cross NC, White HE, Colomer D, Ehrencrona H, Foroni L, Gottardi E, Lange T, Lion T, Machova Polakova K, Dulucq S, Martinelli G, Oppliger Leibundgut E, Pallisgaard N, Barbany G, Sacha T, Talmaci R, Izzo B, Saglio G, Pane F, Müller MC, Hochhaus A. Laboratory recommendations for scoring deep molecular responses following treatment for chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2015 May;29(5):999-1003.
6. Branford S, Fletcher L, Cross NC, Müller MC, Hochhaus A, Kim DW, Radich JP, Saglio G, Pane F, Kamel-Reid S, Wang YL, Press RD, Lynch K, Rudzki Z, Goldman JM, Hughes T. Desirable performance characteristics for BCR-ABL measurement on an international reporting scale to allow consistent interpretation of individual patient response and comparison of response rates between clinical trials. *Blood*. 2008 Oct 15;112(8):3330-8.
7. Larripa I, Ruiz MS, Gutiérrez M, Bianchini M. [Guidelines for molecular monitoring of BCR-ABL1 in chronic myeloid leukemia patients by RT-qPCR]. *Medicina (B Aires)*. 2017;77(1):61-72.
8. Ruiz MS, Medina M, Tapia I, Mordoh J, Cross NC, Larripa I, Bianchini M. Standardization of molecular monitoring for chronic myeloid leukemia in Latin America using locally produced secondary cellular calibrators. *Leukemia*. 2016 Nov;30(11):2258-2260.

MANLAB®

Diagnóstico Bioquímico y Genómico