

**Propuesta de estudio  
subcomité de LMC/SMPC  
PETHEMA**

**ESTUDIO DE LOS FACTORES DE  
VARIBILIDAD DE LA  
RESPUESTA A IMATINIB EN PACIENTES  
CON LMC Ph+**

**Dra. Concepción Boqué  
Servicio de Hematología Clínica  
Institut Català d'Oncologia**

## **Título: ESTUDIO DE LOS FACTORES DE VARIBILIDAD DE LA RESPUESTA A IMATINIB EN PACIENTES CON LMC Ph+**

**Investigador Principal: Concepción Boqué Genovard**

**Coordinador del estudio:**

**Tipo de estudio:** Estudio abierto, multicéntrico, no aleatorizado.

**Background:** El tratamiento de la LMC ha mejorado enormemente desde la introducción de los inhibidores de Tirosin quinasa. El 58-69% de los pacientes tratados en primera línea con 400mg de Imatinib (IM) obtienen una Respuesta citogenética completa a los 12 meses considerándose esta una respuesta óptima. Existen factores que pueden influenciar la respuesta como son los niveles de IM en sangre que están determinados por la farmacocinética y la exposición intracelular a IM determinada por la farmacogenómica es decir por las proteínas transportadoras de fármacos. Además al tratarse de un tratamiento crónico es importante la farmacoadherencia y su influencia es los resultados terapéuticos. El estudio de estos factores se ha realizado hasta la actualidad en estudios independientes por diversos autores. En cuanto a los transportadores OCT1 se sabe que su actividad está en relación a la respuesta a IM y posiblemente el nivel de expresión de m RNA de OCT1 también lo está.

**Hipótesis:** La variabilidad de la respuesta a IM depende de factores farmacocinéticos, farmacogenómicos y de cumplimiento terapéutico. La determinación de esta relación y del grado de importancia de cada uno de estos factores en la variabilidad intra-paciente permitirá establecer un método para la individualización posológica que consiga optimizar el tratamiento con IM

**Objetivo principal:**

Evaluar el grado de influencia en la respuesta a Imatinib (IM) de los distintos factores de variabilidad: Niveles de IM (C min), PCR-Q de OCT1, polimorfismos de OCT1, adherencia al tratamiento y medicación concomitante.

**Objetivos secundarios:**

1. Determinar la utilidad en la toma de decisiones de los niveles de IM en plasma
2. Determinar si hay variación en los niveles de expresión del m RNA de OCT1 antes y después del tratamiento con IM
3. Determinar el grado de adherencia al tratamiento en pacientes con LMC Ph+ a corto y largo término, previa validación del cuestionario SMAQ
4. Determinar los polimorfismos en OCT-1 en los pacientes con LMC y su influencia en los niveles de expresión de m RNA de OCT-1 en los pacientes tratados con IM

**Sujetos a estudio:** Pacientes con LMC Ph+ de edad > 18 años, en 1ª fase crónica. Podrán incluirse en el estudio dos cohortes de pacientes: 1) los de **nuevo tratamiento** y 2) Ppacientes que ya hayan iniciado Imatinib que se encuentren **antes de la evaluación de respuesta de los 12 meses.**

**Criterios de inclusión:**

Pacientes con LMC, 1ª FC, edad > 18 años, candidatos a recibir Imatinib como tratamiento de primera línea o que los estén recibiendo y no hayan sobrepasado los evaluación de la respuesta de los 12meses

Firmar el consentimiento informado

### **Criterios de exclusión**

Ninguno

**Tratamiento:** Imatinib 400mg/día v.o.

### **Nº previsto de pacientes:**

- 1. Pacientes tratados con IM de novo:** Niveles de IM /mRNA de OCT1 y polimorfismos de OCT 1/ Farmacoadherencia: 50 pacientes (Se espera: 10-15 pacientes con respuesta subóptima o fracaso/ 40 pacientes con respuesta óptima)
- 2. Pacientes ya tratados con IM durante menos de 12 meses:** (Se espera: 10-15 pacientes con respuesta subóptima o fracaso/ 40-35 pacientes con respuesta óptima)

**Duración del estudio:** 3 años (18 meses de reclutamiento y 18 meses de seguimiento)

### **Justificación del tamaño muestral:**

La tasa de Respuesta óptima en pacientes de nuevo diagnóstico tratados precozmente con IM 400mg esta entre el 58-69%, por lo que aproximadamente tendremos un 42-31% de respuestas subóptimas y fracasos (incluyendo abandonos del tratamiento por intolerancia).

Creemos que una muestra de 100 pacientes permitirá correlacionar las variables del estudio con la respuesta del grupo de pacientes con respuesta y los pacientes con respuesta subóptima.

En cuanto los niveles de PCR de mRNA y los posible relación con determinados polimorfismos de OCT-1 se realizará en el total de pacientes incluidos independientemente de la respuesta

**Criterios de valoración de la respuesta:** Criterios de respuesta de la ELN (*Baccarani M et al. JCO en prensa 2009*)

Fracaso: A 6 meses < R Ci  
A 12 meses < R Ci P  
A 18 meses < R Ci C

Respuesta subóptima: A 6 meses < R Ci P  
A 12 meses < R Ci C  
A 18 meses < R M M

### **Aspectos éticos:**

Todos los pacientes que entren en el estudio deberán firmar el consentimiento informado

Este estudio deberá ser aceptado por los CEIC (ya ha sido aprobado por el CEIC del Hospital de Bellvitge)

Se garantizará el cumplimiento de los principios de la "Declaración de Helsinki"

Se garantizará la confidencialidad mediante la asignación de código de las muestras y de los datos de los pacientes

### **Variables a estudio:**

- R hematológica
- R Ci (citogenética convencional)
- R Molecular (PCR cuantitativa)

- **Niveles de IM Cmín (a + 3, +6, +12 , +18 meses):** La determinación de la concentración plasmática mínima (Cmín) por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección de UV-VIS para la cuantificación de IM en plasma
- **m RNA OCT1:** la expresión de m RNA de OCT1 se realizará mediante PCR cuantitativa a tiempo real (QRT-PCR) con sondas de hibridación utilizando la plataforma light Cycler 480 o ABIPrism 7900 . El RNA será cuantificado y retrotranscrito a cDNA, los datos de cuantificación de cDNA de OCT1 serán normalizados utilizando datos de cuantificación obtenidos tras la cuantificación de un gen control (ABL o GUS) de las mismas muestras
- **Polimorfismos OCT1:** La detección de polimorfismos de OCT1 se realizará por secuenciación directa de dicho gen. Esta técnica nos permitirá detectar los polimorfismos que ya han sido previamente descritos (Arg61Cys, Phe160Leu, Gly401Ser, Met408Val y Met420del) así como demostrar si existen otros propios de nuestra población de estudio
- **Adherencia terapéutica:** Test de SMAQ. Cuestionario compuesto de 6 preguntas (5 dicotómicas y 1 semicuantitativa) para evaluar el grado de adherencia al tratamiento.
- **Medicación concomitante:** Se registrarán las medicaciones concomitantes en cada entrevista y se agruparán por familias que puedan interferir en las vías de metabólicas de IM

#### **Recogida de las muestras, conservación y envío:**

##### **Muestras de SP:**

- **Niveles de IM Cmín (a + 3, +6, +12 , +18 meses)**
  - Muestra de sangre (9mL) recogida a las 24 ± 3 h de la ingesta de IM en tubos de heparina de litio
  - Obtención de la fracción plasmática por centrifugación a 3000g durante 10 mín
  - Conservar en refrigeración, entre 2-8 Cº, durante un período máximo de 48h hasta el envío de las muestras al IcoBioBanc del hospital ICO-DiR
  - El calendario de extracciones se realizará coincidiendo con la realización del estudio de PCR de las evaluaciones de la respuesta molecular
  - Las muestras se conservaran en el IcoBioBanc del ICO-DiR
- **m RNA OCT1:** 1 tubo de EDTA de sp 10 mL recogida al diagnóstico y a los 18 meses de tratamiento en la cohorte de paciente de novo tratamiento y en el momento en que entren en el estudio en la cohorte de pacientes ya tratados y a los 18 meses de IM
- **Polimorfismos OCT1:** 1 tubo de EDTA de sp 10mL recogida en cualquier momento del estudio

##### **Otras variables:**

- **Adherencia terapéutica:** Test de SMAQ. Se realizará en el Servicio de Farmacia o por IP de cada centro y se remitirán al Servicio de Farmacia ICO-DiR. Se realizará cada 3 meses desde la entrada en el estudio
- **Medicación concomitante:** Se registrarán en el Servicio de Farmacia o por el IP de cada centro y se remitirán al Servicio de Farmacia ICO-DiR. Se realizará cada 3 meses desde la entrada en el estudio.
- **Respuesta citogenética y molecular:** Se realizará a + 3 meses + 6, +12 y + 18 meses en cada centro ( o en sus laboratorios de referencia) y se remitirán los resultados al IP.

Se asignará un código del estudio a cada una de las muestras a su llegada al ICO que garantice la confidencialidad de los datos de pacientes.

El envío de las muestras se realizará mediante courier MRW facilitado por PETHEMA y cuyos costes estarán patrocinados por Novartis Farmacéutica SA.

#### **Desarrollo del estudio:**

1. Para la inclusión y registro de los pacientes del estudio se realizará una solicitud por mail al IP ([c.boque@iconcologia.net](mailto:c.boque@iconcologia.net)) que recogerá los datos del médico responsable, del hospital y del paciente para otorgarle un número codificado.
2. Una vez el paciente quede registrado e incluido en el estudio el IP enviará un set de tubos debidamente etiquetados con las fechas de recogida de las muestras junto con los albaranes de envío.
3. Asimismo, se enviarán un set de sobres del courier MRW con las hojas correspondientes a los datos de los cuestionarios SMAQ y la medicación concomitante.  
(Para facilitar cumplimiento del calendario de extracciones de muestras y de las entrevistas en los sobres estarán indicadas las fechas ventana de las extracciones y/o entrevistas)
4. Las muestras biológicas se acompañarán de una hoja de envío con los datos imprescindibles para la aceptación de la muestra en los que se constarán fecha del inicio de Imatinib y la fecha y hora de la última toma de la medicación. Medicación concomitante y alteraciones GI si existieran durante el tratamiento (Anexo 1) así como los resultados de la respuesta clínica (Anexo 2) de la evaluación de la respuesta.

## ESTUDIO DE LOS FACTORES DE VARIBILIDAD DE LA RESPUESTA A IMATINIB EN PACIENTES CON LMC Ph

### Introducción

Imatinib ha supuesto un cambio sustancial en la historia natural de la LMC, tanto en sus resultados clínicos como en el manejo de los pacientes. Imatinib es un fármaco inhibidor de la Bcr-Abl tirosin-quinasa que induce la apoptosis en líneas celulares Bcr-Abl positivas, así como en células leucémicas nuevas de la LMC cromosoma Filadelfia positivo (Ph+) y en pacientes con leucemia linfoblástica aguda. Actualmente, Imatinib está indicado clínicamente en pacientes con LMC Ph+ de diagnóstico reciente como primera opción de tratamiento.

Los pacientes con LMC Ph+ que reciben Imatinib en primera línea presentan un tasa de remisiones citogénicas completas a los 12 meses de tratamiento entr el 58-69% lo que supone que el entre 31-42% de pacientes presentan respuestas subóptimas a dicho fármaco a los doce meses. La posibilidad de mejorar las respuestas en este grupo de pacientes podría suponer un cambio sustancial en los resultados clinicos, lo que creemos que puede obtenerse mediante el conocimiento de las causas de la variabilidad de la respuesta a Imatinib.

Se han identificado numerosos factores con capacidad de influir en la respuesta a un fármaco determinado, entre los cuales cabe destacar la edad, la función orgánica, la terapia concomitante recibida, las interacciones entre fármacos y la naturaleza de la enfermedad a tratar.

Existen además otros factores de variabilidad que pueden modificar la respuesta al tratamiento con Imatinib:

**1) Adherencia al tratamiento:** el cumplimiento del tratamiento por parte de los pacientes es un punto crítico en la obtención de una respuesta satisfactoria. La adherencia puede verse alterada por diferentes factores relacionados con el individuo, con la enfermedad, con el régimen terapéutico y su duración, el equipo asistencial y con el sistema sanitario.

**2) Factores Farmacocinéticos:** la relación entre farmacodinamia y parámetros farmacocinéticos de Imatinib una vez alcanzado el estado de equilibrio estacionario, que tiene lugar a los 5 o 7 días de haber iniciado el tratamiento, indica que su eficacia está directamente relacionada con el nivel de exposición al fármaco, es decir, con los niveles plasmáticos de Imatinib libre: Área bajo la curva (AUC), concentración plasmática mínima (C<sub>mín</sub>) o concetración plasmática máxima (C<sub>máx</sub>). Los diferentes procesos farmacocinéticos de Imatinib presentan varias fuentes de variabilidad intra- e interpacientes que dan lugar a la aparición de distintos patrones de absorción, distribución, metabolización y eliminación que llevan a cambios importantes en la exposición global al fármaco. La absorción de Imatinib presenta grandes diferencias en función de si su administración se realiza en condiciones de alimentación o en ayunas, siendo más lenta cuando se administra junto a alimentos grasos. Una vez se ha absorbido, el grado de distribución de Imatinib será mayor o menor en función de su afinidad por unirse a proteínas plasmáticas, como la alfa-1-ácido-glucoproteína, y de la acción de los transportadores celulares implicados en su transporte. La principal vía de metabolización de Imatinib es la hepática, por acción del enzima CYP3A4 y en menor grado por otros isoenzimas del citocromo P450, como el CYP2D6. De esta manera, todas aquellas sustancias o medicamentos concomitantes que inhiban o induzcan la

acción de estas enzimas y la propia variabilidad interpaciente a nivel de funcionalidad de dichas enzimas son una importante fuente de variabilidad en la exposición de Imatinib. Con inductores de la metabolización de Imatinib, como es el caso de la rifampicina o la hierba de San Juan, se han detectado reducciones en la exposición de Imatinib de hasta un 54% de la  $C_{m\acute{a}x}$  y de un 68% del AUC. En el extremo opuesto, con inhibidores de su metabolización como el ketoconazol, se ha detectado un incremento significativo en la exposición de Imatinib de un 26% de la  $C_{m\acute{a}x}$  y de un 40% del AUC.

**3) Factores genéticos:** Se ha estimado que la variabilidad genética es responsable del 20 al 95% de las diferencias observadas en la disposición y los efectos de un fármaco entre individuos. A pesar de que la farmacogenética se centró inicialmente en el estudio de las enzimas implicadas en el metabolismo de los fármacos, recientemente se han acumulado evidencias que ponen de manifiesto la importancia de los transportadores de membrana en los procesos de absorción, en la distribución y en la excreción de los mismos. Entre ellos cabe destacar a los transportadores de la familia SLC (solute carrier).

En humanos, la subfamilia SLC22 está compuesta por 12 miembros de transportadores de cationes orgánicos poliespecíficos (OCTs), los cuales tienen como función el transporte de substratos catiónicos endógenos y exógenos a través de la membrana plasmática en ambas direcciones, hacia el interior de la célula y hacia el exterior.

Recientemente, se ha descrito que la entrada de Imatinib en las células está mediada principalmente por la proteína OCT-1, un transportador de solutos que media únicamente el influjo de los compuestos al interior celular y no la salida de los mismos al medio. En este estudio se identificaron niveles variables de mRNA de OCT-1 en líneas celulares y en muestras de LMC recogidas antes y durante el tratamiento con Imatinib, siendo significativamente más bajos en los pacientes citogenéticamente no respondedores. Esto sugiere que

los transportadores catiónicos pueden jugar un papel relevante en la variación de las respuestas observadas en algunos pacientes tras ser tratados con Imatinib.

Además de las diferencias en los niveles de mRNA de OCT-1, se han descrito polimorfismos de un único nucleótido (SNP) en la secuencia génica de OCT-1, que se traducen en cambios aminoacídicos de la proteína y que a su vez, se asocian a variaciones en la actividad de la misma en estudios de captación de metformina en hepatocitos. También se han descrito deleciones de regiones génicas cuyo papel está todavía pendiente de determinar. No obstante, el efecto de dichas variaciones en la respuesta de los pacientes con LMC al Imatinib no ha sido explorado hasta la fecha.

Considerando el conjunto de factores citados se puede entender que existe gran variedad de causas que explican la variabilidad en la diferente exposición al fármaco, y por tanto, sus repercusiones clínicas, obteniendo un intervalo relativamente amplio en las concentraciones plasmáticas e intracelulares de cada paciente. De esta manera, las dosis de Imatinib administradas oralmente no garantizan la obtención y el mantenimiento de los niveles terapéuticos plasmáticos mínimos ( $C_{m\acute{i}nss}$ ), que deberían ser de unos 1000ng/mL (Larson RA et al. Blood 2008; 111 (8): 4022-4028).

En la actualidad existen estudios sobre factores de variabilidad e Imatinib centrados en alguno de los puntos anteriormente descritos. Estos estudios se han realizado determinando la influencia sobre la respuesta de cada factor independientemente y por distintos grupos de investigación. Nuestro estudio pretende realizar un análisis de todos estos factores de forma global y completa estudiándolos todos simultáneamente, para establecer el grado de correlación de estos factores con la respuesta clínica y disponer de información para optimizar e individualizar el tratamiento con Imatinib, en la práctica clínica asistencial, en pacientes que no obtienen resultados satisfactorios.

## **Metodología de los distintos subestudio**

### **1. ESTUDIO DE ADHERENCIA.**

Diseño: Estudio prospectivo de pacientes LMC Ph+ tratados con Imatinib.

Sujetos de estudio: Pacientes LMC Ph+ en 1ª FC tratados con Imatinib en primera línea, en régimen ambulatorio, y pacientes ya tratados que puedan ser valorados para respuesta evolutiva a los 12 meses como a mínimo.

VARIABLES: Adherencia al tratamiento a corto y largo plazo en la población estudiada.

Recogida y análisis de datos: Recogida de datos centralizada en el Servicio de Farmacia de l' Institut Català d'Oncologia. Para los pacientes los pacientes de los hospitales que participen el estudio se realizará por el IP de cada hospital que remitirá los resultados.

El grado de adherencia se determinará cuantitativamente, mediante el seguimiento de la medicación dispensada y devuelta, ambulatoriamente, con periodicidad mínima trimestral, para el cálculo del % de adherencia al tratamiento, y cualitativamente y semicuantitativamente, mediante las respuestas a un cuestionario SMAQ obtenidas durante una entrevista personalizada. En el seguimiento de los pacientes se registrará: edad, sexo, parámetros bioquímicos y hematológicos de interés, posología de Imatinib prescrita, co-morbilidad y medicación concomitante, efectos adversos derivados del tratamiento con Imatinib y su influencia en la calidad de vida del paciente. También se recogerán datos sociales como el status laboral, entorno familiar, etc.

Validación del cuestionario SMAQ: Antes de realizar el estudio de la influencia de la adherencia sobre la respuesta a Imatinib, se realizará la validación del cuestionario SMAQ mediante la correlación de los datos de este cuestionario vs los niveles plasmáticos de este fármaco.

### **2. ESTUDIO FARMACOCINÉTICO.**

Diseño: Estudio prospectivo de 2 cohortes de pacientes con LMC Ph+ en tratamiento con Imatinib.

Sujetos de estudio: Pacientes LMC Ph+ en 1ª FC tratados con Imatinib en primera línea, en régimen ambulatorio. En una cohorte de nuevos pacientes tratados con Imatinib las muestras se obtendrán los días y una segunda cohorte de pacientes con tratamiento ya iniciado con Imatinib que puedan ser valorados para respuesta mínimo a los 12 meses de iniciado el tratamiento. La extracción de muestras sanguíneas se realizará tras previo consentimiento informado del paciente.

VARIABLES: Determinación de los niveles plasmáticos mínimos de Imatinib en estado de equilibrio estacionario (C<sub>mínss</sub>).

Para evaluar la variabilidad intraindividual se analizarán: alteraciones gastrointestinales (náuseas, vómitos y diarreas), función hepática y posibles interacciones iatrogénicas.

Recogida y análisis de datos: Extracción de muestras de sangre periférica los días previstos. Identificación adecuada de las muestras (mediante codificación interna) y obtención de la fracción plasmática por duplicado. Recepción, comprobación de la calidad y conservación de las muestras en el Laboratorio de Farmacocinética. Aplicación de una técnica analítica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección UV-VIS para la cuantificación de Imatinib en plasma. Método analítico aplicado ya validado con resultados de linealidad, exactitud, precisión, selectividad, especificidad y recuperación dentro de los intervalos establecidos por las recomendaciones internacionales. El método presenta buena linealidad (coeficiente de determinación >0,99) en un rango de concentraciones de imatinib entre 97,656 y 12.500 ng/mL, con un % de recuperación superior al 50% y un límite de cuantificación de 104,2 ng/mL.

### **3. ESTUDIO FARMACOGENÓMICO**

**3.1. ESTUDIO DEL IMPACTO DE LOS POLIMORFISMOS EN OCT-1 EN LA RESISTENCIA AL TRATAMIENTO CON IMATINIB EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE LMC**



Diseño: La detección de polimorfismos de OCT1 se realizará por secuenciación directa de dicho gen. Esta técnica nos permitirá detectar los polimorfismos que ya han sido previamente descritos (Arg61Cys, Phe 160Leu, Gly401Ser, Met408Val y Met420del) así como demostrar si existen otros propios de nuestra población de estudio.

Sujetos de estudio: Todos los pacientes y su detreminación puede reslizarse en cualquier momento.

VARIABLES, RECOGIDA Y ANÁLISIS DE DATOS: El RNA será cuantificado y retrotranscrito a cDNA. Dicho cDNA se secuenciará y se comparará con la secuencia estándar del gen. Los polimorfismos detectados se describirán siguiendo la nomenclatura internacional.

### 3.2. ESTUDIO DEL IMPACTO EN LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DE mRNA DE OCT-1 EN LA RESISTENCIA AL TRATAMIENTO CON IMATINIB EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE LMC

Diseño: La expresión de mRNA de OCT1 se realizará mediante PCR cuantitativa a tiempo real (QRT-PCR) con sondas de hibridación utilizando la plataforma light Cycler 480 o ABIPrism 7900.

Sujetos de estudio: Todos los pacientes LMC Ph+ tratados con Imatinib en primera línea al diagnóstico y a los 18 meses (para el estudio de la cohorte ya tratada se utilizarán las muestras de diagnóstico retrospectivamente).

VARIABLES, RECOGIDA Y ANÁLISIS DE DATOS: el RNA será cuantificado y retrotranscrito a cDNA. Los datos de cuantificación de cDNA de OCT1 serán normalizados utilizando datos de cuantificación obtenidos tras la cuantificación de un gen control (ABL) de las mismas muestras. Cada muestra será analizada por triplicado y los valores de cuantificación harán referencia a una recta patrón estandarizada para dicho propósito.

### 4. RESPUESTA AL TRATAMIENTO

Se realizará la monitorización habitual de los pacientes en estudio y se valorará:

1. Respuesta a Imatinib: Se valorará la respuesta siguiendo las recomendaciones de consenso de "European Leukemia Net": Respuesta hematológica, respuesta citogenética y respuesta molecular. Los estudios analíticos se realizarán mediante valoración clínica, hemograma y fórmula leucocitaria, citogenética convencional y PCR cuantitativa de BCR-ABL.

2. Factores de variabilidad descritos en los subestudios anteriormente definidos.

### Recogida y envío de las muestras

Se garantizará el cumplimiento de los principios de la "Declaración de Helsinki". El protocolo de estudio está actualmente aprobado por parte del Comité Ético de Investigación Clínica referente del centro.

Se obtendrán muestras de sangre periférica a diferentes tiempos post-tratamiento con Imatinib de cada uno de las cohortes de pacientes antes mencionados. Las muestras se recogerán en los respectivos hospitales, serán remitidas por correo especial al ICO y deberán llegar como máximo a las 24-48h tras su extracción debidamente etiquetadas y con la hoja de información al Banco de Recogida de Muestras Biológicas del Instituto Catalán de Oncología (ICOBIOBANC) donde se procesarán para su posterior almacenamiento de:

- Fracción plasmática para su posterior utilización en la determinación de niveles de Imatinib
- Células y células conservadas con Ultraspec (agente que garantiza la integridad del RNA de las muestras). Posteriormente se realizarán extracciones de RNA de todas las muestras y de DNA de la muestra pre-tratamiento.

Las muestras se almacenarán a -80°C después de haberseles asignado un código interno que garantice la correcta identificación de las mismas, así como la confidencialidad en cuanto a la identidad del paciente del cual proceden. Cada muestra recibirá un código único, incluyéndose en una base de datos donde se introducirán los datos clínicos de los pacientes, sin que conste en ella ningún dato que permita la identificación de los pacientes. Esta base de datos será de acceso

restringido y estará protegida mediante contraseña y estará adecuadamente registrada en la Institución.

Será requisito imprescindible que todos los pacientes firmen un consentimiento informado en el que se indique su conformidad a la participación en el estudio y concretamente se autorice la extracción de 20mL de sangre periférica para la obtención de DNA y RNA, su almacenamiento a largo plazo y su uso en el presente estudio.

### **Estudios estadísticos**

La relación entre todas las variables estudiadas y la respuesta al tratamiento con Imatinib se realizará utilizando los estadísticos t-Student i ANOVA. Se considerarán otras variables como el tiempo desde el inicio del tratamiento con Imatinib hasta la respuesta mediante análisis univariantes (método Kaplan-Meier y log rank test para la comparación de las curvas) y análisis multivariantes (modelos de regresión de Cox). Las variables con un valor de significación  $p < 0.2$  serán incluidas en el análisis multivariante. La significación estadística se considerará cuando los valores obtenidos de p sean inferiores o iguales a 0.05. Se realizarán correcciones para tests múltiples utilizando el método del False discovery rate (FDR) o Bonferroni. Todos los análisis estadísticos se realizarán con el programa SPSS 15.0.

### **Bibliografía**

- Larson RA et al. Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic leukemia: a subanalysis of the IRIS study. *Blood* 2008;111(8):4022-4028
- Pradier et al. Efficacy of an Educational and Counseling intervention on Adherence to Highly Active Antiretroviral Therapy: French Prospective Controlled Study. *HIV Clinical Trials* Mar-Apr 2003; 4(2):121-131.
- S. Parker et al. Adherence to Warfarin Assessed by Electronic Pill Caps, Clinician Assessment, and Patient Reports: Results from the IN-RANGE Study. *Society of General Internal Medicine* 2007; 22: 1254-1259.
- Muñoz-Moreno i col. Assessing Self-Reported Adherence to HIV Therapy by Questionnaire: The SERAD (Self-Reported Adherence) Study. *AIDS Research and Human Retroviruses* Nov 2007; 23:1166-1175.
- Escobar I col. Recomendaciones GESIDA/SEFH/PNS para mejorar la adherencia al tratamineto antiretroviral en el año 2004. Grupo de Estudio de SIDA de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Abr 1999.
- Peng B. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of imatinib in a phase I trial with chronic myeloid leukemia patients. *Journal of Clinical oncology* March 2004; 22(5): 935-942.
- Philip le Coputre et al. Pharmacokinetics and cellular uptake of imatinib and its main metabolite CGP74588. *Cancer Chemother Pharmacol* 2004; 53: 313-323.
- Eckel F. Et al. Pharmacokinetic and clinical phase II trial of imatinib in patients with impaired liver function and advanced hepatocellular carcinoma. *Oncology* 2005; 69: 363-371.
- Widmer N. et al. Population pharmacokinetics of imatinib and the role of alpha-acid glycoprotein. *British journal of Clinical Pharmacology* 2006; 62 (1): 97-112.
- Smith P. et al. The influence of St. John's wort on the pharmacokinetics and protein binding of imatinib mesylate. *Pharmacotherapy* 2004; 24(11): 1508-1514.
- Dutreix C. et al. Pharmacokinetic interaction between ketoconazole and imatinib mesylate (Glivec) in healthy subjects. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2004; 54(4): 290-294.
- Schmidli H. et al. population pharmacokinetics of imatinib mesylate in patients with chronic-phase chronic myeloid leukemia: results of a phase II study. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2005; 60(1): 35-44.

- Kalow, W., Endrenyi, L. & Tang, B. Repeat administration of drugs as a means to assess the genetic component in pharmacological variability. *Pharmacology* 58, 281-4 (1999).
  - Evans, W.E. Pharmacogenomics: marshalling the human genome to individualise drug therapy. *Gut* 52 Suppl 2, ii10-8 (2003).
  - Roden, D.M. & George, A.L., Jr. The genetic basis of variability in drug responses. *Nat Rev Drug Discov* 1, 37-44 (2002).
  - Thomas, J., Wang, L., Clark, R.E. & Pirmohamed, M. Active transport of imatinib into and out of cells: implications for drug resistance. *Blood* 104, 3739-45 (2004).
  - Kerb, R. et al. Identification of genetic variations of the human organic cation transporter hOCT1 and their functional consequences. *Pharmacogenetics* 12, 591-5 (2002).
  - Shu, Y. et al. Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. *J Clin Invest* 117, 1422-31 (2007).
  - Kerb, R. Implications of genetic polymorphisms in drug transporters for pharmacotherapy. *Cancer Lett* 234, 4-33 (2006).
  - Bacarani et al. Evolving concept in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European Leukemia Net CML *Blood* 108 (6), 1809-1820.(2006)
  - White DL et al. Most CML patients who have a suboptimal response to imatinib have low OCT-1 activity: higher doses of imatinib may overcome the negative impact of low OCT-1 activity. *Blood*. 110, 4064-72 (2007).
  - White DL et al. OCT-1 mediated influx is a key determinant of the intracellular uptake of imatinib but not nilotinib (AMN107): reduced OCT-1 activity is the cause of low in vitro sensitivity to imatinib. *Blood*. 108, 697-704 (2006).
- Velandian T et al. Development and validation of a simple liquid chromatographic method with ultraviolet detection for determination of imatinib biological samples. *Journal of Chromatography B*. 2004; 804: 431-434.

## **ANEXO 1**

INICIALES DEL PACIENTE:

Numero del paciente:

CODIGO HOSPITAL:

Nombre del Investigador:

FECHA DE NACIMIENTO DEL PACIENTE

FECHA DEL DIAGNOSTICO LMC

FECHA INICIO DEL IMATINIB

FECHA FIRMA

Consetimiento informado

Entrada en el estudio

Muestras remitidas:

Heparina litio

EDTA

Fecha extraccion de la muestra

Fecha valoracion de respuesta Citogenetica

Fecha valoracion respuesta molecular

Dosis de Imatinib

Fecha de la ulltima toma de Imatinib

Hora de la ultima toma de Imatinib

Comentarios:

## ANEXO 2

INICIALES DEL PACIENTE:

Numero del paciente:

CODIGO HOSPITAL:

Nombre del Investigador:

FECHA DE NACIMIENTO DEL PACIENTE

FECHA DEL DIAGNOSTICO LMC

FECHA INICIO DEL IMATINIB

FECHA FIRMA

Consentimiento informado

Entrada en el estudio

Datos al diagnostico

Edad:

Hb: g l

Leucocitos x10<sup>9</sup> l

Eosinofilos                      Basofilos                      Blastos

Plaquetas

Bazo cm

Sokal score:

Respuesta

+ 1 mes: hematologica: C/ P    citogenetica %Ph:                      molecular ratio

+ 3 meses

+ 6 meses

+ 12 meses

+ 18 meses:

Toxicidad a IM .

Tipo: GI/ dermica/ cardiaca /Hepatica/ muscular/ otras:

Grado:

Suspensión de IM: si /no

< 15 dias

>15 < 60

> 60

Cambio de tratamiento

fecha

motivo

Salida del estudio

Motivo