VINICIUS MARCONDES REZENDE

Monitoramento terapêutico de mesilato de imatinibe:
relação entre níveis séricos e alcance de
resposta molecular maior na
leucemia mielóide crônica

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Ciências Médicas
Área de concentração: Distúrbios
Genéticos de Desenvolvimento e
Metabolismo
Orientador: Prof. Dr. Israel Bendit

São Paulo

2017

VINICIUS MARCONDES REZENDE

Monitoramento terapêutico de mesilato de imatinibe:
relação entre níveis séricos e alcance de
resposta molecular maior na
leucemia mielóide crônica

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Ciências Médicas
Área de concentração: Distúrbios
Genéticos de Desenvolvimento e
Metabolismo
Orientador: Prof. Dr. Israel Bendit

São Paulo

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Rezende, Vinicius Marcondes

Monitoramento terapêutico de mesilato de imatinibe : relação entre níveis séricos e alcance de resposta molecular maior na leucemia mielóide crônica / Vinicius Marcondes Rezende -- São Paulo, 2017.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências Médicas. Área de concentração: Distúrbios Genéticos de Desenvolvimento e Metabolismo.

Orientador: Israel Bendit.

Descritores: 1 Leucemia mieloide crônica 2.Mesilato de imatinib
3.Biomarcadores 4.Monitoramento de medicamentos 5.Resposta molecular
6.Proteínas tirosina quinases/inibidores 7.Cromatografia 8.Espectrometria de massas

USP/FM/DBD-531/17

Dedico este trabalho a todos aqueles que contribuem para a ciência, e lutam diariamente por seu progresso, acreditando em transformar o mundo em um lugar cada vez melhor, sobretudo aos profissionais da saúde, que muitas vezes doam sua própria saúde pela do próximo.

Aos meus filhos Lara e Lucas que me trouxeram uma felicidade antes inimaginável, me proporcionando uma nova realidade: a de gerar e criar, que é ainda mais gratificante que a de nascer e viver; e que o maior sentido da vida é sua perpetuação.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho, e que proporcionaram convívio diário saudável e relevante, contribuindo com suporte administrativo, técnico e científico para a condução da pesquisa, destacando:

Equipe do Ambulatório de Leucemias do ICESP: Dr. André Neder Ramires Abdo, Dra. Andrezza Bertolaci Medina, Dr. Felipe Maciel, Dra. Fernanda Salles Seguro, Dra. Patricia Salles.

Equipe do Laboratório de Biologia Tumoral: Aline Didone, Amanda Matheus Camargo Ferreira, Ana Clara Sousa Lima, Antonio Roberto Lancha Ruiz, Ariel Lais de Lima Costa, Fabricio da Costa Pinheiro, Ismael Severino Lima, Leticia Tyemi Asso, Luciana Nardinelli, Maria Karina Costa, Mariana Marchiani, Nathalia Moreira Santos, Rodinei André de Jesus, Roseli Aparecida Carvalho, Sheida Mehrpour, Tamiris Zulato Tozetto de Assis, Tatiane Iris Mancini, Thiago Pagliarini.

Equipe de Pesquisa Clínica: Alessandra Castro Miguel, Andreia Alves de Andrade, Maria Isabel Puccinelli, Maris Stella Sugino, Rita de Cássia Lopes Parolini, Vanessa Agostinho Cardillo.

Agradeço à minha família pelo apoio e incentivo, em especial à minha mãe Eleonora e meu pai Sócrates, *in memmorian*, pelos valores ensinados durante a vida, e à minha irmã Silvana pelo compartilhamento do conhecimento médico de uma vida dedicada à saúde do próximo.

Aos sujeitos de pesquisa que doaram seu tempo e se colocaram à disposição da pesquisa num ato de solidariedade ao próximo, proporcionando a oportunidade dos pesquisadores manterem seu trabalho pelo progresso da ciência em busca da saúde e da melhoria da qualidade de vida da humanidade.

Agradecimento especial ao Prof. Dr. Israel Bendit pelo direcionamento científico e prático dado à pesquisa, na criação, acompanhamento e desenvolvimento do estudo, acrescentando profunda relevância aos objetivos e resultados, bem como pela oportunidade de realizar este trabalho em seu laboratório, sob sua supervisão.

À FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio institucional e financeiro através do projeto 2015/23091-7.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

ATA DE DEFESA

De acordo com o disposto no Regimento da Pós-Graduação da Universidade de São Paulo, os Examinadores consideraram o(a) candidato(a): **Vinicius Marcondes Rezende**

São Paulo, 26/03/2018

COMISSÃO EXAMINADORA:

1. (☒) APR () REP
Israel Bendit - Presidente
2. (☒) APR () REP
Juliana Pereira - Titular
3. (☒) APR () REP
Monika Conchon Ribeiro de Mello - Titular
4. (☒) APR () REP
Fabiane Dörr - Titular
5. (☒) APR () REP
Ricardo Rodrigues Giorgi - Titular
6. () APR () REP _____
José Mauro Kutner - Suplente
7. () APR () REP _____
Elbio Antonio D'Amico - Suplente
8. () APR () REP _____
Katia Borgia Barbosa Pagnano - Suplente
9. () APR () REP _____
Valdemir Melechco Carvalho - Suplente
10. () APR () REP _____
Vanderson Geraldo Rocha - Suplente

1 SUMÁRIO

1	SUMÁRIO	XII
2	LISTA DE TABELAS	XV
3	LISTA DE FIGURAS	XVII
4	LISTA DE ACRÔNIMOS	XIX
5	RESUMO.....	XX
6	ABSTRACT.....	XXI
7	INTRODUÇÃO	1
7.1	Neoplasia e Cancer.....	1
7.1.1	Nomenclatura geral	4
7.1.2	Estadiamento	6
7.2	Leucemias	7
7.3	Leucemia mielóide crônica.....	10
7.3.1	Diagnóstico.....	12
7.3.1.1	Parâmetros de Diagnóstico	14
7.3.2	Tratamento	15
7.3.3	Resposta ao Tratamento	17
7.3.4	Farmacologia.....	21
7.3.4.1	Mesilato de Imatinib: primeira geração de ITQ	21
7.3.4.2	Segunda geração de ITQ.....	26
7.3.5	Monitoramento terapêutico.....	30
7.3.6	Monitoramento terapêutico de Mesilato de imatinib.....	31
7.3.6.1	Farmacoeconomia: tratamento da LMC	32

8	OBJETIVOS.....	35
8.1	Objetivos primários.....	35
8.2	Objetivos secundários.....	35
9	MÉTODOS.....	36
9.1	Coleta de amostras	37
9.2	CrITÉRIOS de exclusão	38
9.3	População estudada.....	39
9.1	Método Analítico	42
9.1.1	Validação do Método.....	42
9.1.1.1	Materiais	42
9.1.1.2	Condições instrumentais.....	43
9.1.1.3	Preparo das soluções	44
9.1.1.4	Preparo das amostras	45
10	RESULTADOS.....	46
10.1	Resultados de validação do método analítico.....	46
10.1.1	Seletividade.....	46
10.1.2	Precisão.....	47
10.1.3	Exatidão	48
10.1.4	Recuperação	48
10.1.5	Linearidade	49
10.1.6	Limites de Detecção e Quantificação.....	49
10.1.7	Estabilidade.....	50
10.2	Análise dos Resultados.....	50
10.3	Estatística.....	51
10.4	Outros resultados obtidos dos dados colhidos	61

10.4.1	Relação entre Dose e Níveis séricos.....	62
10.4.2	Relação entre IMC e Níveis séricos	64
11	DISCUSSÃO	67
12	CONCLUSÃO.....	71
13	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
14	ANEXOS.....	87
14.1	Anexo 1: Parecer Consubstanciado da CAPPesq	87

2 LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características diferenciais de tumores	3
Tabela 2 – Brasil, distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por sexo, exceto pele não melanoma	8
Tabela 3 – Estado Unidos da América, distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por tipo, exceto pele não melanoma....	8
Tabela 4 – Definições de resposta aos ITQ como primeira linha de tratamento. Adaptado de (23)	19
Tabela 5 – Perfil de toxicidade apresentada por pacientes com LMC sob tratamento de imatinib (Glivec). Adaptado de .(34).....	20
Tabela 6 – Parâmetros farmacocinéticos do imatinib 400 mg em pacientes com LMC na primeira dose (dia 1) e em stead state (a partir do dia 28)*. Extraído de (48)	25
Tabela 7 – Preços do tratamento anual com cada um dos inibidores de tirosina quinase utilizados para tratamento da LMC em alguns países. Dados atualizados até 2013, adaptado de (78).	34
Tabela 8 – Estatística descritiva dos dados populacionais	40
Tabela 9 – Dados completos do estudo utilizados nos cálculos e testes estatísticos.....	1
Tabela 10 – Resultado tabular do Teste U de Mann-Whitney comparando as variáveis de concentração sérica com a variável $RMM \leq 12m$. Para $p < 0.05$	1
Tabela 11 – Resumo das conclusões da avaliação estatística dos dados comparando as variáveis de concentração sérica com a variável $RMM \leq 12m$	1
Tabela 12 – Resultados do teste de Correlação de Spearman na comparação da dose administrada com os níveis séricos de Imatinib e metabólito, com $p < 0.05$.	63
Tabela 13 – Resultados do teste de Correlação Gamma na comparação da dose	

administrada com os níveis séricos de Imatinib e metabólito, com $p < 0.050$.63

Tabela 14 – Resultados do teste de Correlação de Kendall-Tau na comparação da dose

administrada com os níveis séricos de Imatinib e metabólito, com $p < 0.050$.64

Tabela 15 – Resultados do teste de Correlação de Spearman na comparação do IMC e

do Peso corpóreo com os níveis séricos de Imatinib e metabólito, com p

< 0.05065

Tabela 16 – Resultados do teste de Correlação Gamma na comparação na comparação

do IMC e do Peso corpóreo com os níveis séricos de Imatinib e metabólito,

com $p < 0.050$65

Tabela 17 – Resultados do teste de Correlação de Kendall-Tau na comparação da dose

administrada com os níveis séricos de Imatinib e metabólito, com $p < 0.050$.66

3 LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Linhagens celulares que podem ser geradas a partir das células tronco hematopoiéticas, destacando as linhagens mielóides e linfoides.....9
- Figura 2. Representação artística da formação do cromossomo Filadélfia através da translocação entre o gene BCR no cromossomo 22 e o gene ABL1 no cromossomo 9, formando o gene híbrido Cromossomo Philadelphia (t 9,22)(q34;q11)12
- Figura 3. Fórmula Estruturar e Empírica do Mesilato de Imatinib22
- Figura 4. Mecanismo de ação do Imatinib (STI571) destacando-se o sítio de ligação da molécula de ATP24
- Figura 5. Fórmula Estruturar e Empírica do Dasatinibe.....28
- Figura 6. Fórmula Estruturar e Empírica do Nilotinibe.....29
- Figura 7. Sobrevivência de pacientes com LMC ao longo do tempo (1993-2013), comparando cada uma das eras de tratamento: antes de 1982, de 1983 a 1990, de 1991 a 1995, de 1996 a 2000, de 2001 a 2014 (today). Extraído de (75) 33
- Figura 8. Histogramas e resumo estatístico descritivo das variáveis Idade, altura, Peso, Gênero (Sexo), Tabagismo (FUM) e Índice de Massa corpórea (IMC).....41
- Figura 9. Histogramas e resumo estatístico descritivo das variáveis concentração: imatinib pré-dose (IM PRE), imatinib pós-dose (IM POS), desmetil-imatinib pré-dose (DIM PRE), desmetil-imatinib pós-dose (DIM POS).....2
- Figura 10. Boxplot dos valores de concentração sérica de Imatinib pré-dose (IM PRE) em ng/mL para os grupos $RMM > 12m(0)$ e $RMM \leq 12m(1)$. A linha tracejada

indica a concentração mediana no grupo que atingiu RMM em até 12 meses.

$p < 0.05$ 58

Figura 11. Boxplot dos valores de concentração sérica de Imatinib pós-dose (IM POS)

em ng/mL para os grupos $RMM > 12m(0)$ e $RMM \leq 12m(1)$. A linha tracejada indica a concentração mediana no grupo que atingiu RMM em até 12 meses.

$p < 0.05$ 59

Figura 12. Boxplot dos valores de concentração sérica de desmetil-Imatinib pré-dose

(D-IM PRE) em ng/mL para os grupos $RMM > 12m(0)$ e $RMM \leq 12m(1)$. A linha tracejada indica a concentração mediana no grupo que atingiu RMM em até 12 meses.

$p < 0.05$ 60

Figura 13. Boxplot dos valores de concentração sérica de desmetil-Imatinib pós-dose

(D-IM POS) em ng/mL para os grupos $RMM > 12m(0)$ e $RMM \leq 12m(1)$. A linha tracejada indica a concentração mediana no grupo que atingiu RMM em até 12 meses.

$p < 0.05$ 61

4 LISTA DE ACRÔNIMOS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Adenosine Triphosphate
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
D-IM POS	Concentração de Desmetil-Imatinibe Pós-dose
D-IM PRE	Concentração de Desmetil-Imatinibe Pré-dose
D-IMPOS	Concentração de desmetil-Imatinib pós-dose
D-IMPRE	Concentração de desmetil-Imatinib pré-dose
DOS	Dose
DPR	Desvio padrão relativo
ELN	European Leukemia NET
EUA	Estados unidos da América
FDA	Food and Drug Administration
H ₀	hipótese nula - estatística
H _a	hipótese alternativa - estatística
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Ver CLAE)
HPLC-MS	High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry
IFN	Interferon
IM POS	Concentração de Imatinibe Pós-dose
IM PRE	Concentração de Imatinibe Pré-dose
IMC	índice de Massa Corpórea
IMC	índice de massa corpórea
IMPOS	Concentração de Imatinib pós-dose
IMPRE	Concentração de Imatinib pré-dose
LLA	Leucemia linfóide aguda
LMC	Leucemia Mielóide Crônica
MI	Mesilato de Imatinib
MI	Mesilato de Imatinib
MITQ	Monitoramento de inibidores de Tirosina quinase
MMR	Major Molecular Response (ver RMM)
Ph	Phyladelphia (cromossomo)
RCC	resposta citogenética completa
RMM	Resposta Molecular Maior
RMM	resposta molecular maior
RMM _{≤12m}	= {0,1}, atingimento de Resposta Molecular Maior em até 12 meses, onde 0 = negativo, 1 = positivo
RT-PCR	Reação em cadeia de polimerase por transcrição reversa
UICC	The Union for International Cancer Control's

5 RESUMO

Rezende VM. Monitoramento terapêutico de mesilato de imatinibe: relação entre níveis séricos e alcance de resposta molecular maior na leucemia mielóide crônica [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

RESUMO

Dentre os vários tipos de leucemia, destaca-se a Leucemia Mielóide Crônica (LMC), um distúrbio mieloproliferativo em que ocorre a translocação entre o gene BCR no cromossomo 22 e o gene ABL1 no cromossomo 9. Essa translocação cria um cromossomo conhecido como *Philadelphia* (t 9,22)(q34;q11), ou Ph+, e a consequente formação de um produto único de proteínas BCR-ABL1. Essa proteína tem atividade de quinase constitutiva e impulsiona a proliferação descontrolada de células tronco hematopoiéticas. O surgimento de uma nova classe farmacológica no início dos anos 2000 – os inibidores de tirosina quinases, revolucionou o tratamento e o prognóstico da LMC, permitindo que esse câncer fosse tratado praticamente como uma doença crônica, com farmacoterapia oral. A droga de estréia dessa classe, o Mesilato de Imatinib, foi desenvolvida através de modelagem molecular para ser alvo-específica, mas apesar do desenvolvimento exitoso, após o início da comercialização, foram observadas falhas na ação em determinados pacientes. Há evidências de que a avaliação da relação entre a dose de imatinibe (e seus níveis sanguíneos) e a eficácia do tratamento medida através das respostas Hematológica, Citogenética e Molecular, seja uma forma de realizar o ajuste da dose reduzindo efeitos colaterais e custo do tratamento. No presente estudo foram avaliadas as concentrações séricas de imatinib, Cmin e Cmax, em 51 pacientes com Leucemia Mielóide Crônica, dos quais 33 atingiram Resposta Molecular Maior em até 12 meses de tratamento, 11 levaram mais que 12 meses para atingir, e 7 não atingiram. As concentrações séricas obtidas desses pacientes indicaram que no grupo que atingiu RMM em até 12 meses, os valores de vale (Cmin) se apresentaram com mediana de 889.2 ng/mL (721.9 e 1202.4 para primeiro e terceiro quartis respectivamente), sendo que o grupo que levou mais de 12 meses para atingir RMM, a concentração mediana observada foi de 611.0 ng/mL (493.0 e 816.0 para primeiro e terceiro quartis respectivamente), sendo essa diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$). Dessa forma demonstrou-se a importância do monitoramento das concentrações séricas de imatinib para o ajuste da dose e para a gestão do tratamento na mudança para segunda geração de inibidores de tirosina quinase. Através da análise comparativa dos dados populacionais estudados, observou-se não haver correlação significativa entre as concentrações séricas e índice de massa corpórea (IMC), peso, idade ou sexo.

Descritores: leucemia mieloide crônica; mesilato de imatinib; biomarcadores; monitoramento de medicamentos; resposta molecular; proteínas tirosina quinases/inibidores; cromatografia; espectrometria de massas

6 ABSTRACT

Rezende VM. Therapeutic drug monitoring of imatinib mesylate: relationship between serum levels and the molecular outcome (as determined by major molecular response) in chronic myeloid leukemia [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2017.

ABSTRACT

Among the various types of leukemia, Chronic Myeloid Leukemia (CML) stands out as a myeloproliferative disorder in which translocation occurs between the BCR gene on chromosome 22 and the ABL1 gene on chromosome 9. This translocation creates a chromosome known as Philadelphia (t 9,22) (q34; q11), or Ph +, and the consequent formation of a unique BCR-ABL1 protein product. This protein has constitutive kinase activity and drives the uncontrolled proliferation of hematopoietic stem cells. The launch of a new pharmacological class in the early 2000s - the tyrosine kinases inhibitors, revolutionized the treatment and prognosis of CML, allowing that cancer to be treated virtually as a chronic disease with oral pharmacotherapy. The newbie drug of this class, Imatinib Mesylate, was developed through molecular modeling to be target-specific, but despite the successful development, after the beginning of marketing, certain patients presented some failures in the response. There is an evidence that an assessment of the relationship between a dose of Imatinib (and its blood levels) and the efficacy of treatment from its Hematologic, Cytogenetic and Molecular Responses, is a really effective way to perform dose adjustment reducing side effects and cost of treatment. In the present study, the serum concentrations of Imatinib, Cmin and Cmax were evaluated in 51 patients with chronic myeloid leukemia, of which 33 reached major molecular response in up to 12 months of treatment, 10 took more than 12 months to achieve it, and 7 did not reach that. The serum concentrations obtained from those patients indicated that in the group that reached Major Molecular Response (MMR) within 12 months, the trough level (Cmin) presented a median of 889.2 ng / mL (721.9 and 1202.4 for first and third quartiles, respectively), and the group which took more than 12 months to reach MMR, the median concentration observed was 611.0 ng / mL (493.0 and 816.0 for the first and third quartiles respectively), and this difference was statistically significant ($p < 0.05$). Thus, the importance of monitoring serum imatinib concentrations for dose adjustment and treatment management in switching to second-generation tyrosine kinase inhibitors has been demonstrated. Through the comparative analysis of the population data, there was no significant correlation between serum concentrations and body mass index (BMI), weight, age or gender.

Descriptors: chronic myeloid leukemia; imatinib mesylate; biomarkers; molecular response; protein-tyrosine kinases/inhibitors; chromatography; mass spectrometry

7 INTRODUÇÃO

Antes de 2001, menos de 1 a cada 3 pacientes diagnosticados com Leucemia Mielóide Crônica (LMC) sobreviviam 5 anos ou mais após o diagnóstico. É uma doença relativamente rara, atingindo cerca de 1 a 2 indivíduos a cada 100 mil habitantes por ano, com idade média de diagnóstico em torno de 65 anos (sendo a maioria entre 55 e 60 anos) (1,2).

Essa realidade mudou radicalmente após a introdução do mesilato de imatinib, uma droga desenvolvida com êxito através de modelagem molecular, alvo-dirigida, consequência da elucidação da patogênese em nível molecular da doença levando ao desenvolvimento de uma terapia para a causa da doença, e não apenas paliativa ou dirigida aos sintomas, ou ainda, inespecífica o suficiente para tornar o tratamento tão deletério quanto a própria doença (1,3–5).

7.1 Neoplasia e Cancer

Pode-se verificar duas formas de crescimento celular no organismo, o crescimento celular controlado e o não controlado, sendo esses caracterizados em 4 tipos: hiperplasia (aumento do tamanho ou volume), metaplasia (substituição normalmente reversível de uma célula adulta, epitelial ou mesenquimal, por outra de outro tipo celular) e displasia (proliferação celular que resulta em células com tamanho, forma e características alteradas), que são formas de crescimento controlado, enquanto

que as neoplasias correspondem às formas de crescimento não controlado e cujo resultado é denominado, na prática, de “tumor”(6–8)

A definição mais aceita atualmente é: “Neoplasia é uma proliferação anormal do tecido, que foge parcial ou totalmente ao controle do organismo e tende à autonomia e à perpetuação, com efeitos agressivos sobre o hospedeiro” (Pérez-Tamayo, 1987; Robbins, 1984 *apud* (9)).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (10) e o National Cancer Institute (6), câncer é um termo utilizado para classificar um conjunto de doenças em que células anormais se dividem sem controle e podem invadir tecidos próximos. As células cancerosas podem se originar de praticamente qualquer parte do organismo e se espalhar para outras partes do corpo através do sangue e do sistema linfático.

Normalmente, as células são geradas, crescem e se dividem para formar novas células conforme o organismo as necessita, através dos processos de hiperplasia, metaplasia e displasia. Quando as células envelhecem ou se danificam, através de mecanismos específicos de morte programada, chamados de apoptose, elas morrem e novas células saudáveis ocupam seu lugar.

No desenvolvimento do câncer, no entanto, esse processo ordenado é interrompido à medida que as células acumulam alterações, e células antigas ou danificadas sobrevivem quando deveriam morrer. Essas células anormais perdem a capacidade natural de se extinguir, e podem se dividir sem parar formando os chamados tumores. Segundo Hanahan e Weinberg (7) seis alterações fundamentais na fisiologia celular governam a transformação de uma célula normal em cancerígena: (i) autossuficiência em sinais de proliferação, (ii) insensibilidade a sinais inibidores de crescimento, (iii) evasão da apoptose, (iv) potencial replicativo ilimitado, (v) angiogênese sustentada, e (vi) invasão tecidual e metástase. Cada uma dessas

características, possíveis de serem alcançadas através de diferentes mecanismos moleculares, representam a superação de distintas estratégias, intrínsecas às células e aos tecidos, contra o desenvolvimento tumoral, e o acúmulo de tais alterações contribui à crescente malignidade do câncer.

Os tumores são geralmente classificados em malignos ou benignos de acordo com sua capacidade de crescimento e espalhamento. Tumores benignos são geralmente localizados e não se infiltram além de seu tecido de origem. Os tumores malignos apresentam crescimento infiltrativo. Outras características relevantes servem de diferencial para os dois tipos de tumores, conforme Tabela 1, a diante, adaptada de (9).

Existem vários tipos principais de câncer. O carcinoma é um câncer que começa na pele ou em tecidos que alinham ou cobrem órgãos internos. O sarcoma é um câncer que se inicia em osso, cartilagem, gordura, músculo, vasos sanguíneos ou outro tecido conectivo ou de suporte. Linfoma e mieloma múltiplo são cânceres que começam nas células do sistema imunológico. Os cânceres do sistema nervoso central são cânceres que começam nos tecidos do cérebro e da medula espinhal.

Tabela 1 – Características diferenciais de tumores

Critério	Benignos	Malignos
Encapsulação	Freqüente	Ausente
Crescimento	Lento Expansivo Bem delimitado	Rápido Infiltrativo Pouco delimitado
Morfologia	Semelhante à origem	Diferente
Mitose	Raras e típicas	Freqüentes e atípicas
Antigenicidade	Ausente	Presente

7.1.1 Nomenclatura geral

A designação dos tumores baseia-se na sua histogênese e histopatologia, sendo que para os tumores benignos, acrescenta-se o sufixo “oma” (que faz referência a tumor) ao termo que designa o tecido que os originou, como lipoma (tecido adiposo), condroma (tecido cartilagenoso), adenoma (tecido glandular). Para os tumores malignos, é necessário considerar a origem embrionária dos tecidos de que deriva o tumor.

Os tumores são denominados carcinomas quando a origem do tumor for proveniente de tecidos epiteliais de revestimento externo e interno, isto é, de origem embrionária de ectoderma do embrião em fase tridérmica. Quando o epitélio de origem for glandular, passam a ser chamados de adenocarcinomas. Os tumores malignos originários dos tecidos conjuntivos ou mesenquimais terão o acréscimo de sarcoma ao vocábulo que corresponde ao tecido. Os tumores de origem nas células blásticas, que ocorrem mais freqüentemente na infância, têm o sufixo blastoma acrescentado ao vocábulo que corresponde ao tecido original.

Existem ainda exceções e casos específicos, que por complexidade ou dificuldade de caracterização nas classes anteriores, historicamente receberam nomenclaturas próprias. Dentre esses casos, destacam-se:

- Tumores malignos de origem embrionária, derivados de células primitivas totipotentes que antecedem o embrião tridérmico: são de origem embrionária anterior à fase tridérmica, como teratomas - que podem ser benignos ou malignos, dependendo do seu grau de diferenciação, seminomas, coriocarcinomas e carcinoma de células embrionárias.

- Tumores benignos ou malignos derivados de múltiplos epitélios: são aqueles que apresentam mais de uma linhagem celular. Quando benignos, recebem o nome dos tecidos que os compõem, adicionados do sufixo “oma”, como em fibroadenoma e angiomiolipoma. O mesmo é feito para os tumores malignos, com os nomes dos tecidos que correspondem à variante maligna: carcinosarcoma, carcinoma adenoescamoso. Outras vezes encontram-se componentes benigno e maligno, sendo que neste caso, os nomes devem ser relacionados com as respectivas linhagens: adenoacantoma (linhagem glandular maligna e metaplasia escamosa benigna).
- Tumores malignos que receberam os nomes daqueles que os descreveram pela primeira vez como linfoma de Hodgkin, linfoma de Burkitt, sarcoma de Ewing, sarcoma de Kaposi, tumor de Wilms (nefroblastoma), tumor de Krukenberg (adenocarcinoma mucinoso metastático para ovário).
- Nomenclatura por sufixo indevido. Algumas neoplasias malignas mantiveram denominação como se fossem benignas, isto é, nomeadas apenas pelo sufixo “oma”, por não possuírem a correspondente variante benigna, como em melanoma, linfomas e sarcomas (estes dois últimos nomes representam classes de variados tumores malignos).

7.1.2 Estadiamento

Os tumores malignos apresentam geralmente um comportamento semelhante no hospedeiro, apesar de mais de uma centena de tipos diferentes descritos. Esse comportamento segue sistematicamente uma fase de surgimento e crescimento, invasão local e destruição dos tecidos vizinhos, disseminação regional seguida finalmente de disseminação sistêmica.

Dada essa sistemática comum, adotou-se uma classificação do câncer pela extensão da doença do ponto de vista anatômico, ou seja, um estágio de avanço, e essa sistemática é o principal determinante do tratamento e prognóstico. O estágio ou estágio¹ é um componente cada vez mais importante da vigilância do câncer e do controle do câncer e um ponto final para a avaliação dos processos de triagem e detecção precoce baseados em populações.

Atualmente, o sistema de estadiamento mais utilizado é o preconizado pela União Internacional Contra o Câncer (UICC), denominado Sistema TNM de Classificação dos Tumores Malignos, cuja versão brasileira é adotada como diretriz do Ministério da Saúde (11). Esse sistema baseia-se na extensão anatômica da doença, levando em conta as características do tumor primário (representado pela letra “T”), as características dos linfonodos das cadeias de drenagem linfática do órgão em que o tumor se localiza (letra “N”), e a presença ou ausência de metástases à distância (letra “M”). Estes três parâmetros recebem graduações, geralmente de T0 a T4, de N0 a N3 e

¹ No Brasil é coloquialmente comum a pronúncia da palavra estágio, proparoxítona, como estádio, paroxítona, quando referida ao estadiamento nas ciências da saúde; porém essa versão não é reconhecida pelos dicionários da língua portuguesa. Adotar-se-á a versão oficialmente aceita conforme “estádio” in *Dicionário Priberam da Língua Portuguesa*, 2008-2013, <http://www.priberam.pt/dlpo/estádio> [consultado em 11-10-2017].

de M0 a M1, respectivamente. Além das graduações numéricas, as categorias T e N podem ser subclassificadas em graduações alfabéticas (a, b, c). Tanto as graduações numéricas como as alfabéticas expressam o nível de evolução do tumor e dos linfonodos comprometidos. Quando uma categoria não pode ser devidamente avaliada utiliza-se o símbolo "X".

Quando as categorias T, N e M são agrupadas em combinações pré-estabelecidas, ficam distribuídas em estádios que, geralmente, variam de I a IV. Estes estádios podem ser subclassificados em A e B, para expressar o nível de evolução da doença. Entretanto, existem sistemas de classificação que utilizam algarismos romanos sem que estes resultem da combinação de valores de T, N e M, como ocorre no estadiamento da doença de Hodgkin e dos linfomas malignos. Estes também são subclassificados em A e B, significando, respectivamente, ausência ou presença de manifestações sistêmicas.

7.2 Leucemias

Muitos tipos de câncer formam tumores sólidos, que são massas de tecido. Os cânceres do sangue, como as leucemias, geralmente não formam tumores sólidos. A leucemia é um câncer que se inicia nas células hematopoiéticas na medula óssea, e que tem como principal característica o acúmulo de células jovens anormais na medula óssea, que substituem as células sanguíneas normais (1). As Leucemias aparecem entre os 10 primeiros cânceres de maior ocorrência, sendo que suas estimativas para o ano de 2018 estão entre 2,4% e 2,7% no Brasil e cerca de 3,7% nos Estados Unidos da

América, conforme visualizado nas Tabela 2 e Tabela 3.

Tabela 2 – Brasil, distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por sexo, exceto pele não melanoma

Homens			Mulheres		
Localização Primária	Casos*	%	Localização Primária	Casos*	%
Próstata	68.220	31,7%	Mama Feminina	59.700	29,5%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	18.740	8,7%	Cólon e Reto	18.980	9,4%
Cólon e Reto	17.380	8,1%	Colo do Útero	16.370	8,1%
Estômago	13.540	6,3%	Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.530	6,2%
Cavidade Oral	11.200	5,2%	Glândula Tireoide	8.040	4,0%
Esôfago	8.240	3,8%	Estômago	7.750	3,8%
Bexiga	6.690	3,1%	Corpo do Útero	6.600	3,3%
Laringe	6.390	3,0%	Ovário	6.150	3,0%
Leucemias	5.940	2,8%	Sistema Nervoso Central	5.510	2,7%
Sistema Nervoso Central	5.810	2,7%	Leucemias	4.860	2,4%

* Números arredondados para múltiplos de 10

Tabela 3 – Estado Unidos da América, distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por tipo, exceto pele não melanoma

	Tipo de Câncer	Estimativa de novos casos* 2018	Estimativa de mortes* 2018
1	Câncer de mama (Mulheres)	266.120	40.920
2	Pulmão	234.030	154.050
3	Próstata	164.690	29.430
4	Colorretal	140.250	50.630
5	Melanoma de pele	91.270	9.320
6	Bexiga	81.190	17.240
7	Linfoma Não-Hodgkin	74.680	19.910
8	Rins e Pelve	65.340	14.970
9	Útero	63.230	11.350
10	Leucemia	60.300**	24.370

* Números arredondados para múltiplos de 10

** O número estimado de casos de leucemia corresponde a aproximadamente 3,4% do total de casos de câncer.

As leucemias são divididas em duas categorias, mielóide e linfóide, de acordo com a célula envolvida, ver Figura 1. No primeiro caso, deriva da célula-tronco mielóide, e as células afetadas podem ser os granulócitos, os eosinófilos, os basófilos, os monócitos ou os eritrócitos. No segundo caso, os linfócitos são afetados (12,13).

Figura 1. Linhagens celulares que podem ser geradas a partir das células tronco hematopoiéticas, destacando as linhagens mielóides e linfóides²

Há, ainda, uma classificação de acordo com a velocidade de divisão dessas células: leucemia crônica, quando essa divisão é mais lenta, e leucemia aguda, quando a

²<https://static1.squarespace.com/static/59b97dbfd2b857017400e500/59b9d00787ff2edf504b13c6/59fe89fae4966b0f2576>

7afd/1520451617154/blood-cells-expanded-lymphoid-line.jpg?format=750w. Ver (91).

velocidade é rápida. As leucemias crônicas se desenvolvem lentamente e as células envolvidas são mais parecidas com a célula normal (mais diferenciadas), permitindo que, mesmo doentes, mantenham algumas de suas funções normais no organismo da pessoa. Já as leucemias agudas são de progressão rápida e afeta as células jovens, ainda não completamente formadas (chamados blastos), que não preservam suas funções e afetam de forma importante a capacidade de defesa do organismo (12,13).

7.3 Leucemia mielóide crônica

Dentre vários tipos de leucemia, destaca-se a Leucemia Mielóide Crônica (LMC), um distúrbio mieloproliferativo em que ocorre a translocação entre o gene BCR no cromossomo 22 e o gene ABL1 no cromossomo 9. Essa translocação cria um cromossomo conhecido como **Cromossomo Philadelphia (t 9,22)(q34;q11)** (14), ou Ph+, como pode ser observado na representação artística da e a consequente formação de um produto gênico BCR-ABL1 único. Essa proteína tem atividade de quinase constitutiva e impulsiona a proliferação descontrolada de células tronco hematopoiéticas (1,15). A LMC pode ocorrer em todas as faixas etárias, mas é predominantemente uma doença de adultos, sendo responsável por 20% das leucemias no adulto (16).

A história natural da doença é caracterizada pela progressão através de três fases: fase crônica, fase acelerada e crise blástica (12,14,15). Pacientes apresentam-se relativamente assintomáticos na fase crônica, ou podem apresentar fadiga, saciedade precoce, distúrbios visuais, sudorese noturna, febre (1). A fase crônica é caracterizada por uma proliferação alterada de células brancas do sangue e, por vezes, de plaquetas,

seguida de esplenomegalia. Os sintomas podem ser controlados por agentes, tais como hidroxiuréia (HU) ou interferon (IFN). No entanto, essas drogas não conseguem prevenir nem a progressão para a fase acelerada, onde ocorre uma perda progressiva da diferenciação de células brancas com uma acumulação de blastos, nem uma eventual crise blástica caracterizada por um quadro indistinguível da leucemia mielóide aguda ou leucemia linfoblástica aguda (LLA). Esta fase blástica é refratária ao tratamento e resulta em morte iminente. A sobrevida média dos pacientes é de 3-5 meses e as terapias convencionais, tais como hidroxiureia e interferon elevam em apenas 25% a sobrevida. No entanto, recomenda-se que a hidroxiureia e interferon permaneçam na lista de medicamentos essenciais como parte da assistência ao paciente com CML (1,15,17).

Figura 2. Representação artística da formação do cromossomo Filadélfia através da translocação entre o gene BCR no cromossomo 22 e o gene ABL1 no cromossomo 9, formando o gene híbrido Cromossomo Philadelphia (t 9,22)(q34;q11)³

7.3.1 Diagnóstico

O diagnóstico da LMC ocorre geralmente na fase crônica, sendo apenas 15% diagnosticados em fase acelerada ou crise blástica. Cerca de 50% dos pacientes é assintomático, o que leva ao diagnóstico tardio, ou ao acaso, durante investigação de outros problemas de saúde não relacionados necessariamente à LMC (18). Clinicamente, o paciente sintomático apresenta fadiga, perda de peso, sangramentos,

³<https://static1.squarespace.com/static/59b97dbfd2b857017400e500/59b9cb4c80bd5effe1ef0898>

/59ff9a1b0d929758ea1e1a25/1520389873114/philadelphia-chromosome.jpg?format=750w. Ver (91).

esplenomegalia, sudorese e desconforto abdominal.

Normalmente o diagnóstico ocorre inicialmente através dos aspectos clínicos seguidos de investigação hematológica, que inclui hemograma e mielograma, medição de esplenomegalia, biópsia de medula para avaliar presença de fibrose, cariótipo da medula óssea, PCR-qualitativo (para identificação do transcrito BCR-ABL) e PCR quantitativo para determinação da razão entre os genes mutado e controle (BCR-ABL-1) (19).

O diagnóstico da LMC baseia-se na caracterização quantitativa e qualitativa de células sanguíneas com resultados bem característicos. No quesito quantitativo observa-se leucocitose e muitas vezes trombocitose. Quanto à morfologia, presença de granulócitos imaturos, metamielócitos a mieloblastos, e basofilia são características comuns (20).

Para confirmar o diagnóstico de LMC é necessária a demonstração da presença de pelo menos uma das seguintes características: **(i)** cromossomo Philadelphia em exame citogenético; **(ii)** translocação t(9; 22) (q34, q11) em leucócitos do sangue periférico ou medula óssea, método convencional através da técnica de banda G ou por método molecular de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), ou **(iii)** o produto do rearranjo BCR-ABL no sangue periférico, por reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa (RT-PCR) (20)

7.3.1.1 Parâmetros de Diagnóstico

- a. **Resposta Hematológica** é uma medida obtida pela contagem de leucócitos no sangue correspondendo à redução de 50% da contagem inicial de leucócitos, mantida por pelo menos durante duas semanas. O valor típico para contagem de leucócitos em um indivíduo saudável deve estar compreendido na faixa de 3.500 a 10.000/mm³ (20–23), não raro é o paciente com LMC apresentar contagem inicial de mais de 100.000/mm³, e também plaquetose ($> 600.000/\text{mm}^3$), cujos valores normais apresentam-se entre 150.000 e 450.000mm³ (24).
- b. **Resposta Hematológica Completa** ocorre quando a leucometria fica abaixo de 10.000/mm³, nota-se ausência de pró-mielócitos ou mieloblastos, menos dos que 5% de mielócitos ou metamielócitos e a plaquetometria em torno de 450.000/mm³, mantidas por pelo menos quatro semanas (20–24).
- c. **Resposta Citogenética** é a avaliação da presença do cromossomo Filadélfia em células em fase de metáfase, e caracteriza-se como (20–23):
- **Ausente** quando observa-se mais que 90% de células com cromossomo Filadélfia positivo.
 - **Menor** quando o cromossomo Filadélfia está presente em 35% a 90% de células.
 - **Parcial** quando observa-se de 5% a 34% de células com cromossoma Ph positivo.

- **Maior** quando se tem a presença de menos que 35% de células com cromossoma Ph positivo (20,21,24).
- **Completa** quando atinge-se 0% de células com cromossoma Ph positivo, em até 20 metáfases de células representativas.

7.3.2 Tratamento

Os primeiros relatos de tratamento medicamentoso de pacientes com leucemia datam de 1865, com a utilização de Arsênico por Heinrich Lissauer, porém o arsênico já era conhecido de povos antigos como relatado no poema indiano Ramayana, há quase 2000 anos atrás para tratamento de doenças (25). Porém o controle efetivo da contagem de células sanguíneas só se deu a partir de 1959 com a introdução do bussulfan na terapêutica, e 10 anos mais tarde com a hidroxauréia, mais bem tolerada, o que trouxe modesto aumento de sobrevida aos pacientes, embora nenhuma dessas terapias promovesse resposta citogenética ou evitasse a crise blástica (19,20).

Até 1970, a leucemia mieloide crônica era invariavelmente uma doença fatal. Essa realidade foi modificada após introdução, com sucesso do transplante de medula óssea alogênico, em 1986, com possibilidade de cura para a doença. Logo em seguida, o uso do interferon alfa mostrou induzir respostas citogenéticas completas e duráveis, além de sobrevida longa, embora numa proporção pequena de pacientes.

Antes do advento do imatinib, descoberto em meados da década de 1990, e introduzido apenas em 2000 (27), a única terapia que oferecia sobrevivência a longo prazo era o transplante de medula óssea (TMO) alogênico, uma modalidade não

disponível na maior parte do mundo na época. Mesmo nos países desenvolvidos a TMO é dispendiosa e associada com uma mortalidade significativa relacionada com o tratamento. Embora a TMO possa levar a uma doença de longo prazo com sobrevivência de 50 a 70% dos doentes, a toxicidade aumenta significativamente com a idade e mesmo em pacientes mais jovens existem grandes obstáculos. Outro fator relevante é não se identificar um doador apropriado para até 60% dos pacientes (17); este número é ainda maior em pacientes de ascendência africana ou hispânica devido a sub-representação nos registos internacionais (28). O transplante ainda está associado com morbididades (infertilidade, doença do enxerto versus hospedeiro) e mortalidade (20-50% em um ano, dependendo das características do paciente e do doador). Mais crítico ainda, é o fato do TMO alogênico exigir uma infra-estrutura sofisticada e cara, bem como cuidados complicados de acompanhamento prolongado, o que são oferecidos apenas em hospitais terciários (28).

Com a introdução do mesilato de imatinib (MI) no início dos anos 2000 (29,30), uma nova realidade surgiu para os pacientes com LMC. Uma droga administrada oralmente, bem tolerada, e que apresentou grande vantagem sobre os tratamentos medicamentosos anteriores com hidroxiuréia e interferon, reduziu a necessidade de transplante na maioria dos casos. Atualmente é o tratamento de escolha para pacientes com LMC que não têm um doador de medula óssea adequada ou que não são candidatos para transplante (17,31).

Atualmente as diretrizes internacionais preconizadas no **European LeukemiaNet 2013** (23) são adotadas mundialmente. No Brasil, o Ministério da Saúde publicou em 2013 a **Portaria no. 1.219 de 04 de novembro de 2013**, que aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Leucemia Mieloide Crônica do Adulto (32), baseado naquelas recomendações.

7.3.3 Resposta ao Tratamento

Várias são as possibilidades de resultado global para o tratamento da LMC. Mas como fator de prognóstico, estabeleceram-se parâmetros indicativos do quão ideal está sendo o resultado de determinado tratamento. Com isso surgiu uma escala de três níveis em que se identifica o sucesso do tratamento. Resposta ótima, sub-ótima ou “de alerta”, e falha ao tratamento. Essas três situações aplicam-se ao tratamento com qualquer ITQ utilizado em primeira linha de tratamento (23).

Caracterizam-se assim as respostas em:

- **Resposta ótima:** aquela com o ao melhor desfecho em longo prazo, ou seja, com uma duração de vida comparável à da população em geral, indicando que não há indicação de mudança nesse tratamento.
- **Falha ao tratamento:** quando o paciente deve receber um tratamento diferente para limitar o risco de progressão e morte, devido ao não controle adequado da doença.
- **Sub-ótima:** também chamada atualmente de “**alerta**”, essa situação implica que as características da doença e a resposta ao tratamento exigem um monitoramento mais frequente para permitir mudanças adequadas à terapia em caso de falha do tratamento. Considera-se um estado intermediário entre resposta ótima e falha.

A caracterização de cada um desses prognósticos está baseada na avaliação dos parâmetros de diagnóstico. Na definição de resposta, um ponto ainda controverso é o valor da resposta molecular precoce, particularmente após 3 meses de tratamento,

devido a alguns relatos na literatura, indicarem que um nível de 10% de transcritos de BCR-ABL1 serem prognosticamente significativos. Apesar disso, a conclusão do painel do **ELN 2013** foi de que uma única medida do nível de transcritos BCR-ABL não é suficiente para definir como falha que necessite de uma mudança de tratamento, enquanto 2 testes (aos 3 e 6 meses) e/ou testes complementares entre eles podem fornecer embasamento maior para a decisão de mudar o tratamento. As falhas por sua vez são diferenciadas como **primárias** (falha na obtenção de uma determinada resposta em um determinado momento) ou **secundárias** (perda de resposta) (23).

Dessa forma pode-se consolidar as definições de resposta aos ITQ como primeira linha de tratamento conforme Tabela 4.

Tabela 4 – Definições de resposta aos ITQ como primeira linha de tratamento. Adaptado de (23)

Momento do tratamento	Resposta		
	Ótima	Resposta sub-ótima (Alerta)	Falha
Ao diagnóstico	Não aplicável	Alto risco ou ACC/Ph+, rota maior**	Não aplicável
3 meses	BCR-ABL1 $\leq$ 10% e/ou Ph+ $\leq$ 35%	BCR-ABL1 $>$ 10% e/ou Ph+ 36-95%	Sem RHC e/ou Ph+ $>$ 95%
6 meses	BCR-ABL1 $<$ 1% e/ou Ph+= 0%	BCR-ABL1 = 1-10% e/ou Ph+ = 1-35%	BCR-ABL1 $>$ 10% e/ou Ph+ $>$ 35%
12 meses	BCR-ABL1 $\leq$ 0,1%	BCR-ABL1 0,1-1 %	BCR-ABL1 $>$ 1% e/ou Ph + $>$ 0
a qualquer tempo após 12 meses	BCR-ABL1 $\leq$ 0,1%	ACC/Ph-(-7, or 7q-)	Perda de RHC Perda de RCC Perda confirmada de RMM* Mutações ACC/Ph +

*Em dois testes consecutivos, dos quais pelo menos um com nível de transcritos de BCR-ABL $\geq$ 1%

**rota maior são outras anomalias cromossômicas incluindo trissomia do cromossomo 8, trissomia do Ph, isocromossomo 17, trissomia do 19.

RMM = BCR-ABL1 $\leq$ 0.1% = MR3.0 ou melhor

ACC/Ph+ = Anormalidades cromossômicas clonais em células Ph+

ACC/Ph- = Anormalidades cromossômicas clonais em células Ph-

RHC= Resposta Hematológica Completa

RHC= Resposta Citogenética Completa

Ph+ = presença de cromossomo Filadélfia. Ph- = ausência de cromossomo Filadélfia

À ocorrência de efeitos adversos severos, atribui-se o termo toxicidade, dividindo-se em 4 graus de intensidade segundo o Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v5.0 (33). Num estudo de Malhotra *et. al.*(34) foram relatadas ocorrência de toxicidade num grupo de 131 pacientes dos quais 84 tratados com Glivec. Os resultados podem ser verificados na Tabela 5.

Tabela 5 – Perfil de toxicidade apresentada por pacientes com LMC sob tratamento de imatinib (Glivec). Adaptado de .(34).

Toxicidade	Graus 1 e 2, n (%)	Graus 3 e 4, n (%)
Edema superficial	52 (61.9)	3 (3.5)
Náuseas	32 (38.1)	2 (2.38)
Cãibras musculares	47 (55.95)	0 (0)
Dor musculoesquelética	38 (45.23)	4 (4.76)
Erupções cutâneas e eventos relacionados	34 (40.47)	3 (3.5)
Diarréia	39 (46.42)	2 (2.38)
Dor de cabeça	33 (39.28)	0 (0)
Dor nas articulações	27 (32.14)	2 (2.38)
Dor abdominal	23 (27.38)	4 (4.76)
Mialgia	20 (23.80)	1 (1.19)
Vômito	18 (21.42)	1 (1.19)
Fadiga	32 (38.09)	0 (0)
Dispepsia	15 (17.85)	0 (0)
Aumento de peso	11 (13.09)	1 (1.19)
Insônia	13 (15.47)	0 (0)
Descontinuações devido a efeitos adversos	0 (0)	0 (0)

7.3.4 Farmacologia

Com a introdução do imatinibe na terapêutica da LMC, foi inaugurada uma nova era na farmacologia, a era das drogas alvo-específicas, os ITQ. Considera-se a introdução do mesilato de imatinibe até hoje um avanço sem precedentes, que trouxe uma solução para mais de 90% dos casos de LMC (35). Assim, com sua introdução, o imatinibe vem apresentando efetividade na maioria dos casos, com respostas duradouras, porém, casos de falha necessitavam de terapia alternativa, e consequentemente de desenvolvimento de novas drogas alternativamente (35). Com isso, iniciou-se uma corrida paralela pelo desenvolvimento de drogas que suprissem as falhas do imatinibe, o que aconteceu com as duas primeiras drogas apresentadas como alternativa, ou segunda linha de tratamento, o dasatinibe e o nilotinib (36,37).

7.3.4.1 Mesilato de Imatinib: primeira geração de ITQ

A molécula de Imatinib, (4-[(4-methyl-1-piperazinyl)methyl]-N-[4-methyl-3-[[4-(3-pyridinyl)-2-pyrimidinyl]amino]phenyl]benzamide methanesulfonate, também chamado de STI 571, Figura 3, é um derivado da 2-phenylaminopyrimidine, substância que foi desenvolvida através de desenvolvimento racional de fármacos, no final dos anos 1990, utilizando modelagem molecular, pela Ciba-Geigy (que se fundiu com Sandoz em 1996 adotando o nome de Novartis). A 2-phenylaminopyrimidine foi modificada com a adição de grupos metila e benzamida conferindo-lhe maior capacidade de ligação ao sítio. O mesilato de imatinibe, resultado dessas modificações, foi registrado com os nomes de Gleevec® e Glivec® (38,39)

A molécula desenvolvida para o alvo específico, ocupa competitivamente a região ligante do ATP na quinase BCR-ABL1, Figura 4, impedindo a fosforilação do substrato que está envolvido na regulação do ciclo celular. Dessa forma, o composto inibe seletivamente a proliferação celular e induz a apoptose em linhagens celulares BCR-ABL1 positivas bem como em células leucêmicas novas de pacientes com LMC cromossomo Philadelphia positivo (Ph+) e leucemia linfoblástica aguda (LLA) (30,31,38,40,41).

Figura 3. Fórmula Estrutural e Empírica do Mesilato de Imatinib

O Mesilato de Imatinib (MI), então um inibidor seletivo da tirosina quinase BCR-ABL1, tornou-se o tratamento mais eficaz contra a Leucemia Mielóide Crônica (LMC). Taxas de resposta citogenética completa (RCC) de 87%, isto é, 0% de cromossomo Philadelphia, e sobrevida livre de progressão para fase acelerada (FA) ou crise blástica (CB) de 90% nunca foram atingidas anteriormente após cinco anos de tratamento em pacientes com LMC em fase crônica (FC) precoce, isto é, que iniciaram

o tratamento com MI até 12 meses do diagnóstico e não foram expostos a outros tratamentos como IFN ou transplante alogênico de células tronco (42). Embora estes resultados sejam animadores, ainda 10 a 15% dos pacientes tratados apresentam resistência ao MI (42,43). Os mecanismos de resistência conhecidos são as mutações no domínio de quinase do gene ABL1, região onde o MI se liga impedindo a fosforilação de BCR-ABL1 e assim inibindo a sua ação como a ativação de genes reguladores da proliferação, diferenciação e inibição da apoptose (44). Outros mecanismos de resistência menos frequentes como a amplificação gene BCR-ABL1, presença da expressão do gene MDR1 e de sua P-glicoproteína que atua expulsando o MI do interior da célula da LMC (43) e da ausência de expressão de hOCT1 (45) ou da atividade da proteína OCT1 que tem como ação favorecer a entrada de MI na célula leucêmica da LMC, foram descritos em pacientes que falharam ao tratamento (46).

Figura 4. Mecanismo de ação do Imatinib (STI571) destacando-se o sítio de ligação da molécula de ATP

O painel esquerdo mostra a oncoproteína BCR-ABL com uma molécula de ATP na receptáculo da quinase. O substrato é fosforilado em um resíduo de tirosina e, em seu estado fosforilado, pode então interagir com outras moléculas efetoras. Quando o STI571 ocupa o receptáculo da quinase (painel direito), a ação do ATP é inibida e o substrato não pode ser fosforilado.. Extraído de (47).

7.3.4.1.1 *Farmacocinética do Imatinib*

O Imatinibe se liga às proteínas plasmáticas a uma taxa de 95%, principalmente à albumina e α 1- glicoproteína ácida. Seu metabolismo é hepático predominantemente através dos sistemas de isoenzimas CYP3A4 e CYP3A5. A excreção é predominantemente fecal tendo uma recuperação de 68% da dose através das fezes e 13% da urina (48).

O imatinibe tem uma farmacocinética favorável à administração crônica que incluem boa biodisponibilidade oral e meia vida de eliminação de 18 horas, fatores que

permitem administração em dose única diária. Ao alcançar o estado de equilíbrio (*stead state*), o que ocorre aproximadamente 28 dias após a primeira dose, as concentrações atingem a máxima de cerca de $2.6 \pm 0.8 \mu\text{g/mL}$ e a concentração mínima de $1.2 \pm 0.8 \mu\text{g/mL}$, o que excede o valor de $0.5 \mu\text{g/mL}$ que é a concentração de inibição da tirosina quinase *in vitro*. Essas características colaboram para o alcance de resposta hematológica rapidamente, independentemente do valor inicial de contagem de células (48).

Os valores de parâmetros farmacocinéticos sumarizados encontram-se na Tabela 6 a seguir, com valores para o primeiro dia de administração e ao dia 28, quando a concentração do fármaco já se encontra no estado de equilíbrio.

Tabela 6 – Parâmetros farmacocinéticos do imatinib 400 mg em pacientes com LMC na primeira dose (dia 1) e em *stead state* (a partir do dia 28)*. Extraído de (48)

Parâmetro	Dia 1	<i>Stead State</i> (dia 28)
C _{max} (ng/mL)	1907.5 ± 355.0	2596.0 ± 786.7
t _{max} (h)	3.1 ± 2.0	3.3 ± 1.1
AUC _{24h} (μg•h/mL)	24.8 ± 7.4	40.1 ± 15.7
AUC _{0-∞} (μg•h/mL)	38.8 ± 15.9	81.9 ± 45.0
t _{1/2} (h)	14.8 ± 5.8	19.3 ± 4.4
C _{L/F} (L/h)	12.5 ± 7.2	11.2 ± 4.0
V _{Z/F} (L)	236.0 ± 76.5	295.0 ± 62.5
C _{min} (ng/mL)	Não aplicável	1215.8 ± 750.2

* valores expressos em média ± desvio padrão

AUC_{24h}: área sob a curva de concentração plasmática de 0 a 24h.

AUC_{0-∞}: AUC do tempo 0 ao infinito

CL/F: depuração total aparente da droga após administração oral

C_{max}: concentração plasmática máxima

t_{1/2}: meia vida de eliminação

t_{max}: tempo para alcance da C_{max}

V_{Z/F}: volume aparente de distribuição durante a fase terminal, após administração oral

C_{min}: Concentração de vale, concentração mínima atingida em dose múltipla

7.3.4.2 Segunda geração de ITQ

O Mesilato de imatinibe mostra-se efetivo na maioria dos casos de LMC em fase crônica, porém, observa-se casos de resistência ou intolerância que podem ocorrer sobretudo devido a mutações no sítio BCR-ABL1. Esses casos são mais comuns em fase crônica inicial, atingindo de 10% a 20% em dois anos em pacientes que apresentaram falha ao interferon, 40% a 50% dos casos em fase acelerada, e de 70% a 80% em pacientes em crise blástica ou leucemia linfóide aguda (LLA) (49).

O termo “resistência” ao imatinibe não é completamente claro ou uniformemente definido nos estudos clínicos. De maneira geral define-se “resistência primária” àquela situação em que ocorre falha da resposta ou de um nível de resposta específico, em determinado momento pontualmente, e “resistência secundária” àquela que surge como perda de resposta ou progressão da doença ao longo do tratamento (50), definições que estão de acordo com o National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Guidelines (51).

Embora as propriedades farmacocinéticas do imatinibe sejam favoráveis, foram descritos casos de respostas sub ótimas segundo o European LeukemiaNet (52,53) ou até mesmo falha ao tratamento devido variações no limiar plasmático de MI (54,55). O metabolismo de MI ocorre através do sistema citocromo P450, sendo a isoenzima CYP3A4 responsável por quase todo o metabolismo. O principal metabólito é o *N*-desmetil-imatinib, ou CGP74588, que apresenta as mesmas propriedades biológicas e alcança cerca de 20% dos níveis plasmáticos de MI.

A incidência de resistência ao tratamento de primeira linha é de aproximadamente 20% a 50%, (49) e esse potencial de desenvolvimento de resistência levou ao desenvolvimento de novas drogas, a segunda geração de ITQ, sendo os dois primeiros fármacos registrados: o nilotinibe, análogo do imatinibe, e o dasatinibe, de estrutura química diferente. Ambos apresentam vantagens sobre o imatinibe nos casos de resistência, sobretudo devido a mutações no gene BCR-ABL, ou intolerância ao imatinibe. Ambos foram aprovados como primeira linha pelo Food and Drug Administration (FDA) em 2010 baseado em estudos clínicos fase III (49,56).

7.3.4.2.1 *Dasatinibe*

Dasatinibe, [N-(2-chloro-6-methylphenyl)-2-(6-(4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl)-2-methylpyrimidin-4-ylamino)thiazole-5-carboxamide, Figura 5 abaixo, é um derivado da piperazinila que possui potente ação inibitória de quinases Src e ABL, incluindo BCR-ABL, e a maioria das formas mutadas, com exceção à mutação T315I. Desenvolvido pela Bristol-Myers Squibb Company sob o nome de Sprycel® (nome interno BMS-354825) (57) é um forte inibidor da enzima tirosino quinase mostrando uma potência muito maior que o imatinibe (58).

Figura 5. Fórmula Estrutural e Empírica do Dasatinibe

O dasatinibe é um inibidor de múltiplos alvos, sendo capaz de inibir a tirosina quinase BCR-ABL, dentre várias outras quinases (59). Entretanto, o dasatinibe, diferentemente do imatinibe, inibe as formas ativas e inativas da molécula BCR-ABL, o que pode estar associado a outros efeitos colaterais e adversos (60,61).

Esta droga está indicada para o tratamento de adultos com LMC em fase crônica, acelerada ou blástica, que apresentaram resistência ou intolerância à terapêutica prévia, incluindo o imatinibe, ou que apresentaram ainda a proliferação de células do tipo selvagem BCR-ABL. Estudos sugerem que o dasatinibe está associado com alto nível de eficácia e durabilidade em pacientes em fase crônica e acelerada (59,61). O dasatinibe é indicado também no tratamento de doentes adultos com leucemia linfoblástica aguda (LLA) positiva para o Ph⁺ e com LMC linfoblástica, com resistência ou intolerância à terapêutica prévia (59).

7.3.4.2.2 *Nilotinibe*

O nilotinibe, Figura 6, 4-methyl-N-[3-(4-methyl-1H-imidazol)-5-(trifluoromethyl)phenyl] -3-(3-pyridinyl)-2pyridinyl]amino] benzamide, hydrochloride, (AMN-107, Tasisa®, marca registrada pela Novartis) é uma aminopiridina, análoga ao imatinibe (37,62), porém com seletividade e a afinidade de ligação contra a quinase ABL notadamente maior quando comparada ao imatinibe (37,62). A ação do nilotinibe apresenta-se mais potente que a do imatinibe, e funciona como um inibidor de BCR-ABL imatinibe-resistente, mas, assim como o dasatinibe, não inibe o domínio de mutação T315I do gene BCR-ABL (59). *In vitro* é um potente inibidor de fosforilização de BCR-ABL, tendo sido projetado para se ligar fortemente a proteína BCR-ABL, aumentando assim sua eficácia (37,62,63). Esse fármaco tem apresentado respostas adequadas em pacientes que estão em tratamento das fases crônica e acelerada da LMC e que são resistentes ou intolerantes ao tratamento com imatinibe (61).

Figura 6. Fórmula Estrutural e Empírica do Nilotinibe

7.3.5 Monitoramento terapêutico

O monitoramento terapêutico, também chamado de monitorização terapêutica de uma droga refere-se a prática clínica de dosar fármacos específicos em momentos de coleta apropriados, com o principal objetivo de manter a concentração adequada do fármaco na corrente sanguínea do paciente, otimizando assim os regimes de dosagem individuais. Normalmente não é necessário empregar o monitoramento terapêutico para a maioria dos medicamentos, sendo usado principalmente para monitorar drogas com faixas terapêuticas estreitas, drogas com marcada variabilidade farmacocinética, medicamentos para os quais as concentrações alvo são difíceis de se ajustar e medicamentos conhecidos por causar efeitos adversos. O processo de monitoramento baseia-se no pressuposto de que existe uma relação definível entre a dose e a concentração do fármaco no plasma ou no sangue e entre a concentração e os efeitos terapêuticos. O monitoramento pode ser iniciado quando o fármaco é prescrito pela primeira vez envolvendo a determinação de um regime de dosagem inicial apropriado para a condição clínica e características do paciente tais como idade, peso, função do órgão e terapia medicamentosa concomitante. O objetivo do monitoramento é, então, administrar ao paciente concentrações apropriadas de medicamentos para otimizar os resultados clínicos em pacientes em diversas situações. O monitoramento pode também indicar em certos casos a adesão ao tratamento por parte do paciente, sobretudo nas terapias em que a falha na frequência correta de administração interfere de maneira notável nas concentrações sanguíneas (64,65).

7.3.6 Monitoramento terapêutico de Mesilato de imatinib

No tratamento com imatinib, tanto os dados pré-clínicos como clínicos mostram de maneira consistente uma relação entre a concentração e o efeito terapêutico. Dados *in vitro* mostram que as células que expressam BCR-ABL poderiam ser resgatadas da morte celular apoptótica se o imatinibe fosse retirado das células em até 16 horas da exposição inicial. Em um modelo animal, La Coutre *et. al.* (66) descobriram que a exposição contínua era crítica para o tratamento de camundongos *nude* portadores de tumores BCR-ABL. A administração de imatinibe três vezes ao dia curou 87% a 100% dos camundongos tratados, enquanto uma ou duas vezes ao dia a administração não o fez. Além disso, a resposta foi associada a um nível de concentração em torno de 1 $\mu\text{mol} / \text{L}$, o que é consistente com o concentração *in vitro* que resultou na morte de linhagens celulares de expressão BCR-ABL (54).

Diversos estudos têm sugerido que o tratamento com imatinib pode ser otimizado com o monitoramento dos níveis sanguíneos. Esses resultados têm sido obtidos através do monitoramento dos níveis sanguíneos de imatinibe e sua comparação com os indicadores da resposta ao imatinibe, como Resposta Hematológica (RH), Resposta Citogenética (RC) e Resposta Molecular (RM) BCR-ABL/BCR1 (54,55,67–74).

Como evidências das vantagens da diminuição da dose, destaca-se a redução da ocorrência de efeitos adversos, demonstrado pelo estudo de fase III denominado TOPS (acrônimo para *Tyrosine Kinase Inhibitor Optimization and Selectivity*), que comparou doses de 400 mg/dia com 800 mg/dia. Esse estudo mostrou que tanto a Resposta

Molecular Maior (RMM) como a Resposta Citogenética Completa (RCC) ocorreu mais rapidamente no grupo de pacientes que recebeu doses de 800 mg/dia, apesar das respostas se apresentarem equivalentes ao final do período de um ano (71,74).

Dessa forma, há evidências de que a avaliação da relação entre a dose de imatinibe - e seus níveis sanguíneos, e a eficácia do tratamento, medidas através da RCC e RMM, seja uma forma de realizar o ajuste da dose reduzindo efeitos colaterais e custo do tratamento, uma vez que pode-se evitar a mudança do medicamento para os de segunda linha como dasatinibe e nilotinibe, mais caros que o imatinib. Trabalhos publicados anteriormente (23,24) mostraram que, no estado de equilíbrio (*steady state*) os níveis mínimos de imatinibe são relativamente estáveis ao longo do tempo e proporcionais à dose administrada, e que pacientes nos quais a concentração plasmática estava acima de 1,165 µg/mL no final do primeiro mês de tratamento, alcançaram mais rapidamente a RMM e RCC ao final de um ano de avaliação (71).

7.3.6.1 Farmacoeconomia: tratamento da LMC

Os inibidores de tirosina quinase BCR-ABL (ITQ) tornaram-se a classe de terapias-alvo mais bem-sucedida já desenvolvida para o câncer, superando todas as expectativas de sobrevivência projetadas quando de sua introdução na terapêutica. Com a terapia ITQ a mortalidade anual por todas as causas na LMC diminuiu para 2%, contra uma taxa histórica de 10% a 20%, e a sobrevida estimada em 10 anos aumentou de menos que 20% para mais de 90%, como pode-se observar na Figura 7, (75,76). Atualmente pacientes com LMC podem ter uma expectativa de vida normal, isto é,

comparável à média da população, desde que recebam os ITQ apropriados e adiram ao tratamento. A doença LMC tornou-se muito diferente dos cânceres sólidos, e mais semelhante a distúrbios crônicos como diabetes, hipertensão e doenças cardiovasculares, em que a terapia diária é necessária indefinidamente para produzir o benefício esperado da sobrevida a longo prazo. Mas essa situação tem um alto custo, sobretudo devido à necessidade de tratamento medicamentoso por toda a vida (77), situação que na maioria dos casos é custeada pelo governo ou por operadoras de saúde.

Figura 7. Sobrevivência de pacientes com LMC ao longo do tempo (1993-2013), comparando cada uma das eras de tratamento: antes de 1982, de 1983 a 1990, de 1991 a 1995, de 1996 a 2000, de 2001 a 2014 (today). Extraído de (75)

Os preços dos medicamentos contra o câncer variam amplamente em regiões geográficas diferentes, e como apresentado na Tabela 7, com os ITQ ocorre o mesmo. Isso apoia a noção de que os preços dos medicamentos refletem uma dinâmica

socioeconômica não relacionada necessariamente ao custo do desenvolvimento das drogas. No EUA, os preços representam o extremo dos altos preços, um reflexo de uma economia de mercado baseada na “noção de que não se pode atribuir um preço a uma vida”, bem como a uma possível falha do governo e das seguradoras em negociar preços de produtos contra o câncer, ou outros produtos farmacêuticos, aproximando os preços aos praticados em outras partes do mundo (78).

Tabela 7 – Preços do tratamento anual com cada um dos inibidores de tirosina quinase utilizados para tratamento da LMC em alguns países. Dados atualizados até 2013, adaptado de (78).

País	Imatinib	Nilotinib	Dasatinib
EUA	92.0	115.5	123.5
Alemanha	54.0	60.0	90.0
Reino Unido	33.5	33.5	48.5
Canadá	46.5	48.0	62.5
Noruega	50.5	61.0	82.5
França	40.0	51.5	71.0
Itália	31.0	43.0	54.0
Coréia do Sul	28.5	26.0	22.0
México	29.0	39.0	49.5
Argentina	52.0	73.5	80.0
Austrália	46.5	53.5	60.0
Japão	43.0	55.0	72.0
China	46.5	75.0	61.5
Rússia	24.0	48.5	56.5
África do Sul	43.0	28.0	54.5

Observa-se ainda com os dados da Tabela 7 que o custo de tratamento com imatinibe é significativamente menor que aquele com os ITQ de segunda geração. De fato, a utilização dos ITQ de segunda geração na maioria dos casos acarreta elevação do custo de tratamento por paciente, além de um potencial aumento de custo para tratamento de eventuais outros efeitos adversos (79,80).

8 OBJETIVOS

8.1 Objetivos primários

Verificar se existe diferença entre a Concentração mínima (Cmin) ou Concentração máxima (Cmax) de imatinibe entre o grupo de pacientes que atingem Resposta Molecular Maior (RMM) do que não atingem, através da correlação entre os níveis séricos de imatinib e alcance de resposta molecular maior em até 12 meses por pacientes com leucemia mielóide crônica na população estudada.

8.2 Objetivos secundários

Verificar se existe correlação entre variáveis antropométricas e alcance resposta molecular maior em até 12 meses em pacientes com leucemia mielóide crônica na população estudada.

Verificar se existe correlação entre a dose administrada e a concentração sérica alcançada.

9 MÉTODOS

O presente estudo iniciou-se após a aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq), do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP/SP, conforme o Parecer Consubstanciado de número 223.527 cuja cópia encontra-se no Anexo 1: Parecer Consubstanciado da CAPPesq.

O referido estudo tem como título:

Monitoramento dos níveis sanguíneos de inibidores de tirosina quinase (ITQ) e resposta ao tratamento em pacientes com Leucemia Mieloide Crônica para caracterização populacional de pacientes e correlação entre os parâmetros avaliados e evolução da doença.

Adotou-se o acrônimo **MITQ** para o projeto, cuja expansão significa: **Monitoramento de Inibidores de Tirosina Quinase.**

Os pacientes foram convidados a participar do estudo, concordando em fornecer, após assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), amostras de sangue para as determinações de níveis séricos de imatinib e análise molecular de BCR-ABL/BCR, além de fornecer informações através de um questionário, tais como idade, gênero, medidas antropométricas, tabagismo, medicação de uso contínuo e respectiva doença crônica relacionada. Também foram anotadas no dia da coleta, o horário da última dose tomada do medicamento, e eventuais doses não tomadas nos últimos 10 dias.

9.1 Coleta de amostras

As amostras de sangue foram obtidas através de punção de veia periférica, cerca de 24 horas após a última dose do medicamento, em duas coletas: primeira coleta imediatamente antes de tomar o medicamento e segunda cerca de 4 horas após a administração do medicamento, momentos esses que representam respectivamente a concentração mínima (C_{min}, ou concentração de vale) e concentração máxima (C_{máx} ou pico de concentração). O sangue foi coletado em tubos Vacutainer® com ativador de coagulação e gel para separação do soro por centrifugação após a coagulação. Para a completa coagulação os tubos foram deixados em repouso por pelo menos 30 minutos antes de serem centrifugados a 1500 x g por 5 minutos, sob refrigeração de 4 °C, obtendo-se então, o soro sobrenadante.

Através desse desenho foram obtidas amostras de 51 pacientes, compreendendo as concentrações mínimas e máximas. Essas amostras foram analisadas através de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (HPLC-MS), conforme os métodos de análise que foram validados e utilizados anteriormente em outros trabalhos do nosso grupo de pesquisa (81,82).

A gestão dos dados de pesquisa foi feita utilizando a solução informatizada RedCap™ (83) institucional do Hospital. Os resultados obtidos foram transcritos e compilados em planilha eletrônica (MS Excel®) para análise posterior. Os testes de normalidade dos dados foi realizado no *software* Statistica® (StatSoft).

9.2 Critérios de exclusão

Os pacientes que não atingem RMM são candidatos à troca do inibidor de tirosina quinase para a segunda linha, dasatinib ou nilotinib, de acordo com o protocolo de tratamento adotado no Brasil (70,84), e são acompanhados em relação aos outros fatores determinantes da doença e tratamento, como resposta citogenética, resposta hematológica, tolerância à terapia e efeitos adversos. Devido a essa sistemática, a quantidade de pacientes que permanece com a medicação de primeira linha e que não atinge RMM é atualmente pequena em relação aos pacientes que atingem RMM com a primeira linha.

O grupo que não atingiu RMM (7 casos) não atendeu aos critérios de elegibilidade para compor os dados para análise estatística, que são, a saber, (i) ter seguimento por pelo menos 12 meses de tratamento, (ii) ter apresentado adesão ao tratamento durante todo o período de avaliação, (iii) ter resultados de RM conclusiva nos tempos requeridos de avaliação (pelo menos ao diagnóstico e com 12 meses de tratamento), (iv) não apresentar eventos hematológicos decorrentes da doença que tenham requerido utilização de outro medicamento para controle de resposta hematológica durante o período estudado, (v) não ter entrado em fase aguda ou crise blástica durante o período estudado.

O objetivo desses critérios de inclusão é o de proteger os resultados estatísticos de viés que pode ser embutido devido a alterações decorrentes de eventos que não se relacionam com as variáveis estudadas, ou que possam reduzir o poder estatístico dos testes. Esses critérios, quando não atendidos, podem causar alterações nas variáveis estudadas que inviabilizam a utilização dos dados. Dessa forma, esses pacientes serão

acompanhados por mais tempo dentro do estudo MITQ caso a situação se normalize e os critérios de inclusão passem a ser atendidos, ou poderão ser excluídos definitivamente, se o desvio for irreversível.

9.3 População estudada

Foram avaliados os dados de 51 pacientes recrutados para o acompanhamento, com diagnóstico de Leucemia Mielóide Crônica, dos quais 33 atingiram Resposta Molecular Maior em até 12 meses de tratamento, 11 levaram mais que 12 meses para atingir, e 7 não atingiram, sendo que esses últimos não puderam ser incluídos nos cálculos devido ao não atendimento dos critérios de elegibilidade até o momento da conclusão deste trabalho.

As principais características antropométricas e médias de resultados das dosagens séricas podem ser verificadas na Tabela 8 abaixo. Os dados antropométricos estão apresentados de forma gráfica nos histogramas da Figura 8, adiante, que trazem o resumo estatístico descritivo das variáveis.

Tabela 8 – Estatística descritiva dos dados populacionais

Variável	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Idade (anos)	53.3	26.0	80.0	14.03
Altura (cm)	166.8	143.0	189.0	23.00
Peso (kg)	80.5	51.0	147.0	19.30
IMC (kg/m ²)	28.6	20.2	50.9	5.897
IM PRE (ng/mL)	1016.8	177.1	2979.8	597.3
D-IM POS (ng/mL)	498.3	78.6	1478.5	258.3
D-IM PRE (ng/mL)	339.4	76.7	1097.7	192.5
IM POS (ng/mL)	1868.0	679.8	4536.3	866.9
DOS (ng/mL)	426.8	80.0	600.0	103.5

Figura 8. Histogramas e resumo estatístico descritivo das variáveis Idade, altura, Peso, Gênero (Sexo), Tabagismo (FUM) e Índice de Massa corpórea (IMC)

9.1 Método Analítico

As amostras de soro obtidas dos pacientes foram analisadas através de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (HPLC-MS), precedida de extração por precipitação de proteínas conforme o método de análise que foi validado e utilizado anteriormente em outro trabalho do grupo (81), descrito adiante.

9.1.1 Validação do Método

A validação do método é a comprovação, através de experimentos planejados, de que o método atinge os pré-requisitos para a aplicação proposta. Foram avaliados os parâmetros de especificidade/seletividade, precisão, exatidão, recuperação e linearidade. Os procedimentos e critérios de avaliação adotados atenderam à Resolução RDC nº 27 de 17 de maio de 2012, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (85) e ao “Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation” da Food and Drug Administration (FDA) (86).

9.1.1.1 Materiais

O material biológico escolhido para o desenvolvimento e validação do método foi o soro humano. Foram utilizados materiais comuns em laboratórios de análises como

água deionizada tipo 1, metanol grau HPLC, ácido fórmico e acetato de amônio grau PA, tubos de polipropileno de 2 mL para centrifugação, pipetas automáticas e ponteiras plásticas descartáveis, vials de vidro borossilicato, com tampas plásticas, para injetor automático. Os equipamentos utilizados foram: Centrifuga Eppendorf R5424, cromatógrafo líquido UFLC-MS, marca Shimadzu composto por: sistema de bombas binárias Prominence, injetor automático, forno de colunas, espectrômetro LCMS2020 (Shimadzu, Japão). Os padrões analíticos de mesilato de imatinibe, seu metabólito CGP74588 e o padrão interno imatinib-D8 foram cedidos pela Novartis (Brasil, SA). Para validação e preparo de curvas de calibração e controles de qualidade, amostras de soro humano isento das drogas foram obtidos de doação voluntária no Hemocentro de São Paulo (São Paulo, Brasil). Foram utilizadas 6 matrizes de indivíduos distintos, sendo quatro normais, uma hiperlipêmica e uma hemolizada.

9.1.1.2 Condições instrumentais.

A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna Phenomenex Luna C18 (50 X 2 mm, 3 μ m) utilizando fase móvel em gradiente de água e metanol, ambos acrescidos dos modificadores acetato de amônio (10 mM) e de ácido fórmico (0,1%). A corrida se inicia com 20 % de metanol por 2 minutos e a partir desse tempo entra em gradiente linear para 100% até o sétimo minuto, se mantendo assim até o décimo minuto, quando volta à condição inicial para reequilibrar. Foi utilizada uma interface de ionização à pressão atmosférica no modo ESI (electrospray) positivo para o Espectrômetro de Massas. O parâmetro de detecção utilizado foi a coincidência dos

tempos de retenção (5.8 min) com os íons monitorados em modo Single Ion Monitoring (SIM), com as relações m/z 494, 480 e 502 respectivamente para o imatinib, metabólito CGP74588, e para o padrão interno deuterado imatinib-D8.

9.1.1.3 Preparo das soluções

Todas as soluções foram acondicionadas em tubos de polipropileno, devidamente identificados e estocados à 8 oC. As soluções primárias de imatinib, de seu metabólito e do padrão interno foram preparados em 1mL de metanol 100% (grau HPLC) para se obter respectivamente as concentrações 0.50 mg/mL, 0.50 mg/mL e de 0.25 mg/mL. A partir dessas soluções primárias foram preparadas soluções de trabalho, como um mix de imatinibe e do metabólito (CGP74588) na concentração de 200 µg/mL sendo esta a solução precursora para o preparo da curva de calibração e controles de qualidade.

A curva de calibração é constituída de um branco (matriz biológica isenta de padrão do fármaco e do padrão interno), uma amostra zero (matriz biológica processada com padrão interno) oito amostras contendo padrão do fármaco e padrão interno. Todas as amostras desconhecidas permaneceram estocadas à -20oC antes de sua quantificação.

9.1.1.4 Preparo das amostras

O procedimento de extração estabelecido e validado consiste em aliquotar 100 μL de soro correspondentes às amostras branco, zero, calibradores, controles de qualidade (QCA, QCB, QCC) e amostras desconhecidas em tubos de polipropileno de 2,0 mL. Adiciona-se então 50 μL de Padrão Interno (solução de Imatinib-D8, 5,0 $\mu\text{g/mL}$) e 400 μL de metanol gelado às respectivas amostras e em seguida agita-se por 20 s; os tubos são centrifugados por 15 minutos a 16.000 x g e o sobrenadante transferido para vials de vidro e armazenados no injetor automático até o momento de sua análise com a injeção de 2 μL de cada amostra no sistema cromatográfico.

10 RESULTADOS

10.1 Resultados de validação do método analítico

A validação do método foi realizada de forma completa, abrangendo os parâmetros e procedimentos e os limites preconizados pelos guias bioanalíticos (85,86). Foram avaliados os parâmetros de especificidade/seletividade, precisão, exatidão, recuperação em três níveis de concentração: QCA 1.50 ug/mL, QCB 4.50 ug/mL e QCC 8.10 ug/mL, e linearidade com amostras de padrões nas concentrações de 0.500, 1.00, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00, 10.0 ug/mL.

10.1.1 Seletividade.

A seletividade define a capacidade que o método possui para identificar um composto na presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz. Para a validação foram investigadas a ocorrência de carry-over no sistema cromatográfico, cross-talk no espectrômetro e interferentes na resposta de amostra de matriz utilizada como branco. Para a avaliação de carry-over foi injetado um padrão com a maior concentração seguido de uma amostra branco em solvente. Para os testes de cross-talk foram injetados os analitos e o padrão interno individualmente. Para verificar interferências na amostra de branco, foi realizado o

procedimento de extração de uma amostra livre dos analitos e do padrão interno e analisada conforme as condições cromatográficas propostas pelo método, onde os resultados foram comparados com aqueles obtidos com uma amostra do analito, em concentração próxima ao LIQ (limite inferior de quantificação) preparada em solvente. Não foram observadas interferências significativas (maiores que 20% do LIQ) que pudessem afetar a correta quantificação.

10.1.2 Precisão

A precisão corresponde à concordância entre os resultados obtidos por aplicação do mesmo método de ensaio, repetidas vezes, e em condições definidas. Para a validação do método foram realizados os testes de precisão intracorrida e inter-corridas (precisão intermediária). A precisão foi expressa como desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%), não se admitindo valores superiores a 15%, exceto para o LLOQ, para o qual se admite valores menores ou iguais a 20%. Os resultados obtidos para o imatinibe foram: DPR de 2.0% para o teste intra-ensaio e de 5.5% para o inter. Para o metabólito (CGP74588) os resultados foram: DPR de 1.6% para o teste intra-ensaio e 6.2% para o inter-ensaio.

10.1.3 Exatidão

A exatidão de um método fornece uma medida da proximidade entre o resultado experimental e o valor nominal da grandeza que está sendo avaliada, devendo ser determinada em uma mesma corrida analítica (exatidão intra-corrida) e em corridas diferentes (exatidão inter-corridas). Os desvios não devem exceder 15%, exceto para o limite de quantificação, para o qual se admite desvios menores ou iguais a 20% . Para o imatinib, os resultados obtidos foram: teste intra-ensaio 102.2% e teste inter-ensaio com 101.1% de exatidão. Os resultados obtidos para o metabólito (CGP74588) foram os seguintes: teste intra-ensaio 108.9% e teste inter-ensaio 104.8% de exatidão.

10.1.4 Recuperação

A eficiência do procedimento de extração de um método analítico e bioanalítico dentro de um limite de variação é medida pela recuperação. Porcentagens de recuperação do analito e do padrão interno próximos a 100% são desejáveis, porém, admite-se valores menores, desde que a recuperação seja precisa e exata. Para a validação do método, a recuperação foi avaliada em diferentes tipos (normal, hemolisado e lipêmico) de soro humano em três níveis de concentração (QCA, QCB e QCC). A recuperação obtida para os diferentes tipos de soro humano e ao longo da faixa de concentração do método foi de aproximadamente 100%.

10.1.5 Linearidade

Foram avaliadas três curvas de calibração preparadas e analisadas independentemente, cujas concentrações obtidas foram calculadas através da correlação da concentração nominal com a razão entre a área do analito e a área do padrão interno (resposta). As curvas obtidas apresentaram coeficientes de determinação maiores que 0.98, e os desvios de cada calibrador em relação ao seu valor nominal não ultrapassaram 20% para o LLOQ ou 15% para as demais concentrações, atendendo plenamente a Resolução RE 899 de 2003 da ANVISA. As curvas de calibração foram preparadas com calibradores em simplicata, e com os extremos em duplicata.

10.1.6 Limites de Detecção e Quantificação

O limite de detecção foi determinado como a concentração capaz de produzir uma resposta na análise instrumental com relação sinal/ruído maior que 3, tendo-se obtido o valor de 0,100 µg/mL. O limite inferior de quantificação de 0,500 µg/mL foi validado em relação à exatidão e precisão conforme descrito nos parágrafos correspondentes a esses testes e apresentou-se com relação sinal/ruído maior que 10, quando comparada com amostras de matriz “branco”.

10.1.7 Estabilidade

De acordo com os procedimentos validados, os padrões e as amostras de imatinibe em soro não apresentaram degradação significativa dentro dos limites adotados no laboratório para temperatura, umidade, tempo e materiais utilizados.

10.2 Análise dos Resultados

Para a análise estatística, os valores obtidos das dosagens de Imatinib e do metabólito desmetil-imatinib foram agrupados em Concentração Mínima (vale) e Concentração Máxima (Cmax). O fator avaliado foi o alcance de RMM, dividido em 2 grupos: alcançado em até 12 meses do início do tratamento, e alcançado em mais de 12 meses do início do tratamento.

Com esse desenho, o objetivo central foi responder à pergunta: “existe diferença entre a Concentração mínima ou Máxima entre os grupos de pacientes que atingem RMM em até 12 meses daqueles que não a atingem nesse prazo?”

10.3 Estatística

Para realizar a inferência acerca da diferença entre os grupos utilizou-se a teoria da decisão realizando-se a avaliação através de teste de hipóteses, comparando os grupos através do **Teste U de Mann-Whitney**, não paramétrico, devido aos grupos serem compostos por números diferentes de casos e não apresentarem ambos distribuição normal dos valores, ou emparelhamento, sendo que a verificação de normalidade foi realizada pelo **Teste de Kolmogorov-Smirnov**. O **Teste U de Mann-Whitney** não paramétrico também mostra robustez em amostragens com número de casos pequenos, inclusive menor que 30 casos.

Em termos de teste de hipóteses, temos que a hipótese nula H_0 corresponde a não existir diferença significativa entre os dois grupos, e a hipótese alternativa H_a corresponde a existir diferença significativa entre os dois grupos. Caso a hipótese nula seja rejeitada, considera-se que existe diferença significativa entre os dois grupos, o que leva a assumir que o alcance de RMM em até 12 meses está relacionado ao atingimento de níveis séricos de IM. Isso ocorre se no Teste U de Mann-Whitney for encontrada uma probabilidade de significância (p-valor) menor que o nível de significância ($p < 0.05$).

A concentração de vale, ou C_{min} foi obtida da quantificação da amostra coletada antes da administração do medicamento, isto é, pré-dose.

Assim, dadas as variáveis independentes:

IMPRE = $\{x \in \mathbb{R} : 25 \leq x \leq 8500\}$, concentração de Imatinib pré-dose.

IMPOS = $\{x \in \mathbb{R} : 25 \leq x \leq 8500\}$, concentração de Imatinib pós-dose.

D-IMPRES = $\{x \in \mathbb{R} : 12.5 \leq x \leq 4250\}$, concentração de desmetil-Imatinib pré-dose.

D-IMPOS = $\{x \in \mathbb{R} : 12.5 \leq x \leq 4250\}$, concentração de desmetil-Imatinib pós-dose.

E a variável dependente:

RMM $\leq$ 12m = $\{0,1\}$, atingimento de Resposta Molecular Maior em até 12 meses, onde 0 = negativo, 1 = positivo

Os testes foram realizados com um nível de significância $\alpha = 0.05$, sendo que:

Rejeita-se a hipótese **H₀** se $p < \alpha$

Onde **p** é a probabilidade de significância calculada no teste.

Hipóteses:

H₀ = hipótese nula: não existe diferença significativa entre o atingimento de Resposta Molecular Maior em até 12 meses com relação à concentração sérica de Imatinib (ou metabólito)

H_a = hipótese alternativa: existe diferença significativa entre o atingimento de Resposta Molecular Maior em até 12 meses com relação à concentração sérica de Imatinib (ou metabólito)

Os dados completos utilizados para os cálculos encontram-se na Tabela 9 adiante. Esses dados foram coletados através de questionário no dia da coleta, e as concentrações obtidas com a dosagem das substâncias no soro dos pacientes.

Tabela 9 – Dados completos do estudo utilizados nos cálculos e testes estatísticos.

Caso	Idade	Altura	Peso	Gênero	Fumante	IMC	RMM ≤ 12m	IM PRE	IM POS	D-IM PRE	D-IM POS
1	64	1.61	60	1	0	23.10	1	851.7930	1092.1790	317.6940	399.7280
2	76			2	0		1	919.9780	1759.0500	427.9460	578.2000
3	59	1.63	76	1	0	28.60	1	674.5020	1553.0980	261.3850	426.4460
4	44	1.75	92	1	0	30.00	1	1252.5140	2855.8370	436.2660	784.6320
5	34	1.77	80	1	0	25.50	1	698.2740	1290.1650	260.6860	380.2130
6	68	1.80	89	1	0	27.50	0	849.8890	1073.0380	136.8320	181.5330
7	32	1.82	78	1	0	23.50	1	1467.2300	2208.6360	407.7930	596.9040
8	44	1.69	75	2	1	26.30	1	373.9060	1289.9360	202.1370	434.8220
9	30	1.63	55	2	0	20.70	1	654.2040	1205.2760	193.7370	310.6540
10	58	1.77	79.6	1	0	25.40	1	766.9090	1795.8590	354.5440	541.0610
11	68	1.43		2	0		1	2476.7470	3147.2800	592.4390	771.9800
12	46	1.68	96	2	0	34.00	1	536.4240	1901.9000	148.8990	314.7730
13	70	1.66	60.2	1	0	21.80	0	610.9920	738.6050	217.3370	222.1710
14	49	1.48	54.9	2	0	25.10	1	1628.4420	2672.4700	461.5790	705.7980
15	47	1.73	75	1	0	25.10	0	563.6820	1466.2440	131.7810	325.9770
16	39	1.60	77	2	0	30.10	1	1962.3370	3810.0210	397.5000	644.9130
17	67	1.67	84	1	1	30.10	1	840.2550	1595.6200	266.6270	401.4670
18	66	1.76	92	1	0	29.70	1	1869.9970	3269.1660	466.1990	811.3330
19	66	1.60	64	2	0	25.00	1	1054.0120	1586.5260	330.6350	508.4140
20	46	1.65	75	1	0	27.50	0		1383.2040		380.3040
21	35	1.74	77	1	0	25.40	0	980.7820	1545.7410	240.4340	330.4310
22	69	1.60	86	1	0	33.60	0	449.1710	1587.2320	360.7370	787.4880
23	49	1.80	133	1	0	41.00	0	613.0650	1396.1280	200.2760	409.5010
24	69	1.63	82	2	0	30.90	1	1185.6880	2193.5220	714.6880	937.6950
25	46	1.67	90	1	0	32.30	0	2229.0100	3423.1710	711.3130	1021.1160
26	49	1.48	77	2	0	35.20	1	741.6640	1856.0670	221.0580	460.8340
27	33	1.59	51	2	0	20.20	0	360.4790	679.8070	76.6910	78.5840
28	68	1.70	81	1	0	28.00	1	1125.6570	2248.3830	305.2300	532.6730
29	62	1.67	75.2	2	0	27.00	1	439.2960	1002.3730	203.8480	366.7910
30	73	1.56	53	2	0	21.80	1	1291.7790	2325.9290	651.6680	383.4780
31	41	1.80	86	1	0	26.50	1	177.1340	867.5210	167.3680	379.2990

continua

continuação

# Caso	Idade	Altura (m)	Peso (kg)	Gênero	Fumante	IMC (kg/m²)	RMM ≤ 12m	IM PRE	IM POS	D-IM PRE	D-IM POS
32	71	1.74	85	1	0	28.10	1	1010.3810		289.7310	
33	26	1.60	60	2	0	23.40	1	858.3160	1247.6310	306.4980	338.2060
34	43	1.70	147	1	0	50.90	1	1259.1410	1972.0980	349.8600	374.1690
35	80	1.59	65	1	0	25.70	1		1721.3610		372.5470
36	53	1.61	99	2	0	38.20	0	782.1780	1737.5900	324.5780	562.2250
37	55	1.76	76	1	0	24.50	1	1124.3490	1992.9230	349.9950	432.8010
38	34		85.2	1	0		1	1023.2470	1986.8610	310.6340	566.2970
39	62	1.73	112	1	0	37.40	1	813.1930	1640.1350	308.1340	201.8110
40	45	1.67	71	2	0	25.50	1	2979.8070	4536.3040	1097.6730	1478.4560
41	60	1.56	64	2	0	26.30	1	572.2350	1061.3310	200.5180	291.1190
42	54	1.74	95	2	0	31.40	1	729.7170	1271.8270	231.0510	287.9720
43	49	1.48	68	2	0	31.00	1	1573.3620	3372.7810	472.6900	792.1450
44	48	1.89	99	1	1	27.70	0	332.6740	962.8260	146.3810	318.7840

Gênero: 1=masculino, 2=feminino. Fumante: 0=não, 1=sim. IMC: índice de massa corpórea. RMM ≤ 12m: alcance de resposta molecular maior em até 12 meses, sendo 0=não, 1=sim. IM PRE: Concentração de Imatinibe pré-dose. IM PÓS: Concentração de Imatinibe pós-dose.. D-IM PRE: Concentração de Desmetil-imatinibe pré-dose.D- IM PÓS: Concentração de Desmetil-imatinibe pós-dose

Aplicando-se o **Teste U de Mann-Whitney** às variáveis conforme descrito anteriormente, obteve-se a rejeição da hipótese nula H_0 para as concentrações séricas de Imatinib pré e pós-dose, e para as do metabólito pré-dose, conforme observa-se na Tabela 10 adiante, uma vez que o *p-valor* para essas variáveis apresentou-se menor que o nível de significância ($\alpha=0.05$).

Pode-se visualizar graficamente a distribuição dos resultados através dos gráficos tipo Boxplot nas figuras: Figura 10 (imatinib pré-dose), Figura 11 (imatinib pós-dose), Figura 12 (desmetil-imatinib pré-dose), e Figura 13 (desmetil-imatinib pós-dose) a seguir. Nota-se visualmente pelos gráficos que há diferença entre as concentração alcançadas em cada grupo, tanto pelos valores medianos como pelo perfil de distribuição desses valores.

Com esses resultados, aceita-se que as concentrações séricas de Imatinib pré e pós dose, e do metabólito desmetil-imatinib pré-dose estão relacionadas ao atingimento da RMM na população estudada. Essas informações podem ser visualizadas de forma resumida e conclusiva na Tabela 11 adiante.

Os dados de distribuição dos valores das variáveis de concentração sérica obtidas podem ser visualizadas graficamente e numericamente na Figura 9. Nota-se que as médias e medianas de cada concentração são os valores assumidos para a comparação populacional, e são utilizados nas conclusões.

Tabela 10 – Resultado tabular do Teste U de Mann-Whitney comparando as variáveis de concentração sérica com a variável RMM≤12m. Para p<0.05.

	Rank Sum Grupo 1	Rank Sum Grupo 2	U	Z	p-valor Grupo 1	Z	p-valor Grupo 1r	N válido Grupo 1	N válido Grupo 2	2x p-exato unicaudal
IM PRE	144.0000	759.0000	89.0000	-2.08195	0.037348	-2.08195	0.037348	10	32	0.035864
IM POS	161.0000	785.0000	95.0000	-2.24073	0.025044	-2.24073	0.025044	11	32	0.023470
D-IM PRE	140.0000	763.0000	85.0000	-2.20008	0.027802	-2.20008	0.027802	10	32	0.026119
D-IM POS	187.0000	759.0000	121.0000	-1.51701	0.129264	-1.51701	0.129264	11	32	0.130670

Tabela 11 – Resumo das conclusões da avaliação estatística dos dados comparando as variáveis de concentração sérica com a variável RMM≤12m.

Concentração sérica	Relaciona-se ao atingimento de RMM em até 12 meses	Probabilidade de significância calculada ($\alpha=0.05$)
Imatinib Pré-dose	SIM	0.037348
Imatinib Pós-dose	SIM	0.025044
Metabólito pré-dose	SIM	0.027802
Metabólito pós-dose	NÃO	0.129264

Figura 9. Histogramas e resumo estatístico descritivo das variáveis concentração: imatinib pré-dose (IM PRE), imatinib pós-dose (IM POS), desmetil-imatinib pré-dose (DIM PRE), desmetil-imatinib pós-dose (DIM POS)

Figura 10. Boxplot dos valores de concentração sérica de Imatinib pré-dose (IM PRE) em ng/mL para os grupos RMM>12m(0) e RMM≤12m(1). A linha tracejada indica a concentração mediana no grupo que atingiu RMM em até 12 meses. $p<0.05$

Figura 11. Boxplot dos valores de concentração sérica de Imatinib pós-dose (IM POS) em ng/mL para os grupos RMM>12m(0) e RMM≤12m(1). A linha tracejada indica a concentração mediana no grupo que atingiu RMM em até 12 meses. $p<0.05$

Figura 12. Boxplot dos valores de concentração sérica de desmetil-Imatinib pré-dose (D-IM PRE) em ng/mL para os grupos RMM>12m(0) e RMM≤12m(1). A linha tracejada indica a concentração mediana no grupo que atingiu RMM em até 12 meses. $p<0.05$

Figura 13. Boxplot dos valores de concentração sérica de desmetil-Imatinib pós-dose (D-IM POS) em ng/mL para os grupos RMM>12m(0) e RMM≤12m(1). A linha tracejada indica a concentração mediana no grupo que atingiu RMM em até 12 meses. $p < 0.05$

10.4 Outros resultados obtidos dos dados colhidos

Assim como foi avaliada a relação entre concentração sérica e atingimento de RMM em até 12 meses, outros dados obtidos foram comparados na tentativa de se verificar alguma correlação entre as variáveis. Foram realizados testes de comparação/correlação entre as variáveis, duas a duas.

Partindo da premissa que as variáveis não assumem todas, ou pelo menos uma de cada par testado não assume, distribuição normal, utilizou-se métodos de correlação não paramétricos, que suportassem ainda variáveis contínuas, variáveis discretas, ou até mesmo variáveis ordinais. Como os dados tinham essas características, foram realizados

três testes: Correlação de Postos de Spearman (em inglês *Spearman Rank Order Correlations*), Correlação Gamma (*Gamma Correlations*) e correlação Kendall-Tau (*Kendall Tau Correlations*), que têm efeito semelhante à correlação de Pearson, porém com liberdade de formato de dados ou distribuição das variáveis.

É importante ressaltar que esses achados não necessariamente têm algum significado biológico claro ou indicam uma relação relevante, ou ainda, podem representar uma conclusão óbvia, apesar do teste. Porém, são informações interessantes de serem acompanhadas ao longo da pesquisa, até que se atinja um número de casos suficientemente grande para que se possa eventualmente generalizar algum desses achados, ou até que surjam novas correlações. Outro motivo para o acompanhamento, é a atenção dada na prática clínica do ambulatório aos pacientes que não apresentam resposta, ou têm elevada incidência de efeitos adversos, casos em que toda informação obtida pode auxiliar na elucidação do desvio observado. Devido a esse acompanhamento constante, os resultados estão apresentados neste trabalho apenas como informação adicional.

10.4.1 Relação entre Dose e Níveis séricos

A variável independente Dose (DOS) e as dependentes de concentração sérica foram comparadas e obteve-se correlação consistente entre a dose administrada e o nível sérico pré-dose. A correlação entre a dose administrada e o nível sérico pós-dose apresentou forte correlação nos testes, exceto para *Spearman*, Tabela 12, cujo *p-valor* apresentou-se acima, mas com valor limítrofe, fato que pode se reverter ou se consolidar com o aumento de casos estudados.

Por outro lado, a correlação entre a dose administrada e as concentrações do metabólito não apresentaram correlação consistente, o que pode indicar que existem

outras variáveis exercendo influência na concentração do metabólito, além apenas da dose administrada. Esse dado também está de acordo com o previsto uma vez que já fora reportada elevada variabilidade nas concentrações do metabólito em outros estudos (34,71).

Tabela 12 – Resultados do teste de Correlação de Spearman na comparação da dose administrada com os níveis séricos de Imatinib e metabólito, com $p < 0.050$.

Par de Variáveis	N válido	Spearman R	t(N-2)	p-valor	Interpretação: Há correlação: SIM ou NÃO
DOS & IM PRE	42	0.326447	2.184299	0.034862	SIM
DOS & IM POS	43	0.288179	1.926992	0.060930	NÃO
DOS & D-IM PRE	42	0.180774	1.162467	0.251935	NÃO
DOS & D-IM POS	43	0.243735	1.609199	0.115247	NÃO

DOS: dose. Concentrações: IMPRE: Imatinib pré-dose; IMPOS: Imatinib pós-dose; D-IMPRE: Desmetil-Imatinib pré-dose; D-IMPOS: Desmetil-Imatinib pós-dose

Tabela 13 – Resultados do teste de Correlação Gamma na comparação da dose administrada com os níveis séricos de Imatinib e metabólito, com $p < 0.050$.

Par de Variáveis	N válido	Gamma	Z	p-valor	Interpretação: Há correlação: SIM ou NÃO
DOS & IM PRE	42	0.391781	2.380213	0.017303	SIM
DOS & IM POS	43	0.319347	2.080140	0.037513	SIM
DOS & D-IM PRE	42	0.221918	1.348233	0.177584	NÃO
DOS & D-IM POS	43	0.282051	1.837204	0.066180	NÃO

DOS: dose. Concentrações: IMPRE: Imatinib pré-dose; IMPOS: Imatinib pós-dose; D-IMPRE: Desmetil-Imatinib pré-dose; D-IMPOS: Desmetil-Imatinib pós-dose

Tabela 14 – Resultados do teste de Correlação de Kendall-Tau na comparação da dose administrada com os níveis séricos de Imatinib e metabólito, com $p < 0.050$.

Par de Variáveis	N válido	Kendall- Tau	Z	p-valor	Interpretação: Há correlação: SIM ou NÃO
DOS & IM PRE	42	0.255087	2.380213	0.017303	SIM
DOS & IM POS	43	0.220114	2.080140	0.037513	SIM
DOS & D-IM PRE	42	0.144490	1.348233	0.177584	NÃO
DOS & D-IM POS	43	0.194407	1.837204	0.066180	NÃO

O p-exato uni-caudal não pôde ser calculado. DOS: dose. Concentrações: IMPRE: Imatinib pré-dose; IMPOS: Imatinib pós-dose; D-IMPRE: Desmetil-Imatinib pré-dose; D-IMPOS: Desmetil-Imatinib pós-dose

10.4.2 Relação entre IMC e Níveis séricos

Os dados antropométricos foram comparados com os resultados das análises em busca de possíveis correlações, utilizando-se o índice de massa corpórea (IMC) obtido da divisão do peso pelo quadrado da altura do indivíduo, porém não foi encontrada correlação consistente entre o IMC e as concentrações séricas como podemos verificar nas Tabela 15, Tabela 16 e Tabela 17 a seguir.

Tabela 15 – Resultados do teste de Correlação de Spearman na comparação do IMC e do Peso corpóreo com os níveis séricos de Imatinib e metabólito, com $p < 0.050$.

Par de Variáveis	N válido	Spearman R	t(N-2)	p-valor	Interpretação: Há correlação: SIM ou NÃO
IMC & IM PRE	39	0.058824	0.358430	0.722058	NÃO
IMC & IM POS	40	0.320462	2.085442	0.043797	SIM
IMC & D-IM PRE	39	0.120684	0.739500	0.464270	NÃO
IMC & D-IM POS	40	0.245953	1.564207	0.126060	NÃO
Peso & IM PRE	40	-0.030691	-0.189283	0.850879	NÃO
Peso & IM POS	41	0.168308	1.066296	0.292847	NÃO
Peso & D-IM PRE	40	-0.020461	-0.126156	0.900274	NÃO
Peso & D-IM POS	41	0.099538	0.624718	0.535795	NÃO

IMC: Índice de Massa Corpórea. Concentrações: IMPRE: Imatinib pré-dose; IMPOS: Imatinib pós-dose; D-IMPRE: Desmetil-Imatinib pré-dose; D-IMPOS: Desmetil-Imatinib pós-dose

Tabela 16 – Resultados do teste de Correlação Gamma na comparação na comparação do IMC e do Peso corpóreo com os níveis séricos de Imatinib e metabólito, com $p < 0.050$.

Par de Variáveis	N válido	Gamma	Z	p-valor	Interpretação: Há correlação: SIM ou NÃO
IMC & IM PRE	39	0.050340	0.449407	0.653138	NÃO
IMC & IM POS	40	0.213454	1.931105	0.053470	NÃO
IMC & D-IM PRE	39	0.085714	0.765207	0.444148	NÃO
IMC & D-IM POS	40	0.177232	1.603403	0.108846	NÃO
Peso & IM PRE	40	-0.007792	-0.070359	0.943908	NÃO
Peso & IM POS	41	0.121287	1.108874	0.267485	NÃO
Peso & D-IM PRE	40	0.007792	0.070359	0.943908	NÃO
Peso & D-IM POS	41	0.091584	0.837313	0.402417	NÃO

IMC: Índice de Massa Corpórea. Concentrações: IMPRE: Imatinib pré-dose; IMPOS: Imatinib pós-dose; D-IMPRE: Desmetil-Imatinib pré-dose; D-IMPOS: Desmetil-Imatinib pós-dose

Tabela 17 – Resultados do teste de Correlação de Kendall-Tau na comparação da dose administrada com os níveis séricos de Imatinib e metabólito, com $p < 0.050$.

Par de Variáveis	N válido	Kendall-Tau	Z	p-valor	Interpretação: Há correlação: SIM ou NÃO
IMC & IM PRE	39	0.050136	0.449407	0.653138	NÃO
IMC & IM POS	40	0.212494	1.931105	0.053470	NÃO
IMC & D-IM PRE	39	0.085367	0.765207	0.444148	NÃO
IMC & D-IM POS	40	0.176435	1.603403	0.108846	NÃO
Peso & IM PRE	40	-0.007742	-0.070359	0.943908	NÃO
Peso & IM POS	41	0.120396	1.108874	0.267485	NÃO
Peso & D-IM PRE	40	0.007742	0.070359	0.943908	NÃO
Peso & D-IM POS	41	0.090912	0.837313	0.402417	NÃO

O p-exato uni-caudal não pôde ser calculado. IMC: Índice de Massa Corpórea. Concentrações: IMPRE: Imatinib pré-dose; IMPOS: Imatinib pós-dose; D-IMPRES: Desmetil-Imatinib pré-dose; D-IMPOS: Desmetil-Imatinib pós-dose

11 DISCUSSÃO

Os avanços na terapia e gestão do tratamento de pacientes com Leucemia Mielóide Crônica sofreram profundas mudanças a partir de 2001, com a introdução de uma nova classe terapêutica, os inibidores de tirosina quinase, como alternativa medicamentosa, através do registro do mesilato de imatinib, uma droga alvo-dirigida, resultado de desenvolvimento por desenvolvimento racional de drogas, baseado nos mecanismos moleculares da doença (39,62).

O monitoramento terapêutico é realizado muitas vezes para assegurar faixas de concentração sanguíneas ótimas e/ou seguras, sobretudo nas terapias com drogas de baixo índice terapêutico ou toxicidade elevada. O advento dos inibidores de tirosina quinase e o acompanhamento diagnóstico através da Resposta Molecular mostrou que o monitoramento desses inibidores pode trazer vantagens ao tratamento, seja no atingimento das respostas terapêuticas desejadas, seja na gestão dos efeitos adversos (87).

Já nos primeiros estudos pós comercialização em que foi realizado o monitoramento dos níveis sanguíneos de imatinib, surgiram evidências de que poderia haver relação entre a concentração alcançada pelo fármaco na circulação e a resposta à terapia, porém, com evidências no nível molecular. Esses achados colaboraram para a melhor compreensão dos mecanismos de ação do medicamento, e, sobretudo, subsidiando novas oportunidades para o melhor entendimento nos casos de falha da terapia (34,54,72).

Nessa linha estratégica, sucessivos estudos têm colaborado para a demonstração de que os níveis sanguíneos de imatinibe devem ser monitorados durante o tratamento, principalmente nos primeiros 12 meses, prazo que já se demonstrou ser decisivo para o

sucesso do tratamento a longo prazo (54,55,81).

De acordo com as recomendações do European LeukemiaNet (23), a resposta clínica dos pacientes com CML deve ser avaliada em 3, 6 e 12 meses após o início da terapia com o inibidor. A resposta ótima é definida como um nível de transcrição de BCR-ABL $\leq 10\%$ aos 3 meses, $<1\%$ aos 6 meses (correspondente a uma resposta citogenética completa, RCC) e $\leq 0,1\%$ (correspondente a uma resposta molecular maior, RMM) aos 12 meses ou mais tarde.

Acompanhando a resposta molecular simultaneamente aos níveis sanguíneos de imatinib, notou-se nos diversos estudos abordados que em dada população, a concentração de vale ou Cmin (correspondente a uma coleta pré-dose) era o valor mais relevante quando correlacionado com a RM. Tudo indica que o fato do atingimento da RMM está condicionado à manutenção de um nível sanguíneo mínimo da droga (34,54,55,81,88).

A gestão da dose administrada pelo paciente deve ser feita, portanto, antes da troca pelo inibidor de segunda linha, desde que a condição clínica e tolerância ao tratamento sejam favoráveis (87).

Ainda não se conhece exatamente o mecanismo pelo qual essa correlação é constante em diversas populações, dada à grande variabilidade tanto na resposta molecular como nos níveis séricos observados. Entretanto, o acompanhamento do paciente individualmente permite a descoberta da falha e da possibilidade de correção sem a troca do inibidor, o que pode ser feito apenas com o ajuste da dose, e o resultado pode ser acompanhado pelos exames de rotina do paciente, acrescido da dosagem sanguínea (87).

A manutenção do inibidor com o ajuste de dose traz 3 vantagens principais: em primeiro lugar, evita-se a exposição do indivíduo a uma nova droga, que pode ter efeitos

adversos que não podem ser previstos; em segundo lugar, a mudança de dose dentro da faixa preconizada é geralmente muito segura, sobretudo pelo histórico do próprio paciente e sua tolerância ao tratamento, e na prática clínica observa-se que não há diferenças de efeitos colaterais ou adversos com pequenas mudanças de dose, exceto para os casos de intolerância. Finalmente, tem-se a questão de custo para o governo e seguradoras. A terapia de primeira linha ainda é menos onerosa do que a segunda linha, e a troca para a segunda linha, muitas vezes acarreta efeitos adversos que geram novos custos, sobretudo de tratamentos de custo elevado, devido à maior incidência de efeitos cardiovasculares e derrame pleural com o uso dos inibidores de segunda geração, por exemplo (71,87).

Os inibidores de segunda geração têm atualmente seu lugar muito bem consolidado na terapêutica, já que algumas falhas do tratamento com imatinib são devido a mutações específicas que tornam o paciente não responsivo ao tratamento com esse inibidor. Nesses casos, é clara a necessidade da troca pelo medicamento de segunda linha, uma vez que ele passa a ser a primeira alternativa eficaz para o paciente (50,57,58,78,89).

Por outro lado, quando ocorre resposta sub-ótima, ou o paciente apresenta toxicidades, isto é, efeitos adversos não toleráveis porém com resposta adequada, o ajuste de dose pode ser adotado em alguns casos, sobretudo com base nas concentrações sanguíneas atingidas (87). Essa conduta pode poupar o paciente de novos efeitos adversos que poderia ocorrer com a introdução de um inibidor de segunda geração, e do ponto de vista econômico, tem grande potencial de minimizar o gasto com medicação, visto que o tratamento com ITQ de segunda geração custa cerca de 50% mais caro que o imatinib (79).

Os dados da literatura indicam grande relevância do monitoramento de imatinibe

para ajuste de dose, principalmente na redução de dose em caso de toxicidade, situação em que o paciente pode se beneficiar (87). Parece ser mais comum que a falha da resposta, seja precoce ou tardia, seja devida a fatores alheios à concentração sanguínea de imatinib, e que a adesão ao tratamento depende da ocorrência dos efeitos adversos (50,72,87,90). Dessa forma, pode-se assumir que a redução da dose nos casos de toxicidade são geralmente mais relevantes do que o aumento da dose nos casos de falha, sendo a escolha entre ajuste de dose e troca da medicação dependente também de fatores clínicos em que o médico avalia a relação entre risco/benefício (87).

12 CONCLUSÃO

O trabalho atingiu os objetivos propostos encontrando correlação entre os níveis séricos de imatinib e o atingimento de resposta molecular maior em até 12 meses, correlação essa com significância estatística demonstrada ($p < 0.05$).

Com os resultados obtidos, conclui-se que o monitoramento terapêutico de imatinib, através da quantificação dos seus níveis séricos em pacientes com leucemia mielóide crônica tem grande relevância para a gestão do tratamento, uma vez que permite direcionar o ajuste de dose nos casos de falha da resposta molecular ou não atingimento de resposta molecular maior em 12 meses.

Os resultados, através dos valores médios e medianos, mostraram que a manutenção de níveis séricos de imatinib pré-dose dentro do intervalo de concentração do primeiro e terceiro quartis, isto é, de 613 a 1253 ng/mL (média 1017 ng/mL, mediana 851 ng/mL) se correlacionam diretamente com o atingimento da Resposta Molecular Maior, isto é, razão BCR-ABL1 $\leq 0,1$ % nos pacientes estudados ($p < 0.05$).

Não foram encontradas correlações significativas entre variáveis antropométricas e atingimento de resposta molecular maior em até 12 meses na população estudada, nem correlação consistente entre a dose administrada e a concentração sérica atingida.

13 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M. Chronic myeloid leukaemia. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2007;370(9584):342–50. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673607611659>
2. Bortolheiro TC, Chiattoni CS. Leucemia Mielóide Crônica: história natural e classificação. *Rev Bras Hematol Hemoter* [Internet]. 2008;30(11):3–7. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842008000700003&lng=en&nrm=iso&tlng=pt
3. Gambacorti-Passerini C, le Coutre P, Mologni L, Fanelli M, Bertazzoli C, Marchesi E, et al. Inhibition of the ABL kinase activity blocks the proliferation of BCR/ABL+ leukemic cells and induces apoptosis. *Blood Cells Mol Dis* [Internet]. 1997;23(3):380–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9446752>
4. Deininger MW, Goldman JM, Lydon N, Melo J V. The tyrosine kinase inhibitor CGP57148B selectively inhibits the growth of BCR-ABL-positive cells. *Blood* [Internet]. 1997;90(9):3691–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9345054> <http://www.bloodjournal.org/content/bloodjournal/90/9/3691.full.pdf>
5. van de Merbel N, Savoie N, Yadav M, Ohtsu Y, White J, Riccio MF, et al. Repeat Analysis and Incurred Sample Reanalysis: Recommendation for Best Practices and Harmonization from the Global Bioanalysis Consortium Harmonization Team. *AAPS J* [Internet]. 2014;16(3):392–9. Available from: <http://link.springer.com/10.1208/s12248-014-9573-z>

6. National Cancer Institute. NCI Dictionary of Cancer Terms. National Cancer Institute. [Internet]. U.S. Department of Health and Human Services National Institutes of Health National Cancer Institute USA.gov. 2017 [cited 2017 Dec 14]. Available from: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms>
7. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell [Internet]. 2000;100(1):57–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10647931>
8. National Cancer Institute. What Is Cancer - National Cancer Institute.pdf [Internet]. National Cancer Institute. 2014. Available from: <http://www.cancer.gov/cancertopics/cancerlibrary/what-is-cancer>
9. BRASIL. Brasil. Ministério da Saúde/ Secretaria de Atenção à Saúde/ Departamento de Regulação, Avaliação e Controle/Coordenação Geral de Sistemas de Informação – 2011 MANUAL DE BASES TÉCNICAS DA ONCOLOGIA – SIA/SUS - SISTEMA DE INFORMAÇÕES AMBULATORIAIS. 2011;600(61):3306–8433.
10. Switzerland. Cancer. World Health Organization [Internet]. Webpage. 2017 [cited 2017 Dec 14]. Available from: <http://www.who.int/cancer/en/>
11. Ministério da Saúde. Classificação de Tumores Malignos [Internet]. Uicc. 2004. 254 p. Available from: <http://www1.inca.gov.br/tratamento/tnm/index.asp>
12. Bethesda MD. Leukemia - Cancer Stat Facts.pdf. SEER. 2018. p. 1.
13. nogueira zerbini M claudia, soares F augusto, pereira vellosso E deolinda rodrigues, I. F. Chauffaille M de lourdes, paes R pinto. Classificação da Organização Mundial da Saúde para os tumores dos tecidos hematopoético e linfóide, 4a edição, 2008 - principais modificações introduzidas em relação à 3a

- edição, 2001. Rev Assoc Med Bras [Internet]. 2011;57(1):66–73. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0104423011702962>
14. Smith DL, Burthem J, Whetton AD. Molecular pathogenesis of chronic myeloid leukaemia. *Expert Rev Mol Med*. 2003;5(27):1–27.
 15. Leitner A a, Hochhaus A, Müller MC, A. Leitner A, Hochhaus A, C. Muller M, et al. Current treatment concepts of CML. *Curr Cancer Drug Targets* [Internet]. 2011 Jan 1;11(1):31–43. Available from: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1568-0096&volume=11&issue=1&spage=31>
 16. American Natioanal Cancer Institute 2017. Chronic Myeloid Leukemia - Cancer Stat Facts [Internet]. 2017. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/cmyl.html>
 17. Peggs K, Mackinnon S. Imatinib mesylate--the new gold standard for treatment of chronic myeloid leukemia. *NEnglJ Med*. 2003;348(11):1048–50.
 18. Baccarani M, Dreyling M. Chronic myelogenous leukemia: ESMO Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* [Internet]. 2009;20(Supplement 4):iv105-iv107. Available from: <http://annonc.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/annonc/mdp143>
 19. Agarwal MB. Importance of early and deeper responses to long-term survival in CML patients: Implications of BCR-ABL testing in management of CML in Indian setting. *Indian J Med Paediatr Oncol* [Internet]. 2014;35(1):10–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4080644/>
 20. de Souza C, Pagnano K, Bendit I, Conchon M, Freitas C, Coelho A, et al. Leucemia Mielóide Crônica: Projetos e Diretrizes. In: Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina [Internet]. 2012 [cited 2016 Mar 4]. p.

- 1–28. Available from:
http://www.projetodiretrizes.org.br/diretrizes12/leucemia_mieloide_cronica.pdf
21. Ministério da Saúde (Brasil). Instituto Nacional de Câncer (INCA). Condutas do INCA: Leucemia mielóide crônica. *Rev Bras Cancerol*. 2003;49(1):5–8.
 22. Kristina Gregory N, Hema Sundar O, Gotlib J, Hobbs G, Jagasia M, Kantarjian HM, et al. NCCN Guidelines Version 2.2018 Panel Members Chronic Myeloid Leukemia. 2018 [cited 2017 Dec 3]; Available from:
https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/cml.pdf
 23. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood* [Internet]. 2013;122(6):872–84. Available from:
<http://www.bloodjournal.org/content/122/6/872.abstract>
 24. Hoffman R, Benz EJ, Silberstein LE, Heslop H, Weitz JI, Anastasi J, et al. *Hematology : basic principles and practice*. 2374 p.
 25. Deininger MW. Chronic Myeloid Leukemia: An Historical Perspective. *ASH Educ Progr B* [Internet]. 2008;2008(1):418–418. Available from:
<http://asheducationbook.hematologylibrary.org/content/2008/1/418%5Cnhttp://asheducationbook.hematologylibrary.org/content/2008/1/418.full%5Cnhttp://asheducationbook.hematologylibrary.org/content/2008/1/418.full.pdf%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19>
 26. Hehlmann R, Heimpel H, Hasford J, Kolb H, Pralle H, Hossfeld D, et al. Randomized Comparison of Busulfan and Hydroxyurea in Chronic Myelogenous Leukemia. *Blood*. 1994;84(12):4063–77.
 27. Buchdunger E, Zimmermann J, Mett H, Meyer T, Muller M, Druker BJ, et al. Inhibition of the Abi Protein-Tyrosine Kinase in Vitro and in Vivo by a 2-

- Phenylaminopyrimidine Derivative. *Cancer Res.* 1996;56:100–4.
28. Aljurf MD, Zaidi SZ, El Solh H, Hussain F, Ghavamzadeh A, Mahmoud HK, et al. Special issues related to hematopoietic SCT in the Eastern Mediterranean region and the first regional activity report. *Bone Marrow Transplant* [Internet]. 2009 Jan [cited 2016 Mar 30];43(1):1–12. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3351791&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 29. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Peng B, Buchdunger E, Ford JM, et al. Efficacy and Safety of a Specific Inhibitor of the BCR-ABL Tyrosine Kinase in Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* [Internet]. 2001 Apr 5;344(14):1031–7. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJM200104053441401>
 30. Kantarjian H, Sawyers C, Hochhaus A, Guilhot F, Schiffer C, Gambacorti-Passerini C, et al. Hematologic and Cytogenetic Responses to Imatinib Mesylate in Chronic Myelogenous Leukemia. *N Engl J Med* [Internet]. 2002 Feb 28;346(9):645–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa011573>
 31. O’Brien SG, Guilhot F, Larson R a, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2003;348(11):994–1004.
 32. Plurianual P, Complementar L, Federal D, Complementar L, Padronizado M, Complementar L, et al. Ministério da Saúde. 2013;18–21.
 33. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) | Protocol Development | CTEP [Internet]. [cited 2018 May 25]. Available from: https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm#ctc_50

34. Malhotra H, Sharma P, Bhargava S, Rathore OS, Malhotra B, Kumar M. Correlation of plasma trough levels of imatinib with molecular response in patients with chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* [Internet]. 2014 Nov 22 [cited 2016 Mar 18];55(11):2614–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24446903>
35. Jain P, Kantarjian H, Nazha A, Brien SO, Jabbour E, Romo CG, et al. Early responses predict better outcomes in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia : results with four tyrosine kinase inhibitor modalities. *Blood*. 2013;121(24):4867–74.
36. Jabbour E, Kantarjian H. Early response with dasatinib or imatinib in chronic myeloid leukemia: 3-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood* [Internet]. 2014;123(4):494–500. Available from: <http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/early/2013/12/05/blood-2013-06-511592.short>
37. O'Hare T, Walters DK, Stoffregen EP, Jia T, Manley PW, Mestan J, et al. In vitro activity of Bcr-Abl inhibitors AMN107 and BMS-354825 against clinically relevant imatinib-resistant Abl kinase domain mutants. *Cancer Res*. 2005;65(11):4500–5.
38. Deininger M, Buchdunger E, Druker BJ, Melo J V. The development of imatinib as a therapeutic agent for chronic myeloid leukemia. *Blood* [Internet]. 2005 Apr 1 [cited 2018 May 22];105(7):2640–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9345054>
39. Leslie A. Pray. Gleevec: the Breakthrough in Cancer Treatment [Internet]. *Nature Education* 1(1):37. 2008 [cited 2017 Dec 12]. Available from: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/gleevec-the-breakthrough-in-cancer->

treatment-565

40. Patel BB, He Y a, Li X-M, Frolov A, Vanderveer L, Slater C, et al. Molecular mechanisms of action of imatinib mesylate in human ovarian cancer: a proteomic analysis. *Cancer Genomics Proteomics*. 2008;5:137–49.
41. Marcucci G, Perrotti D, Caligiuri MA. Understanding the Molecular Basis of Imatinib Mesylate Therapy in Chronic Myelogenous Leukemia and the Related Mechanisms of Resistance: Commentary re: A. N. Mohamed et al., The Effect of Imatinib Mesylate on Patients with Philadelphia Chromosome-positive. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2003;9(4):1248–52. Available from: <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/9/4/1248.full>
42. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, Gathmann I, Kantarjian H, Gattermann N, et al. Five-Year Follow-up of Patients Receiving Imatinib for Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* [Internet]. 2006 Dec 7;355(23):2408–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa062867>
43. Hochhaus a, La Rosée P. Imatinib therapy in chronic myelogenous leukemia: strategies to avoid and overcome resistance. *Leukemia*. 2004;18(8):1321–31.
44. Kantarjian HM, Giles F, Quint??s-Cardama A, Cortes J. Important therapeutic targets in chronic myelogenous leukemia. *Clin Cancer Res*. 2007;13(4):1089–97.
45. Nardinelli L, Sanabani SS, Didone A, Ferreira PDB, Serpa M, Novaes MMY, et al. Pretherapeutic expression of the hOCT1 gene predicts a complete molecular response to imatinib mesylate in chronic-phase chronic myeloid leukemia. *Acta Haematol*. 2012;127(4):228–34.
46. White DL, Dang P, Engler J, Frede A, Zrim S, Osborn M, et al. Functional activity of the OCT-1 protein is predictive of long-term outcome in patients with chronic-phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib. *J Clin Oncol*.

- 2010;28(16):2761–7.
47. Goldman JM, Melo J V. Targeting the BCR-ABL Tyrosine Kinase in Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2001 Apr;344(14):1084–6.
 48. Peng B, Lloyd P, Schran H. Clinical Pharmacokinetics of Imatinib. *Clin Pharmacokinet* [Internet]. 2005;44(9):879–94. Available from: <https://doi.org/10.2165/00003088-200544090-00001>
 49. Lau A, Seiter K. Second-line therapy for patients with chronic myeloid leukemia resistant to first-line imatinib. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk* [Internet]. 2014;14(3):186–96. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clml.2013.11.002>
 50. Mauro MJ. Defining and managing imatinib resistance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006;219–25.
 51. Kantarjian H. Chronic Myeloid Leukemia. 2016;(August). Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-33198-0>
 52. Baccarani M, Saglio G, Goldman J, Hochhaus A, Simonsson B, Appelbaum F, et al. Review article Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia : recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Leukemia*. 2006;108(6):1809–20.
 53. Baccarani M, Cortes J, Pane F, Niederwieser D, Saglio G, Apperley J, et al. Chronic myeloid leukemia: An update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. *J Clin Oncol*. 2009;27(35):6041–51.
 54. Picard S, Titier K, Etienne G, Teilhet E, Ducint D, Lassalle R, et al. Trough imatinib plasma levels are associated with both cytogenetic and molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia Brief report Trough imatinib plasma levels are associated with both cytogenetic and

- molecular responses to sta. *Blood*. 2007;109(8):3496–9.
55. Larson RA, Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, Riviere GJ, Krahne T, et al. Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: A subanalysis of the IRIS study. *Blood*. 2008;111(8):4022–8.
 56. Azam M, Daley GQ. Anticipating clinical resistance to target-directed agents : the BCR-ABL paradigm. *Mol Diagn Ther* [Internet]. 2006;10(2):67—76. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF03256446>
 57. Tokarski JS, Newitt JA, Chang CYJ, Cheng JD, Wittekind M, Kiefer SE, et al. The structure of dasatinib (BMS-354825) bound to activated ABL kinase domain elucidates its inhibitory activity against imatinib-resistant ABL mutants. *Cancer Res*. 2006;66(11):5790–7.
 58. Shah NP, Tran C, Lee FY, Chen P, Norris D, Sawyers CL. Overriding imatinib resistance with a novel ABL kinase inhibitor. *Science* (80-). 2004;305(5682):399–401.
 59. Jabbour E, Cortes JE, Giles FJ, O'Brien S, Kantarjian HM. Current and emerging treatment options in chronic myeloid leukemia. *Cancer*. 2007;109(11):2171–81.
 60. Lopes N, Abreu M. Inibidores de tirosino quinase na leucemia mielóide crônica. *Rev Bras Hematol Hemoter* [Internet]. 2009;31:449–53. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v31n6/aop8909.pdf>
 61. Delamain MT, Conchon M. Os inibidores de tirosino quinase de segunda geração. *Rev bras hematol hemoter* [Internet]. 2008;30(supl.1):37–40. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&%5Cnpid=S1516-84842008000500010
 62. Manley PW, Cowan-Jacob SW, Mestan J. Advances in the structural biology,

- design and clinical development of Bcr-Abl kinase inhibitors for the treatment of chronic myeloid leukaemia. *Biochim Biophys Acta - Proteins Proteomics*. 2005;1754(1–2):3–13.
63. Hazarika M, Jiang X, Liu Q, Lee SL, Ramchandani R, Garnett C, et al. Tasigna for chronic and accelerated phase philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia resistant to or intolerant of imatinib. *Clin Cancer Res*. 2008;14(17):5325–31.
 64. Kang J-S, Lee M-H. Overview of Therapeutic Drug Monitoring. *Korean J Intern Med* [Internet]. 2009;24(1):1. Available from: <http://kjim.org/journal/view.php?doi=10.3904/kjim.2009.24.1.1>
 65. Gao B, Yeap S, Clements A, Balakrishnar B, Wong M, Gurney H. Evidence for therapeutic drug monitoring of targeted anticancer therapies. *J Clin Oncol* [Internet]. 2012 Nov 10 [cited 2016 Mar 18];30(32):4017–25. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2012.43.5362>
 66. Coutre P, Mologni L, Cleris L, Marchesi E, Buchdunger E, Formelli F. In Vivo Eradication of Human BCR/ABL-Positive Leukemia Cells With an ABL Kinase Inhibitor. *J Natl Cancer Inst*. 1999;91(2):163–8.
 67. Koren-Michowitz M, Volchek Y, Naparstek E, Gavish I, Levi I, Rowe JM, et al. Imatinib plasma trough levels in chronic myeloid leukaemia: results of a multicentre study CSTI571AIL11TGLIVEC. *Hematol Oncol* [Internet]. 2012 Dec [cited 2016 Mar 18];30(4):200–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22241698>
 68. Awidi A, Ayed AO, Bsoul N, Magablah A, Mefleh R, Dweiri M, et al. Relationship of serum imatinib trough level and response in CML patients: Long term follow-up. *Leuk Res* [Internet]. 2010;34(12):1573–5. Available from:

- <http://dx.doi.org/10.1016/j.leukres.2010.07.014>
69. Yeung DT, White DL. Imatinib trough levels in chronic myelogenous leukemia: does one dose fit all? *Leuk Lymphoma* [Internet]. 2011 Feb 1 [cited 2016 Mar 18];52(2):165–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21171867>
 70. Sohn SK, Oh SJ, Kim BS, Ryoo HM, Chung JS, Joo YD, et al. Trough plasma imatinib levels are correlated with optimal cytogenetic responses at 6 months after treatment with standard dose of imatinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* [Internet]. 2011 Jun 23 [cited 2016 Mar 18];52(6):1024–9. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10428194.2011.563885>
 71. Guilhot F, Hughes TP, Cortes J, Druker BJ, Baccarani M, Gathmann I, et al. Plasma exposure of imatinib and its correlation with clinical response in the Tyrosine Kinase Inhibitor Optimization and Selectivity Trial. *Haematologica* [Internet]. 2012 May 1 [cited 2016 Mar 18];97(5):731–8. Available from: <http://www.haematologica.org/content/97/5/731.full.pdf+html>
 72. Mauro MJ. Review: Imatinib plasma trough levels in the management of CML: Ready for prime time? *Clin Adv Hematol Oncol* [Internet]. 2009 Nov [cited 2016 Mar 18];7(11):766–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20075836>
 73. Machado MP, Tomaz JP, Lorand-Metze I, de Souza CA, Vigorito AC, Delamain MT, et al. Monitoring of BCR-ABL levels in chronic myeloid leukemia patients treated with imatinib in the chronic phase - the importance of a major molecular response. *Rev Bras Hematol Hemoter* [Internet]. 2011;33(3):211–5. Available from:

- <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3415739&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
74. Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, Branford S, Radich J, Kaeda J, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: Review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. *Blood*. 2006;108(1):28–37.
 75. Mughal TI, Radich JP, Deininger MW, Apperley JF, Hughes TP, Harrison CJ, et al. Chronic myeloid leukemia: Reminiscences and dreams. *Haematologica*. 2016;101(5):541–58.
 76. Cecil RL, Goldman L, Schafer AI. *Goldman's Cecil medicine*. Philadelphia: Elsevier/Saunders; 2012. Chapter 190.
 77. Gambacorti-Passerini C, Antolini L, Mahon FX, Guilhot F, Deininger M, Fava C, et al. Multicenter independent assessment of outcomes in chronic myeloid leukemia patients treated with imatinib. *J Natl Cancer Inst*. 2011;103(7):553–61.
 78. Abboud C, Berman E, Cohen A, Cortes J, DeAngelo D, Deininger M, et al. The price of drugs for chronic myeloid leukemia (CML) is a reflection of the unsustainable prices of cancer drugs: From the perspective of a large group of CML experts. *Blood*. 2013;121(22):4439–42.
 79. Pophali P, Patnaik M. The Role of New Tyrosine Kinase Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia Priyanka. *Cancer J*. 2016;1848(1):3047–54.
 80. Moellmann-Coelho A, Asano E, Nita BM, Junior J, Messias, Donato B. Budget Impact Analysis of Chronic Myeloid Leukemia Treatment in Patients with Imatinib Failure from the Brazilian Public Health System Perspective: Supporting Health Care Decisions on Central and Local Levels. *Rev Bras*

- Cancerol [Internet]. 2010;56(4):471–81. Available from: http://www.inca.gov.br/rbc/n_56/v04/pdf/09_artigo_budget_impact_analysis_chronic_myeloid_leukemia_treatment_patients_imatinib_failure.pdf
81. Rezende VM, Rivellis AJ, Gomes MM, Dörr FA, Novaes MMY, Nardinelli L, et al. Determination of serum levels of imatinib mesylate in patients with chronic myeloid leukemia: validation and application of a new analytical method to monitor treatment compliance. Rev Bras Hematol Hemoter [Internet]. 2013;35(2):0–5. Available from: <http://www.rbhh.org/?doi=10.5581/1516-8484.20130030>
 82. Rezende VM, Rivellis A, Novaes MMY, Chamone D de AF, Bendit I. Quantification of imatinib in human serum: Validation of a high-performance liquid chromatography-mass spectrometry method for therapeutic drug monitoring and pharmacokinetic assays. Drug Des Devel Ther. 2013;7:699–710.
 83. Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap)-A metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. J Biomed Inform [Internet]. 2009;42(2):377–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbi.2008.08.010>
 84. de Souza CA, Pagnano KBB, Bendit I, Conchon M, Freitas CMB de M, Coelho AM, et al. Chronic myeloid leukemia treatment guidelines: Brazilian Association of Hematology, Hemotherapy and Cell Therapy. Brazilian Medical Association Guidelines Project - 2012. Rev Bras Hematol Hemoter [Internet]. 2012 Jan [cited 2016 Apr 4];34(5):367–82. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842012000500014&lng=en&nrm=iso&tlng=en

85. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 27 17 maio 2012. 2012;1–12.
86. FDA F and DA, Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Bioanalytical method validation. U.S. Department of Health and Human Services. 2013. 34 p.
87. Miura M. Therapeutic Drug Monitoring of Imatinib, Nilotinib, and Dasatinib for Patients with Chronic Myeloid Leukemia. *Biol Pharm Bull* [Internet]. 2015 May 1 [cited 2017 Oct 5];38(5):645–54. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/38/5/38_b15-00103/_article
88. Peng B, Hayes M, Resta D, Racine-Poon A, Druker BJ, Talpaz M, et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Imatinib in a Phase I Trial With Chronic Myeloid Leukemia Patients. *J Clin Oncol* [Internet]. 2004;22(5):935–42. Available from: <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.03.050>
89. Kimura S, Ando T, Kojima K. BCR-ABL Point Mutations and TKI Treatment in CML Patients. *Cent J Hematol Transfus Cite this J Hematol Transfus* [Internet]. 2014;2(3). Available from: <https://www.jscimedcentral.com/Hematology/hematology-spide-future-aspects-chronic-myeloid-leukemia-treatment-1022.pdf>
90. da Silva Cruz P, Salvador Caldeira dos Santos ML, Alves dos Santos W, Trovatti P, dos Santos Claro Fuly P. Quality of Life of Patients With Chronic Myeloid Leukemia in Imatinib Use. *J Nurs UFPE / Rev Enferm UFPE* [Internet]. 2017;11(6):2423–31. Available from: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=c8h&AN=123724544&lang=pt-br&site=ehost-live>
91. Terese Winslow LLC, Medical and Scientific Illustration [Internet]. [cited 2018

Apr 24]. Available from: <https://www.teresewinslow.com/>

PROJETO DE PESQUISA

Título: MONITORAMENTO DOS NÍVEIS SANGUÍNEOS DE INIBIDORES DE TIROSINA QUINASE E RESPOSTA AO TRATAMENTO EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA PARA CARACTERIZAÇÃO POPULACIONAL DE PACIENTES E CORRELAÇÃO ENTRE OS PARÂMETROS AVALIADOS E EVOLUÇÃO DA DOENÇA

Pesquisador Responsável: ISRAEL BENDIT

Versão: 1

Pesquisador Executante: VINICIUS MARCONDES REZENDE

CAAE: 09457913.0.0000.0068

Co-autores: PEDRO ENRIQUE DORLHIAC LLACER, MAFALDA MEGUMI YOSHINAGA, NOVAES, LUCIANA NARDINELLI

Finalidade Acadêmica: Doutorado

Instituição: HCFMUSP

Departamento: CLÍNICA MÉDICA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Registro on-line: 10157

Número do Parecer: 223.527

Data da Relatoria: 20/03/13

Apresentação do Projeto: Trata-se de projeto de pesquisa prospectivo a ser realizado em 37 meses com finalidade acadêmica (Doutoramento) e sem financiamento específico. O TCLE está em linguagem adequada para o paciente.

Objetivo da Pesquisa: Monitorar os níveis sanguíneos de inibidores de tirosina quinase (ITQ) e resposta ao tratamento em pacientes com Leucemia Mieloide Crônica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios: Serão coletadas 2 amostras de sangue adicionais de 250 pacientes que serão tratados com o inibidor de tirosina quinase, medicamento usual para a doença. Ou seja, os pacientes não sofrem risco adicional ao ingressar no protocolo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: As análises dos níveis sanguíneos são realizadas por cromatografia de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas. Trata-se de metodologia apropriada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Todos apresentados

Recomendações: Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Não há pendências.

Situação do Parecer: Aprovado.

Necessita apreciação da CONEP: Não.

Considerações Finais a critério do CEP: Em conformidade com o item IX.2 da Resolução CNS nº 196/96 – cabe ao pesquisador: **a)** desenvolver o projeto conforme delineado; **b)** elaborar e apresentar relatórios parciais e final; **c)** apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; **d)** manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; **e)** encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; **f)** justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

São Paulo, 20 de Março de 2013

Prof. Dr. Luiz Eugênio Garcez Leme
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa-CAPPesq

14 ANEXOS

14.1 Anexo 1: Parecer Consubstanciado da CAPPesq