

# Chronická myeloidná leukémia

## Chronic Myeloid Leukemia

Jaromír Tupý<sup>1,2</sup>, Simona Liová<sup>1</sup>, Ivan Ondrášik<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakulta zdravotníctva, Katolícka univerzita v Ružomberku

<sup>2</sup>Klinika hematológie a transfúziológie, Ústredná vojenská nemocnica SNP Ružomberok - FN

<https://doi.org/10.54937/zs.2022.14.1.3-11>

### Abstrakt

Chronická myeloidná leukémia (CML) je klonálne myeloproliferatívne ochorenie charakterizované prítomnosťou Philadelphia chromozómu, ktorý vzniká recipročnou translokáciou medzi chromozómami 9 a 22 a fúznym génom BCR/ABL1. Gén kóduje aktivovanú tyrozínovú kinázu Bcr-Abl, ktorá je kľúčovou molekulou vedúcou k vzniku ochorenia.

**Kľúčové slová:** Chronická myeloidná leukémia. Philadelphia chromozóm. BCR-ABL. Inhibitory tyrozínkinázy.

### Abstract

Chronic myeloid leukemia is a hematopoietic malignancy resulting from the transformation of a primitive hematopoietic cell. It is a clonal myeloproliferative disease characterized by the presence of the Philadelphia chromosome, which results from a reciprocal translocation between chromosomes 9 and 22. CML is generally thought to develop from the transformation of primitive hematopoietic stem cells with the BCR-ABL fusion gene.

**Key words:** Chronic myeloid leukemia. Philadelphia chromosome. BCR-ABL. Tyrosine kinase inhibitors.

### Úvod

Chronická myeloidná leukémia (CML) je hematopoetická malignita pochádzajúca z transformácie primitívnej hematopoetickej bunky. Bez liečby postupuje z počiatočnej chronickej fázy, charakterizovanej hyperpláziou kostnej drene a zvýšeným počtom cirkulujúcich diferencovaných myeloidných buniek, do pokročilejších fáz, ako sú akcelerovaná fáza a blastová kríza. Tie sú vyznačené blokom diferenciácie, akumuláciou blastov a vyčerpaním normálnych krvotvorných buniek - najmä bielych krviniek - leukocytov (Le) a krvných doštičiek - trombocytov (Trc) [1,2].

CML je klonálne myeloproliferatívne ochorenie charakterizované prítomnosťou Philadelphia chromozómu, ktorý vzniká recipročnou translokáciou medzi chromozómami 9 a 22. Za nekontrolované množenie krvotvorných buniek a z toho vyplývajúcich prejavov ochorenia je zodpovedná konštitutívne aktivovaná Bcr-Abl tyrozínkináza, ktorá je kódovaná BCR-ABL1 génom.

Primitívne hematopoetické kmeňové bunky transformované fúznym génom BCR-ABL majú proliferatívnu výhodu oproti normálnym krvotvorným bunkám, čo umožňuje, aby Ph-pozitívny klon postupne vytesnil normálnu hematopoézu. V súlade s pôvodom ochorenia sa translokácia nachádzala nielen v bunkách myeloidného pôvodu, ale aj v erytroidných, megakaryocytových a B-lymfoidných bunkách. Hematopoetická expanzia primárne zahŕňajúca nárast počtu myeloidných buniek súvisiaci s expanziou zrelých, ako aj prekurzorových a progenitorových buniek je prezentovaná ako výsledok chronickej fázy [1,2].

Prítomnosť unikátnej genetickej abnormality so silným patogenetickým potenciálom umožnila vývoj špecifických inhibítorov patologickej tyrozínkinázy. Ich uvedenie do klinickej praxe, hlavne ich účinnosť revolučným spôsobom zmenili liečebný manažment a prognózu tohoto ochorenia, čo dokladá aj medián prežitia pacientov diagnostikovaných v chronickej fáze - odhadovaný na viac ako 25 rokov [3].

### Chronická myeloidná leukémia definícia a incidencia

Chronická myeloidná leukémia je klonálne myeloproliferatívne ochorenie charakterizované prítomnosťou Philadelphia chromozómu, ktorý vzniká recipročnou translokáciou medzi chromozómami 9 a 22. Za nekontrolované množenie krvotvorných buniek a z toho vyplývajúcich prejavov ochorenia je zodpovedná konštitutívne aktivovaná Bcr-Abl tyrozínkináza, ktorá je kódovaná BCR-ABL1 génom.

Histórické aspekty etiológie CML začínajú v roku 1960, keď Peter Novell a David Hungerford objavili abnormálne malý chromozóm skupiny G - teraz po meste objavu nazývaný chromozóm Philadelphia (Ph). Išlo o prvý dôkaz, že choroba vedie k určitým zmenám v DNA a abnormálny Ph chromozóm bol prvou konzistentnou chromozomálnou abnormalitou u ľudských zhubných nádorov. V roku 1973 Janet Rowleyová zistila, že Ph chromozóm je produktom t(9,22)(q34;q11) recipročnej translokácie medzi chromozómami, a neskôr v 80. rokoch 20. storočia Nora Heisterkamp verifikovala, že táto translokácia generuje fúzny onkogén BCR-ABL.

CML je trojfázová myeloproliferatívna porucha, ktorá začína latentnou fázou nazývanou chronická fáza (chronic phase; CP). Charakterizuje ju hyperplázia kostnej drene s deregulovaným rastom progenitorových buniek a zvýšeným počtom cirkulujúcich diferencovaných myeloidných buniek, ktorý vedie k prejavom symptómov ochorenia. Neliečená chronická fáza CML spontánne progreduje do pokročilejšej akcelerovanej fázy (accelerated phase; AP) a následne prechádza do agresívnej fázy - blastovej krízy (blast crisis; BC). Tie sú vyznačené blokom diferenciácie, akumuláciou blastov a vyčerpaním normálnych krvotvorných buniek. Počas progresie ochorenia dochádza k ďalším molekulárnym a biologickým zmenám v populácii HSC buniek v čoho dôsledku pacienti prestanú reagovať na liečbu [4].

Do 70. rokov 20. storočia bola CML považovaná za nevyliciteľnú a nevyhnutne smrteľnú poruchu. Neskôr sa u vybraných pacientov stala kuratívnu metódou alogénna transplantácia kostnej drene. Transplantačná terapia CML je však obmedzená dostupnosťou darcu a rizikom život ohrozujúcej toxicity. Až inhibítory tyrozínkinázy (TKIs), ktoré špecificky blokujú enzymatické pôsobenie abnormálnej tyrozínkinázy kódovanej fúznym onkogénom, viedli k vysokej miere remisie a zlepšenému prežitiu u pacientov s CML [1,2].

CML je najčastejším z myeloproliferatívnych neoplazií a predstavuje 15-20% všetkých prípadov leukémie u dospelých. Ochorenie sa vyskytuje v každom veku, no prevažuje medián 46-53 rokov. Ročný výskyt CML je 1-1,5 prípadu na 100 000 obyvateľov. Priemerný vek pri diagnostikovaní je 67 rokov a incidencia prudko stúpa s vekom. Ochorenie sa vyskytuje o niečo častejšie u mužov ako u žien. CML sa môže vyskytnúť aj u detí, ale iba približne v 10 % prípadov sa vyskytuje u jedincov vo veku od 5 do 20 rokov, čo predstavuje iba 3% všetkých detských leukémií. Medzi identickými dvojčatami nie je dodržaná zhoda v chorobe [5].

### Etiopatogenéza CML

CML bola v polovici 19. storočia bez ďalších vysvetlení rozpoznaná ako odlišná entita spojená s masívnou splenomegáliou a leukocytózou. Novodobú históriu ochorenia iniciovali novo vyvinuté techniky na detekciu malého chromozómu (Ph chromozómu) v metafázových prípravkoch buniek drene od pacientov s CML.

Ph chromozóm bol prvýkrát identifikovaný ako krátky chromozóm 22. Trvalo trinásť rokov, kým sa poznanie rozšírilo, že za Ph chromozóm je zodpovedná recipročná translokácia medzi dlhými ramenami chromozómov 9 a 22. Táto získaná somatická mutácia špecificky odráža translokáciu protoonkogénu ABL1 z pásu q34 chromozómu 9 do oblasti klastra bodu zlomu (BCR) pásu q11 chromozómu 22, čo vedie k jedinečnému chimérickému génu BCR-ABL1.

Mechanizmus, ktorým je chromozóm Ph vytvorený a čas potrebný na progresiu do zjavného ochorenia nie sú známe, no predpokladá sa určitá spojitosť s žiarením [1,2].

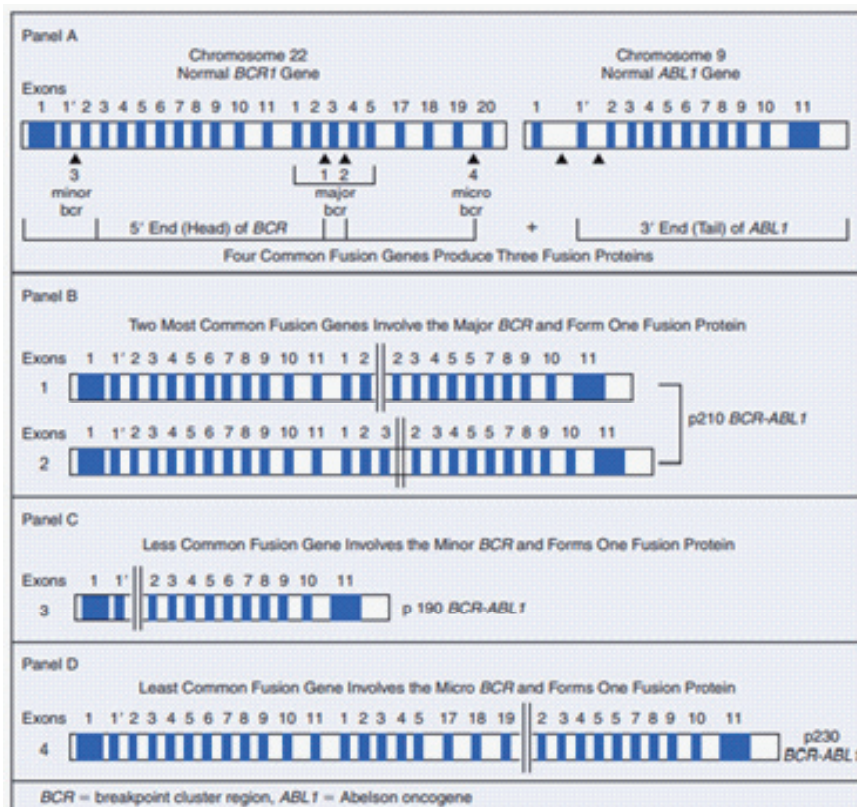
### Chimérický gén BCR-ABL

Translokácia t(9;22), bola identifikovaná v štyroch primárnych molekulárnych formách, ktoré produkujú tri verzie chimérického proteínu BCR-ABL1: p190, p210 a p230 (obr. 1). Štyri genetické variácie sú založené na oblasti génu BCR, ktorý sa nachádza v bode zlomu na chromozóme 22. Bod zlomu na chromozóme 9 sa vyskytuje na rovnakom mieste. Normálny ABL1 gén na chromozóme 9 je relatívne veľký gén s veľkosťou približne 230 kilobáz (kb) obsahujúci 11 exónov. Bod zlomu sa konzistentne vyskytuje 5' od druhého exónu, takže exóny 2 až 11 prispievajú k fúznemu génu BCR-ABL1 [6].

V ľudskom génome sú štyri gény BCR: BCR1, BCR2, BCR3 a BCR4. Na translokácii Philadelphia sa podieľa BCR1

gén. Normálny BCR1 má približne 100 kb s 20 exónmi. V roku 1984 Groffen a jeho kolegovia identifikovali BCR na chromozóme 22 ako oblasť 5 exónov zahŕňajúcu exóny 12 až 16, ktorá bola oblasťou zlomu v tradičnej t(9;22) translokácii [7]. Tá bola neskôr označená ako major (hlavná) BCR oblasť. Dve ďalšie oblasti zlomu boli identifikované na chromozóme 22, jedna blízko 5' (hlava) génu BCR1, nazývaná minor BCR, a jedna na 3' konci (chvost) génu BCR1, nazývaná mikro BCR. Jedna oblasť bodu zlomu v minoritnom BCR a jedna oblasť bodu zlomu v mikro BCR vytvárajú štyri verzie génu BCR, ktoré sa kombinujú s exónmi 2 až 11 génu ABL1 za vzniku štyroch verzií chimérického génu BCR-ABL1.

V rámci hlavného (major) BCR predstavujú dva špecifické zlomové body translokáciu t(9;22), ktorá sa podieľa na rozvoji CML. Prerušenie v géne BCR1 v hlavnom BCR prispieva k exónom 1 až 13 alebo 1 až 14, zatiaľ čo gén ABL1 prispieva k exónom 2 až 11. Pretože sa dva body zlomu v hlavnom BCR líšia iba o jeden exón, chimérický proteínový produkt je v podstate rovnakej veľkosti a je označený ako proteín p210. Prerušenie v menšom BCR prispieva iba exónom 1 z BCR1, ktorý sa spája s rovnakými exónmi 2 až 11 ABL1 za vzniku proteínu p190. Prerušovací bod mikro BCR prispieva k exónom 2 až 19 z BCR1, ktoré fúzujú s 2 až 11 exónmi ABL1, čím vzniká proteín p230. Výsledkom sú štyri možné BCR body zlomu (obr. 1) produkujúce štyri rôzne chimérické gény, čo vedie k celkom trom rôznym proteínovým produktom [8].



Obr. 1 Molekulárna biológia BCR ABL1 fúzneho génu

(A) Normálny BCR1 gén na chromozóme 22 a ABL1 gén na chromozóme 9; (B) Dva produkty fúzneho génu BCR z BCR major.; (C) Produkt fúzneho génu z BCR minor.; (D) Produkt fúzneho génu z BCR micro (Keohane, et. al, 2020; [9]).

Fúzny gén BCR-ABL1 sledujeme aj pri ALL s pozitívnym Philadelphia chromozómom. Chromozóm sa vyskytuje u 20 % dospelých a 2-5 % detí s týmto ochorením [10].

### Patogenetický mechanizmus

Aby sme pochopili aberantnú funkciu fúzneho proteínu BCR-ABL1, je najprv užitočné pochopiť normálne proteíny BCR aj ABL1. Normálny proteín ABL1, keď je na svojom obvyklom mieste na chromozóme 9, kóduje p125, ktorý vykazuje normálnu aktivitu tyrozínkinázy. BCR1 gén produkuje p160, exprimuje aktivitu serín/treonínkinázy a predpokladá sa vplyv pri regulácii bunkového rastu.

Proteínkinázy sú enzýmy, ktoré katalyzujú prenos fosfátových skupín z adenosíntrifosfátu (ATP), guanosíntrifosfátu (GTP) a iných donorov fosfátov na prijímacie proteíny. Tyrozínkináza prenáša fosfátovú skupinu na tyrozínovú aminokyselinu na prijímacom proteíne. Aby došlo ku kinázovej aktivite proteínu ABL1, proteín ABL1 musí byť najskôr fosforylovaný. Toto sa často dosahuje autofosforyláciou. ABL1 proteín má tri primárne domény nazývané SH1, SH2 a SH3, ktoré spolu exprimujú a regulujú aktivitu kinázy. SH1 je väzbové miesto pre ATP; SH2 je dokovací bod pre fosfátové reciverové proteíny; a SH3 je doména, ktorá riadi aktivitu fosforylácie. Keď sa ATP naviaže na väzbové miesto pre ATP, fosfát sa prenesie do oblasti SH2 proteínu ABL, čo iniciuje konformačnú zmenu, ktorá zmení terciárnu štruktúru proteínu a odkryje aktívne miesto enzýmu kinázy. Keď sa druhý ATP viaže na väzbové miesto pre ATP a prijímajúci proteín ukotví doménu SH2, fosfátová skupina sa prenesie na prijímajúci proteín.

Vo väčšine fyziologicky normálnych vnútrobunkových dráhach fosforylácia proteínov aktivuje prijímacie proteíny. Táto fosforylácia iniciuje kaskádu fosforylačných udalostí, z ktorých každá aktivuje ďalší proteín, kým sa neaktivuje transkripčný faktor. Tieto aktivačné kaskády, nazývané signálne transdukčné dráhy. Sú navrhnuté tak, aby aktivovali gény potrebné na kontrolu bunkovej proliferácie, diferenciácie a prirodzenej bunkovej smrti (apoptózy). Existuje niekoľko signálnych transdukčných dráh aktivovaných tyrozínkinázou ABL1, ktoré fungujú spoločne, aby aktivovali tieto gény v presnom poradí a na požadovanej úrovni aktivácie na kontrolu týchto bunkových udalostí [8].

V prípade CML sa translokácia BCR-ABL1 náchádza vedľa domény SH3 skupiny ABL1, ktorá je určená na riadenie rýchlosti a načasovania fosforylácie. Preto BCR-ABL1 tyrozínkináza stráca schopnosť vypnúť kinázovú aktivitu - má konštitutívnu tyrozínkinázovú aktivitu. Enzým BCR-ABL1 nepretržite pridáva fosfátové skupiny k tyrozínovým zvyškom na cytoplazmatických proteínoch, čím aktivuje niekoľko dráh prenosu signálu. Tieto dráhy stimulujú génovú expresiu, udržiavajú proliferáciu myeloidných buniek, znižujú diferenciáciu a adhéziu buniek na strómu kostnej drene a prakticky eliminujú apoptózu. Jej funkcie sa strácajú, pretože fúzny proteín BCR-ABL1 má tendenciu byť sekvestrovaný v cytoplazme, ktorá má antiapoptotické funkcie.

Výsledkom je zvýšená klonálna proliferácia myeloidných buniek ako produkt zníženia alebo straty citlivosti na proteínové regulátory. V dôsledku aktivácie génu RAS a zníženiu odolnosti voči apoptóze dochádza k spomaleniu bunkovej proliferácie závislej od rastového faktora. Nové klony kmeňových buniek citlivé na ďalšie genetické zmeny vedú k vývoju CML. Mutácia ovplyvňuje dozrievanie a diferenciáciu krvotvorných a lymfopoetických buniek (neutrofilov, eozinofilov, bazofilov,

monocyty, jadrové erytrocyty, megakaryocyty a B lymfocyty), ktorých potomstvo nakoniec u postihnutého jedinca dominuje [11,12].

Okrem toho strata genetických segmentov na 5' konci génu ABL1 má za následok zmenenú afinitu väzania proteínov k F-aktínu, čo vedie k zníženiu kontaktnej väzby hematopoetických CML buniek na bunky strómy, čo spôsobuje predčasné uvoľnenie buniek do obehu (Bhatia, Verfaillie, 1998). Abnormálna adhézia medzi kmeňovými bunkami a strómou môže narušiť reguláciu hematopoézy (efekt liečby interferónom- $\alpha$ ) [12].

### Klinický obraz a laboratórna diagnostika

Väčšina pacientov s CML (> 90 %) prítomných v chronickej fáze je často diagnostikovaná náhodne počas rutinného vyšetrenia alebo vyšetrenia na iné ochorenie.

#### Klinický obraz

Symptómy zvyčajne zahŕňajú únavu, stratu hmotnosti, bolesť kostí, potenie a abdominálny diskomfort, bledosť a skoré zasýtenie súvisiace so splenomegáliou. Symptómy vo všeobecnosti nastupujú postupne počas týždňov až mesiacov. Menej časté symptómy zahŕňajú symptómy súvisiace s leukostázou, akútnou bolesťou brucha súvisiacou s infarktom sleziny, priapizmom a hypermetabolizmom, hyperurikémiou a dnovou artritídou [13].

#### Laboratórna diagnostika

Laboratórna diagnostika spočíva vo vyšetrení krvného obrazu, kostnej drene a biochemických parametrov. Veľkú úlohu zohráva cytogenetické a molekulárno-cytogenetické vyšetrenie.

#### Výšetrenie krvného obrazu

Prezentácia laboratórných nálezov vo všeobecnosti zahŕňa leukocytózu, trombocytózu a anémiu (obr.2).

#### Leukocyty

Počet bielych krviniek je v čase diagnózy zvýšený, zvyčajne vyšší ako  $25 \times 10^9/l$  a ak sa pacient nelieči, tak sa progresívne zvyšuje. Diferenciálne rozpočty leukocytov odhalia v periférnej krvi granulocyty vo všetkých štádiách diferenciácie u viac ako 90 % pacientov. Vzostup môže byť cyklický, môže sa zvýšiť v reakcii na infekciu a zápal alebo znížiť liečbou. Funkčné abnormality neutrofilov sú mierne a nesúvisia s predispozíciou na infekciu. Hoci relatívny (percentuálny) podiel eozinofilov zvyčajne nie je zvýšený, ich absolútny počet môže dosahovať vyššie hodnoty. Absolútny počet bazofilov je takmer vždy pri CML zvýšený (u pacientov v CP je zvyčajne nižší ako 15 %, hoci zriedkavo môže byť vyšší). Absolútny počet lymfocytov sa zvyšuje v dôsledku zvýšenia T buniek (B lymfocyty nestúpajú).

Na počiatočné testovanie a predbežnú diferenciáciu CML od leukemoidnej reakcie spôsobenej závažnou infekciou možno stanoviť aktivitu enzýmu leukocytárnej alkalickéj fosfatázy (LAP), t.j. enzýmu nachádzajúceho sa v membránach sekundárnych granúl neutrofilov. Na uskutočnenie LAP sa krvný náter inkubuje s naftol-fosfátovým substrátom a diazofarbivom pri alkalickom pH. Enzým hydrolyzuje substrát a uvoľnený naftol reaguje s farbivom za vzniku farebnej zrazeniny na granulách. Sklíčko sa mikroskopicky skúma a spočíta sa 100 segmentovaných neutrofilov a pásov a ohodnotí sa od 0 do 4+ na základe intenzity zafarbenia. Skóre LAP sa vypočíta vynásobením každého skóre počtom buniek a pridaním

produktov. Pretože bodovanie je subjektívne, priemerné skóre dvoch skúšajúcich by malo byť v rozmedzí 10%.

Referenčný interval vzorky pre skóre LAP je 15 až 170, ale každé laboratórium si stanoví svoj vlastný. Skóre LAP je znížené pri neliečenej CML a normálne alebo zvýšené pri leukemoidných reakciách. Jedinci s PV alebo osoby v treťom trimestri tehotenstva môžu mať tiež vyššie skóre LAP [5].

#### Trombocyty

Počet krvných doštičiek je v čase diagnózy zvýšený u 50 % pacientov. Okrem trombocytémie sa môže vyskytnúť aj dysfunkcia krvných doštičiek - poruchy zrážania, trombózy a krvácania sú zriedkavé. Trombocytopenia je pri diagnóze zriedkavá a zvyčajne je znakom progresie smerom k AP. Najčastejšou abnormalitou je porucha agregácie po epinefrine, ktorá je spojená s nedostatkom adeninnukleotidov v zásobnom poole. V čase diagnózy je u väčšiny pacientov hematokrit trombocytov znížený [4,5].

#### Erytrocyty

Červené krvinky majú tendenciu vykazovať len mierne zmeny so zvýšenou variabilitou veľkosti a tvaru. Môže byť pozorovaný malý počet červených krviniek s jadrom a mierna retikulocytóza [4,5].

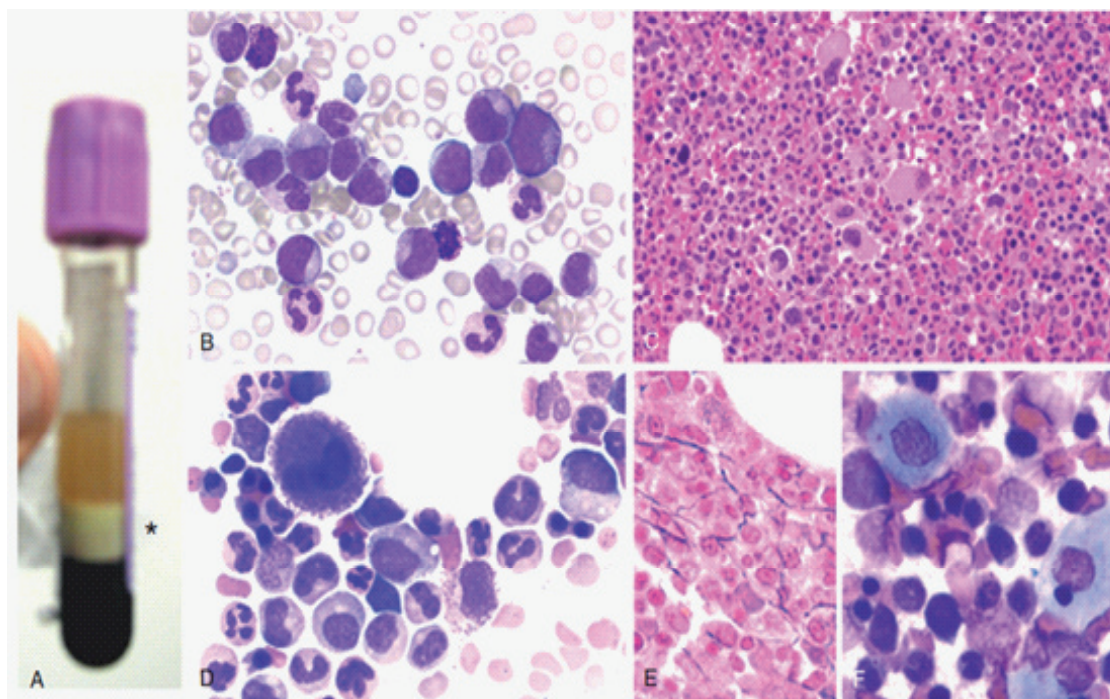
#### Vyšetrenie kostnej drene

Vyšetrenie kostnej drene zvyčajne odhalí hypercelulárnu dreň so 75-90 % celularitou (obr.2). Pomer granulocytov a erytrocytov sa zvýši na 10-30:1 v prospech zvýšenej granulopoézy a zníženej erythropoézy. Môžu byť zvýšené eozinofily a bazofily.

Blasty zvyčajne predstavujú menej ako 5 % buniek. Prítomnosť viac ako 10 % blastov indikuje transformáciu na AP. Megakaryocyty sú menšie ako zvyčajne a môžu mať hyposegmentované jadrá. Ich počty môžu byť normálne alebo mierne znížené, ale 40-50 % pacientov vykazuje strednú až rozsiahlu proliferáciu megakaryocytov.

Približne polovica pacientov vykazuje zvýšenú retikulínovú fibrózu, ktorá môže súvisieť so zvýšenými megakaryocytmi v kostnej dreni. Fibróza môže byť spojená s väčšou veľkosťou sleziny, anémiou a zvýšenými blastami v krvi a dreni. Typicky zvýšený je kolagén typu III detegovaný farbením striebrom. Pseudo-Gaucherove bunky a histiocyty možno pozorovať v 30 % vzoriek.

S biotickým vyšetrením súvisia aj nálezy na slezina a pečeni. Slezina vykazuje zväčšenie súvisiace s infiltráciou povrazcov červenej pulpy granulocytmi. Pečeň môže vykazovať infiltráciu granulocytárnymi bunkami v portálových oblastiach a pečňových sínusoidoch [5].



**Obr. 2** Chronická myeloidná leukémia, periférna krv a obrázky krevného náteru a aspirát kostnej drene a aspirát v chronickej fáze.

(A) Odstredená skúmavka periférnej krvi (odobratá do kyseliny etyléndiamintetraoctovej) od pacienta s chronickou myeloidnou fázou CML prezentované s počtom bielych krviniek asi 600 K/uL. Všimnite si výrazne rozšírenú vrstvu „buffy coat“ (hviezdička) v dôsledku závažnej leukocytózy. ; (B) Periférny náter vykazujúci výraznú leukocytózu v dôsledku granulocytárnej proliferácie všetkých štádií s obzvlášť zvýšenými myelocytmi a absolútnou bazofiliou; (C) Biopsia kostnej drene ilustrujúca výrazne hypercelulárnu dreň v dôsledku proliferácie granulocytov a zvýšených malých hypolobovaných megakaryocytov; (D) Aspirát kostnej drene vykazujúci rovnakú granulocytárnú proliferáciu a malé „trpasličie“ megakaryocyty; (E) Mierna fibróza (retikulínové farbenie); (F) Gaucherove bunky (Hoffman, et al., 2018; [5]).

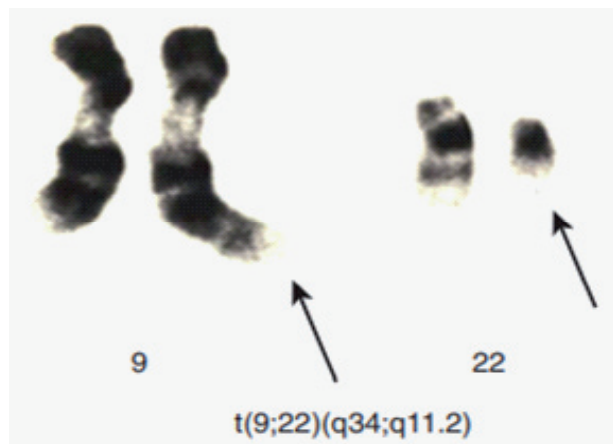
#### Biochemické vyšetrenie

Biochemické abnormality pozorované u pacientov s neliečenou CML zahŕňajú hyperurikémiu a hyperurikosúriu. Tvorba urátových kameňov je bežná a u pacientov so základnou predispozíciou sa môže vyvinúť akútna dnová artritída alebo urátová nefropatia. Pseudohyperkalémiu možno pozorovať v súvislosti s uvoľňovaním draslíka z leukocytov počas zrážania.

Pacienti majú zvýšené sérové hladiny väzbovej kapacity vitamínu B<sub>12</sub> súvisiace s uvoľňovaním transkobalamínu I a II zo zrelých neutrofilov. Hladina B<sub>12</sub> v sére pri CML je v priemere 10-krát vyššia ako normálne. Sérová laktátdehydrogenáza je zvýšená. Pseudo hypoglykémia alebo hypoxémia môže nastať vplyvom neutrofilov po odbere vzorky [13].

*Cytogenetické a molekulárno-cytogenetické vyšetrenie*

Cytogenetické vyšetrenie ukazuje t(9;22)(q34;q11) a Ph chromozóm u viac ako 90 % pacientov (obr.3). Okrem Philadelphia chromozómu môžeme asi u 20 % pacientov pozorovať aj ďalšie abnormality ako sú -Y a +8, no u nich sa nepreukázalo, že by ovplyvnili priebeh ochorenia. Variantné Ph chromozómy sú pozorované u 5 % pacientov s komplexnou prestavbou zahŕňajúcou výmenu materiálu s ďalším chromozómom okrem chromozómov 9 a 22.



**Obr. 3** Čiastočný karyotyp zobrazujúci t(9;22) (q34;q11). Filadelfia chromozóm je derivát chromozómu 22 (šípka vpravo). (Hoffman, et al., 2018; [5])

Metodológia používaná na identifikáciu BCR-ABL transkriptov sa v priebehu rokov vyvíjala. Pôvodne bolo možné identifikovať prítomnosť alebo neprítomnosť transkriptov BCR-ABL buď jednostupňovou amplifikáciou alebo dvojstupňovou „vnorenou“ amplifikáciou s vnútornými primermi. Kvantitatívna PCR v reálnom čase (RQ-PCR) poskytuje presné meranie celkovej hmoty leukemických buniek a mieru, do akej sú transkripty BCR-ABL redukované terapiou, koreluje s prežitím bez progresie.

V roku 2005 boli predložené návrhy na harmonizáciu rôznych metodík na meranie transkriptov BCR-ABL u pacientov s CML podstupujúcich liečbu s pomocou konverzného faktora, pomocou ktorého môžu jednotlivé laboratóriá vyjadrovať hladiny transkriptu BCR-ABL v medzinárodne dohodnutom meradle. Taktiež bol prijatý konsenzus na použitie sériových kvantitatívnych výsledkov PCR namiesto cytogenetiky kostnej drene alebo FISH pre gén BCR-ABL na monitorovanie jednotlivých pacientov reagujúcich na liečbu a detekciu a hlásenie Ph-pozitívnych subpopulácií nesúcich mutácie BCR-ABL

kinázovej domény. Následne bola vyvinutá a implementovaná medzinárodná škála na porovnanie hladín BCR-ABL mRNA z jednotlivých laboratórií, aby sa uľahčila spoločná interpretácia a aby sa usmernilo klinické rozhodovanie. Hodnoty BCR-ABL generované rôznymi laboratóriami boli zosúladené s medzinárodnou mierkou tak, že hlavná molekulárna odpoveď (MMR) bola definovaná ako hodnoty BCR-ABL = 0,1 % alebo [13].

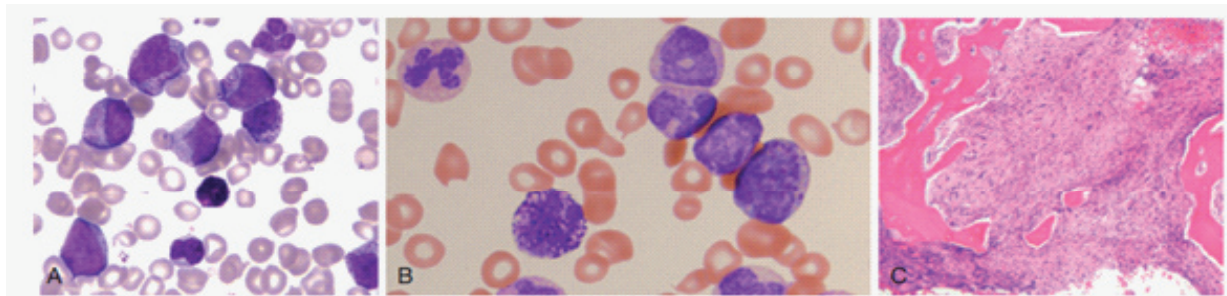
U každého nového pacienta, ktorého krvný obraz naznačuje diagnózu chronickej MPN, je detekcia transkriptov BCR-ABL vo vzorke krvi pravdepodobne najlepším spôsobom na potvrdenie diagnózy CML. Cytogenetika kostnej drene je nevyhnutná na identifikáciu akýchkoľvek neobvyklých translokácií alebo ďalších cytogenetických abnormalít a RQ-PCR pre BCR-ABL pri diagnóze určí, či sú prítomné bežne pozorované transkripty e13a2 (b2a2) alebo e14a2 (b3a2) alebo či je prítomný jeden z menej bežných fúzných transkriptov, ktoré nie sú amplifikované štandardnými sadami primerov. To môže zabrániť zmätku, ak má pacient po terapii nedetegovateľné transkripty BCR-ABL, pretože ich transkripty neboli amplifikované v štandardnom teste. Ak odber buniek kostnej drene nie je možný, alternatívnou metódou na potvrdenie diagnózy je FISH vykonaná na vzorke krvi s použitím duálnych sond pre gény BCR a ABL. FISH môže tiež detegovať cytogeneticky „tiché“ BCR-ABL preskupenia a delécie v deriváte 9q+, ktoré majú prognostický význam, a preto sa majú uskutočniť v spojení s cytogenetikou kostnej drene a RQ-PCR pre BCR-ABL transkripty [14].

**Definícia fáz ochorenia**

Chronická myeloidná leukémia je ochorenie prechádzajúce niekoľkými fázami. Ich rozlíšenie bolo možné prijatím konsenzu hodnôt a nálezov vyšetrení.

**Akcelerovaná fáza**

Vo všeobecnosti je AP charakterizovaná príznakmi horúčky, nočného potenia, úbytku hmotnosti a bolesti kostí, zvýšeným počtom blastov a skorých myeloidných buniek v kostnej dreni a periférnej krvi a dôkazom karyotypovej evolúcie. Klasifikácia Svetovej Zdravotnej Organizácie definuje AP CML jednou alebo viacerými z nasledujúcich zmien: 10-19 % myeloblastov v periférnej krvi alebo kostnej dreni; bazofily v periférnej krvi vyššie ako 20 %; pretrvávajúca trombocytopenia, menej ako 100x10<sup>9</sup>/l; perzistentná trombocytóza viac ako 1000x10<sup>9</sup>/l nesúvisiaca s terapiou; zvýšenie počtu Le a zväčšenie sleziny nereagujúce na liečbu a/alebo dôkaz klonálnej evolúcie - najbežnejšie cytogenetické zmeny spojené s vývojom ochorenia sú ďalší Ph chromozóm, trizómia 8, izochróm I(17q) a trizómia 19 (tab. 1; obr. 4).



**Obr. 4** Chronická myeloidná leukémia, akcelerovaná fáza.

(A) Periférny náter vykazujúci zvýšenú nezrelosť v prípade, v ktorom blasty tvorili viac ako 10 % cirkulujúcich leukocytov. (B) Periférny náter ilustrujúci zvýšené bazofily v prípade, v ktorom bazofily tvorili viac ako 20 % cirkulujúcich leukocytov. (C) Biopsia kostnej drene ukazuje zvýšenú fibrózu a malý dysplastický megakaryocyt. Tieto zistenia naznačujú akcelerovanú fázu (Hoffman, et al., 2018; [5]).

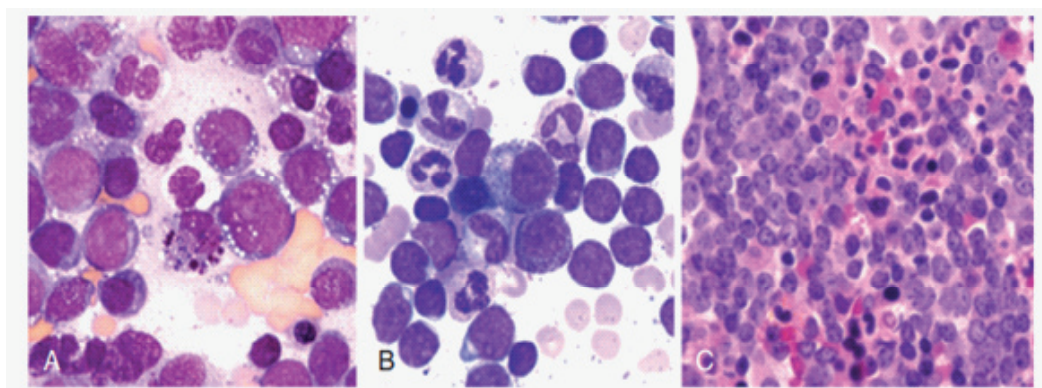
Tab. 1 Definícia fáz CML podľa WHO klasifikácie. (Vydra, a kol., 2019; [15]).

Chronická fáza	
Akcelerovaná fáza	Leukocytóza alebo splenomegália nereagujúca na liečbu. Blasty 10-19 % v KD alebo PK. Trombocytopenia nevyvolaná liečbou. Trombocytóza > 1000x 10 <sup>9</sup> /l nereagujúca na liečbu. Bazofily v PK > 20 % Cytogenetický dôkaz klonálnej evolúcie.
Blastová fáza	Blasty > 20 % v PK alebo KD. Extramedulárna infiltrácia blastov. Veľké ložiská alebo zhluky blastov v kostnej dreni (CD34+, TdT+).
Skratky: KD: kostná dreň, PK: periférna krv	

### Blastová fáza

Blastová fáza pripomína akútnu leukémiu. Definovaná je ako prítomnosť viac ako 20 % blastov v kostnej dreni alebo periférnej krvi, prítomnosťou veľkých agregátov a zhlukov blastov v biopsii kostnej drene alebo rozvojom extramedulárnych

blastických infiltrátov (tab. 1; obr. 5). U približne dvoch tretín pacientov majú blasty myeloidný alebo nediferencovaný fenotyp, zatiaľ čo u zvyšnej tretiny sa blasty javia ako lymfoidné. Na charakterizáciu povahy blastov sa odporúča imunofenotypová analýza (vyšetrenie prietokovou cytometriou) [14].



Obr. 5 Chronická myeloidná leukémia, blastová fáza.

(A) Aspirát kostnej drene zobrazujúci myeloidnú blastickú fázu spojenú s t(9;22) a inv(16). Všimnite si abnormálne eozinofily (v strede); (B) Aspirát kostnej drene vykazujúci lymfoidnú blastickú fázu na pozadí reziduálnej chronickej myeloidnej leukémie; (C) Biopsia kostnej drene znázorňujúci fokálnu blastovú fázu (Hoffman, et al., 2018; [5]).

## Diferenciálna diagnostika a prognóza ochorenia

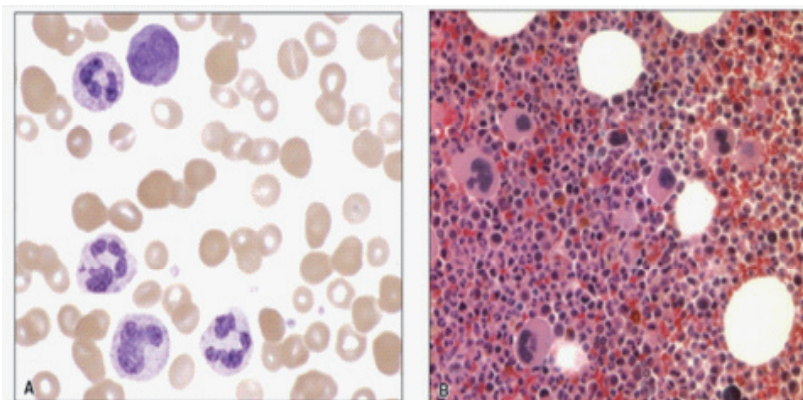
V tejto kapitole sa zameriame na diferenciálnu diagnostiku a prognózu ochorenia CML.

### Diferenciálna diagnostika ochorenia

Diferenciálna diagnostika CML zahŕňa ďalšie myeloproliferatívne novotvary a to: myelodysplastické/myeloproliferatívne novotvary, myeloidné/lymfoidné novotvary s eozinofiliou a s abnormalitami v PDGFRA, PDGFRB alebo FGFR1 a akútne leukémie s pozitívnym Philadelphia chromozómom. Zásadným v diagnostike je negatívny výsledok bcr/abl pomocou metódy FISH, ktoré slúži ako rýchly a praktický nástroj na vylúčenie väčšiny diagnóz [16].

V diferenciálnej diagnostike môže spôsobiť najväčší problém odlišenie od chronickej neutrofilnej leukémie, juvenilnej myelomonocytovej leukémie a jej dospelých foriem chronickej myelomonocytovej leukémie (obr. 6).

CNL je ďalšia MPN, ktorá sa prejavuje periférnou krvou, kostnou dreňou a extramedulárnymi infiltráčnymi vzormi podobnými CML, no prítomné sú len neutrofilné granulocyty a menej ako 10 % neutrofilov periférnej krvi je nezrelých [9].



Obr. 6 Chronická neutrofilná leukémia.

(A) Periférna krv - neutrofilové granulocyty môžu vykazovať toxickú granuláciu, počet nezrelých foriem je menej ako 5-10%; (B) Biopsia kostnej drene odhaľuje myeloidnú hyperpláziu bez zvýšenia počtu blastov (Weksler, Schechter, Ely, 2018; [17]).

Juvenilnú myelomonocytovú leukémiu a dospelú chronickú myelomonocytovú leukémiu klasifikuje WHO ako myelodysplastické/myeloproliferatívne ochorenia, pretože sa klinické, laboratórne alebo morfológické nálezy podobajú. Juvenilná myelomonocytová leukémia sa vyskytuje u detí mladších ako 4 roky a je sprevádzaná zvýšením počtu monocytov a granulocytov, vrátane nezrelých granulocytov a prejavuje sa dyserytropoézou.

Ph chromozóm sa niekedy vyskytuje u pacientov s AML a ALL. Rozumie sa, že niektoré z týchto prípadov pravdepodobne predstavujú nediagnostikovanú CML, ktorá pred diagnózou rýchlo progredovala do AL. Avšak, pretože rýchlo sa deliace malígne bunky sú náchylnejšie na genetické mutácie, prítomnosť Ph v AL môže vyvolať mutáciu v neskoršom štádiu, ktorá len málo prispela k leukemogéze AL [9].

### Prognóza ochorenia

Chronická myeloidná leukémia mala priemernú dĺžku prežitia od diagnostiky približne 3 roky. Bez terapie sa CML vyvinie z CP na AP a nakoniec do BC. Približne u 25 % pacientov nie je medzi chronickou fázou a blastovou krízou intervenujúca AP. Medián času prežitia sa s terapiou významne predĺžil. Po zavedení liečby imatinibom bol zaznamenaný dramatický pokles úmrtí na CML v údajoch o úmrtiach upravených podľa veku z epidemiológie a konečných výsledkov US Surveillance Epidemiology and End [14]. Dlhodobé sledovanie pacientov s CML, ktorí dosiahli úplnú cytogenetickú odpoveď (KCR) 2 roky po začatí liečby imatinibom, ukázalo, že úmrtia súvisiace s CML sú menej časté a prežívanie sa štatisticky významne nelíši od bežnej populácie [18].

### Prognostické skórovacie systémy

Pre predpoveď dĺžky chronickej fázy bolo vyvinutých množstvo prognostických skórovacích systémov. Najznámejší a najpoužívanejší index vyvinuli Sokal s kolegami. Algoritmus bol identifikovaný pomocou prognostických faktorov ako veľkosti sleziny, percenta cirkulujúcich blastov, počtu krvných doštičiek a veku. Sokalova škála však bola založená na terapiách dostupných v tom čase (busulfán, splenektómia) a novšie systémy pre pacientov liečených napr. interferónom (INF) následne viedli k novším prognostickým skórovacím systémom. Tieto škály však môžu mať obmedzenú predikčnú hodnotu vo veku inhibítorov tyrozínkinázy.

Približne 20 % pacientov s CML má delécie chromozomálneho materiálu rôznej veľkosti na deriváte 9q+. Tieto delécie sa pravdepodobne vyskytujú súčasne s tvorbou chromozómu Ph, a preto sa nepovažujú za ďalšie klonálne zmeny, ktoré by naznačovali ochorenie AP. Pacienti s del 9q+ majú horšiu prognózu, ak dostávajú IFN liečbu; nie je jasné, či takéto delécie majú alebo nemajú zlú prognózu u pacientov liečených imatinibom. V súčasnosti sú dostupné populačné štúdie skúmajúce mortalitu CML u imatinibu. Ukazujú, že vzor úmrtnosti u pacientov s CML súvisiaci s vysokým Sokalovým skóre sa stal podobným vzoru stredného skóre vyvolaného použitím imatinibu u pacientov s CP-CML [14].

Príkladmi skórovacích systémov sú skóre podľa Sokala, Hasforda, EUTOS (The European Treatment and Outcome Study for CML) a ELTS (EUTOS long-term survival) - tabuľka 2.

Tab. 2 Výpočet rizikového skóre podľa Sokala, Hasforda, EUTOS a ELTS. (Mayer, a kol., 2016; [3]).

	Sokalove skóre	Hasfordove skóre	EUTOS skóre	ELTS skóre
<b>Výpočet</b>	$\text{Exp } 0,0116(\text{vek}-43,4) + 0,0345 \times (\text{slezina} - 7,51) + 0,188 \times [(\text{trombocyty}/700)^2 - 0,563] + 0,887 \times (\text{blasty}-2,10)$	$0,666 \times \text{vek} \quad (0 \text{ pokiaľ je vek} < 50 \text{ rokov, inak } 1) + 0,042 \times \text{veľkosť sleziny} + 0,0584 \times \text{blasty} + 0,0413 \text{ eozinofily} + 0,2039 \text{ bazofily} \quad (0 \text{ ak sú bazofily} < 3\%, \text{ inak } 1) + 1,0956 \text{ trombocyty} \quad (0 \text{ ak sú trombocyty} < 1500 \times 10^9/\text{l}, \text{ inak } 1) \times 1000$	$\text{veľkosť sleziny} \times 4 + \text{bazofily} \times 7$	$0,0025 \times (\text{vek}/10)^3 + 0,0615 \times \text{slezina} + 0,1052 \times \text{blasty} + 0,4104 \times (\text{počet trombocytov}/1000)^{0,5}$
<b>Nízke riziko</b>	< 0,8	≤ 780	≤ 87	≤ 1,5680
<b>Stredné riziko</b>	0,8-1,2	781 - 1480	-	1,5680-2,2185
<b>Vysoké riziko</b>	> 1,2	> 1481	> 87	≥ 2,2185
<b>Vysvetlivky:</b> Exp: exponenciálna funkcia; vek v rokoch; slezina v cm pod rebrovým oblúkom; počet trombocytov x10 <sup>9</sup> /l; blasty, eozinofily, bazofily v percentách v periférnej krvi				

### Liečba

Liečba CML prešla určitým vývojom. Známa molekulová podstata umožnila zavedenie cielených liekov, čo zmenilo prirodzený priebeh a najmä prognózu tohto ochorenia úplne unikátnym spôsobom. Problémom zostáva liečba pokročilých

fáz ochorenia, ďalej vznik rezistencie na TKI u pacientov v chronickej fáze a konečne doterajšia nemožnosť úplnej likvidácie choroby postupom iným ako rizikami zaťažou transplantáciou krvotvorných buniek.

V súčasnosti môžeme liečbu rozdeliť do troch hlavných oblastí, a to:

### 1. Cytoredukcia a podporná liečba

- Hydroxyurea, anagrelid.
- Leukaferéza, eventuálne trombocytaferéza.
- Korekcia parametrov vnútorného prostredia [19,20].

### 2. Tyrozínkinázové inhibítory

- **Imatinib:** TKI 1. generácie s mechanizmom účinku kompetitívnej inhibície tyrozínových kináz ABL, BCR-ABL, c-Kit, PDGFR a AGR. Integráciou s bielkovinou BCR-ABL zabraňuje väzbe ATP a stabilizuje enzým v inaktívnej konformácii. V roku 2001 bol uvedený do klinickej praxe pre terapiu CML, v súčasnej dobe je liečbou 1. línie u novodiagnostikovaných ochorení. Po 8 rokoch terapie prežíva >90% osôb. Z nežiadúcich účinkov sú najvýznamnejšie tráviace ťažkosti, svalové kŕče, opuchy.
- **Nilotinib:** TKI 2. generácie, štrukturálne odvodený od imatinibu, ale selektívnejší a účinnejší, k ABL-kinázovej doméne sa viaže až s 30krát väčšou afinitou ako imatinib. Liečba druhej línie pre chronickú a akcelerovanú fázu pri rezistencii alebo netolerancii IM. Od roku 2010 tiež liečbou prvej línie. Z nežiadúcich účinkov je významné zvýšenie pečenej a pankreatických enzýmov.
- **Dasatinib:** Štrukturálne odlišný duálny inhibítor kináz ABL a SRC, in vitro 325x účinnejší než imatinib v inhibícii nemutovanej kinázy BCR-ABL a ich mutovaných variant, s výnimkou mutácie T315I. Podávaný v druhej línii liečby po zlyhaní či netolerancii liečby prvej línie. Z nežiadúcich účinkov je najvýznamnejšia hematologická toxicita a pleurálne výpotky.
- **Bosutinib:** Duálny SRC a ABL TKI druhej línie, nasadzovaný pri neúčinnosti alebo netolerancii predošlých TKIs.
- **Ponatinib:** Nový perspektívny liek, silný inhibítor všetkých kináz BCR-ABL. In vitro preukázal schopnosť inhibície nielen nemutovanej kinázy BCR-ABL, ale rovnako všetkých jej mutovaných variant vrátane polyrezistentnej mutácie T315I. Na základe výsledkov štúdie PACE (Ponatinib Ph+ ALL and CML Evaluation) bol schválený k liečbe CML vo všetkých fázach v prípade rezistencie alebo intolerancie ostatných TKIs [19,20].

### 3. Transplantácia hematopoetických buniek (HCT)

Transplantácia KD a kmeňových buniek s autológnyimi alebo alogénnymi HSC boli hlásené ako liečebné, najmä u pacientov mladších ako 55 rokov. Optimálne prežitie nastáva, keď je pacient liečený počas chronickej fázy do 1 roka od diagnózy a je mladší ako 50 rokov. Liečba si vyžaduje ablatívnu chemoterapiu, po ktorej nasleduje transplantácia mobilizovaných normálnych progenitorových buniek, ktoré vykazujú povrchové markery CD34+ [20,21].

## Záver

Chronická myeloidná leukémia je klonálne myeloproliferatívne ochorenie charakterizované prítomnosťou Philadelphia chromozómu – t(9,22). Za nekontrolované

množenie krvotvorných buniek a z toho vyplývajúce prejavy ochorenia je zodpovedná aktivovaná Bcr-Abl tyrozínkináza, ktorá je kódovaná BCR-ABL1 génom. Včasná, presná a správna hematologická, biochemická, cytogenetická a molekulárna diagnostika CML zameraná na zistenie ochorenia a účinnosti terapie kladie veľké nároky na odbornosť pracovníkov v laboratóriách, na ich skúsenosť s vyhodnocovaním. Diagnóza liečby a monitoringu CML sú v súčasnosti založené predovšetkým na kvalite a štandardizácii cytogenetických a najmä molekulovo-genetických metód. Známa molekulová podstata umožnila zavedenie cielených liekov, čo zmenilo prirodzený priebeh a najmä prognózu tohto ochorenia úplne unikátnym spôsobom. Problémom zostáva liečba pokročilých fáz ochorenia, ďalej vznik rezistencie na TKI u pacientov v chronickej fáze a konečne doterajšia nemožnosť úplnej likvidácie choroby postupom iným ako rizikami zaťaženu transplantáciou krvotvorných buniek.



Zoznam bibliografických odkazov

1. Perrotti D, Jamieson C, Goldman J, Skorski T. Chronic myeloid leukemia: Mechanisms of blastic transformation. *The Journal of clinical investigation*. 2010;120(7):2254-2264. <https://doi.org/10.1172/JCI41246>
2. Goldman JM, Melo JV. Chronic myeloid leukemia—advances in biology and new approaches to treatment. *N Engl J Med*. 2003;349(15):1451-1464. <https://doi.org/10.1056/NEJMra020777>
3. Mayer J, a kol. *Léčebné postupy v hematologii: Doporučení*. Nové Město nad Metují: České hematologické společnosti České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně; 2016.
4. Flis S, Chojnacki T. Chronic myelogenous leukemia, a still unsolved problem: pitfalls and new therapeutic possibilities. *Drug Design, Development and Therapy*. 2019;13:825-843. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S191303>
5. Hoffman R, Benz JE, Silberstein EL, Heslop EH, et al. *Hematology, Basic principles and practice* (7. vydanie). Philadelphia: Elsevier; 2018.
6. Stam K, Heisterkamp N, Grosveld G, de Klein A, et al. Evidence of a new chimeric bcr/c-abl mRNA in patients with chronic myelocytic leukemia and the Philadelphia chromosome. *N Engl J Med*. 1985;313:1429-1433. <https://doi.org/10.1056/NEJM198512053132301>
7. Groffen J, Stephenson JR, Heisterkamp N, et al. Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22. *Cell*. 1984;36(1):93-99. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(84\)90077-1](https://doi.org/10.1016/0092-8674(84)90077-1)
8. Randolph TR. Chronic myelocytic leukemia part I: history, clinical presentation, and molecular biology. *Clin Lab Sci*. 2005;18(1):38-48.
9. Keohane E, Otto C, Walenga J. *Rodak's Hematology Clinical Principles and Applications* (6. vydanie). St. Louis: Elsevier; 2020.
10. Georgii A, Buesche G, Krept A. The histopathology of chronic myeloproliferative disorders. *Baillieres Clin Haematol*. 1998;11(4):721-749. [https://doi.org/10.1016/S0950-3536\(98\)80036-X](https://doi.org/10.1016/S0950-3536(98)80036-X)
11. Epner DE, Koeffler HP. Molecular genetic advances in chronic myelogenous leukemia. *Ann Intern Med*. 1990;113(1):3-6. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-113-1-3>
12. Douer D, Levine AM, Sparkes RS, Fabian I, et al. Chronic myelocytic leukemia: a pluripotent haemopoietic cell is involved in the malignant clone. *Br J Haematol*. 1987;49:615-619. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1981.tb07271.x>
13. Branford S, Fletcher L, Cross NCP, et al. Desirable performance characteristics for BCR-ABL measurement on an international reporting scale to allow consistent interpretation of individual patient response and comparison of response rates between clinical trials. *Blood*. 2008;112(8):3330-3338. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-04-150680>
14. Corm S, Roche L, Micol J-B, Coiteux V, et al. (2011) Changes in the dynamics of the excess mortality rate in chronic phase-chronic myeloid leukemia over 1990–2007: A population study. *Blood*. 2011;118(16):4331-4337. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-01-330332>
15. Vydra J, Novák J, Lauermannová M, a kol. *Hematologie v kostce*. 2. prepracované a doplnené vydanie. Praha: mladá fronta. Edice Aesculap; 2019.
16. Bejanyan N. CML: Clinical diagnosis, differential diagnosis and scoring systems; 2014 [Abstrakt]. <https://experts.umn.edu/en/publications/cml-clinical-diagnosis-differential-diagnosis-and-scoring-systems>. Accessed April 10, 2022.
17. Weksler BB, Schcechter PG, Ely S. *Wintrobe's Atlas of Clinical Hematology*. (2. vydanie). China: Wolters Kluwer; 2018.
18. Gambacorti-Passerini C, Antolini L, Mahon FX, Guilhot F, et al. (2011) Multicenter independent assessment of outcomes in chronic myeloid leukemia patients treated with imatinib. *J Natl Cancer Inst*. 2011;103: 553. <https://doi.org/10.1093/jnci/djr060>
19. Marin D, Bazeos A, Mahon FX, Eliasson L, et al. Adherence is the critical factor for achieving molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia who achieve complete cytogenetic responses on imatinib. *J Clin Oncol*. 2021;28(14):2381-2388. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.26.3087>
20. Soverini S, Hochhaus A, Nicolini FE, Gruber F, et al. BCR-ABL kinase domain mutation analysis in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: Recommendations from an expert panel on behalf of European LeukemiaNet. *Blood*. 2021;118(5):1208-1215. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-12-326405>
21. Alvandi F, Kwitkowski VE, Ko CW, Rothmann MD, et al. U.S. Food and Drug Administration approval summary: omacetaxine mepesuccinate as treatment for chronic myeloid leukemia. *Oncologist*. 2014;19(1):94-99. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2013-0077>

Kontakt:

MUDr. Jaromír TUPÝ  
Fakulta zdravotníctva  
Katólicka univerzita v Ružomberku  
Námestie A, Hlinku 28  
03401, Ružomberok  
e-mail: jaromir.tupy@ku.sk