

SIMPOSIO 19: CUESTIONES POR RESOLVER EN LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA, DESDE EL LABORATORIO A LA CLÍNICA

COORDINADORES Valentín García Gutiérrez Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid
Guillermo Ortí Pascual Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona

¿DEBEN LOS FACTORES BIOLÓGICOS DETERMINAR EL TRATAMIENTO?

Blanca Xicoy Cirici Servicio de Hematología Clínica. Institut Català d'Oncologia-Hospital Germans Trias i Pujol. Josep Carreras Leukemia Research Institute. Universitat Autònoma de Barcelona.

INTRODUCCIÓN

La leucemia mieloide crónica (LMC) se caracteriza por la presencia de una alteración única, el cromosoma Filadelfia (Ph), que surge de una translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22. De esta translocación t(9;22)(q34.1;q11.2) deriva el reordenamiento de los genes BCRABL1, que produce la activación constitutiva de la tirosina cinasa ABL1. Tras el descubrimiento de BCR-ABL1, se desarrollaron los inhibidores de tirosina cinasa (ITK), primero imatinib y posteriormente los inhibidores de segunda (dasatinib, nilotinib, bosutinib) y tercera generación (ponatinib). En la LMC el éxito del tratamiento depende de los factores de riesgo individuales del paciente, de la eficacia de los ITK y de su perfil de toxicidad. Gracias a los ITK, el pronóstico de la mayoría de los pacientes es hoy en día excelente, con una esperanza de vida cercana a la de la población general. En los últimos años se ha explorado la viabilidad de la interrupción del tratamiento en pacientes que consiguen y mantienen una respuesta molecular profunda con los ITK. Muchos de ellos pueden permanecer en la llamada remisión libre de tratamiento (RLT). Sin embargo, el éxito de esta estrategia es limitado, pues alrededor del 40-60% de los pacientes recaen después de haber suspendido el tratamiento, probablemente como resultado de la persistencia de células madre de la LMC (LSC), que permanecen viables porque son resistentes a los ITK (Figura 1). La falta de erradicación de la LMC a pesar del control de la enfermedad con el tratamiento parece ser debida, al menos en parte, a algún nivel de disfunción en la hematopoyesis. Otro indicador es la aparición de anomalías citogenéticas en un clon independiente al Ph positivo en aproximadamente el 15% de los pacientes en respuesta citogenética mayor o completa durante el tratamiento. Se desconoce si la presencia de estos clones indica la existencia de una hematopoyesis clonal anormal preexistente que se desenmascara como resultado de la inhibición del clon Ph positivo por el ITK o es inducida por el propio tratamiento. Algunos pacientes muestran resistencia primaria (intrínseca) o secundaria (adquirida) al ITK. La resistencia al tratamiento se asocia con un mayor riesgo de progresión y, por lo tanto, con un peor pronóstico. El seguimiento adecuado de los pacientes implica la evaluación en el tiempo de la respuesta molecular en sangre periférica mediante la técnica de PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) de forma estandarizada, expresando los resultados en escala internacional, como ratio $(BCR-ABL1/ABL1) \times 100$ (IS). Las ventajas de la qPCR incluyen una alta sensibilidad, relativa facilidad técnica, velocidad de ejecución y la no necesidad de realización de aspirados de médula ósea. En general, BCR-ABL1 es crucial en el diagnóstico y el seguimiento del tratamiento de la LMC.

Pero, a pesar de parecer una enfermedad homogénea en comparación con otras neoplasias mieloides, la LMC puede presentar mucha heterogeneidad en la práctica clínica en términos de respuesta, lo que sugiere que en ella juegan un papel importante mecanismos de resistencia, tanto BCR-ABL1 dependientes como BCR-ABL1 independientes (1,2).

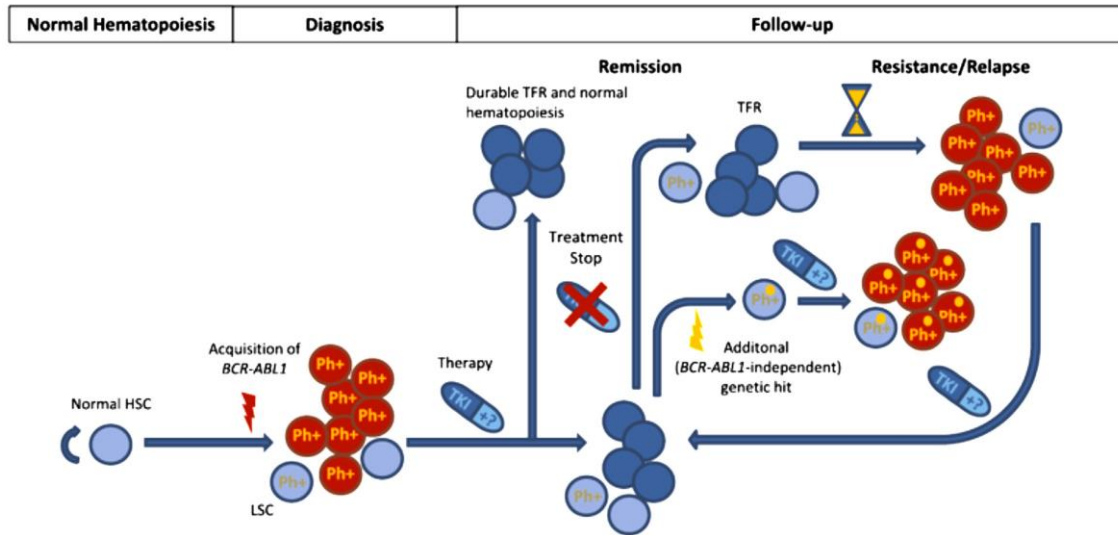


Figura 1. Dinámica de la leucemia mieloide crónica (LMC) y del tratamiento. El responsable de la aparición de la LMC es el cromosoma Filadelfia (Ph) y el gen de fusión BCR-ABL1, transformando una célula madre hematopoyética en una célula madre leucémica (LSC). El inhibidor de tirosina cinasa (ITK) se dirige a la cinasa BCR-ABL1 constitutivamente activa, erradicando las células Ph positivas, lo que conduce a respuestas moleculares profundas en muchos pacientes, medidas por PCR cuantitativa en tiempo real. Sin embargo, en esta situación persisten LSC Ph positivas en la médula ósea y pueden provocar resistencia a los ITK y progresión de la enfermedad. Como las LSC no dependen de la actividad de BCR-ABL1, es posible que otras vías de señalización independientes de BCR-ABL1, como la vía JAK/ STAT, promuevan la supervivencia de esta población celular. La activación de tales vías alternativas también puede conducir a una resistencia al ITK independiente de BCR-ABL1 y, por lo tanto, a una pérdida de respuesta. El enfoque del tratamiento actual tiene el objetivo de combinar el tratamiento con ITK con otros fármacos con diferente mecanismo de acción para atacar las LSC y erradicarlas, de manera que, tras la interrupción del ITK, se alcance una remisión libre de tratamiento (RLT) a largo plazo (1). HSC: célula madre hematopoyética.

RESISTENCIA AL TRATAMIENTO CON INHIBIDORES DE TIROSINA CINASA Y MECANISMOS DE PERSISTENCIA DE LA CÉLULA MADRE LEUCÉMICA

En la práctica clínica, la resistencia a los ITK se ha agrupado en 2 categorías: resistencia primaria (ausencia de respuesta al tratamiento) y resistencia adquirida (pérdida de la respuesta previamente obtenida y posible progresión de la enfermedad). En esta última, las células han desarrollado un mecanismo que les permite evadir la inhibición de la oncoproteína BCR-ABL1 por parte del ITK. Este tipo de resistencia es también conocida como resistencia BCR-ABL1-dependiente y uno de los mecanismos más frecuentes y estudiados son las mutaciones puntuales en el dominio cinasa de ABL1 o la sobreexpresión del BCR-ABL1. Por otro lado, la resistencia primaria se suele relacionar con mecanismos de resistencia BCRABL1-independientes. No obstante, el desarrollo de resistencias a los ITK suele ser un fenómeno multifactorial y puede estar mediado por diferentes mecanismos, no exclusivos entre ellos.

MECANISMOS DE RESISTENCIA BCR-ABL1-DEPENDIENTES Mutaciones puntuales en el dominio cinasa de ABL1

La aparición de mutaciones en el dominio cinasa de ABL1 es la causa más conocida de resistencia al tratamiento y suele darse en un tercio de los pacientes resistentes en fase crónica y en dos tercios de los pacientes resistentes en fases avanzadas. Este tipo de mutaciones tienen como resultado una disminución de la afinidad de unión de imatinib en el sitio ATP de la tirosina cinasa. Ejemplos de mutaciones que tienen lugar justo en el punto de unión entre el ITK y la cinasa ABL1 son la mutación T315I y la F317L del gen ABL1. Otras mutaciones en el gen ABL1 que afectan a la conformación de la cinasa son las mutaciones en el loop P (M244V, Y253F/H, E255K/V, etc.), en la unidad catalítica (M351T o F359V/C/I) o las mutaciones en el dominio activador (loop A) como la H396R/P. La identificación de estas mutaciones es crítica para la selección correcta del ITK; la mutación T315I es resistente a todos los ITK excepto ponatinib, mientras que la mutación F317L es resistente a imatinib y dasatinib, pero responde a nilotinib, y las mutaciones E255K/V y F359V/C/I son resistentes a imatinib y nilotinib, pero responden a dasatinib. Estas mutaciones pueden ser detectadas mediante secuenciación Sanger, con un 20% de sensibilidad, o por secuenciación de nueva generación, con alrededor del 2% de sensibilidad.

Sobreexpresión de BCR-ABL1

Se produce por la amplificación del oncogén BCR-ABL1, por la duplicación del cromosoma Ph o bien por una regulación diferencial de la transcripción de BCR-ABL1. La relación entre este fenómeno y la resistencia al tratamiento no es tan clara como la observada con las mutaciones en el dominio cinasa de ABL1. La sobreexpresión del oncogén se suele dar sobre todo en pacientes que han progresado a fases avanzadas, a veces precediendo a la adquisición de mutaciones.

MECANISMOS BCR-ABL1-INDEPENDIENTES Alteración en la farmacocinética y biodisponibilidad de los inhibidores de tirosina cinasa

Varios estudios han demostrado que la expresión del transportador hOCT1 (human organic cation transporter 1) regula la entrada de los ITK al interior de la célula, sobre todo de imatinib. Por lo tanto, cuando la expresión de dicho transportador se reduce, el ITK entra en la célula en menor cantidad y la respuesta al tratamiento es inferior. Algo similar ocurre con el gen que codifica para la glucoproteína-P-1 (conocida como multidrug resistance protein 1 –MDR1– o también como ATP-binding cassette sub-family B member 1 –ABCB1–); esta proteína es una de las encargadas de efluir el fármaco de dentro de la célula al exterior y, cuando esta se sobreexpresa, los niveles intracelulares de los inhibidores se reducen, haciendo que las células se vuelvan menos sensibles a los ITK. Es importante destacar también el papel de los citocromos CYP3A4 y CYP3A5, ya que representan el primer mecanismo de metabolización de todos los ITK a través del hígado. Existen fármacos que pueden aumentar la actividad de CYP3A4 (como la dexametasona, la rifampicina, el fenobarbital, entre otros) y, si estos se usan de manera concomitante con el ITK, pueden provocar que los niveles plasmáticos del ITK no sean los adecuados para que el tratamiento sea efectivo. Muchas de las variabilidades interindividuales observadas en la respuesta a los ITK son debidas a polimorfismos en los genes que codifican estas enzimas y proteínas relacionadas con el metabolismo y el transporte de fármacos (ADME: absorción, distribución, metabolismo y eliminación), es decir, involucradas en la farmacocinética y farmacodinamia. Existen evidencias del papel que ejercen ciertos polimorfismos en genes ADME en la respuesta a los ITK. Por ejemplo, los polimorfismos rs628031 y rs683369 del gen SLC22A1 se han correlacionado con la obtención de la respuesta molecular a imatinib. Además, un polimorfismo en el gen CYP3A5, el rs776746, se ha asociado

a la obtención de la respuesta citogenética completa. En cambio, el polimorfismo rs35191146 en el gen SLC11A1 se ha asociado a fracaso al tratamiento con imatinib. Hay también diversos estudios en los que se muestra una relación entre ciertos polimorfismos en el gen que codifica para el transportador ABCB1 y la respuesta a imatinib. Sobreexpresión en la vía de señalización de la familia de cinasas SRC. Las cinasas SRC forman una familia de 9 tirosinas cinasas intracelulares (SRC, FYN, YES, BLK, YRK, FGR, HCK, LCK y LYN) que tienen un papel clave en el crecimiento, la diferenciación y la supervivencia de las células. Múltiples dominios de la oncoproteína BCR-ABL1 interaccionan con HCK y LYN, dando lugar a su activación, que es totalmente independiente de la función del dominio cinasa de ABL1. La sobreexpresión de la familia de cinasas SRC ha sido relacionada con la resistencia a imatinib. Dasatinib y bosutinib son inhibidores duales tanto de ABL1 como de SRC, por lo que presentarían una ventaja frente a este mecanismo de resistencia (3).

Alteraciones citogenéticas adicionales (ACA) En la gran mayoría de los casos de LMC en fase crónica se detecta una única alteración citogenética, el cromosoma Ph, mientras que en fases avanzadas de la enfermedad se detectan con frecuencia ACA. Las ACA de alto riesgo incluyen la trisomía 8, un cromosoma Ph adicional, i(17q), +19, -7/7q-, 11q23 o alteraciones en 3q26.2 y cariotipos complejos (las 3 primeras podrían tener menor relevancia clínica). Las ACA de alto riesgo predicen una peor respuesta a los ITK y un mayor riesgo de progresión. Según las recomendaciones de la European Leukemia Net, se considera que la presencia de ACA al diagnóstico es un signo de alarma y, en esta situación, se recomienda considerar al paciente de alto riesgo. Por otro lado, la aparición de ACA durante el tratamiento es un criterio de fracaso y motivo de cambio de ITK (4,5). También se postula que la actividad de BCR-ABL1 conduce a inestabilidad genómica, alteración de mecanismos de reparación del ADN y otros eventos moleculares y celulares, que pueden favorecer la progresión de la enfermedad. Las alteraciones genéticas adicionales asociadas con esta etapa tardía de la enfermedad pueden activar vías de proliferación y supervivencia celular independientes de BCR-ABL1 y provocar resistencia al tratamiento (6).

Mutaciones somáticas en genes previamente relacionados con cáncer La secuenciación por Sanger ha sido la técnica de elección para el estudio de mutaciones BCR-ABL1. La secuenciación de nueva generación ha permitido obtener información adicional de otras alteraciones moleculares presentes en la LMC porque el estudio incluye mutaciones asociadas a neoplasias mieloides como las involucradas en la regulación epigenética, la señalización celular, la regulación transcripcional y el empalme del ARN. Así, algunos estudios han evidenciado la presencia de mutaciones somáticas asociadas a neoplasias mieloides (ASXL1, RUNX1, DNMT3A, TET2, entre otras), con una frecuencia variable (25-80%), tanto en fase crónica como en fase avanzada. Pueden detectarse mutaciones en el 56% de los pacientes que evolucionan a fase avanzada, pero incluso en el 15% de los respondedores óptimos. Genes muy frecuentemente mutados son ASXL1, IKZF1 y RUNX1. Es de destacar que el 90% de los pacientes con mutaciones en ABL1 pueden tener mutaciones independientes de BCR-ABL1, la mayoría de las cuales pueden adquirirse antes que las mutaciones ABL1 (7). También, las mutaciones en ASXL1 y DNMT3A se han asociado a progresión de la enfermedad en pacientes sin mutaciones en el dominio cinasa en ABL1 (8). Y la presencia de mutaciones en genes asociados a neoplasias mieloides se han relacionado con una menor tasa de respuestas moleculares mayores y peor supervivencia libre de progresión, también en los pacientes clasificados en los grupos de riesgo bajo e intermedio del índice pronóstico EUTOS long-term survival (ELTS)(9). Estudios de muestras seriadas han identificado estas mutaciones en el clon Ph negativo desenmascaradas durante el tratamiento con ITK por eliminación del clon Ph positivo, pero estas pueden estar también presentes en el clon Ph positivo del mismo paciente al diagnóstico, pudiendo preceder a la adquisición de BCR-ABL1 (10). La adquisición de estas mutaciones puede asociarse a fracaso del tratamiento (a mayor número de mutaciones, mayor resistencia) y progresión de la enfermedad, pero algunas pueden ser preleucémicas y estar presentes como parte de un estado no maligno quizás asociado a la edad. Así, en la llamada hematopoyesis clonal de potencial indeterminado o CHIP, se ha demostrado que la función normal de las células madre hematopoyéticas

disminuye a medida que el sistema hematopoyético envejece y que se produce un sesgo hacia el compartimento mielóide, de manera que aparecen mutaciones en genes asociados a hemopatías mieloides como TET2, DNMT3A y ASXL1. La evidencia disponible sugiere que las mutaciones en genes asociados a neoplasias mieloides, como los implicados en la regulación epigenética, en particular ASXL1, desempeñan un papel importante en la patogénesis de la LMC y podrían influir en la respuesta al tratamiento, especialmente imatinib, y en la progresión de la enfermedad (11). Este hecho podría condicionar la elección del ITK o apoyar el uso de estrategias de combinación o incluso el trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico.

VÍAS DE SEÑALIZACIÓN IMPLICADAS EN LA PERSISTENCIA DE LA CÉLULA MADRE LEUCÉMICA

La activación de diferentes vías de señalización que son independientes de BCR-ABL1 juega un papel en la resistencia a los ITK y en la persistencia de las LSC tanto en fase de enfermedad activa como en la de enfermedad residual. Las vías de señalización que parecen jugar un papel más importante son la vía RAF/MEK/ERK dependiente de RAS, la vía JAK/STAT y la vía de señalización PI3K/AKT. Otros mecanismos de señalización celular independientes de BCR-ABL1 son las vías Wnt-beta-catenina y N-cadherina, LYN y Hedgehog(1,2). La peor respuesta al tratamiento de la LMC que presenta la isoforma de la proteína p190 BCR-ABL1 (transcrito e1a2), presente en alrededor del 1 al 2% de los casos de LMC y más típica de la leucemia linfoblástica aguda, podría deberse a la hiperactivación de vías de señal como la JAK-STAT y a mutaciones en modificadores epigenéticos.

DIANAS MOLECULARES MÁS ALLÁ DE LOS INHIBIDORES DE TIROSINA CINASA Y TRATAMIENTOS DE COMBINACIÓN

Para la posible eliminación de la LSC de la LMC resultan atractivos los tratamientos de combinación dirigidos a vías intrínsecas de las células leucémicas como el metabolismo, la autofagia o la epigenética, o a vías de señalización (Hedgehog, PI3K/AKT/mTOR, JAK-STAT...), así como el sistema inmune (SI) o el microambiente medular. La vía RAF/MEK/ERK dependiente de RAS puede ser inhibida con la combinación de imatinib o nilotinib y un inhibidor de MEK, la vía JAK/STAT puede ser abordada con la combinación de un ITK y ruxolitinib, y la vía de señalización PI3K/AKT puede ser inhibida con la combinación de un ITK con un inhibidor de PI3K. La combinación de imatinib y pioglitazona (inhibidor de Hedgehog) no parece mejorar la tasa de RLT tras la discontinuación del ITK (1,2,12). Por otro lado, el tratamiento con modificadores epigenéticos puede ser de interés en fases avanzadas de la enfermedad y en pacientes de edad avanzada debido a la existencia de procesos epigenéticos aberrantes asociados al envejecimiento. En este sentido, se investiga con inhibidores de SIRT1, inhibidores de histonacetilasa e inhibidores de EZH2(13). Hoy en día, los mayores esfuerzos se centran en inhibir las vías que permiten la supervivencia de LSC durante el tratamiento con ITK para aumentar la probabilidad de mantener la RLT tras la interrupción del tratamiento. El enfoque de tratamiento combinado dirigido a BCR-ABL1 y otras vías es prometedor, pero hasta ahora los resultados observados en los ensayos clínicos han sido modestos y los ITK en monoterapia siguen siendo el tratamiento de elección. Ello puede ser debido a toxicidades no esperadas o a la multitud de mecanismos independientes de BCR-ABL1 que permiten que las células escapen de la inhibición farmacológica, así como a limitaciones de los modelos murinos con respecto al SI, la farmacocinética y la farmacodinamia(1,2) (Figura 2).

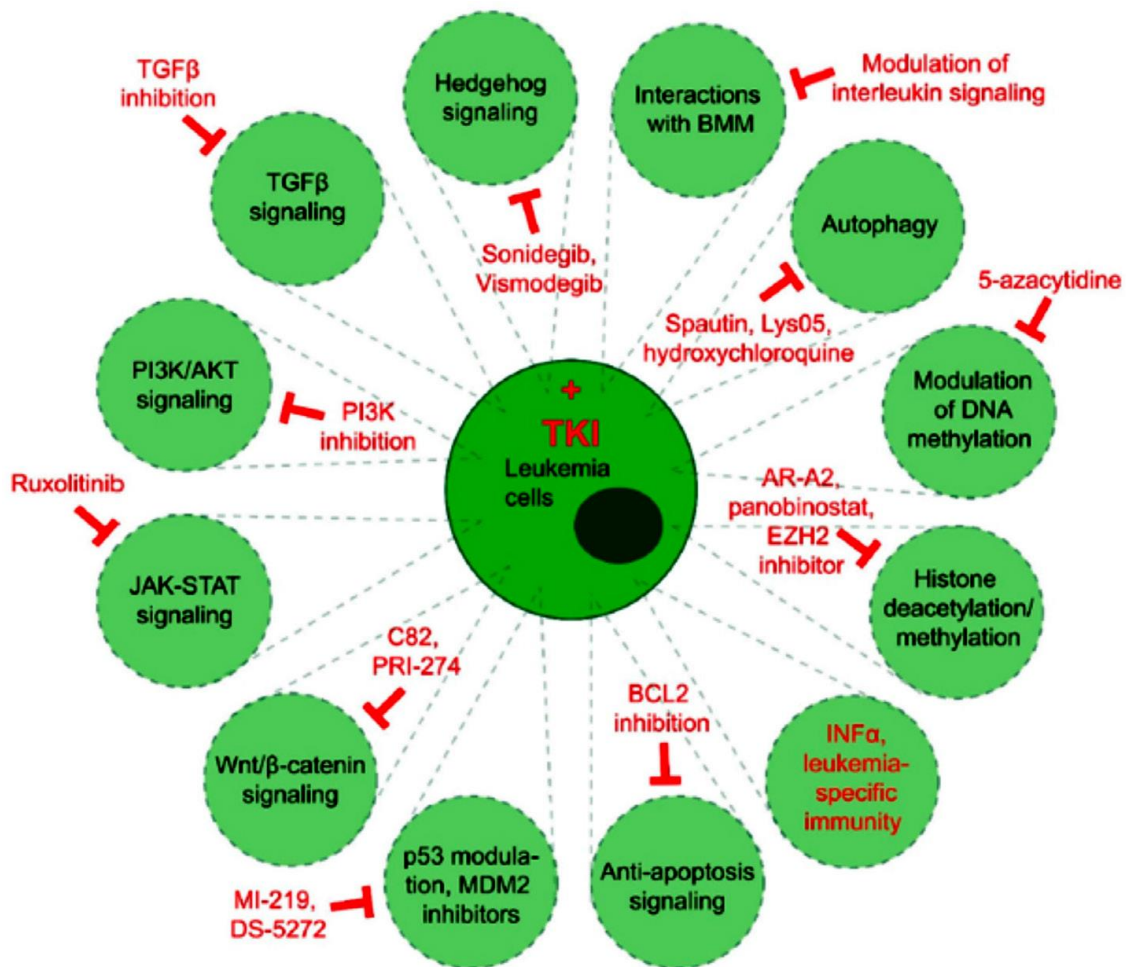


Figura 2. Estrategias dirigidas contra las células madre de la leucemia mieloide crónica (LMC) (en rojo) con inhibidores de la tirosina cinasa (ITK) y otros agentes en tratamientos combinados (2). BMM: microambiente de la médula ósea.

EL PAPEL DEL SISTEMA INMUNE

Es por todos conocido que la LMC es una enfermedad con una base inmunológica importante. Al diagnóstico, existe una supresión del SI mediada en parte por las LSC. La liberación de citocinas por las células tumorales favorece la expansión del componente supresor del SI como las myeloid-derived suppressor-cells (MDSC) y células T reguladoras (Treg), lo que disminuye la actividad antitumoral. Además, la sobreexpresión de PD-L1 en la superficie de las células de la LMC y su interacción con el receptor inhibitor PD-1 protege a la célula maligna del ataque del SI. El papel de las células NK es más controvertido, pero parece que tiene algún tipo de disfunción, al igual que las células dendríticas. Por otro lado, los pacientes al diagnóstico tienen un número elevado de células T, pero sin actividad específica contra los antígenos asociados a la LMC. Los ITK ejercen efectos inmunomoduladores, particularmente reduciendo las poblaciones supresoras de MDSC y Treg, favoreciendo la reactivación del SI y restableciendo el control antitumoral. Además, contribuyen a la mejor funcionalidad de las células NK, la restauración de las respuestas de linfocitos T citotóxicos frente a antígenos asociados a la leucemia, la infrarregulación de PD-1 y el aumento de las células dendríticas y la función celular presentadora de antígeno. En definitiva, a la vez que el SI supresor (Treg y MDSC) pierde fuerza, el SI efector recupera su potencial de control de la leucemia gracias a la eficacia del ITK. Los datos disponibles indican que con la combinación de ITK con interferón (IFN) se consiguen más respuestas moleculares y más profundas y, si esta combinación se realiza con un ITK de segunda generación, estos resultados son aún mejores. En algunos estudios de

discontinuación, la RLT era superior si previamente a imatinib se había recibido IFN(14-19). Y en el contexto de la discontinuación del ITK, se sabe que no es necesaria la eliminación completa de las células madre de LMC residuales para mantener la RLT, porque el SI ejerce un papel de vigilancia inmunológica y los niveles de BCR-ABL1 detectables y fluctuantes por debajo de la respuesta molecular mayor que se observan en algunos pacientes que discontinúan el tratamiento parecen estar modulados por este SI. Así, el tratamiento con IFN asociado al ITK puede mejorar las tasas de RLT. En este sentido, es prometedora la estrategia de combinación de IFN con un ITK de segunda generación como nilotinib o la introducción de IFN tras la discontinuación (20). El objetivo actual de muchos estudios es modular la respuesta inmune para aumentar la tasa de RLT e identificar un biomarcador inmunológico que prediga con precisión qué paciente puede suspender el ITK y permanecer en RLT a largo plazo. + CONCLUSIONES El reordenamiento del gen BCR-ABL1 es la causa principal de la LMC, como confirma el éxito del tratamiento de los ITK. Sin embargo, se cree que vías independientes de BCR-ABL1 juegan un papel importante en la resistencia al tratamiento y en la persistencia de las LSC, que serán responsables de la recaída tras la discontinuación del ITK. También, en la LMC en fase crónica y fase avanzada se pueden detectar con frecuencia mutaciones independientes del clon BCR-ABL1, algunas de las cuales preceden a la adquisición de este reordenamiento, que pueden influir en la respuesta al tratamiento y en la progresión de la enfermedad. La detección temprana de mutaciones independientes de BCR-ABL1 justificaría una monitorización estrecha de los pacientes y tal vez mejore la estratificación del riesgo en el futuro. Por otro lado, inhibir las vías adicionales de señalización y eliminar las LSC con un tratamiento combinado podría mejorar la respuesta al tratamiento y la tasa de RLT. En definitiva, el mejor conocimiento del papel que juegan estas vías de señalización y las alteraciones genéticas ayudará a instaurar un tratamiento más personalizado, con el objetivo de eliminar la enfermedad residual y prolongar la RLT. Además, el SI puede modular esta RLT y, en este campo, el tratamiento con IFN es muy prometedor.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rinke J, Hochhaus A, Ernst T. CML - Not only BCR-ABL1 matters. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2020;33:101194.
2. Minciacchi VR, Kumar R, Krause DS. Chronic Myeloid Leukemia: A Model Disease of the Past, Present and Future. *Cells.* 2021;10:117.
3. Patel AB, O'Hare T, Deininger MW. Mechanisms of resistance to ABL kinase inhibition in chronic myeloid leukemia and the development of next generation ABL kinase inhibitors. *Hematol Oncol Clin N Am.* 2017;31:589-612.
4. Clark RE, Apperley JF, Copland M, Cicconi S. Additional chromosomal abnormalities at chronic myeloid leukemia diagnosis predict an increased risk of progression. *Blood Adv.* 2021;5:1102-9.
5. Hochhaus A, Baccarani M, Silver RT, Schiffer C, Apperley JF, Cervantes F, et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2020;34:966-84.
6. Neviani P. Genetic events other than BCR-ABL1. *Curr Hematol Malig Rep.* 2014;9:24-32.
7. Branford S, Wang P, Yeung DT, Thomson D, Purins A, Wadham C, et al. Integrative genomic analysis reveals cancer-associated mutations at diagnosis of CML in patients with high-risk disease. *Blood.* 2018;132:948-61.
8. Kim T, Tyndel MS, Zhang Z, Ahn J, Choi S, Szardenings M, et al. Exome sequencing reveals DNMT3A and ASXL1 variants associate with progression of chronic myeloid leukemia after tyrosine kinase inhibitor therapy. *Leuk Res.* 2017;59:142-8.
9. Shanmuganathan N, Wadham C, Shahrin NH, Thomson D, Feng J, Saunders V, et al. Mutated cancer-related genes detected at diagnosis of CML and a novel class of variant associated with the Philadelphia translocation are both independent predictors of inferior outcomes. *Blood.* 2020;136:49a.
10. Schmidt M, Rinke J, Schafer V, Schnittger S, Kohlmann A, Obstfelder E, et al. Molecular-defined clonal evolution in patients with chronic myeloid leukemia independent of the BCR-ABL status. *Leukemia.* 2014;28(12):2292-9.
11. Nteliopoulos G, Bazeos A, Claudianni S, Gerrard G, Curry E, Szydlo R, et al. Somatic variants in epigenetic modifiers can predict failure of response to imatinib but not

to second-generation tyrosine kinase inhibitors. *Haematologica*. 2019;104(12):2400-9. 12. Pagnano KBB, Lopes AP, Miranda EC, Delamain MT, Duarte GO, Rodrigues BRV. Efficacy and safety of pioglitazone in a phase 1/2 imatinib discontinuation trial (EDI-PIO) in chronic myeloid leukemia with deep molecular response. *Am J Hematol*. 2020;95:E321-E323. 13. Bugler J, Kinstrie R, Scott MT, Vetrie D. Epigenetic Reprogramming and Emerging Epigenetic Therapies in CML. *Front Cell Dev Biol*. 2019;17:136. 14. Palandri F, Castagnetti F, Iacobucci I, Martinelli G, Amabile M, Gugliotta G, et al. The response to imatinib and interferon-alpha is more rapid than the response to imatinib alone: a retrospective analysis of 495 Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia patients in early chronic phase. *Haematologica*. 2010;95:1415-9. 15. Simonsson B, Gedde-Dahl T, Markev rn B, Remes K, Stentoft J, Almqvist A, et al.; Nordic CML Study Group. Combination of pegylated IFN- α 2b with imatinib increases molecular response rates in patients with low- or intermediate-risk chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2011;118:3228-35. 16. Guilhot F, Rigal-Huguet F, Guilhot J, Guerci-Bresler AP, Maloisel F, Rea D. Long-term outcome of imatinib 400 mg compared to imatinib 600 mg or imatinib 400 mg daily in combination with cytarabine or pegylated interferon alpha 2a for chronic myeloid leukaemia: results from the French SPIRIT phase III randomised trial. *Leukemia*. 2021 Jan 22. Epub ahead of print. 17. Nicolini FE, Etienne G, Dubruille V, Roy L, Huguet F, Legros L, et al. Nilotinib and peginterferon alfa-2a for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukaemia (NiloPeg): a multicentre, nonrandomised, open-label phase 2 study. *Lancet Haematol*. 2015;2:e37-46. 18. Hjorth-Hansen H, Stentoft J, Richter J, Koskenvesa P, H glund M, Dreimane A, et al. Safety and efficacy of the combination of pegylated interferon- α 2b and dasatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia patients. *Leukemia*. 2016;30:1853-60. 19. Preudhomme C, Guilhot J, Nicolini FE, GuerciBresler A, Rigal-Huguet F, Maloisel F, et al.; SPIRIT Investigators; France Intergroupe des Leuc mies My loides Chroniques (Fi-LMC). Imatinib plus peginterferon alfa-2a in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2010;23(363):2511- 21. 20. Jun K, Ya-Zhen Q, Xiao-Su Z, Hong-Xia S, YueYun L, Kai-Yan L, et al. Interferon- α may help prevent molecular relapse of chronic myeloid leukemia after the discontinuation of tyrosine kinase inhibitors. *Ther Adv Hematol*. 2021;12:1-11.