

Quantificació de la reorganització BCR-ABL

Existeixen algunes anomalies citogenètiques recurrents a les malalties hematològiques malignes, i la primera en ser descrita va ser la translocació t(9;22)(q34;q11), en pacients amb Leucèmia Mieloide Crònica (LMC), que té com a producte el cromosoma Filadelfia. La conseqüència molecular d'aquesta translocació és la fusió de l'oncogen ABL (*Abelson murine sarcoma virus*) al cromosoma 9, amb el gen BCR (*breakpoint cluster region*), al cromosoma 22.

Actualment es considera que la relació causal entre la fusió BCR-ABL i la LMC és tal, que un pacient inicialment diagnosticat amb LMC, sense BCR-ABL ha de ser reevaluat (la majoria tenen un altre Síndrome Mielo Displàsic (SMD)), ja que no existeixen excepcions LMC BCR-ABL-. El punt de trencament de BCR és gairebé sempre el *major breakpoint cluster region* M-BCR, i la proteïna de fusió resultant la p210, amb activitat tirosin kinasa augmentada. L'increment en l'activitat tirosin kinasa té com a conseqüència l'activació d'una sèrie de vies de senyals de transducció, i d'aquesta activació resulta el fenotip cel·lular LMC, amb proliferació, adherència i apoptosi desregulades.

El coneixement de les vies de desregulació en les cèl·lules LMC va permetre el disseny d'un tractament específic. El tractament es basa en la utilització d'una molècula que pugui competir amb el ATP en la unió amb BCR-ABL, de manera que s'inhibeix la seva activitat. Aquesta molècula mimètica del ATP és l'imatinib, i la seva utilització ha demostrat ser la primera teràpia eficaç, que interromp el senyal oncogènic. Es considera que l'indicador pronòstic principal és la resposta al tractament a nivell hematològic, citogenètic i molecular. La taxa de resposta citogenètica

completa (RCC) al imatinib és del 70-90% i amb una supervivència mitja de 5 anys lliure de malaltia del 80-95% (1,2)

Actualment, el seguiment molecular dels pacients amb LMC tractats amb imatinib forma part de la rutina clínica, ja que aquest seguiment és altament sensible, i permet detectar i quantificar nombre de còpies de BCR-ABL, i variacions en aquest nombre, indetectables per citogenètica. Aquesta sensibilitat és molt útil:

- En pacients amb RCC, ja que en aquests casos el cromosoma filadelfia és indetectable, i l'anàlisi molecular dóna informació de la malaltia residual
- En aquests pacients RCC, en els que l'increment de còpies de bcr-abl pot indicar un relapse imminent
- Perquè hi ha correlació entre el grau de reducció de còpies de BCR-ABL i la supervivència lliure de progressió.
- Perquè ha d'obtenir-se resposta molecular en 18 mesos de teràpia amb imatinib, i en cas contrari cal reavaluar el tractament.

Per tot això no es discuteix la necessitat del seguiment molecular, acompanyat de citogenètica convencional (en moll d'os), tan en el moment del diagnòstic, com per a avaluar la resposta a la teràpia i la possible progressió (3,4), i està clar que cal emprar un mètode estandaritzable, senzill i fiable. El mètode utilitzat arreu és la PCR quantitativa en temps real.

Des de fa alguns mesos, a Catlab estem aplicant un assaig de PCR de transcripció inversa en temps real automatitzat, per la quantificació de BCR-ABL. El mètode permet automatitzar i integrar purificació del RNA, retrotranscripció i amplificació, utilitzant el sistema GeneXpert.(Cepheid). Donat que es tracta d'un sistema tancat es minimitza el risc de

contaminació. S'utilitzen reactius que detecten la reorganització BCR-ABL que genera la proteïna de fusió p210, i com a control endogen s'utilitza la transcripció del gen ABL, de gran estabilitat. La quantificació s'expressa com a proporció de BCR-ABL/ABL.

La reorganització es detecta i quantifica en sang perifèrica, utilitzant EDTA com a anticoagulant, i és possible donar resposta poques hores després de l'arribada de la mostra al laboratori.

Bibliografia

- 1-Baccarani M i col Blood 108:1809-1820 (2006)
- 2-Druker BJ i col N Engl J Med 355:2408-2417 (2006)
- 3-Guía de recomendaciones para el diagnóstico genético y seguimiento de las neoplasias hematológicas (GCECGH, octubre 2007)
- 4-NCCN Practice Guidelines in oncology v.2.2010

Dra.Emma Triviño
Responsable Citogenètica
CATLAB Tel. 93.748.56.00 - ext. 5018
etrivino@catlab.cat