

# Głęboka odpowiedź molekularna po podaniu dazatynibu w 3. linii terapii u chorego na przewlekłą białaczkę szpikową w fazie przewlekłej

Deep molecular response after 3<sup>rd</sup>-line dasatinib treatment in patient with chronic myelogenous leukemia in chronic phase

Maria Lewandowska<sup>1</sup>, Michał Gniot<sup>1</sup>, Błażej Ratajczak<sup>1</sup>,  
Małgorzata Jarmuż-Szymczak<sup>1, 2</sup>, Krzysztof Lewandowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, Poznań

<sup>2</sup>Instytut Genetyki Człowieka, Polska Akademia Nauk<sup>1</sup>

## Streszczenie

Niepowodzenie terapii imatynibem (IM) u chorych na przewlekłą białaczkę szpikową (CML) w fazie przewlekłej jest wskazaniem do rozpoczęcia terapii 2. linii inhibitorami kinazy tyrozynowej II generacji. Niestety, u części z nich ponownie obserwuje się objawy nietolerancji/nieskuteczności TKI II generacji. W pracy przedstawiono przypadek chorego na CML w fazie przewlekłej z opornością na IM, u którego w trakcie leczenia nilotynibem stwierdzono wystąpienie objawów toksyczności hematologicznej (małopłytkowość 3. stopnia wg CTCAE), a następnie oporności mutacyjnej (H396P KD BCR-ABL1). Na podstawie przewidywanego profilu skuteczności TKI II generacji *in vitro* zdecydowano o dalszym leczeniu dazatynibem w dawce 100 mg/raz/dobę doustnie. Całkowitą odpowiedź cytogenetyczną uzyskano po 6 miesiącach, a większą odpowiedź molekularną — po 9 miesiącach leczenia. W kolejnych miesiącach obserwowano stałą poprawę jakości odpowiedzi molekularnej. W ocenie przeprowadzonej w czerwcu 2014 roku potwierdzono uzyskanie głębokiej odpowiedzi molekularnej. Co więcej, potwierdzono jej utrzymywanie się w kolejnych ocenach.

**Słowa kluczowe:** przewlekła białaczka szpikowa, głęboka odpowiedź molekularna, dazatynib w 3. linii

*Hematologia* 2015; 6, 2: 213–217

## Abstract

*Imatinib (IM) therapy failure in patients with chronic myelogenous leukemia (CML) in the chronic phase is an indication for second-line treatment with second generation of tyrosine kinase inhibitors (2<sup>nd</sup> generation of TKI). Unfortunately, the symptoms of therapy intolerance/failure are observed in part of them. We present a case of CML patient in chronic phase with IM-resistance in whom hematologic toxicity was observed during nilotinib treatment (thrombocytopenia grade 3 acc. CTCAE), as well as the symptoms of mutational TKI-resistance (H396P KD BCR-ABL) thereafter. On the basis of 2<sup>nd</sup> generation of TKI efficacy *in vitro* profile, a decision about dasatinib therapy*

**Adres do korespondencji:** Krzysztof Lewandowski, Katedra i Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, ul. Szamarzewskiego 84, 60–569 Poznań, faks: 61 854 93 56, e-mail: [krzysztof.lewandowski@skpp.edu.pl](mailto:krzysztof.lewandowski@skpp.edu.pl)

*in a dose of 100 mg orally daily was undertaken. Complete cytogenetic response was obtained after 6 months, and major molecular response after 9 months of therapy. A follow-up revealed continuous improvement in quality of molecular response. In June 2014 deep molecular response was obtained. Moreover, their persistence during consecutive months was also confirmed.*

**Key words:** chronic myelogenous leukemia, deep molecular response, dasatinib 3<sup>rd</sup>-line

*Hematologia 2015; 6, 2: 213–217*

## Wprowadzenie

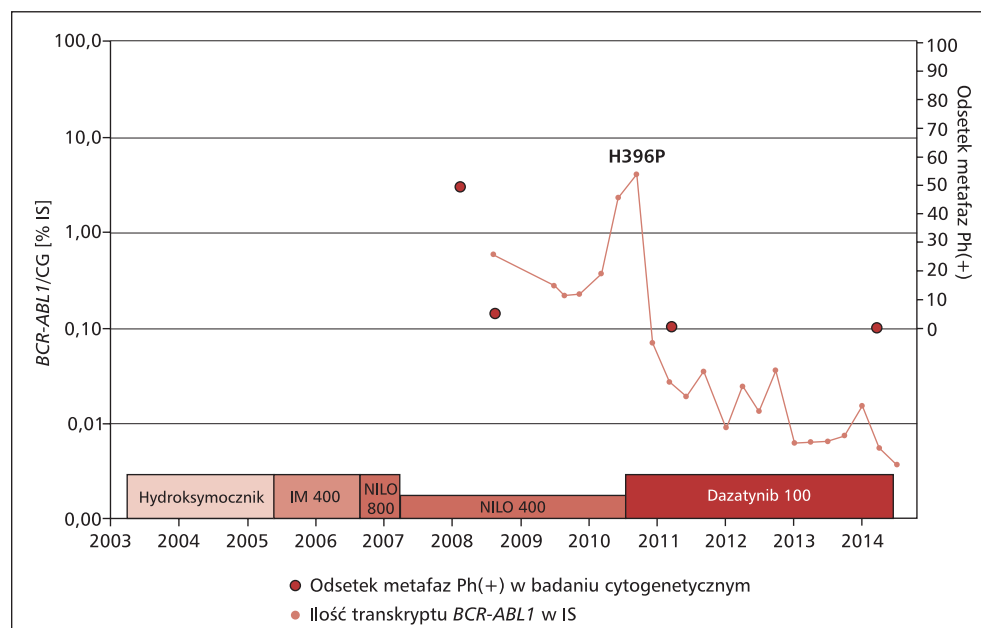
Zastosowanie leczenia inhibitorami kinazy tyrozynowej *BCR-ABL1* (TKI, *tyrosine kinase inhibitors*) II generacji umożliwia uzyskanie całkowitej odpowiedzi cytogenetycznej (CCyR, *complete cytogenetic response*) u 40–60% chorych na przewlekłą białaczkę szpikową (CML, *chronic myelogenous leukaemia*) z objawami oporności/nietolerancji imatynibu (IM) [1]. Niestety, także w trakcie podawania leków z tej grupy u około 50% chorych ponownie stwierdza się objawy nietolerancji/nieskuteczności terapii [2–5]. Wystąpienie objawów nietolerancji leczenia zmusza do czasowego zaprzestania podawania lub zmniejszenia dawki stosowanego leku, co wiąże się z obniżeniem intensywności prowadzonej terapii, a w końcowym efekcie prowadzi do zmniejszenia prawdopodobieństwa uzyskania optymalnej odpowiedzi. Stwierdzenie oporności na IM może wynikać z obecności mutacji w obrębie sekwencji kodującej strukturę domeny kinazowej (KD, *kinase domain*) kinazy tyrozynowej *BCR-ABL1* lub oporności niemutacyjnej komórek CML. W tym ostatnim przypadku przyczyną niepowodzenia terapii jest zmniejszenie ekspozycji komórek białaczkowych na lek, między innymi poprzez upośledzenie dokomórkowego transportu leku w wyniku obniżonej aktywności organicznego ludzkiego transportera kationów (hOCT1, *human organic cation transporter type 1*) czy jego szybkie usuwanie z komórki w przypadku wysokiej ekspresji genu oporności wielolekowej (MDR, *multidrug resistance genes*). Przyczyną niepowodzenia leczenia może być także zbyt niskie stężenie wolnej frakcji leku we krwi w wyniku wzrostu stężenia kwaśnej glikoproteiny 1 czy też obecność w komórkach białaczkowych dodatkowych, niezależnych od kinazy tyrozynowej *BCR-ABL*, szlaków przewodzenia sygnału proliferacyjnego [6, 7].

Ostatnio wykazano, że u chorych z opornością na TKI sekwencyjne stosowanie inhibitorów może prowadzić do selekcji klonalnej choroby oraz pojawienia się klonów opornych [8, 9]. Jej wystąpienie wiąże się z ryzykiem niepowodzenia 2. linii terapii za pomocą TKI [10]. Poniżej przedstawiono przebieg kliniczny choroby u chorego na CML w fazie

przewlekłej z opornością na IM oraz nilotynib, leczonego datatynibem w 3. linii terapii.

## Opis przypadku

Pacjent w wieku 46 lat, z rozpoznaną w 2003 roku fazą przewlekłą CML (transkrypt *BCR-ABL1* e14a2 [b3a2], ryzyko pośrednie, wskaźnik Sokala 0,9), został przyjęty do kliniki w październiku 2006 roku. W okresie poprzedzającym (od października 2003 do maja 2005 r.) z powodu znacznej leukocytozy oraz organomegalii był leczony w ośrodku terenowym hydroksymocznikiem (HU, *hydroxyurea*) w dawce 1000–1500 mg/dobę doustnie. W połowie maja 2005 roku został zakwalifikowany do leczenia IM w dawce 400 mg/dobę doustnie. Po 18 miesiącach terapii stwierdzono oporność (brak odpowiedzi cytogenetycznej). Od marca 2007 roku chory był leczony nilotynibem w dawce 2 razy 400 mg/dobę doustnie. Zgodnie z obowiązującymi wytycznymi *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN), z powodu wystąpienia objawów toksyczności hematologicznej (nawracająca małopłytkowość mimo przerw w leczeniu) 3. stopnia według *Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE), dawkę leku zmniejszono do 400 mg/dobę [11, 12]. W wykonanym po 18 miesiącach (w sierpniu 2008 r.) kontrolnym badaniu cytogenetycznym potwierdzono brak większej odpowiedzi cytogenetycznej (12/25 metafaz *Philadelphia*-dodatnich — Ph(+); 48%). Przeprowadzona po 6 miesiącach kolejna ocena cytogenetyczna potwierdziła uzyskanie większej odpowiedzi cytogenetycznej (1/28 metafaz Ph(+), 3%). Ocena ilościowa wykazała ilość transkryptu *BCR-ABL1* IS (*international scale*) 0,595%. W kwietniu 2010 roku podawanie leku czasowo wstrzymano z powodu wystąpienia objawów toksyczności wątrobowej (stężenie aminotransferazy alaninowej [ALAT, *alanine aminotransferase*] 136 j.m./ml, toksyczność 2. stopnia wg CTCAE). Przeprowadzona w marcu 2011 roku ponowna ilościowa ocena ilości transkryptu potwierdziła nieuzyskanie większej odpowiedzi molekularnej (MMR, *major molecular response*) (ilość transkryptu *BCR-ABL1* IS 4,16%). Zdecydowano o wykonaniu ba-



**Rycina 1.** Odpowiedzi cytogenetyczna i molekularna w trakcie zastosowanego leczenia; IS — skala międzynarodowa; Ph+ — t(9;22)(q34;q11); IM — imatynib, NILO — nilotynib

**Figure 1.** Cytogenetic and molecular responses during treatment applied; IS — international scale; Ph+ — t(9;22)(q34;q11); IM — imatinib, NILO — nilotinib

dania na obecność mutacji KD *BCR-ABL1* metodą sekwencjonowania. Szczegółowa analiza sekwencji potwierdziła obecność mutacji H396P genu *BCR-ABL1*. Na podstawie przewidywanego profilu skuteczności TKI zdecydowano o dalszym leczeniu dazatynibem w dawce 100 mg/raz/dobę doustnie [13–15]. Całkowitą odpowiedź cytogenetyczną (CCyR, *complete cytogenetic response*) uzyskano po 6 miesiącach stosowania leku (wrzesień 2011 r., kariotyp 46,XY[32]). Wykonana po 3 miesiącach ocena odpowiedzi molekularnej potwierdziła uzyskanie MMR z ilością kopii transkryptu *BCR-ABL1* IS 0,018%. W kolejnych miesiącach terapii obserwowano stałą poprawę jakości odpowiedzi molekularnej. W ocenie przeprowadzonej w czerwcu 2014 roku potwierdzono uzyskanie głębokiej odpowiedzi molekularnej, a w kolejnych ocenach przeprowadzanych co 3 miesiące — jej utrzymywanie się (ryc. 1). Przeprowadzona we wrześniu 2014 roku rutynowa ocena cytogenetyczna wykazała utrzymywanie się CCyR oraz obecność aberracji cytogenetycznych w komórkach Ph-ujemnych — kariotyp 47,XY,+Y[2]/45,XY,-21[6]/46,XY[23].

## Dyskusja

W jednym z badań wykazano, że u 56% chorych na CML w fazie przewlekłej po niepowodzeniu

terapii za pomocą IM można, techniką sekwencjonowania, wykazać obecność mutacji onkogenu *BCR-ABL1* [16]. Większość tych pacjentów jest wrażliwa na TKI II generacji — nilotynib [17]. W innym z badań poświęconych temu zagadnieniu obecność mutacji onkogenu *BCR-ABL1* potwierdzono u 39% ocenianych chorych. Okazało się jednak, że u 14% z badanych ich występowaniu towarzyszyła obecność dodatkowych aberracji cytogenetycznych w klonie Ph(+) [18]. Z tego powodu, zgodnie z wytycznymi NCCN, dokonując wyboru leczenia 2. linii u chorych z opornością na IM, należy za każdym razem wykonać badanie kariotypu w kierunku ewentualnej ewolucji klonalnej choroby, a także ocenić stan mutacyjny KD *BCR-ABL1*. Badanie na obecność mutacji KD *BCR-ABL1* w trakcie terapii 2. linii należy również przeprowadzić w przypadku stwierdzenia odpowiedzi nieoptymalnej lub wzrostu ilości transkryptu *BCR-ABL1* o 0,5–1 log [11].

Zastosowanie nilotynibu w 2. linii leczenia chorych na CML w fazie przewlekłej z opornością/nietolerancją IM pozwala na uzyskanie 3-letniego przeżycia wolnego od progresji (PFS, *progression-free survival*) choroby u 55% pacjentów [4, 10]. W badaniu 2. fazy (CAMN107A2101), poświęconym określeniu skuteczności i bezpieczeństwa stosowania nilotynibu podawanego w dawce 2 razy 400 mg/dobę chorym po niepowodzeniu terapii

lub z nietolerancją IM, wykazano, że po 6 miesiącach leczenia większą odpowiedź cytogenetyczną uzyskuje jedynie 48% pacjentów, a szacowane PFS oraz przeżycie całkowite (OS, *overall survival*) po 48 miesiącach terapii wynoszą, odpowiednio, 57% i 78%. Z wyjątkiem nielicznych przypadków lek okazał się skuteczny — zarówno u chorych z opornością mutacyjną na IM, jak i u pacjentów z opornością niemutacyjną na ten lek.

W trakcie stosowania nilotynibu objawy toksyczności niehematologicznej miały nasilenie łaadne lub umiarkowane. Także toksyczność hematologiczna leku była akceptowalna — w grupie tej małopłytkowość lub granulocytopenię 3.–4. stopnia obserwowano u, odpowiednio, 30% i 32% pacjentów [19, 20]. Właśnie wystąpienie małopłytkowości 3. stopnia według CTCAE było powodem zmniejszenia dawki nilotynibu w prezentowanym przypadku. Nilotynib cechuje jedynie minimalna krzyżowa nietolerancja w odniesieniu do IM. Z tego powodu u znaczącej części chorych po niepowodzeniu terapii/z nietolerancją leczenia IM udaje się uzyskać CCyR, a u dużej części — także MMR po podaniu leku w dawce 2 razy 400 mg/dobę [21].

W badaniach *in vitro* dowiedziono, że w stężeniach terapeutycznych nilotynib pozostaje nieaktywny lub jest tylko miernie aktywny wobec niektórych klonów komórkowych z mutacjami genu *BCR-ABL1*, w tym Y253F/H, E255K/V oraz F359V/C/I. Nilotynib nie wykazuje właściwości inhibitorowych wobec mutacji H396P. Zastosowanie tego leku nie jest również skuteczne w przypadku obecności mutacji T315I genu *BCR-ABL1* [15].

Podobną do nilotynibu skuteczność kliniczną u chorych na CML w fazie przewlekłej opornych/nietolerujących IM wykazuje inny TKI II generacji — dazatynib. W badaniu START-C przeprowadzonym u chorych w fazie przewlekłej CML potwierdzono, że u 90% pacjentów z opornością/nietolerancją IM możliwe jest uzyskanie całkowitej odpowiedzi hematologicznej (CHR, *complete hematologic response*), a u 52% chorych — większej odpowiedzi cytogenetycznej. Wykazano w nim także, że zastosowanie dazatynibu w znaczący sposób wpływa na zmniejszenie ilości transkryptu *BCR-ABL1* we krwi (66% wyjściowo; 2,6% po 9 miesiącach terapii). Po 5 miesiącach trwania badania przewidywane PFS i OS oceniono na, odpowiednio, 90% i 96%. Podobna ocena przeprowadzona po 6 latach w grupie osób otrzymujących dazatynib w dawce 100 mg/dobę wykazała jednak, że MMR uzyskuje jedynie 43% chorych. Także PFS oraz OS okazały się niesatysfakcjonujące (odpowiednio 49% i 71%). Podobnie skumulowany odsetek progresji do faz

bardziej zaawansowanych lub zgonu oceniono na 24% [22]. Dane te potwierdzają konieczność bardzo skrupulatnego monitorowania odpowiedzi u pacjentów z nietolerancją/nieskutecznością IM leczonych za pomocą TKI II generacji [1]. Niezwykle ważna w tym kontekście jest również analiza przyczyn odpowiedzi nieoptymalnej, w tym określenie, czy powodem braku skuteczności TKI II generacji jest nierealizowanie przez pacjenta zaleceń lekarskich odnośnie stosowania leku, nietolerancja TKI czy też wystąpienie niemutacyjnej lub mutacyjnej oporności na TKI.

Najwięcej problemów terapeutycznych sprawiają chorzy, u których stwierdzono nieskuteczność następujących po sobie dwóch linii leczenia [23]. Zastosowanie TKI II generacji w tych przypadkach jest obarczone dużym ryzykiem nieskuteczności terapii. Średni czas do wystąpienia objawów jej niepowodzenia (przeżycie wolne od niepowodzenia terapii [FFS, *failure-free survival*]) wynosi tylko 20 miesięcy, a u osób z objawami progresji do faz bardziej zaawansowanych — zaledwie 3–5 miesięcy [24].

W prezentowanym przypadku niepowodzenie terapii spowodowała obecność mutacji H396P genu *BCR-ABL1* w komórkach CML, która jest niewrażliwa na nilotynib. W badaniach *in vitro* wykazano, że dazatynib jest skuteczny w przypadkach obecności wielu mutacji wysoce opornych na IM i nilotynib, w tym mutacji H396P onkogenu *BCR-ABL1* [13, 14]. W opisywanym przypadku zastosowanie dazatynibu, wykazującego efekt inhibitorowy wobec mutanta w warunkach *in vitro*, umożliwiło uzyskanie CCyR, a następnie głębokiej odpowiedzi molekularnej. Potwierdza to celowość wykonywania badania na obecność mutacji KD *BCR-ABL1* przed podjęciem decyzji o kolejnej linii terapii u chorych opornych na określony TKI II generacji. Nie można wykluczyć, że w prezentowanym przypadku oporność na IM miała również charakter mutacyjny. Wiadomo bowiem, że w warunkach presji selekcyjnej może dochodzić do wzrostu klonów opornych na stosowany lek. Przy obniżonej wrażliwości mutanta(ów) na stosowany TKI narastanie oporności może mieć charakter powolny — aż do całkowitej dominacji klonu opornego na TKI, z klinicznymi i laboratoryjnymi objawami progresji [25].

Ostatnio udowodniono, że u chorych leczonych TKI można wykryć obecność defektów *BCR-ABL1* w niskim mianie metodą sekwencjonowania następnej generacji (NGS, *next generation sequencing*) jeszcze przed pojawieniem się objawów nieskuteczności terapii. Technika ta jest o wiele bardziej czuła niż tradycyjne sekwencjonowanie.



Z powodu wysokiej czułości nie jest ona jednak obecnie rekomendowana do monitorowania terapii TKI, gdyż umożliwia wykrycie zmian nieistotnych z punktu widzenia klinicznego, nieodpowiadających za oporność/progresję choroby na ocenianym etapie terapii [26]. W praktyce jednak regularne monitorowanie odpowiedzi molekularnej metodą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*), a także ocena obecności zaburzeń molekularnych onkogenu *BCR-ABL1* metodą sekwencjonowania wraz z odpowiednim wyborem TKI umożliwiają przełamanie oporności mutacyjnej i uzyskanie głębokiej odpowiedzi molekularnej. Wykazano ostatnio, że jest to możliwe w przypadkach chorych leczonych nilotynibem z powodu niepowodzenia poprzedzającej terapii za pomocą IM [27]. Wydaje się to możliwe także w przypadku odpowiedniego prowadzenia terapii 3. linii. Potwierdza to przebieg odpowiedzi na dazatynib u opisanego chorego opornego na dwie poprzedzające linie leczenia.

### Piśmiennictwo

- Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G. i wsp. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood* 2013; 122: 872–884.
- Hochhaus A., Baccarani M., Deininger M. i wsp. Dasatinib induces durable cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase with resistance or intolerance to imatinib. *Leukemia* 2008; 22: 1200–1206.
- Kantarjian H., Pasquini R., Levy V. i wsp. Dasatinib or high-dose imatinib for chronic-phase chronic myeloid leukemia resistant to imatinib at a dose of 400 to 600 milligrams daily: two-year follow-up of a randomized phase 2 study (START-R). *Cancer* 2009; 115: 4136–4147.
- Kantarjian H.M., Giles F.J., Bhalla K.N. i wsp. Update on imatinib-resistant chronic myeloid leukemia patients in chronic phase (CML-CP) on nilotinib therapy at 24 months: clinical response, safety, and long-term outcomes. *Blood* 2009; 114: abstrakt 1129.
- Kantarjian H.M., Giles F.J., Bhalla K.N. i wsp. Nilotinib is effective in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase after imatinib resistance or intolerance: 24-month follow-up results. *Blood* 2011; 117: 1141–1145.
- Apperley J. Part I: mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncol.* 2007; 8: 1018–1029.
- Melo J.V., Barnes D.J. Chronic myeloid leukaemia as a model of disease evolution in human cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2007; 7: 441–453.
- Naka K., Hoshii T., Tadokoro Y. i wsp. Molecular pathology of tumor-initiating cells: lessons from Philadelphia chromosome-positive leukemia. *Pathol. Int.* 2011; 61: 501–508.
- Burchert A. Maintaining low BCR-ABL signaling output to restrict CML progression and enable persistence. *Curr. Hematol. Malig. Rep.* 2014; 9: 9–16.
- Jabbour E., le Coutre P.D., Cortes J. i wsp. Prediction of outcomes in patients with Ph+ chronic myeloid leukemia in chronic phase treated with nilotinib after imatinib resistance/intolerance. *Leukemia* 2013; 27: 907–913.
- Dostępne na: [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/PDF/cml.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/cml.pdf). Data dostępu 12.01.2015.
- Sacha T., Lewandowski K., Hellmann A. i wsp. Rekomendacje PALG dotyczące diagnostyki i leczenia przewlekłej białaczki szpikowej w 2013 r. *Acta Haematol. Pol.* 2013; 44: 345–362.
- Tokarski J.S., Newitt J.A., Chang C.Y.J. i wsp. The structure of dasatinib (BMS-354825) bound to activated ABL kinase domain elucidates its inhibitory activity against imatinib-resistant ABL mutants. *Cancer Res.* 2006; 66: 5790–5797.
- Aguilera D.G., Tsimberidou A.M. Dasatinib in chronic myeloid leukemia: a review. *Ther. Clin. Risk Manag.* 2009; 5: 281–289.
- Redaelli S., Piazza R., Rostagno R. i wsp. Activity of bosutinib, dasatinib, and nilotinib against 18 imatinib-resistant BCR/ABL mutants. *JCO* 2009; 27: 469–471.
- Weisberg E., Manley P., Mestan J. i wsp. AMN107 (nilotinib): a novel and selective inhibitor of BCR-ABL. *Br. J. Cancer* 2006; 94: 1765–1769.
- Saglio G., Radich J., Kim D. i wsp. Response to nilotinib in chronic myelogenous leukemia patients in chronic phase (CML-CP) according to BCR-ABL mutations at baseline. *ASCO 2008: abstrakt 7060.*
- Schnittger S., Bacher U., Dicker F. i wsp. Associations between imatinib resistance conferring mutations and Philadelphia positive clonal cytogenetic evolution in CML. *Genes Chromosomes Cancer* 2010; 49: 910–918.
- le Coutre P.D., Giles F.J., Pinilla-Ibarz J. i wsp. Nilotinib in imatinib-resistant or -intolerant patients (pts) with chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): 48-month follow-up results of a phase 2 study. *Blood* 2011; 118: abstrakt 3770.
- Giles F.J., le Coutre P.D., Pinilla-Ibarz J. i wsp. Nilotinib in imatinib-resistant or imatinib-intolerant patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase: 48-month follow-up results of a phase II study. *Leukemia* 2013; 27: 107–112.
- Jabbour E.J., Cortes J.E., Kantarjian H.M. Resistance to tyrosine kinase inhibition therapy for chronic myelogenous leukemia: a clinical perspective and emerging treatment options. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 2013; 13: 515–529.
- Shah N.P., Guilhot F., Cortes J.E. i wsp. Long-term outcome with dasatinib after imatinib failure in chronic-phase chronic myeloid leukemia: follow-up of a phase 3 study. *Blood* 2014; 123: 2317–2324.
- Lipton J.H., Bryden P., Sidhu M.K. i wsp. Comparative efficacy of tyrosine kinase inhibitor treatments in the third-line setting, for chronic-phase chronic myelogenous leukemia after failure of second-generation tyrosine kinase inhibitors. *Leuk. Res.* 2015; 39: 58–64.
- Garg R.J., Kantarjian H., O'Brien S. i wsp. The use of nilotinib or dasatinib after failure to 2 prior tyrosine kinase inhibitors: long-term follow-up. *Blood* 2009; 114: 4361–4368.
- Ernst T., Erben P., Müller M.C. i wsp. Dynamics of BCR-ABL mutated clones prior to hematologic or cytogenetic resistance to imatinib. *Haematologica* 2008; 93: 186–192.
- Machova Polakova K., Kulvait V., Benesova A. i wsp. Next-generation deep sequencing improves detection of BCR-ABL1 kinase domain mutations emerging under tyrosine kinase inhibitor treatment of chronic myeloid leukemia patients in chronic phase. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2015; 141: 887–899.
- Hughes T.P., Lipton J.H., Spector N. i wsp. Deep molecular responses achieved in patients with CML-CP who are switched to nilotinib after long-term imatinib. *Blood* 2014; 124: 729–736.