



En ligne

<https://ajhs.atrss.dz>

Article Original

Facteurs prédictifs de la réponse moléculaire majeure chez des patients atteints de leucémie myéloïde chronique originaires de l'ouest Algérien

*The Predictive factors of major molecular response in patients with chronic myeloid leukemia from west Algeria***Nachi Mourad^{1,2}, Kihel Ibtissem^{1,2}, Abed Amine^{1,3}, Entasoltan Badra^{1,4}, Bekadja Mohammed Amine^{1,4}**¹. Université Ahmed Ben Bella d'Oran 1 / Faculté de médecine d'Oran². Laboratoire de Biochimie, CHU, Oran-Algérie⁴. Service de Biochimie, EHU 1^{er} Novembre, Oran-Algérie⁵. Service d'Hématologie et de thérapie cellulaire, EHU 1^{er} Novembre, Oran-Algérie

RESUME

Objectif : Ce travail vise à déterminer les facteurs qui peuvent avoir un impact sur la réponse moléculaire majeure chez des patients de l'ouest algériens atteints de leucémie myéloïde chronique en phase chronique traités par imatinib en première ligne. **Matériels et méthodes :** Il s'agit d'une étude mono centrique de type prospective allant de Mars 2013 à Avril 2019. La quantification des transcrits de fusion BCR-ABL1 a été effectuée par la technique de PCR quantitative en temps réel (qRT-PCR). Une analyse uni-variée a été réalisée afin de déterminer les facteurs qui peuvent avoir un impact sur la réponse moléculaire majeure (RMM). L'analyse multi variée a été réalisée selon la régression logistique pour identifier les facteurs les plus prédictifs de la RMM. Une valeur de $p \leq 0,05$ a été considéré comme statistiquement significative. **Résultats :** 65 patients ont été inclus dans cette étude, d'âge moyen 46 ± 13.85 ans. Ils sont répartis en 32 hommes (49%) et 33 femmes (51%). La RMM était obtenue chez 51, 68 et 80 % des patients respectivement à 12, 18 et 24 mois avec un temps médian de 12 mois. La fréquence de la réponse moléculaire profonde (RMP) est passée de 43 à 73% entre 24 et 36 mois. La probabilité de parvenir à une RMP à 3 ans était significativement plus élevée chez les patients qui ont eu une RMM à 12 mois (62 vs 7%, $p < 10^{-3}$). L'analyse uni-variée a déterminé 5 facteurs ayant un impact sur la RMM : le sexe féminin ($p = 0.05$), les scores pronostic faibles de Sokal ($p = 0.024$) et EUTOS ($p = 0.008$) ainsi que la réponse moléculaire optimale à 3 et à 6 mois ($p < 10^{-3}$). En modèle multi-varié, seuls le score de Sokal ($p = 0.009$, Odds ratio : 98. IC 95% [17-565]) et la réponse optimale à 6 mois ($p = 0.004$; Odds ratio: 81; IC95% [14-456]) étaient retrouvés associés à la RMM. **Conclusion :** Le score de Sokal et la réponse précoce à 6 mois semblent être des facteurs prédictifs essentiels de la RMM. Celle ci reste un facteur important pour la prédiction du résultat à long terme.

MOTS CLES : LMC, Imatinib, RMM, qRT-PCR, Facteurs prédictifs

ABSTRACT

Objective : The aims of this work is to determine the factors that impact on the major molecular response in western Algerian patients with chronic myeloid leukemia in the chronic phase treated on the first line with imatinib. **Materials and Methods :** This is a prospective monocentric study running from March 2013 to April 2019. The quantification of the BCR-ABL1 fusion transcripts was carried out by the quantitative real-time PCR (qRT-PCR) technique. To



determine the factors impacting on major molecular response (MMR) a univariate analysis was performed then a multivariate analysis using logistic regression to identify the most predictive factors of MMR. A value of $p \leq 0.05$ was considered statistically significant. **Results :** 65 patients were included in this study with a mean age of 46 ± 13.85 . These are 32 men (49%) and 33 women (51%). MMR was obtained in 51, 68 and 80% of patients at 12, 18 and 24 months, respectively, with a median obtaining time of 12 months. The frequency of deep molecular response (DMR) increased from 43 to 73% between 24 and 36 months. The probability of achieving RMP at 3 years was significantly higher in patients who achieved MMR at 12 months (62 vs 7%, $p < 10^{-3}$). The univariate analysis determined 5 factors having an impact on MMR: female sex ($p = 0.05$), low prognostic scores of sokal ($p = 0.024$) and EUTOS ($p = 0.008$) as well as the optimal molecular response at 3 and 6 months ($p < 10^{-3}$). In multivariate model, only the Sokal ($p = 0.009$, Odds ratio: 98. 95% CI [17-565]) and the optimal response at 6 months ($p = 0.004$; Odds ratio: 81; 95% CI [14-456]) were most associated with MMR. **Conclusion :** Sokal score and early response at 6 months appear to be the essential predictive factors of MMR. This remains an important factor in predicting the long-term outcome.

KEYWORDS : CML, Imatinib, MMR, qRT-PCR, Predictive factors

* Auteur Corredpondant. Tel.: +213555267422
Adresse E-mail: nachimourad@univ-oran1.dz

Date de soumission : 06-12-2020
Date de révision : 19-12-2020
Date d'acceptation : 21-01-2021

DOI : 10.5281/zenodo.4781228

Introduction

Dans le contexte de la leucémie myéloïde chronique (LMC), la protéine chimérique p210^{BCR-ABL1} résultant du gène de fusion BCR-ABL1, est devenue la cible d'un arsenal thérapeutique : les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK). L'Imatinib (IM), ITK de première génération a considérablement amélioré la survie globale des patients atteignant presque celle de la population générale [1-3]. Le transcrit de fusion BCR-ABL1 représente un marqueur moléculaire spécifique des cellules leucémiques, sa quantité est proportionnelle à la maladie leucémique résiduelle.

La réponse moléculaire s'évalue au moyen d'une méthode sensible, la RT-PCR quantitative en temps réel ou RT-qPCR qui consiste à amplifier et quantifier le transcrit ARNm de BCR-ABL1 à partir d'un prélèvement de sang périphérique du patient, permettant ainsi de situer sa maladie résiduelle, de vérifier l'efficacité du traitement et d'initier un changement d'ITK en cas de non réponse. Les résultats sont exprimés à l'échelle internationale (IS) (IS pour International Scale) en log réduction par rapport à une ligne de base théorique établie à 100 % au diagnostic [4,5]. La réponse aux ITK est jugée optimale lorsque le taux du transcrit BCR-ABL1 est $\leq 10\%$ à 3 mois (réduction de 1 log₁₀), $\leq 1\%$ à 6 mois (réduction de 2 log₁₀), et $\leq 0.1\%$ à 12 mois (réduction de 3 log₁₀) définissant la réponse moléculaire majeure (RMM). Ultérieurement, la réponse optimale est définie comme une RMM persistante dans le temps [6]. La puissance de la technique (RT-qPCR) a permis de définir trois

niveaux de réponse moléculaire profonde (RMP) : réductions de 4 ($\leq 0.01\%$), 4,5 ($\leq 0.0032\%$) et 5 Log₁₀ ($\leq 0.001\%$) en dessous de la ligne de base de l'IS [5].

Des recommandations internationales de prise en charge de la LMC sont régulièrement publiées [2, 6,7]. L'European Leukemia Net (ELN) recommande un suivi moléculaire tous les trois mois jusqu'à obtention de la RMM stable, puis tous les trois à six mois [2,6]. La RMM est souvent utilisée comme critère de jugement dans les essais cliniques [2,7]. Plusieurs études ont montré l'importance des réponses moléculaires précoces à 3, 6 et 12 mois qui restent un facteur important pour la prédiction du résultat à long terme et l'obtention des RMP [2,7-13]. Actuellement, la RMP est considérée comme le principal critère d'éligibilité à plus long terme pour un arrêt de traitement [2]. Dans ce travail, nous étudions les facteurs prédictifs de la RMM chez des patients atteints de LMC en phase chronique (LMC-PC) traités en première ligne par IM originaires de l'ouest Algériens.

Matériels et Méthodes

Il s'agit d'une étude mono centrique de type prospective observationnelle allant de Mars 2013 à Avril 2019, ayant colligé 65 patients atteints de LMC-PC traités en première ligne par IM à la dose de 400 mg/jour. Tous les patients, ont bénéficié au diagnostic, d'une recherche qualitative du transcrit BCR-ABL1, et d'un suivi moléculaire selon les recommandations ELN 2013 [6].

Les ARN Totaux ont été extraits à partir du sang total prélevé sur un tube EDTA, par un extracteur automatique Maxwell 16 «Promega», puis quantifiés en spectrophotométrie UV après une double lecture de l'absorbance à 260nm et à 280nm afin de vérifier la pureté de l'échantillon. Les ARN extraits ont été ensuite rétro-transcrits en ADN complémentaire (ADNc) selon le protocole proposé par le groupe EAC (Europe Against Cancer) [14]. La recherche qualitative du transcrit BCR-ABL1 a été effectuée en amplifiant les ADNc par une PCR de type multiplex en utilisant un kit commercialisé (seeplex™ Leukemia BCR/ABL, Seegene®), qui permet de détecter huit types de transcrit dans une seule réaction de PCR : Mb2a2, Mb3a2, m e1a2 et les autres variant, b1a1, b3a3, e19a2, b2a3, c3a2 et e1a3. Les produits amplifiés ont été soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose à 2 % pour identifier le type de transcrit en cas de positivité.

Dans le cadre du suivi moléculaire, les niveaux de transcrit BCR-ABL1 ont été mesurés par qRT-PCR sur un analyseur de type Rotor-Gene®, en utilisant, un kit standardisé (kit ipsogen BCR-ABL1 Mbc ISMMR) qui exploite le principe de la qPCR par hydrolyse des sondes TaqMan™.

Toutes les mesures ont été réalisées en double pour le gène ABL1 et pour le MBCR-ABL1. Les résultats sont exprimés en ratio BCR-ABL1/ABL (%) et ajustés à l'échelle internationale en utilisant un facteur de conversion de 0,152 inclus dans le kit. Les patients ont été classés selon les critères de définition de réponse de l'ELN 2013 [6].

Les caractéristiques clinico-biologiques étaient collectées au diagnostic. L'analyse statistique a été réalisée sur le logiciel SPSS version 20.0.

Une Analyse uni-variée a été effectuée à la recherche d'association possible entre la RMM et d'autres variables indépendantes explicatives tels que le sexe, le type de transcrit, les scores pronostic Sokal [15] et Eutos [16], et les réponses moléculaires précoces à 3 et à 6 mois. L'analyse multi-variée selon la régression logistique a été également effectuée pour identifier les facteurs les plus prédictifs de la RMM. L'incidence cumulée de la RMP (ICRMP) a été estimée en utilisant la méthode de Kaplan-Meier. La comparaison a été effectuée grâce au test de Log-Rank. Une valeur de $p \leq 0,05$ a été considérée comme significative.

Résultats

Les caractéristiques épidémiologiques et cliniques de notre série d'étude sont regroupées dans le tableau I. Un total de 65 patients d'âge moyen 46 ± 13.85 ans [19-78] ont été inclus dans cette étude. Il s'agit de 32 hommes (49%) et 33 femmes (51%) avec un sex-ratio F / H de 1,05. L'âge médian au diagnostic était de 48 ans. Quarante et un patients (63%) ont exprimé le transcrit b3a2 et 24 (37%) le type b2a2. Chez les femmes, le transcrit b3a2 était plus fréquent que b2a2 (73 vs 27% ; $p = 0.044$), alors que chez les hommes la répartition était presque égale (53 vs 47% ; $p = 0.98$).

Le suivi médian était de 36 mois [6 - 72 mois]. Le ratio BCR-ABL1/ABL1 est passé d'une médiane de 60.00 IS au diagnostic à une médiane de 5.53 IS après seulement 3 mois de suivi ($p < 10^{-3}$), puis à une médiane de 1×10^{-1} IS après 12 mois de traitement ($p < 10^{-3}$) pour atteindre ensuite des taux médians de 7.6×10^{-2} et 2.2×10^{-2} à 18 et 24 mois ($p < 10^{-3}$). Après un suivi de 36 et 48 mois, les taux médians étaient de 1×10^{-3} (Figure 1). 40/65 patients (62%) et 30/62 patients (48%) évalués respectivement à 3 et à 6 mois, étaient en réponse optimale (RO).

La fréquence des patients ayant obtenu une RMM est passée de 51 à 68 et 80%, respectivement à 12, 18 et 24 mois de traitement avec un temps médian de 12 mois (Figure 2). Parmi les 60 patients évalués à 12mois, 26/39 qui avaient un taux $\leq 10\%$ à 3 mois ont pu obtenir une RMM contre 3/21 qui étaient en état d'alerte (67 vs 14 %, $p < 0,0001$). A 18 mois, la différence était également significative 29/34 contre 7/18 (85 vs 39 %, $p = 0.001$).

Tableau 1. Caractéristiques épidémiologiques et cliniques des patients inclus dans l'étude

Variable	
Sexe, N (%)	
Masculin	32 (49%)
Féminin	33 (51%)
Age Moyen	
Age médian	
	46 [19-78]
	48
Transcrit N(%)	
Mb3a2	41(63%)
Mb2a2	24(37%)

Suite du tableau 1

Score Sokal, N (%)	
Faible	17 (26,2%)
Intermédiaire	29 (44,6%)
Elevé	19 (29,2%)
Score EUTOS, N (%)	
Faible	53 (81,5%)
Elevé	12 (18,5%)
WBC, 10⁹/L	
median (Intervalle)	137,700 [3.4-2210]
Hb, g/dL	
median (Intervalle)	11,000 [5.3-14]
PLT, g/L	
median (Intervalle)	390,000 [90-2797]
Myélémie N (%)	62/65 (95%)
Splénomégalie,	
cm médiane (Intervalle)	10 [0-40]

WBC: Globules Blancs; Hb : Hémoglobine; PLT : plaquettes

25/30 patients qui avaient un taux $\leq 1\%$ à 6 mois ont pu obtenir une RMM à 12 mois contre 3/27 (83 vs 11%, $p < 0,0001$) et 25/28 qui avaient un taux $\leq 1\%$ à 6 mois ont pu obtenir une RMM à 18 mois contre 11/23 (88 vs 48%, $p=0.001$) (Figure 3). La fréquence de la RMP est passée de 43 à 73% entre 24 et 36 mois (Figure2).

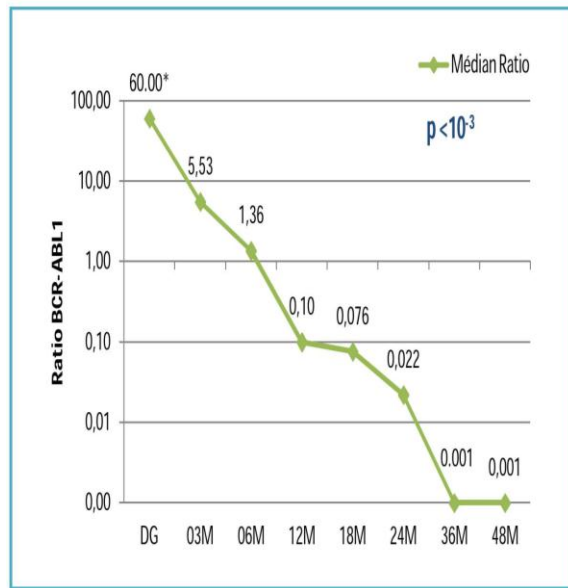


Figure 1: Cinétique de réduction du transcrite BCR-ABL1 en fonction du temps.

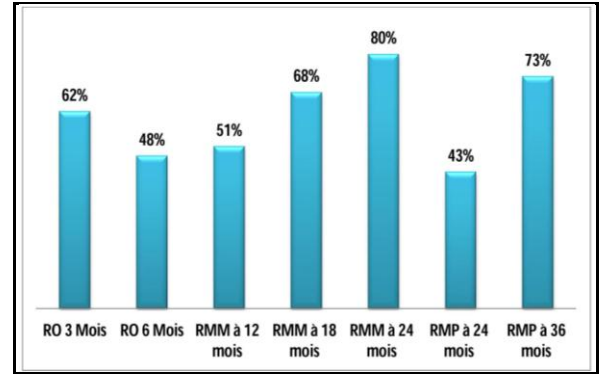


Figure 2: Fréquences de la RO, RMM et RMP obtenues au cours des 36 premiers mois de traitement

RO : réponse optimale ; RMM : réponse moléculaire majeure ; RMP : réponse moléculaire profonde.

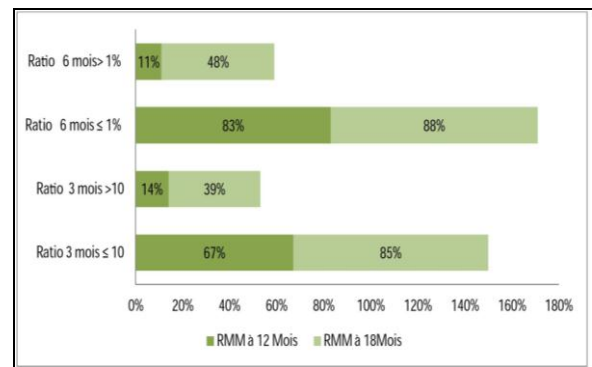


Figure 3: RMM stratifiée selon le niveau d'expression du transcrite BCRABL1 à 3 et à 6 mois

La probabilité de parvenir à une RMP à 3 ans était très significativement plus élevée chez les patients ayant obtenu une RMM à 12 mois: ICRMP (62 vs 7%, $p < 10^{-3}$) (Figure 4).

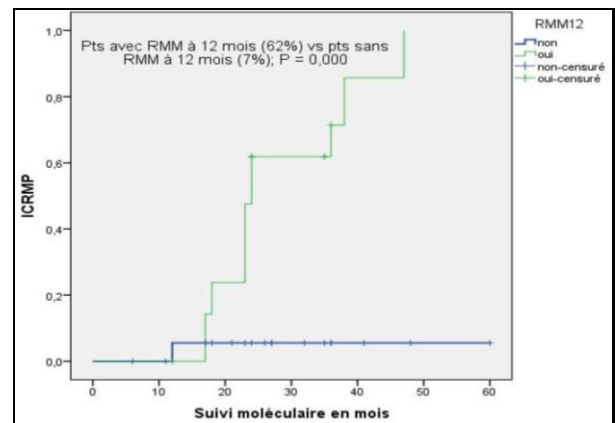


Figure 4: ICRMP stratifiée selon la RMM à 12 mois
Pts : patients ; ICRMP : Incidence cumulé de la réponse moléculaire profonde

Les patients de sexe féminin et ceux avec transcrit b3a2 avaient une fréquence plus élevée de RMM : 79 vs 56% ($p=0,05$) et 71 vs 62% ($p=0,49$), respectivement. La stratification de la RMM en fonction des scores pronostic a montré également que les patients de risque faible ont significativement de meilleurs taux de RMM comparativement à ceux avec un score élevé : 76 vs 47 % ($p=0,024$) et 75 vs 33% ($p=0,008$), respectivement pour les scores Sokal et EUTOS.

Le score pronostic de Sokal ($p=0,009$, Odds ratio : 9,8, IC 95% [1,7-56,5]) et le niveau d'expression du transcrit BCR-ABL à 6 mois ($p=0,004$; Odds ratio:8,1; IC95% [1,4-45,6]) étaient significativement les paramètres les plus associés à la RMM.

Discussion

Dans la présente étude, le suivi moléculaire a été réalisé en quantifiant les transcrits de fusion BCR-ABL1 par la technique de RT-qPCR. Cette méthode est à ce jour considérée comme la méthode de référence pour la quantification des transcrits. Elle permet de quantifier les ARN messagers BCR-ABL1 avec une spécificité et une sensibilité remarquables (une cellule leucémique sur un million de cellules analysées) [4].

Les dosages en série nous ont permis d'apprécier la cinétique des transcrits avec des réductions très significatives du niveau d'expression dans le temps ($p<0,0001$) et une médiane de 0.1% obtenue au cours de la première année de traitement définissant ainsi la RMM. Cette réduction rapide et considérable de la charge leucémique est le reflet direct de l'effet anti-tumoral de l'IM. Ceci rejoint les résultats de l'essai thérapeutique German CML IV, où on a retrouvé également que la médiane est atteinte à 12 mois [17].

Selon les directives internationales, la RMM est utilisée pour évaluer le pronostic et reste un facteur important pour la prédiction du résultat à long terme [2, 6,7]. Dans notre étude, le critère de jugement pris en compte était l'obtention d'une RMM à 12 ou 18 mois de traitement puis plus tard d'une RMP. La proportion de patient ayant obtenu une RMM durant les 24 mois de traitement par IM a augmenté au cours du temps. Nos résultats sont particulièrement similaires à ceux retrouvés par Branford et ses collaborateurs avec 50, 64 et 72% de RMM respectivement à 12, 18 et 24 mois [18], et ceux retrouvés dans une étude portant sur 95 nouveaux patients Egyptiens avec 50 et 65 % de RMM obtenue respectivement à 12 mois et 18 mois et également un temps médian de 12 mois [19].

L'une des principales constatations de notre étude est que les femmes ont un taux de RMM significativement plus élevé que chez les hommes. Chez les femmes, le transcrit b3a2 était majoritaire. Ce dernier était lié de façon non significative à la RMM, ce qui pourrait expliquer en partie cette supériorité des femmes par rapport aux hommes. Branford et al [09], ont rapporté sur une série de 423 patients traités par IM que le sexe féminin était l'un des facteurs associés à la RMM. Dans une étude rétrospective ayant concerné 166 patients traités par IM, Lin et al [20], ont également retrouvé que les femmes avaient un taux de RMM significativement plus élevé que les hommes (81,6 vs 63,3%; $p=0,006$). Il semble que cette différence pourrait être liée à un niveau d'adhérence faible au traitement par les hommes comparée à celui des femmes ainsi qu'à une mauvaise tolérance au traitement [21,22]. Des facteurs génétiques ou pharmacocinétiques ont également été incriminés. Une corrélation entre la concentration plasmatique et la réponse à l'IM a également été décrite. En effet, des études ont montré que les femmes qui étaient en réponse moléculaire avaient des concentrations jusqu'à 30% plus élevées d'IM que chez les hommes [23,24]. La différence de poids corporel pourrait expliquer cette différence de concentration.

En effet, un poids inférieur à celui des hommes, signifie que les femmes peuvent recevoir en moyenne une dose de médicament en milligramme par kilogramme supérieure par rapport aux hommes, ce qui peut rendre compte d'une plus forte concentration plasmatique [9].

L'hypothèse selon laquelle une réponse immunitaire transitoire pendant les premiers stades du traitement par IM est à prendre en considération et pourrait être un facteur majeur dans la dynamique et la diminution de la charge tumorale de la LMC [25,26].

Dans notre étude, le score Sokal était significativement associé à la RMM. Ce qui rejoint l'étude IRIS qui a montré que les taux de RMM à 12 mois étaient de 50%, 30% et 19% respectivement pour les patients à score faible, moyen et à haut risque ($p=0,007$) [27]. Des résultats similaires ont été retrouvés dans une étude incluant un grand nombre de patients ($n=559$) [28]. Concernant le score EUTOS, sa valeur pronostic a été testée et validée dans au moins huit études multicentriques en Europe, Amérique et en Asie. Notre étude a montré que deux tiers des patients à risque faible ont pu obtenir une RMM. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par d'autres études [29-31]. L'ELN ne formule aucune recommandation sur le système de score pronostic à adopter mais recommande par contre pour le score Sokal, de diviser les patients en population à faible risque (comprenant le risque intermédiaire) et à haut risque [6].

La signification pronostic de la réponse moléculaire précoce après l'initiation de l'IM ou d'un ITK2 en première ligne, a fait l'objet de plusieurs publications et qui ont toutes, signalé l'importance d'une réponse précoce prédictive de résultats favorables à long terme [8, 11, 18,32-38].

L'identification précoce d'un sous-groupe de mauvais répondeurs constitue un objectif essentiel pour prévenir la progression de la maladie chez ces patients. Notre étude a confirmé la valeur pronostic des niveaux d'expression des transcrits BCR-ABL1 à 3 et 6 mois sur la RMM à 12 et 18 mois. En effet, la RMM était significativement plus élevée respectivement chez les patients qui avaient une réponse optimale à 3 ou à 6 mois ($p < 0.0001$). Dans une étude ayant concerné des patients atteints de LMC-PC traités par IM 400 mg / jour, Branford et al, ont rapporté des taux de RMM significativement plus élevés chez les patients ayant des réponses précoces (88 vs 41%; $p < 0.0001$) [37]. L'analyse à long terme des données des essais cliniques randomisés a montré des résultats similaires [11,34].

L'impact prédictif de la réponse optimale précoce pour différents ITK a donc bien été démontré. Cependant, la question de savoir lequel des deux repères est le plus prédictif et le plus informatif pour décider d'un changement thérapeutique reste à ce jour controversée. Selon les recommandations du NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*) [39], un niveau d'expression $> 10\%$ représente un échec et justifie un changement de thérapie, contrairement à l'approche plus prudente de l'ELN, où la cinétique de décroissance est plus importante que l'évaluation à un seul point et qui ne recommande un changement de thérapie qu'au 6ème mois [6].

Dans notre étude, l'analyse multi-variée a montré que la réponse moléculaire à 6 mois était plus informative et significativement prédictive. Notre étude a également montré qu'une réponse moléculaire $< 10\%$ à six mois permet de rattraper une moins bonne réponse à trois mois. Nos résultats sont concordants avec ceux trouvés dans plusieurs études [35, 37, 38].

Nous avons trouvé une association forte entre l'ICRMP et le niveau d'expression des transcrits BCR-ABL1 à 12 mois, ce qui confirme que la cinétique de la RMM est primordiale pour la RMP. Nos résultats sont en corrélation avec d'autres études [19, 41].

Concernant le type de transcrit, de nombreuses études contrastées ont été rapportées dans la littérature, corrélant le type de transcrit majeur avec le phénotype de la maladie et la réponse au traitement. Dans notre étude, nous avons constaté que les patients exprimant le type b3a2 répondent plus favorablement et plus rapidement au traitement que ceux exprimant le type b2a2. Nos résultats sont similaires à ceux

rapportés par d'autres études [20, 28, 42-44]. Les travaux de Lucas et al, ont suggéré que cette différence est due à une activité tyrosine kinase plus élevée chez les patients exprimant le type b2a2 [45].

Conclusion

La réponse moléculaire majeure reste un facteur important pour la prédiction des résultats à long terme. Les patients à score Sokal faible et ceux ayant une réponse optimale à 6 mois pourraient être associés à une meilleure réponse moléculaire et un pronostic favorable. Un recul plus long est nécessaire pour valider nos résultats et mieux juger l'impact de ces facteurs sur la réponse moléculaire profonde et la survie globale.

Conflits d'intérêt

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt

Références

1. Kantarjian H, O'Brien S, et al. Improved survival in chronic myeloid leukemia since the introduction of imatinib therapy: a single-institution historical experience. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2012;119(9):1981-7.
2. Hochhaus A, Baccarani M, et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2020:1-19.
3. Hochhaus A, Larson RA, et al. Long-term outcomes of imatinib treatment for chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2017;376(10):917-27.
4. Hughes T, Deininger M, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. *Blood*. 2006;108(1):28-37.
5. Cross N, White H, et al. Standardized definitions of molecular response in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2012;26(10):2172.
6. Baccarani M, Deininger MW, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2013;122(6):872-84.
7. Radich JP, Deininger M, et al. Chronic myeloid leukemia, version 1.2019, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *Journal of the National*

- Comprehensive Cancer Network. 2018;16(9):1108-35.
8. Marin D, Ibrahim AR, et al. Assessment of BCR-ABL1 transcript levels at 3 months is the only requirement for predicting outcome for patients with chronic myeloid leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors. *Journal of Clinical Oncology*. 2012;30(3):232.
9. Branford S, Yeung DT, et al. Early molecular response and female sex strongly predict stable undetectable BCR-ABL1, the criteria for imatinib discontinuation in patients with CML. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2013;121(19):3818-24.
10. Jain P, Kantarjian H, et al. Early responses predict better outcomes in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia: results with four tyrosine kinase inhibitor modalities. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2013;121(24):4867-74.
11. Hughes TP, Saglio G, et al. Early molecular response predicts outcomes in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase treated with frontline nilotinib or imatinib. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2014;123(9):1353-60.
12. Hehlmann R, Müller MC, et al. Deep molecular response is reached by the majority of patients treated with imatinib, predicts survival, and is achieved more quickly by optimized high-dose imatinib: results from the randomized CML-study IV. *J Clin Oncol*. 2014;32(5):415-23.
13. Hochhaus A, Saglio G, et al. Long-term benefits and risks of frontline nilotinib vs imatinib for chronic myeloid leukemia in chronic phase: 5-year update of the randomized ENESTnd trial. *Leukemia*. 2016;30(5):1044-54.
14. Gabert J, Beillard E, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia—a Europe Against Cancer program. *Leukemia*. 2003;17(12):2318-57.
15. Sokal JE, Cox EB, et al. Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia. *Blood*. 1984;63(4):789-99.
25. Wodarz D. Heterogeneity in chronic myeloid leukaemia dynamics during imatinib treatment: role of immune responses. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2010;277(1689):1875-80.
26. Chen CI, Maecker HT, et al. Development and dynamics of robust T-cell responses to CML under imatinib treatment. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2008;111(11):5342-9.
16. Hasford J, Baccarani M, et al. Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression-free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score. *Blood*. 2011;118(3):686-92.
17. Hehlmann R, Kalmanti L, et al. Efficacy and safety of imatinib in CML over 10 years. *American Society of Clinical Oncology*; 2014.
18. Branford S, Rudzki Z, et al. Imatinib produces significantly superior molecular responses compared to interferon alfa plus cytarabine in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase. *Leukemia*. 2003;17(12):2401.
19. Mahmoud HK, El Nahas Y, et al. Kinetics of BCR-ABL transcripts in Imatinib Mesylate treated Chronic Phase CML (CPCML), A predictor of response and progression free survival. *International journal of biomedical science: IJBS*. 2009;5(3):223.
20. Lin HX, Sjaarda J, et al. Gender and BCR-ABL transcript type are correlated with molecular response to imatinib treatment in patients with chronic myeloid leukemia. *European journal of haematology*. 2016;96(4):360-6.
21. Noens L, Van Lierde M-A, et al. Prevalence, determinants, and outcomes of nonadherence to imatinib therapy in patients with chronic myeloid leukemia: the ADAGIO study. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2009;113(22):5401-11.
22. Marin D, Bazeos A, et al. Adherence is the critical factor for achieving molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia who achieve complete cytogenetic responses on imatinib. *Journal of clinical oncology*. 2010;28(14):2381.
23. Larson RA, Druker BJ, et al. Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: a subanalysis of the IRIS study. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2008;111(8):4022-8.
24. Guilhot F, Hughes TP, et al. Plasma exposure of imatinib and its correlation with clinical response in the Tyrosine Kinase Inhibitor Optimization and Selectivity Trial. *Haematologica*. 2012;97(5):731-8.
27. Druker BJ, Guilhot F, et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2006;355(23):2408-17.
28. Castagnetti F, Gugliotta G, et al. The BCR-ABL1 transcript type influences response and outcome in P hiladelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia patients treated frontline with imatinib. *American journal of hematology*. 2017;92(8):797-805.

29. Breccia M, Finsinger P, et al. The EUTOS score identifies chronic myeloid leukaemia patients with poor prognosis treated with imatinib first or second line. *Leukemia research*. 2012;36(9):e209-e10.
30. Tiribelli M, Bonifacio M, et al. EUTOS score identifies cases with poor outcome in patients with early chronic phase chronic myeloid leukemia, though not predictive for optimal response to imatinib. *Blood*. 2012;120(21):3778-.
31. Hoffmann V, Baccarani M, et al. The EUTOS prognostic score: review and validation in 1288 patients with CML treated frontline with imatinib. *Leukemia*. 2013;27(10):2016-22.
32. Castagnetti F, Gugliotta G, et al. Long-term outcome of chronic myeloid leukemia patients treated frontline with imatinib. *Leukemia*. 2015;29(9):1823-31.
33. Hanfstein B, Shlyakhto V, et al. Velocity of early BCR-ABL transcript elimination as an optimized predictor of outcome in chronic myeloid leukemia (CML) patients in chronic phase on treatment with imatinib. *Leukemia*. 2014;28(10):1988-92.
34. Brummendorf TH, Kantarjian HM, et al. Assessment of early molecular response as a predictor of long-term clinical outcomes in the phase 3 BELA study. *American Society of Hematology*; 2012.
35. Kim D, Hamad N, et al. BCR/ABL level at 6 months identifies good risk CML subgroup after failing early molecular response at 3 months following imatinib therapy for CML in chronic phase. *American journal of hematology*. 2014;89(6):626-32.
36. Jabbour E, Kantarjian HM, et al. Early response with dasatinib or imatinib in chronic myeloid leukemia: 3-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2014;123(4):494-500.
37. Branford S, Yeung DT, et al. Prognosis for patients with CML and > 10% BCR-ABL1 after 3 months of imatinib depends on the rate of BCR-ABL1 decline. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2014;124(4):511-8.
38. Fava C, Rege-Cambrin G, et al. Early BCR-ABL1 Reduction Is Predictive of Better Event-free Survival in Patients With Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia Treated With Any Tyrosine Kinase Inhibitor. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*. 2016;16:S96-S100.
39. O'Brien S, Radich JP, et al. Chronic myelogenous leukemia, version 1.2014. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2013;11(11):1327-40.
40. Branford S, Seymour JF, et al. BCR-ABL messenger RNA levels continue to decline in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib for more than 5 years and approximately half of all first-line treated patients have stable undetectable BCR-ABL using strict sensitivity criteria. *Clinical Cancer Research*. 2007;13(23):7080-5.
41. Shinohara Y, Takahashi N, et al. A multicenter clinical study evaluating the confirmed complete molecular response rate in imatinib-treated patients with chronic phase chronic myeloid leukemia by using the international scale of real-time quantitative polymerase chain reaction. *Haematologica*. 2013;98(9):1407-13.
42. Hanfstein B, Lauseker M, et al. Distinct characteristics of e13a2 versus e14a2 BCR-ABL1 driven chronic myeloid leukemia under first-line therapy with imatinib. *haematologica*. 2014;99(9):1441-7.
43. Jain P, Kantarjian H, et al. Impact of BCR-ABL transcript type on outcome in patients with chronic-phase CML treated with tyrosine kinase inhibitors. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2016;127(10):1269-75.
44. Nachi M, Kihel I, et al. Impact of the major BCR-ABL1 transcript type on clinical and biological parameters and molecular response in patients with chronic myeloid leukemia. *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy*, 2020.
45. Lucas CM, Harris RJ, et al. Chronic myeloid leukemia patients with the e13a2 BCR-ABL fusion transcript have inferior responses to imatinib compared to patients with the e14a2 transcript. *haematologica*. 2009;94(10):1362-7.