



ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

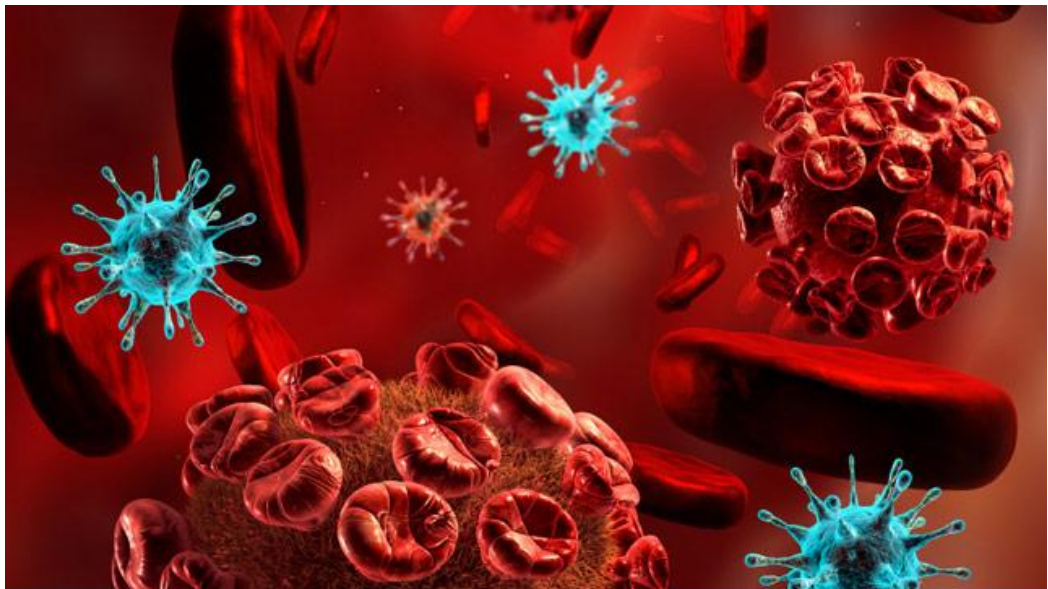
ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΤΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΧΡΟΝΙΑΣ ΜΥΕΛΟΓΕΝΟΥΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ

Πτυχιακή εργασία

του

Τζάχο Μικέλ

Π Τ Υ Χ Ι Α Κ Η Ε Ρ Γ Α Σ Ι Α



Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Βασιλική Κωνσταντινίδου,
Καθηγήτρια Εφαρμογών Αιματολογίας - Μικροβιολογίας

2017

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	4
2 . ΧΡΟΝΙΑ ΜΥΕΛΟΓΕΝΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ.....	4
2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ.....	6
2.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΧΡΟΝΙΩΝ ΜΥΕΛΟΓΕΝΩΝ ΛΕΥΧΑΙΜΙΩΝ.....	7
2.3 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	13
2.4 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ.....	15
2.5 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ.....	18
2.6 ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ/ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	23
2.7 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ.....	30
2.7.1 Εξετάσεις αίματος	31
2.7.2 Εξετάσεις μυελού των οστών.....	31
2.7.3 Κυτταρογενετική ανάλυση.....	32
2.7.4 FISH.....	34
2.7.5 PCR.....	39
2.7.6 Κυτταρομετρία ροής.....	45
2.7.7 Εξετάσεις απεικόνισης.....	49
2.7.8 Αξονική τομογραφία.....	49
2.7.9 Υπερηχογράφημα.....	50
2.8 Εργαστηριακά ευρήματα.....	50
2.8.1 Περιφερικό αίμα.....	50
2.8.2 Μυελός των οστών.....	51
2.8.3 Βιοχημικά ευρήματα.....	52

2.8.4 Κυτταρογενετικά ευρήματα.....	53
2.9 ΠΟΡΕΙΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ.....	53
3 ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	58
3.1 Χημειοθεραπεία.....	58
3.2 Παρακολούθηση.....	59
3.3 Στοχευμένη θεραπεία.....	60
3.4 Επιλογές θεραπείας κατά φάση.....	62
3.5 Μεταμόσχευση μυελού των οστών.....	65
3.6 Ιντερφερόνη.....	69
3.7 Ομοχαρριωγκτονίνη.....	70
3.8 Παράταση χρονιάς φάσης.....	70
3.9 Εντατική θεραπεία με σκοπό την ίαση.....	71
4. ΕΠΙΛΟΓΟΣ.....	72
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	73

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το θέμα της εργασίας μου αφορά την χρόνια μυελογενή λευχαιμία (ΧΜΛ), μία αιματολογική νεοπλασία που χαρακτηρίζεται από ανεξέλεγκτο και υπέρμετρο πολλαπλασιασμό των κυττάρων που παράγονται στο μυελό των οστών (μυελικής σειράς).

Σκοπός αυτής της πτυχιακής εργασίας, είναι η διευκρίνιση των προσεγγιστικών τρόπων με τους οποίους διαγιγνώσκεται η ΧΜΛ, με αναφορά και στα ευρήματα που βρίσκουμε στο εργαστήριο.

Αναφορά γίνεται επίσης στις διάφορες μορφές της ΧΜΛ, καθώς και τα διάφορα χαρακτηριστικά τους που διαφοροποιούν τη μια από την άλλη. Επίσης γίνεται λόγος για την συχνότητα της νόσου στο γενικό πληθυσμό, αλλά και ποιοι μηχανισμοί ευθύνονται για την πρόκληση της.

Ένα ακόμα κομμάτι της εργασίας μου είναι η πορεία της νόσου, δηλαδή πως εξελίσσεται ανάλογα με τις φάσεις της και την πάροδο του χρόνου, καθώς και η κλινική εικόνα που παρουσιάζουν οι ασθενείς, η οποία προαναγγέλλει πιθανή εισβολή της. Αναλύεται και η παθοφυσιολογία της νόσου.

Στα πλαίσια της εργασίας μου αναλύονται επίσης οι προγνωστικοί δείκτες, οι όποιοι διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στην πορεία της νόσου.

Τέλος η εργασία μου κλείνει με την θεραπευτική αγωγή της νόσου και πως αυτή θα πρέπει να αντιμετωπίζεται ανάλογα με την φάση, την πορεία αλλά και την κατάσταση του ασθενούς.

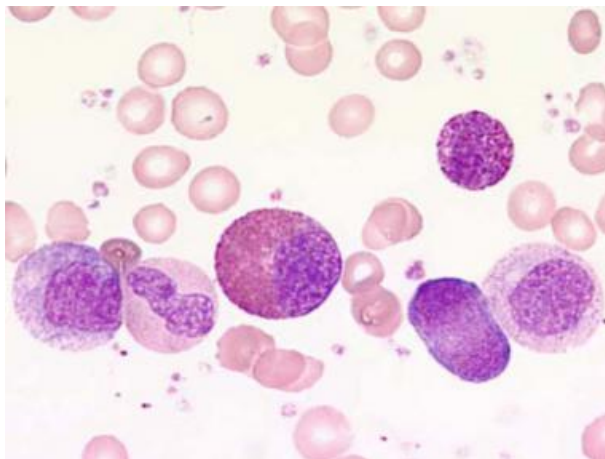
2. ΧΡΟΝΙΑ ΜΥΕΛΟΓΕΝΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ

Η χρόνια μυελογενής λευχαιμία (ΧΜΛ ή CML - chronic myelogenous leukemia), γνωστή και ως χρόνια κοκκιοκυτταρική λευχαιμία (CGL – chronic granulocytic leukemia), η όποια ανήκει στα μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα (μια ομάδα νοσημάτων που χαρακτηρίζονται από την υπερπαραγωγή κυττάρων του αίματος από τα προγονικά πρόδρομα κύτταρα. Είναι μια κακοήθης νόσος, η οποία χαρακτηρίζεται από αναίτια και ανεξέλεγκτη αύξηση των κυττάρων της μυελικής σειράς και αντιπροσωπεύει περίπου το 15% των μορφών της λευχαιμίας.

Η νόσος χαρακτηρίζεται από αναιμία, βασηοφιλία, θρομβοκυττάρωση, σπληνομεγαλία, υπερκυτταρικό μυελό των οστών με κύτταρα της κοκκιοκύτταρικής σειράς και άωρα και αυξημένα κοκκιοκύτταρα. Δε αφορά μόνο στην κοκκιοκύτταρική σειρά, αλλά στην μονοκυτταρική, μεγακαρυοκυτταρική και ερυθρά σειρά.

Οι διάφορες κατηγορίες της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας μοιάζουν, διότι αφορούν την κοκκιοκυτταρική σειρά του μυελού των οστών και οι μελέτες της μοριακής γενετικής, μαζί με τις κυτταρογενετικές και ενζυματικές, φανερώνουν ότι είναι μονοκλωνικές κυτταρικές υπερπλασίες, των οποίων το κύτταρο προέλευσης είναι κοινό και αφορά ένα πολυδύναμο αιμοποιητικό μητρικό κύτταρο. Η προέλευσή τους αυτή, έχει σαν αποτέλεσμα η ερυθρά και μεγακαρυοκυτταρική σειρά να συμμετέχουν στη νεοπλασία. Σε μερικές περιπτώσεις συμμετέχει και η Β-λεμφοκυτταρική σειρά, ενώ υπάρχουν αναφορές που αποδεικνύουν ότι στη νεοπλασία αυτή συμμετέχει και η Τ-λεμφοκυτταρική σειρά, γεγονός που σημαίνει ότι πράγματι ο νεοπλασματικός κλώνος προέρχεται από ένα αρχέγονο πολυδύναμο μητρικό κύτταρο.

Όσο αναφορά την κλινική άποψη οι ΧΜΛ παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στη συχνότητα και ηλικία εμφάνισης, τις εκδηλώσεις, την απάντηση στην αγωγή και την πρόγνωση. Για αυτό ακριβώς το λόγο η ακριβής διάκριση και διαφορετική ονομασία τους έχει τεράστια σημασία στην καλύτερη εκτίμηση και ορθότερη αντιμετώπισή τους.



Εικόνα 1: Επίχρισμα περιφερικού αίματος (x1000) δείχνει διάφορα στάδια ωρίμανσης την κοκκιοκυτταρικής σειράς, συμπεριλαμβανομένου ενός ηωσινόφιλου και ενός βασεόφιλου.

2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Τα συμπτώματα και τα σημεία της λευχαιμίας όπως αδυναμία, αιμορραγική διάθεση, ωχρότητα και λεμφαδενοπάθεια αναφέρονται από την εποχή του Ιπποκράτη. Το 1845, ο παθολόγος John Hughes Bennett ανέφερε το εξής : “Case of Hypertrophy of the Spleen and Liver in which Death Took Place from Suppuration of the Blood” (Michael W. Deininger, 2008) στο ιατρικό περιοδικό του Εδιμβούργου, δηλαδή ότι πρόκειται για μια υπερτροφία του σπλήνα και του ήπατος, στην οποία ο θάνατος έλαβε χώρα από την κατακράτηση αίματος. Λίγο αργότερα, ο Rudolf Virchow στο Βερολίνο δημοσίευσε μια παρόμοια υπόθεση. Θα μπορούσε να ειπωθεί ότι αυτοί οι δύο ασθενείς ίσως να αποτελούσαν τις πρώτες περιγραφές της νόσου που αργότερα έγινε γνωστή ως χρόνια μυελογενής λευχαιμία. Ενώ ο Bennett πίστευε ότι ο ασθενής του είχε κάποια λοίμωξη, ο Virchow υποπτεύθηκε ότι έπασχε από κάποια νεοπλασματική νόσο που την ονόμασε λευχαιμία λόγω της λευκής χροιάς του αίματος.

Το 1872, ο Ernst Neumann παρατήρησε ότι τα κύτταρα της λευχαιμίας προέρχονταν από τον μυελό των οστών και όχι από τον σπλήνα. Την ίδια εποχή ο Bizzozero μόλις 22 ετών διατύπωσε ότι τα αιμοποιητικά κύτταρα παράγονται στο μυελό.

Το 1877 ο Erlich διαχώρισε την οξεία μορφή της λευχαιμίας, ενώ ο Naegeli το 1900 περιέγραψε το βλαστικό κύτταρο και τις χώρισε σε δύο κατηγορίες: τις λεμφογενείς και τις μυελογενείς.

Ένα πραγματικό άλμα στην διάγνωση της νόσου, ήταν η ανακάλυψη ενός ασυνήθιστα μικρού χρωμοσώματος από την ομάδα G, γνωστό σήμερα ως χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας Philadelphia (Ph) από τους κυτταρογενετικούς της Φιλαδέλφειας, Peter Nowel και David Hungerford. Το γεγονός αυτό ήταν πολύ σημαντικό, καθώς απέδειξε ότι ο καρκίνος ήταν πρόβλημα του DNA. Δεκατρία χρόνια αργότερα η Janet Rowley αναγνώρισε ότι το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας ήταν το προϊόν μιας αμοιβαίας μετατόπισης μεταξύ των χρωμοσωμάτων 9 και 22. Στην δεκαετία του '80 οι εταίροι μετατόπισης αναγνωρίστηκαν ως BCR και ABL. Στην συνέχεια η ανακάλυψη της μη ρυθμιζόμενη δραστηριότητα κινάσης τυροσίνης, απέδειξε ότι είναι κρίσιμη για την ικανότητα των BCR-ABL να μετασχηματίζουν κύτταρα

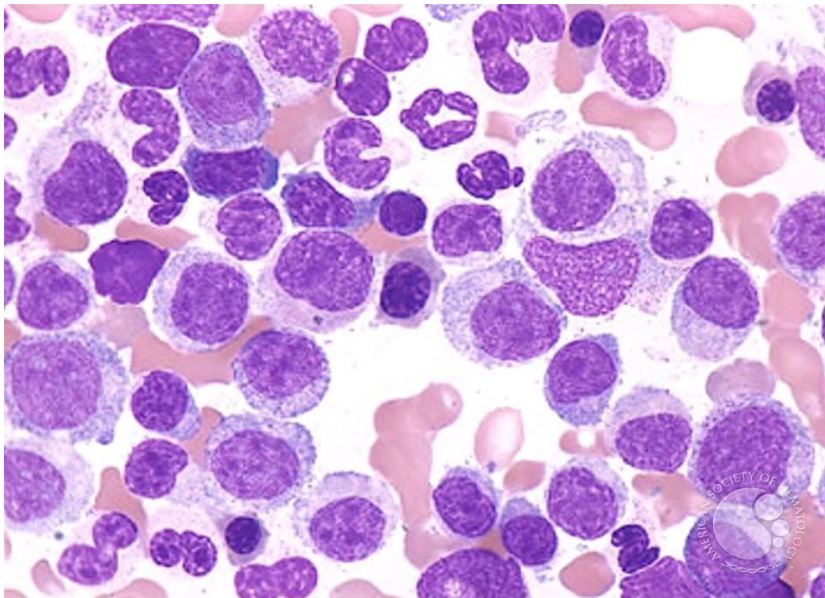
2.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΧΡΟΝΙΑΣ ΜΥΕΛΟΓΕΝΟΥΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ

ΑΤΥΠΗ ΧΡΟΝΙΑ ΜΥΕΛΟΓΕΝΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ

Αποτελεί σπάνια Ph¹- μορφή ΧΜΛ, η οποία οφείλεται σε ανωμαλία του αρχέγονου μητρικού κυττάρου. Συνήθως εμφανίζεται σε ηλικία 45-80 ετών και πολύ σπάνια κάτω των 30 ετών. Τα κλινικά χαρακτηριστικά της είναι η αναιμία και η σπληνομεγαλία.

Όσο αφορά το περιφερικό αίμα, εμφανίζεται αυξημένος αριθμός των λευκοκυττάρων και των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων. Τα αιμοπετάλια είναι συνήθως ελαττωμένα, σπάνια αυξημένα ενώ η ωρίμανση των κυττάρων είναι ανώμαλη με χαρακτηριστικά δυσπλασίας. Επιπλέον ο βαθμός της αναιμίας και της μονοκυττάρωσης είναι αυξημένος, ενώ της ηωσινοφιλίας και βασεοφιλίας μικρότερος ή και καθόλου.

Ο μυελός των οστών είναι υπερκυτταρικός με λόγο κοκκιώδους προς ερυθράς 10:1. Παρουσιάζονται αυξημένες πρόδρομες κοκκιοκυτταρικές και μονοκυτταρικές μορφές, συχνά με δυσπλαστικά χαρακτηριστικά. Τέλος τα βλαστικά κύτταρα μπορεί να είναι αυξημένα χωρίς όμως να προσπερνούν το 30% και ελαττωμένα μεγακαρυοκύτταρα.



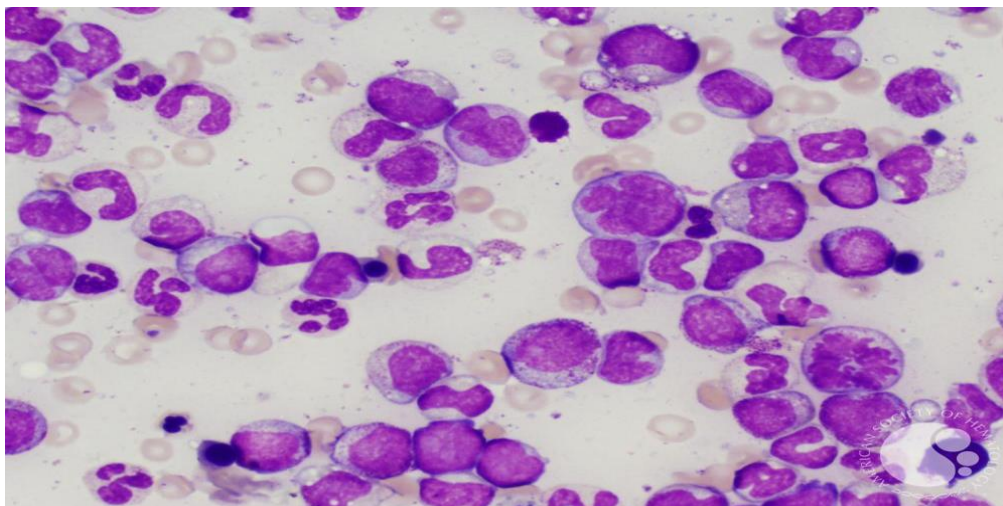
Εικόνα 2: Επίχρισμα μυελού των οστών με μη φυσιολογικά πυρηνικά λοβία στα ουδετερόφιλα, ενώ παρατηρείται ωρίμανση της μυελικής σειράς.

ΧΡΟΝΙΑ ΜΥΕΛΟΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΧΜΜΛ)

Σπάνια Ph¹- μορφή ΧΜΛ που χαρακτηρίζεται συνήθως από ορθόχρωμη και ορθοκυτταρική αναιμία αλλά και διόγκωση ήπατος και σπλήνας. Μερικοί ασθενείς σε μικρό ποσοστό μπορεί να αναπτύξουν ασκитικό, πλευρικό, περικάρδιο ή και αρθρικό υγρό, καθώς και διόγκωση λεμφαδένων, διηθήσεις δέρματος και σπάνια ούλων.

Στο επίχρισμα περιφερικού αίματος διακρίνουμε αναιμία (ορθόχρωμη – ορθοκυτταρική), αλλά μερικές φορές μπορεί να παρουσιαστεί ως μακροκυτταρική. Στο αίμα μπορεί μερικές φορές να υπάρχει ένας ορθόχρωμος μακροκυτταρικός και ένας υπόχρωμος μικροκυτταρικός πληθυσμός ερυθροκυττάρων. Στην περίπτωση του ορθόχρωμου μακροκυτταρικού πληθυσμού, βλέπουμε στον μυελό των οστών μεγάλο αριθμό δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών. Ακόμα πιο σπάνιο είναι ότι υπάρχει περίπτωση να εκδηλωθεί και αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, με την παρουσία σφαιροκυττάρων, η οποία είναι θετική στην άμεση αντίδραση Coombs. Επίσης παρατηρούμε λευκοκυττάρωση με αύξηση κυρίως των μονοκυττάρων με απόλυτο αριθμό που ξεπερνά το $1 \times 10^9/L$. Από μορφολογικής απόψεως τα μονοκύτταρα εμφανίζουν κάποιες ανωμαλίες, όπως παθολογικά σχήματα, του πρωτοπλάσματος και υπερκατάτμηση του πυρήνα. Ο αριθμός των αιμοπεταλίων μπορεί να κυμαίνεται σε φυσιολογικά επίπεδα ή μπορεί να υπάρχει θρομβοπενία. Τέλος τα βλαστικά κύτταρα είναι λιγότερα από 5%.

Τα κύρια κλινικά και βιολογικά χαρακτηριστικά της είναι η αύξηση των επιπέδων της λυσοζύμης του ορού και των ούρων. Συνήθως εμφανίζονται κάποιες ανοσολογικές διαταραχές, όπως αύξηση των ανοσοσφαιρινών, με εμφάνιση μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης στο 5 - 10% των περιπτώσεων και ανάπτυξη αυτοαντισωμάτων έναντι των ερυθροκυττάρων, σε ποσοστό 10%.



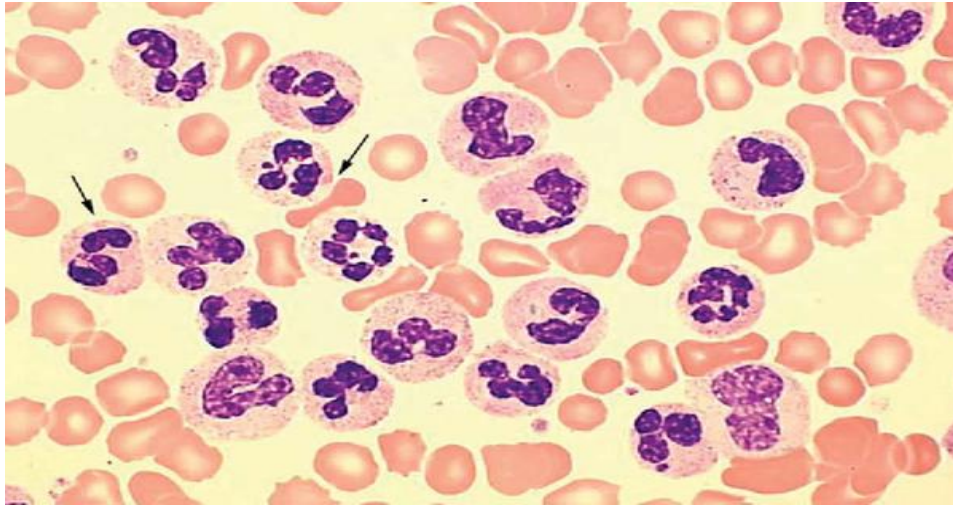
Εικόνα 3: Τα αναρροφητικά επιχρίσματα εμφανίζουν μυελογενή υπεροχή με αυξημένα μονοκύτταρα (16%) και 2% βλάστες. Υπάρχει δυσπλασία.

ΧΡΟΝΙΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ

Αποτελεί πολύ σπάνια χρόνια μυελοϋπερπλαστική διαταραχή Ph^{1-} μορφή ΧΜΛ, η οποία πλέον έχει αναγνωριστεί σαν ξεχωριστή οντότητα από την ΠΑΓΚΟΣΜΙΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ ΥΓΕΙΑΣ (WHO). Η νόσος χαρακτηρίζεται από μονοκυττάρωση, βασεοφιλία και παρατεταμένη ώριμη ουδετεροφιλική λευκοκυττάρωση με λίγα ή καθόλου ανώριμα άωρα κοκκιοκύτταρα, (πολλά πολυμορφοπύρηννα ουδετερόφιλα) με τους ασθενείς να παρουσιάζουν συνήθως αναιμία αλλά χωρίς σπληνομεγαλία. Ο αριθμός των λευκοκυττάρων κυμαίνεται από $27-98 \times 10^9/L$. Τα ουδετερόφιλα μπορεί να εμφανίζουν τοξική κοκκίωση, δακτυλιοειδείς πυρήνες και σωματία Döhle. Η αλκαλική φωσφατάση των κοκκιοκυττάρων των ουδετερόφιλων είναι υψηλή, όμως έχουν περιγραφεί ανωμαλίες κλωνικού τύπου παρόλο που το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας απουσιάζει. Εκτός από κάποιες παραλλαγές της νόσου, συνήθως δε παρατηρούνται χαρακτηριστικά δυσπλασίας.

Ο μυελός των οστών είναι υπερκυτταρικός, ενώ λόγω της υπερπλασίας της ερυθράς σειράς η αναλογία της κοκκιώδους : ερυθράς είναι φυσιολογική. Αν και βλαστική κρίση συνήθως δε υπάρχει, μπορεί να παρατηρηθεί σε περιπτώσεις με μυελοδυσπλαστικά χαρακτηριστικά.

Δεδομένου τα παραπάνω η νόσος χρειάζεται περισσότερη διερεύνηση και σε αυτήν μπορεί να συμβάλλουν οι μοριακές και κυτταρογενετικές μελέτες.



Εικόνα 4: Το επίχρισμα περιφερικού αίματος παρουσιάζει μία απόλυτη ουδετεροφιλία χωρίς τη σημαντική αριστερή μετακίνηση, την εμφάνιση κενοτοπίων ή την τοξική κοκκοποίηση που συνήθως συνδέεται με μια αντιδραστική διαδικασία. Τα σώματα Döhle (βέλη) είναι συχνά παρόντα στο κυτταρόπλασμα των ουδετερόφιλων.

ΧΡΟΝΙΑ ΜΥΕΛΟΓΕΝΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΤΗΣ ΝΕΑΡΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ

Είναι μια πολύ σπάνια μορφή Ph¹-ΧΜΛ, η οποία εκδηλώνεται συνήθως στην παιδική ηλικία. Στην νόσο αυτή μπορεί να έχουμε μετατροπή της ερυθροποίησης σε εμβρυική, με αποτέλεσμα να υπάρχει αυξημένη HbF, αυξημένη έκφραση του αντιγόνου i. Αντίθετα έχουμε μειωμένη HbA₂, δραστικότητα της καρβονικής ανυδράσης και του ερυθροκυτταρικού αντιγόνου i. Ο βαθμός της αλκαλικής φωσφατάσης των ουδετερόφιλων μπορεί να διαφέρει, ενώ οι ανοσοφαιρίνες παρουσιάζουν αυξημένη συγκέντρωση στο 50% των περιπτώσεων.

Η νόσος συνοδεύεται από κυτταρογενετικές ανωμαλίες, αλλά αυτό δεν ισχύει πάντα, δηλαδή χωρίς να είναι σταθερή. Ορισμένοι ασθενείς εμφανίζουν βλαστική κρίση, η οποία έτσι και αλλιώς δε βοηθάει στην πρόγνωση.

Η εικόνα του περιφερικού αίματος συνοδεύεται από ουδετεροφιλία και μονοκυττάρωση. Επίσης παρατηρούνται άωρα κύτταρα της κοκκιώδους σειράς μαζί με αναιμία, θρομβοπενία και ερυθροβλάστες.

Η αντίστοιχη εικόνα στο μυελό των οστών είναι υπερκυτταρική, με υπερπλασία της κοκκιώδους σειράς και κάποιες φορές αυξημένα μονοκύτταρα και βλάστες.

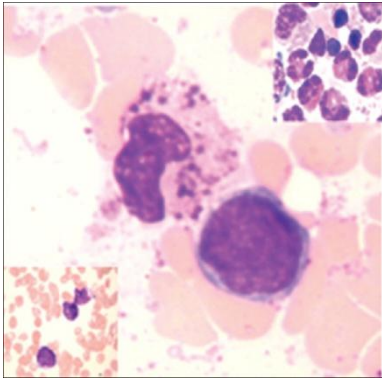
ΧΡΟΝΙΑ ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ

Αποτελεί επίσης μια πολύ σπάνια μορφή Ph1- ΧΜΛ, η οποία δεν μπορεί να διακριθεί από το υπερηωσινοφιλικό σύνδρομο. Είναι ένα σπάνιο μυελούπερπλαστικό νεόπλασμα, στο οποίο πάρα πολλά λευκοκύτταρα, ηωσινόφιλα παράγονται από τον μυελό των οστών. Τα κύτταρα διαχέονται από τον μυελό των οστών και συγκεντρώνονται στο αίμα και στους άλλους ιστούς.

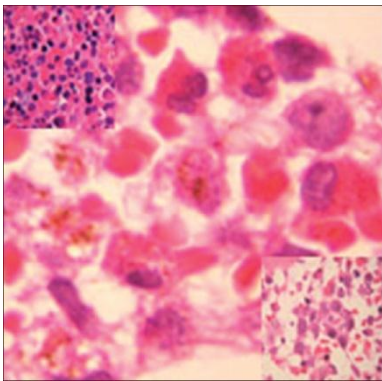
Ορισμένοι πάσχοντες από αυτή τη νόσο δεν φέρουν συμπτώματα. Διαγιγνώσκεται τυχαία κατά τη διάρκεια μιας απλής εξέτασως αίματος. Άλλοι μπορούν να έχουν περισσότερα από ένα σύμπτωμα, όπως βήχα, κόπωση, κνησμό και γενική φαγούρα, πυρετό, διάρροια και μυϊκούς σπασμούς.

Η νόσος είναι συχνότερη στους άνδρες. Χαρακτηρίζεται από σπληνομεγαλία και λεμφαδενοπάθεια συμπεριλαμβανομένου την κακή πρόγνωση. Επιπλέον μπορεί να συνοδεύεται από αναιμία, λοιμώξεις, αιμορραγίες, καρδιακή ανεπάρκεια και ανωμαλίες από το κεντρικό νευρικό σύστημα και πνεύμονες.

Η φυσική πορεία της χρόνιας ηωσινοφιλικής λευχαιμίας δεν είναι ίδια για όλους τους ασθενείς. Μπορεί να παραμείνει σταθερή για χρόνια, ακόμη και δεκαετίες, ή μπορεί να μεταμορφωθεί ταχύτατα σε οξεία λευχαιμία. Συνεπώς η κατάλληλη θεραπεία κρίνεται ανά ατομική βάση.



Εικόνα 5: Επίχρισμα αίματος χρόνιας ηωσινοφιλικής λευχαιμίας, το οποίο δείχνει ένα δυσπλαστικό ηωσινοφιλικό μεταμυελοκύτταρο και μία βλάστη.



Εικόνα 6: Βιοψία μυελού των οστών χρόνιας ηωσινοφιλικής λευχαιμίας με δυσπλαστικά ηωσινόφιλα και μία βλάστη.

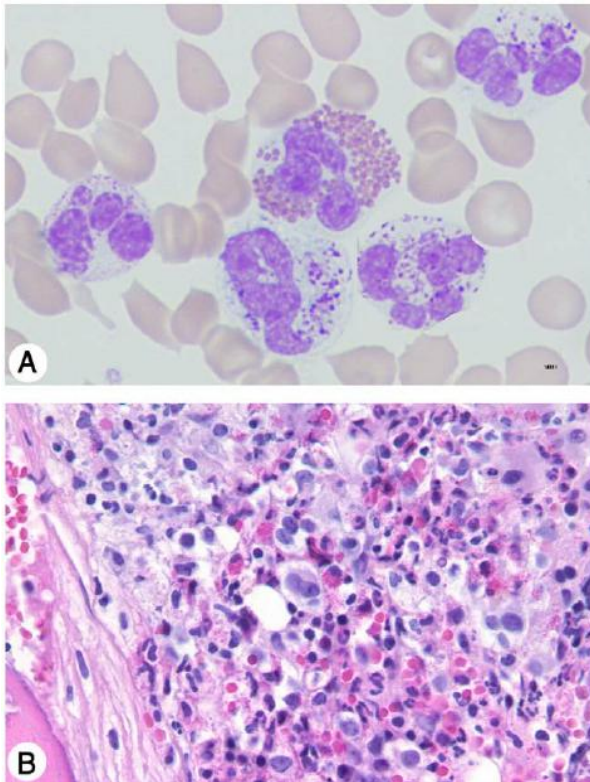
ΧΡΟΝΙΑ ΒΑΣΕΟΦΙΛΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ

Αποτελεί μια πολύ σπάνια μορφή Ph¹- μορφή ΧΜΛ η οποία χαρακτηρίζεται από μεγάλη αύξηση των βασεόφιλων τόσο στο περιφερικό αίμα, όσο και στο μυελό των οστών. Ο μυελός των οστών παρουσιάζει υπερπλασία των βασεόφιλων, ηωσινόφιλων και δυσπλασία της μεγακαρυοκυτταρικής σειράς. Τα κύτταρα της νόσου έχουν διαφορετική μορφολογία, πιο συγκεκριμένα τα ώριμα σιτευτικά κύτταρα μαζί με τα βασεόφιλα προμυελοκύτταρα και βασεόφιλα έχουν ανώμαλους λοβούς.

Η κλινική εικόνα της νόσου συνοδεύεται από ηπατο-σπληνομεγαλία, αλλοιώσεις των οστών, διήθηση δέρματος και άλλα συμπτώματα τα οποία οφείλονται στα βασεόφιλα κύτταρα των ιστών.

Τα σιτευτικά κύτταρα περιέχουν τρεις ουσίες:

- Ηπαρίνη: η οποία όταν απελευθερώνεται, προκαλεί παράταση του χρόνου της ενεργοποιημένης θρομβοπλαστίνης (APTT) και αιμορραγία.
- Ισταμίνη: η απελευθέρωση της οποίας προκαλεί κνησμό, πεπτικό έλκος, γαστρική υπερέκκριση κτλπ.
- Σεροτονίνη ή αλλιώς 5-υδροξυτρυπταμίνη: η οποία προκαλεί κοιλιακό άλγος, σύγχυση, διάρροια, υπόταση και άλλα.



Εικόνα 7: (A) επίχρισμα περιφερικού αίματος με βασεόφιλα. (B) βιοψία μυελού των οστών ο οποίος παρουσιάζεται υπερκυτταρικός, με αυξημένο λόγο μυελικής προς ερυθρά σειρά, αυξημένα ηωσινόφιλα και αυξημένα μεγακαρυοκυττάρια με μικρές και υποδιπλασιασμένες μορφές.

2.3 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η χρόνια μυελογενής λευχαιμία είναι δυνατόν να εμφανιστεί σε όλες τις ηλικιακές ομάδες όμως είναι νόσος που εμφανίζεται κυρίως στους ενήλικες αντιπροσωπεύοντας το 20% όλων των περιπτώσεων των λευχαιμιών των ενηλίκων.

Η επίπτωση της κυμαίνεται από 0,6 έως 2,0 περιπτώσεις ανά 100.000 άτομα ετησίως και αυξάνεται με την ηλικία (το 30% των ασθενών είναι μεγαλύτεροι από 60 ετών) και είναι υψηλότερη στον ανδρικό πληθυσμό απ' ότι στο γυναικείο (αναλογία αρσενικού προς θηλυκό 1.3 : 1), παρότι οι γυναίκες φαίνεται να έχουν υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης.

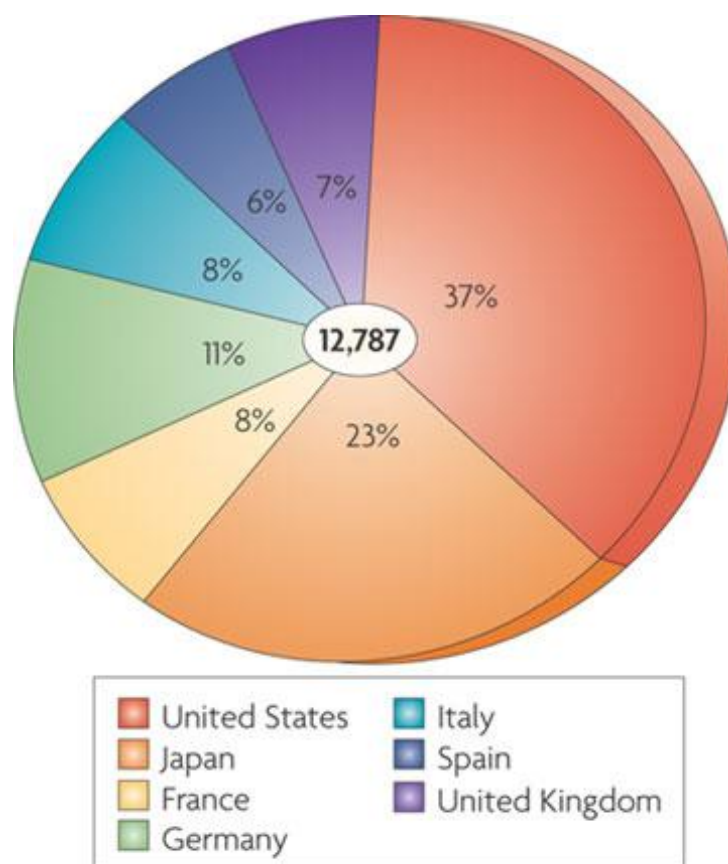
Η ΧΜΛ δεν κάνει διακρίσεις όσο αναφορά το φύλο ή την εθνικότητα. Αξίζει να αναφερθεί ότι στις φτωχότερες χώρες το ποσοστό επιβίωσης πιθανόν να επηρεαστεί από τη διαθεσιμότητα των φαρμάκων και των διαγνωστικών τεχνικών. Η έκθεση στην ακτινοβολία μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο εμφάνισης ΧΜΛ. Η έκθεση στην ακτινοβολία μπορεί να οφείλεται σε παρελθοντικές θεραπείες ακτινοβολίας για τη θεραπεία του καρκίνου του θυρεοειδούς ή λέμφωμα Hodgkin ή από κάποια πυρηνική καταστροφή.

Το ποσοστό επιπολασμού (συχνότητα εμφάνισης) έχει αυξηθεί λόγω της χρήσης αναστολέων κινάσης τυροσίνης. Επιπλέον η θεραπεία με imatinib (ιματινίμπη) οδηγεί τους περισσότερους ασθενείς σε παρατεταμένη ύφεση για αυτό και ο επιπολασμός της ΧΜΛ έχει αυξηθεί κατά πολύ αποτελώντας 15% όλων των λευχαιμιών στον ανεπτυγμένο κόσμο.

Το 50% των ΧΜΛ διαγιγνώσκονται από τυχαίες εργαστηριακές εξετάσεις, ενώ το 85% κατά της διάρκεια της χρόνιας φάσης.

Στην χώρα μας, η επίπτωση της ΧΜΛ είναι 1,3-1.4/100.000, με τους άνδρες άνω των 65 ετών στο 8,4/100.00 και γυναίκες 4,7/100.000.

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι από το 1973 έως 1991 η συχνότητα της ΧΜΛ έχει μειωθεί ελάχιστα από 1,5 σε 1.3/100.000.



Εικόνα 8: Στατιστικά στοιχεία επίπτωσης ΧΜΑ (%) το 2009.

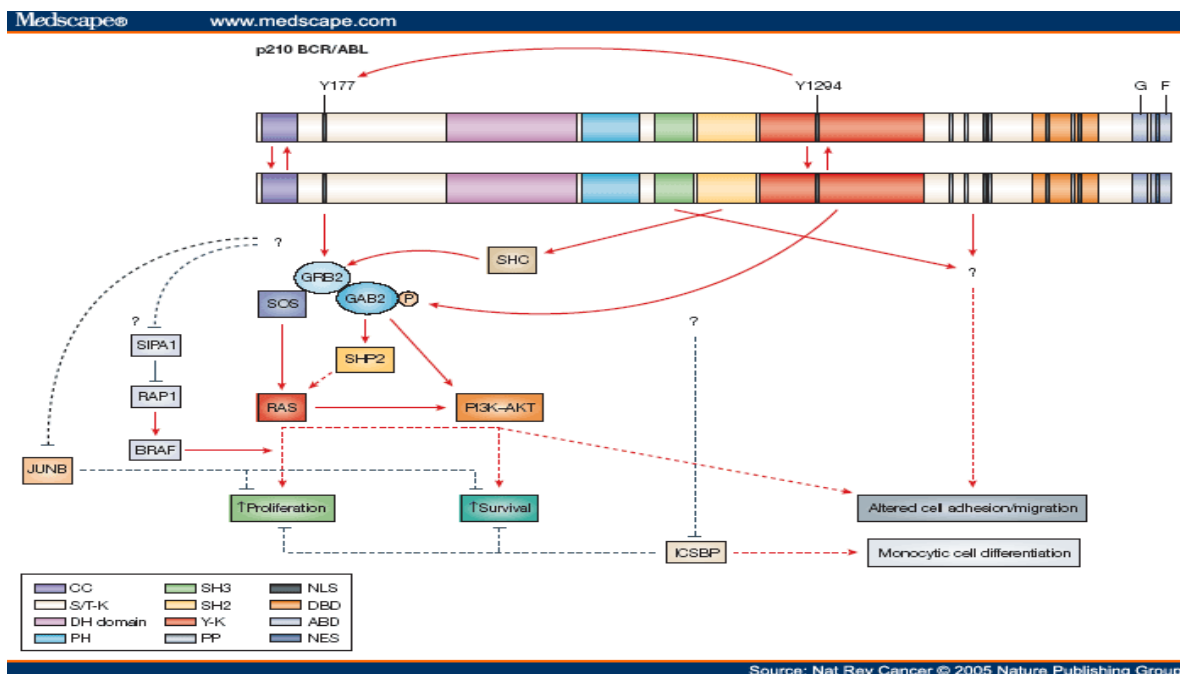
2.3 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Η νόσος εμφανίζει μια χρωμοσωμική ανωμαλία στο λευχαιμικό κλώνο, δηλαδή μία αμοιβαία μετάθεση (t) μεταξύ του ακραίου τμήματος των μακρών σκελών (q) του χρωμοσώματος 9 (q34) και του 22 (q11), ή αλλιώς t(9;22) q(34;11). Μετά την απώλεια και την αντικατάσταση του τμήματος των μακρών σκελών, από το πολύ μικρό ακραίο τμήμα των μακρών σκελών του χρωμοσώματος 9, το χρωμόσωμα 22 ονομάζεται χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας (Ph¹).

Κατά την αμοιβαία μετάθεση αυτή, το ογκογονίδιο C-ABL αποσπάται από το χρωμόσωμα 9 και προσκολλάται στο 22, δηλαδή η μετάθεση t(9;22) προκαλεί αναδιατάξεις στο γονίδιο ABL (ABELSON LEUKEMIA VIRUS) του

χρωμοσώματος 9 και του γονιδίου BCR (BREAKPOINT CLUSTER REGION) του χρωμοσώματος 22 (ένα μέρος του γονιδίου BCR από το χρωμόσωμα 22 συντήκεται με το γονίδιο ABL στο χρωμόσωμα 9). Κατά αυτόν το τρόπο οι αναδιατάξεις οδηγούν στην δημιουργία χμιαϊρικού-υβριδικού γονιδίου BCR/C-ABL στο χρωμόσωμα 22.

Αυτό το ανώμαλο γονίδιο "σύντηξης" είναι υπεύθυνο για την παραγωγή και την κωδικοποίηση μια ανώμαλης υβριδικής πρωτεΐνης p210^{bcr/c-abl} στην θέση της φυσιολογικής p145^{c-abl}. Το φυσιολογικό γονίδιο ABL κωδικοποιεί το ενζύμο κίνηση της τυροσίνης. Η πρωτεΐνη που παράγεται από το φυσιολογικό γονίδιο ABL εμπλέκεται σε πολλές κυτταρικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένου της κυτταρικής ανάπτυξης και διαίρεσης (πολλαπλασιασμού), μετακίνησης (μετανάστευσης) ωρίμανσης (διαφοροποίησης) και αυτοκαταστροφής (απόπτωσης). Η ανώμαλη όμως υβριδική πρωτεΐνη είναι και δρά σαν κινάση της τυροσίνης με ιδιαίτερη ογκογονιδιογώνα δράση.



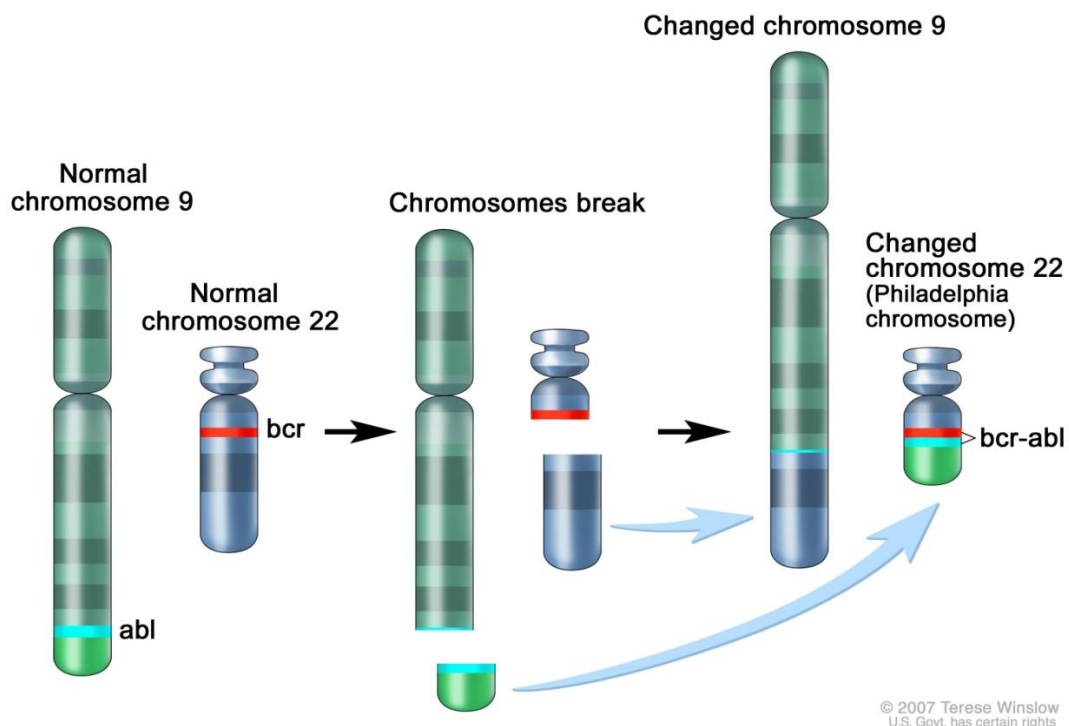
Εικόνα 9: Λευχαιμογόνος σηματοδότηση του BCR-ABL.

Η συνεχώς ενεργή πρωτεΐνη BCR-ABL σηματοδοτεί τα κύτταρα να συνεχίζουν να διαιρούνται ασυνήθιστα και αποτρέπει την αυτοκαταστροφή τους, γεγονός που οδηγεί σε υπερπαραγωγή των ανώμαλων κυττάρων δηλαδή ανεξέλεγκτη

υπερπαραγωγή κοκκιοκυττάρων αλλά και των μεγακαρυοκυττάρων και ερυθροβλάστων (ελαττωμένος ρυθμός ωρίμανσης) και τελικά σε έλλειψη φυσιολογικών κυττάρων αίματος. Η ανώμαλη υβριδική πρωτεΐνη p210 παράγει τον παθολογικό κλώνο, ελέγχοντας τον κυτταρικό κύκλο και επιταχύνοντας την κυτταρική διαίρεση.

Το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας απαντάται και στα Β-λεμφοκύτταρα σε ορισμένους ασθενείς, αυτό σημαίνει ότι η μετάλλαξη σε προϋμότερο κυτταρικό στάδιο εκείνου του CFU GEMM (αρχικά για κοκκιοκύτταρα, ερυθροκύτταρα, μονοκύτταρα και μεγακαρυοκύτταρα.), δηλαδή η μετάθεση t(9;22) αποδίδεται σε σωματική μετάλλαξη του αρχηγόνου αιμοποιητικού κύτταρου. Η μετάλλαξη αυτή συνδέεται με την έκθεση σε ακτινοβολία, καθώς δεν υπάρχει κάποιος άλλος γνωστός προδιαθεσικός παράγοντας.

Επιπλέον, αναστέλλει την επιδιόρθωση του DNA, κάνοντας το κύτταρο πιο επιρρεπές στην ανάπτυξη περαιτέρω γενετικών ανωμαλιών και προκαλώντας γονιδιωματική αστάθεια.



Εικόνα 10: Δημιουργία του χρωμοσώματος Φιλαδέλφειας.

2.5 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η παθοφυσιολογία της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας (ΧΜΛ) είναι σημαντικό να κατανοηθεί, ώστε να υπάρχει η δυνατότητα να προσαρμοστούν οι θεραπείες στο συγκεκριμένο χαρακτηριστικό της νόσου. Αυτό βοηθά στη βελτίωση των αποτελεσμάτων και την ελαχιστοποίηση των γενικών παρενεργειών, καθώς μπορούν να εισαχθούν στοχευμένες θεραπείες.

Η ΧΜΛ είναι νόσος των βλαστικών κυττάρων, η οποία περιλαμβάνει τη συσσώρευση μυελοειδών προδρόμων κυττάρων στο αίμα και στον μυελό των οστών. Τα κύτταρα αυτά έχουν μια διακριτή ανωμαλία στο γονίδιο με μια μετατόπιση του χρωμοσώματος 9 και του χρωμοσώματος 22. Αυτή η γενετική ανωμαλία οδηγεί στην παραγωγή του ογκογονιδίου BCR-ABL το οποίο έχει δραστηριότητα κινάσης τυροσίνης.

Γενετικές ανωμαλίες

Η χρόνια μυελογενής λευχαιμία συνδέεται με μια γενετική ανωμαλία γνωστή ως χρωμόσωμα της Φιλαδέλφειας, η οποία περιλαμβάνει μετατόπιση του χρωμοσώματος. Ανακαλύφθηκε το 1960 από τους Peter Nowell και David Hungerford στη Φιλαδέλφεια της Πενσυλβανίας και έκανε τη ΧΜΛ τον πρώτο καρκίνο που σχετίζεται με μια γενετική μετάλλαξη.

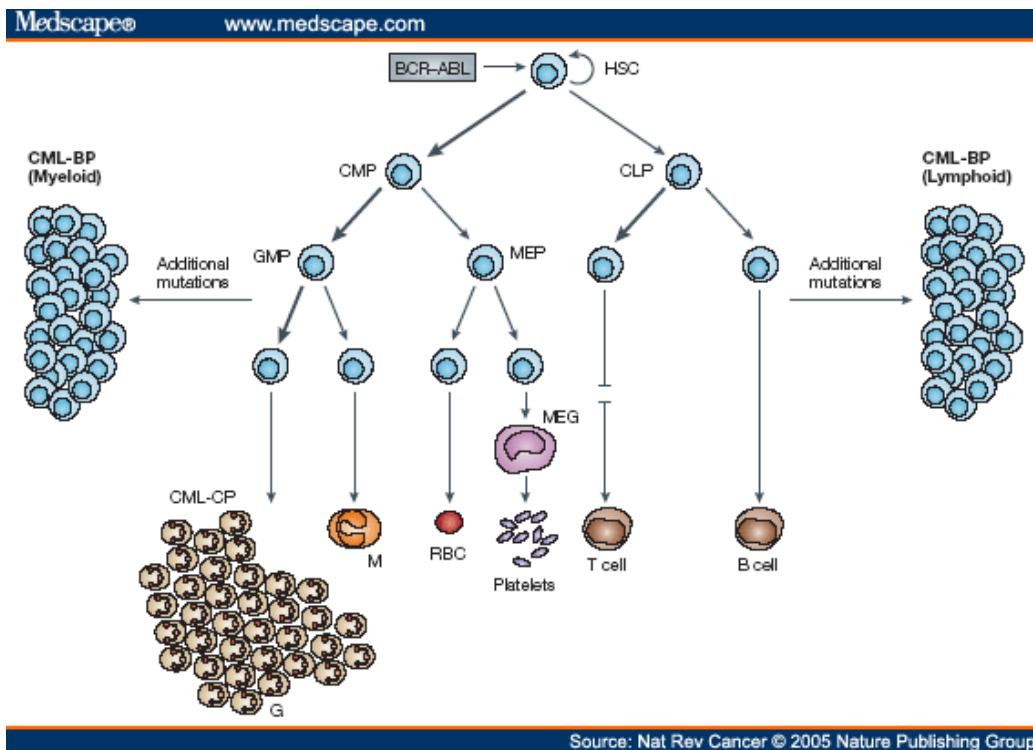
Η χρωμοσωμική μετατόπιση περιλαμβάνει αντίστροφη τοποθέτηση συγκεκριμένων χρωμοσωμάτων με τη σύντηξη της περιοχής του σημείου διακοπής (BCR) στο χρωμόσωμα 22 και το γονίδιο ABL στο χρωμόσωμα 9. Ως αποτέλεσμα, το γονίδιο BCR-ABL μπορεί να προκαλέσει αντιδράσεις φωσφορυλίωσης με κινάση τυροσίνης και παράγεται η πρωτεΐνη p210.

Ο σχηματισμός του γονιδίου BCR-ABL είναι ανώμαλος και ευθύνεται για τον μετασχηματισμό ενός φυσιολογικού κυττάρου σε κύτταρο ΧΜΛ. Καθώς τα ανώμαλα κύτταρα στον μυελό των οστών συνεχίζουν να διαιρούνται και να αναπαράγονται, οι αλλαγές στο κύτταρο του αίματος γίνονται εμφανείς.

Ανάπτυξη κυττάρων

Τα μυελοειδή βλαστικά κύτταρα συνήθως παράγουν μονοκύτταρα και κοκκιοκύτταρα υπό φυσιολογικές συνθήκες σε ένα υγιές άτομο. Η χρόνια μυελογενής λευχαιμία μπορεί να αναπτυχθεί από μια ανωμαλία στα βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών.

Η πρωτεΐνη BCR-ABL αλληλεπιδρά με την υπομονάδα του υποδοχέα ιντερλευκίνης 3-βήτα, η οποία ενεργοποιεί μια σειρά πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Ως αποτέλεσμα, ο ρυθμός της κυτταρικής διαίρεσης και της αντιγραφής αυξάνεται. Επίσης, η πρωτεΐνη BCR-ABL έχει ανασταλτικό αποτέλεσμα στην επισκευή του DNA στο σώμα και ως αποτέλεσμα μπορεί να υπάρχει κάποια αστάθεια στα γονίδια που αυξάνει την πιθανότητα για περισσότερες γονιδιακές μεταλλάξεις.



Εικόνα 11: Η ανάπτυξη της χρόνιας μυελογενής λευχαιμίας.

Παθοφυσιολογική έρευνα

Είναι κατανοητό ότι η πρωτεΐνη BCR-ABL παίζει κεντρικό ρόλο στην δημιουργία χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας. Η βαθύτερη κατανόηση της φύσης της πρωτεΐνης, ιδιαίτερα του τρόπου με τον οποίο ενεργεί ως κινάση τυροσίνη, θα ήταν χρήσιμη για τη βελτίωση των αποτελεσμάτων της στοχευμένης θεραπείας. Για το λόγο αυτό, η επιστημονική έρευνα για τη διερεύνηση της παθοφυσιολογίας της πάθησης είναι πολύ ωφέλιμη.

Ένα παράδειγμα έρευνας για την παθοφυσιολογία της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας που είχε θετικά αποτελέσματα είναι η ανακάλυψη του φαρμάκου imatinib (Ιματινίμπη). Το φάρμακο αυτό στοχεύει στη δράση της κινάσης τυροσίνης και βοηθά στον έλεγχο της εξέλιξης της νόσου σε πιο προχωρημένα στάδια. Εν κατακλείδι, συμβάλλει στη βελτίωση της πρόγνωσης της ΧΜΛ.

Μοριακή παθοφυσιολογία χρόνιας μυελογενής λευχαιμίας

Είναι γνωστό ότι η χρόνια μυελογενής λευχαιμία προκύπτει από την ενεργοποίηση πολλαπλών οδών σηματοδότησης από το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας (Ph) και το μοριακό αντίστοιχό του, το ογκογονίδιο BCR-ABL. Πειράματα εξάλειψης και κατευθυνόμενης μεταλλαξιγένεσης έχουν προσδιορίσει τις κρίσιμες περιοχές του ογκογονιδίου για την αλληλεπίδρασή τους με τις κύριες οδούς σηματοδότησης, αλλά οι ρόλοι των τελευταίων στους προκύπτοντες λευχαιμικούς φαινότυπους δεν είναι πλήρως κατανοητοί.

Ορισμένα κύρια μονοπάτια σηματοδότησης που φαίνεται να ενεργοποιούνται από το BCR-ABL, είναι τα RAS, MYC, JUN, STAT, PI-3K και του NF-KB. Άλλα μόρια σηματοδότησης που εμπλέκονται είναι τα p62-DOK, p95-VAV, CRK-L, p120-OB1 και πρωτεΐνες εστιακής προσκόλλησης.

Τέλος πειραματικές αποδείξεις δείχνουν ότι οι αρνητικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες θα μπορούσαν να ενεργοποιηθούν σε κύτταρα που εκφράζουν BCR-ABL και η αναστολή τους κατά τη διάρκεια της νόσου θα μπορούσε να διαδραματίσει σπουδαίο ρόλο στην πρόοδο προς την οξεία φάση.

Κλινική εικόνα και τα συμπτώματα της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας

Όταν υπάρχουν συμπτώματα, γιατί η νόσος είναι και ασυμπτωματική είναι τα παρακάτω:

- **Κόπωση:** Οφείλεται στην υπάρχουσα αναιμία, επειδή δεν παράγονται αρκετά ερυθρά αιμοσφαίρια. Εάν τα νοσούντα λευκά αιμοσφαίρια πλήξουν τα υγιή ερυθρά αιμοσφαίρια, μπορεί να προκύψει αναιμία. Η αναιμία κάνει τους ασθενείς να αισθάνονται κουρασμένοι και φθαρμένοι.
- **Επαναλαμβανόμενες μολύνσεις/λοιμώξεις:** Υπάρχουν πολλά λευκά αιμοσφαίρια, αλλά τείνουν να μην λειτουργούν σωστά και χάνεται η ικανότητά τους να καταπολεμούν τη μόλυνση, γεγονός που οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο μόλυνσης. Επιπλέον οι λοιμώξεις συχνά οφείλονται στο *Streptococcus pneumoniae* ή στον *Haemophilus influenzae* και αποδίδονται στην ύπαρξη υπογαμμασφαιριναιμίας.
- **Πόνος των οστών και των αρθρώσεων(αρθραλγία):** Οφείλεται στην πίεση του μυελού των οστών η οποία αυξάνεται λόγω της υπερβολικής συσσώρευσης λευκών αιμοσφαιρίων.
- **Σπληνομεγαλία:** Ο αυξημένος αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων εκρέει από τον μυελό των οστών και αρχίζει να κυκλοφορεί στην κυκλοφορία του αίματος και τελικά να παγιδεύεται και αποθηκεύεται στον σπλήνα, προκαλώντας πρήξιμο ή διόγκωσή του. Ο διογκωμένος σπλήνας καταλαμβάνει χώρο στην κοιλιά και κάνει τους ασθενείς να αισθάνονται γεμάτοι ακόμη και μετά από μικρά γεύματα ή προκαλώντας πόνο στην αριστερή πλευρά του σώματός σας κάτω από τα πλευρά.

Ο κοιλιακός πόνος στο αριστερό ανώτερο τεταρτημόριο, που περιγράφεται ως πιάσιμο μπορεί να προκύψει από έμφραγμα σπλήνας. Επιπλέον μπορεί να σχετίζεται με υπερμεταβολική κατάσταση. Το αυξημένο ήπαρ μπορεί να συμβάλει στην απώλεια βάρους του ασθενούς.



Εικόνα 12: Σπληνομεγαλία

- **Πετέχειες:** Οφείλονται στην μείωση του αριθμού των αιμοπεταλίων. Είναι στρογγυλά, σαν κεφαλάκια καρφίτσας, σημεία που προκαλούνται λόγω επιφανειακής αιμορραγίας μέσα στο δέρμα, αρχικά είναι κόκκινα και με τον καιρό γίνονται μπλε-πορφυρά.



Εικόνα 13: Πετέχειες

- **Αιμορραγία:** Η έλλειψη αιμοπεταλίων (θρομβοπενία) μπορεί να οδηγήσει σε εύκολη αιμορραγία και μώλωπες, συμπεριλαμβανομένων σοβαρών ή συχνών ρινορραγιών, αιμορραγίας από τα ούλα ή μικρών κόκκινων κουκίδων που προκαλούνται από αιμορραγία στο δέρμα.



Εικόνα 14: Μώλωπες από αιμορραγία

- **Εκχυμώσεις**
- **Πυρετός:** σχετίζεται με υπερμεταβολισμό.
- **Υπερβολική εφίδρωση:** σχετίζεται με υπερμεταβολισμό.
- **Απώλεια βάρους:** Λόγω σπληνομεγαλίας
- **Ανορεξία**
- **Αίσθηση κοιλιακής πληρότητας και δυσφορίας**
- **Κνησμός**

2.7 ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ/ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η πρόγνωση και η επιβίωση εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες. Μόνο ένας γιατρός γνωρίζοντας το ιατρικό ιστορικό ενός ατόμου, τον τύπο του καρκίνου, το στάδιο, τα χαρακτηριστικά του καρκίνου, τις θεραπείες που χορηγήθηκαν και την ανταπόκριση στη θεραπεία μπορεί να συγκεντρώσει αυτές τις πληροφορίες μαζί με τα στατιστικά στοιχεία επιβίωσης για να φτάσουν σε μια πρόγνωση.

Αναλυτικότερα: το **συνολικό ποσοστό επιβίωσης** του καρκίνου μετριέται σε χρονικό διάστημα πέντε ετών. Σύμφωνα με το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου, τα συνολικά στοιχεία δείχνουν ότι σχεδόν το 65,1% των ασθενών που διαγιγνώσκονται με ΧΜΛ φτάνουν σε 5ετής επιβίωση.

Νέα φάρμακα για την αντιμετώπιση της ΧΜΛ αναπτύσσονται και δοκιμάζονται σε ταχείς ρυθμούς, αυξάνοντας την πιθανότητα ότι τα μελλοντικά ποσοστά επιβίωσης μπορεί να είναι υψηλότερα.

Ποσοστό επιβίωσης ανά φάση: οι περισσότεροι ασθενείς με ΧΜΛ παραμένουν στη χρόνια φάση. Σε κάποιες περιπτώσεις, οι ασθενείς που δεν λαμβάνουν αποτελεσματική θεραπεία ή δεν ανταποκρίνονται καλά σε αυτή θα προχωρήσουν στην επιταχυνόμενη ή βλαστική φάση. Κατά τη διάρκεια αυτών των φάσεων η πρόγνωση εξαρτάται από τις θεραπευτικές αγωγές που έχει ήδη δοκιμάσει ο ασθενής και ποιές από αυτές μπορεί να ανεχθεί. Η πρόγνωση είναι αισιόδοξη για όσους βρίσκονται στη **χρόνια φάση** και παίρνουν αναστολείς κινάσης τυροσίνης (ΑΚΤ). Όσοι από τους ασθενείς λάμβαναν ιματινίμη (imatinib, Gleevec), έφταναν σε 5ετή επιβίωση σε ποσοστό 83%.

Στην επιταχυνόμενη φάση, τα ποσοστά επιβίωσης ποικίλλει ανάλογα με τη θεραπεία. Εάν ο ασθενής ανταποκρίνεται καλά στα TKIs(tyrosine-kinase inhibitors: αναστολείς κινάσης τυροσίνης. AKT) , το ποσοστό επιβίωσης είναι σχεδόν παρόμοιο με αυτό της χρόνιας φάσης.

Το ποσοστό επιβίωσης για όσους είναι στη **βλαστική φάση** πέφτει κάτω από 10%. Η καλύτερη ευκαιρία για επιβίωση περιλαμβάνει τη χρήση φαρμάκων με σκοπό την επιστροφή του ασθενής στη χρόνια φάση και στη συνέχεια μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων.

Οι προγνωστικοί παράγοντες για τη ΧΜΛ, είναι οι παρακάτω:

A. Ηλικία

Οι ασθενείς ηλικίας μεταξύ 15 έως 64 σχεδόν οι 90 από τους 100 (90%) θα φτάσουν σε 5ετή επιβίωση ή παραπάνω. Από ηλικίας 65 και πάνω 40 από τους 100 (40%) θα φτάσουν σε 5ετή ή παραπάνω επιβίωση.

B. Φάση χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας

Η ΧΜΛ που βρίσκεται στην επιταχυνόμενη ή βλαστική φάση κατά τη στιγμή της διάγνωσης έχει λιγότερο ευνοϊκή πρόγνωση.

Γ. Αριθμός βλαστών

Ο αυξημένος αριθμός βλαστών στο αίμα ή στο μυελό των οστών κατά τη διάγνωση αποτελεί λιγότερο ευνοϊκό προγνωστικό παράγοντα.

Δ. Διογκωμένος σπλήνας

Όταν ο σπλήνας είναι μεγαλύτερος από το φυσιολογικό κατά τη διάρκεια της διάγνωσης, η πρόγνωση είναι λιγότερο ευνοϊκή.

Ε. Αριθμός αιμοπεταλίων

Ο πολύ χαμηλός ή πολύ υψηλός αριθμός αιμοπεταλίων στη διάγνωση, αποτελεί έναν λιγότερο ευνοϊκό προγνωστικό παράγοντα.

ΣΤ. Αριθμός ηωσινοφίλων και βασεόφιλων

Τα ηωσινόφιλα και τα βασεόφιλα είναι τύποι κοκκιοκυττάρων, τα όποια απελευθερώνοντας χημικές ουσίες καταπολεμούν ορισμένους τύπους λοιμώξεων και κατά τη διάρκεια αλλεργικών αντιδράσεων. Μεγαλύτεροι αριθμοί ηωσινοφίλων και βασεόφιλων στο αίμα σημαίνουν μια λιγότερο ευνοϊκή πρόγνωση.

Ζ. Χρωμοσωμικές αλλαγές

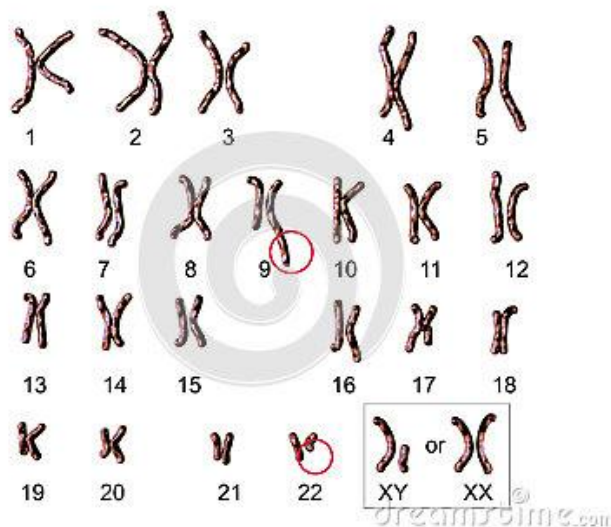
Οι χρωμοσωμικές αλλαγές ή ανωμαλίες είναι ένας προγνωστικός παράγοντας για τη ΧΜΛ.

Η. Το χρωμόσωμα της Φιλαδέλφειας

Η πιο συνηθισμένη χρωμοσωμική ανωμαλία στους ασθενείς με ΧΜΛ είναι το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας (Ph^1). Δηλαδή μια μετατόπιση ή αναδιάταξη των χρωμοσωμάτων 9 και 22, δημιουργώντας το γονίδιο σύντηξης BCR-ABL, το οποίο οδηγεί στην ανάπτυξη της ΧΜΛ.

Σχεδόν το 95% των ενηλίκων με ΧΜΛ, έχουν κύτταρα λευχαιμίας με το χρωμόσωμα Ph^1 . Όταν αυτό υπάρχει, η ΧΜΛ περιγράφεται ως Ph^1 θετική, (Ph^1+). Όταν δεν υπάρχει, περιγράφεται ως Ph^1 αρνητική, (Ph^1-)

Οι ασθενείς με Ph^1+ ΧΜΛ έχουν ευνοϊκή πρόγνωση από αυτούς με Ph^1- .



Εικόνα 15: Καρύοτυπος του χρωμοσώματος Φιλαδέλφειας αρσενικός ή θηλυκός. Τρισδιάστατη απεικόνιση που απεικονίζει τα ελαττωματικά χρωμοσώματα 9 και 22 με μεταγραφικό ελάττωμα που προκαλεί την χρόνια μυελογενή λευχαιμία.

I. Αναμμία

Η αναμμία κατά τη διάρκεια της διάγνωσης (χαμηλός αριθμός ερυθρών αιμοσφαιρίων) είναι ένας λιγότερο ευνοϊκός προγνωστικός παράγοντας.

Λ. Κατάσταση απόδοσης (performance status)

Είναι το μέτρο το οποίο δείχνει πόσο καλά μπορούν οι ασθενείς να κάνουν τα συνηθισμένα καθήκοντα και καθημερινές δραστηριότητές τους. Ασθενείς με χαμηλή κατάσταση έχουν λιγότερο ευνοϊκή πρόγνωση. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι έχουν άλλες ανησυχίες περί υγείας και έτσι τους καθιστά λιγότερο ανθεκτικούς στη θεραπεία.

Μ. Επίπεδα ορού γαλακτικής αφυδρογονάσης στο αίμα

Υψηλά επίπεδα γαλακτικής αφυδρογονάσης ορού (LDH) στο αίμα είναι ένας λιγότερο ευνοϊκός προγνωστικός παράγοντας. Τα υψηλότερα επίπεδα LDH μπορεί να σημαίνουν ότι υπάρχει ιστική βλάβη ή βλάστες στο αίμα.

Ν. Ανταπόκριση στη θεραπεία

Οι γιατροί υπολογίζουν πόσο αποτελεσματική είναι η θεραπεία, εάν υπάρχει κάποια κυτταρογενετική αντίδραση/ύφεση, γεγονός που σημαίνει μείωση στο 35% ή λιγότερο των κυττάρων λευχαιμίας με το χρωμόσωμα Ph. Μία σημαντική κυτταρογενετική αντίδραση/ύφεση είναι ένας ευνοϊκότερος προγνωστικός παράγοντας.

Ξ. Προγνωστικά συστήματα βαθμολόγησης για την ΧΜΛ

Οι γιατροί χρησιμοποιούν διαφορετικά συστήματα προγνωστικής βαθμολογίας για τη ΧΜΛ όπως το Sokal, ELTS, Hasford. Αυτά τα συστήματα χρησιμοποιούν πολλούς από τους παραπάνω προγνωστικούς παράγοντες με σκοπό να υπολογιστεί το σκορ που βοηθήσει τους γιατρούς να προβλέψουν την πρόγνωση.

Αυτά τα προγνωστικά συστήματα βαθμολόγησης αναπτύχθηκαν πριν από τη θεραπεία με φάρμακα-στόχους (αναστολείς κινάσης τυροσίνης, TKIs) όπως το imatinib (Gleevec), το dasatinib (Sprycel) και το nilotinib (Tasigna).

Οι γιατροί έχουν αναπτύξει ένα νέο σύστημα βαθμολόγησης, το EUTOS δεδομένου ότι το imatinib έχει χρησιμοποιηθεί ως θεραπεία για τη ΧΜΛ. Το EUTOS χρησιμοποιεί το ποσοστό των βασεόφιλων στο αίμα και το μέγεθος του σπλήνα την ταυτοποίηση ατόμων που είναι λιγότερο πιθανό να ανταποκριθούν στη θεραπεία και να επιβιώσουν.

Sokal score (βαθμολογία) - αγωγή με βουσουλφάνη

Παράμετροι:

- Ηλικία (έτη)
- Μέγεθος σπλήνας (cm)
- Αιμοπετάλια ($10^9/L$)
- Βλάστες (%)

Υπολογισμός εξίσωσης:

$$\text{Exp} [0.0116 \times (\text{ηλικία σε έτη} - 43.4) + 0.0345 \times (\text{μέγεθος σπλήνας} - 7.51) + 0.188 \times (\text{αιμοπετάλια} [109/L]/700)^2 - 0.563) + 0.0887 \times (\text{βλάστες} - 2.10)]$$
, όπου το Exp είναι η εκθετική συνάρτηση.

Κατηγορίες κινδύνου:

Χαμηλού κινδύνου: < 0.8 (63%)

Ενδιάμεσου κινδύνου: 0.8–1.2 (43%)

Υψηλού κινδύνου: > 1.2 (33%)

Hasford score (βαθμολογία) - αγωγή με ιντερφερόνη

Παράμετροι:

- Ηλικία (έτη)
- Μέγεθος σπλήνας (cm)
- Βλάστες (%)
- Βασεόφιλα (%)
- Ηωσινόφιλα (%)

- Αιμοπετάλια ($10^9/L$)

Υπολογισμός εξίσωσης:

$0,666$ (όταν ηλικία ≥ 50 έτη) + $(0,042 \times \text{μέγεθος σπληνός})$ + $1,0956$ (όταν ο αριθμός των αιμοπεταλίων $> 1500 \times 10^9 / L$) + $(0,0584 \times \text{βλάστες})$ + $0,20399$ (όταν το ποσοστό των βασεόφιλων $> 3\%$) + $(0,0413 \times \text{ποσοστό ηωσινόφιλων}) \times 100$

Κατηγορίες κινδύνου:

Χαμηλού κινδύνου: ≤ 780 (76%)

Ενδιαμέσου κινδύνου: 781 – 1480 (55%)

Υψηλού κινδύνου: > 1480 (25%)

EUTOS score

Παράμετροι:

- Βασεόφιλα (%)
- Μέγεθος σπλήνας (cm)

Υπολογισμός εξίσωσης:

$(7 \times \text{ποσοστό βασεόφιλων}) + (4 \times \text{μέγεθος σπλήνας})$

Κατηγορίες κινδύνου:

Χαμηλού κινδύνου: <87

Υψηλού κινδύνου: ≥87

ELTS score

Παράμετροι:

- Ηλικία (έτη)
- Μέγεθος σπλήνας (cm)
- Βλάστες (%)
- Αιμοπετάλια ($10^9/L$)

Υπολογισμός εξίσωσης:

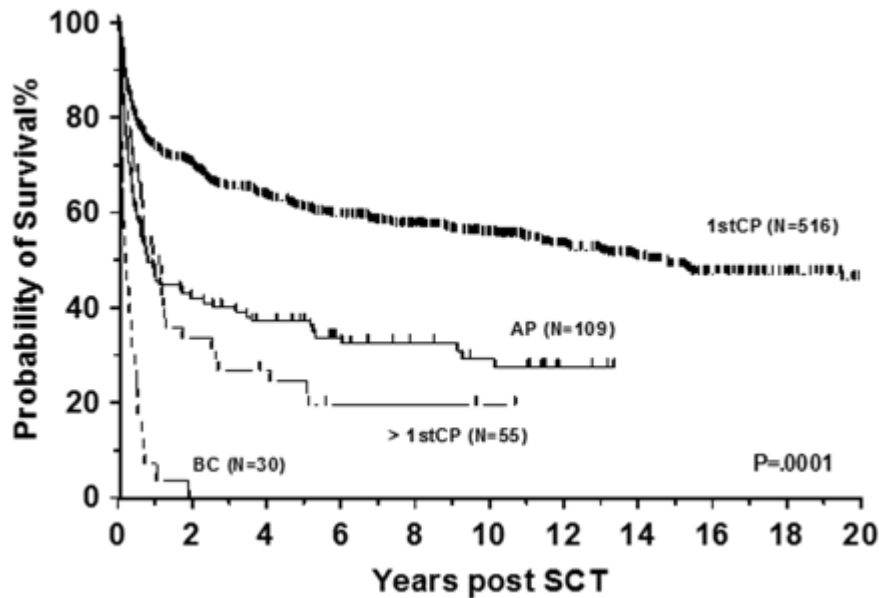
$$0.0025 \times (\text{ηλικία σε συμπληρωμένα έτη} / 10)^3 + 0.0615 \times \text{μέγεθος σπλήνας} + 0.1052 \times \text{ποσοστό βλαστών} + 0.4104 \times (\text{αριθμός αιμοπεταλίων} / 1000)^{-0.5}$$

Κατηγορίες κινδύνου:

Χαμηλού κινδύνου: ≤ 1.5680

Ενδιάμεσου κινδύνου: 1.5680–2.2185

Υψηλού κινδύνου: > 2.2185



Εικόνα 16: Αλλογενής μεταμόσχευση στη ΧΜΛ. Τα δεδομένα δείχνουν την επιβίωση από τη διάγνωση 710 ασθενών με αλλομοσχεύσεις στο νοσοκομείο Hammersmith του Λονδίνου για ΧΜΛ από το 1981 έως το 2010. Οι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση στην πρώτη χρόνια φάση (1stCP) είχαν την καλύτερη επιβίωση. Ακολουθούμενοι από ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση στην επιταχυνόμενη φάση (AP), ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση σε περισσότερο από την πρώτη χρόνια φάση (>1CCP) και ασθενείς που υποβλήθηκαν αλλομοσχεύσεις σε βλαστική κρίση (BC).

2.7 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η διάγνωση της ΧΜΛ βασίζεται στα παρακάτω:

- Γενική εξέταση αίματος
- Ανάλυση/εξέταση μυελού των οστών
- Κυτταρογενετική ανάλυση/έλεγχος
- In situ υβριδισμός με φθορίζοντες ανιχνευτές (FISH, fluorescence in situ hybridization)

- Αντίστροφη μεταγραφάση - αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (RT-PCR)
- Κυτταρομετρία ροής
- Εξετάσεις απεικόνισης
- Ιστοπαθολογικά ευρήματα στο επίχρισμα περιφερικού αίματος
- Βιοχημικά ευρήματα
- Χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας (κυτταρογενετικά ευρήματα)

2.7.1 Γενική εξέταση αίματος:

Πολλοί ασθενείς διαγιγνώσκονται με ΧΜΛ μέσω μιας αιματολογικής εξέτασης που ονομάζεται πλήρης αιματολογικός έλεγχος (CBC, complete blood counts) πριν εμφανίζουν οποιαδήποτε συμπτώματα. Ένας πλήρης αιματολογικός έλεγχος (CBC) μετράει τον αριθμό των διαφορετικών ειδών κυττάρων στο αίμα (αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων, των λευκών αιμοσφαιρίων και των αιμοπεταλίων). Πραγματοποιείται συχνά ως μέρος ενός τακτικού ιατρικού ελέγχου.

Οι ασθενείς με ΧΜΛ έχουν χαμηλότερο από το φυσιολογικό αριθμό ερυθροκυττάρων (αναιμία) και έναν μη φυσιολογικό αριθμό αιμοπεταλίων (είτε πολύ υψηλός είτε πολύ χαμηλός). Ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων είναι υψηλότερος από τον κανονικό, φτάνοντας συχνά σε πολύ υψηλά επίπεδα. Ωστόσο, τα επίπεδα των λευκών αιμοσφαιρίων μπορεί να οφείλονται σε συνθήκες που δεν είναι λευχαιμία.

Επιπλέον δείχνει εάν οι ασθενείς εμφανίζουν λευχαιμικά κύτταρα (βλάστες) και άωρα μυελικά κύτταρα. Σε περίπτωση ΧΜΛ, θα υπάρχουν κύτταρα της μυελικής σειράς σε όλα τα στάδια της ωρίμανσης, τα οποία οι υγιείς άνθρωποι δεν έχουν.

2.7.2 Εξέταση μυελού των οστών

Ο έλεγχος περιλαμβάνει δύο βήματα που γίνονται ταυτόχρονα:

- Αναρρόφηση μυελού των οστών με σκοπό να αφαιρεθεί ένα δείγμα υγρού μυελού.

- Βιοψία μυελού των οστών για να αφαιρεθεί μια μικρή ποσότητα οστού γεμάτη με μυελό.

Αυτές οι δυο εξετάσεις.

- Μετρούν τον αριθμό και τη δομή των χρωμοσωμάτων.
- Επιβεβαιώνουν τα ευρήματα των εξετάσεων αίματος.
- Προσδιορίζουν εάν υπάρχει κάποια χρωμοσωμική ανωμαλία, όπως το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας.

2.7.3 Κυτταρογενετική ανάλυση

Η εξέταση αναγνωρίζει κάποιες χρωμοσωμικές και γονιδιακές αλλαγές. Ελέγχεται πώς τα χρωμοσώματα "χαρτογραφούνται". Ο χάρτης ονομάζεται καρυότυπος. Αν στο καρυότυπο ανιχνευτεί το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας και οι άλλες εξετάσεις δείξουν υψηλό αριθμό λευκών κυττάρων και καρκινικών χαρακτηριστικών, η διάγνωση της ΧΜΛ επιβεβαιώνεται.

Με άλλα λόγια πρόκειται για μια εξέταση στην οποία σε ένα δείγμα αίματος ή μυελού των οστών τα κύτταρα εξετάζονται στο μικροσκόπιο, με σκοπό την ανίχνευση χρωμοσωμικών αλλαγών, όπως το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας.

Η κυτταρογενετική, ένας κλάδος της γενετικής που επικεντρώνεται στη χρωμοσωμική δομή, χρησιμοποιείται για να αναγνωρίσει την παρουσία γενετικών αλλαγών στο κυτταρικό DNA. Η κλασσική κυτταρογενετική συνήθως εκτελείται σε δείγμα μυελού των οστών και όχι περιφερικού αίματος επειδή στο πρώτο απαντάται μεγαλύτερος αριθμός πολλαπλασιαστικών κυττάρων. Επάγεται η κυτταρική διαίρεση και στη συνέχεια συγκρατείται χημικά στη μετάφαση. Τα χρωμοσώματα χρωματίζονται για να αυξηθεί η ορατότητα (Giemsa ή G-banding), παρουσιάζοντας στο μικροσκόπιο εναλλασσόμενες σκούρες και φωτεινές ζώνες.

Στην παρουσίαση χρησιμοποιείται συμβατική κυτταρογενετική ή καρυότυπος για την αναγνώριση του χαρακτηριστικού χρωμοσώματος Φιλαδέλφειας (Ph¹). Η ανάλυση είναι χρονοβόρα, που συνήθως περιλαμβάνει την εξέταση 25 έως 30 μεταφασικών κυττάρων. Αυτή η μέθοδος θεωρείται ανεπαρκώς ευαίσθητη για την ανίχνευση του χρωμοσώματος Φιλαδέλφειας (Ph +) σε λιγότερο από 10% των κυττάρων.

Η ίδια μεθοδολογία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να παρακολουθήσει την ανταπόκριση στη θεραπεία σε διάστημα τριών μηνών, που καθορίζονται από το ποσοστό των διαιρούμενων κυττάρων στο δείγμα, τα οποία διατηρούν τον δείκτη Ph¹.

Εμπλεκόμενα γονίδια και πρωτεΐνες:

Όνομα γονιδίου: ABL1

Θέση: 9q34

Dna/Rna: Εναλλακτική σύνδεση (1a και 1b) σε 5'

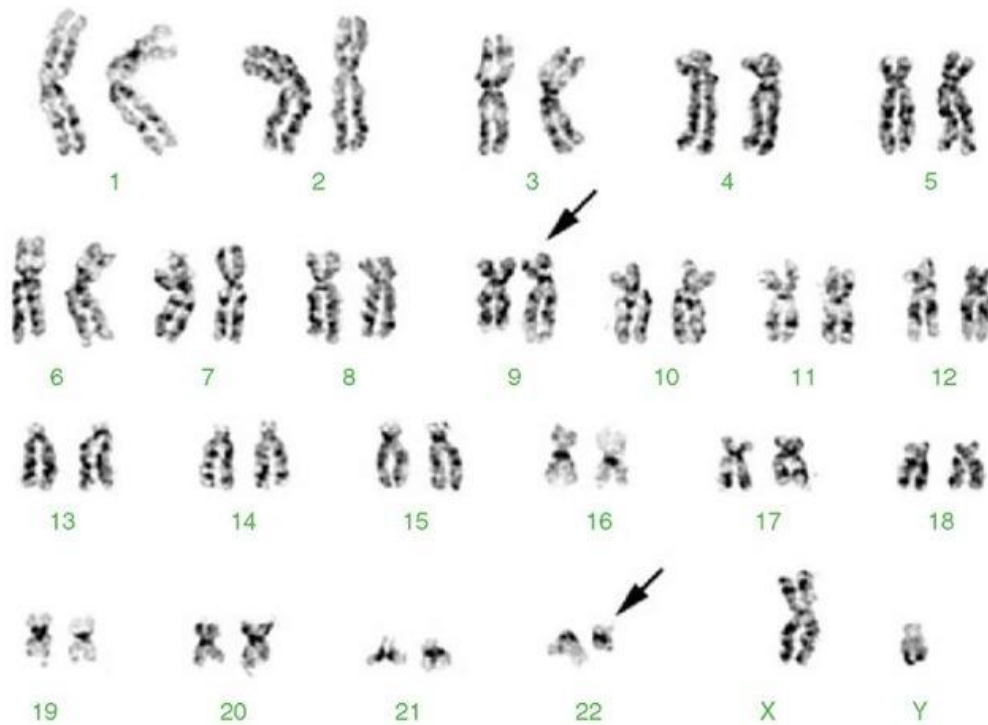
Πρωτεΐνη: Αυξάνεται σε 2 πρωτεΐνες των 145 kDa, περιέχει τομείς SH (ομολογίας SRC), N-όρου SH3 και SH2 - SH1 (κινάση τυροσίνης) – μοτίβα δέσμευσης DNA - περιοχή δεσμεύσεως ακτίνης C - όρου. Εκφράζεται ευρέως, ο εντοπισμός είναι κυρίως πυρηνικός και αναστέλλει την κυτταρική ανάπτυξη.

Όνομα γονιδίου: BCR

Θέση: 22q11

Dna/Rna: Διάφορες συνδέσεις.

Πρωτεΐνη: Κύρια μορφή: 160 KDa, N-όρου τομέα κινάσης σερίνης - τρεονίνης, δέσμευση σε SH2 και C – όρου τομέα που λειτουργεί ως πρωτεΐνη ενεργοποίησης της GTPάσης για το p21rac. Εκφράζεται ευρέως, κυτταροπλασματικός εντοπισμός, πρωτεϊνική κινάση με πιθανό ρόλο στη μεταγωγή σήματος.



Εικόνα 17: Καρυότυπος από ένα αρσενικό ηλικίας 33 ετών που παρουσιάζει χρόνια χρόνια μυελογενή λευχαιμία (ΧΜΛ). 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2).

2.7.4 Φθορισμός in situ υβριδισμού (FISH, fluorescence in situ hybridization)

Το FISH είναι μια ευαίσθητη και ανατασσόμενη τεχνική που μπορεί με την βοήθεια ειδικών φθορίζοντων ανιχνευτών (probes) να ανιχνεύσει το γονίδιο BCR-ABL. Μια τυποποιημένη κυτταρογενετική ανάλυση μπορεί να ανιχνεύσει σε περίπου 90% των ασθενών με ΧΜΛ το χρωμόσωμα Ph. Υπάρχουν ασθενείς που δεν εμφανίζουν το χρωμόσωμα Ph¹ στη βασική κυτταρογενετική εξέταση, αλλά η τεχνική FISH μπορεί να ανιχνεύσει την παρουσία του μη φυσιολογικού γονιδίου BCR-ABL και για την παρακολούθηση της νόσου κατά τη διάρκεια της θεραπείας.

Πιο συγκεκριμένα, η υβριδοποίηση in situ φθορισμού (FISH) περιλαμβάνει την επώαση επισημασμένων με φθορισμό DNA ανιχνευτών με μετουσιωμένο (μονοκλωνικό) DNA. Με τους φθορίζοντες ανιχνευτές DNA ανιχνεύει την θέση των γονιδίων BCR και ABL απευθείας στο γονιδίωμα σε κύτταρα μεταφάσης και / ή ενδόφασης.

Το παραδοσιακό FISH (S-FISH ή dual-FISH) είναι μια τεχνική δύο χρωμάτων στην οποία χρησιμοποιείται ένας φθορίζων ανιχνευτής 5' BCR και ένας δεύτερος φθορίζων ανιχνευτής 3'ABL με αντίθετα χρώματα για την ανίχνευση της θέσης των αντίστοιχων γονιδίων. Αν και τα φθορίζοντα σήματα φαίνεται να εντοπίζονται με τυχαίο τρόπο στα φυσιολογικά κύτταρα, ο συν-εντοπισμός των ανιχνευτών οδηγεί σε ένα μοναδικό σήμα σύντηξης, υποδεικνύοντας έτσι τη παράλληλη γενετική τοποθέτηση των BCR και ABL, τα οποία σχετίζονται με τη μετάθεση Ph.

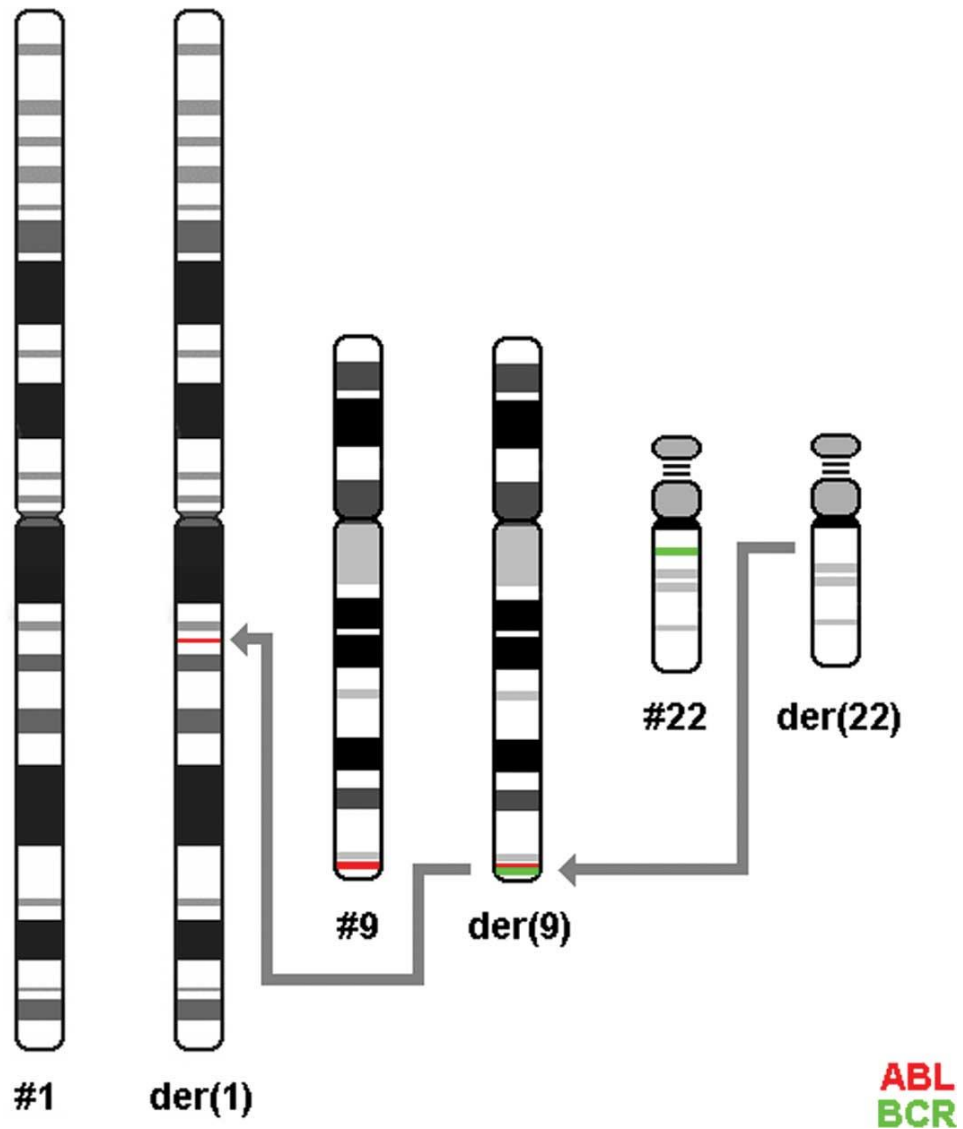
Το S-FISH ισχύει για μεταφασικά κύτταρα αλλά και για ενδοφασικά, παρουσιάζοντας ψευδώς θετικό ποσοστό από 1-6.5%. Επιπλέον, επειδή είναι υποκειμενική η βαθμολόγηση των πιθανών σημάτων σύντηξης, το S-FISH περιορίζεται επίσης από ένα σημαντικό αριθμό ψευδώς αρνητικών.

Το FISH (ή το τρίχρωμο FISH) αυξάνει την ευαισθησία των δύο ανιχνευτών της τεχνικής S-FISH εισάγοντας ένα τρίτο ανιχνευτή που καλύπτει/συνδέει τα σημεία διακοπής είτε στο BCR είτε στο ABL, όπως το σημείο του γονιδίου αργινοσουλφινικής συνθετάσης στο 9q34. Κάθε ανιχνευτής είναι επισημασμένος με ξεχωριστό φθοροχρώμιο και τα Ph⁺ κύτταρα διακρίνονται από την απώλεια του συν-εντοπισμού του τρίτου ανιχνευτή επιπλέον στο σήμα σύντηξης BCR / ABL, το οποίο είναι η εγγύηση του S-FISH.

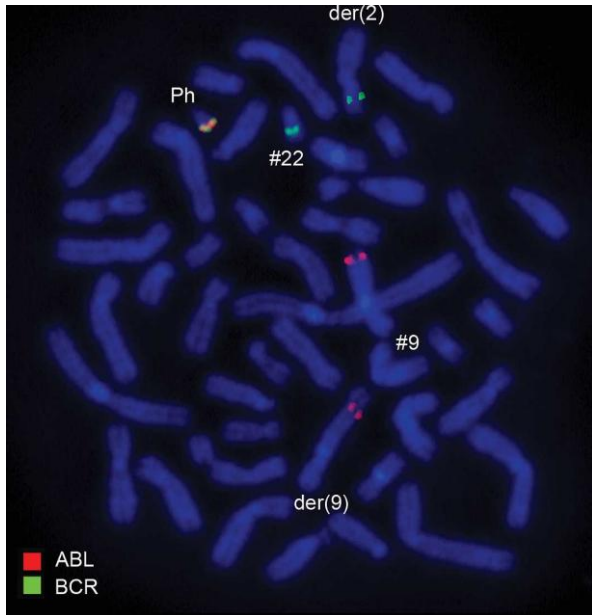
Η δυο βημάτων αυτή τεχνική, επιτρέπει αυξημένη ευαισθησία στην ανίχνευση Ph⁺ κύτταρων με ψευδώς θετικό ποσοστό από 0,065-0,27% (SD 0,08-0,15%).

Το διπλό FISH (double fish, D-FISH) χρησιμοποιεί δύο επιπρόσθετους ανιχνευτές, επιπλέον των δύο που χρησιμοποιούνται στο S-FISH, οι οποίοι δεσμεύονται με τα 3'BCR και 5'ABL αντίστοιχα, καλύπτοντας και τα δυο τα σημεία διακοπής και των δύο χρωμοσωμάτων 9 και 22. Στην παρουσία της BCR / ABL μετατόπιση, το D-FISH παράγει ένα διπλό σήμα σύντηξης, επειδή οι τέσσερις ανιχνευτές δεσμεύονται με τους αντίστοιχα σημεία BCR-ABL και ABL-BCR. Αυτό μειώνει ακόμα περισσότερο τον κίνδυνο των ψευδών θετικών αλλά και ψευδών αρνητικών αποτελεσμάτων σε σύγκριση με το S-FISH.

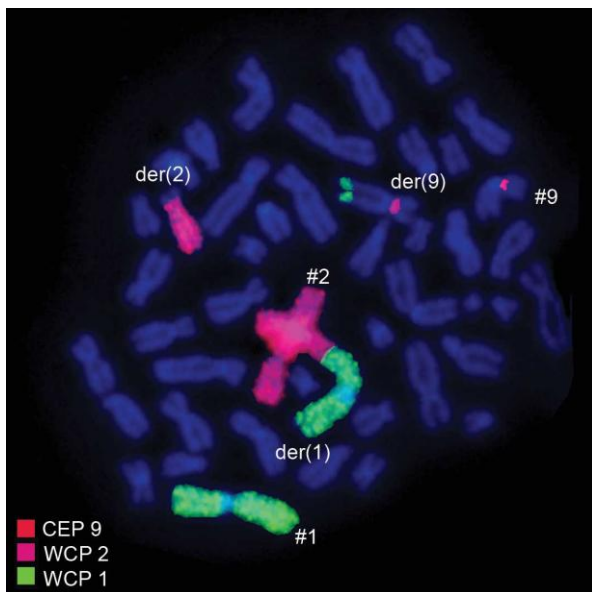
Τέλος, το FISH υπερμετάφασης (hypermetaphase) επιτρέπει την τοποθέτηση 500+ κυττάρων σε κολοσεμίδιο, επίσης γνωστό ως δεμεκολκίνη, έναν μιτωτικό παράγοντα συγκράτησης, ο οποίος επιτρέπει τη διεξαγωγή επιπροσθέτων χρωμοσωμικών αναλύσεων κατά τη διάρκεια μίας μόνο συλλογής.



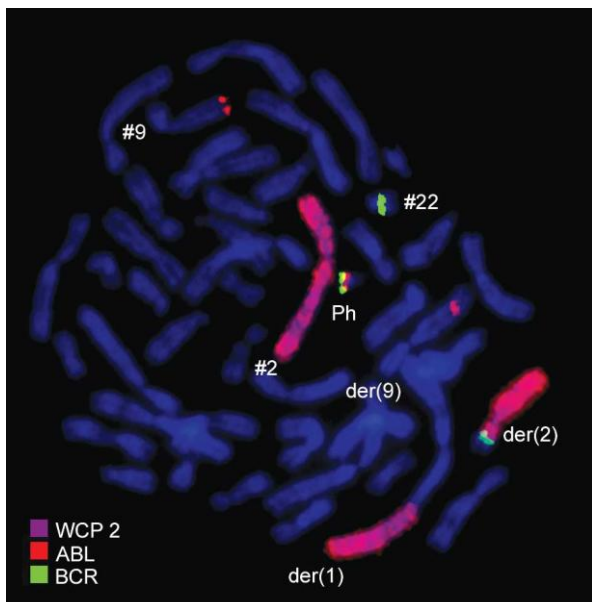
Εικόνα 18: Σχηματική αναπαράσταση χρωμοσωμικών αλλαγών που συνέβησαν στον ασθενή. Ο ανιχνευτής BCR / ABL έδειξε ένα σήμα σύντηξης στο der (9) και εισαγωγή του 3' ABL στο der (1). Η 5' περιοχή του BCR διαγράφηκε στο der (22) ενώ η 3' περιοχή του BCR παρέμεινε στο χρωμόσωμα 22 (derivative chromosome, παράγωγο χρωμόσωμα).



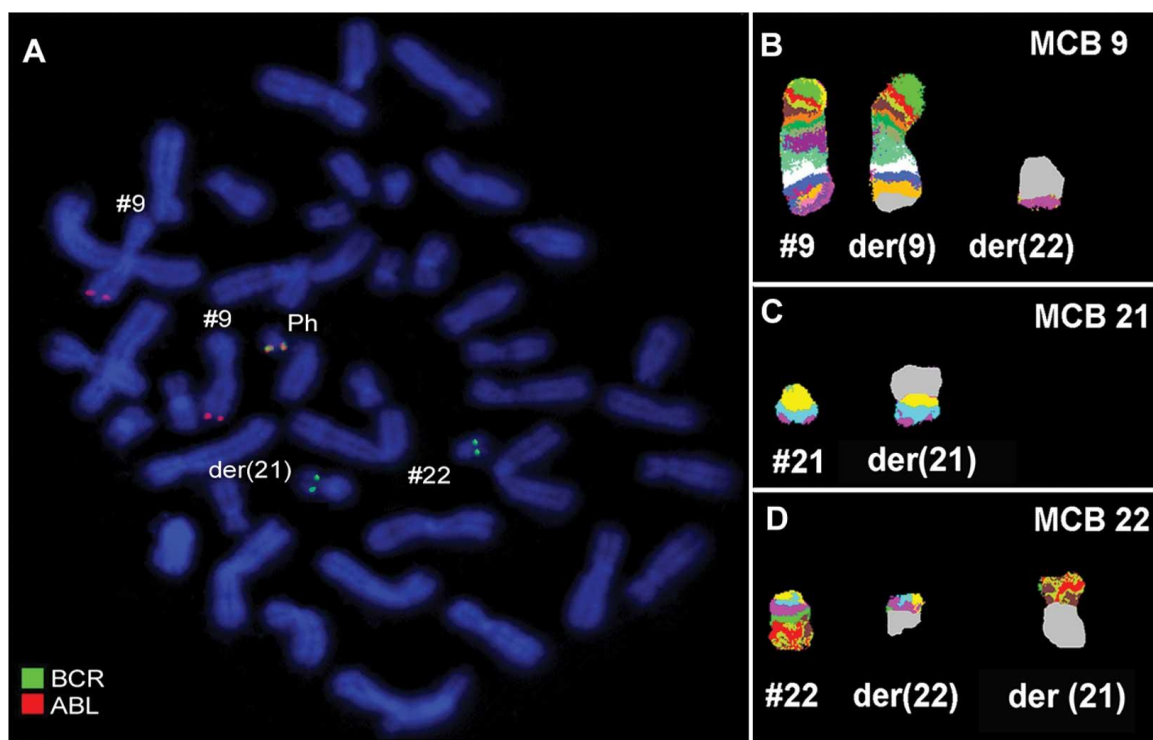
Εικόνα 19: Χρησιμοποιώντας ανιχνευτές για BCR (πράσινο) και ABL(κόκκινο), ο φθορισμός in situ υβριδισμός (FISH) επιβεβαίωσε τη συμμετοχή του χρωμοσώματος 2 στην αναδιάταξη που υπάρχει σε αυτή την περίπτωση (#: Χρωμόσωμα, Der: παράγωγο χρωμόσωμα, Ph: χρωμόσωμα της Φιλαδέλφειας).



Εικόνα 20: Χρησιμοποιώντας ανιχνευτές WCP1 (πράσινο), WCP2 (κόκκινο) και CEP9 (κόκκινο), ο φθορισμός in situ υβριδισμός (FISH) επιβεβαίωσε την εμπλοκή του χρωμοσώματος 1 με τα χρωμοσώματα 2 και 9 στην περίπτωση αυτή (#: Χρωμόσωμα, Der: παράγωγο χρωμόσωμα).



Εικόνα 21: Χρησιμοποιώντας ανιχνευτές για BCR (πράσινο), ABL (κόκκινο) και WCP2 (κόκκινο), ο φθορισμός in situ υβριδισμός (FISH) επιβεβαίωσε την εμπλοκή του χρωμοσώματος 2 στην αναδιάταξη που υπάρχει στην περίπτωση αυτή (#: Χρωμόσωμα, Der: παράγωγο χρωμόσωμα, Ph: χρωμόσωμα της Φιλαδέλφειας).



Εικόνα 22: (A) Η υβριδοποίηση in situ φθορισμού (FISH) χρησιμοποιώντας ανιχνευτές BCR (πράσινο) και ABL (κόκκινο) επιβεβαίωσε την εμπλοκή του χρωμοσώματος 21 στην αναδιάταξη, την παρουσία της μετατόπισης BCR / ABL και του χρωμοσώματος Φιλαδέλφειας σε αυτή την περίπτωση. (B-D) Εφαρμόστηκε αποδεδειγμένη ποικιλία χρωματισμού (aMCB) για τον προσδιορισμό των εμπλεκόμενων σημείων διακοπής σε αυτή τη σύνθετη αναδιάταξη. Κάθε λωρίδα παρουσιάζει τα αποτελέσματα της ανάλυσης aMCB χρησιμοποιώντας σύνολα ανιχνευτών για τα χρωμοσώματα 9, 21 και 22. Τα φυσιολογικά χρωμοσώματα παρουσιάζονται στην πρώτη στήλη και τα παράγωγα των τριών χρωμοσωμάτων στις επόμενες. Οι μη χρωματισμένες περιοχές των ανιχνευτών του aMCB επί των παραγώγων χρωμοσωμάτων παρουσιάζονται με γκρι (: Χρωμόσωμα, Der: παράγωγο χρωμόσωμα, Ph¹: χρωμόσωμα της Φιλαδέλφειας).

2.7.5 Τεχνική της αντίστροφης PCR (αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης)

Η RT-PCR (reverse transcriptase - polymerase chain reaction), είναι μια πολύ ευαίσθητη μέθοδος ανίχνευσης υπολειμματικής νόσου, έχοντας την ικανότητα να συλλέγει ένα κύτταρο ΧΜΛ σε πληθυσμό 100.000 ή περισσότερων κυττάρων. Στη ΧΜΛ, ποσοτικά αποτελέσματα RT-PCR αναφέρουν την αναλογία της αλληλουχίας BCR-ABL στόχου σε ένα γονίδιο αναφοράς (BCR ή ABL). Τα αποτελέσματα RT-PCR είναι ταχύτερα από το FISH, αλλά έχουν χαμηλότερη ειδικότητα. Η μόλυνση ενός αρνητικού δείγματος BCR-ABL από ένα θετικό δείγμα, έχει ως συνέπεια ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Η ταχεία επικάλυψη αλληλουχιών DNA (μέχρι 30 κύκλοι) θα ενισχύσει οποιαδήποτε μόλυνση που θα μπορούσε να εισαχθεί.

Αναλυτικότερα: Η κυτταρογενετική χρησιμεύει για την αναγνώριση της παρουσίας της μετατόπισης t (9,22) σε περίπου 95% των περιπτώσεων της ΧΜΛ, αλλά μπορεί να αναγνωρίσει την και παρουσία άλλων χρωμοσωμικών ανωμαλιών. Στους μισούς ασθενείς με φυσιολογικό καρυότυπο, η μεταγραφή σύντηξης BCR-ABL1 ανιχνεύεται σε μοριακό επίπεδο. Αυτή η απόκλιση οφείλεται σε υπομικροσκοπική γενετική σύντηξη. Επομένως, σε εκείνους τους ασθενείς με φυσιολογικό καρυότυπο, οι οποίοι έχουν κλινικό και αιματολογικό προφίλ της ΧΜΛ, η μοριακή εξέταση παίζει σπουδαίο ρόλο στη διάγνωση της. Στους εναπομείναντες ασθενείς, οι οποίοι είναι αρνητικοί τόσο για το χρωμόσωμα της Φιλαδέλφειας όσο και για το μεταγραφή σύντηξης BCR-ABL1, πρέπει να ληφθούν υπόψη εναλλακτικές διαγνώσεις όπως η άτυπη ΧΜΛ ή η χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία.

Ο μοριακός έλεγχος επίσης χρησιμεύει για τον αποκλεισμό μιας λευχαιμοειδούς αντίδρασης και άλλων μυελοπολλαπλασιαστικών διαταραχών όπως, η ιδιοπαθής θρομβοκυτταραιμία, η ιδιοπαθής μυελοϊνώση και η ιδιοπαθής πολυκυτταρική, με τη μετάλλαξη JAK2 να είναι επιπλέον χρήσιμη στην αξιολόγηση αυτών των BCR-ABL1 αρνητικών μυελοπολλαπλασιαστικών διαταραχών.

Επίσης χρησιμεύει για την τεκμηρίωση της παρουσίας των μεταγραφών σύντηξης BCR-ABL1 στη διάγνωση, τόσο για την ορθολογική χρήση στοχευμένης θεραπείας όσο και για την επακόλουθη μοριακή παρακολούθηση. Μόλις καθοριστεί η αρχική διάγνωση της ΧΜΛ, η περιοδική παρακολούθηση τόσο της θεραπευτικής ανταπόκρισης όσο και του επιπέδου της υπολειμματικής νόσου καθίσταται σημαντική για την αξιολόγηση και τη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων. Η ποιοτική RT-PCR διαθέτει πολλά χαρακτηριστικά που την καθιστούν κατάλληλη για την αρχική

διάγνωση. Το περιφερικό αίμα και η αναρρόφηση μυελού οστών αποτελούν κατάλληλα (και συγκρίσιμα) δείγματα, χωρίς την ανάγκη συχνών επεμβατικών διαδικασιών, καθώς η ευαισθησία και η ταχεία ανάκαμψη διευκολύνουν την έναρξη της θεραπείας.

Μεθοδολογικά, η ποιοτική RT-PCR μπορεί να πραγματοποιηθεί με μια απλή, ένθετη ή πολυπλεκτική προσέγγιση. Ωστόσο, οι ένθετες μέθοδοι πρέπει να αποφεύγονται στις εργαστήριακες διαγνώσεις ρουτίνας, λόγω του σημαντικού κινδύνου μολυσμένης PCR και έχοντας ως συνέπεια ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Με την μη ένθετη, απλή RT-PCR, διεξάγεται μία δοκιμασία χρησιμοποιώντας ένα μοναδικό ζεύγος εκκινητών. Οι εκκινητές για το BCR εξόνιο 13 (b2) και ABL1 εξόνιο 2 (a2) ταυτοποιούν και τα τις δυο μεταγραφές σύντηξης e13a2 (b2a2) και e14a2 (b3a2) που διαφέρουν σε μέγεθος κατά 75 bp. Η χρήση εκκινητών PCR σε αυτές τις περιοχές επιτρέπει τη μοριακή ανίχνευση της ΧΜΛ σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις (~ 99%), παρόλο αυτά εμφανίζονται σημεία διακοπής. Όταν αυτά τα σημεία διακοπής πέφτουν εκτός της περιοχής που αναγνωρίζεται από τους εκκινητές, παράγουν ένα ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα RT-PCR, ενώ αν εμπίπτουν μέσα στην περιοχή του εκκινητή, μπορούν να δώσουν ένα προϊόν PCR απροσδόκητου μεγέθους.

Αυτά τα σημεία διακοπής είναι διαφορετικά και συχνά πολύπλοκα και δεν μπορούν να εκτιμηθούν παγκοσμίως με οποιοδήποτε ζεύγος PCR εκκινητών, αν και είναι αρκετά σπάνια και κατά συνέπεια δεν αποτελούν σημαντική αιτία ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων. Η ενσωμάτωση ενός εκκινητή ABL1 εξονίου 3 (a3), στη θέση ενός εκκινητή εξονίου 2, επιτρέπει την ανίχνευση ρουτίνας των σπάνιων σημείων διακοπής του ιντρονίου 3 ABL1. Ωστόσο, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις ασθενών <10 με ΧΜΛ με αυτό το παραλλακτικό σημείο διακοπής, το οποίο είναι ομοίως σπάνιο στην οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία.

Πολλαπλές μεταγραφές σύντηξης μπορεί να ανιχνευτούν με ένα μοναδικό BCR σημείο διακοπής ιντρονίου 14, λόγω της εναλλακτικής σύνδεσης της πρωταρχικής μεταγραφής. Με αυτό το σημείο διακοπής, το χμαιοικό γονίδιο που προκύπτει, μεταγράφεται πάντοτε άμεσα για να παραχθεί η μεταγραφή e14a2 (b3a2), ωστόσο, η συνακόλουθη εναλλακτική σύνδεση μπορεί να παράγει συνοδευτικό μεταγραφικό e13a2 (b2a2) και ακόμη και μία μεταγραφή e1a2. Οι e1a2 εναλλακτικές μεταγραφές μπορεί επίσης να παρατηρηθούν με σημεία διακοπής ακλουθώντας το e13 (b2). Η αναγνώριση της μεταγραφής e1a2 απαιτεί ένα ξεχωριστό εκκινητή BCR που στοχεύει το BCR εξόνιο 1 (e1). Αν και το σετ εκκινητών e1a2 δεν είναι

απαραίτητο για τη διάγνωση της ΧΜΛ, μερικές μελέτες προτείνουν ότι η παρουσία αυτής της εναλλακτικά συνδεόμενης μεταγραφής σχετίζεται με κακή πρόγνωση και μετάβαση σε επιταχυνόμενη φάση.

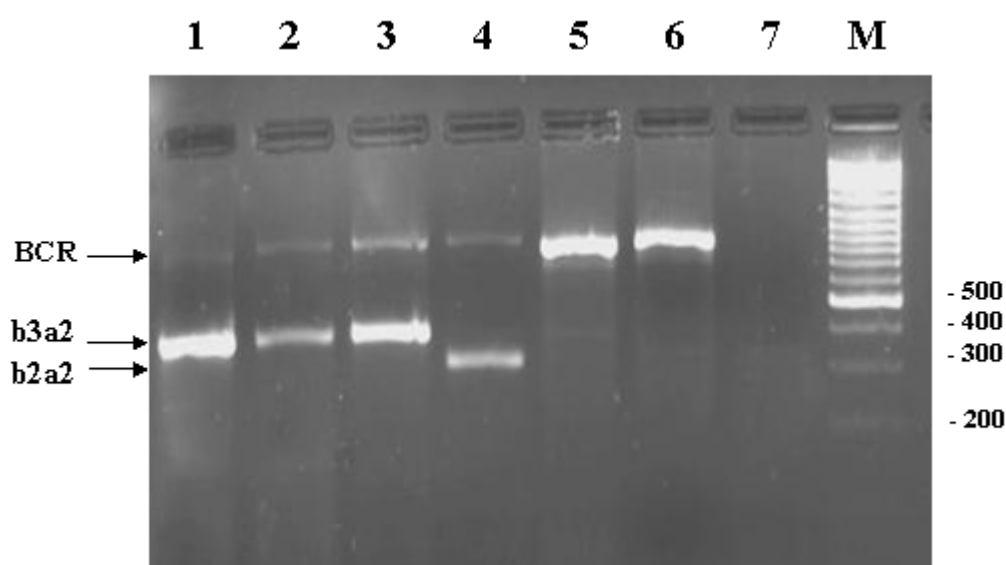
Στη διαγνωστική ρύθμιση, η ποιοτική RT-PCR εξυπηρετεί πολλές λειτουργίες. Η παρουσία ή η απουσία μεταγραφών BCR-ABL1 διακρίνει τη ΧΜΛ από τις λευχαιμοειδείς αντιδράσεις ή άλλες μυελοπολλαπλασιαστικές διαταραχές. Ένα θετικό ποιοτικό αποτέλεσμα είναι σημαντικό για τη διάγνωση της ΧΜΛ, ιδιαίτερα στους ασθενείς που δεν έχουν το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας σε καρυοτυπική ανάλυση ρουτίνας. Η παρουσία των μεταγραφών BCR-ABL1 επικυρώνει την εφαρμογή στοχευμένης θεραπείας με αναστολείς κινάσης τυροσίνης (όπως το imatinib), ενώ η αναγνώριση του τύπου της μεταγραφής σύντηξης, η οποία είναι ειδική για τον νεοπλασματικό κλώνο, μπορεί να είναι σημαντική για την επακόλουθη παρακολούθηση. Παρόλο που η πλειοψηφία των ασθενών με ΧΜΛ διαθέτει τη μεταγραφή e13a2 (b2a2) ή e14a2 (b3a2), η ταυτοποίηση των μορφών e1a2 ή e19a2 μπορεί να εξηγήσει ασυνήθιστους αιματολογικούς φαινότυπους.

Έτσι, η ανίχνευση των κοινών σημείων διακοπής BCR (e1, e13 και e14) και των κοινών (a2), καθώς και παραλλακτικών (a3) σημείων διακοπής, τα οποία εμπλέκουν το ABL1 μπορεί να επιτευχθεί με δύο παράλληλες συμβατικές αναλύσεις RT-PCR, που χρησιμοποιούν BCR-εξόνιο 1 / ABL1-εξόνιο 3 και BCR-exon 13 / ABL1-εξόνιο 3 εκκινητές. Μία ανεξάρτητη δοκιμασία RT-PCR για ένα μη σχετικό mRNA (π.χ. B2M, GAPDH, BCR ή ABL1), είναι επίσης απαραίτητη για τον έλεγχο της ποιότητας για την αξιολόγηση της ακεραιότητας του RNA και της παρουσίας RT-PCR αναστολέων. Αυτές οι τρεις αντιδράσεις μπορεί να πολυπλέκονται για να επιτρέψουν την ταυτόχρονη ανίχνευση των διαφόρων μεταγραφών, με αποτέλεσμα η πολυπλεξία αυτή μπορεί να μειώσει την ευαισθησία των μεμονωμένων αντιδράσεων. Αν και η μειωμένη ευαισθησία δεν έχει σημασία για διαγνωστικούς ελέγχους, είναι πολύ σημαντική για την παρακολούθηση υπολειμματικών ασθενειών.

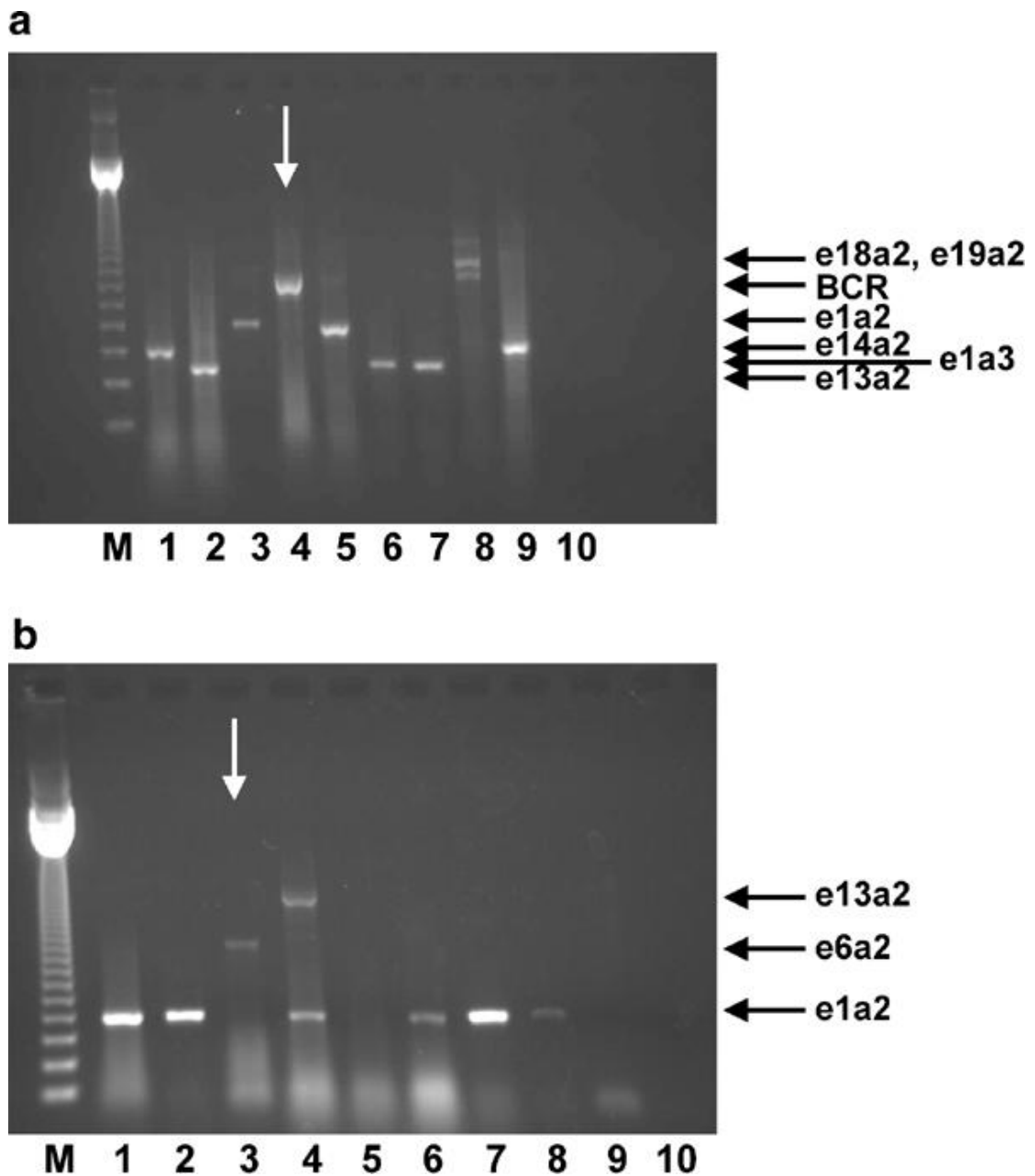
Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων των εξετάσεων επηρεάζεται από το κλινικό πλαίσιο που πραγματοποιείται η εξέταση. Στη διαγνωστική ρύθμιση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα RT-PCR καθιστά τη διάγνωση της ΧΜΛ πολύ απίθανη. Ωστόσο, δεν αποκλείει οριστικά τη διάγνωση της ΧΜΛ, καθώς μπορεί να εμφανιστούν σπάνια σημεία διακοπής που μπορεί να μην ανιχνεύονται με συμβατικά σετ εκκινητών PCR.

Ομοίως, ένα θετικό ποιοτικό αποτέλεσμα RT-PCR δεν επικαλείται οριστικά τη διάγνωση της ΧΜΛ. Χρησιμοποιώντας μια εξαιρετικά ευαίσθητη ένθετη τεχνική RT-

PCR, οι μεταγραφές σύντηξης BCR-ABL1 έχουν ταυτοποιηθεί στο αίμα έως 2/3 των υγιή ενήλικων. Ενώ η συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών με ΧΜΛ εκφράζουν είτε τις μεταγραφές σύντηξης e13a2 (b2a2) ή e14a2 (b3a2), τα υγιή άτομα εκφράζουν κυρίως τον τύπο e1a2. Ωστόσο, το πολύ υψηλό επίπεδο ευαισθησίας που επιτυγχάνεται ($\sim 10^{-8}$) με αυτήν την ένθετη τεχνική δεν απαιτείται, ούτε συνιστάται για κλινικές εξετάσεις ρουτίνας και έτσι η λανθασμένη διάγνωση δεν πρέπει να αποτελεί πρόβλημα. Η ποιοτική RT-PCR δεν έχει πλέον ρόλο στην εκτίμηση της ελάχιστης υπολειμματικής νόσου, με την ποσοτική RT-PCR να έχει εμφανιστεί σαφώς ως η προτιμώμενη μέθοδος για την μετά-θεραπευτική παρακολούθηση.



Εικόνα 23: Αποτελέσματα από Gel Multiplex PCR, M: ο δείκτης των 100 bp. Λωρίδα 1, K562 μια θετική κυτταρική σειρά b3a2, Οι λωρίδες 2 και 3, που ελήφθησαν από ασθενείς με ΧΜΛ χρόνιας φάσης που εκφράζουν b3a2. Διαδρομή 4, που ελήφθη από ασθενείς με ΧΜΛ χρόνιας φάσης που εκφράζουν b2a2. Τη λωρίδα 5, που ελήφθη από ασθενή με ΧΜΛ σε ύφεση η οποία είναι αρνητική μετά από μεταμόσχευση μυελού των οστών. Η λωρίδα 6, που λαμβάνεται από την κανονική και η λωρίδα 7 υποδεικνύει το δείγμα αρνητικού μάρτυρα (νερό). Οι λωρίδες 1-7 παρουσιάζουν το προϊόν ζώνης 808-bp, ως εσωτερικό έλεγχο, που λαμβάνεται από το γονίδιο BCR και υποδεικνύουν την ποιότητα του RNA και την αποτελεσματικότητα της σύνθεσης cDNA.



Εικόνα 24: (a) Multiplex RT-PCR για τα BCR-ABL και BCR. M = δείκτης μοριακού βάρους 123 bp (Invitrogen). Λωρίδα 1: EM3 (μετάφραση e14a2). Λωρίδα 2: CML-T1 (e13a2). Λωρίδα 3: Z33 (e1a2). Λωρίδα 4: δείγμα ασθενούς. Λωρίδα 5: ALL / MIK (e1a2). Λωρίδα 6: MY (e1a3). Λωρίδα 7: KCL22 (b13a2). Λωρίδα 8: AR230 (e18a2, e19a2). Λωρίδα 9: K562 (e14a2). Λωρίδα 10: έλεγχος PCR (Οι κυτταρικές σειρές οξείας λευχαιμίας CML ή Ph που χρησιμοποιήθηκαν ως θετικοί μάρτυρες στις αντιδράσεις για αυτό και (b) ελήφθησαν από τις τράπεζες κυττάρων ATCC, DSMZ ή ECACC ή

προσφέρθηκαν ευγενικά από τους δημιουργούς τους), (B) RT-PCR για BCR-ABL χρησιμοποιώντας εκκινητές σε BCR εξόνιο 1 και Abl exon 3, M = δείκτη μοριακού βάρους 123 bp (Invitrogen). Λωρίδα 1: SD1 (e1a2). Λωρίδα 2: TOM1 (e1a2). Λωρίδα 3: δείγμα ασθενούς. Λωρίδα 4: KCL22 (e13a2). Λωρίδα 5: TF1 (BCR-ABL αρνητικό), Λωρίδα 6: TK6 (e14a2), Λωρίδα 7: Z119 (e1a2), Λωρίδα 8: Z33 (e1a2). Λωρίδα 9: EM2 (e14a2). Λωρίδα 10: Έλεγχος PCR. Σημειώστε ότι η ενίσχυση του e1a2 θα μπορούσε να ανιχνευθεί σε κύτταρα KCL22 και TK6, και τα δύο εκ των οποίων εκφράζουν κατά κύριο λόγο μεταγραφές τύπου p210. Η ενίσχυση των μεταγραφών σύντηξης BCR-ABL μακρών (1898-1973 bp) BCR-ABL που εμπλέκουν M-bcr θα μπορούσε να επιτευχθεί με αυτόν τον συνδυασμό εκκινητών σε μερικές (λωρίδα 4), αλλά όχι σε άλλες κυτταρικές γραμμές που εκφράζουν p210 (λωρίδες 6 και 9) p210.

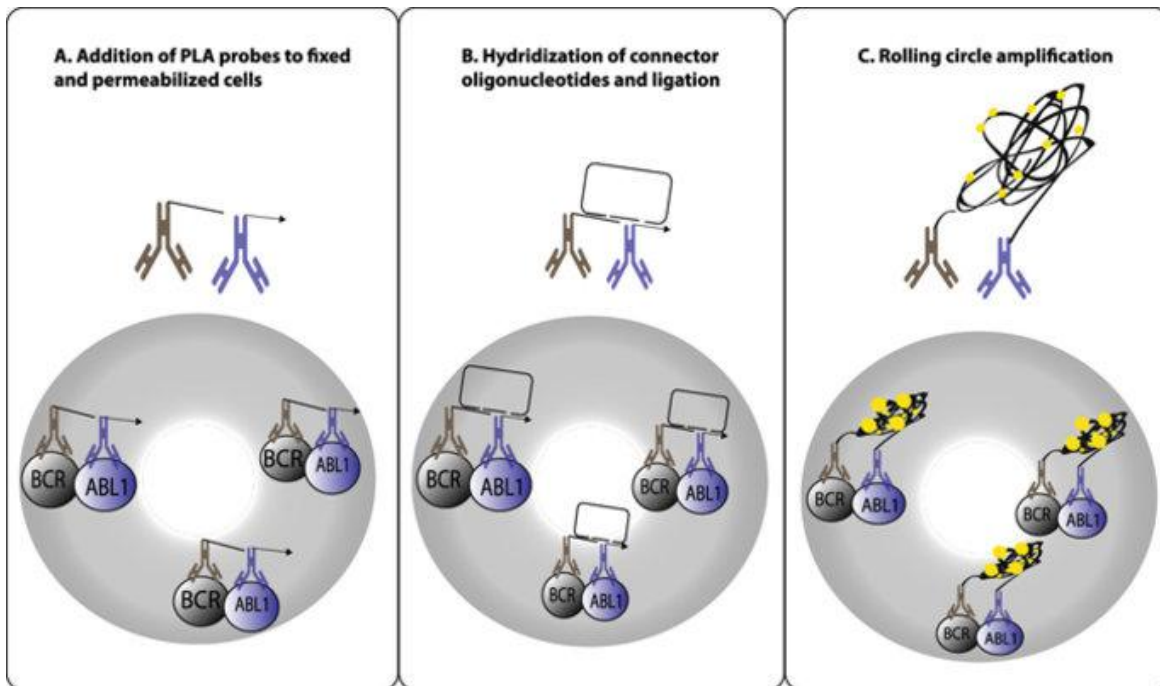
e1 e14	a2	a11	P210	b3a2	(63%)
e1	a2	a11	P190	e1a2	(1%)
e1 e13	a2	a11	P210	b2a2	(20%)
e1 e13/e14	a3	a11	P203	b3a3/b2a3	(9%)
e1 e13/e14	a2	a11	P210	b3a3/b2a2	(3%)
e1 e19	a2	a11	P230	e19a2	(4%)

Εικόνα 25: Διάγραμμα αρκετών μεταγραφών σύντηξης BCR-ABL και η συχνότητά τους σε ιρανικούς ασθενείς με ΧΜΛ.

2.7.6 Κυτταρομετρία ροής

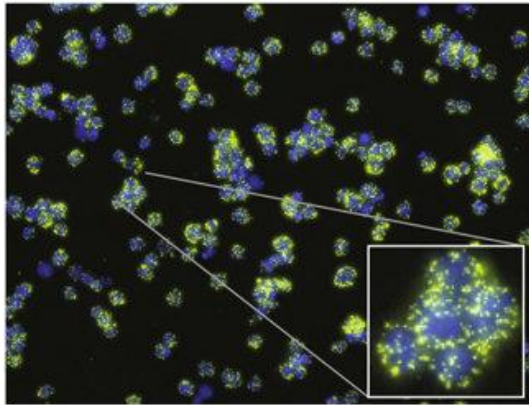
Αν και η RQ-PCR είναι μια ισχυρή μέθοδος για διαγνωστικές εξετάσεις ρουτίνας που χρησιμοποιούνται παγκοσμίως, η δυνατότητα εφαρμογής ευαίσθητης κυτταρομετρίας ροής για την ανίχνευση κυττάρων που εκφράζουν μεταγραφές σύντηξης BCR-ABL1 μπορεί να αποδειχθεί βολική τόσο στη διάγνωση όσο και στην παρακολούθηση. Αυτή η μέθοδος, που καλείται PLA (proximity ligation assay), χρησιμοποιεί την *in situ* δοκιμασία πρόσδεσης (*in situ* PLA) για την ανίχνευση της μεταγραφής σύντηξης BCR-ABL1 μέσα στα κύτταρα. Το πρωτόκολλο PLA χρησιμοποιεί ένα αντίσωμα που κατευθύνεται έναντι του τμήματος BCR της μεταγραφής σύντηξης και ένα άλλο έναντι του τμήματος ABL1. Κάθε αντίσωμα φέρει ένα DNA ολιγονουκλεοτίδιο το οποίο, καθοδηγεί το σχηματισμό ενός κύκλου DNA κατά την υβριδοποίηση και σύνδεση δύο προστιθέμενων ολιγονουκλεοτιδίων DNA. Ο συνδεδεμένος κύκλος DNA μπορεί στη συνέχεια να ενισχυθεί με κυλιόμενη κυκλική ενίσχυση (RCA, rolling circle amplification) και τα εντοπισμένα προϊόντα RCA ανιχνεύονται με υβριδισμό ολιγονουκλεοτιδίων συζευγμένων με φθοροφόρο.

Τέλος, η ένταση φθορισμού μεμονωμένων κυττάρων μετριέται με κυτταρομετρία ροής. Επιδεικνύουμε ότι η PLA είναι μια γρήγορη, ευαίσθητη και ειδική μέθοδος με αποτελέσματα που είναι εξίσου καλά με αυτά της RQ-PCR για τη μεταγραφή σύντηξης. Επιπλέον, η χρήση της κυτταρομετρίας ροής δίνει το πλεονέκτημα της ταυτόχρονης διερεύνησης επιφανειακών δεικτών που εφαρμόζονται συνήθως στην ρουτίνα.

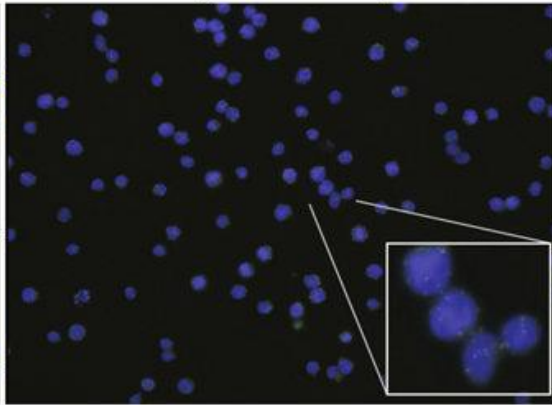


Εικόνα 26: Ανίχνευση κυττάρων που εκφράζουν BCR-ABL1 με PLA. Η δοκιμασία χρησιμοποιεί ένα ζεύγος συζευγμένων με ολιγονουκλεοτίδια αντισωμάτων (ανιχνευτές PLA) με συγγένεια για τις περιοχές BCR και ABL1 της πρωτεΐνης σύντηξης σε σταθερά και διαπερατά κύτταρα (A). Τα ολιγονουκλεοτίδια σε ανιχνευτές PLA που παραμένουν σε στενή εγγύτητα μετά από πλύσεις χρησιμεύουν ως πρότυπα για υβριδισμό δύο επιπλέον DNA ολιγονουκλεοτιδίων, καθοδηγώντας την πρόσδεσή τους σε κύκλους DNA (B). Μετά την απολίνωση, οι κύκλοι του DNA ενισχύονται τοπικά με RCA για την παραγωγή προϊόντων RCA που απεικονίζονται και ανιχνεύονται με προσθήκη συμπληρωματικών ολιγονουκλεοτιδίων (C) επισημασμένων με φθοροφόρο (C), ακολουθούμενη από ανίχνευση επισημασμένων κυττάρων μέσω κυτταρομετρίας ροής.

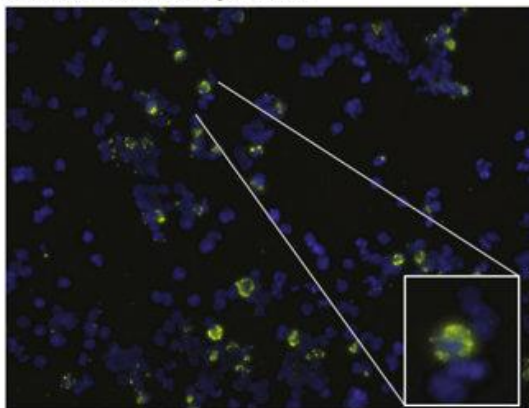
A. K562 cells - Positive for fusion protein BCR-ABL1



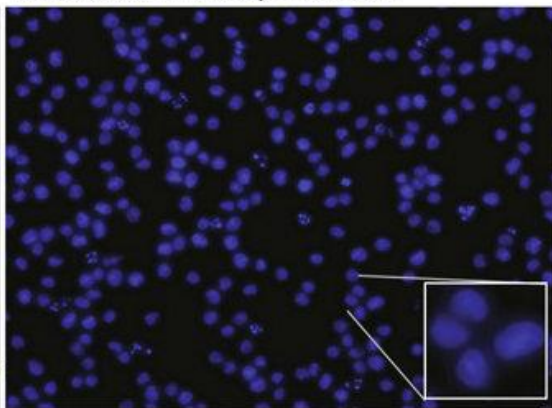
B. U937 cells - Negative for fusion protein BCR-ABL1



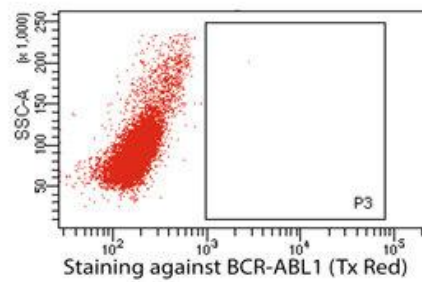
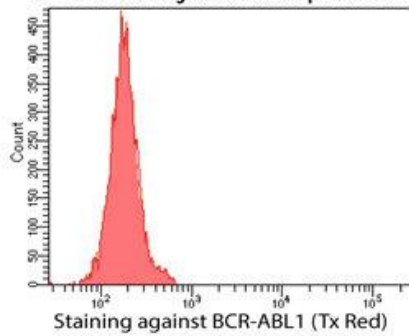
C. Cells from CML patient



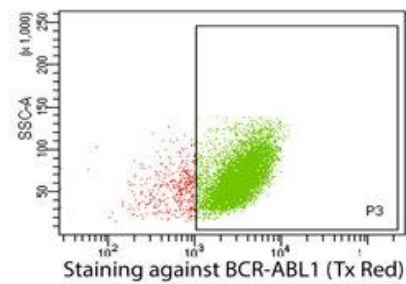
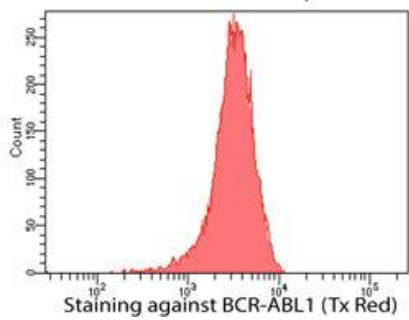
D. Cells from healthy individual



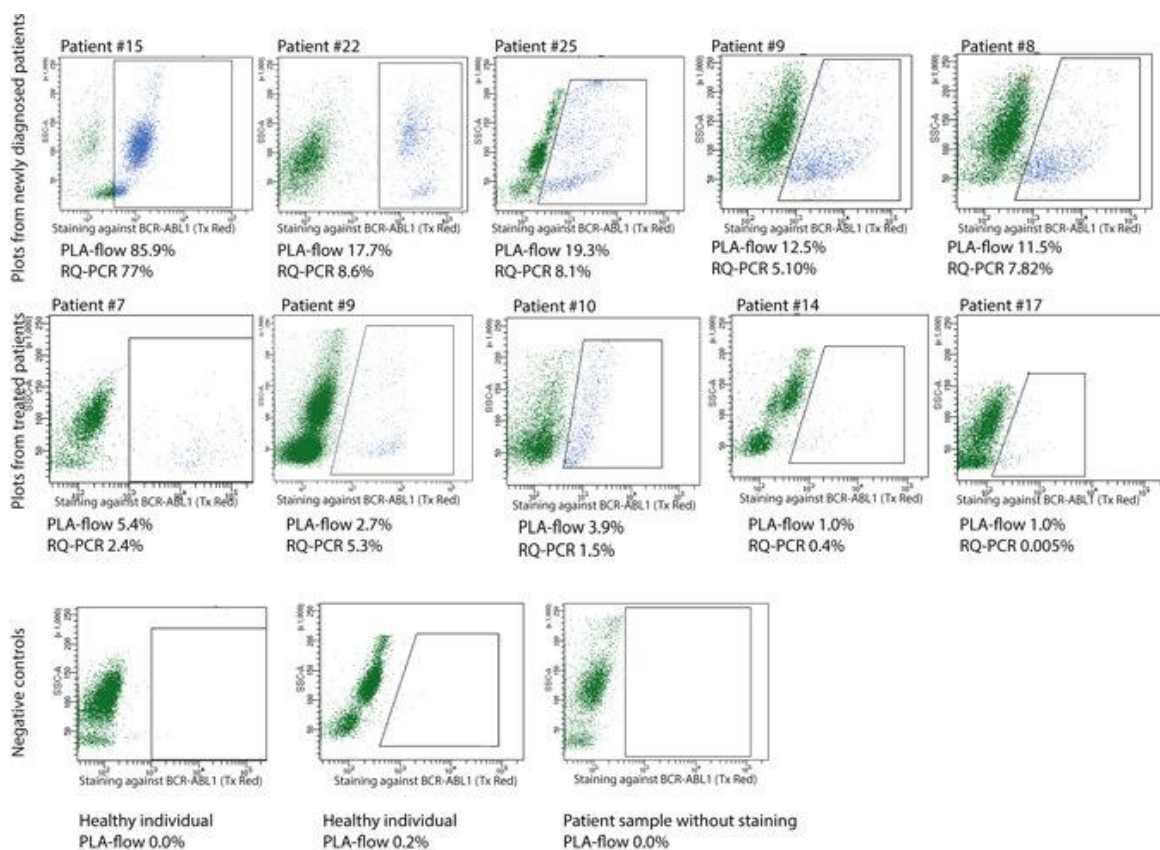
E. U937 cells - Negative for fusion protein BCR-ABL1



F. K562 cells - Positive for fusion protein BCR-ABL1



Εικόνα 27: In situ ανίχνευση PLA με μικροσκοπίο φθορισμού της πρωτεΐνης σύντηξης BCR-ABL1. (A) Ανίχνευση της BCR-ABL1 θετικής κυτταρικής σειράς K562, (B) Ανίχνευση της κυτταρικής σειράς BC9-ABL1 αρνητικής κυττάρων U937, (C) από έναν ασθενή που υποβλήθηκε σε αγωγή για CML, (D) πυρήνα κύτταρα αίματος από ένα υγιές άτομο. Τα σήματα καταγράφηκαν χρησιμοποιώντας κυτταρομετρία ροής (E) PI_A για ανίχνευση του BCR-ABL1 στην BC9-ABL1 αρνητική κυτταρική σειρά U937 σε σύγκριση με την (F) θετική κυτταρική σειρά BCR-ABL1 K562. Τα πειράματα επαναλήφθηκαν περισσότερο από τρεις φορές.



Εικόνα 28: Ανίχνευση PLA των θετικών κυττάρων BCR-ABL1 από ασθενείς που διαγνώστηκαν με ΧΜΛ και φυσιολογικούς μάρτυρες. Οι κορυφαίες κουκίδες γραμμής είναι παραδείγματα από την ανάλυση με PLA νεοδιαγνωσθέντων ασθενών, ενώ η μεσαία σειρά αντιπροσωπεύει τους ασθενείς που είχαν προηγουμένως υποβληθεί σε θεραπεία ή υπό θεραπεία. Την εποχή εκείνη για συλλογή δειγμάτων, οι ασθενείς 7 και 9 έλαβαν θεραπεία με imatinib, ο ασθενής

10 δεν έλαβε καμία θεραπεία και οι ασθενείς 14 και 17 υποβλήθηκαν σε θεραπεία με dasatinib. Τα κύτταρα εγκρίθηκαν πρώτα για πλευρική και εμπρόσθια διασπορά και κατόπιν μια θετική πύλη τοποθετήθηκε γύρω από κύτταρα που θεωρήθηκαν θετικά σε σύγκριση με ένα αρνητικό μάρτυρα. Ο αρνητικός έλεγχος που χρησιμοποιήθηκε για το πύγμα ήταν δείγμα ασθενούς που δεν υποβλήθηκε σε ανιχνευτές PLA. Η κάτω σειρά παρουσιάζει παραδείγματα των αρνητικών μαρτύρων, δηλαδή δύο δείγματα από υγιή άτομα και ένα δείγμα από έναν ασθενή όπου δεν προστέθηκαν ανιχνευτές PLA. Τα δείγματα ασθενών αναλύθηκαν επίσης με RQ-PCR για να εκτιμηθούν τα επίπεδα μεταγραφής BCR-ABL1. Τα αποτελέσματα από τις δύο αναλύσεις υποδεικνύονται κάτω από κάθε διάγραμμα, όπου ισχύει.

2.7.7 Εξετάσεις απεικόνισης

Οι εξετάσεις απεικόνισης δεν χρειάζονται για τη διάγνωση της ΧΜΛ, αλλά μερικές φορές είναι χρήσιμες για την αναζήτηση της αιτίας των συμπτωμάτων ή για αποδεδειχθεί την σπληνομεγαλία ή ηπατομεγαλία.

2.7.8 Αξονική τομογραφία (Computed tomography scan)

Μια αξονική τομογραφία μπορεί να δείξει εάν έχουν διευρυνθεί/διογκωθεί οι λεμφαδένες ή τα όργανα στο σώμα. Δεν είναι συνήθως απαραίτητη η διάγνωση της ΧΜΛ, αλλά μπορεί να γίνει εάν ο γιατρός υποπτεύεται ότι η λευχαιμία αναπτύσσεται σε κάποιο όργανο, όπως ο σπλήνας.

Σε ορισμένες περιπτώσεις, ένας CT μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να καθοδηγήσει μια βελόνα βιοψίας με ακρίβεια σε μια υποψία ανωμαλίας, όπως ένα απόστημα. Για αυτή τη διαδικασία, που ονομάζεται βιοψία βελόνας καθοδηγούμενη από CT, ενώ ο ιατρός μετακινεί τη βελόνα βιοψίας μέσω του δέρματος και προς τη θέση της μάζας. Οι σαρώσεις CT επαναλαμβάνονται μέχρι η βελόνα να βρίσκεται μέσα στη μάζα. Ένα δείγμα στη συνέχεια αφαιρείται για να εξεταστεί στο μικροσκόπιο. Αυτό σπάνια απαιτείται στη ΧΜΛ.

2.7.9 Υπερηχογράφημα

Το υπερηχογράφημα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για έλεγχο των λεμφαδένων κοντά στην επιφάνεια του σώματος ή αναζήτηση σπληνομεγαλίας ή ηπατομεγαλίας.

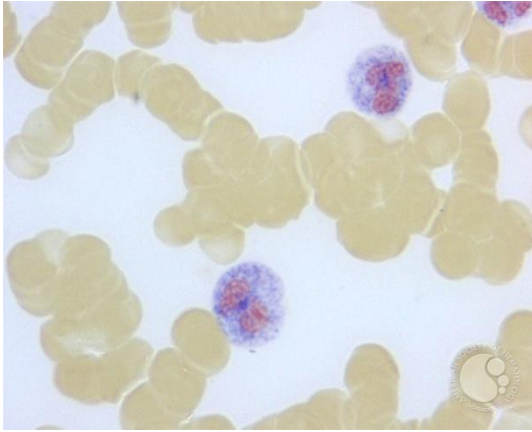
2.8 Εργαστηριακά ευρήματα

2.8.1 Περιφερικό αίμα:

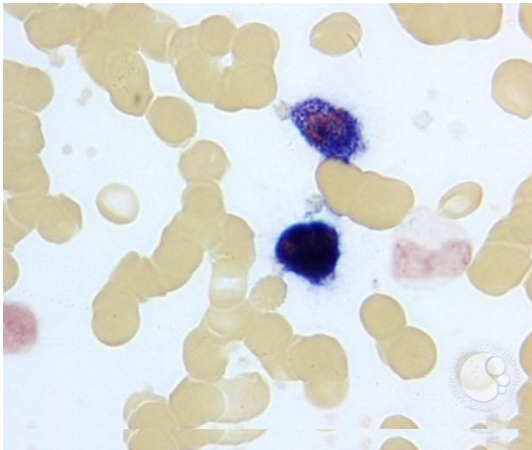
- Ήπια αναιμία ορθόχρωμη και ορθοκυτταρική, λόγω της μυελικής διήθησης, με εμπύρηννα ερυθροκύτταρα.
- Όλο το φάσμα της κοκκιώδης σειράς, δηλαδή πολυμορφοπύρηννα περίπου 50%, τα όποια συχνά παρουσιάζουν υπερκατάτμητο η δίλοβο πυρήνα, μυελοκύτταρα 20 – 50% και βλάστες συνήθως <5%. Ο απόλυτος αριθμός των βασεόφιλων είναι αυξημένος σε όλους τους ασθενείς με ΧΜΛ, ενώ συχνά είναι αυξημένα και τα ηωσινόφιλα.
- Λευκοκυττάρωση, η οποία είναι συνηθισμένη (25.000 – και > 300.000/μl), συνήθως > 100.000/μl. Ο αριθμός των λευκοκυττάρων συμβαδίζει με το βαθμό της αναιμίας και το μέγεθος της σπλήνας.
- Θρομβοκυττάρωση >1.000.000/μl είναι συνηθισμένη (30 – 50%). Ανευρίσκονται πιθανώς και θραύσματα πυρήνων μεγακαρυοκυττάρων, ενώ θρομβοπενία σημαίνει βλαστική κρίση.
- Τέλος LAP score, δηλαδή αξιολόγηση της δραστηριότητας της αλκαλικής φωσφατάσης των ουδετερόφιλων σε επίχρισμα περιφερικού αίματος. Χρησιμεύει στη διάγνωση της ΧΜΛ αλλά και στην διαφορική διάγνωση από τα άλλα μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα.

Η βαθμολογία της αλακαλικής φωσφατάσης μειώνεται συνήθως στη χρόνια μυελογενή λευχαιμία και παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία, ενώ αυξάνεται στην λευχαιμοειδή αντίδραση και στην πολυκυτταραιμία. Το φωσφορικό άλας ναφθυλίου AS-B1 υδρολύεται σε φωσφορικό άλας και ένα αρυλ-ναφθυλ-θειαμίδιο από την αλκαλική φωσφατάση στο κυτταρόπλασμα των λευκοκυττάρων. Το αρυλ-ναφθυλ-θειαμίδιο συζεύγεται με άλας διαζωνίου, σχηματίζοντας μία αδιάλυτη κυανή χρωστική μέσα στο

κυτόπλασμα των λευκοκυττάρων. Τα ουδετερόφιλα βαθμολογούνται (0 έως 4+) και η συνολική βαθμολογία 100 από αυτά τα κύτταρα αντιπροσωπεύει την βαθμολογία LAP. Σε έναν ασθενή με αντιδραστική λευκοκυττάρωση μπορεί να παρατηρηθεί στα λευκοκύτταρα του επιχρίσματος αίματος μεταβλητή ένταση μπλε χρώσης.



Εικόνα 29: Επίχρισμα περιφερικού αίματος με lap score, τα δύο ουδετερόφιλα σε αυτή την εικόνα βαθμολογούνται ως 2+. Η ροζ χρώση των λοβών του πυρήνα είναι ακόμα ορατή ενώ είναι σαφείς οι περιοχές στο κυτταρόπλασμα.

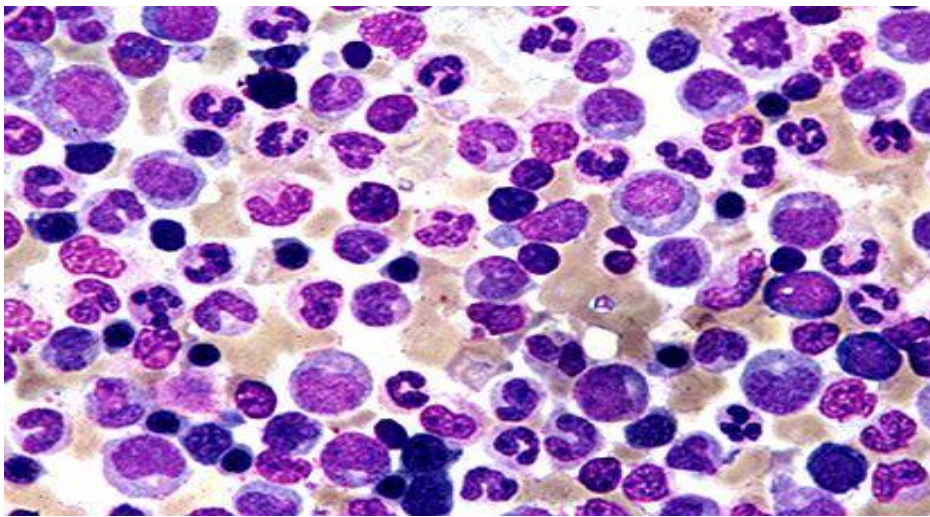


Εικόνα 30: Το κορυφαίο ουδετερόφιλο σε αυτή την εικόνα είναι 3+, ενώ το δεύτερο ουδετερόφιλο θα βαθμολογηθεί ως 4+, με έντονη κυτταροπλασματική χρώση με τον πυρήνα να σκιάζεται.

2.8.2 Μυελός των οστών:

- Έντονα κυτταροβριθής, γεγονός που δυσκολεύει τη λήψη του. Επομένως η οστεομυελική βιοψία είναι απαραίτητη για το μοριακό έλεγχο, την εκτίμηση της ίνωσης και την κυτταρογενετική μελέτη.
- Έντονα αυξημένη σχέση κοκκιώδους σειράς προς ερυθράς, που μπορεί να φτάσει έως και 20 – 30: 1 (φυσιολογικό 2 – 4: 1)

- Κυριαρχία υπερπλασίας της κοκκιώδης σειράς σε όλα τα στάδια της ωρίμανσης, με κυρίαρχο κύτταρο το μυελοκύτταρο.
- Ελάττωση ή εξαφάνιση της ερυθράς σειράς
- Αύξηση των μεγακαρυοκυττάρων
- Λίγες μυελοβλάστες
- Τέλος, ανεύρεση μικρών μεγακαρυοκυττάρων, ενώ συχνά εντοπίζεται εστιακή ή διάχυτη ίνωση.



Εικόνα 31: Επίχρισμα μυελού οστών που αναρροφάται από έναν ασθενή με χρόνια μυελογενή λευχαιμία, το οποίο παρουσιάζει υπερπλασία στοιχείων της κοκκιώδους σειράς (προμυελοκύτταρα, μυελοκύτταρα, μεταμυελοκύτταρα, μορφές ταινιών και ώριμα κοκκιοκύτταρα).

2.8.3 Βιοχημικά ευρήματα

- Αύξηση ουρικού οξέος λόγω του εντόνου του καταβολισμού των κύτταρων
- Μεγάλη αύξηση της βιταμίνης B₁₂ του όρου λόγω αύξησης της τρανσκοβαλαμίνης των λευκοκυττάρων.
- Επηρεασμένη ηπατική άλλα και νεφρική λειτουργεί.

2.8.4 Κυτταρογενετικά ευρήματα

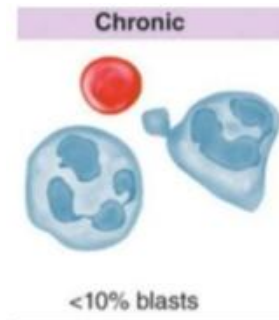
- Εντόπιση του χρωμοσώματος Φιλαδέλφειας. Η ύπαρξη του χρωμοσώματος έχει διαγνωστική σημασία. Ασθενείς με Ph¹⁺ έχουν καλύτερη πρόγνωση (85 – 95%) έναντι αυτών με Ph¹⁻. Όπως έχει προαναφερθεί μπορεί να υπάρχουν και άλλες χρωμοσωμικές ανωμαλίες, αν και αυτό δε αλλάζει κάτι στην πρόγνωση ή την πορεία τους. Τέτοιες ανωμαλίες είναι η ισοχρωμοσωμία 17q και η τρισωμία 8.

2.9 ΠΟΡΕΙΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

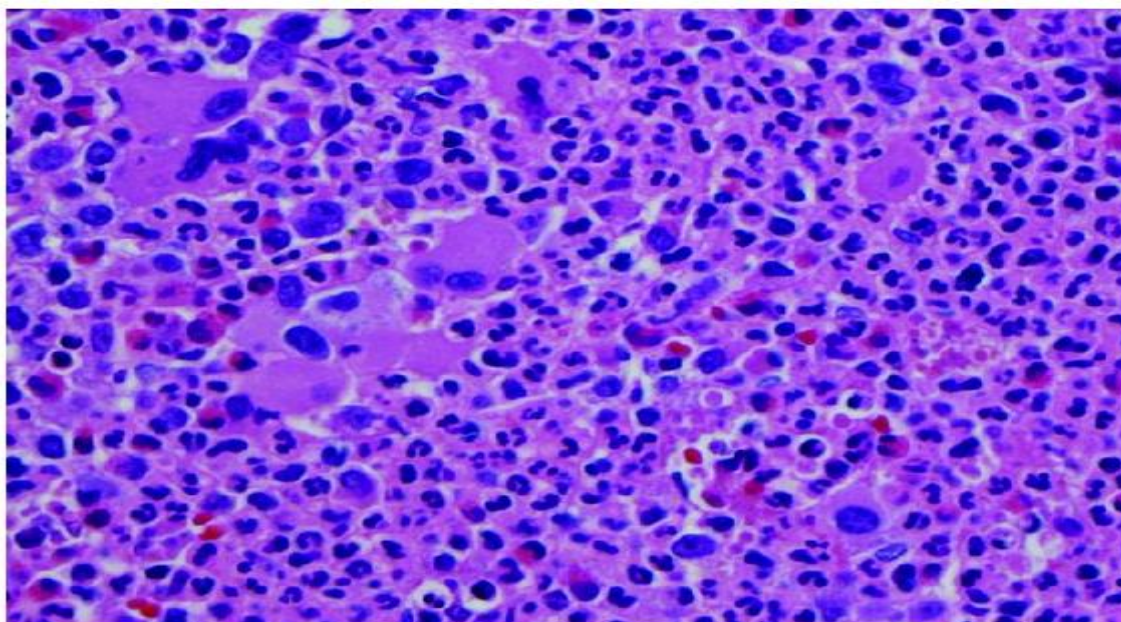
Η χρόνια μυελογενής λευχαιμία χωρίζεται σε τρία στάδια. Τα στάδια αυτά που προσφέρουν μεγάλη βοήθεια τόσο στο σχεδιασμό της θεραπείας όσο και στην πρόβλεψη της πρόγνωσης είναι τα παρακάτω:

Χρόνια φάση (chronic phase): Αποτελεί την πρώτη φάση της ΧΜΛ, στην οποία το αίμα και ο μυελός των οστών περιέχουν <10% βλάστες. Οι βλάστες είναι ανώριμα λευκά αιμοσφαίρια. Η φάση αυτή μπορεί να διαρκέσει πολλά χρόνια. Χωρίς την κατάλληλη θεραπεία, η νόσος μπορεί να προχωρήσει στις φάσεις επιτάχυνσης - επιδεινούμενης ή βλαστικής κρίσης. Μερικοί ασθενείς μπορεί από την χρόνια φάση να περάσουν στην βλαστική κρίση χωρίς να παρεμβάλλεται η επιταχυνόμενη-επιδεινούμενη φάση. Η φάση αυτή ονομάζεται μερικές φορές η σταθερή φάση. Μπορεί να μην υπάρχουν συμπτώματα και οι περισσότεροι άνθρωποι ζουν μια φυσιολογική ζωή.

Στο συγκεκριμένο στάδιο σπάνια νοσηλεύονται. Μπορούν να λαμβάνουν θεραπεία ως εξωτερικοί ασθενείς, η οποία δεν έχει πολλές παρενέργειες. Με τακτικές εξετάσεις αίματος μπορούν για να ελέγχουν πόσο καλά προχωράει η ανταπόκριση τους στη θεραπεία.

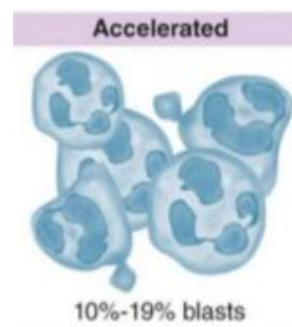


Στις περισσότερες περιπτώσεις, η μακροχρόνια φαρμακευτική θεραπεία μπορεί να ελέγξει τη χρόνια φάση της ΧΜΛ και οι ασθενείς μπορούν να επιστρέψουν στις καθημερινές δραστηριότητές τους μετά την έναρξη της θεραπείας, για μήνες, χρόνια και πολύ πιθανό για την υπόλοιπη της ζωής τους.



Εικόνα 32: Μυελός των οστών με τυπική μορφολογία χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας στη χρόνια φάση.

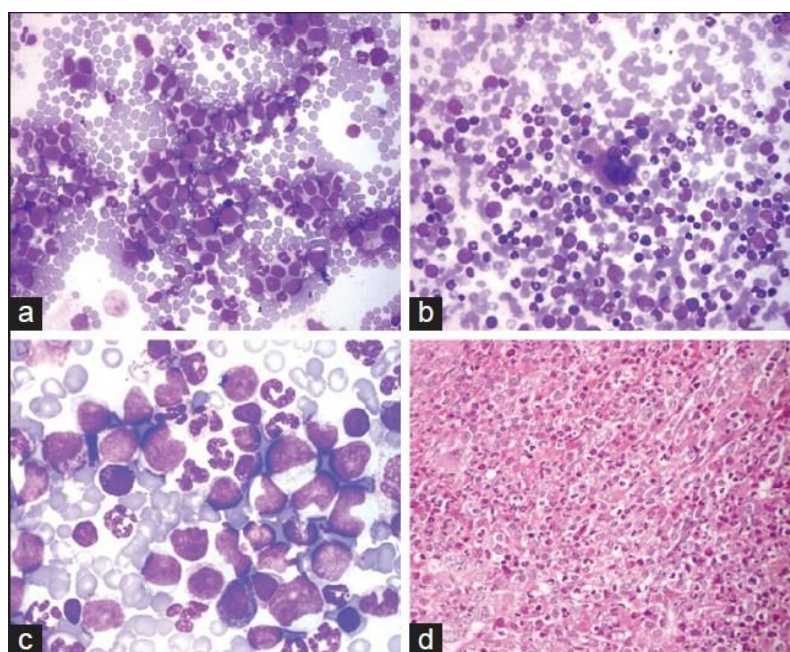
Επιταχυνόμενη φάση (accelerated phase): Δεν υπάρχει κάποιος ορισμός της συγκεκριμένης φάσης και συχνά είναι πολύ δύσκολο να προσδιοριστεί και να διαγνωσθεί. Ο αριθμός των βλαστών, προμυελοκυττάρων στο περιφερικό αίμα είναι αυξημένος (>30%). Παρομοίως ο αριθμός των βλαστών είναι αυξημένος και στο μυελό των οστών (>10% αλλά <30%), ο οποίος παρουσιάζεται από διάχυτη και έντονη ίνωση. Το ποσοστό των βασεόφιλων στο περιφερικό αίμα είναι περαιτέρω αυξημένο (>20%).



Η φάση αυτή χαρακτηρίζεται και από κάποια άλλα χαρακτηριστικά όπως: Έντονη λευκοκυττάρωση που δε ανταποκρίνεται στη θεραπεία, παραμονή των συμπτωμάτων παρά τη θεραπεία, σπληνομεγαλία, ανάπτυξη αναιμίας (<10g/dl) ή θρομβοπενίας ($100 \times 10^9/L$), επίμονη θρομβοκυττάρωση ($>1500 \times 10^9/L$) και χρωμοσωμικές ανωμαλίες (Ph¹, +8, i17q). Επίσης να εμφανίσουν άλλα συμπτώματα όπως πυρετός ακαθόριστης αρχής, κόπωση, οστικός πόνος, εφίδρωση και απώλεια βάρους.

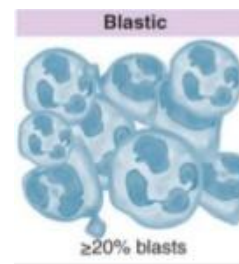
Σε λίγους ασθενείς η ΧΜΛ δεν ανταποκρίνεται καλά στη θεραπεία και προχωρεί στην συγκεκριμένη φάση. Υπάρχει περίπτωση ασθενείς να διαγνωστούν με ΧΜΛ σε αυτή τη φάση.

Εικόνα 33:
Μορφολογία
περιφερικού
αίματος,
αναρρόφηση
μυελού των
οστών και
βιοψία
επιταχυνόμενης
φάσης χρόνιας
μυελογενούς
λευχαιμίας.



Επίχρισμα περιφερικού αίματος που δείχνει λευκοκυττάρωση με αυξημένο αριθμό βλαστών (χρώση MGG-Giemsa, x400) (a). Η αναρρόφηση μυελού των οστών παρουσιάζει μεγακαρυοκύτταρα και μυελοειδή κύτταρα με περίσσεια βλαστών (χρώση MGG-Giemsa, x200, x1000) (b και c). Η βιοψία μυελού των οστών είναι υπερκυτταρική με μυελοειδή και μεγακαρυοκυτταρική υπερπλασία (αιματοξυλίνη- ηωσίνη, x400) (d).

Βλαστική κρίση (blast phase): Αποτελεί το πιο επιθετικό στάδιο της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας. Ονομάζεται αλλιώς και οξεία φάση ή βλαστική φάση και χαρακτηρίζεται από την παρουσία βλαστών στο περιφερικό και / ή στο μυελό των οστών >20%. Προαναγγέλλεται από την εμφάνιση της επιταχυνόμενης φάσης, από την ίνωση του μυελού και δυσπλαστικών χαρακτηριστικών όπως, την ανωμαλία Pelger Huet των ουδετερόφιλων, την αύξηση των βλαστών και την ύπαρξη μικρομεγακαρουκυττάρων.



Κάποια επιπλέον στοιχεία που επιβεβαιώνουν την βλαστική κρίση είναι τα εξής: Βλάστες και προμυελοκύτταρα 30% στο περιφερικό αίμα ή 50% στο μυελό, βλάστες και προμυελοκύτταρα σε ποσοστό 30% στο μυελό των οστών (ευρύτερης αποδοχής) και παρουσία εξωμυελικών όγκων η βλαστικών διηθήσεων.

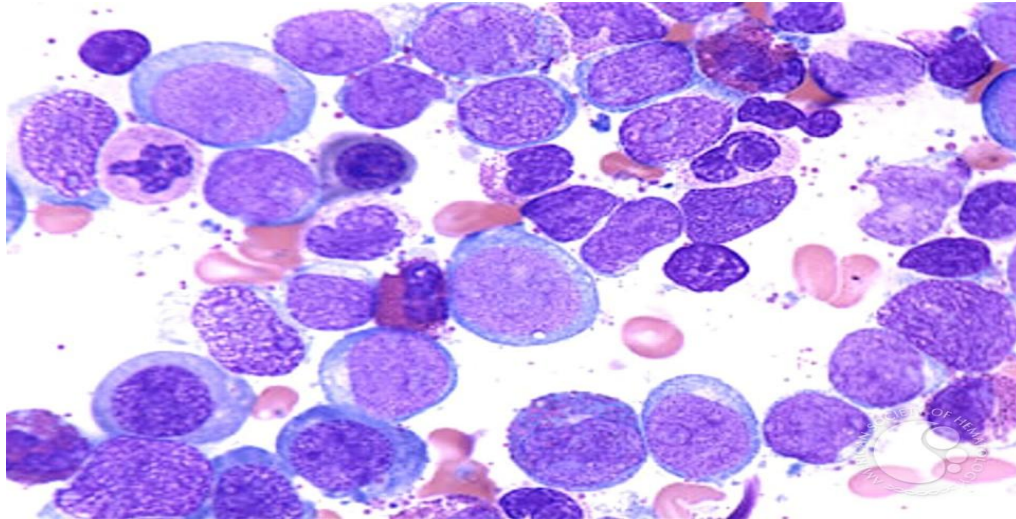
Τα 2/3 των περιπτώσεων τα βλαστικά κύτταρα έχουν μυελοειδή ανοσοφαινότυπο, το 20-30% έχουν λεμφοειδή ή μεικτό, ενώ σπανίως εμφανίζουν ερυθροκυτταρικούς ή μεγακαρουκυτταρικούς δείκτες. Οι μυελοβλάστες μπορεί να έχουν ουδετεροφικλή ή βασεοφικλή διαφοροποίηση.

Καθώς ο αριθμός των βλαστών αυξάνεται, εξαφανίζονται τα ώριμα κύτταρα και επέρχεται αναιμία και θρομβοπενία. Σε αυτή τη φάση ο ασθενής μπορεί να αντιμετωπίσει: μόλυνση, αιμορραγία, εύκολη κόπωση, δύσπνοια, πόνος στο στομάχι (από σπληνομεγαλία) και οστικά άλγη.

Όταν η ΧΜΛ φθάσει σε πιο σοβαρή, προχωρημένη φάση, προκαλεί παρόμοιες επιδράσεις με εκείνες από οξεία λευχαιμία. 25% των ασθενών, η βλαστική φάση παίρνει την εμφάνιση οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας, ενώ στους περισσότερους της οξείας μυελογενής λευχαιμίας.

Περιστασιακά, οι ασθενείς μπορεί να διαγνωσθούν με ΧΜΛ σε αυτή τη φάση ή να μεταβούν κατευθείαν εδώ από τη χρόνια φάση.

Τέλος η βλαστική κρίση της ΧΜΛ παραμένει μια θεραπευτική πρόκληση. Είναι πολύ ανθεκτική στην τυπική επαγωγική χημειοθεραπεία, με ποσοστό ανταπόκρισης σε μυελογενή βλαστική κρίση <30%. Πολλά σχήματα χημειοθεραπειών έχουν δοκιμαστεί στο CMLBC (chronic myelogenous leukemia blast crisis), με μικρή επιτυχία. Το imatinib (ινατινίμπη) δεν είναι και αυτό κατάλληλο, καθώς τα περισσότερα κρούσματα CMLBC εμφανίζονται σήμερα σε ασθενείς που έχουν ήδη λάβει θεραπεία με imatinib. Επομένως δεν υπάρχει τυποποιημένη θεραπεία για ασθενείς με CMLBC.



Εικόνα 34: Βλαστική φάση όπου οι βλάστες ποικίλουν σε μέγεθος και ποσότητα κυτταροπλάσματος.

Πινάκας 1: Απεικόνιση των χαρακτηριστικών των τριών φάσεων της ΧΜΛ

Parameter	Chronic Phase	Accelerated Phase	Blast Crisis
White blood cells	≥ 20	↑	↑
BM Blasts MO	< 15%	15% - 20%	≥ 20%
Basophils	< 20%	≥ 20%	–
Platelets	↑ or normal	↓ or ↑	↓
Marrow cellularity	↑	↑	↑
Cytogenetics	Ph+	Ph+	Ph+
Bcr-abl	+	+	+

3.0 ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Πριν ανακαλυφθεί η χημειοθεραπεία η ακτινοβολία του σπλήνα ήταν ο βασικός τρόπος για να αντιμετωπιστεί η νόσος για περίπου 50 χρόνια. Με αυτόν τον τρόπο αντιμετωπίζεται η σπληνομεγαλία και η λευκοκυττάρωση με επιβίωση 7 - 32 μήνες. Το πρώτο φάρμακο της χρόνιας φάσης ήταν η βουσουλφάνη (40 μήνες επιβίωση). Το 1946 ήρθε η υδροξουρία. Αν και έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλα χημικοθεραπευτικά φάρμακα, τα δυο προαναφερθέντα αποτελούν τα βασικά φάρμακα για την αντιμετώπιση της χρόνιας φάσης.

3.1 Χημειοθεραπεία

Η χημειοθεραπεία περιλαμβάνει χρήση φαρμάκων για την καταστροφή καρκινικών κυττάρων, σταματώντας την ικανότητα τους να αναπτύσσονται και να χωρίζονται, η οποία χορηγείται από ογκολόγο ή αιματολόγο.

Η συστηματική χημειοθεραπεία εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος προκειμένου να φτάσει τα καρκινικά κύτταρα σε όλο το σώμα. Οι τρόποι χορήγησης της χημειοθεραπείας περιλαμβάνουν έναν ενδοφλέβιο (IV) καθετήρα, με την χρήση βελόνας ή χάπι ή κάψουλας. Επιπλέον, μπορεί να χορηγηθεί υποδόρια.

Το πρόγραμμα χημειοθεραπείας αποτελείται συνήθως από έναν συγκεκριμένο αριθμό κύκλων που δίδονται για μια καθορισμένη χρονική περίοδο. Ένας ασθενής μπορεί να λάβει 1 φάρμακο ταυτόχρονα ή συνδυασμούς διαφορετικών φαρμάκων.

Η υδροξουρία (Droxia, Hydrea) χορηγείται για να μειώσει τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων, μέχρι να διαγνωστεί η ΧΜΛ. Σε μορφή κάψουλας, το φάρμακο αυτό λειτουργεί καλά ώστε να επιστρέψει τα κύτταρα του αίματος σε φυσιολογικά επίπεδα, μέσα σε λίγες ημέρες ή εβδομάδες και να μειώσει το μέγεθος της σπλήνας, ωστόσο δεν μειώνει το ποσοστό των κυττάρων με το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας και δεν εμποδίζει τη βλαστική κρίση. Αν και έχει λίγες παρενέργειες, οι περισσότεροι ασθενείς που έχουν πρόσφατα διαγνωστεί με ΧΜΛ χρόνιας φάσης λαμβάνουν το imatinib ή άλλο ΑΚΤ (αναστολείς κινάσης τυροσίνης) το συντομότερο δυνατό. Οι παρενέργειες της χημειοθεραπείας όμως εξαρτώνται από το ειδικό φάρμακο και τη δοσολογία και συνήθως γίνονται λιγότερο σοβαρές με την πάροδο του χρόνου.

Το 2012, το φάρμακο OMEGA (Synribo) εγκρίθηκε από το FDA για ασθενείς με ΧΜΛ χρόνιας ή επιταχυνόμενης φάσης που δεν ανταποκρίνεται ΑΚΤ. Η

ομακεταξίνη χορηγείται με ένεση κάτω από το δέρμα, καθημερινά για 7 έως 14 ημέρες. Οι πιο ανεπιθύμητες παρενέργειες περιλαμβάνουν θρομβοπενία, αναιμία, ουδετεροπενία, διάρροια, ναυτία, κόπωση, αδυναμία, ερεθισμό του δέρματος όπου χορηγήθηκε το φάρμακο, πυρετός και λοίμωξη.

3.2 Παρακολούθηση (monitoring)

Οι πιο ευαίσθητες εξετάσεις αίματος, όπως η PCR και το FISH, γίνονται κάθε τρεις μήνες σε δείγμα αίματος αφού ένα άτομο έχει παρουσιάσει κυτταρογενετική απόκριση στα κύτταρα του μυελού των οστών. Οι ασθενείς που δεν έχουν κύτταρα με το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας σε τακτικές κυτταρογενετικές εξετάσεις πρέπει να υποβληθούν σε έλεγχο PCR για να βρουν μοριακή απόκριση. Οι ασθενείς που έχουν ταχεία μείωση του αριθμού των κυττάρων με το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας τους τρεις μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας μπορεί να έχουν τα καλύτερα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα.

Η πιο ευαίσθητη τεχνική για να αναζητηθεί η παραμένουσα CML είναι η ποσοτική PCR αντίστροφης μεταγραφάσης (Q-RT-PCR). Η δοκιμή αυτή συνιστάται κάθε 3 μήνες σε δείγμα αίματος. Μπορεί να βρει 1 κύτταρο ΧΜΛ που παραμένει μεταξύ 1 εκατομμυρίου υγιών κυττάρων αίματος, οπότε όταν η δοκιμή αυτή είναι αρνητική, είναι πολύ πιθανό ότι η ΧΜΛ έχει σχεδόν εξαφανιστεί. Από την άλλη, αν ένα άτομο συνεχίσει να παίρνει το φάρμακο σύμφωνα με τις οδηγίες και τα αποτελέσματα αυτής της δοκιμής αρχίζουν να αυξάνονται, τότε η τρέχουσα θεραπεία δεν λειτουργεί πλέον. Αυτό σημαίνει ότι πρέπει να αλλαχτεί το φάρμακο πριν αρχίσει να επιδεινωθεί η νόσος.

Μερικές φορές, ένας ΑΚΤ σταματά να είναι αποτελεσματικό επειδή η ΧΜΛ αναπτύσσει αντίσταση σε αυτό. Αυτό μπορεί να συμβεί εάν οι ασθενείς δεν παίρνουν τα φάρμακά τους τακτικά, όπως έχει συνταγογραφηθεί. Ακόμη και αν οι ασθενείς παίρνουν σωστά το φάρμακο, η ΧΜΛ μπορεί να γίνει ανθεκτική σε ένα ΑΚΤ, γι' αυτό είναι σημαντικό η τακτική παρακολούθηση με κυτταρογενετικές δοκιμές, όπως το FISH ή PCR για να αποδειχτεί αν το φάρμακο συνεχίζει να είναι αποτελεσματικό.

3.3 Στοχευμένη θεραπεία

Η στοχευμένη θεραπεία στοχεύει τα ειδικά γονίδια του καρκίνου, τις πρωτεΐνες ή το περιβάλλον των ιστών που συμβάλλει στην ανάπτυξη και στην επιβίωση του καρκίνου. Αυτός ο τύπος θεραπείας εμποδίζει την ανάπτυξη και εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων, περιορίζοντας ταυτόχρονα τη βλάβη σε υγιή κύτταρα. Για τη ΧΜΛ, ο στόχος είναι η μοναδική πρωτεΐνη που ονομάζεται BCR-ABL ένζυμο κινάσης - τυροσίνης. Πέντε φάρμακα χρησιμοποιούνται σήμερα για να στοχεύσουν ένζυμα κινάσης τυροσίνης για τη ΧΜΛ, που ονομάζονται αναστολείς κινάσης τυροσίνης ή AKT:

- imatinib (Gleevec)
- dasatinib (Sprycel)
- nilotinib (Tasigna)
- bosutinib (Bosulif)
- ponatinib (Iclusig)

Και τα πέντε φάρμακα μπορούν να σταματήσουν τη λειτουργία του ένζυμο BCR-ABL, που προκαλεί τα ΧΜΛ κύτταρα να πεθαίνουν γρήγορα. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι οι άνδρες και οι γυναίκες που παίρνουν AKT θα πρέπει να αποφεύγουν την πατρότητα ή να μείνουν έγκυες, ενώ παίρνουν τα φάρμακα, γιατί έχουν συνέπειες για το αναπτυσσόμενο παιδί. Για να βρουν την καλύτερη θεραπεία, οι ασθενείς θα πρέπει να μιλήσουν με τους γιατρούς τους για τους κινδύνους και τα οφέλη αυτών των φαρμάκων, συμπεριλαμβανομένων των πιθανών παρενεργειών και του τρόπου με τον οποίο μπορούν να αντιμετωπιστούν.

Τα φάρμακα αυτά είναι:

Imatinib (Gleevec). Το Imatinib ήταν η πρώτη στοχευμένη θεραπεία που εγκρίθηκε από την Υπηρεσία Φαρμάκων και Φαρμάκων (FDA) των ΗΠΑ για τη ΧΜΛ το 2001. Λαμβάνεται ως χάπι μία ή δύο φορές την ημέρα. Λειτουργεί καλύτερα από τη χημειοθεραπεία για τη θεραπεία της ΧΜΛ και προκαλεί λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες. Σχεδόν όλοι οι ασθενείς με ΧΜΛ χρόνιας φάσης έχουν επανέλθει σε υγιή επίπεδα και ο σπλήνας τους συρρικνώνεται μετά τη λήψη αυτού του φαρμάκου. Το σημαντικότερο, το 80% έως 90% των ασθενών που έχουν πρόσφατα διαγνωστεί με ΧΜΛ χρόνιας φάσης και λαμβάνουν το imatinib δεν έχουν πλέον ανιχνεύσιμα επίπεδα κυττάρων με το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας.

Ο κίνδυνος ανάπτυξης ανθεκτικής ΧΜΛ για ασθενείς των οποίων η ΧΜΛ ανταποκρίνεται πλήρως στο imatinib είναι πολύ χαμηλή. Οι ασθενείς με λίγους αριθμούς κυττάρων με χρωμόσωμα της Φιλαδέλφειας, θα παραμείνουν στη χρόνια φάση περισσότερο απ'ότι θα μπορούσαν να έχουν με προηγούμενες θεραπείες. Είναι πολύ νωρίς για να μάθουμε πόσο θα διαρκέσουν αυτές οι απαντήσεις ή αν οι ασθενείς θα θεραπευτούν μόνο με αυτό το φάρμακο. Ωστόσο, υπάρχουν πολλοί ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία με imatinib από τις πρώτες κλινικές δοκιμές του 1999 που δεν έχουν ακόμα ανιχνεύσιμα κύτταρα με το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας.

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες του imatinib είναι ήπια, μπορεί να περιλαμβάνουν ελαφρά ναυτία, αλλαγές στο αίμα, κατακράτηση υγρών, οίδημα γύρω από τα μάτια, κόπωση, διάρροια και μυϊκές κράμπες.

Dasatinib (Sprycel). Το dasatinib εγκρίνεται από τον FDA ως αρχική θεραπεία για ασθενείς με νεοδιαγνωσθείσα ΧΜΛ χρόνιας φάσης και όταν άλλα φάρμακα δεν λειτουργούν. Είναι ένα χάπι που λαμβάνεται συνήθως μία φορά την ημέρα, ή μερικές φορές δύο φορές την ημέρα ανάλογα με τη δόση.

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες περιλαμβάνουν αναιμία, χαμηλό επίπεδο λευκών αιμοσφαιρίων (ουδετεροπενία), χαμηλό επίπεδο αιμοπεταλίων που (θρομβοπενία) και ρευστό γύρω από τον πνεύμονα και / ή πνευμονική υπέρταση. Ο γιατρός παρακολουθεί συχνά τον αριθμό των κυττάρων του αίματος, μετά την έναρξη της χορήγησης του dasatinib και μπορεί να προσαρμόσει τη δόση ή να σταματήσει να χορηγεί το φάρμακο προσωρινά εάν η αιματολογική μέτρηση των κυττάρων του ασθενούς μειωθεί πολύ. Επίσης μπορεί να προκαλέσει αιμορραγία, κατακράτηση υγρών, διάρροια, εξάνθημα, πονοκέφαλο, κόπωση και ναυτία. Τέλος απαιτεί γαστρικό οξύ για να απορροφηθεί, έτσι ώστε οι ασθενείς να μην λαμβάνουν αντιοξικά φάρμακα.

Nilotinib (Tasigna). Επίσης έχει εγκριθεί από την FDA ως αρχική θεραπεία για ασθενείς με νεοδιαγνωσθείσα ΧΜΛ χρόνιας φάσης και όταν άλλα φάρμακα δεν λειτουργούν. Είναι μια κάψουλα που οι ασθενείς παίρνουν από το στόμα δύο φορές την ημέρα με άδειο στομάχι.

Οι συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες περιλαμβάνουν χαμηλά επίπεδα αίματος, εξάνθημα, κεφαλαλγία, ναυτία, διάρροια και φαγούρα. Άλλες πιθανές αλλά όχι

συχνές σοβαρές παρενέργειες περιλαμβάνουν υψηλά επίπεδα σακχάρου στο αίμα, συσσώρευση υγρών και φλεγμονή του παγκρέατος ή του ήπατος.

Η πιο σοβαρή παρενέργεια περιλαμβάνει πιθανώς απειλητικές για τη ζωή (καρδιά και αγγεία) που μπορεί να οδηγήσουν σε ακανόνιστο καρδιακό παλμό, στένωση των αιμοφόρων αγγείων, εγκεφαλικό επεισόδιο και πιθανό αιφνίδιο θάνατο. Αυτές είναι πολύ σπάνιες, αλλά οι ασθενείς χρειάζονται έλεγχο για την υγεία της καρδιάς κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Μπορεί να υπάρχουν αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα που μπορεί να αυξήσουν αυτούς τους κινδύνους,

Bosutinib (Bosulif). Το 2012, το bosutinib εγκρίθηκε από το FDA για τη θεραπεία της ΧΜΛ όταν ένα από τα άλλα ΑΚΤ δεν είναι αποτελεσματικά ή εάν ένας ασθενής παρουσιάσει πάρα πολλές ανεπιθύμητες ενέργειες. Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες περιλαμβάνουν διάρροια, ναυτία και έμετο, χαμηλά επίπεδα αιμοκυττάρων, κοιλιακό άλγος, κόπωση, πυρετό, αλλεργικές αντιδράσεις και ηπατικά προβλήματα.

Ponatinib (Iclusig). Εγκρίθηκε επίσης από το FDA το 2012 για ασθενείς, όταν ένα από τα άλλα ΑΚΤ δεν είναι αποτελεσματικά ή εάν ένας ασθενής παρουσιάσει πάρα πολλές ανεπιθύμητες ενέργειες. Στοχεύει κύτταρα ΧΜΛ που έχουν μια συγκεκριμένη μετάλλαξη, γνωστή ως T315I, η οποία καθιστά αυτά τα κύτταρα ανθεκτικά σε άλλες επί του παρόντος εγκεκριμένους ΑΚΤ. Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες περιλαμβάνουν υψηλή αρτηριακή πίεση, εξάνθημα, κοιλιακό άλγος, κόπωση, πονοκέφαλο, ξηροδερμία, δυσκοιλιότητα, πυρετό, πόνο στις αρθρώσεις και ναυτία. Επίσης μπορεί να προκαλέσει καρδιακά προβλήματα, σοβαρή στένωση αιμοφόρων αγγείων, θρόμβους αίματος, εγκεφαλικά επεισόδια ή προβλήματα στο ήπαρ.

3.4 Επιλογές θεραπείας κατά φάση

Χρόνια φάση

Οι άμεσοι στόχοι της θεραπείας είναι να μειωθούν τα συμπτώματα της ΧΜΛ. Οι πιο μακροπρόθεσμοι στόχοι είναι να μειωθούν ή να εξαφανιστούν τα κύτταρα με το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας ώστε να επιβραδύνει ή να αποτρέψει την ασθένεια από τη μετάβαση στη βλαστική κρίση. Η τυπική θεραπεία για τη χρόνια φάση της ΧΜΛ

είναι ένας αναστολέας κινάσης τυροσίνης (AKT) όπως το imatinib (Gleevec), το nilotinib (Tasigna) ή το dasatinib (Sprycel). Για το imatinib, η συνήθης δόση έναρξης είναι 400 mg την ημέρα. Εάν το πρώτο φάρμακο σταματήσει να είναι αποτελεσματικό (ή δεν ήταν ποτέ αποτελεσματικό), η δόση μπορεί να αυξηθεί ή ο ασθενής μπορεί να μεταβεί σε ένα από τα άλλα AKT (συμπεριλαμβανομένου του bosutinib / Bosulif). Το Ponatanib (Iclusig) είναι μια επιλογή αφού έχουν δοκιμαστεί όλοι οι άλλοι AKT ή εάν τα κύτταρα λευχαιμίας αναπτύξουν αργότερα την μετάλλαξη T315I.

Η εναλλαγή σε άλλο AKT είναι επίσης μια επιλογή εάν ο ασθενής δεν μπορεί να πάρει το πρώτο φάρμακο λόγω παρενεργειών.

Μερικοί ασθενείς σε χρόνια φάση μπορούν να υποβληθούν σε θεραπεία με μεταμόσχευση αλλογενών βλαστοκυττάρων (SCT).

Επιταχυνόμενη φάση

Όταν η ΧΜΛ βρίσκεται σε επιταχυνόμενη φάση, τα κύτταρα λευχαιμίας αρχίζουν να συσσωρεύονται στο σώμα πιο γρήγορα, προκαλώντας συμπτώματα. Τα κύτταρα λευχαιμίας αποκτούν συχνά νέες γονιδιακές μεταλλάξεις, οι οποίες τους βοηθούν να αναπτυχθούν και να κάνουν τις θεραπείες λιγότερο αποτελεσματικές.

Οι θεραπευτικές επιλογές για τη ΧΜΛ με επιταχυνόμενη φάση εξαρτώνται από τις θεραπευτικές αγωγές που είχε ήδη ο ασθενής. Οι επιλογές είναι παρόμοιες με εκείνες για ασθενείς με ΧΜΛ χρόνιας φάσης, αλλά οι ασθενείς με ΧΜΛ με επιταχυνόμενη φάση είναι λιγότερο πιθανό να έχουν μακροπρόθεσμη ανταπόκριση σε οποιαδήποτε θεραπεία.

Εάν ο ασθενής δεν είχε καμία θεραπεία, θα χρησιμοποιηθεί ένας AKT. Το imatinib (συχνά σε υψηλότερες δόσεις από αυτές που χρησιμοποιούνται για τη χρόνια φάση της ΧΜΛ) είναι μια επιλογή για τους περισσότερους ασθενείς. Οι περισσότεροι ασθενείς σε αυτή τη φάση μπορούν να ανταποκριθούν στη θεραπεία με το imatinib, αλλά η απόκριση δεν φαίνεται να διαρκεί όσο σε ασθενείς της χρόνιας φάσης. Περίπου οι μισοί από τους ασθενείς έχουν >4 επιβίωση. Τα νεότερα φάρμακα όπως το dasatinib και το nilotinib χρησιμοποιούνται συχνά σε αυτή τη φάση και άλλα φάρμακα υπόκεινται σε μελέτη.

Εάν ο ασθενής λαμβάνει ήδη imatinib, η δόση μπορεί να αυξηθεί. Μια άλλη επιλογή είναι η μετάβαση σε ένα από τους άλλους AKT, (dasatinib, nilotinib ή

bosutinib). Μερικές φορές τα κύτταρα ΧΜΛ εξετάζονται για να διαπιστωθεί αν έχουν γενετικές μεταβολές (μεταλλάξεις) ,το οποίο μπορεί να σημαίνει ότι ένας συγκεκριμένος ΑΚΤ είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να λειτουργήσει (μετάλλαξη T315I). Στη ΧΜΛ χωρίς αυτή τη μετάλλαξη, το ponatanib είναι μια επιλογή αφού έχουν δοκιμαστεί όλα τα άλλα ΑΚΤ.

Η ιντερφερόνη είναι μια άλλη επιλογή, αλλά είναι επίσης πολύ λιγότερο αποτελεσματική σε αυτή τη φάση από ό, τι στη χρόνια φάση. Περίπου το 20% των ασθενών έχουν κάποια ανταπόκριση στο χημειοθεραπεία, αλλά αυτές οι απαντήσεις είναι συνήθως βραχύτερες από 6 μήνες.

Η αλλογενής μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων μπορεί να είναι η καλύτερη επιλογή για τους περισσότερους ασθενείς που είναι αρκετά νέοι για να είναι επιλέξιμοι. Περίπου 20 - 40% των ασθενών με ΧΜΛ με επιταχυμένη φάση εμφανίζουν μακροχρόνια επιβίωση μετά τη μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων. Προτιμάται η λευχαιμία να βρίσκεται σε ύφεση, πριν αρχίσει η διαδικασία της μεταμόσχευσης. Για να επιτευχθεί αυτό, συχνά χρησιμοποιείται χημειοθεραπεία.

Βλαστική κρίση

Στην βλαστική φάση της ΧΜΛ, τα κύτταρα λευχαιμίας γίνονται πιο ανώμαλα. Η ασθένεια λειτουργεί σαν μια οξεία λευχαιμία, με τον αριθμό των κύτταρων του αίματος να αυξάνεται και τα συμπτώματα να εμφανίζονται ή να γίνονται πιο σοβαρά.

Για τα άτομα με ΧΜΛ βλαστικής κρίσης που δεν έχουν υποβληθεί σε προηγούμενη θεραπεία, η υψηλή δόση imatinib μπορεί να είναι χρήσιμη, αν και λειτουργεί σε μικρότερο αριθμό ατόμων και για μικρότερο χρονικό διάστημα από ότι όταν χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια της νόσου. Τα νεότερα φάρμακα, το dasatinib και το nilotinib, φαίνεται να είναι καλύτερα σε αυτή τη φάση, ιδιαίτερα αν δεν είχαν χρησιμοποιηθεί νωρίτερα. Το Bosutinib είναι επίσης μια επιλογή για ασθενείς που είχαν πάρει άλλον ΑΚΤ. Το Ponatanib μπορεί να χρησιμοποιηθεί, αλλά μόνο αφού έχουν δοκιμαστεί όλοι οι άλλοι ΑΚΤ. Οι ασθενείς που ανταποκρίνονται σε αυτά τα φάρμακα θα ήταν προτιμότερο να ελέγξουν το ενδεχόμενο για μεταμοσχεύσεις βλαστικών κυττάρων, αν είναι δυνατόν.

Τα κύτταρα λευχαιμίας σε αυτή τη φάση λειτουργούν σαν κύτταρα οξείας μυελογενούς λευχαιμίας (ΟΜΛ), αλλά συχνά είναι ανθεκτικά στα φάρμακα χημειοθεραπείας που χρησιμοποιούνται συνήθως για τη θεραπεία της ΟΜΛ. Πρότυπη

χημειοθεραπεία για την αντιμετώπιση της ΟΜΛ, θα οδηγήσει σε ύφεση σε περίπου 1/5 ασθενείς, αλλά αυτό είναι συνήθως για μικρό χρονικό διάστημα. Εάν εμφανιστεί ύφεση, είναι μια πιθανότητα να εξεταστεί κάποιος τύπος μεταμόσχευσης βλαστικών κυττάρων.

Ένας μικρότερος αριθμός ασθενών έχει βλαστικά κύτταρα που δρουν σαν κύτταρα οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας (ΟΛΛ). Αυτά τα κύτταρα είναι πιο ευαίσθητα στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα. Μπορούν να προκληθούν ρήξεις περίπου στους μισούς από αυτούς τους ασθενείς με φάρμακα όπως η βινκριστίνη, η πρεδνιζόνη και η δοξορουβικίνη, μαζί με το imatinib, μπορεί να υπάρχουν υφέσεις αν το imatinib δεν έχει δοθεί ακόμη. Όπως και οι ασθενείς με ΟΛΛ, αυτοί οι ασθενείς κινδυνεύουν να έχουν κύτταρα λευχαιμίας στο υγρό που περιβάλλει τον εγκέφαλο και το νωτιαίο μυελό, έτσι συχνά παίρνουν χημείο (cytarabine ή μεθοτρεξάτη) που εγχέεται απευθείας σε αυτό το υγρό. Η ακτινοθεραπεία στον εγκέφαλο είναι μια άλλη επιλογή αλλά χρησιμοποιείται λιγότερο συχνά. Η αλλογενής μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων είναι λιγότερο επιτυχημένη για τη ΧΜΛ σε βλαστική φάση από ότι σε προηγούμενες φάσεις και το μακροχρόνιο ποσοστό επιβίωσης είναι μικρότερο από 10%. Είναι η μόνη γνωστή επιλογή που μπορεί να θεραπεύσει την ασθένεια. Εάν η ΧΜΛ μπορεί να επανέλθει στη χρόνια φάση πριν από τη μεταμόσχευση μπορεί να είναι πιο αποτελεσματική.

Επειδή οι περισσότεροι ασθενείς με ΧΜΛ σε βλαστική φάση δεν μπορούν να θεραπευτούν, η παρηγορητική θεραπεία (που αποσκοπεί στην ανακούφιση των συμπτωμάτων αντί για θεραπεία) είναι σημαντική. Η ακτινοθεραπεία μπορεί να βοηθήσει να συρρικνωθεί μια μεγεθυμένη σπλήνα ή να μειωθεί ο πόνος από τις περιοχές των οστών που έχουν υποστεί βλάβη από λευχαιμία. Το χημειοθεραπευτικό φάρμακο (συνήθως με φάρμακα όπως η υδροξυουρία) μπορεί να ανακουφίσει κάποια συμπτώματα για κάποιο χρονικό διάστημα.

3.5 Μεταμόσχευση μυελού των οστών

Υπάρχουν δυο τύποι μεταμοσχεύσεων μυελού των οστών και αυτοί είναι οι αλλογενείς και οι αυτόλογες.

Η αλλογενής μεταμόσχευση χωρίζεται σε δυο κατηγορίες: τις σχετικές (συγγενείς δότες) και τις μη σχετικές (μη συγγενείς δότες).

Σχετική αλλογενής μεταμόσχευση: είναι μια αποτελεσματική και δυναμικά θεραπευτική επιλογή θεραπείας για τη ΧΜΛ. Τα βλαστοκύτταρα που χρησιμοποιούνται για αλλογενή μεταμόσχευση λαμβάνονται είτε από τον μυελό των οστών είτε από το περιφερικό αίμα του δότη. Η φράση αυτή αναφέρεται στη μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων που προέρχονται από μυελό ή αίμα. Τα αποτελέσματα πρόσφατων μελετών για αλλογενής μεταμόσχευση μυελού των οστών για ΧΜΛ αναφέρουν μακροχρόνια ποσοστά επιβίωσης 55 - 80%, με διάμεση επιβίωση μεγαλύτερη των 10 ετών για τους ασθενείς που μεταμοσχεύθηκαν κατά τη διάρκεια της χρόνιας φάσης με μυελό άνευ T-κυττάρων, χρησιμοποιώντας σύγχρονα μόσχευμα έναντι ξενιστή ασθένεια (graft versus host disease, GVHD) και προφύλαξη από κυτταρομεγαλοϊό (CMV).

Τα αποτελέσματα με αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών είναι πολύ καλύτερα για ασθενείς σε χρόνια φάση ΧΜΛ από ότι σε επιταχυνόμενη ή βλαστική φάση της νόσου. Τα μακροχρόνια συνολικά ποσοστά επιβίωσης είναι 50% -60% για τους ασθενείς που έλαβαν συγγενή μυελό με το ανθρώπινο λευκοκυτταρικό αντιγόνο (HLA-matched)κατά την περίοδο της χρόνιας φάσης , 15 - 20% για τους ασθενείς που μεταμοσχεύθηκαν κατά τη διάρκεια της επιταχυνόμενης φάσης και <10% για τους ασθενείς που μεταμοσχεύθηκαν κατά τη διάρκεια της βλαστικής φάσης

Οι κύριες αιτίες της αποτυχίας της θεραπείας είναι η υποτροπή και η θνησιμότητα σχετιζόμενη με τη μεταμόσχευση. Τα ποσοστά υποτροπής είναι τα χαμηλότερα για τους ασθενείς σε χρόνια φάση στο 10 - 20%, το ενδιάμεσο για τους ασθενείς που μεταμοσχεύθηκαν σε επιταχυνόμενη φάση (περίπου 25%), ενώ για τους ασθενείς που έχουν μεταμοσχεύθηκαν κατά τη διάρκεια της βλαστικής κρίσης το ποσοστό είναι τι υψηλότερο (>60%). Η πλειονότητα των υποτροπών εμφανίζεται εντός των πρώτων δυο ή τριών ετών μετά τη μεταμόσχευση, αν και οι καθυστερημένες υποτροπές είναι πιο συχνές

Η αλλογενής μεταμόσχευση μυελού των οστών συσχετίζεται με υψηλά πρόωρα ποσοστά νοσηρότητας και θνησιμότητας λόγω της τοξικότητας σχετιζόμενη με τη δοσολογία, της GVHD και των μολυσματικών επιπλοκών. Αυτή η πρόωρη θνησιμότητα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ηλικία του ασθενή και από το βαθμό της ασυμμετρίας του μοσχεύματος. Η θνησιμότητα (σχετιζόμενη με τη μεταμόσχευση) αυξάνεται με το διάστημα από τη στιγμή της διάγνωση της ΧΜΛ και το σταδίου της νόσου. Ασθενείς ηλικίας < 20 ετών με μεταμόσχευση από συγγενή δότη με αντιστοιχία στο HLA, έχουν θνησιμότητα 5 - 10% σχετιζόμενη με

μεταμόσχευση, με μακροχρόνια επιβίωση 60 - 80%. Ασθενείς ηλικίας > 20 - 40 έχουν διπλάσιο κίνδυνο θνησιμότητας σχετιζόμενης με τη μεταμόσχευση από αυτή των ασθενών ηλικίας < 20 ετών. Ωστόσο, τα στοιχεία από το Κέντρο Έρευνας Καρκίνου δείχνουν ότι ασθενείς ηλικίας 50 - 60 ετών, μπορεί να έχουν (περίπου 80%) επιβίωση χωρίς ασθένεια (disease - free survival) τέσσερα χρόνια. Έτσι, δεν υπάρχει απόλυτη ηλικία για αλλογενή μεταμόσχευση.

Διάφορες ομάδες έχουν αναφέρει ότι η μεταμόσχευση εντός ενός έτους από τη διάγνωση φέρει καλύτερα αποτελέσματα από την μεταγενέστερη μεταμόσχευση.

Μελέτες αναφέρουν ότι κατώτερα αποτελέσματα για μεταμοσχεύσεις που έγιναν σε διάστημα μεγαλύτερο από ένα χρόνο μετά τη διάγνωση, αποδίδουν φτωχότερα αποτελέσματα στην αυξημένη σχετιζόμενη με τη θνησιμότητα μεταμόσχευση, και όχι σε αυξημένο ποσοστό υποτροπής.

Η επίδραση προηγούμενης θεραπείας με ιντερφερόνη-άλφα στην έκβαση του μεταμοσχεύματος είναι αμφιλεγόμενη. Πολλές μελέτες δεν έχουν ανακαλύψει ανεπιθύμητες ενέργειες προηγούμενης ιντερφερόνης σε χωρίς νόσο επιβίωση, GVHD, θνησιμότητα σχετιζόμενη με μεταμόσχευση 100 ημερών ή συνολική επιβίωση. Άλλη ομάδα ανέφερε ότι > 12 μήνες θεραπείας με ιντερφερόνη σχετίζεται με αυξημένη θνησιμότητα σχετιζόμενη με τη μεταμόσχευση και υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης μολυσματικών επιπλοκών. Οι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία για < 12 μήνες ιντερφερόνης-άλφα είχαν πρόγνωση ανώτερη από αυτήν οποιασδήποτε άλλης ομάδας, συμπεριλαμβανομένων των ασθενών που έλαβαν υδροξυουρία ή βουσουλφάνη πριν από τη μεταμόσχευση. Συνιστάται η διακοπή της ιντερφερόνης-άλφα τουλάχιστον 3 μήνες πριν από τη μεταμόσχευση και σε ασθενείς για τους οποίους η μεταμόσχευση θεωρείται αρχική θεραπεία, μπορεί να αντιμετωπιστεί καλύτερα με υδροξυουρία.

Μη σχετική αλλογενής μεταμόσχευση: Η ΧΜΛ είναι η συχνότερη ένδειξη για τη μη σχετική μεταμόσχευση, εξαιτίας τόσο της θνησιμότητας της ασθένειας όσο και του γεγονότος ότι η πρόοδος της νόσου είναι τυπικά αρκετά αργή, ώστε να επιτρέπει επαρκή χρόνο για την ταυτοποίηση ενός κατάλληλου δότη. Η χρήση μη συγγενών δοτών εθελοντών συνδέεται με υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης ιικών λοιμώξεων, εκτεταμένης χρόνιας GVHD (μέχρι 50%) και αποτυχίας εμφύτευσης (16%), σε σύγκριση με συγγενείς δότες. Σημαντική βελτίωση στην αρχική έκβαση των στατιστικών αποτελεσμάτων έχουν επιτευχθεί εν μέρει λόγω της συνηθισμένης

χρήσης του ganciclovir ως προφύλαξη για τη νόσο του κυτταρομεγαλοϊού. Πρόσφατες αναφορές δείχνουν ποσοστά επιβίωσης χωρίς νόσο 57 - 64% σε 4 ή 5 χρόνια μετά τη μεταμόσχευση μη συγγενούς δότη, σε ασθενείς ηλικίας < 50 ετών που μεταμοσχεύτηκαν εντός ενός έτους από τη διάγνωση, έχει αναφερθεί 74% ποσοστό 5ετής επιβίωση.

Η εξάντληση των T-κυττάρων του μη σχετικού αλλομοσχεύματος έχει χρησιμοποιηθεί για να μειωθεί η συχνότητα εμφάνισης της GVHD. Αν και αυτό μειώνει αποτελεσματικά την επίπτωση και τη σοβαρότητα της GVHD, οδηγεί σε αυξημένη ανεπάρκεια μοσχεύματος και υποτροπή.

Η μεταμόσχευση αίματος από τον ομφάλιο λώρο έχει διεξαχθεί με επιτυχία για ασθενείς με ΧΜΛ σε επιταχυνόμενη ή βλαστική φάση. Η χρησιμότητα των μοσχευμάτων αίματος ομφάλιου λώρου για ενήλικες λήπτες, περιορίζεται προς το παρόν από τον αριθμό των βλαστοκυττάρων σε κάθε μονάδα αίματος ομφάλιου λώρου. Οι ex vivo τεχνικές επέκτασης βρίσκονται υπό διερεύνηση.

Έχει προταθεί ένα σύστημα αξιολόγησης κινδύνου για την παροχή συμβουλών σε ασθενείς που σχεδιάζουν μεταμόσχευση για ΧΜΛ. Χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από περισσότερους από 3000 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αγωγή με αλλογενή μεταμόσχευση αίματος ή μυελού για ΧΜΛ μεταξύ 1989 και 1997 από την Ευρωπαϊκή Ομάδα για τη Μεταμόσχευση Αίματος και Μυελού (EBMT) για την δημιουργία βαθμολογίας κινδύνου. Οι κύριοι παράγοντες κινδύνου για τη μεταμόσχευση, χρησιμοποιούνται σε αυτή τη βαθμολογία:

- ιστοσυμβατότητα του δότη και του λήπτη,
- στάδιο νόσου κατά την μεταμόσχευση,
- ηλικία και φύλο του δότη και του λήπτη
- χρόνος από τη διάγνωση έως τη μεταμόσχευση.

Αυτόλογη μεταμόσχευση: Χρησιμοποιείται σε ασθενής με προχωρημένη φάση της ΧΚΛ και στόχος της αποτελεί η αποκατάσταση της χρόνιας φάσης όταν μεταβεί στην επιταχυνόμενη ή βλαστική φάση.

Η συλλογή των αιμοποιητικών μητρικών κυττάρων γίνεται από περιφερικό αίμα και μυελού των οστών, κατά την διάρκεια της χρόνιας φάσης και συντηρείται σε κατάψυξη. Η χορήγηση χημειοθεραπείας με ή χωρίς ακτινοβολία γίνεται, όταν η νόσος μεταβεί σε προχωρημένη φάση, σε συνδυασμό με μεταμόσχευση κυττάρων. Το

καλύτερο δυνατό της μεθόδου είναι η αποκατάσταση της χρόνιας φάσης, διότι στα μεταμοσχευμένα κύτταρα υπάρχουν κακοήθη κύτταρα. Υπάρχουν περιπτώσεις αιμοποιητικής αποκατάστασης με Ph¹- κύτταρα, όπου Ph1+ κύτταρα εμφανίζονται γρήγορα σε πολλές περιπτώσεις.

Τα αποτελέσματα της αντιμετώπισης των προχωρημένων φάσεων της ΧΜΛ με την μέθοδο αυτή είναι φτωχά, διότι οι μεταμορφωμένοι κλώνοι των προχωρημένων φάσεων παρουσιάζουν αντίσταση σε κάθε θεραπεία.

Αποτελέσματα από κλινικά πειράματα δείχνουν ότι η μέθοδος αυτή σε πρόωμη φάση και όχι σε προχωρημένη, προκαλεί αιματολογική και κυτταρογενετική ύφεση, ειδικά αμα γίνει εξωσωματική επεξεργασία του αυτόλογου μυελού με IFN- γ (ιντερφερόνη- γ) ή καλλιεργηθεί ο μυελός για μεγάλο χρονικό διάστημα, με στόχο την απαλλαγή του από Ph¹ θετικά κύτταρα.

3.6 Α-Ιντεφερόνη (IFN- α)

Παρουσιάζει *in vitro* στα φυσιολογικά πολυδύναμα μητρικά κύτταρα και στα παθολογικά των ασθενών με ΧΜΛ ανασταλτικό αποτέλεσμα.

Σε άτομα με χρόνια φάση ΧΜΛ, επιφέρει αιματολογική ύφεση σε ποσοστό 60%, ενώ η IFN- β και IFN- γ δεν είναι τόσο αποτελεσματικές.. Προκαλεί πλήρη και μερική κυτταρογενετική ύφεση σε ποσοστό >20%, ενώ μαζί με την PCR οι περισσότεροι ασθενείς εμφανίζουν BCR-ABL θετικότητα, δηλαδή πολύ μικρή υπολειμματική νόσο, γεγονός το οποίο σημαίνει ότι δεν μπορεί να εξαφανίσει το λευχαιμικό κλώνο.

Οι ασθενείς με μερική ή πλήρη κυτταρογενετική ανταπόκριση με IFN- α , μπορεί να έχουν 7χρονη επιβίωση σε ποσοστό 90%, αλλά αυτό δεν είναι επιβεβαιωμένο σε όλους τους ασθενείς.

Μελέτες οι οποίες σύγκριναν τα αποτελέσματα από χορήγηση IFN- α , βουσουλφάνη και υδροξυουρία, δε διαπίστωσαν κάποια διαφορά στο θεραπευτικό αποτέλεσμα.

Η επίδραση της IFN- α στην ΧΜΛ εξαρτάται από την δοσομετρία. Η κλασική δόση είναι 3 – 5 MU/m² υποδόρια κάθε μέρα. Τα λευκοκύτταρα πρέπει να διατηρούνται σε 5 x 10⁹/L ενώ εμφανίζεται υποτροπή αν διακοπεί το φάρμακο.

Ασθενείς στην επιταχυνόμενη φάση ή θεραπεία για πολύ καιρό με κυτταροστατικά, δεν έχουν ανταπόκριση στο φάρμακο, με ισχυρές παρενεργείας. Καλύτερη ανταπόκριση εμφανίζουν αυτοί με πρώιμα στάδια της χρόνιας φάσης. Δεν

υπάρχει κάποιος δείκτης που να εμφανίζει την ανταπόκριση στο φάρμακο. Σε περίπτωση που χαθεί η ανταπόκριση ή παρενεργείας, εξετάζεται η περίπτωση ανάπτυξης ουτεροποιητικών αντισωμάτων και πρέπει να χρησιμοποιηθεί άλλο είδος IFN.

Πολλοί ασθενείς δεν απαντούν ικανοποιητικά στην χορήγηση ιντερφερόνης, ενώ υπάρχουν κυτταροστατικά φάρμακα τα οποία δρουν *in vitro* στα πολυδύναμα μητρικά κύτταρα της ΧΜΛ. Συνδυασμός αυτών των φαρμάκων, όπως κυτταροστατικά με υδροξυουρία, βουσουλφάνη και Ara-C με IFN-α έχουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα

3.7 Ομοχαρριωγκτονίνη (omoharringtonine)

Προέρχεται από το αλκολοειδές φυτό *Chephalataxus harringtonia*, και συνετέθη χημικά. Διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην αντιμετώπιση της πρώιμης και της προχωρημένης χρόνιας φάσης της ΧΜΛ είτε μόνη της είτε σε συνδυασμό με την IFN-α1.

3.8 Παράταση της χρόνιας φάσης

Επειδή η νόσος δεν μπορεί να θεραπευτεί με στοχευμένα φάρμακα και η αντιμετώπιση της οξείας μεταμόρφωσής της είναι πολύ δύσκολη και αναποτελεσματική, επιχειρείται η παράταση της χρόνιας φάσης, στην οποία η αγωγή είναι απλή και ο ασθενής μπορεί να ζήσει μια ποιητική ζωή. Οι τρόποι με τους οποίους γίνεται αυτό είναι οι εξής:

- Σπληνεκτομή: αμφισβητούμενη αποτελέσματα.
- Σπληνεκτομή σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία: φτωχά αποτελέσματα
- Τακτικός κυτταρογενετικός έλεγχος ανά 3 – 4 μήνες: σκοπός είναι ο έγκαιρος εντοπισμός της κλωνικής εξέλιξης και αντιμετώπιση της οξείας φάσης της με χημειοθεραπεία (ara-C, κυτταραβίνη με ανθρακικλίνη σε πρώιμο στάδιο). Αυτό έχει πολύ καλύτερα αποτέλεσμα σε συνδυασμό με την μοριακές τέχνες
- Μελέτη των χαρακτηριστικών των κύτταρων του μυελού των οστών σε καλλιέργειες κατά τη διάρκεια της χρόνιας φάσης: τα χαρακτηριστικά αυτά δίνουν σημαντικές πληροφορίες για την επικείμενη εισβολή της

οχείας μεταμόρφωσης. Η τεχνική αυτή είναι πολύ δαπανηρή και μη ευαίσθητη για να εφαρμοστεί σε κλινική πράξη.

3.9 Εντατική θεραπεία με σκοπό την ίαση

Στηρίζεται στην ιδέα ότι με την ιδανική χημειοθεραπεία ο παθολογικός κλώνος των Ph^{1+} κύτταρων θα μπορούσε να εξαφανιστεί ενώ συνεχίζει να υπάρχει ένας αριθμός φυσιολογικών μη λευχαιμικών πολυδύναμων μητρικών κύτταρων, που θα μπορούσε να πολλαπλασιαστεί και να επαναφέρει την ατμοποίηση στο φυσιολογικό.

Στην μέθοδο αυτή υπάρχουν δυο ατέλειες:

- Μικρός αριθμός πολυδύναμων μητρικών κύτταρων για την διασφάλιση της σωστής επαναπληθυσμοποίησης και
- Μη αξιοπιστία του χρωμοσώματος Φιλαδέλφειας, ως δείκτη εξαφάνισης της νόσου.

Η δεύτερη ατέλεια οφείλεται στο γεγονός ότι υπάρχουν ενδείξεις ότι εξαφάνιση του χρωμοσώματος Ph^{1+} δε σημαίνει θεραπεία της νόσου, καθώς αποτελεί δευτερογενές φαινόμενο του λευχαιμικού κλώνου.

Η εντατική θεραπεία, επιφέρει ίαση στην οξεία λευχαιμία αλλά αυτό δε δικαιολογεί πειραματικές δόκιμες στην ΧΜΛ με σκοπό την ίαση της. Τα πειράματα αυτά μπορεί να έχουν τα εξής αποτελέσματα:

- Εφικτή ελάττωση των Ph^{1+} κύτταρων αλλά όχι σε ποσοστό 100%
- Επανεμφάνιση των Ph^{1+} κύτταρων, ανεξάρτητα από την χορήγηση ή μη της χημειοθεραπείας
- Μέχρι σήμερα δεν υπάρχει ίαση
- Μεγάλοι κίνδυνοι και επιπλοκές από την χημειοθεραπεία.

Επομένως η εντατική χημειοθεραπεία δεν πρέπει να συνιστάται στην καθημερινή πρακτική, αλλά να εφαρμόζεται σε ασθενές με κακή πρόγνωση στα πλαίσια καλά ελεγχμένων πρωτόκολλων.

4. ΕΠΙΛΟΓΟΣ

Αν και η χρόνια μυελογενής λευχαιμία είναι μια νόσος που δεν έχει απόλυτη θεραπεία, η αυξανόμενη γνώση τις τελευταίες δεκαετίες στις θεραπευτικές στρατηγικές, μπορεί να δώσει στους ασθενείς την δυνατότητα μακροχρόνιας επιβίωσης.

Ασθενείς οι οποίοι βρίσκονται σε χρόνια φάση και καταφέρουν να την ελέγξουν κρατώντας την σε αυτή την φάση, μπορεί με καθημερινές φαρμακευτικές αγωγές και μια τακτική εξέταση στο ιατρό, να συνεχίζουν να ζουν την κανονικά την ζωή και καθημερινότητα τους.

Η ανάπτυξη φαρμακευτικών σκευαστών τα τελευταία χρόνια (imatinib, nilotinib), στοχεύοντας την BCR-ABL, αναστέλλοντας έτσι την παράγωγη των καρκινικών κύτταρων έχει μειώσει την θνησιμότητα της Ph+ ΧΜΛ τα τελευταία χρόνια σε 75%.

Η μεταμόσχευση μυελού των οστών σε νεαρούς κυρίως ασθενείς σε χρόνια φάση, μπορεί να τους χαρίσει με πολύ μεγάλη μακροχρόνια ύφεση αλλά πάντοτε υπάρχει η πιθανότητα υποτροπής και επανεμφάνισης των καρκίνων κύτταρων..

Γενικά, οι νεαρές ηλικίες έχουν την δυνατότητα για πιο εντατικές θεραπείες ή συνδυασμό, έναντι των πιο ηλικιωμένων, οι οποίοι θα πρέπει να αντιμετωπίζονται πιο προσεκτικά, ώστε να αυξηθεί η επιβίωση τους όσο γίνεται περισσότερο.

Οι μοριακές ανταποκρίσεις σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ΑΚΤ, βαθαίνουν με την πάροδο του χρόνου, εξαλείφοντας σταδιακά μακροχρόνια κύτταρα ΧΜΛ. Η ικανότητα ορισμένων ασθενών να διακόψουν τη θεραπεία χωρίς υποτροπή για δέκα χρόνια δείχνει ότι ορισμένοι ασθενείς μπορεί να θεραπευτούν με ΑΚΤ.

Ενώ έχουν εντοπιστεί πολλές πιθανές επεμβάσεις για την ταχύτερη απομάκρυνση των στελεχών της ΧΜΛ, ο δρόμος προς την απόδειξη είναι πολύπλοκος και πιθανόν να χρειαστούν χρόνια, αν όχι δεκαετίες για να οριστικοποιηθούν.

Στο εγγύς μέλλον με ακόμα νεότερες μεθόδους δοκίμων, η ΧΜΛ θα αντιμετωπίζεται με μεγαλύτερη ευκολία, αλλά μπορεί να μην υιοθετηθούν ευρέως για μερικά χρόνια ακόμα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Λαουτάρης Ν., Πατεράκης Γ., Βοργιάς Ν., Βύνιου Ν., Ισμαήλου – Παράση Κ. Κοσμάς Χ., Μπέλεση Χ., Παπαδημητρίου Χ., Ρούσσου Π. & Σταματόπουλος Κ.. *Λευχαμιές: Διάγνωση – Θεραπεία*. (1995). Αθήνα: Εκδόσεις Cantrel.

Γεωργούλης Ιωάννης. *Αιματολογία*. (2007) Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Ιωάννης Γεωργούλης.

Deininger Michael W.. *Chronic Myeloid Leukemia: An Historical Perspective*, American Society of Hematology. *ASH Education Book*. (2008) vol. 2008 no. 418.

Παναγιωτίδης Π. *ΧΡΟΝΙΑ ΜΥΕΛΟΓΕΝΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ*. Κ.Ε.Φ.Ι.. (16 Οκτωβρίου 2013) P. Solaï-Celigny, B. Desaint, A. Herrera, C. Chastang, M. Amar, M. Vroclans, N. Brousse, F. Mancilla, M. Renoux & J.F. Bernard. *Chronic myelomonocytic leukemia according to FAB classification: analysis of 35 cases*. *Bloodjournal*. (1984). Volume: 63, Issue: 3, Pages: 634-638.

R. Zittoun, D. Réa, L. Hoang Ngoc, S. Ramond. *Annals of Hematology*. Springer. (February 1994). Volume 68. Issue 2. pages: 55–60.

Rohrbacher M., Hasford J.. *Epidemiology of chronic myeloid leukaemia (CML)*. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. (September 2009) 22. pages: 295-302.

Sessions J.. *Chronic myeloid leukemia in 2007*. *American journal of health-system pharmacy (AJHP)*. (15 December 2007). 64(24 Suppl 15):S4-9.

Σπύρου Αναστασία Ν.. *Επιδημιολογική Έρευνα Της Συχνότητας Και Της Θνησιμότητας Των Λευχαμιών Στον Ελληνικό Πληθυσμό*. (2009). Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.

Karbasian Esfahani M., Morris EL., Dutcher JP., Wiernik PH.. *Blastic phase of chronic myelogenous leukemia*. .. (May 2006). 7. pages 189 199.

Leukemia - Chronic Myeloid - CML: Phases. Cancer.Net. (November 2016).

Turhan AG., Solary E., Vainchenker W., Dusanter-Fourt I. *Molecular pathophysiology of chronic myelogenous leukemia.* (October 1998). 40(5). pages 217-221

Treating Chronic Myeloid Leukemia by Phase. The American Cancer Society

Yolanda Smith, BPharm. *Chronic Myeloid Leukemia Pathophysiology.* Medical News. (9 August 2016). Ανακτήθηκε 1 Μαΐου από <http://www.news-medical.net/health/Chronic-Myeloid-Leukemia-Pathophysiology.aspx>

Sillaber C, Mayerhofer M., Agis H., Sagaster V., Mannhalter C., Sperr WR., Geissler K., Valent P., *Chronic myeloid leukemia: pathophysiology, diagnostic parameters and current treatment concepts.* . (14 August 2003). 155 (13-14). pages 485-504.

Lakshmaiah Chinnagiriappa Kuntegowdanahalli, Govind Babu Kanakasetty, Aditi Harsh Thanky, Lokanatha Dasappa, Linu Abraham Jacob, Suresh Babu Mallekavu, Rajeev Krishnappa Lakkavalli, Lokesh N Kadabur, & Rudresha Antapura Haleshappa. *Prognostic and predictive implications of Sokal, Euro and EUTOS scores in chronic myeloid leukaemia in the imatinib era—experience from a tertiary oncology centre in Southern India.* PMC. (2016 Oct 6). 10: 679.

Leukemia - Chronic Myeloid - CML: Treatment Options. Cancer.net. (11/2016)

Burak Uz, Yahya Buyukasik, Hilmi Atay, Engin Kelkitli, Mehmet Turgut, Ozlen Bektas, Eylem Eliacik, Ayşe Isik, Salih Aksu, Hakan Goker, Nilgun Sayinalp, Osman I. Ozcebe & Ibrahim C. Haznedaroglu. *EUTOS CML prognostic scoring system predicts ELN-based 'event-free survival' better than Euro/Hasford and Sokal systems in CML patients receiving front-line imatinib mesylate.* Hematology. (2013). volume 18. issue 5. Pages: 247-252.

Haneen R. Banjar, & Enaam Alsobhi. *Consistency Test between Scoring Systems for Predicting Outcomes of Chronic Myeloid Leukemia in a Saudi Population Treated with Imatinib.* International Scholarly Research Notices. (2017). Volume 2017. Article ID 1076493. 6 pages.

Andrew P.. Landstrom & Ayalew Tefferi. *Fluorescent in situ hybridization in the diagnosis, prognosis, and treatment monitoring of chronic myeloid leukemia*. Leukemia and Lymphoma. (April 2006). 47(3):397-402.

Meenakshi A.. Prashanth Shetty D.. Suchetha Kumari N.. Michelle Mathias.. Karuna Ramesh Kumar & Jayaprakash Shetty. *fluorescence in situ hybridization on Peripheral blood for Chronic Myeloid Leukaemia - Rapid and reliable method*. Nitte University Journal of Health Scienc. (December 2015). Vol 5. No 4.

Caren Hughes.. Pharm D.. *Cytogenetics of Chronic Myelogenous Leukemia*. U.S Pharmacist. (July 18, 2008). 33(7). (Oncology suppl):14-22.

Whittaker J.A.. *Leukemia*. Blackwell Scientific Publications. (1992). Pages 468-506

Hanson C.A. et al. *Chronic Lymphoproliferative Disorders of the Bone Marrow*. Am L Surg Pathol. (1993). 17 (2). Pages 200-208.

Silver R.T.. *Chronic myeloid leukemia. A prospective of the Clinical and biologic issues of the chronic phase*. Haematol Oncol Clin N America (1990). 4. Pages 319 335.

Italian Cooperative Study Group on Chronic Myeloid Leukemia. Evaluating survival after pillogenetic bone marrow transplant for chronic myeloid leukemia on chronic phase: a comparison of transplant versus no transplant in a cohort of 258 patients first seen in Italy between 1984 – 1986. (1993). Br J Haematol. 85. Pages 292 299.

P Solal-Celigny. B Desaint. A Herrera. C Chastang. M Amar. M Vroclans. N Brousse. F Mancilla. M Renoux & JF Bernard. *Chronic myelomonocytic leukemia according to FAB classification: analysis of 35 cases*. Blood. (1984). Vol 4. Issue 3 pages 634 638.

M A Elliott. C A Hanson. G W Dewald. S A Smoley. T L Lasho & A Tefferi. *WHO-defined chronic neutrophilic leukemia: a long-term analysis of 12 cases and a critical review of the literature*. (May 2017).vol. 19, no. 2, 2005, p. 313.

Catriona H. M., Jamieson. *Chronic Myeloid Leukemia Stem Cells*. Moores Cancer Center. Division of Hematology/Oncology. Department of Medicine. University of California. San Diego. 3855 Health Sciences Drive. La Jolla, CA. (January 1 2008). vol. 2008 no. 1 436-442.

D.L. Forrest. X. Jiang. C.J. Eaves. & C.L. Smith. *An approach to the management of chronic myeloid leukemia in British Columbia*. NCBI. 2008 Aprv.15 (2).

K Offit. JP Burns. I Cunningham. SC Jhanwar. P Black. NA Kernan. RJ O'Reilly & RS Chaganti. *Cytogenetic analysis of chimerism and leukemia relapse in chronic myelogenous leukemia patients after T cell-depleted bone marrow transplantation*. Blood. (1990). 75:1346-1355

Maninder Singh Anand. Neelam Varma. Subhash Varma. Kameer Singh Rana. and Pankaj Malhotra. *Cytogenetic & molecular analyses in adult chronic myelogenous leukaemia patients in north India*. NCBI. (Jan 2012). 135(1): 42–48.

Jean Loup Huret. *Chronic myelogenous leukaemia (CML)*. Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology. (2000-2010).

Chase A. Huntly BJ. Cross NC. *Cytogenetics of chronic myeloid leukaemia*. NCBI. (Sep 2001). 14(3):553-71.

Morris CM. *Chronic myeloid leukemia: cytogenetic methods and applications for diagnosis and treatment*. NCBI. (2011). 730:33-61.

Wang YL. Bagg A. Pear W. Nowell PC. Hess JL.. *Chronic myelogenous leukemia: laboratory diagnosis and monitoring*. NCBI. (Oct 2001). 32(2):97-111.

Rachel Frazer. Alexandra E Irvine & Mary Frances McMullin. *Chronic Myeloid Leukaemia in The 21st Century*. NCBI. (Jan 2007). 76(1): 8–17.

Nikolas von Bubnoff. PD Dr. & Justus Duyster. *Chronic Myelogenous Leukemia*. NCBI. (Feb 2010). 107(7): 114–121.

Wang YL. Bagg A. Pear W. Nowell PC. Hess JL.. *Chronic myelogenous leukemia: laboratory diagnosis and monitoring*. NCBI. (Oct 2001). 32(2):97-111.

Luu MH. Press RD.. *BCR-ABL PCR testing in chronic myelogenous leukemia: molecular diagnosis for targeted cancer therapy and monitoring*. NCBI. (Sep 2013). 13(7):749-62.

Jabbour E. Kantarjian H.. *Chronic myeloid leukemia: 2016 update on diagnosis, therapy, and monitoring*. NCBI. (Feb 2016). 91(2):252-65.

Quintás-Cardama A. Cortes JE.. *Chronic myeloid leukemia: diagnosis and treatment*. NCBI. (Jul 2006). 81(7):973-88.

Demeter J. Poros A. Bödör C. Horváth L. Masszi T.. *Chronic myelogenous leukemia: diagnosis and treatment*. NCBI. (Sep 2016). 157(37):1459-68.

Jabbour E. Kantarjian H.. *Chronic myeloid leukemia: 2014 update on diagnosis, monitoring, and management*. NCBI. (May 2014). 89(5):547-56.

Lodovico Balducci & Dawn Dolan. *Chronic Myelogenous Leukemia (CML) in the elderly*. NCBI. (Jun 2014). 6(1): e2014037.

Kendra Sweet. Ling Zhang & Javier Pinilla-Ibarz. *Biomarkers for determining the prognosis in chronic myelogenous leukemia*. NCBI. (Jul 2013). 19. doi: 10.1186/1756-8722-6-54.

Jae Wook Lee. M.D. & Nack Gyun Chung, M.D.. *The treatment of pediatric chronic myelogenous leukemia in the imatinib era*. NVBI. (Mar 2011). 54(3): 111–116.