

SMERNICE ZA ODKRIVANJE IN ZDRAVLJENJE KRONIČNE MIELOIČNE LEVKEMIJE

Združenje hematologov Slovenije, Irena Preložnik Zupan, Tadej Pajič

Klinični oddelek za hematologijo, Univerzitetni Klinični center Ljubljana, Zaloška 7, 1525 Ljubljana

Uvod

Kronična mieloična levkemija (KML) je maligna novotvorba krvotvorne matične celice, ki jo uvrščamo med mieloproliferativne bolezni. Je klonška bolezen. 15-20 % odraslih bolnikov z levkemijo ima KML. Letna incidenca je 1-2 nova bolnika na sto tisoč prebivalcev. Povprečna starost ob ugotovitvi bolezni znaša 50 do 60 let, čeprav se lahko pojavi v vseh življenjskih obdobjih, tudi v otroštvu.¹

Naravni potek bolezni je 3-5 let in gre skozi tri različna obdobja: *kronično*, v katerem odkrijemo 85 % bolnikov, sledi *pospešeno obdobje*, ki vodi v *blastno preobrazbo* – stanje enako akutni levkemiji. Simptomi ob pojavu KML so običajno sistemski (splošna utrujenost, izguba teka, hujšanje, znojenje), občutek tiščanja v trebuhu zaradi povečanih organov, redkeje krvavitve zaradi motene funkcije trombocitov. Kar 40-50 % bolnikov pa je brez težav, bolezen pa ugotovimo ob slučajnem pregledu krvne slike. Pri več kot polovici bolnikov s kliničnim pregledom ugotovimo močno povečano vranico, redkeje jetra. V krvni sliki se močno razraščajo celice bele vrste in občasno trombociti.¹⁻⁴

KML je prva maligna novotvorba, pri kateri je poznavanje genetske motnje – kromosoma Philadelphia (Ph), prvič opisane leta 1960,^{5,6} pripeljalo do razvoja učinkovitega vzročnega zdravljenja. Imatinib, zaviralec Bcr-Abl tirozinske kinaze, je revolucionarno zdravilo, ki je v celoti spremenilo potek zdravljenja, kakovost življenja bolnikov in njihovo preživetje. Na tržišče prihajajo že zaviralci tirozinske kinaze druge generacije, kot sta dasatinib in nilotinib, ter tretje generacije, ki dokaj hitro spreminjajo pravila zdravljenja KML. Trenutna priporočila za diagnostiko in zdravljenje KML predstavljamo v tem prispevku.

Diagnostika

Potrditev diagnoze

Za potrditev diagnoze KML potrebujemo celotno krvno sliko, punkcijo in biopsijo kostnega mozga za citološki in histološki pregled ter dokaz o prisotnosti Ph-kromosoma ali produkta Ph-kromosoma, zlitega gena *BCR-ABL*. Philadelphia kromosom dokažemo s standardno citogenetsko preiskavo (kariotip) na vzorcu kostnega mozga. Zliti gen *BCR-ABL* dokažemo s potrditvijo za zliti gen *BCR-ABL* značilnega mRNA prepisa z obratnim prepisovanjem in verižno reakcijo s polimerazo (RT-PCR) ali s fluorescenčno hibridizaci-

jo *in situ* (FISH) v vzorcu periferne krvi ali kostnega mozga.

Določanja aktivnost encima alkalne fosfataze v nevrofilnih (AFG) v diagnostiki KML praktično ne delamo več.

HLA-tipizacija bolnika in svojcev je smiselna pri bolnikih, mlajših od 65 let.

Ocena obdobja (faze) bolezni

Ob ugotovitvi KML moramo opredeliti, za katero obdobje bolezni gre – kronično, pospešeno obdobje ali blastno preobrazbo. Včasih ta opredelitev ni enostavna. Pospešeno obdobje in blastno krizo lahko opredelimo tudi skupaj kot napredovalo fazo bolezni. Opredelitev posameznih obdobji je več.⁷ V času zdravljenja KML z imatinibom največ uporabljajo merila, ki so izšla v okviru Evropske mreže za levkemije (European Leukemia Net – ELN)⁷ (Razpr. 1).

Ocena napovedi izida oz. prognoza bolezni

Napovedne dejavnike lahko razdelimo v dve skupini:

1. skupina dejavnikov ob odkritju bolezni pred začetkom zdravljenja in
2. skupina dejavnikov, ki jih spremljamo med zdravljenjem.⁷

Glavna začetna dejavnika sta obdobje KML ob odkritju bolezni in relativno tveganje bolezni, ki ga izračunamo iz kliničnih in laboratorijskih podatkov po Sokalu ali/in Hasfordu (Razpr. 2).^{8,9} Relativno tveganje krajšega preživetja razdelimo na nizko, srednje in visoko. Bolniki, ki jih odkrijemo in začnemo zdraviti v kroničnem obdobju bolezni, imajo pomembno daljše preživetje od bolnikov, ki jih odkrijemo in pričnemo zdraviti v napredovalem obdobju bolezni. Čeprav sta bila oba napovedna sistema izdelana na podlagi zdravljenja KML s kemoterapijo (Sokal) ali z interferonom (Hasford), sta še vedno v uporabi, dokler ne bo izdelan nov sistem, ki bo vključeval tudi pomembne molekularne značilnosti.^{7,10}

Med zdravljenjem je napovedno pomembno, kdaj dosežemo hematološki, citogenetski in molekularni odgovor, ter stopnja odgovora (poglej poglavje – Odgovor na zdravljenje – definicije). Čim boljši je rezultat, ki ga dosežemo v določenem obdobju, tem daljše je preživetje brez bolezni. Porast izražanja gena *BCR-ABL*, spremljan s kvantitativno PCR, je naslednji pomemben dinamični dejavnik pri odločitvi o nadaljnji izbiri zdravljenja. Povezan je s prisotnostjo mutacij v kinazni domeni gena *BCR-ABL* ali z izgubo odgovora na zdravljenje.

Razpr. 1. Definicije posameznih obdobj KML; povzeto po priporočilih Evropske mreže za levkemije.⁷

Kronično obdobje	Pospešeno obdobje	Blastna kriza
Nobeno od meril pospešenega obdobja ali blastne krize	- 15-29 % blastov v krvi ali KM - > 30 % blastov+promielocitov v krvi ali KM, z < 30 % blastov - > 20 % bazofilcev v krvi - Trombocitopenija < 100 × 10 ⁹ /L (ne po zdravljenju)	- ≥ 30 % blastov v krvi ali KM - Ekstramedularna proliferacija levkemičnih blastnih celic

Blasti - levkemične blastne celice, KM - kostni mozeg, bazofilci - bazofilni granulociti

Razpr. 2. Izračun relativnega tveganja bolezni po Sokalu in Hasfordu.^{8,9}

	Izračun po Sokalu	Izračun po Hasfordu
Starost (leta)	0,116 × (starost - 43,4)	0,666 pri starosti < 50 let
Vranica (cm pod LRL)	0,0345 × (vranica - 7,51)	0,042 × vranica
Trombociti, × 10 ⁹ /L	0,188 × [(tr / 700) ² - 0,563]	1,0956 pri tr ≥ 1500 × 10 ⁹ /L
Mieloblasti (kri) %	0,0887 × (mieloblasti - 2,10)	0,0584 × mieloblasti
Bazofilni granulociti %	NA	0,20399 pri bazo > 3 %
Eozinofilni granulociti %	NA	0,0413 × eozino
Relativno tveganje		
Nizko	< 0,8	≤ 780
Srednje	0,8-1,2	781-1480
Visoko	> 1,2	> 1480

Razpr. 3. Predlagana merila za določitev neuspeha zdravljenja z imatinibom, nezadovoljivega odgovora na zdravljenje z imatinibom 400 mg/dan, opozorila in ustreznega odgovora pri bolnikih v zgodnjem kroničnem obdobju KML (povzeto po priporočilih Evropske mreže za levkemije).⁷

Čas	Neuspeh	Nezadovoljiv odgovor	Opozorila	Ustrezen odgovor
Ob diagnozi	-	-	Visoko rel. tveganje Delecija 9q+ Dodatne kromosomske nepravilnosti v Ph+ celicah	
Po 3 mesecih	Ni HO (stabilna bolezen ali progresija)	< PHO	-	PHO
Po 6 mesecih	< PHO Ni CiO (Ph+ > 95 %)	< DCitO (Ph+ > 35 %)	-	Vsaj DCitO (Ph+ ≤ 35 %)
Po 12 mesecih	< DCitO (Ph+ > 35 %)	< PCitO	< glavni MoLO	PCitO
Po 18 mesecih	< PCitO	< glavni MoLO	-	glavni MoLO
Kadarkoli	Izguba PHO* Izguba PCiO† Mutacije (npr: T315D)‡	Dodatne kromosomske nepravilnosti v Ph+ celicah§ Izguba glavnega MoLO§ Mutacije#	Zvečanje BCR-ABL prepisa Dodatne kromosomske nepravilnosti v Ph-celicah	

HO - hematološki odgovor, PHO - popolni hematološki odgovor, CiO - citogenetski odgovor, DCitO - delni citogenetski odgovor, PCitO - popolni citogenetski odgovor, MoLO - molekularni odgovor

* Potrjeno dvakrat; razen če ni povezano s prehodom bolezni v pospešeno obdobje ali blastno krizo;

† Potrjeno dvakrat; razen če ni povezano z izgubo popolnega hematološkega odgovora ali prehodom bolezni v pospešeno obdobje ali blastno krizo;

‡ Visoka stopnja neobčutljivosti na imatinib;

§ Potrjeno dvakrat; razen če je povezano z izgubo popolnega hematološkega ali popolnega citogenetskega odgovora

Nizka stopnja neobčutljivosti na imatinib

- NEUSPEH pomeni, da nadaljevanje zdravljenja z imatinibom v standardnem odmerku 400 mg ni več ustrezno.
- NEZADOVOLJIV ODGOVOR pomeni, da ima bolnik še pomembne koristi od nadaljevanja zdravljenja z imatinibom, vendar pa dolgotrajen izid morda ne bo več najugodnejši.
- OPOZORILA so kazalci, da standardni odmerki imatiniba morda ni najboljša izbira zdravljenja pri bolniku in da je potrebno zdravljenje spremljati zelo pazljivo.

Dodatne kromosomske nepravilnosti znotraj klona Ph+ celic vplivajo na potek bolezni. Običajno se pojavijo, ko bolezen napreduje. Fenomen je poznan in opisan kot *klonska evolucija*. Pri 80 % bolnikov v blastni krizi ugotovimo dodatne kromosomske nepravilnosti. Najpogostejše so dodaten kromosom Ph, trisomija 8 in izokromosom 17.

Zdravljenje

Zdravljenje bolnikov, ki jih odkrijemo v kroničnem obdobju bolezni

Imatinib 400 mg/dan je standardna oblika zdravljenja bolnikov v kroničnem obdobju KML. Bolniki, ki imajo visoko relativno tveganje bolezni (Razpr. 2), EBMT oceno tveganja za zaplete po presaditvi krvotvornih matičnih celic (PKMC) pa nizko,¹¹ lahko izbirajo med zdravljenjem z imatinibom in alogenično PKMC. Smiselno je vseeno pričeti zdravljenje z imati-

Razpr. 4. Neželjeni učinki zdravljenja z imatinibom in ukrepanje.

Neželjeni učinki	Ukrepanje
Hematološki	
- Nevtropenija (stadij 3-4): NG < 1 × 10 ⁹ /L	Zmanjšanje odmerka imatiniba na 300 mg/dan ali prenehanje pri NG < 1x10 ⁹ /L oz.
- Trombocitopenija (stadij 3-4); Tr < 50 × 10 ⁹ /L	Tr < 50x10 ⁹ /L; uporaba rastnih dejavnikov, kot so G-CSF in eritropoetini
- Anemija (stadij 3-4)	
Nehematološki	
- Diareja	Podporni ukrepi
- Edemi	Diuretiki, podporni ukrepi
- Zastoj tekočine (pleuralni izliv, perikardni izliv, edemi, ascites)	Diuretiki, podporni ukrepi, zmanjšanje odmerka ali prekinitve zdravljenja z imatinibom, UZ srca
- Prebavne težave	Jemanje imatiniba z obrokom hrane in vodo
- Mišični krči	Kalcij, tonik
- Izpuščaj	Lokalni ali sistemski glukokortikoidi, zmanjšanje odmerka ali prekinitve zdravljenja

NG - nevtrofilni granulociti, Tr - trombociti, G-CSF - rastni dejavnik za nevtrofilne granulocite

Razpr. 5. Definicije hematološkega, citogenetskega in molekularnega odgovora ter priporočila za spremljanje odgovora po zdravljenju (monitoriranje).

	Definicija	Spremljanje
Hematološki odgovor (popolni) - PHO	- Trombociti < 450 × 10 ⁹ /L - Levkociti < 10 × 10 ⁹ /L - DKS - ni mladih celic in - < 5 % bazofilcev - Vranica - netipljiva	Spremljaj krvno sliko vsaka 2 tedna do doseženega PHO, nato na tri mesece
Citogenetski odgovor (CiO)	- Popolni (PCiO): Ph+ 0 % - Delni (DCiO): Ph+ 1-35 % - »Minor«: Ph+ 36-65 % - »Minimal«: Ph+ 66-95 % - Ni odgovora: Ph+ > 95 %	Spremljaj CiO na 6 mesecev do doseženega in potrjenega PCiO
Molekularni odgovor (MoO)	- Popolni - - BCR-ABL prepis ni določljiv - Glavni ≤ 0,10	Spremljaj MoO na 3 mesece, opravi mutacijsko analizo v primeru izgube odgovora, neustreznega odgovora ali povečanja molekularnega prepisa

Razpr. 6. Shema, priporočena s strani Evropske mreže za levkemije, za spremljanje zdravljenja bolnikov s KML, ki se zdravijo z imatinibom.

Preiskava	RQ-PCR	Citogenetska preiskava	Mutacijska analiza
Vzorec	Kri	Kostni mozeg	Kri ali kostni mozeg
Pogostnost	Ob diagnozi nato vsake 3 mesece	Ob diagnozi nato vsakih 6 mesecev (dokler ni potrjen popolni citogenetski odgovor) nato vsakih 12 mesecev (ko je potrjen popolni citogenetski odgovor) nato manj pogosto (ko je dosežen glavni molekularni odgovor) vendar tako, ko se izgubi glavni molekularni odgovor	Samo v primeru: 1. Neuspeha zdravljenja 2. Nezadovoljivega odgovora 3. Porasta BCR-ABL mRNA prepisa

RQ-PCR - Kvantitativna verižna reakcija s polimerazo v realnem času

nibom in se na osnovi zgodnjega odgovora na imatinib odločati, kako dalje. Izjema so otroci, če imajo HLA identičnega sorodnega darovalca krvotvornih matičnih celic (KMC), in pa odrasli z identičnim dvojčkom.^{12, 13}

Običajni začetni odmerek imatiniba je 400 mg/dan za odrasle bolnike. Zdi se, da nižji začetni odmerki zdravljenja, npr. 100 ali 200 mg/dan, lahko spodbudijo razvoj odpornosti na zdravilo, zato niso priporočljivi.¹⁵ Poročila iz MD Anderson Cancer Centra kažejo na hitrejši citogenetski in molekularni odgovor pri 800 mg imatiniba/dan, vendar pa bolniki ta odmerek pogosto slabše prenašajo, hkrati pa ni jasno ugotovljeno, ali visoki odmerki pomenijo v dalj-

še preživetje. Trenutno v Evropi in Združenih državah Amerike potekajo primerjalne prospektivne raziskave s 400 in 800 mg imatiniba na dan. Rezultatov še ni.

Neželjeni učinki stopnje 3/4 s standardnim odmerkom imatiniba so redki (Razpr. 4). Med blagimi neželenimi učinki so pogosti kožni izpuščaji, bolečine v kosteh, zastajanje tekočine v telesu, anoreksija, depresija, porast telesne teže. Zavora kostnega mozga (mielosupresija) lahko zahteva občasno prekinitve zdravljenja, običajno pa je odziv na rastne dejavnike, kot sta eritropoetin in G-CSF, dober. Pri pojavu kožnega izpuščaja ali povečanju transaminaz lahko pomaga kratkotrajna uvedba glukokortikoidov.^{14, 15}

Zdravljenje bolnikov, ki jih odkrijemo v napredovalem obdobju bolezni

Bolniki, ki jih odkrijemo v napredovalem obdobju bolezni in dotlej še niso prejeli imatiniba, naj pričnejo zdravljenje z večjimi odmerki imatiniba, tj. 600–800 mg/dan. V tem primeru je pomembno, da preverimo tudi mutacijski status in se glede na to morda odločimo tudi za inhibitorje tirozinskih kinaz druge ali tretje generacije (v kliničnih raziskavah).

Kadar odkrijemo bolnike v blastni preobrazbi KML in je odgovor na zdravljenje z imatinibom dober, običajno traja odgovor kratko. V tem primeru takoj po zadovoljivem odgovoru na imatinib priključimo standardno kemoterapijo za mieloblastno ali limfoblastno preobrazbo KML, čemur, če je to izvedljivo, sledi alogenična PKMC.

Zdravljenje bolnikov z napredovalo boleznijo ob imatinibu

Ko bolezen napreduje v pospešeno obdobje/blastno krizo kljub zdravljenju z imatinibom, se odločamo za inhibitor tirozinske kinaze druge generacije ali PKMC. O *primarni rezistenci* na zdravljenje z imatinibom govorimo, če nikoli ne dosežemo želenih odgovorov (Razpr. 3 in 5). Mejnike uspešnosti zdravljenja KML z imatinibom sta izdelali dve veliki združenji National Comprehensive Cancer Network (NCCN)¹⁶ in European LeukemiaNet.⁷ Popolnega hematološkega odgovora v 3–6 mesecih ne doseže 2–4 % bolnikov, zelene oblike citogenetskega odgovora v 6–18 mesecih ne doseže 15–25 %. Nekateri bolniki sprva dosežejo ustrezne odgovore na zdravljenje z imatinibom, nato dosežejo stanje usahne. Takšnih bolnikov je približno 4 % na leto. Govorimo o *sekundarni odpornosti* na zdravljenje z imatinibom.

Vzrokov za pojav odpornosti na zdravljenje z imatinibom je več. Klonska evolucija in pojav točkovnih mutacij sta najpomembnejša dejavnika, ki sta medsebojno povezana. Mutacije najpogosteje odkrijemo pri bolnikih v pospešenem poteku bolezni ali blastni krizi. Klinični pomen mutacij v kinazni domeni gena *BCR-ABL* še ni docela jasen. Nekatero so povezane z odpornostjo na imatinib, med njimi je mutacija, zamenjava treonina za izolevcin na mestu 315 (T315I) aminokislinskega zaporedja beljakovine Bcr-Abl, ki povzroči pojav klona, ki je odporen tako na imatinib, nilotinib in dasatinib.

Dejstvo, da *BCR-ABL* onkogen ohranja osrednje mesto v patogenezi KML tudi pri ponovitvi bolezni nakazuje, da ta onkogen ostaja optimalno mesto za delovanje zdravil.¹⁷

Med inhibitorje tirozinske kinaze druge generacije uvrščamo dasatinib, nilotinib in bosutinib; prva dva sta tudi registrirana. Dasatinib (BMS-354825) je nov, oralni, večciljni inhibitor tirozinskih kinaz. Je močnejši od imatiniba *in vitro* in je aktiven proti vsem znanim mutacijam Bcr-Abl, ki povzročajo odpornost na imatinib, razen na mutacijo T315I. Na začetku je bil običajni odmerek za kronično obdobje bolezni 70 mg/12 ur. Kasnejše raziskave so pokazale, da je za zdravljenje v kroničnem obdobju ustrežnejši odmerek 100 mg/dan. Ob tem odmerku je učinkovitost enaka, stran-

skih učinkov pa je manj. Najpogostejši stranski učinki so nevtropenija, trombocitopenija, diareja, bruhanje, slabost, krvavitev v prebavilih, izpuščaji in edemi. Posebno zanimiv je pojav plevralnih in perikardialnih izlivov pri nekaterih bolnikih.¹⁸ V napredovalem obdobju KML priporočajo večji odmerek zdravila, tj. 70 mg/12 ur. FDA je dasatinib za zdravljenje bolnikov s KML, ki so odporni na imatinib ali ga ne prenašajo, odobrila junija 2006.

Nilotinib (AMN107) je nov, oralni, visoko selektivni inhibitor Bcr-Abl tirozinske kinaze. Gre za strukturni derivat imatiniba, pri katerem so sestavo spremenili tako, da se je povečala njegova afiniteta za vezavo na ATP žep Bcr-Abl onkoproteina. Je 20–50-krat močnejši od imatiniba, učinkovit je pri 32 (od 33) mutacijah *BCR-ABL*, razen za mutacijo T315I. Učinkovit je pri zdravljenju bolnikov tako v kroničnem obdobju kot v napredovalem obdobju KML. Običajni odmerek zdravila je 400 mg/12 ur. Najpogostejši stranski učinki so izpuščaji, srbečica, zaprtje, povečanje lipaze in jetrnih encimov ter bilirubina. Na splošno stranskih učinkov, ki se pojavljajo pri zdravljenju z imatinibom, pri zdravljenju istih bolnikov z nilotinibom ne opazimo.¹⁸ FDA je zdravilo za zdravljenje bolnikov v kroničnem in pospešenem obdobju KML, ki so odporni na imatinib ali ga ne prenašajo, odobrila oktobra 2007. Obe zdravili se zdita enako učinkoviti pri zdravljenju bolnikov, kjer zdravljenje z imatinibom ni bilo uspešno. Ne priporočajo pa ju za zdravljenje bolnikov z mutacijo T315I.¹⁸

Bosutinib (SKI606), SRC/ABL kinazni inhibitor je še v postopku raziskovanja. Med inhibitorje tirozinskih kinaz tretje generacije uvrščamo kinazne inhibitorje aurora, ki so aktivni tudi proti mutaciji T315I.

Spremljanje uspešnosti zdravljenja z imatinibom (monitoring)

Citogenetika in FISH

Standardno citogenetsko preiskavo (kariotip) vzorca kostnega mozga opravimo ob pojavu bolezni, da potrdimo prisotnost Ph-kromosoma, ugotovimo morebitne neobičajne translokacije ali dodatne kromosomske nepravilnosti v celicah s Ph-kromosomom (Razpr. 6). Nato opravimo preiskavo vsakih 6 mesecev do popolnega citogenetskega odgovora.

Ko dosežemo popolni citogenetski odgovor, opravimo kariotip vzorcev kostnega mozga na 12 mesecev, da ugotovimo morebitne kromosomske nepravilnosti v celicah, ki nimajo Ph-kromosoma.⁷ Klinični pomen kromosomskih nepravilnosti v celicah, ki nimajo Ph-kromosoma, še ni določen. Če se kadarkoli med potekom zdravljenja pojavijo s standardnim odmerkom zdravila imatinib, to pomeni, da moramo nadaljnje zdravljenje spremljati zelo pazljivo (Opozorila, Razpr. 3). Po mnenju nekaterih avtorjev opravimo standardno citogenetsko preiskavo vzorca kostnega mozga, ko bolnik izgubi glavni molekularni odgovor ali ko zaznamo porast izražanja gena *BCR-ABL*, in morda ne vsako leto.¹⁵ Ocenimo delež celic Ph+ in ugotovimo morebitne dodatne kromosomske nepravilnosti znotrajklona celic s Ph-kromosomom (klonska evolucija).

Ker dosedanja podatki v raziskavah temeljijo na standardni citogenetski preiskavi, se preiskavo fluorescenčno *in situ* hibridizacijo (FISH) na interfazah celic periferne krvi ali kostnega mozga po priporočilih Evropske mreže za levkemije opravi pred zdravljenjem, ko želimo:

- dokazati prisotnost zlitega gena *BCR-ABL* pri bolnikih, pri katerih s standardno citogenetsko analizo nismo potrdili Ph-kromosoma;
- ugotoviti variantne translokacije (t(9;22;V));
- ugotoviti pomnožitve Ph kromosoma;
- ugotoviti delecije na derivativnem kromosomu 9 (del9q+).⁷

Med zdravljenjem je preiskava FISH koristna, ko želimo dodatno oceniti delež Ph⁺ celic in opredeliti ali potrditi dodatne kromosomske nepravilnosti v Ph⁺ ali v Ph-negativnih celicah.

Kvantitativna verižna reakcija s polimerazo v realnem času

Določanje števila kopij *BCR-ABL* mRNA prepisa z obratnim prepisovanjem in kvantitativno verižno reakcijo s polimerazo v realnem času (RQ-PCR) je najpomembnejša preiskava za spremljanje uspešnosti zdravljenja (monitoring) bolnikov s KML.

Pomen spremljanja zdravljenja z metodami, ki so občutljivejše kot standardna citogenetska ali FISH preiskava za določanje odstotka Ph-kromosoma ali njegovega produkta (gena *BCR-ABL*), se je pokazal že pred časom, ko so ugotovili, da stopnja izražanja gena *BCR-ABL* sovпада s številom levkemičnih celic, prisotnih v krvi ali kostnem mozgu, in se lahko uporablja kot molekularni označevalec odgovora na zdravljenje.¹⁹ V raziskavi IRIS²⁰ so ugotovili, da velika večina bolnikov s KML, zdravljenih z imatinibom, doseže popolni citogenetski odgovor in da imajo bolniki, ki dosežejo glavni molekularni odgovor po 12 mesecih zdravljenja z imatinibom, zelo veliko verjetnost, da bolezen v 5 letih ne bo napredovala.^{7,20} V tej raziskavi je glavni molekularni odgovor (0,1 %) ustrezal zmanjšanju za 3 desetiške logaritme od začetne standardne vrednosti (100 %) (angl. log reduction). Začetna standardna vrednost je bila v raziskavi IRIS določena kot mediana vrednosti razmerja *BCR-ABL* in kontrolnega gena *BCR 30* nezdravljenih bolnikov v kroničnem obdobju bolezni. Pomen doseganja glavnega molekularnega odgovora se je pokazal tudi v drugih raziskavah.^{21,22}

Za preiskavo odvzamemo bolnikovo periferno kri ali kostni mozeg. Za spremljanje zdravljenja uporabljamo en tip vzorca, ker izsledki RQ-PCR med sočasno odvzetim kostnim mozgom in periferno krvjo niso vedno primerljivi. Tehnologija metode je zelo zahtevna in presega okvirne smernic.²³⁻²⁶

Določitev vrednosti razmerja *BCR-ABL*/kontrolni gen z RQ-PCR se priporoča vsake tri mesece, tudi ko vrednost postane negativna, tj., ko ne dokažemo specifičnega *BCR-ABL* cDNA segmenta in dosežemo popolni molekularni odgovor (Razpr. 3 in 5). V začetku zdravljenja spremljamo hitrost upadanja vrednosti. Stopnjo Ph-pozitivnosti lahko z veliko verjetnostjo prepoznamo iz vrednosti razmerja *BCR-ABL*/kontrolni gen. Vrednost izsledka 1 % ali nižje pomeni zmanjša-

nje za 2 desetiške logaritma od določene standardne začetne vrednosti in je običajno skladna s popolnim citogenetskim odgovorom. Vrednost 0,1 % ali nižje pomeni zmanjšanje vrednosti za 3 desetiške logaritme in označuje glavni molekularni odgovor. Če se raven zviša, potem je potrebno preiskavo ponoviti in to prej, kot po običajnih treh mesecih. Če ponovljena preiskava pokaže porast ravni za 0,5 do 1,0 logaritma, je potrebno v istem vzorcu cDNA raziskati, ali je prisotna mutacija v kinazni domeni gena *BCR-ABL*, ter opraviti punkcijo kostnega mozga za določitev odstotka Ph-pozitivnih celic in dodatnih kromosomskih nepravilnosti. Te raziskave vplivajo na nadaljnjo odločitev o zdravljenju.

Odgovor na zdravljenje – definicije

Med zdravljenjem KML z imatinibom nas zanima trajanje zdravljenja, odmerek zdravila in odgovor na zdravljenje v določenem časovnem obdobju. Uspešnost zdravljenja spremljamo s hematološkim, citogenetskim in molekularnim odgovorom (Razpr. 5).⁷ V ta namen bolnika redno spremljamo klinično in laboratorijsko. *Popolni hematološki odgovor* pomeni popolno normalizacijo krvne slike in netipljivo vraničo pri fizikalnem pregledu. O različnih stopnjah *citogenetskega odgovora* govorimo v odvisnosti od deleža Ph⁺ metafaz. *Molekularni odgovor* pa določimo glede na stopnjo *BCR-ABL* prepisa določenega z RQ-PCR. Popolni hematološki in citogenetski odgovor ter glavni molekularni odgovor moramo potrditi z dvema zaporednima meritvama. Popolni in delni citogenetski odgovor je mogoče združiti v glavni citogenetski odgovor.

V primerih, ko pri zdravljenju s standardnim odmerkom imatiniba (400 mg/dan) ne dosežemo optimalnih odgovorov imamo na voljo natančno opredeljena priporočila (Razpr. 3).⁷ Ob »neuspehu« zdravljenja z imatinibom 400 mg/dan je prva izbira alogenična PKMC ali zdravljenje z imatinibom v odmerku 600–800 mg/dan, če je bolnik prenašal zdravljenje z imatinibom 400 mg dan in odpornost ni povezana z mutacijami, odpornimi na imatinib.

Pri »nezadovoljivem odgovoru« naj bo prvi korak sprememba odmerka na 600 ali 800 mg/dan, če je bolnik prenašal 400 mg. Pri takem bolniku lahko pride v poštev tudi alogenična PKMC, če ima bolnik nizko ali srednjo EBMT oceno tveganja za zaplete po PKMC. Pri bolnikih, pri katerih ob postavitvi diagnoze ugotovimo znake za »opozorila«, je standardno zdravljenje še vedno imatinib 400 mg/dan, vendar pa je vsako »opozorilo«, ki se pojavi, znak, da je treba bolnika pozorno spremljati. Morda bo potrebno povečanje odmerka imatiniba ali pa zdravljenje z drugimi inhibitorji tirozinske kinaze.⁷

Literatura

1. Van Etten RA. Clinical manifestations of chronic myelogenous leukemia. In: UpToDate, version 15.3. 2008.
2. Sawyers C. Chronic myeloid leukemia. N Engl J Med. 1999; 340: 1330–40.
3. Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M. Chronic myeloid leukemia. Lancet 2007; 342–50.

4. Besa EC, Woermann U. Chronic myelogenous leukemia. 2006. <http://www.emedicine.com/med/topic371.htm>
5. Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 1960; 132: 1497.
6. Nowell PC. Discovery of the Philadelphia chromosome: a personal perspective. *J Clin Invest* 2007; 2033-5.
7. Bacarani M, Saglio G, Godman J, et al. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2006; 108: 1809-20.
8. Sokal JE, Cox EB, Bacarani M, et al. Prognostic discrimination in »good risk« chronic granulocytic leukemia. *Blood* 1984; 63: 789-99.
9. Hasford J, Pfirrmann M, Hehlmann R, et al. A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 850-8.
10. Kreil S, Waghorn K, Pfirrmann M, et al. Heterogeneous prognostic impact of derivative chromosome 9 deletions in chronic myelogenous leukemia. *Blood* 2007; 110: 1283-90.
11. Gratwohl A, Hermans J, Goldman JM, et al. Risk assessment for patients with chronic myeloid leukaemia before allogeneic blood or marrow transplantation. Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood or Marrow Transplantation. *Lancet* 1998; 352: 1087-92.
12. Pulsipher MA. Treatment of CML in pediatric patients: should imatinib mesylate or allogeneic hematopoietic cell transplant be front-line therapy? *Pediatr Blood Cancer* 2004; 423: 523-33.
13. Goldman J. Recommendations for the management of BCR-ABL positive chronic myeloid leukaemia. British Committee for Standards in Haematology, 2007.
14. Marin D, Marktel S, Bua M et al. The use of imatinib (STI571) in chronic myeloid leukaemia: some practical consideration. *Haematologica* 2002; 87: 979-88.
15. Deininger MWN, O'Brien SG, Ford JM, Druker BJ. Practical management of patient with chronic myeloid leukemia receiving imatinib. *J Clin Oncol* 2003; 21: 1637-47.
16. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Chronic Myelogenous Leukemia. Dosegljivo na: V.3.2008. www.nccn.org
17. Deininger M. Resistance to imatinib: Mechanisms and management. *JNCCN* 2005; 3: 757-68.
18. Goldman JM. How I treat chronic myeloid leukemia in the imatinib era. *Blood* 2007; 110: 2828-37.
19. Branford S, Hughes TP, Rudzki Z. Monitoring chronic myeloid leukaemia therapy by real-time quantitative PCR in blood is a reliable alternative to bone marrow cytogenetics. *Br J Haematol* 1999; 107: 587-9.
20. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, et al. Five-year follow-up of imatinib therapy for newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic-phase shows sustained responses and high overall survival. *N Eng J Med* 2006; 355: 2404-17.
21. Iacobucci I, Saglio G, Rosti G, et al. Achieving a major molecular response at the time of a complete cytogenetic response (CCgR) predicts a better duration of CCgR in imatinib-treated chronic myeloid leukemia patients. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3037-42.
22. Press RD, Love Z, Tronnes AA, et al. BCR-ABL mRNA levels at and after the time of a complete cytogenetic response (CCR) predict the duration of CCR in imatinib mesylate-treated patients with CML. *Blood* 2006;107: 4250-6.
23. Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors - recommendations for 'harmonizing' current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. *Blood* 2006; 108: 28-37.
24. Hughes TP, Kaeda J, Branford S, et al. Frequency of major molecular responses to imatinib or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed patients with chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2003; 349: 1423-32.
25. Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. *Leukemia* 2003; 17: 2318-57.
26. Branford S, Cross NCP, Hochhaus A, Radich J, Saglio G, Kaeda J, et al. Rationale for the recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts in patients with chronic myeloid leukaemia. *Leukemia* 2006; 20: 1925-30.