

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**KML'Lİ HASTALARDA İMATİNİB MESİLAT
TEDAVİSİNİN SONUÇLARI VE HASTALARIN
KLAVUZLARA UYGUN İZLENİP
İZLENMEDİĞİNİN ORTAYA KONULMASI**

Dr. EMİNE MERCAN

**DANIŞMAN
Prof. Dr. FATİH DEMİRKAN**

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2010

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**KML'Lİ HASTALARDA İMATİNİB MESİLAT
TEDAVİSİNİN SONUÇLARI VE HASTALARIN
KLAVUZLARA UYGUN İZLENİP
İZLENMEDİĞİNİN ORTAYA KONULMASI**

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

Dr. EMİNE MERCAN

DANIŞMAN

Prof. Dr. FATİH DEMİRKAN

İZMİR-2010

ÖNSÖZ

İhtisas eğitimim süresince, eğitim hayatıma olan katkılarından dolayı başta İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İlky Şimşek olmak üzere, İç Hastalıkları Anabilim Dalının tüm öğretim üyelerine, tez çalışmamın gerek oluşumu, gerekse sürecinde her türlü desteği veren tez danışmanım Prof. Dr. Fatih Demirkan'a, rotasyon eğitimim sırasında bilgilerinden yararlandığım Kardiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sema Güneri'ye, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Oğuz Kılınç'a, tezimin gerçekleşmesinde büyük emeği olan Uzm. Dr. Dilek Solmaz ve Uzm. Dr. Selda Kahraman'a teşekkür ederim.

Birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, annem ve babama, asistanlık eğitimim boyunca desteğini her zaman hissettiğim sevgili dostum Dr. Pınar Tosun'a ve eşime sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

No	Sayfa
Önsöz	I
İçindekiler	II
Simgeler ve kısaltmalar dizini	IV
Şekiller dizini	V
Tablolar dizini	VI
ÖZET	VII
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KML'de moleküler biyoloji	5
2.1.1. BCR-ABL füzyon genlerinin yapısı	5
2.1.2. BCR-ABL Aracılı Malign Transformasyon	8
2.2. KML'nin hücreSEL biyolojisi	9
2.3. KML'de prognozu belirlemede kullanılan risk skorları	11
2.4. KML'de tedavi	11
2.4.1 İmatinib (Glivec, STI571)	12
2.4.2. KML'de İmatinib ile faz 3 çalışmaları	15
2.4.3. KML'de İmatinib direnci	17
2.4.4. İmatinib doz uygulaması, takibi ve yanıt kriterleri	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Hastalar	23
3.2. Hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt değerlendirilmesi ve önerilen izlem sıklığı	23
3.3. Yan etki durumunda önerilen tedavi	24
3.4. Hastaları izlemede kullanılan laboratuvar yöntemleri	25
4. BULGULAR	29
4.1. Hastaların demografik ve klinik özellikleri	29
4.2. Hastaların hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt oranları	31
4.3. Hastaların kümülatif hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt oranları	35
4.4. Hematolojik ve diğer yan etkilerin dağılımı	37

5.	TARTIŞMA	39
6.	SONUÇ	47
7.	KAYNAKLAR	49

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABL	Abelson geni
AHHN	Allojenik hematopoetik hücre nakli
ALL	Akut lenfoblastik lösemi
AML	Akut miyeloid lösemi
BCR	Breakpoint cluster region
BCR/ABL	Füzyon geni
CD 117	C-kit
DA	Dasatinib
D-HPLC	Denaturing high performance liquid chromatography
FDA	Food and drug administration
FISH	Fluresans in situ hibridizasyon
HU	Hidroksiüre
IFN-α	Interferon α
IM	Imatinib mesilat
KML	Kronik miyeloid lösemi
KSY	Kısmi sitogenetik yanıt
mRNA	Messenger RNA
MSY	Minör sitogenetik yanıt
NI	Nilotinib
PDGF	Platelet derived growth factor
Ph	Philadelphia kromozomu
RT-Q-PCR	Real time polymerase chain reaction
TSY	Tam sitogenetik yanıt

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
2.1	KML, Kronik faz, periferik yayma	4
2.1.1	Philadelphia kromozomu	5
2.1.1.1	KML'de t(9;22) translokasyonu	7
2.1.1.2	t(9;22) translokasyonu ve ürünleri	7
2.1.2.1	BCR-ABL'nin etkilediği sinyal iletim yolları	9
2.4.1	KML'de Tedavi Algoritması	11
2.4.1.1	BCR-ABL'nin etki mekanizması ve imatinib tarafından inhibisyonu Panel A: Kinaz paketi içinde ATP molekülü Panel B: Kinaz paketi içinde imatinib	14
2.4.1.2	Ph kromozomunu oluşturan translokasyon ve KML' de BCR-ABL'nin rolü. Platelet-Derived Growth Factor ve Gastrointestinal tümörler üzerinde normal ve anormal C-kit'in fonksiyonu	15
3.3.1	Hematolojik yan etki varlığında doz azaltımı	25

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa
2.4.2.1	KML nedeniyle imatinib tedavisi alan hastalardaki yan etkilerin sıklığı ve hematolojik ve sitogenetik yanıt oranları	16
2.4.2.2	Gözlenen en iyi hematolojik ve sitogenetik yanıt oranları	17
2.4.4.1.1	KML'de Tedavi Önerileri	19
2.4.4.2.1	Hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt kriterleri	20
2.4.4.2.2	İmatinib tedavisi: Optimal yanıt, suboptimal yanıt ve başarısızlık kriterleri	22
4.1.1	Hastaların cinsiyet dağılımı	29
4.1.2	Tanı sırasındaki hastalık evresi	29
4.1.3	Hastaların İmatinib öncesi almış olduğu tedavi	29
4.1.4	Sokal risk skoruna göre hastaların dağılımı	30
4.1.5	Tanı sırasındaki hemoglobin düzeyi	30
4.1.6	Tanı sırasındaki WBC düzeyi	30
4.1.7	Tanı sırasındaki trombosit düzeyi	30
4.2.1	3. aydaki hematolojik yanıt	31
4.2.2	3. aydaki moleküler yanıt	31
4.2.3	3. aydaki sitogenetik yanıt	31
4.2.4	6. aydaki hematolojik yanıt	32
4.2.5	6. aydaki moleküler yanıt	32
4.2.6	6. aydaki sitogenetik yanıt	32
4.2.7	12. aydaki hematolojik yanıt	33
4.2.8	12. aydaki moleküler yanıt	33
4.2.9	12. aydaki sitogenetik yanıt	33
4.2.10	18. aydaki hematolojik yanıt	34
4.2.11	18. aydaki moleküler yanıt	34
4.2.12	18. aydaki sitogenetik yanıt	34
4.3.1	Hastaların kümülatif hematolojik yanıt oranları	35
4.3.2	Hastaların kümülatif sitogenetik yanıt oranları	35
4.3.3	Hastaların kümülatif moleküler yanıt oranları	36
4.3.4	Ortalama sağ kalım ve 3.aydaki hematolojik yanıtın, moleküler ve sitogenetik yanıt ile korelasyonu	36
4.4.1	Hastaların hematolojik yan etki oranları	37
4.4.2	Hastaların hematolojik olmayan yan etki oranları	37

ÖZET

Kronik Miyeloid Lösemili Hastalarda İmatinib Mesilat Tedavisinin Sonuçları Ve Hastaların Klavuzlara Uygun İzlenip İzlenmediğinin Ortaya Konulması

Dr. Emine Mercan

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı

Dokuz Eylül Üniversite Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı İnciraltı/İZMİR 35340

emine.bekci@deu.edu.tr

Dayanak ve amaç: Kronik myeloid lösemi (KML) tedavisinde; yaklaşık 5 yıl öncesine kadar tedavi seçenekleri olarak, lökosit sayısının azaltılmasına yönelik tedavi (busulfan, hydroxyurea gibi), Philadelphia (Ph) pozitif hücrelerin nonspesifik supresyonu interferon-alfa (IFN- α), IFN- α + cytarabine ve allojenik hematopoetik hücre nakli (AHHN) sayılmaktaydı. Bugün için imatinib mesilatın (IM-STI571) kullanıma girmesiyle KML tedavisinde ilk seçenek tedavi yerini almıştır. IM tedavisi ile daha iyi hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt elde edilmekte ve daha iyi ortalama sağ kalım ve progresyonsuz sağ kalım sağlanmaktadır. Biz çalışmamızda Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi ve İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hematoloji kliniğinde izlenen ve IM ile tedavi edilen 84 KML vakasında hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıtlar ile hastaların klavuzlara uygun şekilde izlenip izlenmediğini değerlendirdik.

Materyal ve metod: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi ve İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma hastanesi hematoloji kliniğinde Ocak 1999-Mart 2010 tarihleri arasında izlenen 84 Ph (+) KML vakası çalışmaya alındı. Standart 400 mg/gün imatinib mesilat tedavisi alan hastaların hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıtları değerlendirildi.

Bulgular: Hastaların 44'ü kadın (%52,4), 40'ı erkek (%47,6) idi. Yaşları 22-83 arasında ve yaş ortalamaları 52,98 (\pm 14,8) yıl, ortanca yaş 54,5 olarak saptandı. Ortalama takip süreleri 47,4 ay ve tanı anında 80 hasta kronik fazda (%95,2), 4 hasta akselere fazda (%4,8) idi. Hematolojik yanıt ortalama 2.42 ayda sağlandı. Tam hematolojik yanıt (THY) oranı üçüncü ayda %88,1 olarak saptandı. Elde edilen THY altıncı ayda %90,8, 12.ayda %93 ve 18.ayda %96,9 olarak bulundu. 12. ayda 57 hastanın sitogenetiği bakılmıştı (%67,9). Bunların %75,4'ünde tam sitogenetik yanıt (TSY), üç hastada kısmi sitogenetik yanıt (KSY) (%5,3), üç hastada minör sitogenetik

yanıt (MSY) (%5,3), bir hastada minimal sitogenetik yanıt (%1.8) elde edildi. Dört hastada ise sitogenetik yanıt elde edilemedi (%7,0). Üç hastada ise örnek yetersizdi (%5,3). 18. ayda hastaların 38'inin moleküler yanıtına bakılmıştı (%45,2). Bu hastaların 24'ünde tam moleküler yanıt (%63,2), 10 hastada major moleküler yanıt (%26,3), dört hastada ise moleküler yanıt alınamadı (%10,5). IM kullanımı esnasında, 22 hastada derece 3-4 hematolojik yan etki gelişirken (%26,2), 21 hastada gastrointestinal sistem ve hepatik yan etkiler (%25), 15 hastada süperfisiyel ödem (%17,9), 12 hastada rash (%14,3), 10 hastada periorbital ödem (%11,9), 9 hastada miyalji-artralji-kas krampları (%10,7), 3 hastada böbrek yetmezliği (%3,6) ve bir hastada kalp yetmezliği (%1,2) gözlemlendi. IM tedavisi altında bir hasta akselere faza, bir hasta blastik faza geçti. Üç hastanın yan etki, dokuz hastanın ilaç direnci, bir hastanın yan etki ve ilaç direnci nedeniyle ilacı değiştirildi (%15,5). Dört hasta Dasatinib, sekiz hasta Nilotinib, bir hasta ise Nilotinib ardından dirençli olması nedeniyle Dasatinib tedavisi aldı. Hastaların ortalama sağ kalım süreleri 48,54 ay (3-132 ay), tedavi başarısızlığına kadar geçen süre ise ortalama 30,67 ay (9-61 ay) olarak saptandı.

Sonuç: Kronik faz KML'de imatinib mesilat halen tolere edilebilir ve etkin bir tedavi seçeneği olarak ilk sıradaki yerini korumaktadır. Yeni tirozin kinaz inhibitörleri dahil, daha etkin ve küratif tedavi için yeni çalışmaların yapılması ve hastaların takibinde özellikle moleküler yanıt değerlendirilmesinde laboratuvar yöntemlerinde standardizasyon yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: KML, İmatinib mesilat, Ph kromozomu

ABSTRACT

The Outcomes Of The Imatinib Mesilat Treatment In Chronic Myeloid Leukemia Patients And Presentation Of Whether The Patient Follow Up Is According To The Guidelines

Dr. Emine Mercan

Dokuz Eylül University Faculty of Medicine Department of Internal Medicine

Dokuz Eylül University Hospital Department of Internal Medicine İnciraltı/İZMİR
35340

emine.bekci@deu.edu.tr

Background and objective: in chronic myeloid leukemia (CML) treatment, the treatment options were reducing the number of leukocyte (such as busulfan, hydroxyurea), nonspecific suppression of Philadelphia (Ph) positive cells, interferon-alpha (IFN- α), IFN- α + cytarabine and allogeneic hematopoietic cell transplantation (AHCT) until five years ago. Today with the introduction of imatinib mesilat (IM-STI571), it has been the first line treatment option in CML treatment. Better hematologic, cytogenetic and molecular responses are obtained and better mean survival and non progressive survival are possible with IM treatment. In our study with 84 CML cases followed up in Dokuz Eylül University Faculty of Medicine and İzmir Atatürk Training and Research Hospital, The Clinic of Hematology and treated with IM, we assessed whether the patients were followed up according to the guidelines or not with hematologic, cytogenetic and molecular responses.

Material and method: 84 Ph (+) CML cases followed up between January 1999 and March 2010 in Dokuz Eylül University Faculty of Medicine and İzmir Atatürk Training and Research Hospitals were included in the study. The hematologic, cytogenetic and molecular responses of the patients receiving standard 400 mg/day imatinib mesilat treatment were evaluated.

Findings: 44 (52.4%) of the patients were female and 40 (47.6%) were male. Their age was between 22 and 83, the mean age was 52.98 (\pm 14.8) years and the median age was found to be 54.5. Mean follow-up period was 47.4 months and 80 patients (95.2%) were in chronic phase and 4 patients were in accelerated phase (4.8%).

Hematologic response was obtained in 2.42 months in average. Complete hematologic response (CHR) was determined as 88.1% in the third month. The CHR was 90.8% in the sixth month, 93% in the twelfth month and 96.9% in the eighteenth month. In the 12th month, the cytogenetic of the patient was checked (67.9%). Complete cytogenetic response (CCR) was obtained in 75.4% of them, in three patients there was a partial cytogenetic response (5.3%), in three patients minor cytogenetic response (MCR) (5.3%), in one patient minimal cytogenetic response (1.8%) was obtained. In four patients no cytogenetic response was received (7.0%). In three patients the sample was poor (5.3%). In the 18th month, 38 of the patients were checked for molecular response (45.2%). In 24 of these patients there was complete molecular response (63.2%), major molecular response was obtained in 10 patients (26.3%) and in four patients no molecular response was obtained (10.5%). During IM usage, in 22 patients degree 3-4, hematologic side effects were developed (26.2%), 12 patients developed rash (14.3%), periorbital edema was seen in 10 patients (11.9%), nausea in 10 patients (11.9%), in nine patients myalgia-arthralgia (10.7%), diarrhea in six patients (7.1%), stomach pain in four patients (4.8%), renal failure in three patients (3.6%), hepatic dysfunction in one patient (1.2%) and one patient developed CCF (1.2%). One patient under IM treatment switched to accelerated phase and one patient to blastic phase. Drugs were changed in three patients because of side effects, nine patients because of drug resistance and one patient because of side effects and drug resistance (15.5%). Four patients received Dasanitib, eight patients received Nilonitib and one patient received first Nilonitib then switched to Dasanitib treatment because of resistance. Mean survival periods of the patients were found to be 48.54 months (3-132 months), the period until the treatment failure was 30.67 months (9-61 months) in average.

Conclusion: In chronic phase CML, imatinib mesilat is still tolerable and has been the first line option as an effective treatment. Including the new tyrosine kinase inhibitors, further research is required for more effective and curative treatment and standardization studies should be performed in the laboratory methods in patient follow-ups especially in the evaluation of molecular response.

Key words: CML, Imatinib mesilat, Ph chromosome

1.GİRİŞ VE AMAÇ

KML, farklılaşmanın bütün evrelerindeki miyeloid hücre elemanlarının artmış proliferasyonu ve kemik iliğinde artmış hipersellülarite ile karakterize klonal bir kök hücre hastalığıdır [1]. Hastalık doğası gereği bifazik, bazen de trifazik seyirlidir. Kronik faz; tam bir olgunlaşma evresi gösteren miyeloid hücrelerin proliferasyonu ile karakterizedir. Genellikle, sonuçta miyeloid farklılaşmada azalma meydana gelir ve hastalık kötü prognozlu bir safhaya (akselere faz veya blastik kriz) girer.

KML ilk kez 19. yüzyılda tanımlanmıştır ve yüzyılı aşkın bir süreden buyana hastalığın klinik ve morfolojik özelliklerine odaklı araştırmalar yapılmaktadır. 1960'da Nowel ve Hungerford, KML'li hastalarda anormal bir G kromozomu belgelediler ve bu kromozoma bulunduğu şehrin adı olan Philadelphia, Ph kromozomu adını verdiler. 1970'lerde kromozomal şeritlemenin gelişimiyle, Ph kromozomunun aslında 9 ve 22 kromozomları arasında bir translokasyon olduğu kanıtlandı. 1980'li yıllarda bir dizi araştırmacı bu hastalarda kromozom 9 üzerinde abelson (ABL) protoonkogeni ve yanındaki kromozom 22 üzerinde breakpoint cluster region (BCR) geni arasındaki karşılıklı translokasyonun olduğunu gösterdiler [2].

KML'de tanısal işlemler tam kan sayımı, periferik kan yayması, kemik aspirasyonu ve kemik iliği aspirasyonundan moleküler ve sitogenetik inceleme ve kemik iliği biyopsisi ile başlar. Karyotip analizle Ph kromozomunun, PCR teknikleri ile Ph kromozomu ürünü BCR-ABL'nin moleküler olarak gösterilmesi kesin tanıyı koydurur [3].

Tedavide önceleri hidroksiüre, busulfan, interferon- α ve uygun hastalarda AHHN kullanılmakta iken, günümüzde BCR-ABL proteinini hedef alan bir tedavi olarak geliştirilen IM, bugün için en seçkin ve etkili tedavidir. İmatinib 400 mg/gün dozunda kullanıldığında hastaların %95'inde THY, %85'inde majör sitogenetik, %73'ünde tam sitogenetik yanıt elde edilmektedir. 18 aylık bir izlem sonrası hastaların % 11 kadarında ise akselere veya blastik faza ilerleme olduğu gösterilmiştir [4, 5]. Bu hasta gruplarında yüksek dozlar ile (600-800 mg/gün) yine başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Biz bu çalışmamızda yüksek başarı ve uzun süreli yaşam olanağı sağlayan etkin bir tedavi yöntemi olan imatinibin, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi ve

İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma hastanesinde izlenen 84 KML hastasındaki tedavi sonuçlarını ve hastaların klavuzlara uygun olarak izlenip izlenmediğini inceledik.

2.GENEL BİLGİLER

Kronik myeloid lösemi, kronik miyeloproliferatif hastalıklar içerisinde sınıflandırılan, miyeloid hücrelerin farklılaşma kapasitesini kaybetmeksizin aşırı proliferasyonu ile karakterize, malign klonal bir hastalıktır [6]. Erişkinlerdeki lösemilerin %15'ini oluşturmakta olup, görülme sıklığı 1,5/100000 vaka/yıl'dır. Tanı sırasında ortalama yaş 45-50'dir. Erkeklerde kadınlara oranla hafif bir predominans gözlenmekte olup erkek/kadın oranı; 2 /1,2'dir [7].

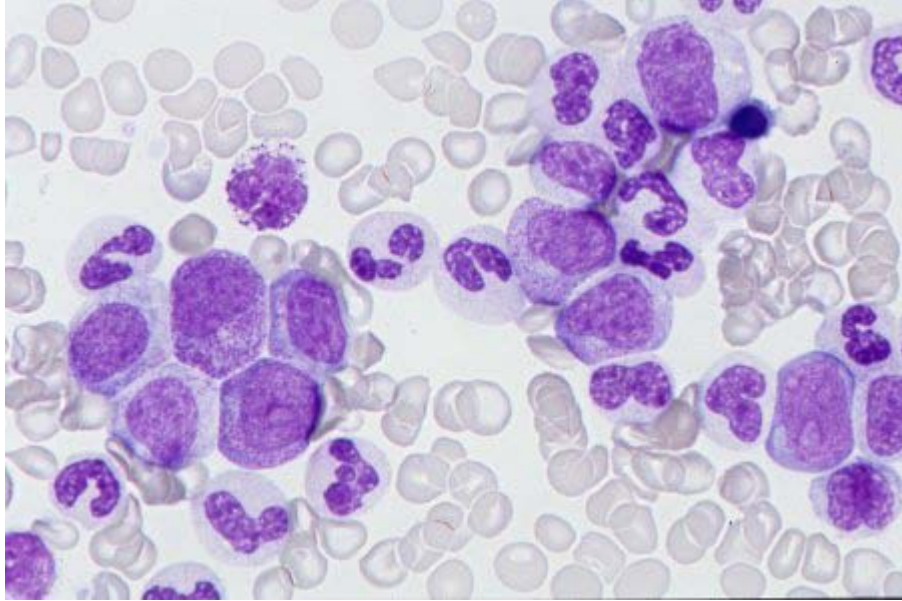
KML ilk kez 19.yüzyılda tanımlanmıştır ve yüzyılı aşkın bir süreden bu yana hastalığın klinik ve morfolojik özelliklerine odaklı araştırmalar yapılmaktadır. 1960'da Nowel ve Hungerford, KML'li hastalarda anormal bir G kromozomu belgelediler ve bu kromozoma bulunduğu şehrin adı olan Philadelphia (Ph) kromozomu adını verdiler. 1970'lerde kromozomal şeritlemenin gelişimiyle, Ph kromozomunun aslında 9 ve 22 kromozomları arasında bir translokasyon olduğu kanıtlandı. 1980'li yıllarda bir dizi araştırmacı bu hastalarda kromozom 9 üzerinde ABL protoonkogeni ve yanındaki kromozom 22 üzerinde BCR geni arasındaki karşılıklı translokasyon olduğunu gösterdiler [1].

Vakaların yaklaşık %90'ı kronik fazda tanı almaktadır [8]. Hastalık, doğası gereği bifazik, bazen de trifazik seyir izlemektedir. Tanı konulduktan sonra tedavi edilmeyen hastalarda, yaklaşık 2-6 yıllık bir kronik dönemi takiben akselere ve ardından blastik (trifazik) faza geçiş söz konusu olmakta, bazı olgularda akselere faza girmeden direkt olarak kronik fazdan blastik faza dönüşüm de (bifazik) görülebilmektedir. Blastik fazdaki hastaların ortalama yaşam süresi 6 aydan az olup, infeksiyon ve kanama en sık ölüm nedenleridir [9].

KML'de klinik bulgular aşırı çoğalmış miyelositer hücre kitlesi ve hipermetabolizma ile ilişkilidir. Kronik fazın klinik başlangıcı genellikle sinsidir. Tanı anındaki tipik semptomlar yorgunluk, kilo kaybı, gece terlemeleri, sol üst kadranda ağrı veya dolgunluk hissi olarak sayılabilir. Ancak hastaların yaklaşık %40'ı asemptomatik olup, tanı genellikle tesadüfen bakılan bir kan sayımındaki anormallik ile konulur. Daha az sıklıkla ve hastalığın ilerleyen evrelerinde infeksiyon, tromboz ve çeşitli kanama eğilimleri gibi granülosit veya trombosit fonksiyon bozuklukları ile ilişkili bulgular da izlenebilir [7].

Olguların %70'inde fizik muayenedeki en sık görülen bulgu dalak büyüklüğüdür. Daha az sıklıkla hepatomegali izlenebilmektedir. Sternal hassasiyet hastalığın güvenilir bir bulgusu olup, genellikle sternumun ortasında küçük bir alanda sınırlıdır [10].

Tanı sırasında granülositer serinin değişen derecelerdeki immatüritesi ile birlikte artmış beyaz küre sayımı mevcuttur. Periferik yaymada (Şekil 2.1) ara sıra blast hücreleri görülebilmekle birlikte, tanı anında anlamlı sayıda bulunmazlar. Eozinofil ve bazofil sayımları artmıştır. Yine trombosit sayımı tanı anında hemen daima artmıştır ve buna ılımlı normokrom, normositer anemi eşlik eder [11]. KML'de lökosit alkalin fosfataz aktivitesi karakteristik olarak düşüktür. Serum B12 düzeyleri, laktat dehidrogenaz, ürik asit ve lizozimlerin düzeylerinde artma beklenir. Tanı anında ve kronik faz süresince fagositik fonksiyonlar normaldir.

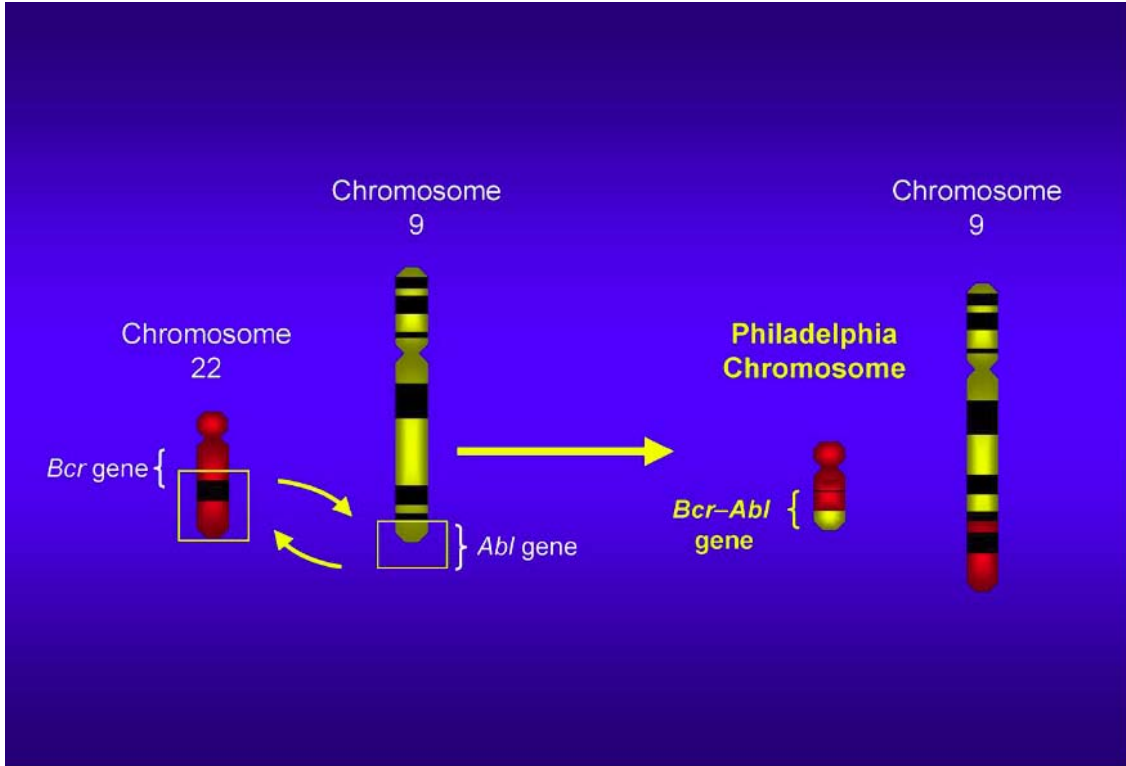


Şekil 2.1 KML, Kronik Faz, Periferik yayma [12]

KML hastalarının hemen tümünde yapılan kemik iliği incelemesinde, özellikle miyeloid ve megakaryositer serilerde, miyeloid/eritroid oranına önemli ölçüde yansıyan, kemik iliği sellülaritesinde artış söz konusudur. Kemik iliğindeki blast sayımı sıklıkla normaldir veya hafifçe artmıştır. Yine artmış sayıda bazofil ve eozinofiller KML'nin karakteristik özelliklerindedir. Kemik iliği biyopsisinde ılımlı bir fibrozis izlenebilir ve tanı anındaki hastaların yaklaşık %10-15'inde bulunur [13].

2.1.KML' de moleküler biyoloji

KML patogeneğinde yer alan en önemli özellik, philadelphia kromozomu olarak bilinen, 9 ve 22 numaralı kromozomların uzun kolları arasındaki t(9;22)(q34;q11) resiprokal translokasyonudur. Bu KML'nin en belirleyici özelliğidir ve hastaların %90-95'inde bulunur. Aynı zamanda çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemilerinin (ALL) %5'inde ve erişkin ALL'nin %15-30'unda, yeni tanı almış akut myeloblastik lösemilerin (AML) ise %2'sinde saptanır. Translokasyon sırasında 9 nolu kromozom üzerindeki ABL geni, 22. kromozom üzerindeki BCR bölgesine nakledilir. (Şekil 2.1.1). Böylece kimerik BCR-ABL messenger RNA(mRNA)'ya transkripsiyonu olan hibrid BCR-ABL geni oluşur [14-16].



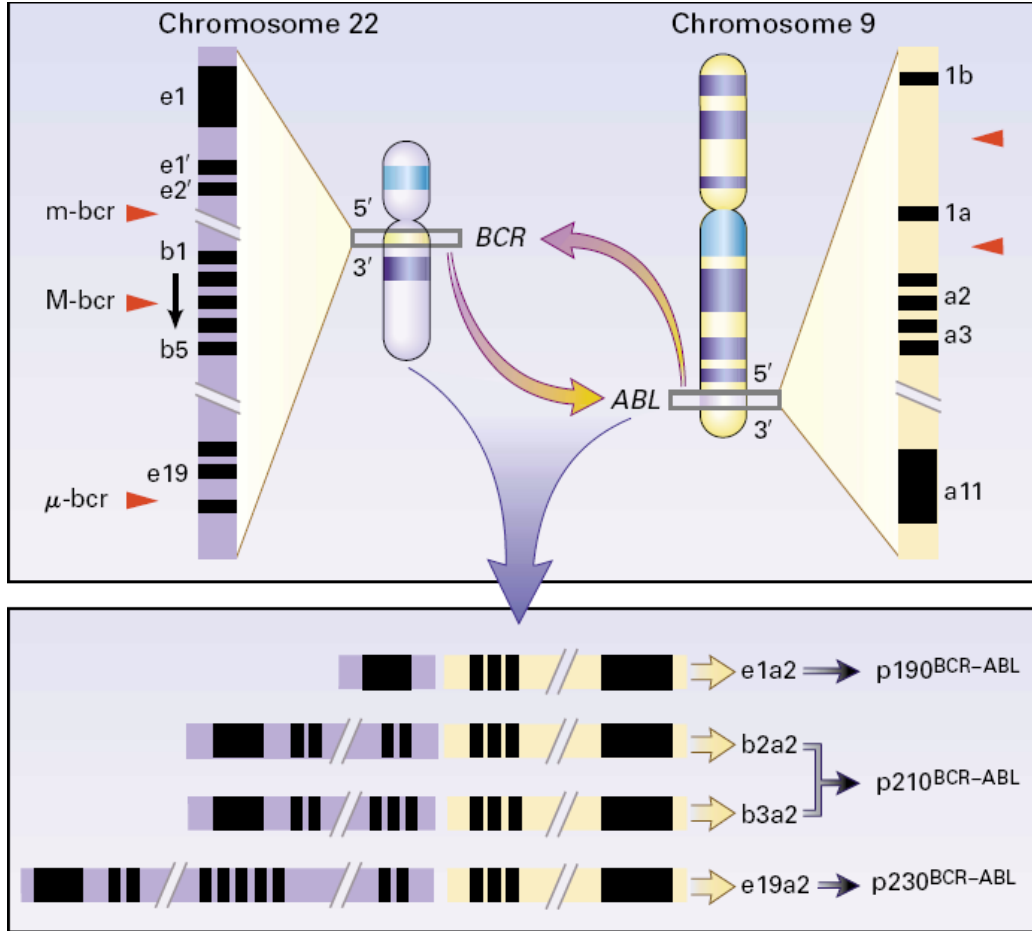
Şekil 2.1.1 Philadelphia kromozomu. Lydon ve ark'dan alınmıştır [17].

2.1.1. BCR-ABL füzyon genlerinin yapısı

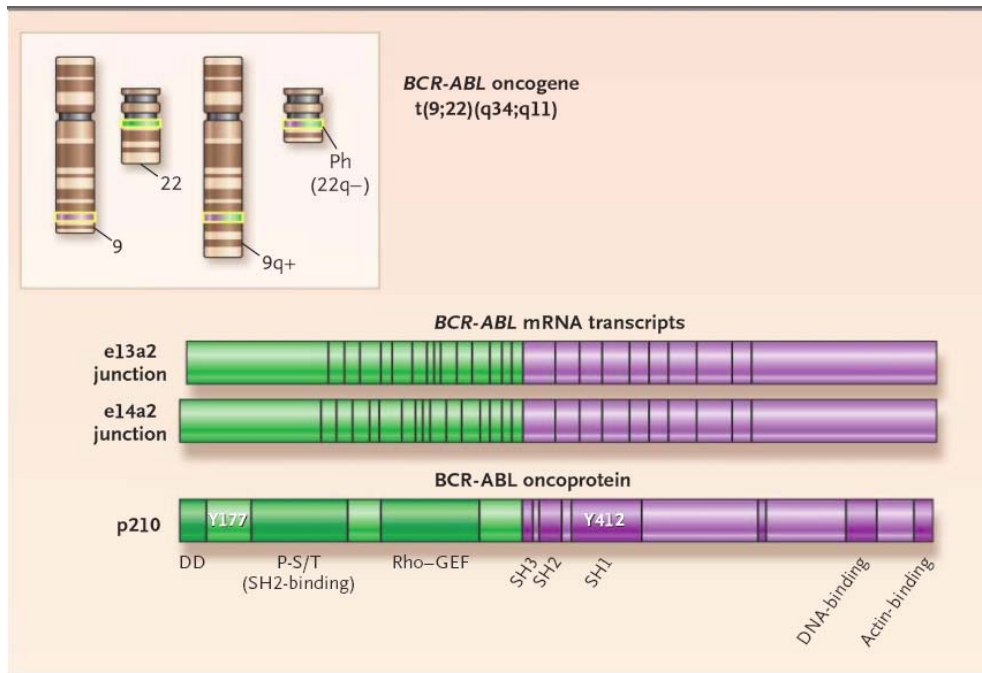
ABL üzerindeki kırılma bölgeleri, 5' segmentinin herhangi bir yerinde meydana gelebilir. Kırılma için ilk alternatif ekzon 1b'den aşağı doğru veya ikinci alternatif ekzon 1a'dan yukarı doğru kayabilir ancak daha sıklıkla bu ekzonların arasındadır [18]. Bu nedenle BCR-ABL füzyon genleri, ekzon 1b ve ekzon 1a'nın her ikisini birden veya tek başına ekzon 1a'yı içerebileceği gibi alternatif ekzonların hiçbirini de

bulundurmayabilir. BCR-ABL mRNA ekzon 1'den yoksun olup, transkript, ABL ekzon 2a ile direk birleşen BCR ekzonlarından oluşur [19].

ABL'nin tersine, BCR'deki kırılma noktaları üç tanımlanmış bölgede bulunur. KML hastalarının büyük kısmında, BCR geni, "major breakpoint cluster region" olarak da bilinen 5,8 kb büyüklüğündeki bir bölgedir. Bu bölge, gendeki gerçek pozisyonlarına göre e12-e16 (eski isimleri ile ekzon b1-b5) olarak adlandırılmış beş adet ekzondan oluşmaktadır. Çoğu kırılma noktası ekzon 13 ve ekzon 14'e doğru kayar. BCR-ABL işlemi, BCR ekzonlarının ABL ekzon 2a'ya katılması ile sonuçlandığından; hibrid transkriptler e13a2(b2a2) veya e14a2(b3a2) birleşkelerinden üretilir. Her iki durumda da mRNA, 8.5 kb'lik bir sekanstan oluşan ve 210 kd'luk bir füzyon proteini olan p210^{BCR-ABL} 'yi kodlayan sekanslardan oluşur [19, 20]. Şekil 2.1.1.1 ve şekil 2.1.1.2 de izlendiği üzere klasik KML konfigürasyonunda, BCR-ABL, e13a2(b2a2) veya e14a2(b3a2) birleşkeleri ile mRNA molekülüne kopyalanır ve p210^{BCR-ABL} onkoproteinine çevrilir. Şekilde bu hibrid proteinin içerdiği BCR'nin amino terminalinden (dimerizasyon (DD), SH2 bağlanma bölgesi ve Rho GTP-GDP exchange faktör (rho-GEF) domainleri) ve ABL'nin karboksi terminalinden (sadece Src-homolog bölgeler SH3,SH2,SH1 ve DNA ve aktin bağlanma bölgeleri) fonksiyonel parçalar gösterilmiştir. BCR'deki tirozin 177 ve ABL'deki tirozin 412 parçaları sırası ile adaptör proteinlerin bağlanmasında ve BCR-ABL otofosforilasyonunda önemli role sahiptir [2].



Şekil 2.1.1.1 KML'de t(9;22) translokasyonu [21]

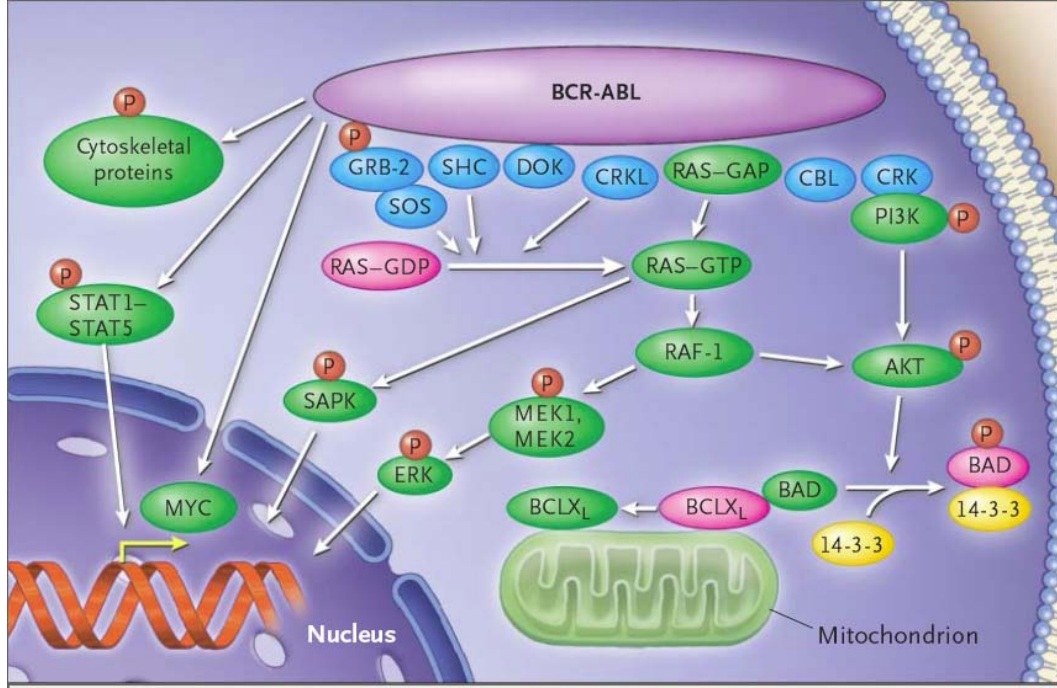


Şekil 2.1.1.2 t(9;22) translokasyonu ve ürünleri [2]

Vakaların çoğunda KML hücrelerinde b2a2 veya b3a2 transkriptleri olur, fakat % 5 vakada alternatif birleşmeler sonucu farklı füzyon proteinleri oluşur. b2a2 ve b3a2 transkripti olanlarda klinik özellikler, tedaviye cevap ve prognoz benzerdir. Farklı olarak b3a2 transkripti olanlarda yüksek trombosit sayısı görülür. Ph pozitif ALL'li erişkinlerin %50'sinde ve çocukların %80 de ve nadiren KML'li vakalarda 22. kromozomdaki kırılma M-bcr'nin 5' ucunda yer alan ve minor breakpoint cluster region (m-bcr) olarak adlandırılan bölgede olur. e1' ve e2'ekzonlarının ABL genindeki ekzonlarla birleşmesiyle ortaya çıkan BCR-ABL transkriptinin translasyonu sonucu oluşan 190 kd'luk füzyon proteini p190^{BCR-ABL} olarak adlandırılır. BCR genindeki üçüncü kırılma noktasının lokalizasyonu m-bcr bölgesinin 3' ucunda yer alan ekzonlar olan e19 ve e20 arasında olur ve bu bölge μ -bcr olarak adlandırılır. e19a2 birleşimi ile oluşan transkriptin translasyonu sonucu oluşan 230 kd'luk protein p230^{BCR-ABL} olarak adlandırılır. KML'deki p190^{BCR-ABL} ekspresyonu monositozla ve displastik değişikliklerle, p230^{BCR-ABL} ekspresyonu ise kronik nötrofilik lösemi varyantı ve trombositozla ilişkili olabilir [15, 22-26].

2.1.2. BCR-ABL Aracılı Malign Transformasyon

p210^{BCR-ABL}'nin potansiyel lökomojenik etkisinin altında, ABL proteinin normal olarak regüle edilen tirozin kinaz aktivitesinin, yabancı BCR sekanslarının yapısal olarak yerleşmesiyle aktive olması yatmaktadır. Tirozin kinaz enzimatik aktivitesi, BCR-ABL'nin ABL komponentindeki SH1 parçası tarafından taşınır ve onkogenik transformasyon için son derece önemlidir. ABL tirozin kinaz aktivitesi fizyolojik koşullarda oldukça sıkı kontrol altında tutulmaktadır. Normalde kontrol edilebilir özellikte tirozin kinaz aktivitesine sahip ABL proteinine BCR dizisi eklendiğinde, aktivitesi kontrolsüz hale geçmekte ve p210^{BCR-ABL}'nin lökomojenik özellikleri ortaya çıkmaktadır. BCR-ABL füzyon proteininde ABL cap bölgesinin yokluğu ve BCR' nin ilk ekzonunda taşınan dimerizasyon parçası, ABL SH1 parçasının aktivasyonundan sorumludur [2]. BCR onkoproteinlerinin dimerizasyonu ile iki BCR-ABL molekülü kendilerine uyan kinaz aktivasyonu bölümündeki tirozin eklerini fosforlar [27]. Bundan sonraki basamaklar normal ABL enziminin bir seri efektör protein ile etkilenmesi basamaklarıdır (Şekil 2.1.2.1).



Şekil 2.1.2.1 BCR-ABL'nin etkilediği sinyal iletim yolları. Goldman ve ark'dan adapte edilmiştir [2].

BCR-ABL hücre içerisinde, Şekil 2.1.2.1'de ayrıntılı olarak gösterilmiş olan çok sayıda efektör protein yoluyla, gen transkripsiyonunun aktivasyonu veya supresyonu, apoptoz yanıtının mitokondrial işlevi, hücre iskeletinin organizasyonu ve inhibitör proteinlerin degradasyonu ile karakterize onkojenik sinyallere dönüşümüne neden olan birçok etkileşimi tetikler. Etkileşimde anahtar rol oynayan yolaklar RAS, Mitogen activated protein (MAP) kinazlar, Sinyal transducers ve aktivators of transcription (STAT), Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), ve MYC olarak sayılabilir. Çoğu etkileşim tirozinin fosforilasyonu aracılığı ile olur ve BCR-ABL'nin growth factor receptor-bound protein 2 (GRB-2), DOK, CRK, CRK-like protein (CRKL), SRC-homology-containing protein (SHC) ve casitas-B-lineage lymphoma protein (CBL) gibi adaptör proteinlere bağlanmasını gerektirir. Sonuç ise, malign transformasyonun temel mekanizmaları olarak kabul edilen, kontrolsüz hücre çoğalması, lösemik hücrelerin ekstrasellüler matriks ve kemik iliği stromasına adherensında ve mutajenik uyarılara verilen apoptoz yanıtında azalma olarak özetlenebilir [28, 29].

2.2. KML'nin Hücresel biyolojisi

KML miyeloproliferatif bir hastalıktır. Miyeloid progenitör hücre çeşitli matürasyon evrelerine çoğalarak prematür olarak periferik kana geçer ve çeşitli

ekstramedüller bölgelere yerleşir. Miyeloid progenitör hücrelerin düzensiz ekspansiyonu proliferatif kapasitedeki değişikliklerin ve kendini yenileme ile diferansiyon arasındaki dengenin diferansiyona doğru kayması sonucu oluşur. Sonuçta progenitör hücrelerin sayısı artarken kök hücre havuzunun sayısı azalır. Kök hücreleri proliferatif kompartmanın parçası haline gelir, bu da neoplastik hücre popülasyonunun daha sonraki matur kompartmanlara ekspansiyonuna, aynı zamanda sitokinler ve kemik iliğindeki mikroçevreden gelen büyümeyi düzenleyici sinyallere daha az duyarlı hale gelmesine yol açar [30, 31].

İmmatür hematopoetik KML progenitör hücrelerinin, kemik iliğinin stromal elementlerine defektif adezyonu onların periferal kana geçişini kolaylaştırabilir. Normal hematopoetik progenitör hücreler ekstrasellüler matrikse veya immobil büyümeyi düzenleyici sitokinlere bağlanırlar. Bu bağlanma progenitör hücre yüzeyindeki reseptörlerle özellikle de integrinlerle olur. İntegrinler hücre yüzeyindeki glikoproteinlerdir. α ve β olmak üzere iki kısımdan oluşur. α zinciri ligand spesifitesini belirlerken, β zinciri ligandlardan sonraki sinyal -transdüksiyon yolağını başlatır. Bu sinyaller hücre iskeletindeki adezyon proteinlerinin ve RAS-MAPK yolağının aktivasyonuna neden olur. Ph-pozitif hücrelerin p210^{BCR-ABL}'ye karşı oluşturulmuş, antisense oligonükleotitlerle veya p210^{BCR-ABL}'yi hedef alan tirozin kinaz inhibitörleriyle preinkubasyonu ve interferon alfa ile tedavisi KML hücrelerinin adezyon defektinin düzelmesine yol açmıştır [28, 32-34].

Programlanmış hücre ölümü veya apoptozisin supresyonunun da KML patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir. p210^{BCR-ABL} sentezleyen hematopoetik progenitör hücreler büyüme faktörlerine bağımlılıktan kaçabilir ve sitotoksik ilaçlara ve radyasyona dayanabilir. Antiapoptotik mekanizmaların aktivasyonu p210^{BCR-ABL}'nin fosfotirozin kinaz aktivitesi, başta olmak üzere aynı zamanda adaptör proteinlerin bağlanmasına ve fosforilasyon bölgelerine bağlı gibi görünmektedir. BCR-ABL, BCLx gibi antiapoptotik mitokondriyel proteinlerin ekspresyonunu indükler [35-38].

Spesifik sitokinlerin ekspresyonu KML progenitör hücrelerin ekspansiyonunu artırabilir. KML'li hastaların serumları hematopoetik hücre proliferasyonunu stimüle edebilir. İleri evre hastalığı olan KML'li hastaların kemik iliğinde bol miktarda interlökin 1- β üretildiği gösterilmiştir. İnterlökin 1- β 'nin interlökin-1 reseptör antagonistleriyle

veya solubl interlökin-1 reseptörleriyle inhibisyonu KML hücrelerinin proliferasyonunu inhibe etmiştir [39, 40].

2.3. KML'de prognozu belirlemede kullanılan risk skorları

Sokal indeksi:

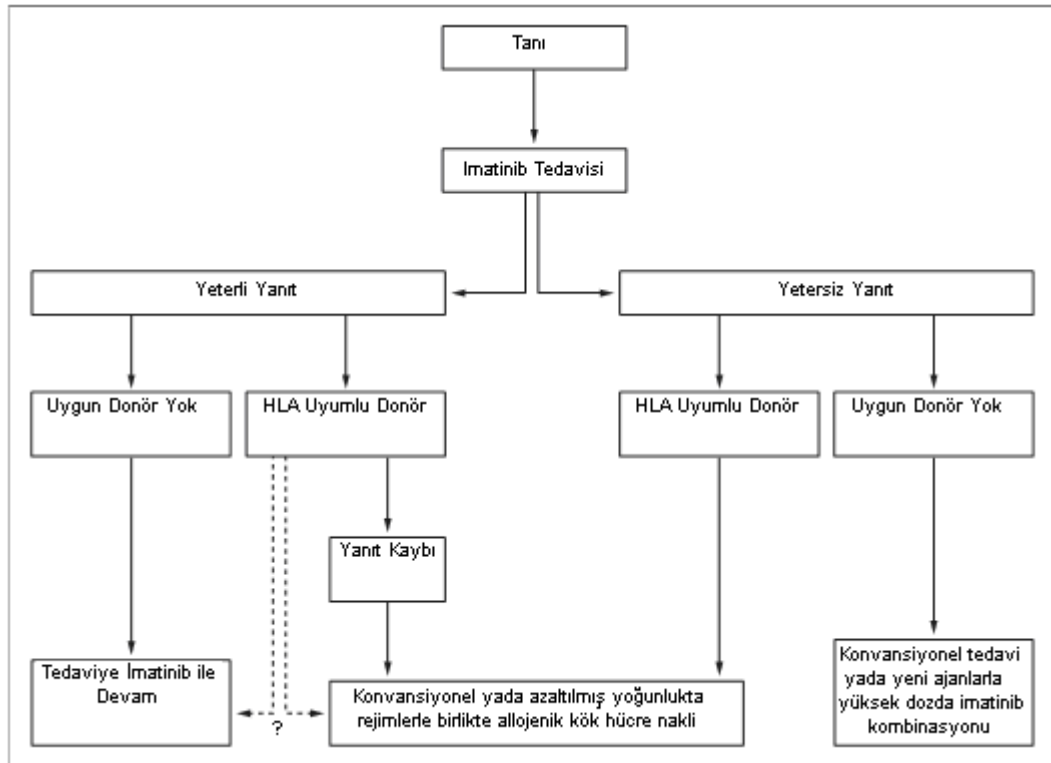
SI= EXP [0,0116 (yaş - 43,4) + 0,0345 (dalak büyüklüğü* - 7.51) + 0,188 (trombosit sayısı/700)² - 0,563) + 0,0887(periferik blast yüzdesi -2,10)]*Kot altı uzunluk

Yeni skorlama sistemi (Hasford):

Yeni skor: (0,6666 x yaş [eğer yaş < 50 ise 0; aksi halde 1] + 0,420 x dalak büyüklüğü [cm kot altı] + 0,0584 x blast [%] + 0,0413 x eozinofil [%] + 0,2039 x bazofil eğer bazofil < 3% ise 0; aksi halde 1] + 1,0956 x trombosit sayısı [eğer trombositler < 1500 x 10⁹/L ise 0; aksi halde 1]) x 1000

Düşük risk: <780; Orta risk: 781-1479; Yüksek risk: >1480

2.4. KML'de tedavi



Şekil 2.4.1 KML'de Tedavi Algoritması

Ph pozitif KML'de; yaklaşık 5 yıl öncesine kadar tedavi seçenekleri olarak, lökosit sayısının azaltılmasına yönelik tedavi (busulfan, hydroxyurea gibi), Ph pozitif hücrelerin nonspesifik supresyonu IFN- α ve AHHN sayılmaktaydı. Bu tedaviler içerisinde günümüzdeki tek küratif tedavi genç hastalarda HLA-uygun verici varlığında yapılan allojenik hematopoetik hücre naklidir [41], [42], [43].

İmatinib mesilat, bir tirozin kinaz inhibitörü olup, diğer tedavi seçeneklerinden farklı olarak hastalığın patofizyolojisine, bir diğer ifade ile hedefe yönelik olarak geliştirilmiş bir ajandır. İmatinib mesilat yapılan klinik çalışmalar sonucunda, yeni tanı almış Ph pozitif kronik faz KML'li hastaların ilk sıra tedavisinde tercih edilen ajan haline gelmiştir [5], [44].

2.4.1. İmatinib (Glivec, STI571)

İmatinib (Glivec, Novartis) eski adıyla STI-571 Platelet-derived growth factor (PDGF) reseptörünü hedef alan spesifik bir tirozin kinaz inhibitörüdür. Ph pozitif KML'li hastaların füzyon ürünlerini ve gastrointestinal stromal tümörlerde artmış ekspresyonu olan C-Kit (CD117)'i inhibe ettiği bulunmuştur. İmatinibin c-kit veya PDGF reseptör eksprese eden diğer tümörlerdeki etkisi ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Food and Drug Administration (FDA) tarafından Mayıs 2001'de IFN tedavisine refrakter KML tedavisi ve Şubat 2002'de gastrointestinal stromal tümörlerin tedavisi için onaylanmıştır [45].

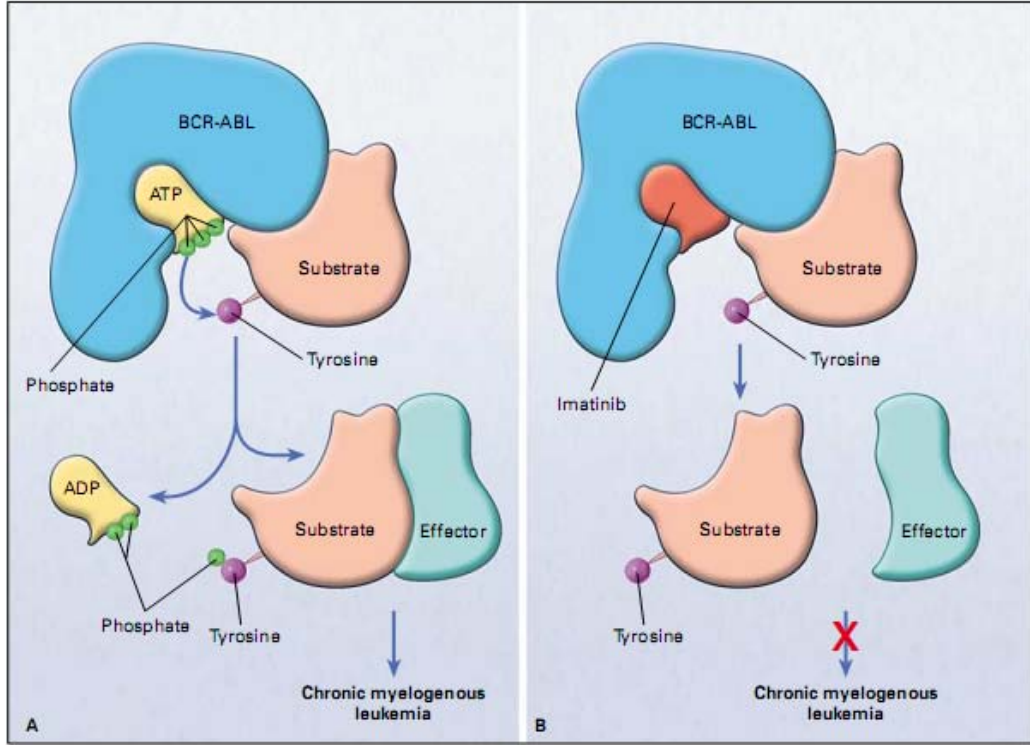
İmatinibin temel farmakodinamik özellikleri aşağıda özetlenmiştir;

1. Ph + KML hücrelerinde proliferasyonun inhibisyonu, apoptozis indüksiyonu ve in vitro yeni lösemik hücrelerin potansiyel inhibisyonu [46, 47]
2. Hayvan modellerinde, Ph+ tümör hücrelerine karşı gösterilmiş anti-tümör aktivite [48, 49]
3. Kök hücre faktör ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) için tirozin kinazların inhibisyonu
4. Telomeraz aktivitesinin azalması ve bu sayede telomeraz ifade eden hücre serilerinde proliferasyonun inhibisyonu [50]
5. Glikolitik aktivitenin inhibisyonu ve mitokondrial glukoz metabolizmasının uyarılması [51]
6. Vasküler endotelial büyüme faktör inhibisyonu [52]

7. KML hastalarında kemik iliği vaskülaritesinin normalizasyonu [53, 54]
8. KML hastalarında myelofibroziste azalma [55]

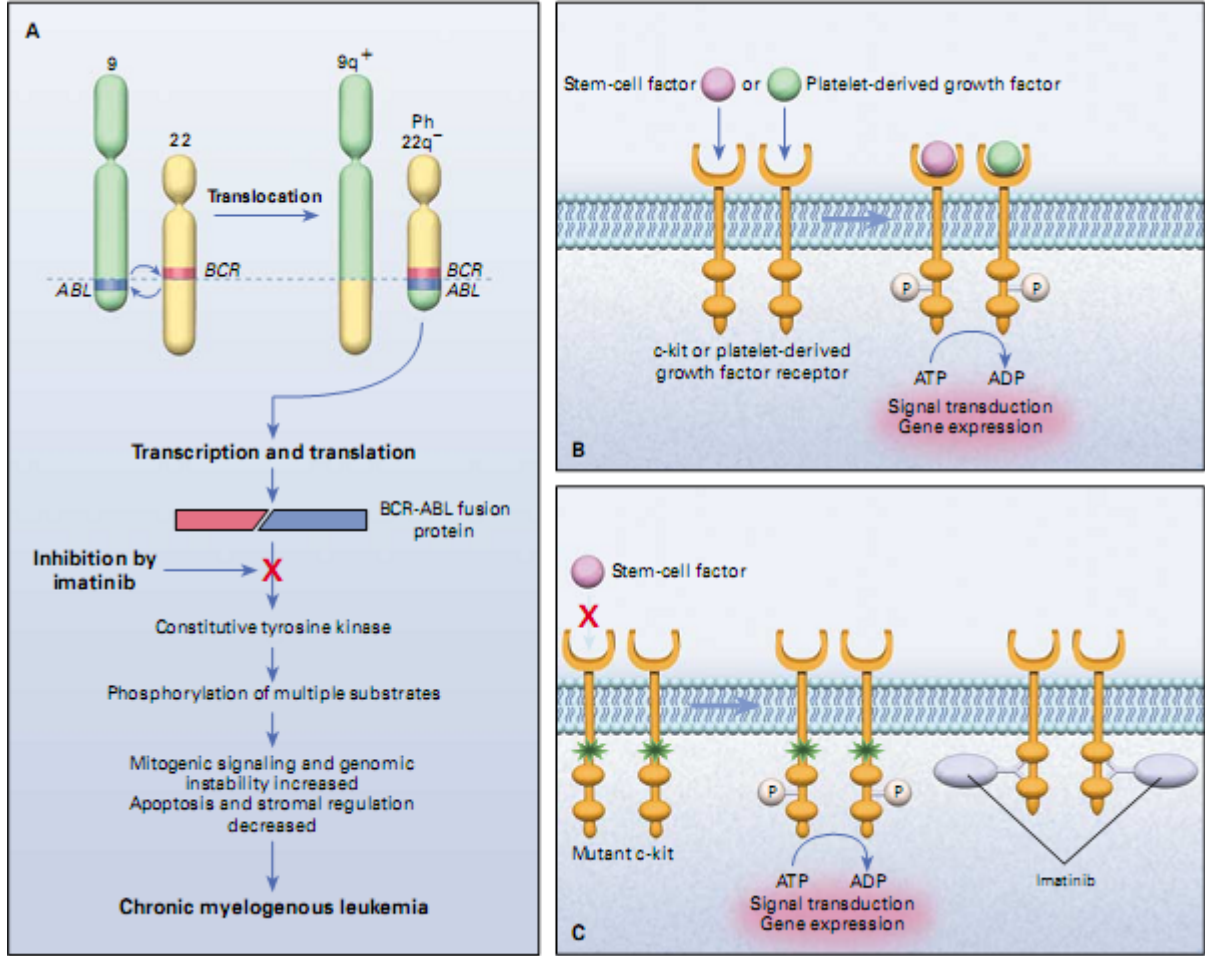
İmatinib, PDGF reseptörünün veya c-kit'in spesifik inhibitörü olarak geliştirilmiştir. Aynı zamanda tüm ABL tirozin kinazların 210 kd BCR-ABL ve 185-190 kd BCR-ABL dahil olmak üzere güçlü ve relatif olarak selektif inhibitörüdür. İmatinib fosfatın substrata BCR-ABL bağımlı transferini bozar (Şekil 2.4.1.1). İmatinib tarafından inhibe edilen diğer tek tirozin kinaz c-kit'tir (Şekil 2.4.1.2). Epidermal growth faktör reseptörü, FLT 1 ve FLT3 gibi diğer tirozin kinaz reseptörleri imatinibden etkilenmez [56].

Druker ve arkadaşları BCR-ABL proteininin imatinib için ideal hedef olduğunu fark etmişlerdir. Çünkü BCR-ABL mutasyonu hemen hemen tüm KML hastalarında bulunur. BCR-ABL proteini lösemik hücrelere hastır ve bu hücrelerde yüksek düzeylerde eksprese edilir ve lösemiye indüklemek için mutlaka BCR-ABL tirozin kinaz aktivitesi gereklidir. 1996'da Druker ve arkadaşları BCR-ABL içeren proliferen olan miyeloid hücrelerin imatinib ile spesifik olarak inhibe edildiği veya öldürüldüğünü ancak imatinibin normal hücrelere minimal zarar verdiğini göstermişlerdir. İn vitro çalışmalarda, imatinibin 1µM konsantrasyonunda, BCR-ABL pozitif koloni oluşumunun %95 oranında azaldığı gösterilmiştir. Diğer laboratuvar çalışmaları da bu gözlemleri doğrulamıştır. 185 kd. ve 190 kd. BCR-ABL içeren ALL hastalarında da imatinib ile hücre büyümesinin baskılandığı gösterilmiştir. İmatinib ile in vitro çalışmalarda elde edilen çarpıcı sonuçlar in vivo çalışmaların yapılmasına neden olmuştur. İmatinibe maruz kalma 16 saat veya daha az olduğunda BCR-ABL eksprese eden hücrelerde apoptozisin eskiye döndüğü gösterildiği için, iyi tolere edilen oral bir ilaçla BCR-ABL supresyonu yapılması gerektiği düşünülmüştür [45].



Şekil 2.4.1.1 BCR-ABL'nin etki mekanizması ve imatinib tarafından inhibisyonu [45]

Panel A'da BCR-ABL onkoproteininin kinaz cebindeki adenozin trifosfat (ATP) molekülü görülmektedir. Substratın bir tirozin rezidüsü fosforilasyonla aktive olur, böylece kendisi diğer efektör molekülleri aktive edebilir. İmatinib kinaz cebini kapladığı zaman (Panel B), BCR-ABL'nin etkisi inhibe olur, substratı fosforile edilemez. ADP adenozin difosfatı göstermektedir.



Şekil 2.4.1.2 Philadelphia (Ph) kromozomunu oluşturan translokasyon ve KML' de BCR-ABL'nin rolü(Panel A). Plateled-Derived Growth Factor ve Gastrointestinal tümörler üzerinde normal(Panel B) ve anormal(Panel C) C-kit'in fonksiyonu [45]

2.4.2. KML' de İmatinib İle Faz 3 Çalışmaları

Bu prospektif, randomize, multimerkezli Faz 3 çalışmasında (IRIS-İnternational Randomised Study of Interferon and ST571) rekombinant IFN- α ve düşük doz sitarabinden oluşan kombinasyon ile imatinibin etkileri, yeni tanı kronik faz KML hastalarında karşılaştırılmıştır [5]. İmatinib grubu 400 mg/gün dozunda almıştır, kombinasyon grubu ise IFN- α 5 milyon U/m²/gün ve sitarabin 20 mg/m²/gün (maksimum 40 mg) dozunda verilmiştir. Primer son nokta hastalık progresyonudur. Hastalık progresyonu şu kriterlerden herhangi birinin olmasıdır. Tedavi boyunca herhangi bir nedene bağlı ölüm, akselere veya blastik faz KML'ye geçiş, tam hematolojik yanıtın kaybı, major sitogenetik yanıtın kaybı veya artan beyaz küre

sayısıdır. Sekonder son noktalar ise tam hematolojik yanıt oranı ve major sitogenetik yanıt oranıdır.

Tablo 2.4.2.1 KML nedeniyle imatinib tedavisi alan hastalardaki yan etkilerin sıklığı ve hematolojik ve sitogenetik yanıt oranları [45]

	Kronik Faz KML (N= 532)	Akselere Faz KML (N= 235)	Blastik Faz KML (N= 260)
	<i>Yüzde</i>		
Doz			
400 mg/gün	100	33	14
600 mg/gün	0	67	86
Yan Etkiler			
Bulantı	58	71	69
Ödem	56	71	69
Karın Ağrısı	50	37	26
İshal	37	53	41
Kusma	30	55	52
Döküntü	39	43	34
Baş Ağrısı	30	29	26
Yorgunluk	31	36	28
Eklem Ağrısı	30	29	24
Nötrofil < 1.0 x 10 ⁹ /mm ³	34	58	63
Platelet < 50 x 10 ⁹ /mm ³	17	43	60
Hemoglobin < 8 g/dl	5	39	51
Ciddi Yan Etkilerden Dolayı İlacın Kesilmesi	2	2	5
Tam Hematolojik Yanıt	95	34	7
Tam Sitogenetik Yanıt	41	17	7

Yanıt alınamayan veya yanıtı kaybolan, beyaz küre sayısında artış olan ve tedaviyi tolere edemeyenlerin karşı gruba geçmesine izin verilmiştir. Her grupta 553 hasta olmak üzere toplam 1106 hasta alışıma alınmıştır. Ortalama izlem süresi 19 aydır. Toksikite profili daha önceki çalışmalardakine benzer bulunmuştur. İmatinib grubundaki yan etkiler genellikle daha hafiftir ve en sık görülenler süperfisiyel ödem, bulantı, kas krampları ve döküntülerdir. Hematolojik ve sitogenetik yanıtlar Tablo 2.4.2.2'de gösterilmiştir. İmatinib grubundaki tam hematolojik yanıt oranı daha yüksektir (%95,3'e %55,5 p<0,001) ve yanıtlar daha hızlı oluşmuştur. Tam hematolojik yanıt oluşuncaya kadar geçen süre imatinib grubunda ortalama bir ay, kombinasyon grubunda 2,5 aydır. Major sitogenetik yanıt oranları da imatinib grubunda daha yüksektir. (%85,2'ye %22,1, p<0,001). İmatinib grubunda Sokal ve Hasford skorlarına göre yüksek riskli olanlarda bile major sitogenetik yanıt oranları sırasıyla %69 ve %78,9'dur (tam sitogenetik yanıt oranları ise %56,3 ve %65,8).

İmatinib grubuna geçen 318 hastadaki tam hematolojik yanıt oranı %55,7 ve tam sitogenetik oranı %39,6'dır. Kombinasyon grubuna geçen 11 hastanın üçünde tam hematolojik yanıt oluşmasına rağmen hiçbirinde sitogenetik yanıt alınmamıştır. Hastalığın ilerlemesine bakıldığında 12. ayda imatinib grubundaki hastaların %96,6'sında, kombinasyon grubundakilerin ise %79,9'unda progresyon saptanmamıştır (p<0,001). Bu oranlar 18.ayda %92,1'e karşı %73,5'dir. 12. ayda akselere ve blastik faza progresyonu olmayanların imatinib grubunda %98, kombinasyon grubunda %93,1'dir (p<0,001). Bu oranlar 18. ayda %96,7'ye %91,5'tir. Tüm Sokal risk gruplarında imatinib anlamlı olarak kombinasyon tedavisinden üstün bulunmuştur (p<0,0001). 18. ayda beklenen sağ kalım oranları imatinib grubunda %97,2, kombinasyon grubunda %95,1'dir (p=0.16).

Sonuç olarak, hematolojik ve sitogenetik yanıt oranları tolerabilite ve akselere veya blastik faz KML 'ye ilerleme bakımından yeni tanı kronik faz KML hastalarında imatinib, interferon ve düşük doz sitarabinden oluşan kombinasyon tedavisine daha üstün bulunmuştur.

Tablo 2.4.2.2 Gözlenen en iyi hematolojik ve sitogenetik yanıt oranları [5]

Yanıt	Başlangıç Tedavi		Karşı Tedaviye Geçenler	
	İmatinib (N=553)	IFN- α + Sitarabine (N=553)	İmatinib'den IFN- α Sitarabine'ye geçenler (N=11)	IFN- α + Sitarabine'den İmatinib'e geçenler (N=318)
Tam Hematolojik	95.3 (93.2 - 96.9)	55.5 (51.3 - 59.7)	27.3 (6.0 - 61.0)	82.4 (77.7 - 86.4)
Majör Sitogenetik	85.2 (81.9 - 88.0)	22.1 (18.7 - 25.8)	0 (0 - 28.5)	55.7 (50.0 - 61.2)
Tam	73.8 (69.9 - 77.4)	8.5 (6.3 - 11.1)	0 (0 - 28.5)	39.6 (34.2 - 45.2)
Parsiyel	11.4 (8.9 - 1.3)	13.6 (10.8 - 16.7)	0 (0 - 28.5)	16.0 (12.2 - 20.5)

2.4.3. KML'de imatinib direnci

Blastik faz KML' de görülen relatif imatinib direnci lösemik klonla transformasyonda primer nedenin sekonder mutasyonlar (BCR-ABL'nin kendisi değil) olduğu hipotezi ile uyumludur. Bununla birlikte Gorre ve arkadaşları BCR-ABL' de oluşan nokta mutasyonların imatinibe karşı kazanılmış dirençte primer mekanizma olabileceğini göstermişlerdir. Bu da BCR-ABL'nin tirozin kinaz aktivitesinin ileri dönem hastalıkta da çok önemli olduğunu destekler. T315I mutasyonunun tüm kullanılmakta olan tirozin kinaz inhibitörlerine yanıtızsızlığı gösteren bir marker olduğu çalışmalarda gösterilmiştir [57-62]. Diğer potansiyel direnç mekanizmaları; BCR-ABL

gen amplifikasyonu, BCR-ABL proteinin artmış ekspresyonu, multidrug-direnç geninin artmış ekspresyonu ve imatinibin proteine artmış bağlanmasıdır. Mekanizma ne olursa olsun, yüksek direnç insidansı nedeniyle ileri dönemde Ph pozitif blastik faz hastalığı olanlarda yapılacak çalışmalarda imatinib diğer kemoterapötik ajanlarla kombine edilmelidir. Daha yüksek dozdaki imatinibin (1000 mg/gün'den daha fazla) direncin üstesinden gelip gelemeyeceği değerlendirilmelidir [63-70].

2.4.4. İmatinib doz uygulaması, takibi ve yanıt kriterleri

2.4.4.1. Doz uygulaması ile ilgili konular ve tedavi önerileri

Kronik faz KML'li ve tirozin kinaz inhibitörlerine naiv hastalarda ilk basamak tedavi 400 mg/gün imatinib mesilattır. Daha yüksek dozlar denenebilir ancak sonuçların daha iyi olduğuna dair yeterli kanıt yoktur. Yapılan çalışmalarda imatinibin etkinliği ≥ 300 mg/gün alan hastalardaki sonuçlar temelinde saptanmıştır; bu hastalara THY oranı %98 bulunmuştur [71]. Bildirilen yan etkilerin çoğunluğu hafif-orta şiddette olmuştur (1 veya 2.derece). Artan dozla birlikte yan etkilerin çoğunun insidansında artış görülmüştür ve 600 -1000 mg/gün dozlara hastaların yaklaşık %25'inde derece 3 ve derece 4 myelosupresyon (nötropeni ve trombositopeni) gözlenmiştir. Myelosupresyon doz sınırlayıcı olmamıştır ve doz azaltıldığında veya tedavi geçici olarak kesildiğinde ortadan kalkmıştır.

İM intoleran veya dirençli olgularda tedavinin nilotinib (NI) veya dasatinib (DA) olarak değiştirilmesi önerilir. Önerilen doz NI için 400 mg, günde iki kez ve DA için 100 mg, günde bir kez olarak uygulanır. NI ve DA arasındaki tedavi seçiminde BCR-ABL kd mutasyonlarının varlığı ve bunların NI ve DA in vitro duyarlılığı, beklenen yan etkiler bakımından farkı ve hastanın klinik durumu ve komorbiditeleri önemli rol oynar. İM suboptimal yanıtı olan olgularda en az 3 seçenek mevcuttur, tedaviye aynı dozda veya daha yüksek dozda devam etmek, tedaviyi NI ve DA'ya değiştirmek veya AHHN'dir, hangi seçeneğin daha üstün olduğuna dair kanıt yoktur.

Tüm blastik faz ve akselere fazdaki hastaların çoğunluğu optimal yanıt alınmış olsa bile allojenik kök hücre nakli için adaydır. Ancak hasta TKI naiv ise ve BCR-ABL mutasyonlarına sensitivitesi yüksek ise kök hücre nakli öncesi 600-800 mg /dozda önerilebilir.

Tablo 2.4.4.1.1 KML'de Tedavi Önerileri

Tedavi Önerileri

Kronik faz, ilk basamak	Imatinib 400 mg/gün
Kronik faz, ikinci basamak	
IM intoleran	Nilotinib 400 mg, günde iki kez veya dasatinib 100 mg günde bir kez
IM yanıtızsız	Nilotinib veya dasatinib, yukarıdaki dozda
	Allojenik kök hücre nakli, yüksek hastalık riski ve düşük transplantasyon riski olanlarda (EBMT skoru 0 - 2)
Kronik faz, üçüncü basamak	
NI ve DA yanıtızsız	Allojenik kök hücre nakli
Akselere ve Blastik Faz	
İlk basamak (TKI naiv)	Imatinib, takiben allojenik kök hücre nakli
İkinci basamak (IM dirençli)	NI veya DA, takiben allojenik kök hücre nakli

2.4.4.2. Tedaviye yanıtın takibi

İmatinib, kronik miyeloid löseminin standart ilk basamak tedavisidir. Yanıt değerlendirilmesi, tam kan sayımı ve ek kriterler hematolojik yanıt, kemik iliği metafazlarının değerlendirilmesi sitogenetik yanıt, BCR-ABL transkript düzeyinin kantitatif değerlendirilmesi moleküler yanıt (gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu) esasına dayanır.

Kan sayımı tam hematolojik yanıt elde edilene kadar her iki haftada bir uygulanır, sonrasında en az üç ayda bir değerlendirilir. Sitogenetik değerlendirme kemik iliği metafazlarının kromozom şeritleme yöntemine göre her 3-6 ayda bir tam sitogenetik yanıt elde edilene dek, sonrasında 12 ayda bir değerlendirilir. İnterfaz in situ hibridizasyon (I-FISH) tekniği ile periferik kandan ve kemik iliği değerlendirilmesi, sadece sitogenetik değerlendirme amacı ile kromozom şeritleme yöntemi yerine kullanılabilir. Ancak kromozom şeritleme yöntemi ile kemik iliği metafazlarının değerlendirilmesi Ph(+) hücrelerde olduğu kadar, Ph(-) hücrelerde de klonal kromozomal anomalilerin saptanması açısından gereklidir. Gerçek zamanlı PCR (RT-Q-PCR) ile BCR-ABL transkript düzeyinin saptanması major moleküler yanıt elde edilene dek her 3 ayda bir, ardında da her 6 ayda bir değerlendirilir.

Denatüre eden yüksek performans likid kromatografi (D-HPLC) yöntemi ile mutasyon analizi suboptimal yanıt alınan veya yanıtızsız olgularda ve bir TKI'dan diğerine geçmeden önce her zaman bakılmalıdır.

Tablo 2.4.4.2.1 Hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt kriterleri [72]

Tam hematolojik yanıt	-WBC<10×10 ⁹ immatür granülosit olmaması, %5 daha az bazofil olması, plt<450×10 ⁹ , dalağın palpe edilmemesi
Tam sitogenetik yanıt	-%0 Ph +metafaz
Kısmi sitogenetik yanıt	-% 1-35 Ph +metafaz
Minör sitogenetik yanıt	-%36-65 Ph +metafaz
Minimal sitogenetik yanıt	-%66-94 Ph +metafaz
Sitogenetik yanıt yok	-%95 Ph +metafaz
Major moleküler yanıt	-BCR-ABL:ABL≤%0.1 uluslararası ölçekte
Tam moleküler yanıt	-BCR-ABL RT-Q-PCR transkript saptanmaması

İmatinibe optimal yanıt üçüncü ayda tam hematolojik yanıt ve en az minör sitogenetik yanıt olması (Ph +<%65), altıncı ayda en az kısmi sitogenetik yanıt olması (Ph+<%35), 12. ayda tam sitogenetik yanıt olması ve 18. ayda major moleküler yanıt olması (BCR-ABL: ABL≤%0,1) olarak tanımlanır.

Tedaviye yanıtızlık, 3. ayda inkomplet hematolojik yanıt olması, 6. ayda sitogenetik yanıt olmaması (Ph +>%95), 12. ayda parsiyel sitogenetik yanıttan daha az yanıt olması (Ph+>%35), 18. ayda tam sitogenetik yanıttan daha az yanıt olması ve tam hematolojik ve sitogenetik yanıtın kaybı olarak tanımlanır. Bu belirtilen kriterlerin dışındaki durumlar suboptimal yanıt olarak değerlendirilir. Tedavi önerileri optimal yanıt sağlanan olgularda tedaviye imatinible devam etme ve 2. kuşak tirozin kinaz inhibitörüne geçmek ve/veya tedaviye yanıtız hastalarda allojenik kök hücre nakli yapılmasıdır. Suboptimal yanıt alınan olgularda, tedaviye aynı dozda veya yüksek imatinible devam edilebilir. Ancak bazı hastalar 2. kuşak tirozin kinaz inhibitörleri için uygun olabilir.

Kronik fazda ilk basamak IM ile tedavi edilen hastaların %95'inde tam hematolojik, %70-80'inde tam sitogenetik yanıt, %50-60'ında ise major moleküler yanıt elde edilir [44, 73-77].

Ortalama toplam sağ kalım 7 yılda %85, progresyonsuz sağ kalım (akselere veya blastik faza ilerleme olmaksızın sağ kalım) %90'ın üzerinde, olaysız sağ kalım

(tedaviye bağılı olmayan şiddetli yan etkiler ve yan etkilerden dolayı tedavi bırakmayı da içeren, herhangi bir olay olmaksızın sağ kalım) %60-70 arasındadır [77].

Progresyon oranı ve tüm olayların oranı zamanla azalır ve 4 yıl sonra bu oran %0-2 aralığındadır [44, 77]. 3. ayda tam hematolojik yanıt alınamamasının sonraki kötü sonuçları gösterdiği ortaya konmuştur [78]. Tam sitogenetik yanıtın alınmasının, herhangi sonraki sonucun en iyi göstergesi olduğu ve yanıtın daha erken alınmasının daha iyi sonraki sonuçları gösterdiği de ortaya konmuştur, buna karşın geç yanıt alınanlarda mükemmel prognoza sahip olabilecekleri göz ardı edilmemelidir [5, 44, 74-77, 79].

Tüm çalışmalar sitogenetik kilometre taşının 12. ve 18. ayda olduğunu işaret etmişlerdir ve 3. ay ve 6. aydaki sitogenetik yanıt da önemlidir. Ek olarak moleküler yanıtın da prognostik değeri ile ilgili görüş birliği vardır. Bununla birlikte moleküler yanıtın zamanı ve derecesinin prognostik değeri halen çok tartışmalıdır. Örnek olarak IRIS çalışmasının [74] ilk analizleri 12. ayda major moleküler yanıtın sağlanmasının daha iyi progresyonsuz sağ kalımı gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak 5. yılda müteakip analizlerde [44] sınırdaki önemi olduğu ortaya konmuştur (%100 ,%98, p=0.11). Aynı çalışmanın son analizinde 18. ayda major moleküler yanıtın, daha uzun 6 yıllık progresyonsuz sağ kalımla ilişkili iken (%98,%88, p=0,01), 12. ayda sağlananlarda böyle bir ilişki mevcut değildi (%94, %93).

BCR-ABL transkript düzeyinde artışın her zaman dikkate alınması ve kontrol edilmesi konusunda görüş birliği olmasına karşın, moleküler yanıt kaybının prognostik değeri tartışmalıdır [76, 80-82]. BCR-ABL kinaz domain nokta mutasyonlarının saptanması her zaman önemlidir. IM'ye dirençli mutasyon olan olgularda, tedavi değişikliği için mutlak endikasyondur [57, 58, 83-89].

Ph (+) hücrelerde gelişen klonal kromozomal anormallikler tanı sırasında saptanırsa uyarıcı faktördür. Ancak klonal kromozomal anormallikler IM tedavisi boyunca gelişirse tedavi yanıtınlığını gösteren faktördür. Tanı sırasında sitogenetik yanıt, progresyonsuz sağ kalım, olaysız sağ kalım, ortalama sağ kalım relatif riski sokal [90] veya Hasford [91] skorları hesaplanarak değerlendirilir.

Tablo 2.4.4.2.2 İmatinib tedavisi: Optimal yanıt, suboptimal yanıt ve başarısızlık kriterleri

	Uyarıcı Faktör	Başarısızlık	Suboptimal Yanıt	Optimal Yanıt
Bazal	Yüksek risk ^a KKA/ Ph + ^b	/	/	/
3.ay	/	THY yok	TSY yok (Ph+>%95)	En az minor SY Ph + ≤ %65
6.ay	/	TSY yok (Ph+ >%95)	Parsiyel SY dan daha az yanıt (Ph+>%35)	En az PSY (Ph+ ≤ %35)
12.ay	MMol yanıtta daha az yanıt	PSY yanıtta daha az yanıt (Ph+> %35)	PSY (Ph+ %1-35)	TSY
18.ay	/	TSY' dan daha az yanıt	MMol yanıtta ^c daha az yanıt	MMol Y ^c
Tedavi süresince, herhangi zaman	bir -Transkript düzeyinde yükselme -Klonal kromozomal anormallikler / Ph- d	-THY kaybı -TSY kaybı -Mutasyonlar ^e -KKA /Ph+ ^b	-MMol yanıt kaybı ^c -Mutasyonlar ^f	Stabil olması ve MMol yanıt iyileşmesi ^c

^a Sokal yada Hasford'a göre yüksek risk

^b Klonal kromozomal anomaliler/ Ph+ hücrelerde

^c BCL-ABL: ABL ≤ %0.1 uluslar arası ölçekte

^d Klonal kromozomal anomaliler/ Ph- hücrelerde

^e BCL-ABL KD mutasyonları/ IM zayıf duyarlı

^f BCL-ABL KD mutasyonları/ IM halen duyarlı

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi ve İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma hastanesinde, Ocak 1999 - Mart 2010 tarihleri arasında KML tanısı ile izlenen hastaların kayıtları geriye dönük olarak incelendi. Klinik ve laboratuvar kayıtları yeterli olup KML ile uyumlu değerleri olan 84 hasta çalışmaya alındı. Hastalarda Ph kromozomu ve BCR-ABL kopya sayısı pozitif idi.

3.1.Hastalar

Daha önceden almış olduğu tedaviye bakılmaksızın, imatinib tedavisi alan tüm Ph (+) KML'li hastalar çalışmaya dahil edildi. İlk basamak tedavi "tanıdan ilk 6 ay içinde" tedavi olarak tanımlandı. Bu tanımlamaya göre hastalar gruplandırıldı; IFN- α , IFN- α ve düşük doz sitarabin(DDS) kombinasyonu , hidroksiüre (HU). Standart 400 mg/gün imatinib mesilat tedavisi verilen hastaların hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıtları ve hastalarda görülen yan etkiler ile önerilen izlem kriterleri ve sıklığına göre izlenip izlenmediği değerlendirildi.

3.2.Hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt değerlendirilmesi ve önerilen izlem sıklığı

Hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıtlar "European Leukemianet" tarafından bildirilen kriterlere göre değerlendirildi [92]. Kan sayımı ve fizik muayene tam hematolojik yanıt elde edilene dek iki haftada bir, sonrasında her üç ayda bir ve GTG bantlama yöntemi ile sitogenetik analiz her 3-6 ayda bir tam yanıt elde edilene dek ve sonrasında her 12 ayda bir yapılması, GTG yöntemi ile sitogenetik değerlendirme yapılamayan hastalara FISH yöntemi kullanılarak da sitogenetik monitorizasyon sağlanması önerilmektedir. Yine moleküler inceleme her 3 ayda bir major moleküler yanıt elde edilene dek, sonrasında 6 ayda bir inceleme önerilmektedir. Bu kriterler esas alınarak hastalar değerlendirildi.

3.2.1. Hematolojik yanıt kriterleri;

Beyaz küre ve trombosit sayısının normale gelmesi ($WBC < 10 \times 10^9$, $Plt < 450 \times 10^9$), periferik yaymada immatür granülosit olmaması, %5 den daha az bazofil olması ve dalağın nonpalpabl olması olarak tanımlandı.

3.2.2. Sitogenetik yanıt kriterleri;

Tam sitogenetik yanıt	-%0 Ph +metafaz
Kısmi sitogenetik yanıt	-% 1-35 Ph +metafaz
Minör sitogenetik yanıt	-%36-65 Ph +metafaz
Minimal sitogenetik yanıt	-%66-94 Ph +metafaz
Sitogenetik yanıt yok	-%95 Ph +metafaz

Olarak tanımlandı (en az 20 metafaz değerlendirilmelidir).

3.2.3. Moleküler yanıt kriterleri;

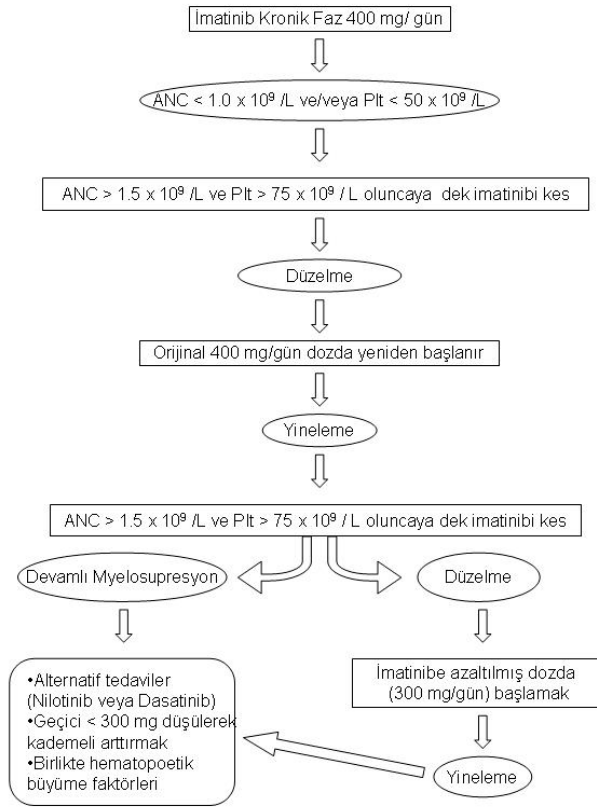
Major moleküler yanıt: BCR-ABL: $ABL \leq 0,1\%$ uluslararası ölçekte (BCR-ABL transkript düzeyinde 3-log azalma).

Tam moleküler yanıt: BCR-ABL RT-Q-PCR transkript saptanmaması olarak kabul edildi.

Hastaların tanı anındaki risk profillerini belirlemek için sokal risk skorlaması kullanıldı.

3.3. Yan etki durumunda önerilen tedavi

Hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıtı olan hastalarda tedaviye aynı dozda devam edilmesi önerilmektedir ve grade 3-4 hematolojik ve non-hematolojik yan etki varlığında ilaç tedavisi kesilmesi veya doz azaltımı önerilmektedir. Yine bu kriterler esas alınarak hastalardaki doz azaltımı veya ilaç kesilmesi durumu değerlendirildi. Grade 3 lökopeni mutlak nötrofil sayısının $< 1 \times 10^9$ ve grade 3 trombosit sayısı $< 50 \times 10^9$ olarak tanımlandı ve bu durumda kılavuzlara göre doz 300 mg/gün'e düşülmesi, kesilmesi veya 2. kuşak tirozin kinaz inhibitörüne geçilmesi önerilmektedir.



Şekil 3.3.1 Hematolojik yan etki varlığında doz azaltımı

Geriye dönük olarak incelediğimiz hastaların hematolojik değerlendirmeleri hemogram, periferik yayma ve fizik muayene ile, sitogenetik incelemeleri klasik GTG bantlama yöntemi ve FISH ile, moleküler yanıtları ise RT-PCR yöntemi ile değerlendirilmiştir.

3.4.Hastaları izlemde kullanılan laboratuvar yöntemleri

3.4.1.Sitogenetik İnceleme

Hastalardan aspire kemik iliğinden 0,3-0,5 ml alındı ve % 20 fetal bovin serum, 2 Mm L-glutamin ve penisilin (100 U/ml)/streptomisin (100 µg/ml) içeren RPMI 1640 bazal medyumda süspense edildi. Hafif karıştırıldıktan sonra 37 °C'deki etüvle inkübe edildi. Kültürün 70.saatinde 0,01 ml (10 µg/ml) colcemid ilave edilerek etüvde 2 saat

kadar bekletildi. Hücrelere 20 dakika kadar 0,075 M KCL muamele edildikten sonra 1/3 glasiyel asetik asit/ metanol fiksatifinde tıkanı. Fiksasyon işlemi üç kere tekrarlandı. Kromozomlar GTG bantlama tekniğiyle bantlandı ve 20-25 metafaz elde edildi. Kromomal anormallikler 'International System For Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) 1995'e göre rapor edildi.

3.4.2. FISH Analizi

İki renkli FISH analizi için lokus spesifik LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe Set (Vysis 32-191032) ve LSI BCR/ABL ES Dual Color, Translocation Probe Set (Vysis 32-191022) kullanılmıştır. Preparatlar sırasıyla %100-70-50-30'luk alkol serisinden ve 0.1XSSC solüsyonundan geçirilerek dehidre edilmiş ve 700 °C deki 2XSSC solüsyonuna alınarak daha sonra 0.07M' lık NaOH solüsyonunda denatüre edilmiştir. Denatürasyonu takiben preparatlar sırasıyla +40 °C de 1XSSC - +40 °C de 2XSSC solüsyonunda bekletilmiş ve alkol serilerinden geçirilerek kurumaya bırakılmıştır. Denatüre edilen preparatlarda belirlenen 18x18 mm'lik alanlara prob eklenmiş ve üzerlerine lamel kapatılmış, 37 °C de bir gece hibridizasyona bırakılmıştır. Hibridizasyon sonrasında preparatlara post hibridizasyon yıkama yapılmış ve 4XSSC/DAPI solüsyonu/antifade ile yüzey boyası uygulanarak inceleme için hazır hale getirilmiştir. Preparatlarda hibridize edilen alan içinde kalan tüm metafaz plakları ve en az 200 interfaz nükleusu BCR-ABL pozitifliği açısından değerlendirilmiştir. Değerlendirme Zeiss Axioskop (Zeiss, Jena, Germany) floresan mikroskobu Applied Imaging Sistemi ile yapılmıştır. Yanlış pozitif interfaz sayısı (cut off) demir eksikliği anemisi nedeni ile kemik iliği yapılmış bireylerden hazırlanan preparatlardan elde edilen verilerden hesaplanmıştır. Direkt çalışma sonucu elde edilmiş interfaz hücrelerine yapılan FISH analizi sonucu yanlış pozitiflik oranı %2 olarak belirlenmiştir.

3.4.3.Moleküler Analiz; Bcr-Abl transkript Düzeylerinin Saptanması

EDTA'lı tüpe alınmış tam kandan RNA izolasyonu (Roche-highpure RNA izolasyon kit):

1-Lökosit Eldesi(RBC Lizis Buffer)

1,5 ml'lik eppendorf tüpüne 1 ml RBC lizis buffer solüsyonu alındı, üzerine 500 µL kan eklendi, elde karıştırıldı. 10 dk karıştırıcıda oda sıcaklığında bekletildi, 2500 rpm'de 5 dk santrifüj edildi, dipte bir lökosit çökeltisi elde edildi. O çökeltiyeye dokunmadan üsteki berrak sıvı pipetle toplandı ve atıldı. Lökosit çökeltisi üzerine tekrar 1 ml RBC buffer eklendi, parmakla vurularak çökelti çözüldü. 2500 rpm' de 3 dk santrifüj edildi. Tekrar üsteki sıvı pipetle atıldı, kalan lökosit çökeltisinin üzerine 200 µL pbs (fosfat buffer salin) eklendi ve çökelti süspanse hale getirildi. Böylece 200 µL lökosit süspansiyonu elde edilmiş oldu.

2-RNA İzolasyonu

Lökosit süspansiyonu üzerine lysiz-binding buffer eklendi ve iyice karıştırıldı. Daha sonra bu karışım filtreli ve toplama kabı olan başka bir tüpe alındı, 10.000 rpm'de 15 sn santrifüj edildi. Alttaki toplama tüpündeki sıvı döküldü, aynı tüp filtreli tüpe tekrar takıldı. Başka bir eppendorf tüpünde 90 µL DNAaz buffer ile 10 µL DNAaz I karışımı hazırlandı ve bu karışım filtreli tüpe eklendi. 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Sonra 500 µL wash-buffer-ber eklendi, 10.000 rpm'de 15 sn santrifüj edildi. Toplama tüpündeki sıvı döküldü, tüp tekrar filtreli tüpe takıldı. Sonra 500 µL wash-buffer eklendi ve 10.000 rpm'de 15 sn santrifüj edildi. Altta biriken sıvı döküldü, tüp tekrar filtreli tüpe takıldı ve yine aynı solüsyondan 200 µL tekrar eklendi. 2 dk maksimum hızda santrifüj edildi, toplama tüpü sıvı ile beraber atıldı. Filtreli tüpe steril 1,5 ml'lik eppendorf tüpü takıldı, 100 µL elution buffer eklendi ve 10.000 rpm'de 1dk santrifüj yapıldı. Filtreli tüp atıldı ve eppendorf tüpünde RNA hazır hale getirildi.

3-t(9;22) (Light cycler t(9;22)quantification kiti): cDNA aşaması

Kitin içinden çıkan üç standart için pozitif kontrol ve hastalar için birer 0,2 ml'lik PCR tüpleri alındı. Bu çalışmalar buz üzerinde yapıldı (+4 dereceye ulaşmak için). Hepsinden 10'ar µL tüplere alındı, thermocyclerda 65 ° C'de 10 dk kadar bekletildi. cDNA karışım miski hazırlandı (water=4,355 µL, RT buffer=4 µL, Random primer=0,22 µL, Dntp miksi=0,4 µL, RNAaz inhibitör= 0,4 µL). Bu mikstden her bir 0,2'lik tüpe 10 µL eklendi, pipetle karıştırıldı ve tekrar thermocyclera götürüldü. PCR

protokolü uygulandı(60 dk-37 °C, 10 dk-65 ° C, 10 dk-4°C). Bu aşamadan sonra cDNA elde edilmiş oldu.

4-Light cyclers (LC) aşaması

LC için 2 farklı mikst hazırlandı; biri G6PDH miski ve diğeri BCR-ABL miski. Her bir örnek için iki tane LC kapiller tüpü alındı. 5 µL c DNA, ilaveten 15 µL G6PDH ve BCR-ABL alındı. Real Time PCR yöntemiyle çalışan LC cihazına yüklendi çalışma bittikten sonra quantifikasyon analizi yapıldı. Analiz sonrası BCR-ABL değeri olanlar pozitif, olmayanlar negatif kabul edildi. Pozitif olanlara sonuçlar verilirken BCR-ABL değeri G6PDH değerine bölündü.

Parametrik verilerin değerlendirilmesinde ortalama \pm standart sapma hesaplandı (sd) ve değişkenler bu esasa göre verildi.

3.5.İstatistiksel analiz

Veriler ortalama \pm Standart sapma (SD) veya yüzde (%) olarak sunuldu. Analiz edilen gruplardaki hasta sayısının 30'un altında olmasından dolayı, non parametrik testler uygulandı. Gruplar arasındaki farklılık için Kruskal Wallis testi kullanıldı. Gruplar arasında farklılık olduğunda Mann Witney U testi kullanılarak ikişerli karşılaştırmalar yapıldı. Değişkenler arası ilişkilerin test edilmesinde Spearman's korelasyon analizi uygulandı. Veriler SPSS 15,0 paket programı kullanılarak yapıldı. P değeri <0,05 anlamlı olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1. Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri

Çalışmaya toplam 84 hasta alındı. Hastaların 44'ü kadın (%52.4), 40'ı erkek (%47.6) idi. Yaşları 22-83 arasında ve ortanca yaş 54.5 yıl olarak saptandı. Ortalama takip süreleri 47,4 ay ve tanı anında hastaların 80'i kronik fazda (%95.2), dört hasta akselere fazda (%4.8) idi. 84 hasta arasında hematolojik yanıt ortalama 2.42 ayda sağlandı.

Tablo 4.1.1 Hastaların cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Sıklık	Yüzde (%)
Kadın	44	52,4
Erkek	40	47,6
Toplam	84	100,0

Tablo 4.1.2 Tanı sırasındaki hastalık evresi

Evre	Sıklık	Yüzde(%)
Kronik faz	80	95,2
Akselere faz	4	4,8
Blastik faz	-	-
Toplam	84	100,0

Tablo 4.1.3 Hastaların imatinib öncesi almış olduğu tedavi

Tedavi	Sıklık	Yüzde(%)
Hidroksiüre	47	56,0
Tedavi almayan	21	25,0
IFN - Hidroksiüre	7	8,4
IFN - Hidroksiüre- ARA-C	4	4,8
IFN	2	2,4
IFN - ARA-C	2	2,4
ARA-C	1	1,2
Toplam	84	100,0

Tablo 4.1.4 Sokal risk skoruna göre hastaların dağılımı

Sokal skoru	Sıklık	Yüzde (%)
Düşük risk	24	30,4
Orta risk	37	46,8
Yüksek risk	18	22,8
Total	79	100,0

Sokal risk skoruna göre çalışmalarla benzer şekilde hastaların sadece % 22.8'i yüksek risk grubunda saptandı.

Tablo 4.1.5 Tanı sırasındaki hemoglobin düzeyi

Hemoglobin(mg/dl)	Sıklık	Yüzde (%)
Hb < 12	53	63,1
Hb > 12	31	36,9
Toplam	84	100,0

Tablo 4.1.6 Tanı sırasındaki WBC düzeyi

Lökosit($10^9/L$)	Sıklık	Yüzde (%)
Wbc < 10	4	4,8
Wbc 10 - 49,9	19	22,6
Wbc > 50	61	72,6
Toplam	84	100,0

Tablo 4.1.7 Tanı sırasındaki trombosit düzeyi

Plt($10^9/L$)	Sıklık	Yüzde (%)
Plt < 450	44	52,4
Plt 450 - 699	20	23,8
Plt > 700	20	23,8
Toplam	84	100,0

Tanı sırasında hastaların %72,6'da (61 hasta) beyaz küre sayısı beklenildiği şekilde 50×10^9 üzerideydi, bu da hastaların en çok rutin laboratuvar tetkikleri sırasında saptanması ve yüksek lökosit sayısının gözden kaçmaması ile

ilişkilendirilmiştir. Yine beklenildiği şekilde hastalarda tanı sırasında hafif bir anemi izlenmiştir ve hastalarda trombosit sayımları normal aralıklarda gözlenmiştir.

4.2. Hastaların hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt oranları

Tablo 4.2.1 3. Aydaki hematolojik yanıt

Hematolojik yanıt	Sıklık	Yüzde (%)
Var	74	88,1
Yok	10	11,9
Toplam	84	100,0

Tablo 4.2.2 3. Aydaki moleküler yanıt

Moleküler yanıt	Sıklık	Yüzde (%)
Major Yanıt	4	14,3
Tam Yanıt	10	35,7
Yanıt Yok	14	50,0
Toplam	28	100,0

Tablo 4.2.3 3. Aydaki sitogenetik yanıt

Sitogenetik yanıt	Sıklık	Yüzde (%)
Komplet Sitogenetik Yanıt (0 Ph +)	21	42,9
Parsiyel Sitogenetik Yanıt (1 - 35 Ph +)	7	14,3
Minor Sitogenetik Yanıt (35 - 65 Ph +)	3	6,1
Minimal Sitogenetik Yanıt (66 - 94 Ph +)	3	6,1
Sitogenetik Yanıt Yok (Ph > 95)	9	18,4
Yetersiz Mitoz	6	12,2
Toplam	49	100,0

3. ayda hastaların %88,1'inde (74 hasta) hematolojik yanıt elde edilirken, moleküler inceleme yapılan 28 hastada tam moleküler yanıt oranı %35,7 (10 hasta), major moleküler yanıt oran ise %14,3 (4 hasta) olarak saptandı. 3. ayda 49 hastada sitogenetik inceleme yapılmıştı; tam sitogenetik yanıt oranı %42,9 (21 hasta),

parsiyel sitogenetik yanıt oranı %14,3 (7 hasta) olarak bulundu. Dokuz hastada (%18,4) 3. ayda sitogenetik yanıt elde edilemedi.

Tablo 4.2.4 6. Aydaki hematolojik yanıt

Hematolojik yanıt	Sıklık	Yüzde (%)
Var	69	90,8
Yok	7	9,2
Toplam	76	100,0

Tablo 4.2.5 6. Aydaki moleküler yanıt

Moleküler yanıt	Sıklık	Yüzde (%)
Major Yanıt	11	33,3
Tam Yanıt	11	33,3
Yanıt Yok	11	33,3
Toplam	33	100,0

Tablo 4.2.6 6. Aydaki sitogenetik yanıt

Sitogenetik yanıt	Sıklık	Yüzde (%)
Compleat Sitogenetik Yanıt (0 Ph +)	31	64,6
Parsiyel Sitogenetik Yanıt (1 - 35 Ph +)	5	10,4
Minimal Sitogenetik Yanıt (66 - 94 Ph +)	2	4,2
Sitogenetik Yanıt Yok (Ph > 95)	6	12,5
Yetersiz Mitoz	4	8,3
Toplam	48	100,0

6. ayda hastaların %90,8'inde (69 hasta) hematolojik yanıt elde edilirken, moleküler inceleme yapılan 33 hastada tam moleküler yanıt oranı %33,3 (11 hasta), major moleküler yanıt oran ise %33,3 (11 hasta) olarak saptandı. 6 ayda 48 hastada sitogenetik inceleme yapılmıştı; tam sitogenetik yanıt oranı %64,6 (31 hasta), parsiyel sitogenetik yanıt oranı %10,4 (5 hasta) olarak bulundu. 6 hastada (%12,5) sitogenetik yanıt elde edilemedi.

Tablo 4.2.7 12. Aydaki hematolojik yanıt

Hematolojik yanıt	Sıklık	Yüzde (%)
Var	66	93,0
Yok	5	7,0
Toplam	71	100,0

Tablo 4.2.8 12. Aydaki moleküler yanıt

Moleküler yanıt	Sıklık	Yüzde (%)
Major Yanıt	14	33,3
Tam Yanıt	21	50,0
Yanıt Yok	7	16,7
Toplam	42	100,0

Tablo 4.2.9 12. Aydaki sitogenetik yanıt

Sitogenetik yanıt	Sıklık	Yüzde (%)
Compleat Sitogenetik Yanıt (0 Ph +)	43	75,4
Parsiyel Sitogenetik Yanıt (1 - 35 Ph +)	3	5,3
Minor Sitogenetik Yanıt (35 - 65 Ph +)	3	5,3
Minimal Sitogenetik Yanıt (66 - 94 Ph +)	1	1,8
Sitogenetik Yanıt Yok (Ph > 95)	4	7,0
Yetersiz Örnek	3	5,3
Toplam	57	100,0

12. ayda hastaların %93,0'inde (66 hasta) hematolojik yanıt elde edilirken, moleküler inceleme yapılan 42 hastada tam moleküler yanıt oranı %50,0 (21 hasta), major moleküler yanıt oran ise %33,3 (14 hasta) olarak saptandı. 12 ayda 57 hastada sitogenetik inceleme yapılmıştı; tam sitogenetik yanıt oranı %75,4 (43 hasta), parsiyel sitogenetik yanıt oranı %5,3 (3 hasta) olarak bulundu. Dört hastada (%7,0) sitogenetik yanıt elde edilemedi.

Tablo 4.2.10 18. Aydaki hematolojik yanıt

Hematolojik yanıt	Sıklık	Yüzde (%)
Var	62	96,9
Yok	2	3,1
Toplam	64	100,0

Tablo 4.2.11 18. Aydaki moleküler yanıt

Moleküler yanıt	Sıklık	Yüzde (%)
Major Yanıt	10	26,3
Tam Yanıt	24	63,2
Yanıt Yok	4	10,5
Toplam	38	100,0

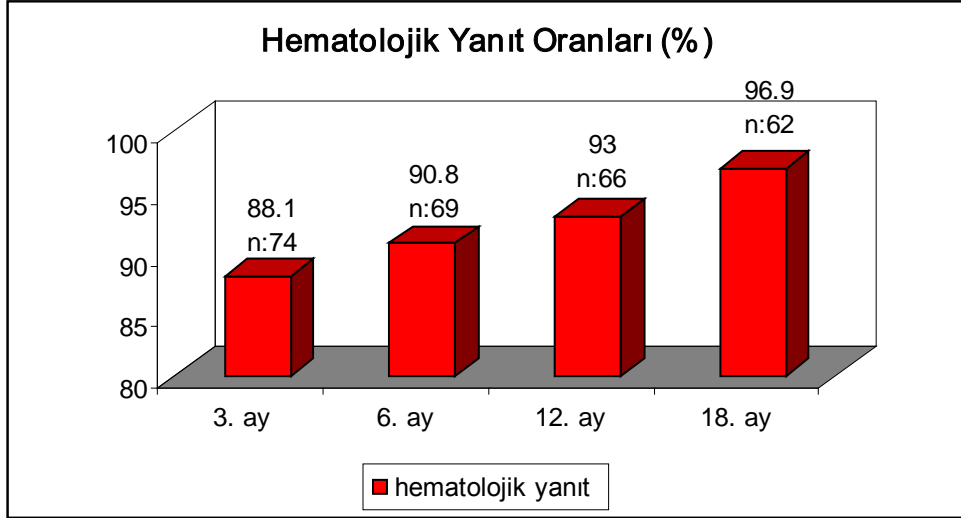
Tablo 4.2.12 18. Aydaki sitogenetik yanıt

Sitogenetik yanıt	Sıklık	Yüzde (%)
Complet Sitogenetik Yanıt (0 Ph +)	46	83,6
Parsiyel Sitogenetik Yanıt (1 - 35 Ph +)	2	3,6
Minimal Sitogenetik Yanıt (66 - 94 Ph +)	1	1,8
Sitogenetik Yanıt Yok (Ph > 95)	6	10,9
Toplam	55	100,0

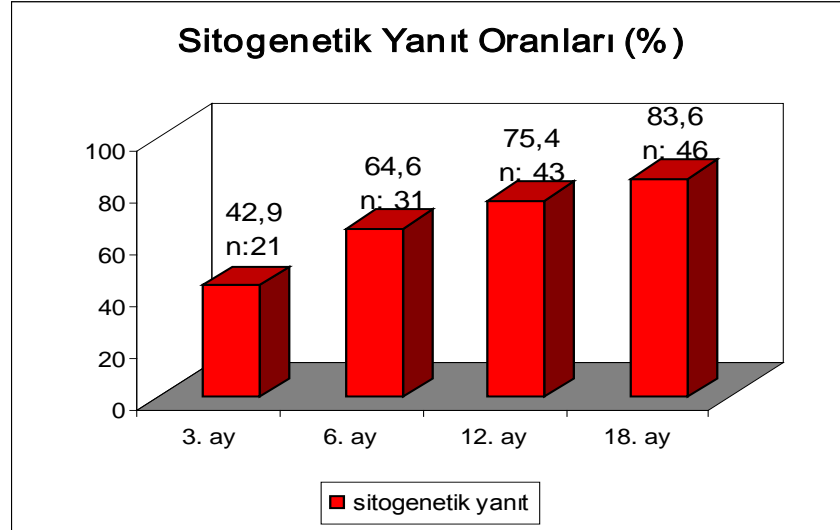
18. ayda hastaların %96,9'unda (62 hasta) hematolojik yanıt elde edilirken, moleküler inceleme yapılan 38 hastada tam moleküler yanıt oranı %63,2 (24 hasta), major moleküler yanıt oranı ise %26,3 (10 hasta) olarak saptandı. 18. ayda 55 hastada sitogenetik inceleme yapılmıştı; tam sitogenetik yanıt oranı %83,6 (46 hasta), parsiyel sitogenetik yanıt oranı %3,6 (2 hasta) olarak bulundu. Altı hastada (%10,9) 18. ayda sitogenetik yanıt elde edilemedi.

4.3. Hastaların kümülatif hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt oranları

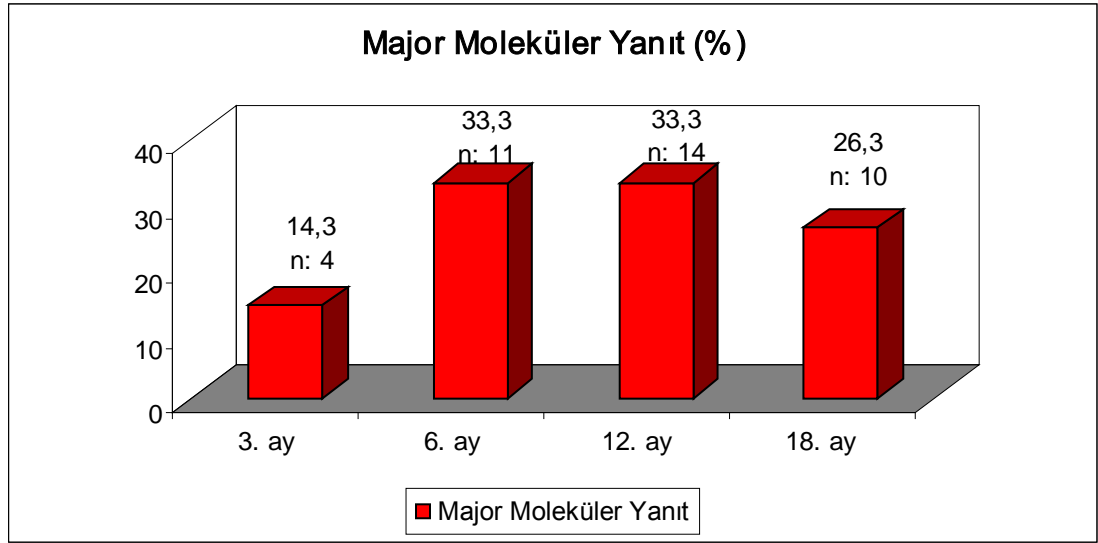
Tablo 4.3.1 Hastaların kümülatif hematolojik yanıt oranları



Tablo 4.3.2 Hastaların kümülatif sitogenetik yanıt oranları



Tablo 4.3.3. Hastaların kümülatif moleküler yanıt oranları



Tablo 4.3.4. Ortalama sağ kalım ve 3.aydaki hematolojik yanıtın, moleküler ve sitogenetik yanıt ile korelasyonu

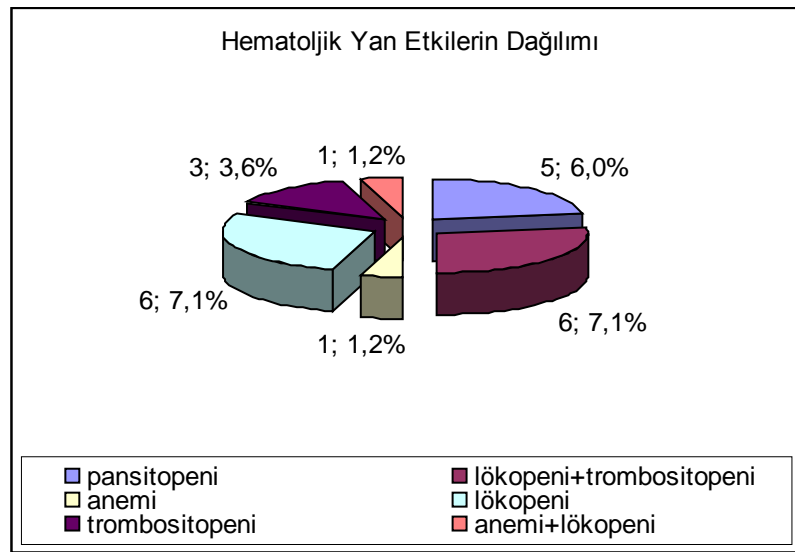
	Sağkalım		Cinsiyet		3.ay HY		12. ay HY		12. ay MY		12. ay SY		18. ay SY	
	p	r	P	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r
Cinsiyet	,28	-,11												
3.ay HY	,20	,14	,93	,009										
12. ay HY	,49	-,08	,62	,05	,002	,361								
12. ay MY	,006	,417	,33	-,152	,197	,211	,60	,08						
12. ay SY	,238	-,159	,616	,06	,004	,388	,86	,02	,87	-,02				
18. ay SY	,005	,371	,190	-,180	,407	,116	,61	,07	,11	,28	,006	,402		
18. ay MY	,178	,223	,568	-,09	,041	,338	,652	,07	,62	,07	,48	,124	,016	,399

r: korelasyon katsayısı

Tablo 4.3.4'de görüldüğü gibi ortalama sağkalım ile 12.ay moleküler yanıt ve 18.ay sitogenetik yanıt arasında korelasyon mevcuttur (p= 0,006, p= 0,005 sırasıyla). Ayrıca 3.aydaki hematolojik yanıt ile 12.aydaki hematolojik yanıt, 12.aydaki sitogenetik yanıt ve 18.aydaki moleküler yanıt arasında korelasyon mevcuttur (p= 0,002, p=0,004, p=0,041 sırasıyla). Yine 18.aydaki moleküler yanıt ile 18.ay sitogenetik yanıt arasında korelasyon mevcuttur.

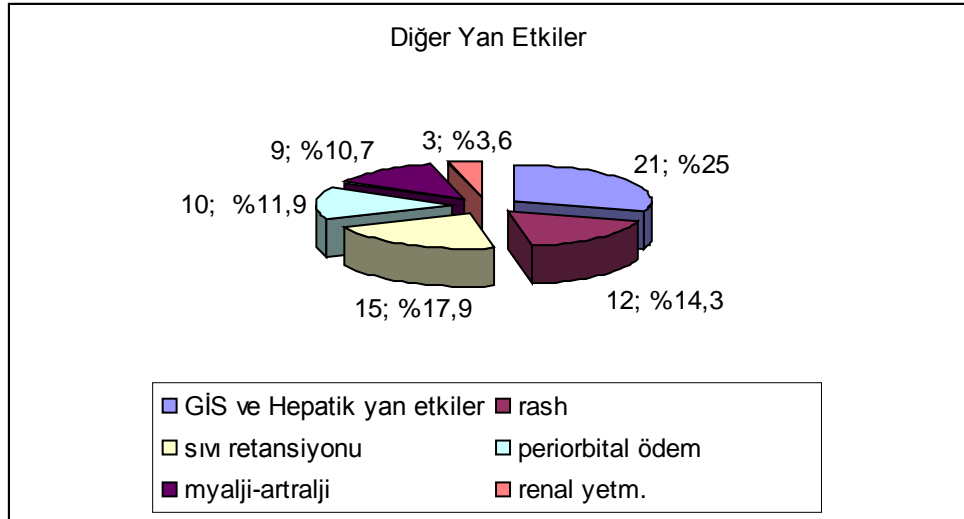
4.4. Hematolojik ve diğer yan etkilerin dağılımı

Tablo 4.4.1 Hastaların hematolojik yan etki oranları



Hastalar görülen hematolojik yan etkiler açısından değerlendirildiğinde; toplam hematolojik yan etki oranı %26,2, pansitopeni % 6,0, lökopeni oranı %7,1, lökopeni ve trombositopeni %7,1, trombositopeni oranı %3,6, anemi %1,2 ve anemi ve lökopeni % 1,2 oranında gözlemlendi.

Tablo 4.4.2 Hastaların hematolojik olmayan yan etki oranları



Hastalar görülen diğer yan etkiler açısından değerlendirildiğinde; 21 hastada gastrointestinal sistem ve hepatik yan etkiler (%25), 15 hastada süperfisiyel ödem (%17,9), 12 hastada rash (%14,3), 10 hastada periorbital ödem (%11,9), dokuz hastada miyalji-artralji-kas krampları (%10,7), üç hastada böbrek yetmezliği (%3,6) ve bir hastada kalp yetmezliği (%1,2) gözlemlendi.

İmatinib tedavisi altında hastalardan bir hasta akselere faza, bir hasta blastik faza geçti. 13 hastanın imatinib tedavisi değiştirildi (%16,7). Üç hastanın yan etki, dokuz hastanın ilaç direnci, bir hastanın yan etki ve ilaç direnci nedeniyle ilacı değiştirildi. Dört hasta Dasatinib, sekiz hasta Nilotinib, bir hasta ise Nilotinib ardından dirençli olması nedeniyle Dasatinib tedavisi aldı. Hastaların ortalama sağ kalım süreleri 48,54 ay (3-132 ay), tedavi başarısızlığına kadar geçen süre ise ortalama 30,67 ay (9-61 ay) olarak saptandı.

5.TARTIŞMA

KML, hematopoetik kök hücrenin klonal, malign bir hastalığı olup, 9 ve 22 nolu kromozomların uzun kolları arasında, normal BCR ve ABL genlerinin anormal yerleşimi ile sonuçlanan translokasyon t(9;22), Ph kromozomu ile karakterizedir [15]. Sonuçta ortaya çıkan BCR-ABL füzyon proteini, lösemik transformasyondan sorumlu temel tirozin kinaz aktivitesine sahiptir [93].

Yaklaşık 40 yıl önce tanımlanan Ph kromozomunun keşfinden bu yana KML'nin tedavisinde ve prognozunda anlamlı değişiklikler kaydedilmiştir. Tedavideki küratif yöntem AHHN olmakla birlikte bir tirozin kinaz inhibitörü olan imatinib de tedavi seçenekleri arasına girmiş ve hedeflenmiş tedavide yeni bir çığır açmıştır. Bu durum transplantasyon yapılma hızlarını da etkilemiş ve yeni tanı KML olgularında transplantasyon yapılma hızlarını belirgin derecede azaltmış, transplanta kadar geçen süre de uzamıştır.[94]

1996'da bir dönüm noktası olarak Druker, bir tirozin kinaz inhibitörü olan imatinib mesilatın BCR-ABL pozitif hücre serisinin sağ kalımı ve büyümesi üzerine etkisini tanımladıktan sonra, yürütülen klinik çalışmalar KML tedavisinde bu ilacın kullanılmasına yol açmıştır [47] . İmatinib BCR-ABL tirozin kinazının ATP bağlanma noktasını bloke eder. Aslında BCR-ABL dışında c-Kit ve PDGF reseptörü için de inhibitör etkilidir. BCR-ABL inhibisyonu ile hücre içi sinyal iletiminde görevli proteinlerin fosforilasyonu önlenir.

Haziran 1998'de Druker ve arkadaşları tarafından imatinibin etkinlik ve güvenliğini araştırmak amacı ile bir faz 1 çalışması planlanmıştır [71]. IFN-α'ya yanıt olmayan veya ilacı tolere edemeyen 83 hasta çalışmaya alınmıştır. 300 mg ve üzeri doz alan 54 hastanın 53'ünde (%98) tedavinin ile dört haftasında normal lökosit ve trombosit sayısının elde edildiği görülmüştür. Sitogenetik yanıtlar ortalama 300 mg ve üzeri doz alan 54 hastada değerlendirilmiştir. 29 hastada (%54) sitogenetik yanıt elde edilmiştir. Tedavi başlangıcından sitogenetik yanıt oluşuncaya kadar geçen süre IFN-α'ya göre imatinib ile daha kısadır. Bu çalışmada maksimal efektif doz sınırı 300 mg/gün olarak belirlenmiş, bu doz ve daha üzeri dozlarda tedavi alanlarda tam hematolojik cevap oranı %98 olarak saptamıştır.

IFN- α 'a dirençli KML hastalarında Kantarjian ve arkadaşları [4] yaptıkları bir faz II çalışmada hastaların %95'inde tam hematolojik yanıt elde etmişlerdir.

Yine erken kronik faz KML'li 204 hastanın alındığı, tek merkezli bir diğer çalışmada tam hematolojik yanıt oranı % 98 olarak bulunmuştur [76].

O'Brien ve arkadaşları, prospektif, randomize, çok merkezli yapılan bir Faz-3 çalışmada (IRIS-International Randomised Study of interferon and ST571) rekombinant IFN- α ve düşük doz sitarabin'den oluşan kombinasyon ile imatinib in etkileri yeni tanı kronik faz KML'li hastalarda karşılaştırılmıştır [5]. Çalışmanın primer son noktası hastalık progresyonudur. Sekonder son noktaları ise tam hematolojik yanıt oranı ve major sitogenetik yanıt oranıdır. Her grupta 553 olmak üzere toplam 1106 hasta çalışmaya alınmıştır. İmatinib grubunda tam hematolojik yanıt oranı daha yüksek bulunmuştur (%95,3'e karşı %55,5).

Hematolojik yanıt oranlarımız imatinib ile ilgili en önemli çalışma olan IRIS çalışması ve yapılan bahsettiğimiz diğer çalışmalarla benzer bulunmuştur [5]. Bizim çalışmamızda tam hematolojik yanıt oluşana kadar geçen süre ortalama 2.42 ay olmasına karşın yapılan bir çalışmada ortalama 1 ay (aralık 9-72 gün) olarak bulunmuştur [95].

Yapılan çalışmalarda 3.ayda tam hematolojik yanıt sağlanamamasının daha sonraki kötü sonuçları gösterdiği ortaya konulmuştur [78].

Çalışmamızda da benzer şekilde 3.ayda tam hematolojik yanıt elde edilenlerde 12.ayda daha iyi sitogenetik yanıt elde edildiği görülmüştür (p= 0,004). Ayrıca yine 3.ayda tam hematolojik yanıt alınanlarda 18.ayda daha iyi moleküler yanıt elde edilmiştir (p= 0,041)

IRIS çalışmasında gözlenen en iyi sitogenetik yanıt oranlarına bakıldığında major sitogenetik yanıt oranı %85 ve tam sitogenetik yanıt oranı %74 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar bizim çalışmamızla benzer olmakla birlikte çalışmamızda gözlenen tam sitogenetik yanıtların daha iyi olması, IRIS çalışmasında daha fazla hasta olması yanı sıra akselere ve blastik fazdaki hasta sayısının daha çok olması ile ilişkili olabilir.

Çin popülasyonunda yapılan ve 102 kronik faz ve 14 akselere faz KML'li hastanın alındığı bir diğer çalışmada 12. ayda majör sitogenetik yanıt oranı %72 ve tam sitogenetik yanıt oranı ise % 62 olarak bulunmuştur [96].

Kantarjian ve arkadaşları [97] ilk basamak tedavisi olarak imatinib alan 187 olguların sonuçlarını interferon alan olgularla karşılaştırdığı bir çalışmada sitogenetik yanıt oranları imatinib alanlarda daha iyi bulunmuştur.

Yine erken kronik faz KML'li hastaların alındığı ve 204 hastadan oluşan tek merkezli bir çalışmada tam sitogenetik yanıt oranı ise %78 olarak bulunmuştur[76].

Hasta izlemimizde kullanılan yöntemlere bakıldığında hastaların sitogenetik incelemeleri klavuzlara uygun şekilde GTG bantlama tekniği ile yapılmıştır ancak her incelemede standart olarak kabul edilen metafaz sayısı (yeterli değerlendirme için > 20 metafaz incelenmelidir) yetersiz olmasından dolayı hastaların bazı sitogenetik incelemeleri suboptimal olarak kabul edilmiştir. Ayrıca bazı hastalarda yapılan FISH tekniği ile yapılan inceleme Ph negatif hücreleri görmemize olanak sağlamadığından dolayı rutin olarak önerilmemektedir. Bu şekilde izlem hem optimal standartlarda olmayacak, hem de ek maliyet getirecektir.

Bizim çalışmamız moleküler yanıtlar açısından değerlendirildiğinde, 12. ayda major yanıt %33, tam yanıt %50 ve 18. ayda bakılan moleküler yanıt oranları ise major yanıt %26 ve tam yanıt %63 oranında bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada 12. ayda tam moleküler yanıt oranı %48 olarak bulunmuştur [96].

O'Brien ve arkadaşları [5] yaptıkları çalışmada yeni tanı kronik faz KML'li 1.yılda major sitogenetik cevabı olan 124 hastanın 66'sında (%53), 4. yılda ise 124 hastanın 99'unda (%80) major moleküler yanıt saptanmış, bu hastalarda progresyonsuz sağ kalım oranının daha iyi olduğu bildirilmiştir.

Yine bir diğer tek merkezli çalışmada ise major moleküler yanıt oranı %50 olarak bulunmuştur[76].

Burada vurgulamak istediğimiz önemli bir nokta ise moleküler yanıt değerlendirmemizde olan eksikliklerdir. Önceki yıllarda moleküler yanıt izlemimizde yöntem olarak RT-PCR kullanılmasına karşın, kantitatif inceleme yapılamamıştır. Bu dönemde hastalardaki moleküler yanıtlar tam yanıt veya yanıt yok (BCR-ABL düzeyi: pozitif veya negatif) şeklinde değerlendirilmiştir. Bu nedenle tam yanıt olarak verilen sonuçlarda BCR-ABL transkript düzeyi anlaşılamamış ve tam yanıt olarak değerlendirilen çoğu hastanın aslında major moleküler yanıtta sahip olabileceği sonucunu doğurmuştur. Ayrıca moleküler yanıtların bir önceki değerlendirmelerle kıyaslama yapılamaması, moleküler yanıtında bozulma olan hastaların gözden

kaçırılmasına neden olmuş, tedavi değişikliği yapılacak olan (2.kuşak tirozin kinaz inhibitörü veya AHHN) hastaların tedavisinde geçikmelere neden olmuştur. Bu da hastalara ek morbidite ve ek maliyet getirmektedir. IRIS çalışmasının sekiz yıllık sonuçlarında da 12.ayda doğrulanmış major moleküler yanıtı olan hastaların hiçbirisinde akselere ve blastik faza ilerleme olmadığı vurgulanmıştır. Bu da bundan sonrası için erken moleküler yanıtın önemini vurgulamaktadır. Bu nedenle özellikle tirozin kinaz inhibitörlerinin kullanıma girmesiyle, 'European Leukemianet' tarafından tedaviye yanıt kriterleri ve hastaların izlemi ile ilgili daha net klavuzlar ortaya konulmuştur. Tüm bu bilgiler ışığında moleküler yanıt izleminde uluslararası standarizasyon zorunluluk olarak görülmektedir. Sonuç olarak bizim hastalarımızda sadece son dönemlerde uygun şekilde moleküler inceleme yapılabildiğinden, major moleküler yanıtın kriterlere uygun değerlendirilmesi bir grup hastada yapılmış, diğer grupta ise tanımlanmamıştır ve tam moleküler yanıt olarak değerlendirilen hastaların sonuçları güvenilir olmadığı için ayrıca gruplandırılmıştır.

Bununla birlikte moleküler yanıt zamanı ve derecesi halen çok tartışmalıdır. IRIS çalışmasının [74] ilk analizlerinde 12. ayda major moleküler yanıtı olanlarda daha iyi progresyonsuz sağ kalım olduğunu göstermiştir. Ancak, 5. yılda yapılan takip eden analizlerde [44] sınırdaki önemi olduğu gösterilmiştir (% 100, % 98). Aynı çalışmanın son analizinde ise 18. aydaki moleküler yanıtın, 12. aya göre daha iyi 6 yıllık progresyonsuz sağ kalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (% 88, % 98).

IRIS çalışmasının sekiz yıllık analizlerinin açıklandığı bir çalışmada ise major moleküler yanıt oranı 6.ayda %24'da, 12.ayda %39'a yükselmiş ve sekiz yılda ulaşılan en iyi major moleküler yanıt oranı %86 olmuştur, ayrıca 12.ayda doğrulanmış major moleküler yanıt sağlanan hiçbir hasta akselere / blastik faza progresse olmadığı gösterilmiştir [98].

Sonuçta IRIS çalışması, hastaların uzun süreli iyi sonuçlarını göstermede tam sitogenetik yanıtın ve major moleküler yanıtın kritik terapötik kilometre taşı olduğunu göstermiştir[74, 77, 99]. Yani 12.ayda tam sitogenetik yanıt ve major moleküler yanıt sağlandığında, uzun dönemde olay ve progresyon gelişim riskinin çok düşük olduğu öngörülebilir.

Bizim çalışmamızda da 12.ayda moleküler yanıt alınan hastaların toplam sağkalım süresi daha uzun bulunmuştur (p= 0,006). Ayrıca 18.ayda sitogenetik yanıt

alınan hastaların daha uzun toplam sağkalıma sahip oldukları öngörülebilir ($p=0,005$). Ancak bu ilişki 12.aydaki tam sitogenetik yanıt ile sağlanamamıştır ($p=0,2$)

Bizim çalışmamızda imatinib tedavisine yanıt vermeyen 13 hastadan 8'inde tedaviye nilotinib, 4'ünde dasatinib ile tedaviye devam edildi. Bir hastada ise nilotinib ve nilotinib ile de yanıt olmaması sebebi ile dasatinib tedavisine geçildi.

İlk tirozin kinaz inhibitörü olan imatinib mesilatın klinik kullanıma girmesinin neredeyse bir dekad olmasından dolayı, daha çok hasta ile ve daha uzun takip süresi ile imatinib tedavisi hakkında çok daha fazla bilgiye ulaşılır hale gelinmiştir, direnç mekanizmaları ve nedenleri daha iyi anlaşılmıştır. Tedaviye dirençli olan hastalarda yüksek doz imatinibin yanıtları, iyileştirme yeteneği KML tanısı konanlarda tedaviye daha yüksek dozda başlanması gerekip gerekmediği sorusunun sorulmasına neden olmuştur. Tedaviye dirençli olan ya da nüks gösteren hastalarda daha yüksek imatinib dozlarının uygulanabilir bir ikinci basamak alternatif olabileceğini düşündürmektedir. Çok sayıda tek kol olarak yapılan çalışmada tedaviye standart 400 mg'dan yüksek dozda başlamanın ve tedavi süresince dozu artırmanın tedavi sonuçlarını iyileştirebileceği gösterilmiştir [100-104].

Tümü sokal skoruna göre yüksek riskli 216 hastanın alındığı bir çalışmada 800 mg imatinibin 400 mg ile karşılaştırıldığında 12.ayda major moleküler yanıt (%64, %58) oranında ve tam sitogenetik yanıt (%40, %33) oranında anlamlı üstünlük saptanmamıştır [105].

Sonuç olarak yüksek doz çalışmalarında doz azaltma oranı standart dozdan daha fazla olmuştur ve tedavi maliyeti artmaktadır. Bu nedenle, daha yüksek doz kullanımı tolerabilite, maliyet ve etkinlik arasındaki bir dengeyi içermektedir.

Tedaviye dirençli ve intoleran hastalarda önde gelen seçenekler AKHN ve 2.kuşak tirozin kinaz inhibitörlerinin uygulanmasıdır. SRC ve ABL kinazların inhibitörü olan dasatinib imatinibe dirençli ve imatinibi tolere edemeyen KML hastalarında kullanılmak üzere onaylanmıştır. Preklinik değerlendirmelerde dasatinib imatinibe dirençli 19 BCR-ABL mutantından 18'ini eksprese eden hücrelere karşı aktivite göstermiştir. Tek istisna T315I mutantını taşıyan dizidir. İmatinibe intoleran, kronik fazdaki hastalarda dasatinib ile tam sitogenetik yanıt oranı bir çalışmada %75 [106, 107], bir diğer çalışmada ise %63 bulunmuştur [108] . Kronik faz KML'li 45 hastanın

alındığı bir pilot çalışmada, dasatinib ilk basamak tedavi olarak kullanılmış ve hastaların 6. aydaki tam sitogenetik yanıt oranı %93 olarak bulunmuştur [109].

Bir diğer tirozin kinaz inhibitörü olan nilotinib, BCR-ABL otofosforilasyonunu inhibe etmede imatinibden anlamlı derecede güçlü bulunmuştur. Nilotinib ayrıca imatinibe dirençli 33 BCR-ABL mutantından 32'sini eksprese eden hücrelerin büyüme ve proliferasyonunu inhibe etmiştir. Dasatinib'te olduğu gibi BCR-ABL'nin T315I mutantları nilotinibe de dirençlidir. Imatinibe dirençli 194 kronik faz KML'li hasta ile yapılan çalışmada tam sitogenetik yanıt oranı %30 olarak bulunmuştur [110].

Bizim çalışmamızda dirençli hastalarda yüksek imatinib tedavisi kullanılmamış, ikinci kuşak tirozin kinaz inhibitörlerine geçilmiştir. Bunun nedeni tedaviye yanıt oranlarınının 2. kuşak tirozin kinaz inhibitörleri ile daha iyi olması, BCR-ABL mutantlarına etkili olması, yüksek dozda yan etki oranlarında artış nedeni ile tolerebilinenin azalması ve tedaviye devamlılığın daha iyi olması sayılabilir.

Bir hastada gebeliğin 2. trimesterinde KML tanısı konulup, üçüncü trimesterde imatinib tedavisi başlandı. Normal sağlıklı bir bebek dünyaya getirildi. Gebelik sırasında tanı alan maligniteler arasında hematolojik maligniteler oldukça yaygındır. Kronik miyeloid lösemi, gebelikteki lösemilerin %10'undan daha azını oluşturur, tahmini insidans 1/75-100.000'dir. Bir tirozin kinaz inhibitörü olan imatinibin, farelerde ve ratlarda >100 mg üzeri dozlarda organogenez boyunca kullanıldığında teratojenik olduğu gösterilmiştir. Bunlar; exensefali veya ensefalosel ve frontal ve parietal kemiklerin gelişmemesidir [111]. Aktif organogenezin olduğu ilk trimester teratojenite için en kritik perioddur. Choudhary ve arkadaşları gebelik ilk trimesterde imatinib kullanımı ile ilişkili fatal meningosel vakası bildirmiştir [112]. İmatinib kullanılmadığında lökoferez en sık kullanılan ve iyi tolere edilen tedavi stratejisi olmuştur ancak etki süresinin kısa olması dezavantajdır [113]. Hidroksiüre DNA sentezi üzerinde inhibitör etkilerinden dolayı teratojendir [114]. İnterferon- α 'nın DNA üzerine bilinen etkisi yoktur. Ayrıca molekül büyüklüğünden dolayı plasental bariyerden geçemez. Gebelikte interferon kullanımı ile ilgili vaka sunumları şeklinde başarılı gebelikler bildirilmiştir [115].

Bununla birlikte imatinibin gebelikte güvenli olduğuna dair sınırlı sayıda veri vardır [116-124]. Ancak hayvan deneyleri güvenli olmadığını desteklemektedir.

Bizim çalışmamızda yan etki nedeni ile nedeni ilaç değişikliği sadece 4 hastada yapıldı. Bunlardan iki tanesi şiddetli cilt lezyonları nedeni ile, iki hastada ise hematolojik yan etki nedeni ile yapıldı.

İmatinib ile miyelosupresyon yapılan çalışmalarda çeşitli oranlarda gözlenmiştir. Geç konik faz KML'li (post interferon) hastaların alındığı, faz II çalışmasında grade 3/4 nötropeni %35, trombositopeni %20 ve anemi %7 oranında [125], yeni tanı kronik faz KML'li hastaların alındığı bir diğer çalışmada grade 3/4 nötropeni %14, trombositopeni %8 ve anemi %3 [44] oranında görülmüştür. Akselere faz KML'li hastaların alındığı ve 600 mg/gün imatinib kullanılan bir faz II çalışmada grade 3/4 nötropeni %58, trombositopeni %43 ve anemi %39 [126] oranında izlenmiştir. Yine 600 mg/gün imatinib kullanılan ve blastik fazda hastaların alındığı bir diğer çalışmada ise grade 3/4 nötropeni, trombositopeni ve anemi oranları sırasıyla % 64,62 ve 52 [127] olarak saptanmıştır.

Bu çalışmaların sonucunda geç faz KML'li hastalar (post interferon), yeni tanı kronik fazdaki hastalarda karşılaştırıldığında, imatinib ile iki kat fazla oranda grade 3/4 hematolojik toksisite izlenmiştir, hematolojik toksisite ile ilişkili bir diğer faktör de hastalığın evresidir. Bu çalışmalarda miyelosupresyon ilk 12 ay içinde daha sıktır.

Predispozan faktörlere bağlı olarak, geç KML hastalarda miyelosupresyon; anemi öyküsü olan hastalarda, interferona bağlı sitopenileri olan hastalarda ve busulfan tedavisi olanlarda daha sık gözlenir. Ayrıca imatinib tedavisi öncesi sitoredüksiyon için aşırı hidroksiüre kullanımı da miyelosupresyon ile ilişkili bulunmuştur. Miyelosupresyon olmasına karşın nötropenik ateş ve enfeksiyöz komplikasyonlar konvansiyonel kemoterapiye oranla daha az sıklıkta izlenir. Ancak şiddetli ve tekrarlayan miyelosupresyon imatinib ile majör sitogenetik yanıtı sağlamada kötü prognostik faktördür. Şiddetli miyelosupresyon ve tedaviye yetersiz yanıt olan hastalar akselere ve blastik faza transformasyonda çok daha yüksek risklidir [128].

Bu nedenle bizim çalışmamızda hastalık evresinin düşük olması, IFN-a alan hasta grubunun az olması, tedavide busulfan kullanılmaması, hidroksiüre tedavisinin imatinib tedavisi balancaya kadar kısa süreli kullanılması ve erken doz azaltımı yapılması nedeni ile hematolojik yan etkiler yapılan çalışmalardan daha düşük oranda izlenmiştir.

Bizim hastalarımızda da %11,9 oranında izlenen bulantı, imatinibin en sık gözlenen gastrointestinal yan etkisidir. 400/600 mg/gün tedavi alan hastaların %43-65'inde izlenir, yüksek sıklıkta olmasına karşın şiddetli bulantı (derece 3/4) hastaların % 2'sinden daha az sıklıkta izlenir ve doza bağımlıdır[129].

Sıvı retansiyonu da imatinib ile sık gözlenen yan etkiler arasındadır; hastaların çoğunluğunda (%54-65) çeşitli derecede süperfisiyel ödem gözlenir. Sıvı retansiyonu genellikle hafif derecededir (grade 1/2) ve doz bağımlıdır, sıklıkla yüz, periorbital bölge ve bacakların alt bölgesine sınırlıdır. Plevral ve perikardiyal efüzyon, pulmoner ödem, asit ve şiddetli yüzeyel ödem ile sonuçlanan şiddetli sıvı retansiyonu (grade 3/4) kronik fazda oldukça nadirdir (<%1), ancak ileri fazlarda daha sık (>%3) izlenir [130].

Cilt reaksiyonları %40 oranında izlenmiştir.

O'Brien ve arkadaşlarının [5] yaptığı çalışmada periorbital ve periferik ödem sıklığı %60, kas krampları %49, diyare %45, bulantı %50, muskuloskeletal ağrı %47, döküntü ve cilt problemleri %40, abdominal ağrı %37, nötropeni %17, trombositopeni %9 ve anemi %4 oranında izlenmiştir. Bizim çalışmamızda yan etki oranlarının daha düşük olması hasta sayısının daha az olması ve hastaların hafif şiddetli yan etkileri ifade etmemesinden kaynaklanıyor olabilir.

6.SONUÇ

Tirozin kinaz inhibitörlerinin kullanımından önce kronik faz KML'de tek küratif tedavi allojenik kök hücre nakli idi. 1999 yılından sonra AHHN yapılan hasta sayısında belirgin bir düşüş saptanmıştır. IRIS çalışmasının sekiz yıllık sonuçlarının açıklanması ile imatinib ilk basamak tedavi olarak yerini pekiştirmiş ve tedavi önerileri tirozin kinaz inhibitörleri (imatinib, nilotinib ve dasatinib) ve AHHN ile sınırlandırılmıştır. Allojenik kök hücre nakli, sadece akselere veya blastik faz KML'li hastalarda ya da T315I mutasyonu taşıyan ve 2. kuşak tirozin kinaz inhibitörlerine yanıtız hastalarda yerini korumaktadır.

Daha önceden imatinib tedavisi verilmesinin allojenik kök hücre transplantasyon yanıt oranlarını olumsuz etkilemediği gösterilmiştir [131-133]. Ancak nilotinib ve dasatinib ile ilgili böyle bir çalışma mevcut değildir. İmatinib tedavisine standart 400 mg/gün dozunda başlanmalı; tedavi ile yeterli yanıt alındığında, tedaviye ara verilmemelidir.

Yine imatinib mesilatın klinik kullanıma girmesi ile 'European Leukemianet' tarafından hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt kriterleri, yanıtızlık ve suboptimal yanıt kriterleri tanımlanmış ve tedavi monitörizasyonunda standart bir yaklaşım sağlanmıştır.

Sonuç olarak

1. Sitogenetik yanıt değerlendirilmesi: yeterli ve yurt dışı çalışmalarla uyumlu,
2. Moleküler yanıt değerlendirilmesi: uluslararası kriterlerle tam uyumlu değil, uygun olmayan tekniklerle veya hiç bakılmaması söz konusu. Bu anlamda Türkiye için moleküler yanıtın laboratuvar standardizasyonunun gerekliliği bir kez daha ortaya çıkmaktadır. Ayrıca moleküler yanıtın alınamadığı bazı hastalarda imatinib tedavisinin devamı ile hastalık progresyonu söz konusu olabilir.
3. Yeni tirozin kinaz inhibitörlerinin başlangıç tedavisinde kullanımı ile daha erken dönemde moleküler yanıtların değerlendirme zorunluluğu ortaya çıkacaktır.

İmatinib mesilat ve diğer tirozin kinaz inhibitörleri ile daha uzun süreli ve daha çok çalışmalarla, daha çok hasta ve daha uzun süreli deneyimlerle direnç mekanizmaları ve nedenleri daha iyi anlaşılacak ve hastalar daha etkin tedavi edilecektir. Ayrıca moleküler yanıt değerlendirilmesinde tüm dünyada standardizasyon sağlanması ile izlem daha iyi olacaktır. İmatinib mesilat halen ilk basamak tedavi olarak yerini korumaktadır.

7.KAYNAKLAR

1. Fialkow, P.J., R.J. Jacobson, and T. Papayannopoulou, *Chronic myelocytic leukemia: clonal origin in a stem cell common to the granulocyte, erythrocyte, platelet and monocyte/macrophage*. Am J Med, 1977. **63**(1): p. 125-30.
2. Goldman, J.M. and J.V. Melo, *Chronic myeloid leukemia--advances in biology and new approaches to treatment*. N Engl J Med, 2003. **349**(15): p. 1451-64.
3. SL., I.R.a.R., *Chronic myeloid leukemia Wintrobe's Clinical Hematology, 11th Edition, Ch:84, Philadelphia,*. Lippincott Williams and Wilkins Co., 2004;pp:2226-43.
4. Kantarjian, H.M., et al., *Imatinib mesylate for Philadelphia chromosome-positive, chronic-phase myeloid leukemia after failure of interferon-alpha: follow-up results*. Clin Cancer Res, 2002. **8**(7): p. 2177-87.
5. O'Brien, S.G., et al., *Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia*. N Engl J Med, 2003. **348**(11): p. 994-1004.
6. Mazza, JJ. *Chronic Myelogenous Leukemia*. In: Mazza JJ (ed). *Manual of Clinical Hematology. Third ed: Lippincott Williams&Wilkins*. 2002: p. 239-46.
7. Wetzler, M., Byrd JC, Bloomfield CD. *Acute and Chronic Myeloid Leukemia*. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Jameson JL (eds). *Harrison's Principles of Medicine. Sixteenth ed: McGraw-Hill*. 2005: p. 631-41.
8. Quintas-Cardama, A., H. Kantarjian, and J. Cortes, *Targeting ABL and SRC kinases in chronic myeloid leukemia: experience with dasatinib*. Future Oncol, 2006. **2**(6): p. 655-65.
9. Schiffer, C.A., *BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors for chronic myelogenous leukemia*. N Engl J Med, 2007. **357**(3): p. 258-65.
10. Rabinowitz, I., Larson R.S. *Chronic Myeloid Leukemia*. In: Green J.P, Foerster J, Lukens J.N, Rodgers M, Paraskevas F, Glader B (eds). *Windtrobe's Clinical Hematology. 11th ed. Volume 2: Lippincott Williams&Wilkins* 2004: p. 2235-58.
11. Keating, M.J., Kantarjian H *Chronic Leukemias*. In: Goldman L, Ausiello D (eds). *Cecil Textbook of Medicine. 22th ed: Saunder's*. 2004: p. 1150-6.
12. Garcia-Manero, G., et al., *A prognostic score for patients with lower risk myelodysplastic syndrome*. Leukemia, 2008. **22**(3): p. 538-43.
13. Wetzler M, B.J., Bloomfield CD. , *Acute and Chronic Myeloid Leukemia*. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Jameson JL. *Harrison's Principles of Internal Medicine. Sixteenth ed:McGraw-Hill* 2005:61-41.
14. Rowley, J.D., *Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining*. Nature, 1973. **243**(5405): p. 290-3.
15. Kurzrock, R., J.U. Gutterman, and M. Talpaz, *The molecular genetics of Philadelphia chromosome-positive leukemias*. N Engl J Med, 1988. **319**(15): p. 990-8.
16. Specchia, G., et al., *Ph positive acute lymphoblastic leukemia in adults: molecular and clinical studies*. Leuk Lymphoma, 1995. **18 Suppl 1**: p. 37-42.
17. Lydon, N.B. and B.J. Druker, *Lessons learned from the development of imatinib*. Leuk Res, 2004. **28 Suppl 1**: p. S29-38.
18. Melo, J.V., *The diversity of BCR-ABL fusion proteins and their relationship to leukemia phenotype*. Blood, 1996. **88**(7): p. 2375-84.

19. Melo, J.V. and M.W. Deininger, *Biology of chronic myelogenous leukemia--signaling pathways of initiation and transformation*. Hematol Oncol Clin North Am, 2004. **18**(3): p. 545-68, vii-viii.
20. Deininger, M.W., J.M. Goldman, and J.V. Melo, *The molecular biology of chronic myeloid leukemia*. Blood, 2000. **96**(10): p. 3343-56.
21. Faderl, S., et al., *The biology of chronic myeloid leukemia*. N Engl J Med, 1999. **341**(3): p. 164-72.
22. Melo, J.V., *The molecular biology of chronic myeloid leukaemia*. Leukemia, 1996. **10**(5): p. 751-6.
23. Shepherd, P., et al., *Analysis of molecular breakpoint and m-RNA transcripts in a prospective randomized trial of interferon in chronic myeloid leukaemia: no correlation with clinical features, cytogenetic response, duration of chronic phase, or survival*. Br J Haematol, 1995. **89**(3): p. 546-54.
24. Kurzrock, R., et al., *A novel c-abl protein product in Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukaemia*. Nature, 1987. **325**(6105): p. 631-5.
25. Pane, F., et al., *Neutrophilic-chronic myeloid leukemia: a distinct disease with a specific molecular marker (BCR/ABL with C3/A2 junction)*. Blood, 1996. **88**(7): p. 2410-4.
26. Melo, J.V., et al., *P190BCR-ABL chronic myeloid leukaemia: the missing link with chronic myelomonocytic leukaemia?* Leukemia, 1994. **8**(1): p. 208-11.
27. McWhirter, J.R., D.L. Galasso, and J.Y. Wang, *A coiled-coil oligomerization domain of Bcr is essential for the transforming function of Bcr-Abl oncoproteins*. Mol Cell Biol, 1993. **13**(12): p. 7587-95.
28. Gordon, M.Y., et al., *Altered adhesive interactions with marrow stroma of haematopoietic progenitor cells in chronic myeloid leukaemia*. Nature, 1987. **328**(6128): p. 342-4.
29. Puil, L., et al., *Bcr-Abl oncoproteins bind directly to activators of the Ras signalling pathway*. EMBO J, 1994. **13**(4): p. 764-73.
30. Strife, A. and B. Clarkson, *Biology of chronic myelogenous leukemia: is discordant maturation the primary defect?* Semin Hematol, 1988. **25**(1): p. 1-19.
31. Clarkson, B. and A. Strife, *Cytokinetic considerations relevant to development of a successful therapeutic strategy in chronic myelogenous leukemia (CML)*. Leuk Lymphoma, 1993. **11 Suppl 1**: p. 101-7.
32. Verfaillie, C.M., et al., *Pathophysiology of CML: do defects in integrin function contribute to the premature circulation and massive expansion of the BCR/ABL positive clone?* J Lab Clin Med, 1997. **129**(6): p. 584-91.
33. Schlaepfer, D.D., et al., *Integrin-mediated signal transduction linked to Ras pathway by GRB2 binding to focal adhesion kinase*. Nature, 1994. **372**(6508): p. 786-91.
34. Verfaillie, C.M., *Biology of chronic myelogenous leukemia*. Hematol Oncol Clin North Am, 1998. **12**(1): p. 1-29.
35. Sirard, C., P. Laneuville, and J.E. Dick, *Expression of bcr-abl abrogates factor-dependent growth of human hematopoietic M07E cells by an autocrine mechanism*. Blood, 1994. **83**(6): p. 1575-85.
36. McGahon, A., et al., *BCR-ABL maintains resistance of chronic myelogenous leukemia cells to apoptotic cell death*. Blood, 1994. **83**(5): p. 1179-87.
37. Cortez, D., L. Kadlec, and A.M. Pendergast, *Structural and signaling requirements for BCR-ABL-mediated transformation and inhibition of apoptosis*. Mol Cell Biol, 1995. **15**(10): p. 5531-41.

38. Bain, B.J., *An overview of translocation-related oncogenesis in the chronic myeloid leukaemias*. Acta Haematol, 2002. **107**(2): p. 57-63.
39. Brown, R.D., et al., *Stimulation of persisting colonies in agar cultures by sera from patients with CML and AML*. Blood, 1986. **68**(1): p. 37-40.
40. Estrov, Z., et al., *Suppression of chronic myelogenous leukemia colony growth by interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist and soluble IL-1 receptors: a novel application for inhibitors of IL-1 activity*. Blood, 1991. **78**(6): p. 1476-84.
41. I., R., Larson R.S. *Chronic Myeloid Leukemia*. In: Green J.P, Foerster J. Lukens J.N, Rodgers M, Paraskevas F. Glader B (eds). *Wintrobe's Clinical Hematology. 11th ed. Volume 2:Lippincott Williams&Wilkins* 2004: p. 2235-58.
42. Barrett, J., *Allogeneic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia*. Semin Hematol. 2003 Jan. **40**(1): p. 59-71.
43. Giles, F.J., et al., *Phase II study of troxacitabine, a novel dioxolane nucleoside analog, in patients with untreated or imatinib mesylate-resistant chronic myelogenous leukemia in blastic phase*. Leuk Res, 2003. **27**(12): p. 1091-6.
44. Druker, B.J., et al., *Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia*. N Engl J Med, 2006. **355**(23): p. 2408-17.
45. Savage, D.G. and K.H. Antman, *Imatinib mesylate--a new oral targeted therapy*. N Engl J Med, 2002. **346**(9): p. 683-93.
46. Park, J., et al., *Differential tyrosine phosphorylation of leukemic cells during apoptosis as a result of treatment with imatinib mesylate*. Biochem Biophys Res Commun, 2005. **336**(3): p. 942-51.
47. Druker, B.J., et al., *Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells*. Nat Med, 1996. **2**(5): p. 561-6.
48. Buchdunger, E., et al., *Inhibition of the Abl protein-tyrosine kinase in vitro and in vivo by a 2-phenylaminopyrimidine derivative*. Cancer Res, 1996. **56**(1): p. 100-4.
49. le Coutre, P., et al., *In vivo eradication of human BCR/ABL-positive leukemia cells with an ABL kinase inhibitor*. J Natl Cancer Inst, 1999. **91**(2): p. 163-8.
50. Uziel, O., et al., *Imatinib mesylate (Gleevec) downregulates telomerase activity and inhibits proliferation in telomerase-expressing cell lines*. Br J Cancer, 2005. **92**(10): p. 1881-91.
51. Gottschalk, S., et al., *Imatinib (STI571)-mediated changes in glucose metabolism in human leukemia BCR-ABL-positive cells*. Clin Cancer Res, 2004. **10**(19): p. 6661-8.
52. Legros, L., et al., *Imatinib mesylate (STI571) decreases the vascular endothelial growth factor plasma concentration in patients with chronic myeloid leukemia*. Blood, 2004. **104**(2): p. 495-501.
53. Thiele, J., et al., *Bone marrow changes in chronic myelogenous leukaemia after long-term treatment with the tyrosine kinase inhibitor STI571: an immunohistochemical study on 75 patients*. Histopathology, 2005. **46**(5): p. 540-50.
54. Kvasnicka, H.M., et al., *Reversal of bone marrow angiogenesis in chronic myeloid leukemia following imatinib mesylate (STI571) therapy*. Blood, 2004. **103**(9): p. 3549-51.
55. Bueso-Ramos, C.E., et al., *Imatinib mesylate therapy reduces bone marrow fibrosis in patients with chronic myelogenous leukemia*. Cancer, 2004. **101**(2): p. 332-6.
56. Heinrich, M.C., et al., *Inhibition of c-kit receptor tyrosine kinase activity by STI 571, a selective tyrosine kinase inhibitor*. Blood, 2000. **96**(3): p. 925-32.

57. Khorashad, J.S., et al., *Finding of kinase domain mutations in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia responding to imatinib may identify those at high risk of disease progression*. J Clin Oncol, 2008. **26**(29): p. 4806-13.
58. Soverini, S., et al., *Resistance to dasatinib in Philadelphia-positive leukemia patients and the presence or the selection of mutations at residues 315 and 317 in the BCR-ABL kinase domain*. Haematologica, 2007. **92**(3): p. 401-4.
59. Soverini, S., et al., *Targeted therapy and the T315I mutation in Philadelphia-positive leukemias*. Haematologica, 2007. **92**(4): p. 437-9.
60. Jabbour, E., et al., *Characteristics and outcome of chronic myeloid leukemia patients with F317L BCR-ABL kinase domain mutation after therapy with tyrosine kinase inhibitors*. Blood, 2008. **112**(13): p. 4839-42.
61. Jabbour, E., et al., *Characteristics and outcomes of patients with chronic myeloid leukemia and T315I mutation following failure of imatinib mesylate therapy*. Blood, 2008. **112**(1): p. 53-5.
62. Nicolini, F.E., et al., *Clinical outcome of 27 imatinib mesylate-resistant chronic myelogenous leukemia patients harboring a T315I BCR-ABL mutation*. Haematologica, 2007. **92**(9): p. 1238-41.
63. Gorre, M.E., et al., *Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification*. Science, 2001. **293**(5531): p. 876-80.
64. le Coutre, P., et al., *Induction of resistance to the Abelson inhibitor STI571 in human leukemic cells through gene amplification*. Blood, 2000. **95**(5): p. 1758-66.
65. Mahon, F.X., et al., *Selection and characterization of BCR-ABL positive cell lines with differential sensitivity to the tyrosine kinase inhibitor STI571: diverse mechanisms of resistance*. Blood, 2000. **96**(3): p. 1070-9.
66. Weisberg, E. and J.D. Griffin, *Mechanism of resistance to the ABL tyrosine kinase inhibitor STI571 in BCR/ABL-transformed hematopoietic cell lines*. Blood, 2000. **95**(11): p. 3498-505.
67. Gambacorti-Passerini, C., et al., *Sensitivity to the abl inhibitor STI571 in fresh leukaemic cells obtained from chronic myelogenous leukaemia patients in different stages of disease*. Br J Haematol, 2001. **112**(4): p. 972-4.
68. Sawyers, C.L., *Molecular studies in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors*. Semin Hematol, 2001. **38**(3 Suppl 8): p. 15-21.
69. Thiesing, J.T., et al., *Efficacy of STI571, an abl tyrosine kinase inhibitor, in conjunction with other antileukemic agents against bcr-abl-positive cells*. Blood, 2000. **96**(9): p. 3195-9.
70. Fang, G., et al., *CGP57148B (STI-571) induces differentiation and apoptosis and sensitizes Bcr-Abl-positive human leukemia cells to apoptosis due to antileukemic drugs*. Blood, 2000. **96**(6): p. 2246-53.
71. Druker, B.J., et al., *Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia*. N Engl J Med, 2001. **344**(14): p. 1031-7.
72. Baccarani, M., et al., *Response definitions and European Leukemianet Management recommendations*. Best Pract Res Clin Haematol, 2009. **22**(3): p. 331-41.
73. Kantarjian, H.M., et al., *Phase I clinical and pharmacology study of clofarabine in patients with solid and hematologic cancers*. J Clin Oncol, 2003. **21**(6): p. 1167-73.
74. Hughes, T.P., et al., *Frequency of major molecular responses to imatinib or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed chronic myeloid leukemia*. N Engl J Med, 2003. **349**(15): p. 1423-32.

75. Kantarjian, H.M., et al., *Survival benefit with imatinib mesylate versus interferon-alpha-based regimens in newly diagnosed chronic-phase chronic myelogenous leukemia*. *Blood*, 2006. **108**(6): p. 1835-40.
76. de Lavallade, H., et al., *Imatinib for newly diagnosed patients with chronic myeloid leukemia: incidence of sustained responses in an intention-to-treat analysis*. *J Clin Oncol*, 2008. **26**(20): p. 3358-63.
77. Hochhaus, A., et al., *Six-year follow-up of patients receiving imatinib for the first-line treatment of chronic myeloid leukemia*. *Leukemia*, 2009. **23**(6): p. 1054-61.
78. Marin, D., et al., *European LeukemiaNet criteria for failure or suboptimal response reliably identify patients with CML in early chronic phase treated with imatinib whose eventual outcome is poor*. *Blood*, 2008. **112**(12): p. 4437-44.
79. Roy, L., et al., *Survival advantage from imatinib compared with the combination interferon-alpha plus cytarabine in chronic-phase chronic myelogenous leukemia: historical comparison between two phase 3 trials*. *Blood*, 2006. **108**(5): p. 1478-84.
80. Press, R.D., et al., *A half-log increase in BCR-ABL RNA predicts a higher risk of relapse in patients with chronic myeloid leukemia with an imatinib-induced complete cytogenetic response*. *Clin Cancer Res*, 2007. **13**(20): p. 6136-43.
81. Kantarjian, H., et al., *Cytogenetic and molecular responses and outcome in chronic myelogenous leukemia: need for new response definitions?* *Cancer*, 2008. **112**(4): p. 837-45.
82. Kantarjian, H.M., et al., *Significance of increasing levels of minimal residual disease in patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in complete cytogenetic response*. *J Clin Oncol*, 2009. **27**(22): p. 3659-63.
83. Druker, B.J., *Translation of the Philadelphia chromosome into therapy for CML*. *Blood*, 2008. **112**(13): p. 4808-17.
84. Apperley, J.F., *Part I: mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia*. *Lancet Oncol*, 2007. **8**(11): p. 1018-29.
85. Apperley, J.F., *Part II: management of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia*. *Lancet Oncol*, 2007. **8**(12): p. 1116-28.
86. Quintas-Cardama, A. and J. Cortes, *Molecular biology of bcr-abl1-positive chronic myeloid leukemia*. *Blood*, 2009. **113**(8): p. 1619-30.
87. O'Hare, T., C.A. Eide, and M.W. Deininger, *Bcr-Abl kinase domain mutations, drug resistance, and the road to a cure for chronic myeloid leukemia*. *Blood*, 2007. **110**(7): p. 2242-9.
88. Soverini, S., et al., *Contribution of ABL kinase domain mutations to imatinib resistance in different subsets of Philadelphia-positive patients: by the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia*. *Clin Cancer Res*, 2006. **12**(24): p. 7374-9.
89. Jabbour, E., et al., *Frequency and clinical significance of BCR-ABL mutations in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib mesylate*. *Leukemia*, 2006. **20**(10): p. 1767-73.
90. Sokal, J.E., et al., *Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia*. *Blood*, 1984. **63**(4): p. 789-99.
91. Hasford, J., et al., *A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa*. *Writing Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group*. *J Natl Cancer Inst*, 1998. **90**(11): p. 850-8.
92. Walz, C., et al., *The molecular anatomy of the FIP1L1-PDGFR α fusion gene*. *Leukemia*, 2009. **23**(2): p. 271-8.

93. Pendergast, A.M., et al., *BCR sequences essential for transformation by the BCR-ABL oncogene bind to the ABL SH2 regulatory domain in a non-phosphotyrosine-dependent manner.* Cell, 1991. **66**(1): p. 161-71.
94. Gratwohl, A., et al., *Hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies in Europe.* Leukemia, 2003. **17**(5): p. 941-59.
95. Zhao, Y., *Efficacy and prognosis of chronic myeloid leukemia treated with imatinib mesylate in Chinese population.* Int J Hematol, 2009 **89**:445-51.
96. Zhao, Y., et al., *Efficacy and prognosis of chronic myeloid leukemia treated with imatinib mesylate in a Chinese population.* Int J Hematol, 2009. **89**(4): p. 445-51.
97. Kantarjian, H.M., et al., *Imatinib mesylate therapy improves survival in patients with newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in the chronic phase: comparison with historic data.* Cancer, 2003. **98**(12): p. 2636-42.
98. Deininger M, Blood 2009: p. 114(22):46.
99. O'Brien, S.G., Guilot F, Goldman JM, et al., *International randomized study of interferon versus STI571(IRIS) 7-year follow up:sustained survival, low rate of transformation and increased tare of major molecular response(MMR) in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phae treated with imatinib* Blood, 2008;112:Suppl:76.abstract.
100. Baccarani, M., et al., *Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet.* Blood, 2006. **108**(6): p. 1809-20.
101. Kantarjian, H.M., et al., *Efficacy of imatinib dose escalation in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase.* Cancer, 2009. **115**(3): p. 551-60.
102. Castagnetti, F., et al., *Results of high-dose imatinib mesylate in intermediate Sokal risk chronic myeloid leukemia patients in early chronic phase: a phase 2 trial of the GIMEMA CML Working Party.* Blood, 2009. **113**(15): p. 3428-34.
103. Jabbour, E., et al., *Imatinib mesylate dose escalation is associated with durable responses in patients with chronic myeloid leukemia after cytogenetic failure on standard-dose imatinib therapy.* Blood, 2009. **113**(10): p. 2154-60.
104. Cortes, J.E., et al., *High-dose imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: high rates of rapid cytogenetic and molecular responses.* J Clin Oncol, 2009. **27**(28): p. 4754-9.
105. Baccarani, M., et al., *Comparison of imatinib 400 mg and 800 mg daily in the front-line treatment of high-risk, Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia: a European LeukemiaNet Study.* Blood, 2009. **113**(19): p. 4497-504.
106. Hochhaus, A., et al., *Dasatinib induces notable hematologic and cytogenetic responses in chronic-phase chronic myeloid leukemia after failure of imatinib therapy.* Blood, 2007. **109**(6): p. 2303-9.
107. Hochhaus, A., et al., *Dasatinib induces durable cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase with resistance or intolerance to imatinib.* Leukemia, 2008. **22**(6): p. 1200-6.
108. Shah, N.P., et al., *Intermittent target inhibition with dasatinib 100 mg once daily preserves efficacy and improves tolerability in imatinib-resistant and -intolerant chronic-phase chronic myeloid leukemia.* J Clin Oncol, 2008. **26**(19): p. 3204-12.
109. Cortes, J., O'Brien S, Borthakur G, et al: , *Efficacy of dasatinib in patients with previously untreated chronic myelogenous leukemia in early chronic phase.* Blood, 2008. **112**:: p. 74.

110. le Coutre, P., et al., *Nilotinib (formerly AMN107), a highly selective BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor, is active in patients with imatinib-resistant or -intolerant accelerated-phase chronic myelogenous leukemia*. *Blood*, 2008. **111**(4): p. 1834-9.
111. Hensley, M.L. and J.M. Ford, *Imatinib treatment: specific issues related to safety, fertility, and pregnancy*. *Semin Hematol*, 2003. **40**(2 Suppl 2): p. 21-5.
112. Choudhary, D.R., et al., *Pregnancy on imatinib: fatal outcome with meningocele*. *Ann Oncol*, 2006. **17**(1): p. 178-9.
113. Klaasen, R., P. de Jong, and P.W. Wijermans, *Successful management of chronic myeloid leukaemia with leucapheresis during a twin pregnancy*. *Neth J Med*, 2007. **65**(4): p. 147-9.
114. Yan, J. and B.F. Hales, *Activator protein-1 (AP-1) DNA binding activity is induced by hydroxyurea in organogenesis stage mouse embryos*. *Toxicol Sci*, 2005. **85**(2): p. 1013-23.
115. Baer, M.R., H. Ozer, and K.A. Foon, *Interferon-alpha therapy during pregnancy in chronic myelogenous leukaemia and hairy cell leukaemia*. *Br J Haematol*, 1992. **81**(2): p. 167-9.
116. Fey, M.F. and D. Surbek, *Leukaemia and pregnancy*. *Recent Results Cancer Res*, 2008. **178**: p. 97-110.
117. Ramasamy, K., et al., *Successful pregnancies involving men with chronic myeloid leukaemia on imatinib therapy*. *Br J Haematol*, 2007. **137**(4): p. 374-5.
118. Garderet, L., et al., *Two successful pregnancies in a chronic myeloid leukemia patient treated with imatinib*. *Haematologica*, 2007. **92**(1): p. e9-10.
119. Suppiah, R. and M. Kalaycio, *Successful outcome of pregnancy in a patient with chronic myelogenous leukemia exposed to imatinib during the first trimester*. *Leuk Lymphoma*, 2006. **47**(6): p. 1149-50.
120. Ali, R., et al., *Imatinib and pregnancy*. *J Clin Oncol*, 2006. **24**(23): p. 3812-3; author reply 3813.
121. Prabhash, K., et al., *Pregnancy outcome of two patients treated with imatinib*. *Ann Oncol*, 2005. **16**(12): p. 1983-4.
122. Ali, R., et al., *Pregnancy under treatment of imatinib and successful labor in a patient with chronic myelogenous leukemia (CML). Outcome of discontinuation of imatinib therapy after achieving a molecular remission*. *Leuk Res*, 2005. **29**(8): p. 971-3.
123. Heartin, E., S. Walkinshaw, and R.E. Clark, *Successful outcome of pregnancy in chronic myeloid leukaemia treated with imatinib*. *Leuk Lymphoma*, 2004. **45**(6): p. 1307-8.
124. Ali, R., et al., *Successful pregnancy and delivery in a patient with chronic myelogenous leukemia (CML), and management of CML with leukapheresis during pregnancy: a case report and review of the literature*. *Jpn J Clin Oncol*, 2004. **34**(4): p. 215-7.
125. Hochhaus, A., et al., *Favorable long-term follow-up results over 6 years for response, survival, and safety with imatinib mesylate therapy in chronic-phase chronic myeloid leukemia after failure of interferon-alpha treatment*. *Blood*, 2008. **111**(3): p. 1039-43.
126. Talpaz, M., et al., *Imatinib induces durable hematologic and cytogenetic responses in patients with accelerated phase chronic myeloid leukemia: results of a phase 2 study*. *Blood*, 2002. **99**(6): p. 1928-37.
127. Silver, R.T., et al., *Sustained durability of responses and improved progression-free and overall survival with imatinib treatment for accelerated phase and blast crisis*

- chronic myeloid leukemia: long-term follow-up of the STI571 0102 and 0109 trials.* Haematologica, 2009. **94**(5): p. 743-4.
128. Marin, D., et al., *Prognostic factors for patients with chronic myeloid leukaemia in chronic phase treated with imatinib mesylate after failure of interferon alfa.* Leukemia, 2003. **17**(8): p. 1448-53.
 129. Deininger, M., O'Brien SG, Ford JM, *Practical management of patient with chronic myeloid leukemia receiving imatinib* J Clin Oncol, Apr 15 2003;21(8): p. 1637-47.
 130. Silver, R., *Sustained durability of responses and improved progression-free and overall survival with imatinib treatment for accelerated phase and blast crisis chronic myeloid leukemia.* Haematologica, 2009 May;94(5): p. 73-4.
 131. Deininger, M., et al., *The effect of prior exposure to imatinib on transplant-related mortality.* Haematologica, 2006. **91**(4): p. 452-9.
 132. Oehler, V.G., et al., *The effects of imatinib mesylate treatment before allogeneic transplantation for chronic myeloid leukemia.* Blood, 2007. **109**(4): p. 1782-9.
 133. Lee, S.J., et al., *Impact of prior imatinib mesylate on the outcome of hematopoietic cell transplantation for chronic myeloid leukemia.* Blood, 2008. **112**(8): p. 3500-7.