

Evaluación citogenética del complejo *BCR-ABL* como respuesta a Imatinib en pacientes venezolanos con Leucemia Mieloide Crónica

Karelis Urdaneta^{1*}, Alicia Rojas-Atencio¹, Marisol Soto-Quintana¹,
Ana María Núñez², Jenny Cañizalez¹, Richard González¹, Francisco Álvarez-Nava¹,
Ana Bracho¹ y Ernesto Solís Áñez¹

¹Unidad de Genética Médica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

²Instituto Hematológico de Occidente. Maracaibo, Venezuela

Recibido: 10-03-08 Aceptado 16-02-09

Resumen

El cromosoma Filadelfia representa un importante marcador de clon maligno que permite el diagnóstico certero de la Leucemia Mieloide Crónica. Este cromosoma está constituido por la unión de los genes *ABL* y *BCR*, de dicha fusión se origina una proteína con actividad de tiroxina quinasa, responsable del fenotipo leucemogénico. El imatinib es un inhibidor de la actividad tiroxina quinasa que provoca la desaparición del complejo *BCR-ABL* al año de tratamiento con esta droga. El objetivo de esta investigación fue evaluar la respuesta citogenética del complejo *BCR-ABL*, en pacientes venezolanos con diagnóstico de LMC, luego de un año de tratamiento con el mesylate de Imatinib. Se analizaron 30 muestras de pacientes con diagnóstico de LMC al inicio, a los 6 meses y al año de tratamiento, mediante técnica citogenética convencional y FISH para la detección del cromosoma Filadelfia y del complejo *BCR-ABL*, los resultados obtenidos tanto citogenético como moleculares fueron reportados según el ISCN 2005. Al año de tratamiento con el Imatinib 16/30 pacientes (53,33%) lograron alcanzar desaparición del cromosoma Filadelfia por técnica citogenética convencional, sin remisión molecular. Por otra parte, se observó la presencia de anomalías cromosómicas adicionales en las células Ph-negativas. Existen mecanismos que han sido asociados con resistencia al Imatinib, como las alteraciones cromosómicas adicionales; algunas de ellas han sido asociadas con progresión hacia la fase aguda. Sin embargo, en los pacientes analizados en el presente estudio hasta el momento esto no ha sucedido, por lo cual es necesario investigar otros mecanismos de resistencia a la droga.

Palabras clave: LMC, Cromosoma Filadelfia, Imatinib.

Cytogenetic evaluation of the complex *BCR-ABL* in response to imatinib in Venezuelan patients with Chronic Myeloid Leukemia

Abstract

The chromosome Philadelphia represents an important marker of malign clone in Chronic Myeloid Leukemia (CML), this formed by the fusion of the genes *ABL* and *BCR* and where the re-

* Autor para la correspondencia: karelisu70@yahoo.es

sulting protein of this coalition presents activity tyrosine kinasa, and it is the responsible for the phenotype leukemogenic. The imatinib is an inhibitor of the activity tyrosine kinasa that causes the disappearance from the complex *BCR-ABL* to the year of treatment with this drug. The objective of this investigation was to determine the presence of the complex *BCR-ABL*, in patient with CML after the treatment with Imatinib during one year. 30 samples were analyzed of patient with diagnose from CML to the beginning, to the 6 months and the year of treatment, by cytogenetic conventional techniques and D-FISH for detection of chromosome Philadelphia and complex *BCR-ABL*, the results both cytogenetic an molecular was reported according ISCN 2005, To the year of treatment with the Imatinib 16/30 patients (53,33%) they were able to reach disappearance of the chromosome Philadelphia for conventional cytogenetic, technique without molecular remission. On the other hand the presence of additional chromosomal anomalies was observed in the cells Ph-negative. Exist mechanisms that have been associated with resistance to the Imatinib, as the additional chromosomal alterations some of them have been associated with progression toward acute phase, however in our patients until the moment has not happened, by this reason is necessary to investigate other resistance mechanisms.

Key words: CML, chromosome, D-FISH, Imatinib Mesylate.

Introducción

La Leucemia Mieloide Crónica está caracterizada por la presencia del cromosoma Filadelfia, el cual resulta de la translocación entre los cromosomas 9 y 22. Esto origina la fusión de los genes *BCR* y *ABL* representando un marcador importante de clon maligno que permite el diagnóstico certero de la enfermedad; la proteína resultante de esta fusión tiene actividad tirosina quinasa, y es la responsable del fenotipo de esta enfermedad (1,2). Imatinib (Gleevec), es un potente inhibidor específico de la proteína quinasa y fue introducido como tratamiento de nuevos casos de LMC así como, en todas las fases de la enfermedad (3).

Diversos sustratos del *BCR-ABL*, intervienen en eventos de transformación, crecimiento o muerte programada; debido a que la señal *BCR-ABL* es constitutiva, las células que las poseen escapan del control normal del crecimiento y se tornan leucémicas, lo cual podría explicar el fenotipo leucémico encontrados en los pacientes con LMC. Actualmente, se conoce que la proteína tirosina-quinasa producto de la fusión de estos dos genes es la que participa en la traducción de señales que regulan diversos procesos celu-

lares tales como: crecimiento, diferenciación, adhesión y apoptosis. El *BCR-ABL*, es expresado en alto grado en células leucémicas en casi todos los pacientes con LMC (4).

El análisis citogenético de casos sospechosos de LMC es obligatorio. La translocación (9;22) está presente en un 90 a 95% de los pacientes (5, 6), un remanente de estos pacientes pueden presentar traslocaciones variantes o ausencia de la traslocación debiendo demostrarse la presencia del complejo *BCR-ABL* (7, 8). Por otro lado, se han reportados anomalías secundarias al cromosoma Ph⁺ que incluyen: trisomía 8, i(17q), trisomía 19 y variantes cromosómicas Filadelfia; así como, la pérdida de los cromosomas 7, 17 y Y, considerados como clones de progresión de enfermedad (9).

Se ha reportado la eficacia del imatinib en pacientes con nuevo diagnóstico de LMC (10, 11) a dosis de 400mg/día, desde un 50 hasta un 90%, observándose remisión completa citogenética al año de tratamiento con esta droga. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta citogenética del complejo *BCR-ABL*, en pacientes venezolanos con diagnóstico de LMC, luego de un año de tratamiento con el mesylate de Imatinib.

Materiales y métodos

Se analizaron 30 pacientes de padres venezolanos con diagnóstico de LMC; con edades comprendidas entre 34 y 54 años de edad con un promedio de 47 años \pm 1,3 DS, de ambos sexos referidos de los hospitales públicos ó privados de la región. A las muestras se les realizaron cultivos citogenéticos convencionales de Médula Ósea (12) para la identificación del cromosoma Filadelfia al inicio, a los 6 meses y a los 12 meses después de la administración del Imatinib a una dosis inicial de 400mg/día. Esta varió dependiendo de los efectos colaterales que presentaron los pacientes así como también que no hubiesen recibido tratamiento con otros quimioterápicos. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes que participaron en el proyecto; así como también, la aprobación por parte del comité de ética de la Unidad de Genética Médica de la Universidad del Zulia para la realización del presente proyecto.

Para el análisis molecular se realizó la técnica de hibridación "in situ" fluorescente (FISH) descrita por Pinkel 1.988 (13). Se utilizaron sondas locus específicas para la t(9;22). Estas sondas, fueron suministradas por Q-biogen (Molecular cytogenetics. Product. Cat. PONCO 922 BIO101 USA) para la identificación del complejo BCR-ABL, en las láminas que contenían cromosomas en metafases o núcleos en interfase, previamente obtenidos a partir de cultivos citogenéticos de médula ósea. Se analizaron al menos 200 núcleos en interfase, se utilizó como control positivo láminas provistas por el fabricante para evaluación del Kit y como controles negativos 10 pacientes sin enfermedad hematológica. Se consideró negativo cuando existían 2 señales verdes correspondientes al gen BCR y dos señales rojas correspondientes al gen ABL, y como positivas cuando existían una señal roja, una verde y una amarilla (fusión) o cuando se apreciaban muy cercanas la roja y la verde. La respuesta citogenética molecular fue evaluada como: Respuesta citogenética completa

cuando hubo ausencia total del complejo BCR-ABL, parcial cuando presentaban entre 1 y 35%, menor entre 35 y 65% y sin respuesta cuando se observó mas de un 65% de núcleos positivos tal como, ha sido descrito previamente (14) Todos los resultados fueron reportados siguiendo las pautas del ISCN 2.005 (15). Desde el punto de vista estadístico, los resultados fueron analizados mediante estadística descriptiva en base a porcentajes.

Resultados

La Tabla 1 presenta los cariotipos y el complejo molecular de los 30 pacientes al inicio, a los 6 meses y al año de tratamiento con Imatinib. En la misma, se evidencia la presencia del cromosoma Filadelfia, así como también la presencia de otras anormalidades cromosómicas adicionales tanto en pacientes que fueron Filadelfia positivo como aquellos Filadelfia negativo. Al momento del diagnóstico 28/30 pacientes (93%) presentaron la t(9;22) (q34;q11) clásica en el 100% de las metafases analizadas, el resto de los pacientes (6%) no presentaron la translocación, los cuales fueron confirmados como BCR-ABL positivo por técnicas citogenéticas moleculares (D-FISH), 1 paciente (3%) presentó mosaico del cromosoma Ph⁺ en el 25% de las metafases analizadas, sin otra evidencia de anormalidad cromosómica. Todos los pacientes resultaron BCR-ABL positivo en aproximadamente 200 núcleos interfásicos analizados. A los 6 meses de tratamiento con Imatinib: 7/30 pacientes (23%) resultaron Ph⁻ negativo. Sin embargo, se observó la presencia de anormalidades cromosómicas adicionales (aneuploidías) que incluyeron pérdida de los cromosomas 2, 4, 8,13, así como también trisomía para el cromosoma 8, cariotipos complejos y en aquellos que fueron inicialmente cromosoma Ph⁻ uno de ellos presentó trisomía para el cromosoma 8. El análisis molecular mostró que todos los pacientes mantuvieron la persistencia del gen BCR-ABL (tabla 1). Al análisis molecular, 6/16

Tabla 1
Anomalías cromosómicas y complejo molecular BCR-ABL en pacientes con LMC al inicio, 6 meses y al año de tratamiento con Imatinib.

Casos	Inicio	6 meses	Año
C06 M01	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22)[10]/ -5, -8, -9 [4] 46, XY [6]	46, XY, t(9;22) [6]/ 46, XY [14]
C06 M02	46, XY, t(9;22)[20]	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22)[6]/ 46, XY [14]
C06 M03	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [20]	42~46, XY, -7, -15, -2 [8]/46, XY [7] BCR-ABL (+)
C06 M04	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [20]	46, XX, t(9;22) [6]/ 46, XY [14]
C06 M05	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [6]/46, XY [14]	40~46, XX, -4, -9, -11, -19 BCR-ABL (+)
C06 M06	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX, t(9;22) [4]/46, XX [16]	46, XX BCR-ABL (+)
C06 M07	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX, t(9;22)[6]/ 46, XX [14]	46, XX [20] BCR-ABL (+)
C06 M08	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX, t(9;22) [8] / 46, XX [12]
C06 M09	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX, [20] BCR-ABL (+)	46, XX, -22, + mar [3]/ 46, XX [17]BCR-ABL (+)
C06 M10	46, XX t(9;22) [20]	46, XX [20] BCR-ABL (+)	46, XX, -22, + mar [9], 46, XX [11] BCR-ABL (+)
C06 M11	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX, t(9;22) [4]/ 46, XX [16]	43, XX, -20, -22 [2]/ 46, XX [9] BCR-ABL (+)
C06 M12	46, XX, t(9;22) [15]/46, XX [5]	46, XX [20] BCR-ABL (+)	46, XX [20] BCR-ABL (+)
C06 M13	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY [20] BCR-ABL (+)	44, X, -Y, -22, + mar [13]/ 46, XY [7] BCR-ABL (+)
C06 M14	46, XX BCR-ABL (+)	46, XX [20] BCR-ABL (+)	46, XX BCR-ABL (+)

Tabla 1 (Continuación)

Casos	Inicio	6 meses	Año
C06 M15	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [5]/46, XX [15]	37~46, XX, -4, -8, -10, -22, [3] / 44~46, XX, + 2 mar.[3]/ 46, XX, t(9;22)[6]/ 46, XX [8]
C06 M16	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [8] / 46, XX [12]
C06 M17	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [20]
C06 M18	46, XX, t(9;22)[20]	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX [30] BCR-ABL (+)
C06 M19	46, XX BCR-ABL (+)	47, XX, + 8 [8]/46, XX [12]BCR-ABL (+)	46, XX [20] BCR-ABL (+)
C06 M20	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [6]/ 46, XX [14]
C06 M21	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX, t(9;22) [6]/ 46, XX [14]	40~46, XX, -22 [2]/ 46,XX [18] BCR-ABL (+)
C06 M22	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX, t(9;22) [2]/46, XX [18]	46, XX [20] BCR-ABL (+)
C06 M23	46, XY, t(9;22) [20]	45, XY, der 6, t(6;9), -8, -13, + mar [4]/ 46, XY [16] BCR-ABL (+)	30~46, XY, -1, -7, -9, -8, -4, -12, -19[3]/ 46, XY [17] BCR-ABL (+)
C06 M24	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [4] / 46, XY [16]
C06 M25	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX, t(9;22) [20]
C06 M26	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [20]
C06 M27	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX, t(9;22) [20]	39~46, XX, -11, -20 [3]/ 45, X, -X, t(1;X) [3] 46, XX, t(9;22) [2]/46, XX [12]
C06 M28	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX, t(9;22) [20]	46, XX, t(9;22) [20]
C06 M29	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [5]/ 46, XX [15]	46, XY BCR-ABL (+)
C06 M30	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [20]	46, XY, t(9;22) [20]

pacientes (37,50%) Ph-negativo presentaron el complejo *BCR-ABL* entre el 13 y el 33% de los núcleos analizados representando una respuesta parcial y en el resto se observó persistencia del complejo en el 90% de los núcleos analizados, es decir sin respuesta al tratamiento.

Discusión

Según la Organización Mundial de la Salud (2006) (16), la LMC es definida como un síndrome mieloproliferativo crónico, considerada como una única entidad separada. El análisis citogenético de casos sospechosos de LMC es obligatorio, donde la traslocación (9;22) está presente en un 90 a 95%. En nuestro estudio 28/30 pacientes al momento del diagnóstico resultaron cromosoma Ph-positivo, a excepción de 2 pacientes que resultaron Ph-negativo. Estos fueron confirmados como LMC por la presencia del gen *BCR-ABL* a nivel molecular (D-FISH), lo que coincide con lo reportado por la literatura mundial (3)

El Mesilate de Imatinib inhibidor de la tirosina-quinasa del *BCR-ABL*, fue introducido dentro del régimen de tratamiento en la LMC en 1998 (17), a una dosis de 400mg/día para la fase crónica y 600mg/día en fase acelerada o crisis blástica. En nuestro estudio, a todos los pacientes se les indicó una dosis de inicio de 400mg/día, modificándose dependiendo de las reacciones que presentaron los pacientes entre 200 a 300 mg × día. Se obtuvo remisión completa citogenética en el 53,33%, pero sin remisión molecular. Varios estudios, han reportado la eficacia del Imatinib en pacientes con LMC, lo cual difiere con la mayoría de los reportes de la literatura mundial donde se ha encontrado hasta un 90% de porcentaje de remisión (18, 19). Sin embargo, Artigas, y col (2002) (20) reporta en un estudio realizado a 44 pacientes con diagnóstico de LMC en fase crónica en la ciudad de México donde el 58% de los pacientes presentaron una mayor respuesta

citogenética al año de tratamiento con el Imatinib, situación que se asemeja a nuestro estudio. Aplenc y cols., en 2006 (21), identificó una menor sobrevida en hispanos y en negros americanos en pacientes con leucemia mieloide aguda, señalando que la misma podría ser debida a que estos tienen menos recursos económicos y menor acceso a mejores cuidados terapéuticos, lo que podría estar influyendo en los resultados de estos trabajos. Por otro lado, la presencia en ellos de manifestaciones secundarias como el bajo conteo de glóbulos blancos provocó en algún momento que a todos los pacientes les fuera disminuida la dosis inicial de 400mg. Estas variaciones en la dosis fueron señaladas por Frame en 2007 (22), indicando que la disminución de la concentración de los niveles plasmáticos del imatinib podría ocasionar clones de resistencia.. Así mismo se han señalado interacciones con sustancias que inducen la actividad de la enzimas del sistema del citocromo P450, como la CYP3A4/5, CYP2D6 podrían disminuir la concentración sérica de imatinib (23). Nuestros pacientes no recibieron ningún medicamento por tiempo prolongado a excepción del imatinib, por lo que se podría descartar esta interacción.

Cinco mecanismos han sido descritos que producen resistencia al Imatinib, el primero de ellos es la unión a proteínas plasmáticas ya que el Imatinib se une fuertemente a la α -1-glicoproteína ácida; cambios en esta proteína podrían cambiar la cantidad de uniones cambiando así la disponibilidad de la droga (24). Un segundo mecanismo está relacionado con el bombeo de la glicoproteína P, esto puede resultar en la disminución intracelular de las concentraciones del Imatinib (25). El tercero de los mecanismos implicados, sugiere que las mutaciones que se producen en la quinasa del complejo *BCR-ABL* pueden suprimir la habilidad de esta droga para inhibir la división celular (26). En el cuarto mecanismo, se involucran quinasas independientes del complejo *BCR-ABL* como la familia *SRC* de tirosi-

na quinasa (27) y el quinto mecanismo señalado corresponde a la amplificación génica, el cual podría observarse con la presencia del doble Ph⁺ (28).

En el presente estudio, 14 pacientes (46,67%) mantuvieron la persistencia del cromosoma Ph⁺ al año del tratamiento de la droga, así como también, la persistencia del gen quimérico *BCR-ABL* en todos los pacientes. Esto pudiera sugerir la presencia de mecanismos de resistencia a la droga que deben ser analizados para lograr una mejor respuesta citogenética.

Un aspecto importante a considerar, es el desarrollo de nuevas aberraciones cromosómicas clonales adicionales al cromosoma Ph⁺; estas han sido descritas después de la terapia con imatinib especialmente la Trisomía 8, monosomía 7 y delección del cromosoma Y; esta observación, sugiere el papel del Imatinib en el origen de aberraciones en el cariotipo (inestabilidad genética), ya que clones Ph⁻ con distintos marcadores citogenéticos persisten en paralelo con clones Ph⁺ y pueden ser inducidos también por la administración de agentes citotóxicos y drogas genotóxicas como el Imatinib, así como también han sido reportadas bajo la administración de agentes inmunomoduladores como la Hidroxiurea, el alfa interferón y el Bisulfan (29-30); Se ha reportado que el mecanismo de inhibición de la quinasa del *ABL* por el imatinib produce cambios genéticos ya que este no interactúa con las proteínas involucradas en la reparación del ADN (14). Por otro lado, el tratamiento con el Imatinib induce la selección de clones positivos que conducen a cambios cromosómicos preexistentes y que estas aberraciones cromosómicas pueden ser producidas por el *BCR-ABL*, pudiendo contribuir a la adquisición de inestabilidad en el cariotipo y aneuploidias en células progenitoras de la Leucemia Mieloide Crónica (29-30).

Se ha asociado la evolución clonal con progresión hacia una fase aguda de la enfermedad (1, 2), otros reportes han sugerido

que el Imatinib pudiese producir cambios cromosómicos no necesariamente con características de evolución hacia la fase aguda (29). En nuestros pacientes, al año de tratamiento con Imatinib, las presencia de anomalías adicionales presentes en células Filadelfia-negativa hasta la actualidad no han desarrollado progresión hacia la fase aguda de la enfermedad, lo que estaría indicando que en ellos el Imatinib podría producir cambios cromosómicos adicionales (monosomía de los cromosomas 7,8,11,17 y pérdida del cromosoma Y), posiblemente debido a su comportamiento como droga citotóxica pero no necesariamente de evolución hacia la fase aguda. En la actualidad, no se cuenta con conocimientos suficientes de cómo estas alteraciones pudieran afectar el curso clínico de la enfermedad.

Finalmente, los hallazgos encontrados en el presente estudio sugieren como un posible mecanismo de resistencia la presencia de anomalías cromosómicas adicionales a las células Ph⁻ observadas en nuestros pacientes; los cuales no han evolucionado hacia la fase aguda de la enfermedad. Por otro lado, la variación en las dosis administradas pudo ocasionar la disminución de las concentraciones de la droga en plasma ocasionando su ineficacia y la estimulación de mecanismos de resistencia que deberán ser investigado estos pacientes.

Agradecimiento

Esta investigación fue subvencionada por el CONDES-LUZ. Proyecto N° CC0102-06.

Referencias bibliográficas

1. ROWLEY J. *Nature* 243: 290-293. 1973.
2. FADERL S., TALPAZ M., ESTROV Z., O'BRIEN S., KURZROCK R., KANTARJIAN H.M. *N Engl J Med* 341(3): 164-172. 1999.
3. SAWYERS, CH.T. *N Engl J Med* 340: 1330-1340. 1999.

4. PENG B, LLOYD P, SCHRAN H. **Clinic Pharmacokinet** 44:879-894. 2005.
5. KURZROCK R., GUTTERMAN J., TALPAZ M. **N Eng J Med** 319: 990-998. 2007.
6. VERFAILLIE CM. **J Hematother** 8:13. 1999.
7. MELO J., CHUAH CH. **Cancer Letts** 249: 121-132. 2007.
8. GROFFEN J., STEPHESON J., HEISTER-CAMP N., BARTRAM C., GROSVELD G. **Cell** 36: 93-99. 1984.
9. SOTO M., ROJAS-ATENCIO A., GONZALEZ R. **J Assoc Genet Cytogenet** 25: 62-64. 1999.
10. YEHUDA O., ABELIOVICH D., BEN-NERIACH S., COHEN R., VARADI G. **Cancer Genet Cytogenets** 114: 100-107. 1999.
11. MARTINELLI G., SOVERINI S., ROSTI G., BACCARANI M. **Leukemia** 18: 380-384. 2005.
12. BACHER U., HOCHHAUS A., BERGER U., HIDDEMANN W., HEHLMANN R., HAFER-LACH T. **Leukemia** 19:460-463. 2005.
13. YUNIS J. **Human Pathol** 12: 540-49. 1981.
14. PINKEL D.M., LANDDEEGENT J., COLLINS C., FUSCOE J., SEGRAVES R., LUCAS J. **Proc Natl Acad Sci USA** 85: 9138-9142. 1998.
15. SHAFFER L., TOMMERUP N. **An International Systems for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN)**. 130 pp. 2005.
16. JAFFE E.S., HARRIS N.L., STEIN H., CHAN J.K., CLEARY M.L., DELSOL G., WOLFPEETERS C., FALINI B., GATTER K.C. **World Health Organization Classification of tumors: Pathology and genetics of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues**. IARC Press. Lyon (France). 2001.
17. DEININGER M., BUCHDENIGER., DRUCKER B.J. **Cancer Letts** 105: 2640-53. 2005.
18. KANTARJIAN H., JORGE C., O'BRIEN S. **N Engl J Med** 346: 645-652. 2002.
19. DRUKER B., TAMURAS., BUCHDUNGRE., OHNO S., SEGAL G. **Nature** 2: 561-566. 2001.
20. ARTIGAS G., MELO A., ROA J., VIETINI C., ARRIAGADA M., GONZALEZ L., ROA I. **Rev Med Chile** 130: 623-30. 2002.
21. APLENC R., ALONZO T., GERBING R., F, SMITH S., MESHINCHI J., ROSS A., PER-ENTESIS J., WOODS W., LANGE B., DAVIES S. **Blood** 108: 74-80. 2006.
22. FRAME DAVID. **J Manag Care Pharm** 13:S13-S19. 2007.
23. ZONDER J., PEMBERTON P., BRANDT H., SCHIFFER A., SCHIFFER M., SCHIFFER CH. **Clin Cancer Res** 9: 2092-2097. 2003.
24. GAMBACORTI P., ZUCCHETTI M., RUSSO D. **Clin Cancer Res** 9:625-32. 2003.
25. THOMAS J., WANG L., CLARK R.E., PIR-MOHAMED M. **Blood** 104: 3739-3745. 2004.
26. GORRE M.E., MOHAMMED M., ELLWOOD K. **Science** 293: 876-80. 2001.
27. CORTES J., KANTARJIAN H. **J Clin Oncol** 23: 6316-6324.
28. PICARD S., TITIER K., ETIENNE G. **Blood** 108: abstract 429. 2006.
29. LI R., SONIK A., STINDL P., DUESBERG P. **Proc Natl Acad Sci USA** 97: 3236- 3241. 2001.
30. FABARIUS A., WILLER A., YERGANIAN G., HEHLMANN R., DUESBERG P. **Proc Natl Acad Sci USA**. 99: 6778-6783. 2002.