

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRLERİ İLE TEDAVİ ALTINDAKİ
KRONİK MYELOSİTER LÖSEMİ TANILI HASTALARDA
LEPTİN VE PROKALSİTONİN DÜZEYİ**

Dr. Sema TANRISEVER

**Tez Yöneticisi
Prof . Dr. Fuat ERDEM**

**Uzmanlık Tezi
ERZURUM 2012**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
ONAY	II
ÖZET	III
SUMMARY	V
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KML’de moleküler biyoloji	6
2.1.1. BCR-ABL füzyon genlerinin yapısı	7
2.2. KML’nin tanı ve takibinde genetik analizler.....	8
2.3. KML de risk skorları.....	11
2.4. KML de tedavi.....	11
2.5. Tedaviye cevabın değerlendirilmesi.....	13
2.6. Prokalsitonin.....	15
2.7. Leptin.....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1. Hasta ve kontrol grubu.....	20
3.2. Örneklerin toplanması.....	20
3.3. Prokalsitonin ölçümü.....	21
3.4. Leptin ölçümü.....	23
3.5. İstatistiksel değerlendirme.....	24
4. BULGULAR.....	26
5. TARTIŞMA.....	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	44
7. KAYNAKLAR.....	46

ONAY

“Tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi altındaki kronik myelositer lösemi tanılı hastalarda leptin ve prokalsitonin düzeyi” konulu tez çalışması Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı’ nın 28.04.2010 tarih 05 sayılı oturumunun 13 no’ lu kararı, Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Kurulu’ nun 04.05.2011 tarih 14 no’ lu kararı ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı’ nın 18.08.2011 tarihli 7 no’ lu kararı ile Prof. Dr. Fuat Erdem denetiminde Araştırma Görevlisi Dr. Sema Tanrısever tarafından tez olarak çalışılması uygun görülmüş ve onay verilmiştir.

**TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRLERİ İLE TEDAVİ ALTINDAKİ
KRONİK MYELOSİTER LÖSEMİ TANILI HASTALARDA
LEPTİN VE PROKALSİTONİN DÜZEYİ
ÖZET**

Leptin ve prokalsitoninin hematolojik hastalıklarda rolü olduğu bilinmesine rağmen özellikle kronik myelositer lösemi hastalarındaki rolü ile ilgili fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi altındaki kronik myelositer lösemi (KML) tanılı hastalarda prokalsitonin ve leptinin, hastalığın prognozu ve tedavi şekli ile ilişkisini, remisyondaki hastalardaki serum düzeylerini, yeni tanı anında bu iki markerin anlamlı olup olmadığını belirlemeyi amaçladık.

Çalışmamıza 56 KML hastası ve 27 kontrol grubu olmak üzere toplam 83 olgu dahil edildi.

Tedavi altındaki hastalar ve kontrol grubunun serum leptin değerleri karşılaştırıldığında; tedavi alan KML hastalarının serum leptin değeri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Tedavi alan KML hastalarının serum prokalsitonin değeri ise kontrol grubundan yüksek bulunmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Yeni tanı almış, henüz sitogenetik ya da moleküler cevap oluşmamış KML hastaları ile uzun süredir tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi altındaki eski tanılı hastaların serum leptin ve prokalsitonin değerleri karşılaştırıldığında; eski tanılı hastalarda ortalama leptin ve prokalsitonin değerleri yüksek saptanmasına rağmen arada istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

İmatinib ve 2. Kuşak tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi altındaki KML hastalarının serum leptin değerleri karşılaştırıldı. İmatinib alan hastaların serum leptin değerlerinin ortalaması yüksek bulundu ve aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı idi. Prokalsitonin değerleri karşılaştırıldığında; imatinib alan hastaların prokalsitonin

değerleri yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı.

Beyaz küre sayısı $>10000/\text{mm}^3$, $<4000/\text{mm}^3$ ve $4000-10000/\text{mm}^3$ olan KML hastaları ve kontrol grubunun serum leptin değerleri karşılaştırıldığında; beyaz küre sayısı $<4000/\text{mm}^3$ olan hastalarda ortalama leptin değerleri düşük saptandı ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. Aynı şekilde prokalsitonin değerleri karşılaştırıldığında; beyaz küre sayısı $<4000/\text{mm}^3$ olan hastalarda prokalsitonin ortalaması yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi altındaki hastaların tedavi süreleri ile leptin ve prokalsitonin ortalamaları arasındaki korelasyon değerlendirildi. Tedavi süresi ile leptin ve prokalsitonin ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunamadı.

Sonuç olarak; kronik myelositer lösemi tanılı hasta grubunda serum leptin düzeyi kontrol grubuna yüksekti. KML hastaları arasında ise; imatinib alan hastalarda serum leptin düzeyi 2. Kuşak tirozin kinaz inhibitörleri alanlara göre daha yüksekti. Bu sonuçlar, imatinibin etki potansiyelinin, 2. Kuşak tirozin kinaz inhibitörü alan hastalara göre daha düşük olmasına bağlanabilir.

Anahtar kelimeler: Kronik Myelositer Lösemi, Leptin, Prokalsitonin, Tirozin Kinaz İnhibitörleri.

**LEPTIN AND PROCALCITONIN LEVELS IN PATIENTS
WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA WHO ARE TREATED WITH
TYROSINE KINASE INHIBITORS**

SUMMARY

Although it is known that leptin and procalcitonin has an important role in hematologic disorders, there isn't enough study about their role in patients with chronic myeloid leukemia. In this study we aimed to determine the relationship of procalcitonin and leptin with prognosis of the disease and type of treatment, their serum levels in patients in remission and whether they are significant for diagnosis, respectively.

Eighty three cases were included to our study. 56 of them were CML patients and 27 of them were in control group.

We compared serum leptin levels of patient under treatment and control group. Serum leptin levels in patients who are treated for CML were significantly higher than the control group. Although serum procalcitonin levels in patients who are treated for CML were higher than the control group, the difference was not statistically significant.

Serum leptin and procalcitonin levels were compared between newly diagnosed CML patients with neither cytogenetic nor molecular response and patients who are treated by tyrosine kinase inhibitors for a long time. Although mean leptin and procalcitonin levels were higher in formerly patients who the difference was not statistically significant.

Serum leptin levels were compared between patients who were treated by imatinib and second generation tyrosine kinase inhibitors. The mean serum leptin levels were higher in patients receiving imatinib, and the difference was statistically significant. In contrast, the mean serum procalcitonin levels were higher in patients receiving imatinib, but the difference was not statistically significant.

Serum leptin values of CML patients and control group whose white blood cell (WBC) count $>10000/\text{mm}^3$, $<4000/\text{mm}^3$ and $4000-10000/\text{mm}^3$ were compared. Mean leptin levels were lower in patients whose WBC count $<4000/\text{mm}^3$ and the difference was statistically significant. Likewise we compared the procalcitonin levels. Mean

procalcitonin levels were higher in patients whose WBC count $<4000/\text{mm}^3$ but the difference was not statistically significant.

Correlation between treatment duration of patients under treatment with tyrosine kinase inhibitors and mean procalcitonin and leptin levels were evaluated. The correlation was not statistically significant.

As a result, serum leptin levels in patients with chronic myeloid leukemia was higher than the control group. Serum leptin levels in patients receiving imatinib was higher than patients receiving second generation tyrosine kinase inhibitors. Based on these results, we can say that the potential effect of imatinib is lower than second generation tyrosine kinase inhibitors.

Key Words: Chronic myeloid leukemia, Leptin, Procalcitonin, Tyrosine Kinase Inhibitors

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik myelositer lösemi (KML), hematopoetik kök hücrenin malign klonal hastalığıdır (1).

Myeloid metaplazi, polistemia vera, esansiyel trombositeminin de içinde bulunduğu myeloproliferatif hastalıklardandır. Philadelphia (Ph) kromozomu olarak bilinen spesifik bir kromozomal anormalliğin bulunduğu ilk malignitedir. 9 ve 22. kromozomlar arası resiprokal translokasyon sonucu oluşur. Bilinen hereditör, familial, coğrafik, etnik ve ekonomik faktöre bağlı değildir. Bu nedenle de ne önlenabilir ne de kalıtsal bir hastalıktır (2).

KML'nin tedavisinde BCR-ABL' yi hedefleyen yeni tedavi ajanlarının ortaya çıkışı ile yeni tanı KML'li hastaların tedavi algoritmaları ve prognozlarında önemli değişiklikler meydana gelmiştir. KML'li hastaların standart tedavisinde, oral BCR-ABL tirozin kinaz inhibitörlerinin (TKİ) kullanımına dönülmüştür. Kök hücre nakli de TKİ ile başarısız olan hastalarda tercih edilmektedir. KML, belki de spesifik moleküler hedef tedavilerinin malign hastalıkların doğal gidişatını değiştirdiğinin önemli örneğidir. Hala, bugüne kadar birçok gelişmeye rağmen bazı hastalarda optimal cevap alınamamakta, diğerleri ile iyi yanıt oluşturmakta ancak relapslar olabilmekte ve bazı hastalar tedaviyi tolere edememektedir (3).

Prokalsitonin, günümüzde bakteriyel enfeksiyonların erken ve doğru teşhisinde güçlü bir marker olmasına rağmen immün suprese hastaların izleminde, kemoterapiyi takiben nötropenik hastaların izleminde, onkolojik hastalarda kemoterapiye veya tümör lize bağlı ateş etyolojisi ile enfeksiyona bağlı etyolojilerin ayrımında da önemi bilinmektedir (4).

Aynı şekilde leptin de metabolik ve endokrin fonksiyonlar gibi gıda alımını düzenleyen pleiotropik bir molekül olarak ortaya çıkmasına rağmen; immünite, inflamasyon ve hematopoezde düzenleyici rolü olduğu düşünülmektedir (5).

Biz yapmış olduğumuz bu çalışmada; tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi altındaki kronik myelositer lösemi tanılı hastalarda prokalsitonin ve leptinin, hastalığın prognozu ve tedavi şekli ile ilişkisini, remisyonadaki hastalardaki serum düzeylerini, yeni tanı anında bu iki markerin anlamlı olup olmadığını belirlemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

Kronik myelositer lösemi (KML), hematopoetik kök hücrenin malign klonal hastalığıdır. Kemik iliğinde myeloid hiperplazi ve periferik kanda myeloid hücreler yanında eritroid seri ve trombositlerde de artış olabilmektedir (1).

Pluripotent kök hücrenin malign klonal hastalığı olarak KML, ilk defa 1845'te John Hughes Bennett tarafından Edinburgh'de tanımlanmıştır. Myeloid metaplazi, polistemia vera, esansiyel trombositeminin de içinde bulunduğu myeloproliferatif hastalıklardandır. Philadelphia (Ph) kromozomu olarak bilinen spesifik bir kromozomal anormalliğin bulunduğu ilk malignitedir. 9. ve 22. kromozomlar arası resiprokal translokasyon sonucu oluşur (2). Ph kromozomu olarak tanımlanan 9 ve 22. kromozomlar arası translokasyon t(9;22)(q34;q11), 1960 yılında tanımlanmıştır (6).

KML'nin yıllık insidansı 1.6/100000 dır. Erkek/Kadın oranı 1.4/1 dir. Tanı anında ortalama yaş 55'dir. %10'dan az hasta 20 yaşın altındadır (6).

KML, çocuklarda son derece seyrek ve yaşla insidansı artar. Bilinen herediter, familial, coğrafik, etnik ve ekonomik faktörlere bağlı değildir. Bu nedenle ne önlenebilir ne de kalıtsal bir hastalıktır. KML'nin 1945'te Japonya'da atom bombası patlamasından sonra radyologlarda ve radyoterapi altındaki ankilozan spondilitli hastalarda sıklığı arttığı bilinse de çoğu hastada Ph kromozomunu indükleyen faktör bilinmemektedir. KML tüm lösemilerin %14'ü, tüm erişkin lösemilerin %20'sini oluşturmaktadır (2).

2010'da Amerika Birleşik Devletleri'nde, ortalama 43000 yeni tanı lösemili hastanın 4870'i yeni tanı KML olup, bunların 2800'ünü erkek ve 2070'ini kadın oluşturmuştur (7).

KML'de yaygın olarak ilk bulgular halsizlik, kilo kaybı, gece terlemesi, splenomegali ve anemidir. Periferik yaymada lökositoz (ortalama beyaz küre sayısı 100 000/ μ l ($100 \times 10^9/L$)) mevcuttur. Segmente nötrofil ve myelosit oranının pik yapması

ve birlikte farklı maturasyon evrelerinde nötrofillerin bulunması nedeniyle 12000-1000000/ μ l (12-1000/10⁹/L) gibi geniş aralıkta seyredebilir. Blast sayısı genellikle %2'den azdır. Mutlak bazofili mevcuttur. Trombosit sayısı normalden 1000x10³/ μ l (1000x10⁹/L) ye kadar değişebilir. Trombositopeni görülmesi yaygın değildir. Kemik iliği, kandaki maturasyon paternine benzer şekilde granülositik proliferasyon nedeniyle selülarite artışı gösterir ve çoğu vakada blast sayısı kemik iliğinde %5'den azdır. Megakaryosit sayısı hafifçe azalmadan belirgin artışa kadar değişen derecede olabilir ve bunlar normalden küçük ve az loblu nükleuslu olması gibi karakteristik özellikler gösterebilir. Retikülin fibrozis % 30'dan fazla hastada rapor edilmiş ve tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi sırasında kötü sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (8).

Kronik myelositer lösemi hastalarının kemik iliği, hipersellüler ve yağdan yoksundur. Gerçekte KML' de primer biyolojik defekt lösemik hücrelerin düzensiz proliferasyonu, sıklıkla da myeloid serinin zayıf maturasyonudur. Myeloid maturasyonun tüm evrelerinde myelosit predominansı söz konusudur. Apoptozisteki myeloid hücrelerinin azalışı, immatür KML hücrelerinin in vitro kemik iliği stromal hücrelerine defektif bağlanması ve dolaşımdan erken ayrılması, bu kompartmanın genişlemesine katkıda bulunur. % 10 vakada gaucher benzeri hücreler saptanabilir. Platelet-derived growth faktör (PDGF), transforming growth faktör (TGF β), fibroblast growth faktör (FGF) gibi sitokinlerin KML' de düzeyleri artar. Bu sitokinler anjiogenezi uyarır ve kemik iliğindeki karakteristik kan damarı sayısının artmasından ve vasküler alandaki genişlemeden sorumludur (2).

KML, klasik olarak kronik, blastik ve akselere faz olmak üzere trifazik seyir gösterir. KML'li hastaların yaklaşık %90'ı kronik fazda tanı alır. Sıklıkla rutin kan sayımlarında tesadüfen saptanır. KML-kronik fazdaki hastalar uzun süre asemptomatik kalabilirler. Lökositoz, kronik faz KML' nin yaygın özelliğidir ve beyaz küre sayısı 1000x10⁹/L kadar yüksek olabilir. Buna bağlı olarak da retinal hemoraji, priapizm, serebrovasküler olay, tinnitus, konfüzyon, stupor gibi hiperviskositenin belirti ve semptomları seyrek olarak gözlenebilir. Tedavisiz hastalarda ortalama 3-5 yıl içinde kronik fazdan hızla fatal seyreden kemoterapiye yüksek dirençli agresif blastik faza progresyon görülebilir. KML-blastik faza dönüşüm riski her yıl %3-5 artar. KML

akselere fazı maturasyonun durması ile karakterizedir ve sıklıkla blastik faza dönüşümün habercisidir (2).

World Health Organization (WHO) yeni sınıflandırmasında KML akselere faz (AP)'ı progresif hastalığın kanıtı olarak göstermiştir (8).

KML-akselere faz (KML-AP) kriterleri:

1-Beyaz küre sayısının $10000/\mu\text{l}$ ($10 \times 10^9/\text{L}$) üstünde olması ve/veya tedaviye cevapsız splenomegali,

2-Trombosit sayısının $1000 \times 10^3/\mu\text{l}$ ($100 \times 10^9/\text{L}$) üstünde olması, tedavi ile kontrol altına alınamaması,

3-Tedavi ile ilişkisiz persistan trombositopeni, trombosit sayısının $100 \times 10^3/\mu\text{l}$ ($100 \times 10^9/\text{L}$) altında olması,

4-Başlangıçtaki tanısal karyotip sonrası sitogenetik bozukluk ortaya çıkması,

5-Periferik kanda % 20 ya da üstünde monositoz,

6-Kan veya kemik iliğinde %10-19 myeloblast bulunmasıdır.

KML-blastik faz (KML-BP) kriterleri:

1-Periferik kan lökositlerinin veya kemik iliğindeki çekirdekli hücrelerin %20 veya üstünde blast veya,

2-Blastların ekstramedüller proliferasyonudur.

Eğer fokal, fakat kemik iliği örneğinde önemli blast birikimi varsa, intertrabeküler alanı tamamen dolduruyorsa muhtemelen KML-BP'dadır. Blastlar lenfoid, myeloid veya mix fenotip orjinli olabilir (8) .

KML'de lökosit alkalin fosfat (LAP) skoru düşüktür. Beyaz küre sayısının artmasıyla serum B12 düzeyinde ve B12 bağlama kapasitesinde belirgin azalma gözlenir. KML blastik faz süresince dolaşımdaki bazofil seviyesi ve histamin düzeyinde artış gözlenir (2).

KML-BP'daki hastada blastlar, B-cell immünofenotipi gösterir. CD10, CD19 ve CD22 bulundurulur. Buna karşılık myeloid KML-BP blastları AML'ye benzer şekilde myeloperoksidaz boyanır ve CD13, CD33, CD117 eksprese ederler. Sıklıkla CD13 ve CD 33 gibi myeloid markırlar lenfoid KML-BP'daki hastalardan da eksprese edilebilirler. Seyrek olarak megakaryoblastik, eritroblastik ve mastoblastik transformasyon da raporlanmıştır (2).

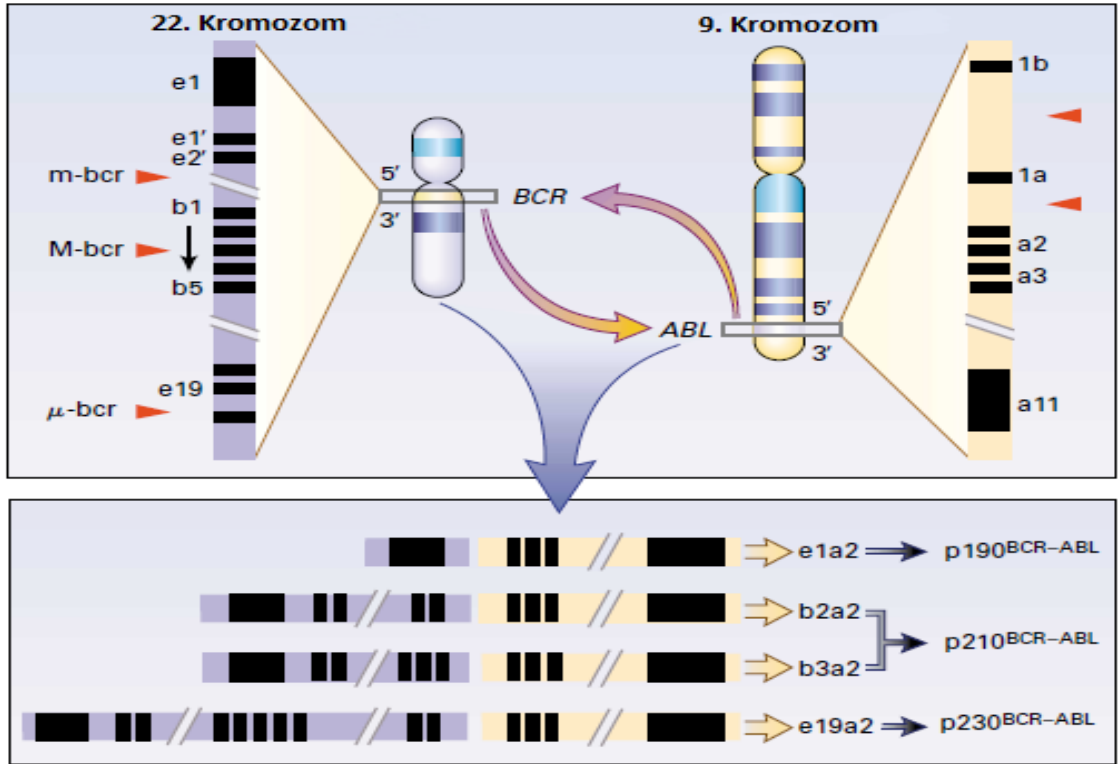
2.1. KML'de moleküler biyoloji

Ph kromozomu olarak bilinen 9. ve 22. kromozom uzun kolları arası resiprokal translokasyon t(9;22)(q34;q11), KML hastalarının %95'inde bulunur. Bununla birlikte çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemilerinin (ALL) %5'inde, erişkin ALL'lerin %15-30' unda, yeni tanı akut myeloid lösemilerin (AML) %2'sinde Ph kromozomu bulunur (9).

KML'deki Ph translokasyonu, kromozom 9'daki ABL (Abelson murine leukemia) geninin kromozom 22'deki BCR (breakpoint cluster region) genine aktarılması ile BCR-ABL füzyon proteini oluşumu ile sonuçlanır. BCR-ABL proteini; ABL' nin protein kinaz aktivitesi, sitokin bağımsız proliferatif sinyal oluşumu, downstream yollardaki değişikliklerden sorumludur (6).

2.1.1.BCR-ABL füzyon geninin yapısı

ABL geni, Abelson mürin leukemia virüs tarafından oluşturulan v-abl onkogeninin insan homologudur ve nonreseptör tirozin kinazı kodlar. BCR, serin-treonin kinaz aktivitesi olan bir proteini kodlar. Bu iki genin füzyonu sonucu c-ABL protoonkogeninin onkojenik formu aktive olur. 9q34 üzerindeki 300 kb'lık alana yayılan ABL geni üzerindeki kırılma bölgeleri onun 5' ucunda ekzon 1b'den yukarı doğru, ekzon 1a'dan aşağı doğru veya daha sıklıkla bu ikisi arasında bulunabilir. Alternatif olarak BCR geninin kırılma noktaları 3 ana bölgede lokalizedir. Çoğu KML hastasında ve Ph (+) ALL hastalarının üçte birinde BCR ekzonları e12-e16 (önceden b1-b5) kırılma noktaları 5.8 kb'lık alanda lokalizedir. Majör breakpoint cluster region (M-bcr) olarak adlandırılır. b2a2 ya da b3a2 bileşkeleri alternatif olarak füzyon transkripte bağlanabilir ve 210 kd'lik hibrit protein oluşur (p210 BCR-ABL). Klinik özellikler ve tedaviye cevap her iki transkriptte benzerdir. Seyrek olarak BCR geninde 54.4 kb'lık alanda lokalize e2' ve e2 ekzonları (minör breakpoint cluster region (m-bcr)) bir 190 kd (p190 BCR-ABL) proteine dönüşen e1a2 m-RNA oluşumuna neden olur. Bu transkripti taşıyan hastalarda belirgin monositoz görülür ve tipik p210'a sahip hastalardan daha kötü prognozlu olabilirler. Üçüncü olarak, ekzon 19'dan aşağı doğru kırılma sonucu kronik nötrofilik lösemi ile ilişkili bulunan 230 kd'lik füzyon proteini oluşur (p230BCR-ABL) (Şekil 1) (2,9).



Şekil 1. KML' de t(9;22)(q34;q11) translokasyonu (9).

2.2. KML tanı ve takibinde genetik analizler

KML'nin kesin tanısı, sitogenetik ve moleküler testlerle hastalık için patognomonik olan t (9;22) ve/veya BCR-ABL hibrit genin saptanmasına dayanır (2).

KML'nin tanısında ve tedaviye cevabın izleminde kromozomal ve moleküler anormalliğin ayrımı için t(9;22)(q34;q11) veya BCR/ABL yeniden düzenlenmesi gereklidir. Tespit tekniklerine konvansiyonel karyotip ve moleküler analiz dahildir. % 5 hastada klinik tanıda Ph (-)'dir. Bu vakalar ayrıca ya kromozom 9 ve 22 yanında diğer kromozomları içeren daha kompleks translokasyonları ya da kriptik BCR/ABL yeniden düzenlemeleri içerebilir. Zaten bu hastaların yaklaşık yarısında moleküler analizle BCR/ABL saptanmaktadır. Bu yüzden moleküler analiz karyotiple tespit edilemeyen anormal klonları tanımlamaktadır (10).

Konvensiyonel sitogenetik yöntemlerden, kromozom G-bantlama yöntemi tedavinin izleminde hala altın standarttır. Bugünkü sitogenetik cevap tanımlamaları en az 20 metafazın dâhil olduğu sitogenetik analiz sonucu oluşur. Sitogenetik çalışmalar, yalnız metafazdaki hücreleri analiz eder, kemik iliği örneği gerekir, zaman alır ve güvenilirlik aralığı geniştir (11,12).

Konvensiyonel sitogenetik ve karyotip, KML'deki proliferatif hücrelerin çalışılması ile standart metoddur. KML'de kromozom analizinin majör avantajı olasılıkla Ph kromozomuna ek olarak trizomi 8 ve izokromozom 17 gibi kromozom aberasyonlarını tespit etmektir (10).

FISH, klinik pratikte hematolojik maligniteli hızlı ilerleyen hastalara uygundur. FISH, spesifik nükleik asit dizisinin lokalizasyonunu saptayarak ve kromozom spesifik DNA problemleri kullanılarak proliferatif (metafaz hücreler) ve nonproliferatif (interfaz nüklei) hücrelerin analizine izin verir (10). FISH problemleri ile BCR ve ABL, Ph translokasyonu, kriptik BCR-ABL yeniden düzenlemeleri gibi kompleks translokasyonları da tespit eder. Metafazda olduğu gibi interfaz nükleik asitleri saptayabilmektedir (13).

Fluoresan in situ hibridizasyon (FISH), çeşitli çalışmalarda translokasyona ek olarak kötü prognozla ilişkili derivatif kromozom 9 türevinin büyük delesyonlarını saptamada önemlidir.

FISH'in avantajları; bir gece içinde çalışılabilmesidir. Özellikle tanısal aciliyet gerektiren durumlarda önemlidir. Hücrelerin büyük miktarlarının analizi kolaydır ve sonuçlar çoğaltılabilir. Bunlar, periferik kan yayma preparatlarından veya dokuya gömülü parafin bloklardan çalışılabilir (10).

Revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), BCR/ABL translokasyonun moleküler analizini sağlayan diğer metoddur. BCR/ABL mRNA'nın saptanmasında duyarlılığı yüksektir. Bir lösemi spesifik mRNA dizisini, bir hücrenin küçük bir kısmından çekerek saptayabilir. Bu teknik iki bölümden oluşur. Birinci

bölüm; RNA'dan revers transkripsiyon ile cDNA (complementer DNA) sentezi, ikinci bölüm ise PCR ile spesifik cDNA'nın amplifikasyonudur (10).

Reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), kullanılan çeşitli tekniklerden daha sensitiftir. RT-PCR kullanımı ile tedavi sonrası rezidüel KML hücreleri 10^6 hücrede 1 hassasiyet oranı ile belirlenebilir. Sensitivitesine rağmen RT-PCR'ın kalitatif olması ve kontaminasyon riskinden dolayı kullanımı sınırlanmaktadır. Bu yüzden kompetitif RT-PCR ve real-time kantitatif PCR'da (RQ-PCR) olduğu gibi minimal rezidüel hastalığı takip etmek için kantitatif çalışmalar artmıştır (10).

Southern blot ve kimerik BCR-ABL proteini saptamaya yönelik olarak kullanılan western blot rutinde daha az kullanılır (13).

FISH ve RT-PCR ile karşılaştırıldığında; kromozom analizinin majör avantajı prognostik önemi olan Ph kromozomuna ek olarak kromozom aberrantlarını saptayabilmesidir. Diğer yandan kromozom band analizi kullanışsızdır, zaman alır, yaşayan ve bölünebilir hücrelerin yüksek miktarda olması gereklidir. FISH ve RT-PCR daha az hücreye ihtiyaç duyar ve band çalışmalarında kaçan kriptik BCR-ABL yeniden düzenlemeleri saptanabilir. Bunun dışında RT-PCR, rezidüel KML hücrelerini toplamada 1000-10000 kat duyarlıdır. Bu tedavi sonrası takipte önemlidir (14).

İmatinib ve diğer BCR-ABL tirozin kinaz inhibitörlerine direnç gelişen hastaların % 40-50'sinde, BCR-ABL kinaz mutasyonları gelişmiştir. Mutasyonlar, değişik yollarla imatinib aktivitesine engel olur. Bazen, tirozin kinaz inhibitörlerinin BCR-ABL'ye bağlanmasına engel olur. Farklı mutasyonlar, lokalizasyona ve kinaz üzerindeki etkilerine bağlı olarak rezistansa neden olabilirler. Moleküler ve mutasyonel analizler, KML'nin klinik seyrini takip etmek için kullanılabilir. Bireysel tedavinin önemi için hangi yöntemin daha duyarlı olduğu açık değildir. Bu testlerin yanlış yorumlanması, zararlı kararlar verilmesine neden olabilir (11).

2.3. KML’de risk skorları

KML hastalarının sonuçlarını kestirmek için çeşitli skor sistemleri geliştirilmiştir. Bu skarlama sistemleri imatinib gibi ABL kinaz inhibitörleri ile tedavi altındaki KML hastaları için önemli prognostik bilgiler sağlar.

Sokal prognostik skor, 4 klinik değişkenle tanımlanmıştır. Dalak büyüklüğü, blast yüzdesi, yaş ve platelet sayısının $>700000/\mu\text{L}$ olması. İlk üçü sürekli değişkendir ve progresif kötü prognoz ile ilişkilidir. Sokal skor sistemi için online kalkülatör kullanılabilir.

Hasford (Euro) skor sisteminde, eozinofili ve bazofili de hesaba dâhil edilir. IFN tedavisi alan KML hastaları için geliştirilmiştir.

EUTOS skarlama sistemi Sokal veya Hasford skorundan sadedir ve bazofil yüzdesi ile dalak büyüklüğüne dayanır.

İmatinib tedavisi ile 5 yıllık progresyonsuz yaşam süresi yüksek ve düşük risk gruplarında sırasıyla % 90 ve % 82’dir. Bu yeni skarlamanın diğer skarlara göre daha yüksek tahmin gücü vardır. Bu prognostik indeksten KML’ li hastaların klinik denemelerinde henüz geniş anlamda yararlanılmasa da daha potent 2. jenerasyon tirozin kinaz inhibitörlerinin (nilotinib ve dasatinib) kullanımı ile EUTOS skarlama sisteminden yararlanılabileceği umulmaktadır (15).

2.4. KML’ de tedavi

BCR-ABL’ yi hedefleyen yeni tedavi ajanlarının ortaya çıkışı, yeni tanı KML’li hastaların tedavi algoritmaları ve prognozlarında önemli değişikliklere sebep olmuştur. Şu anda KML hastalarının standart tedavisinde oral BCR-ABL tirozin kinaz inhibitörleri (TKİ) kullanılmaktadır. İnterferon alfa, artık başlangıç tedavisinde kullanılmamaktadır ve kök hücre nakli de TKİ ile başarısız olan hastalarda tercih edilmektedir. Ek olarak, daha güçlü TKİ geliştirilmekte ve imatinib tedavisinde

başarısız olunan hastalarda efektif olarak remisyon indüksiyonunu sağlamak hedeflenmektedir (3).

KML, belki de spesifik moleküler hedef tedavilerinin malign hastalıkların doğal gidişatını değiştirdiğinin çok dramatik bir örneğidir. Bugüne kadar birçok gelişmeye rağmen bazı hastalarda hala optimal cevap alınamamakta, diğerleri iyi yanıt oluşturmakta ancak relapslar olabilmekte ve bazı hastalar tedaviyi tolere edememektedir. Ek olarak, çoğu hastada komplet sitogenetik yanıt elde edilmesine rağmen PCR ile rezidüel hastalık saptanabilmektedir (3).

BCR-ABL tirozin kinazın keşfi, yeni tanı KML hastalarının prognozunu dramatik olarak değiştirmiştir. Standart doz imatinib (kronik fazda 400 mg/gün, ileri evre KML' de 600 mg/gün), şu anda hastalık yönetiminde baskın tedavi yöntemi olup daha önce uygulanmış olan ilaç tedavilerine göre moleküler, sitogenetik ve hematolojik yanıt oranları daha yüksektir. Birçok hasta, standart doz imatinib tedavisine başlangıçta yanıt vermektedirken, bazı hastalarda, tedavi yanıt seviyelerinin yeterli olmaması ya da direnç nedeniyle tedaviye devam edilmemektedir. Tedavi yanıtını arttırmak için bir yaklaşım da birinci basamak tedavide imatinib dozunu 800 mg/gün'e çıkarmaktır. İmatinib rezistan KML hastalarında, tüm fazlarda, BCR-ABL geninde imatinibe dirençli gen mutasyonları olduğundan tirozin kinaz inhibitörleri tedavi yanıtı oluşturamaz (3).

Yakın zamanda, imatinib tedavisinde başarısız olunan KML'li hastalarda, tedavide dasatinib ve nilotinib adında iki tane oral BCR-ABL tirozin kinaz inhibitörleri kullanıma girmiştir (3,12).

Dasatinib, imatinib tedavisi alırken tedaviye refrakter ya da rezistan durumlarda genç erişkinlerde kullanımı uygun görülmüştür. Dasatinib, yapısal olarak imatinib ile ilişkili değildir, in vitro ortamda vahşi tip BCR-ABL tirozin kinazı inhibe etmekte imatinibden 325 kat daha güçlüdür. Dasatinib, kinaz ailesinin src üyelerini de inhibe etmektedir. Aynı zamanda dasatinib, imatinibe göre daha erken lösemik progenitör hücre popülasyonunu hedeflemektedir. Kısa yarı ömründen dolayı dasatinibin günde iki kez 70 mg olarak kullanımı önerilmektedir. Son zamanlarda, KML kronik fazdaki

hastalarda 100 mg/gün tek doz olarak dasatinib kullanımının daha iyi tolerabilite ile etkinliğini koruduğu gösterilmiştir. Bu nedenle bu hastalarda 100 mg/gün tek doz olarak kullanımı önerilmektedir (3).

Nilotinib, kronik ya da akselere fazdaki imatinib tedavisine rezistan ya da refrakter hastalara kullanımı uygun görülmektedir. Nilotinib, bir imatinib derivativesidir, imatinibden BCR-ABL' ye daha iyi topografik uyum göstermektedir. Bunun sonucunda daha fazla potens ve mutasyonlardan daha az etkilenim söz konusu olmuştur. Nilotinib, in vitro ortamda vahşi tip BCR-ABL kinazı imatinibe göre 20 kat daha fazla inhibe eder ve BCR-ABL'ye seçiciliği daha yüksektir. Uzun yarı ömrüne rağmen nilotinib günde iki kez 400 mg dozunda kullanılmaktadır (3,16).

İmatinib rezistan KML'li hastalarda, dasatinib ve nilotinib kullanımı ile tüm evrelerde hem hematolojik hem de sitogenetik yanıtlarda daha yüksek oranlar elde edilmektedir. Bunun nedeni, bu ajanların daha potent olması veya imatinib ile karşılaştırıldığında imatinib rezistans mekanizmaları ile baş edebilmelerinden kaynaklanmaktadır. Ek olarak imatinib tedavisinde başarısız olan hastalarda dasatinib ve nilotinib aktivitesinin BCR-ABL nokta mutasyonuna karşı daha etkili olması ile ilişkili olabilir. Benzer olarak, dasatinibde klinik rezistans T315I, V299 ve F317 rezidülerinde mutasyon olması ile ilişkilidir, nilotinibde klinik rezistans ise T315I, Y253, E255 ve F359 rezidüleri ile ilişkilidir. Bu iki ajan için çapraz rezistans sadece T315I ile sınırlıdır. Dasatinib ve nilotinib tedavilerinin daha potent olması ve imatinib rezistansından sorumlu mekanizmalardan kaçınmaları sonucunda bu iki ajan, hastaların ileriye dönük sonuçlarının daha iyi olması için bu iki tirozin kinaz inhibitörünün KML'li hastalarda birinci basamak tedavide kullanımının araştırılmasına sebep olmuştur (3).

2.5.Tedaviye cevabın değerlendirilmesi

İmatinib tedavisi ile alınan hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt tanımları ile imatinibe optimal yanıt kriterleri tablolarda verilmiştir (Tablo 1,2) (17-19)

Tablo 1: İmatinib tedavisi ile alınan hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt tanımları

Tam hematolojik yanıt	WBC<10x10 ⁹ /L,immatür granülosit olmaması, %5'in altında bazofil olması, plt<450x10 ⁹ /L,dalağın palpe edilememesi
Tam sitogenetik yanıt	Ph+ metafaz yok
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
Majör moleküler yanıt	BCR-ABL: ABL≤%0.1 uluslar arası ölçekte
Tam moleküler yanıt	BCR-ABL RT-Q-PCR ile transkript saptanmaması

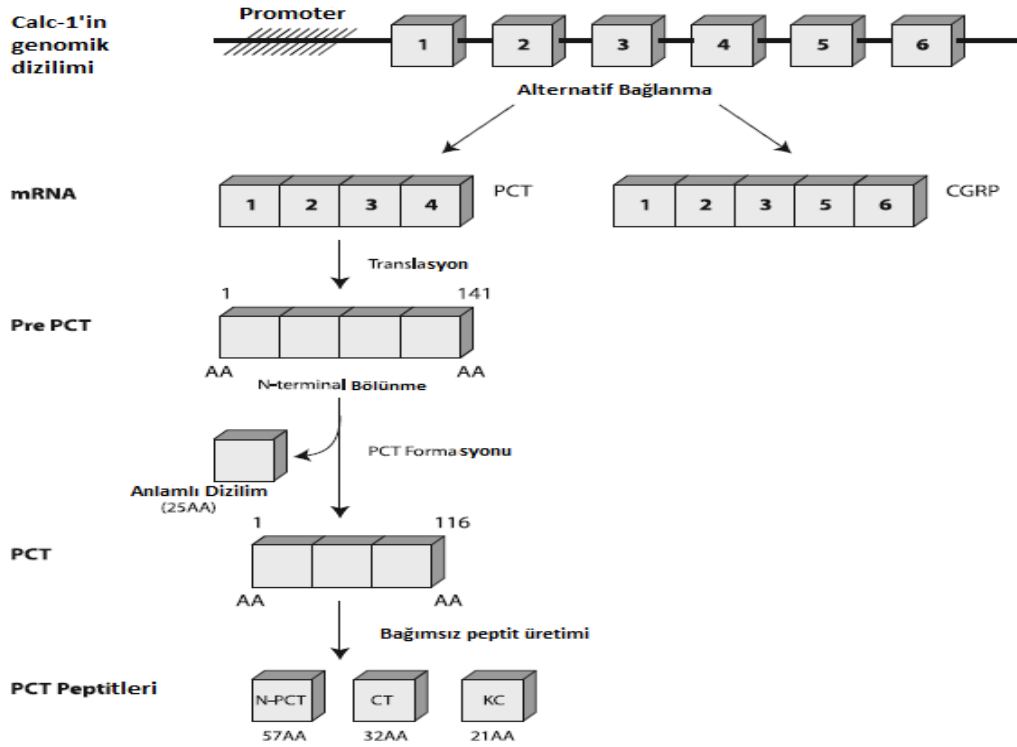
Tablo 2. İmatinibe yanıt kriterleri

	Cevapsızlık	Optimal yanıt
3. ay	Hematolojik yanıt yok	Tam hematolojik yanıt ve en az minör sitogenetik yanıt (Ph+<%65)
6. ay	Tam hematolojik yanıtta az, sitogenetik cevap yok (Ph+> %95)	En az kısmi sitogenetik yanıt (Ph+ < %35)
12. ay	Kısmi sitogenetik yanıtta az	Tam sitogenetik yanıt
18. ay	Tam sitogenetik yanıtta az	Majör moleküler yanıt (transkriptte 3 log azalma)
Herhangi bir zaman	Tam hematolojik yanıt kaybı, tam sitogenetik cevap kaybı, kinaz mutasyonu, imatinib insensitive	

2.6. Prokalsitonin

Prokalsitonin (PCT), günümüzde bakteriyel enfeksiyonların erken ve doğru teşhisinde güçlü bir marker olarak ortaya çıkmıştır. 1993’de sepsis ve enfeksiyonlu hastalarda serum prokalsitonin düzeyinin yüksek olduğu ve bu moleküle ait oluşumların önemi raporlanmıştır. Bakteriyel etkenleri virüsler gibi diğer enfeksiyöz ajanlardan ayırabilmesi ile CRP gibi geleneksel akut faz proteinlerinden daha doğru ve spesifik biomarker olarak kabul edilmiştir.

Prokalsitonin, 11. kromozomun kısa kolunda Calc-1 geni tarafından kodlanır ve 6 ekzon içerir. Alternatif bağlanma sonrası Calc-1, iki mRNA ürününün oluşumuna neden olur; prokalsitonin (ekzon1-4) ve kalsitonin gen related peptit (CGRP). Temelde PCT, tiroid C hücrelerinde, CGRP ise nöronal hücrelerde eksprese edilir. Calc-1 geninin translasyonu sonucu tiroid glandının C hücreleri içinde 141 aminoasitlik bir protein olan preprokalsitonin oluşur. Preprokalsitonin, endoplazmik retikuluma hareket eder, burada bunun N-terminal kısmından bölünerek prokalsitonin oluşur (şekil 2). Prokalsitonin 116 aminoasitten oluşur. Moleküler ağırlığı 14kDa’ dır. Daha sonra PCT, golgide konverting enzim ve Ca^{+2} hemostazı ile matur kalsitonin proteini oluşturmak için bölünür, ayrıca 2 flanking peptit N-proCT ve katakalsin oluşur. Dibazik lizin ve arjinin PCT’deki ayrılma için temel aminoasitlerdir. Gen haritası çalışmalarında Calc-1’de lokalize bir DNA bölümü tanımlanmıştır. Tiroid C hücrelerinde Calc-1’in 5’ ucunda PCT’in transkripsiyonel gelişimi için promoter bölge tanımlanmıştır. Calc -1 promoterdeki E2’ye bağlanan ve transkripsiyona izin veren tiroid spesifik transizyonel faktör (TF) tanımlanmış, aksine PCT ekskrete etmeyen hücrelerde TF’nin bulunmadığı öne sürülmüştür. İntraselüler PCT, kalsitoninin prekürsörü gibi iş görür. Normalde PCT az olarak hücrelerden sekrete edilir ve PCT kan konsantrasyonu son derece düşüktür. Bakteriyel enfeksiyon süresince moleküler olayların bir serisinde kan PCT düzeyi 1000 kattan fazla artabilir. İlginç olarak bu süreç süresince matür kalsitonin konsantrasyonu ya artmaz ya da çok yavaş artar. PCT-doku spesifik ekspresyonunun nedeni; bakteriyel enfeksiyonla transkripsiyonun uyarılmasıdır (20).



Şekil 2. Prokalsitonin moleküler yapısı ve oluşumu (20)

Bakteriyel enfeksiyonda, yüksek PCT konsantrasyonu, tiroid hücrelerinden yeni sentezlenen intraselüler PCT yüksek düzeyi ile ilişkilidir. Bazı araştırmacılar enfeksiyon sırasında PCT' in tiroid C hücrelerinden bağımsız olarak salındığını göstermişlerdir. Zaten total tiroidektomili enfekte hastalarda da serum PCT'in yüksek olduğu ve yapılan çalışmalara göre birçok dokunun bakteriyel enfeksiyon sırasında PCT salgılama yeteneğine sahip olduğu görülmüştür (20).

Enfeksiyon sırasında, PCT'in hücresel orijini ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bu süreçte, geniş anlamda önemli olan immün hücrelerin varlığıdır. Periferik kandaki mononükleer hücrelerin lipopolisakkarit benzeri çeşitli uyarılarla PCT üretimini sağlayabildiği, mononükleer hücrelerden PCT salınımı ile kan PCT konsantrasyonu arasında korelasyon olduğu tanımlanmıştır. Bakteriyel enfeksiyonun devamında beyaz kan hücrelerinden PCT salınımı, hasta köpeklerde yapılan çalışmalarda periferik kan lökositlerinde PCT mRNA'nın artışı ile sonuçlandırıldı.

raporlanmıştır. Monosit ve lenfosit gibi farklı tip kan hücrelerinin PCT içerdiği gösterilmiştir. Bunlara bağlı olarak PCT'nin potansiyel selüler kaynağı lökositlerle beraber parankimal hücrelerdir (20).

Bunun yanında, yapılan bazı çalışmalarda mononükleer hücrelerin PCT üretiminde yeteneksiz olduğu tariflenmiştir. LPS ile sitümlasyona rağmen stümlasyon sonrası IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinler de kolayca tespit edilmiştir. Bazı araştırmacılar, immün yetmezlikli hastalarda olduğu gibi nötropenik hastada da PCT artışını göstermişler, PCT indüksiyonunda, hematopoetik hücrelerin zorunlu olduğunu belirtmişlerdir. Gerçekte PCT yükselişinde, lökopeni etkili değildir. İmmüsuprese sepsisli hastalar, bu sonucu doğrulamaktadır. Sonuç olarak; PCT üretimine beyaz kan hücrelerinin katkısı henüz net değildir. Enfeksiyon hastalığı süresince ekstratiroidal PCT ekspresyonunun esas kaynağı parankimal hücreler olduğu ileri sürülmektedir (20).

Prokalsitonin esas olarak bakteriyel enfeksiyona bağlı ciddi sistemik inflamasyonda gösterilmiş, inflamasyonun diğer tiplerinde (viral enfeksiyon, otoimmün, organ transplantasyonu) düşük seviyede kaldığı gösterilmiştir. PCT düzeyinin bakteriyel endotoksinlerin dahil olduğu çeşitli stimülasyon, proinflamatuvar sitokinler, travma veya kardiyojenik şok gibi başlatıcı olayların indüklemesiyle arttığı klinik denemelerde gösterilmiştir. Bir enfeksiyon, sistemik inflamatuvar cevaba neden olmazsa PCT düşük seyreder. Birçok çalışmada, sepsisli hastalarda özellikle arttığı, nonbakteriyel orjinli sistemik inflamasyonda PCT' nin düşük seyrettiği saptanmıştır (21).

Özet olarak PCT; dahili bilimler içerisinde;

Septik hastalığın hızlı ve güvenilir tanısında ve ciddiyetinin derecesini değerlendirmek, akut pankreatitte enfeksiyonun steril nekroz dışındaki farklı etyolojileri ve biliyer pankreatitin toksik etyolojiler dışındaki nedenlerinin erken tespitinde, nedeni bilinmeyen ateşin enfeksiyöz etyolojisinin belirlenmesinde, otoimmün hastalıklarda akut atağın viral ya da bakteriyel nedenlerinin ayrımı, akut respiratuvar distress sendromunda nonenfeksiyöz ve enfeksiyöz etyolojilerinin ayrımında, immün suprese hastaların izleminde, kemoterapiyi takiben nötropenik hastaların izleminde, onkolojik

hastalarda kemoterapiye veya tümör lizise bağlı ateş etyolojisi ile enfeksiyona bağlı etyolojilerin ayrımında, viral ve bakteriyel enfeksiyonların ayrımında kullanılmaktadır. (4).

2.7. Leptin

Ob gen ürünü olan leptin, metabolik ve endokrin fonksiyonlar gibi gıda alımını düzenleyen pleitropik bir moleküldür. Leptin immünite, inflamasyon ve hematopoezde düzenleyici rol oynar. Düşük leptin düzeyleri ile karakterize olan açlık ve malnütrisyon durumlarında olduğu gibi leptin ve leptin reseptörü eksik hayvanlarda immünite ve inflamatuvar yanıtlarda değişiklikler mevcuttur. Hem leptin hem de leptin reseptörü, IL-6 ailesi ile birlikte yapısal ve fonksiyonel benzerliklere sahiptir. Leptin, T lenfositleri, lösemik hücreleri ve hematopoetik öncül hücreleri içerecek şekilde farklı hücre tiplerinde proliferatif ve onkopoetik aktivite gösterir. Sitokin üretimine, monosit/makrofaj aktivasyonuna, yara iyileşmesine, angiogeneze ve hematopoeze etki eder. Ayrıca leptin üretimi enfeksiyon ve inflamasyonda ciddi anlamda artar.

Leptin, asıl olarak yağ dokusu tarafından üretilir, dolaşımdaki düzeyleri yağ dokusu kütlesi ile direkt koreledir (5). 167 aminoasitten oluşur ve 16 kd ağırlığındadır. Sekresyonu pulsatil ritm gösterir. Gece 1-2 arası en yüksek düzeyde, öğleden sonra en düşük düzeye ulaşır (22). Dolaşımda serbest ve bağlı formda bulunur. Zayıf insanlarda, leptinin % 50' si bağlı formda bulunurken, obez kişilerde dolaşımda çoğu serbest olarak bulunur (23).

Hematopoez, çok sayıda sitokinle düzenlenir ve spesifik hücre yüzey reseptörlerine yüksek afinite ile bağlanmasına aracılık eder. Yakın zaman önce, hematopoetik hücrelerde leptin reseptörü, obese gen (ob) saptanmıştır. Leptin, myeloid ve eritroid gelişimi stimüle eder. Ek olarak, normal hematopoetik hücrelerin fonksiyonunu, lösemik hücrelerin diferansiasyonunu, proliferasyonunu, bunların yaşamları süresince sitokin ve reseptörlerinin sağlanmasını uyarır. Lösemik hücrelerde, leptin reseptör ekspresyonu ve leptinin bazı hücrelerdeki etkileri önemlidir (23).

Leptin reseptörleri, KML, ALL, AML gibi hastalıklarda eksprese olabilir, fakat KLL’ de(kronik lenfositik lösemi) saptanmaz. KML hastalarında, kronik fazdan blastik faza geçiş süresince yüksek leptin reseptör overekspresyonu saptanmıştır. Leptin reseptör ekspresyonu, lösemik hücrelerin diferansiasyonu sırasında azalmıştır. Leptin reseptör ekspresyonunun immatür lösemik hücrelerle ilişkili olduğu görülmektedir. Benzer şekilde immatür nötrofillere göre CD34 pozitif immatür hematopoetik progenitör hücrelerde yüksek leptin reseptör ekspresyonu saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda CD34-, CD33+ ve CD34-, CD13+ (promyelosit) hücrelerde uzun izoformun olmadığı ve kısa izoformun çok düşük seviyelerini eksprese ettiğini bulmuşlardır. Bu sonuçlar doğrultusunda miyeloid diferansiasyon süresince leptin reseptör ekspresyonunun hızlı down regülasyonu olduğu ileri sürülmüştür (23).

KML blast krizindeki bir hastanın lösemik hücrelerinin sayısı leptin ve GM-CSF kombinasyonu ile sinerjik olarak arttığı gösterilmiştir. Tüm bu bulgular lösemi patofizyolojisi için önemlidir (23).

Hematopoezde leptin, hematopoetik hücrelerin proliferasyonunu sağlar, eritroid ve miyelopoetik hücre prekürsörlerinin diferansiasyonunu stümüle eder. LEPR’nin (sitokin reseptör ailesi üyesi) ayrıca AML’de proliferatif ve antiapoptotik aktivitesi, KML blast krizinde yüksek ekspresyon düzeyleri vardır. Lösemi patogenezinde patofizyolojik rolü olduğu düşünülür. LEPR’nin primer KML CD34 hücrelerinin upregülasyonunda olduğu gibi bu reseptör lösemik progenitörlerin proliferasyon ve diferansiasyonunu aktive edebilir ve bu terapötik yaklaşımda uygun hedef olabilir (24).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta ve kontrol grubu

Yapılan araştırma kapsamına 2007 tarihinden itibaren Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Hematoloji servisi ve polikliniğinde kronik myeloid lösemi tanısı ile takip edilen ve imatinib, nilotinib, dasatinib tedavisi altındaki 18-50 yaş arası 56 hasta alındı.

Kontrol grubuna Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları polikliniğine başvuran bilinen sistemik hastalık hikayesi olmayan 25-77 yaş arası 27 kişi dahil edildi.

Hastalarda KML tanısı tam kan sayımı, periferik yayma, kemik iliği aspirasyonu, fluorescence in situ hybridisation (FISH) ile BCR/ABL füzyon geninin ve Ph kromozomunun saptanmasına dayanılarak konuldu.

Hastaların tedaviye yanıtları hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt olarak değerlendirildi.

Hematolojik yanıt, tedavinin ilk ayından itibaren haftada bir, tedavinin 2. ve 3. ayında 15 günde bir, 4. , 5. ve 6. Ayından itibaren ayda bir, 6. Aydan sonra 3 ayda bir yapıldı.

Sitogenetik yanıt değerlendirmesi, yanıt alınana kadar 3, 6, 12, 18. ayda FISH yöntemi kullanılarak yapıldı.

Moleküler yanıt değerlendirmesi, tedavi başlangıcının 18. Ayından itibaren yılda 2 kez RT-PCR yöntemi kullanılarak yapıldı.

3.2. Örneklerin toplanması

Hasta ve kontrol grubundan leptin ve prokalsitonin için kan örneklerinin toplanması bir yıllık süreçte gerçekleştirildi. 12 saat açlık sonrası venöz kan örnekleri

vakumlu jelli tüpe 5-7 cc kan alınıp 30 dakika bekletilerek 4000 rpm’ de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum 1.5 ml’ lik ependorf tüplere konularak çalışma gününe kadar leptin -80 derecede, prokalsitonin örnekleri -20 derecede muhafaza edildi. Elde edilen serum örnekleri 1 gün önce +4 derecede bekletilip sonrasında oda sıcaklığında eritilerek çalışmaya alındı.

3.3. Prokalsitonin ölçümü

Prokalsitonin düzeyleri, ELİSA yöntemi ile The RayBio® Human Procalcitonin ELİSA Kit, Cat#: ELH-PROCALC-001 kullanılarak çalışıldı.

The RayBio® Human Procalcitonin ELİSA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) kit in vitro serum, plazma, hücre kültür örnekleri ve idrardan prokalsitoninin kantitatif ölçümü için enzim bağımlı immunosorbent yöntemidir. Bu yöntemde 96 plaka kuyucuğu insan PCT spesifik antikoru ile kaplanmıştır. Standart ve örnekler (serum, plazma.) bu kuyucuklara aktarılır ve örneklerdeki PCT immobilize antikor ile bağılı olarak bulunur. Kuyucuklar yıkanır ve biotinillenmiş anti-human PCT antikor eklenir. Yıkanarak biotinile edilmiş antikorlar uzaklaştırılır, streptavidinle konjuge-HRP (horseradish peroxidase) kuyucuklara eklenir. Kuyucuklar tekrar yıkanır, TMB (kromojenik solusyon) substrat solusyonu kuyucuklara konularak PCT’in bağılı olduğu miktarı ile orantılı olarak renk değişimi olur. Durdurucu solusyon ile mavi renkten sarıya değişim olur, renk duyarlılığı 450 nm.’de ölçülür.

Kit içeriği;

- Prokalsitonin mikropate; anti-human PCT ile kaplanmış 96-plaka kuyucuk
- Yıkama tamponu
- Standartlar: 2 flakon recombinant insan PCT
- Seyreltici A: 30 ml % 0,09 sodyum azid
- Seyreltici D: 15 ml 5 kez konsantre edilmiş tampon
- Seyreltici B: 15 ml 5 kez konsantre edilmiş tampon (antikor ve HRP-Streptavidin konsantre seyreltici)

- Prokalsitonin antikor algılayıcı: 2 flakon biotinillenmiş anti-human PCT
- HRP-Streptavidin konsantresi : 200µl 700 kez konsantre edilmiş HRP-konjuge streptavidin
- TMB substrat reaktifi: 3,3',5,5'- tetrametilbenzidin (TMB) tampon solusyonundan 12 ml
- Durdurucu solüsyon: 0.2 M sülfirik asitten 8 ml.

Çalışma yöntemi;

- 1- Tüm reaktif ve örnekler kullanmadan önce 18-25 derece oda sıcaklığına getirildi.
 - 2- Her bir standart ve örnekten 100µl kuyucuklara eklendi. Kuyucuklar kapatılarak oda sıcaklığında 2.5 saat inkübe edildi.
 - 3- Solusyon ayrıldı ve yıkama solusyonu ile 4 kez yıkandı. Çok kanallı pipet veya otomatik yıkama kullanılarak yıkama tamponu ile her bir kuyucuk yıkandı. İyi performans için her adımda kalan sıvı uzaklaştırıldı. En son yıkamadan sonra yıkama tamponu hiç kalmayacak şekilde aspire edildi. Plakalar ters çevrildi. Emici materyale kurulandı.
 - 4- Her bir kuyucuğa 100 µl biotinillenmiş antikor eklendi. Oda sıcaklığında nazikçe sallayarak 1 saat inkübe edildi.
 - 5- Solusyon ayrılarak 3. basamaktaki işlemler tekrarlandı.
 - 6- Streptavidin solusyonundan 100 µl her bir kuyucuğa eklendi. Nazikçe sallayarak oda sıcaklığında 45 dakika inkübe edildi.
 - 7- Solusyon ayrılarak 3. basamaktaki işlemler tekrarlandı.
 - 8- Her bir kuyucuğa 100 µl TMB reaktif substrat eklendi. Hafifçe sallayarak gece oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
 - 9- Her bir kuyucuğa 50 µl durdurucu solusyon eklenerek 450 nm. de okundu.
- Yöntem 30 pg/ml üstündeki değerlere duyarlıdır.

3.4. Leptin ölçümü

Leptin düzeyleri, ELİSA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi kullanılarak Human Leptin ELISA Kit, Catalog No. EK0437 kullanılarak çalışıldı.

Boster Human Leptin ELISA Kit, standart sandviç enzim bağımlı immun sorbent assay teknolojisi ile üretilmiştir. 96 plaka kuyucuğu leptin spesifik-spesifik monoklonal antikor ile kaplıdır. İnsan spesifik monoklonal antikor biotinillenir. Test örnekleri ve biotinile antikorlar kuyucuklara eklenir ve PBS veya TBS tamponu ile yıkanır. Avidin-Biotin-peroksidaz kompleksi eklenir ve serbest konjugatlar PBS veya TBS tamponu ile uzaklaştırılır. HRP substratı TMB, HRP enzimatik reaksiyonu için kullanılır. TMB, HRP ile katalize olur, durdurucu solusyon eklenerek mavi renk sarı renge dönüşür. Sarı rengin dansitesi plakadaki örneğin leptin miktarı ile orantılıdır.

Kit içeriği;

- Liyofilize edilmiş rekombinant human leptin: 10 ng 2 tüp
- Anti human leptin antikorlu ile kaplı 96 plate kuyucuğu
- Örnek dilusyon tamponu: 30 ml
- Biotinillenmiş anti-human leptin antikorlu:12 ml
- Avidin-Biotin-Peroksidaz kompleksi (ABC): 1/100 dilue edilmiş 130 µl
- ABC seyreltilmiş tampon: 12 ml
- TMB renk değiştirici ajan:10 ml
- TMB durdurucu solusyon:10 ml
- Liyofilize rekonbinant human-leptin kalite kontrol:2 flakon

Çalışma yöntemi;

ABC çalışma çözeltisi ve TMB renk değiştirici ajan 30 dakika 30 derecede bekletilir. Örnek ve reaktifler dilue edilerek tamamen ve eşit şekilde karıştırılmalıdır. Standart leptin eğrisi her bir örnek için hazırlanır. Kullanıcı örneklerdeki leptin miktarının tahmini olarak kaç kat seyreltiliceğine karar vermelidir.

- 1- 4000 pg/ml, 2000 pg/ml, 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml human leptin standart solusyonlarının 0.1 ml'si her bir kuyucuğa konuldu. Dilue edilmiş tampon örneklerinin 0.1 ml'si kontrol kuyucuklarına eklendi. Serum, plazma.. örneklerinin dilue edilmiş 0.1 ml'si boş kuyucuklara eklendi.
- 2- Kuyucuklar kapatılarak 37 derecede 90 dakika inkübe edildi.
- 3- Kapak kaldırılarak, içerik ayrıldı. Kuyucukların tamamen kurummasına izin vermeden emici materyale emdirildi.
- 4- Her bir kuyucuğa biotinillenmiş anti-human leptin antikor çalışma solusyonu her bir kuyucuğa eklenerek 37 derecede 60 dakika inkübe edildi.
- 5- 0.01 M TBS veya 0.01 PBS ile plateler 3 kez yıkandı ve 1 dakika süreyle kuyucuklarda yıkama tamponunun kalmasına izin verildi. Yıkama tamponu uzaklaştırılarak plate emici materyale emdirildi. (plaka yıkama metodu: kenarlarına dokunmadan plate içindeki solusyon uzaklaştırıldı. Plate kurularak her bir kuyu en az 0.3 ml PBS veya TBS tamponu ile 1-2 dakika ıslatıldı. Toplam 3 yıkama için bu işlem 2 kez tekrarlandı. Otomatik yıkama için tüm kuyular aspire edildi ve 3 kez PBS ve TBS tamponu ile yıkandı. Kuyucuklar TBS veya PBS tamponu ile taşırıldı. Plakalar emici materyalle kurulandı.
- 6- Hazırlanmış ABC çalışma solusyonundan her bir kuyuya 0.1 ml eklenerek 37 derecede 30 dakika inkübe edildi.
- 7- Plakalar 0.01 M TBS veya PBS ile 5 kez yıkandı ve 1-2 dakika kuyularda yıkama tamponu bekletildi. Yıkama tamponu atılarak plakalar kurulandı.
- 8- Hazırlanmış TMB renk değiştirici solusyondan her bir kuyucuğa 90 µl eklendi ve 15-20 dakika karanlıkta 37 derecede inkübe edildi.
- 9- TMB durdurucu solusyondan her bir kuyucuğa 0.1 ml eklendi, renk sarıya döndü.
- 10- Durdurma solusyonu ekledikten 30 dakika sonra 450 nm O.D absorbanta okundu.

3.5. İstatistiksel değerlendirme

Araştırmada veriler toplandıktan sonra SPSS 20.0 istatistik paket programına girilerek araştırmalar gerçekleştirildi. İstatistiksel analizler; birbirinden bağımsız iki

grup arasındaki istatistiksel analiz; Mann-Whitney U testi ile, ikiden fazla grubun analizi; Kruskal Wallis testi ile, kategorik verilerin analizi; Chi Square testi ile uygulandı. P değeri <0.05 saptanan bulgular istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Yapılan araştırma kapsamına, 56 kronik myelositer lösemi hastası alındı. Hastaların 30'u kadın (% 53.5) ve 26'sını (% 46.5) erkek oluşturdu. Hastaların yaş ortalaması; 49.1 ± 15.8 yıl olarak bulundu. Kontrol grubuna 11 erkek (% 40.7) ve 16 kadın (% 59.3) olmak üzere 27 kişi dâhil edildi. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise 43.9 ± 12.3 yıl olarak bulundu.

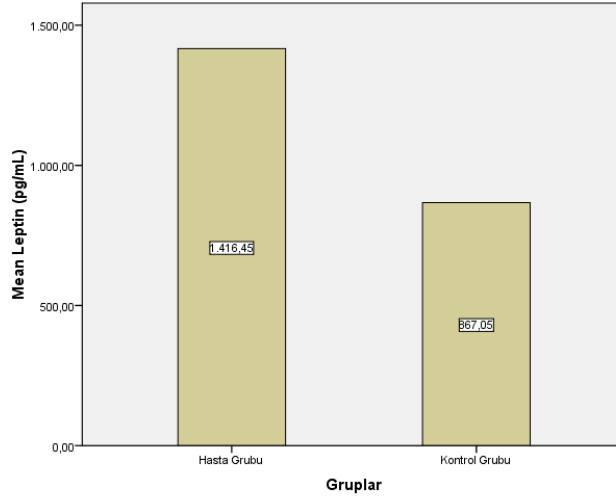
Çalışmaya alınan KML hastalarının 7'si (%12.5) yeni tanı konulup 7-30 gün arası tedavi alan, 49'u (%87.5) ise eski tanıli tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi alan hastalardı. Hastaların 48'i (%85.7) imatinib, 8'i (%14,3) 2. kuşak TKI almaktaydı.

Kronik myelositer lösemi tanısı periferik yayma değerlendirmesi ve FISH ile BCR/ABL füzyon geninin ve Ph kromozomunun saptanmasına dayanılarak konuldu. Hastaların tamamı tanı anında kronik fazdaydı. Hastaların %83.6'sı hematolojik, sitogenetik veya moleküler remisyondaydı. Bu hastaların da %78'i imatinib tedavisi almaktaydı.

1. ve 2. kuşak tirozin kinaz inhibitörü alan KML hastalarının leptin değerlerinin ortalaması; 1416.45 ± 958.44 pg/ml, kontrol grubunun ise 867.05 ± 445.66 pg/ml idi. Hasta grubu ile kontrol grubunun leptin değerleri karşılaştırıldığında; hasta grubunun leptin değerleri daha yüksekti ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$) (Tablo 4.1) (Şekil 3).

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol grubunun leptin ortalaması

Hormon	Hasta (n=49)	Kontrol (n=23)	P
Leptin (pg/ml)	1416.45 ± 958.44	867.05 ± 445.66	0.02



Şekil 3. Hasta grubu ile kontrol grubunun leptin ortalamaları (p=0.02)

Yeni tanı alan 7 KML hastasının leptin değerleri, uzun süredir tedavi alan eski tanı 42 KML hastası ile karşılaştırıldı. Yeni tanı KML hastalarında leptin değerlerinin ortalaması; 1263.07 ± 612.94 pg/ml, eski tanı KML hastalarında ise 1442.01 ± 1007.85 pg/ml idi. Eski tanı KML hastalarının leptin değerlerinin ortalaması, yeni tanı hasta grubundan yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 4.2).

Tablo 4. 2. Yeni tanı ve eski tanı KML hastalarının leptin ortalaması

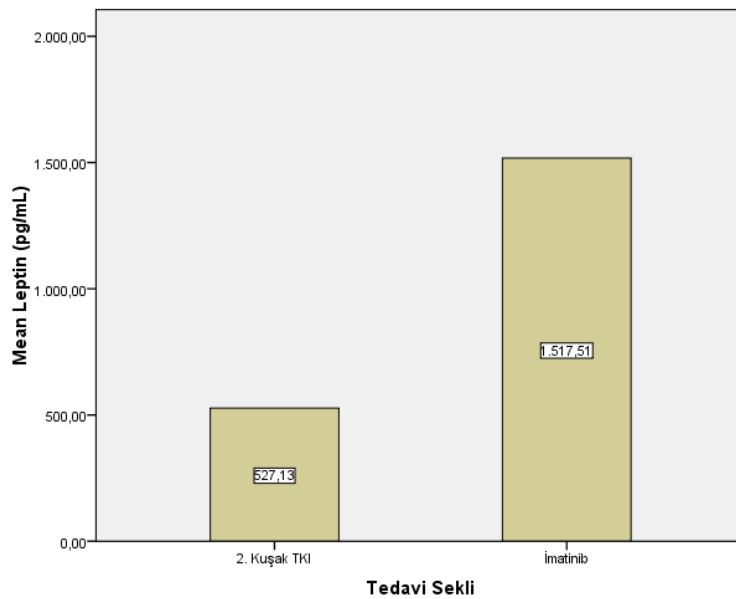
Hormon	Yeni tanı (n=7)	Eski tanı (n=42)	P
Leptin (pg/ml)	1263.07 ± 612.94	1442.01 ± 1007.85	1

İmatinib tedavisi altındaki KML hastaları ile 2.kuşak TKI alan KML hastalarının serum leptin değerleri ölçüldü.

İmatinib alan hastaların serum leptin değerlerinin ortalaması; 1517.51 ± 959.54 pg/ml, 2.kuşak TKI kullanan hastaların ise 527.51 ± 156.93 pg/ml bulundu. İmatinib alan hasta grubunun serum leptin değeri ile 2. kuşak TKI alan KML hastalarının serum leptin değerleri karşılaştırıldığında; imatinib alan grupta serum leptin düzeyi daha yüksekti ve aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı idi ($p<0.05$) (Tablo 4.3) (Şekil 4).

Tablo 4. 3. Tedavi şekline göre leptin ortalaması

Hormon	İmatinib(n=44)	DiğerTKI(n=5)	P
Leptin (pg/ml)	1517.51 ± 959.54	527.13 ± 156.938	0.006



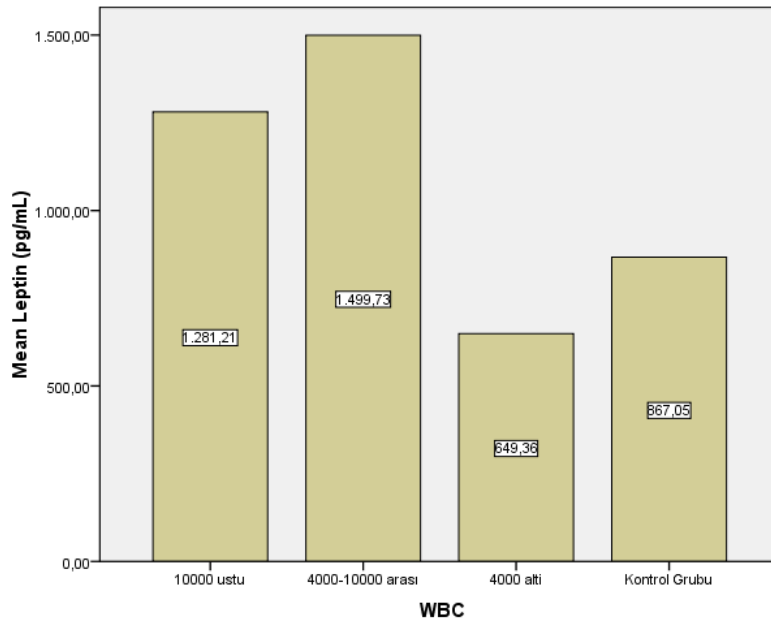
Şekil 4. İmatinib ve 2. Kuşak TKI kullanan hastaların leptin ortalamaları ($p=0.006$)

Beyaz küre sayısı $>10000/\text{mm}^3$ 7 hasta, $< 4000/\text{mm}^3$ olan 3 hasta, 4000-10000/ mm^3 olan 39 hastanın leptin ortalaması değerlendirildi.

Beyaz küre sayısı $>10000/\text{mm}^3$ olan hastalarda serum leptin değerlerinin ortalaması; 1281.21 ± 643.67 pg/ml, beyaz küre sayısı $< 4000/\text{mm}^3$ olan hastalarda; 649.36 ± 259.85 pg/ml, beyaz küre sayısı 4000-10000/ mm^3 olan hastalarda; 867.05 ± 445.66 pg/ml, kontrol grubunun ise 867.05 ± 445.66 pg/ml olarak bulundu. Beyaz küre sayısı $<4000/\text{mm}^3$ olan hastalarda leptin değerlerinin ortalaması diğer gruplara göre belirgin olarak düşüktü ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$) (Tablo 4. 4)(Şekil 5).

Tablo 4.4. Hasta ve kontrol grubunun leptin ortalamalarının beyaz küre sayısı ile ilişkilendirilmesi

Hormon	Lökositoz $>10000/\text{mm}^3$ (n=7)	Beyaz küre $<4000/\text{mm}^3$ (n=3)	Normal 4000- 10000/ mm^3 (n=39)	Kontrol (n=23) Beyaz küre normal	p
Leptin (pg/ml)	1281.21 ± 643.67	649.36 ± 259.85	1499.73 ± 1017.07	867.05 ± 445.66	0.04



Şekil 5. Beyaz küre sayısı ile leptin ilişkisi ($p=0.04$)

Çalışmaya alınan gruplar, prokalsitonin değerleri açısından değerlendirildi.

KML hastalarının prokalsitonin değerlerinin ortalaması; 747.20 ± 581.10 pg/ml, kontrol grubunda; 433.89 ± 213.70 pg/ml idi. KML hastalarının ortalama prokalsitonin değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hasta grubunda daha yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 4.5).

Tablo4. 5. Hasta ve kontrol grubunun prokalsitonin ortalaması

Hormon	Hasta (n=47)	Kontrol (n=15)	P
Prokalsitonin (pg/ml)	747.20 ± 581.10	433.89 ± 213.70	0.09

Prokalsitonin ortalaması yeni tanı 7 hastada ve eski tanı 40 hastada çalışıldı. Yeni tanı KML hastalarında prokalsitonin değerlerinin ortalaması; 629.53 ± 417.39 pg/ml, eski tanı KML hastalarında ise 767.79 ± 607.09 pg/ml idi. Eski tanı KML hastalarının prokalsitonin değerlerinin ortalaması yeni tanılı KML hasta grubuna göre hafif yüksek bulundu fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Yeni tanı ve eski tanı KML hastalarının prokalsitonin ortalaması

Hormon	Yeni tanı (n=7)	Eski tanı (n=40)	P
Prokalsitonin (pg/ml)	629.53 ± 417.39	767.79 ± 607.09	0.7

İmatinib tedavisi altındaki 41 hastanın, 2.kuşak TKI kullanan 6 hastanın prokalsitonin ortalaması alındı.

İmatinib alan hastaların serum prokalsitonin değerlerinin ortalaması; 778.00 ± 605.39 pg/ml, diğer TKI kullanan hastaların ise 536.72 ± 337.22 pg/ml idi. İmatinib tedavisi alan hastalarda serum prokalsitonin değerlerinin ortalaması, 2. Kuşak TKI ile tedavi alan hastalara göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Tedavi şekline göre prokalsitonin ortalamasının değerlendirilmesi

Hormon	İmatinib(n=41)	DiğerTKI(n=6)	P
prokalsitonin (pg/ml)	778.005 ± 605.39	536.72 ± 337.22	0.45

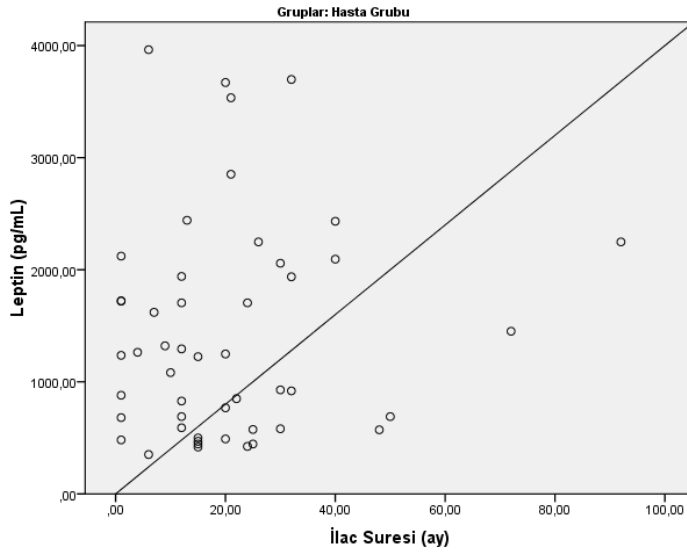
Beyaz küre sayısı $>10000/\text{mm}^3$ olan 7 hasta, $< 4000/\text{mm}^3$ olan 2 hasta, $4000-10000/\text{mm}^3$ olan 38 hastanın prokalsitonin değerlerinin ortalaması değerlendirildi.

Beyaz küre sayısı $>10000/\text{mm}^3$ olan hastalarda, serum prokalsitonin değerlerinin ortalaması; 590.79 ± 398.62 pg/ml, beyaz küre sayısı $< 4000/\text{mm}^3$ olan hastalarda; 1118.64 ± 958.78 pg/m, $4000-10000/\text{mm}^3$ olan hastalarda; 756.46 ± 597.52 pg/ml ve kontrol grubunda ise 433.89 ± 213.70 pg/ml idi. Beyaz küre sayısı $< 4000/\text{mm}^3$ olan hastalarda prokalsitonin ortalaması diğer gruplara göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 4.8).

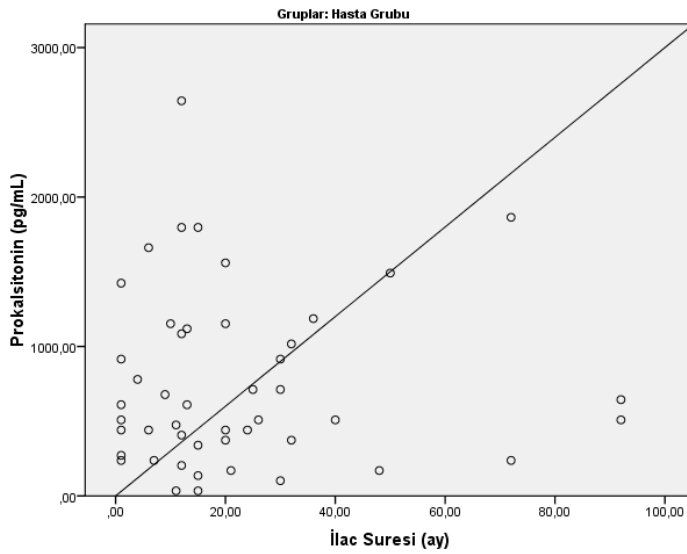
Tablo 4.8. Hasta ve kontrol grubunun prokalsitonin ortalamalarının beyaz küre sayısı ile ilişkilendirilmesi

Hormon	Lökositöz $>10000/\text{mm}^3$ (n=7)	Beyaz küre $<4000/\text{mm}^3$ (n=2)	Normal $4000-10000/\text{mm}^3$ (n=38)	Kontrol (n=15)	p
Prokalsitonin) (pg/ml)	590.79 ± 398.62	1118.64 ± 958.78	756.46 ± 597.52	433.89 ± 213.70	0.31

Araştırmamızda; TKI ile tedavi altındaki hastaların tedavi süreleri ile leptin ve prokalsitonin ortalamaları arasındaki korelasyon değerlendirildi. İmatinib tedavisi alan hastalar ortalama; $21,4 \pm 19,2$ ay ve diğer TKI alan hastalar ortalama; $28,6 \pm 28,4$ ay tedavi almaktaydı. Tedavi süresi ile leptin ve prokalsitonin ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunamadı ($p>0.05$)(Şekil 6,7).



Şekil 6.İlaç kullanım süresi ile leptin ortalaması arasındaki korelasyon ($p=0.43$)



Şekil 7.İlaç kullanım süresi ile prokalsitonin ortalaması arasındaki korelasyon($p=0.93$)

5. TARTIŞMA

Pluripotent kök hücrenin malign klonal hastalığı olarak Kronik myelositer lösemi (KML), Philadelphia (Ph) kromozomu olarak bilinen spesifik bir kromozomal anormalliğin bulunduğu ilk malignitedir. 9. ve 22. kromozomlar arası resiprokal translokasyon sonucu oluşur. Çoğu hastada, Ph kromozumunu indükleyen faktör bilinmemektedir (2). Biz yapmış olduğumuz çalışmada leptin ve prokalsitoninin (PCT), özellikle yeni tanı alan KML hastalarındaki düzeylerini, kemoterapi esnasında tedavi şekli ve remisyon süreci ile ilişkisini belirlemeyi amaçladık.

Leptin'in immünite ve hematopoezde önemli rol oynadığı bilinmektedir. T lenfosit, lösemik hücre ve hematopoetik progenitörlerin dahil olduğu çeşitli hücre tiplerinde proliferatif ve antiapoptotik aktivite gösterir. Leptinin bu biyolojik etkisi onun yüzey reseptörü aracılığı ile gerçekleşir. Mitojen-aktivated protein kinaz (MAPK), nükleer faktör-kb (NF-kb) ve sinyal transducer ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) gibi farklı sinyal yollarının aktivasyonu ile sonuçlanır. Nihayet çeşitli genlerin ekspresyonunu indükleyerek diferansiasyon ve proliferasyonu sağlar. Yeni çalışmalarda Akut myelositer lösemi (AML), Akut lenfositik lösemi (ALL), Kronik myelositer lösemili (KML) hastaların lösemik hücrelerinde leptin reseptör ekspresyonu gösterilmiş olup KML hastalarının blast krizinde, kronik fazdan daha fazla ekspresyon gösterilmiştir. Leptin reseptörlerinin normal miyeloid gelişimde rol oynadığı düşünülmektedir (25,26).

BCR-ABL füzyon geninin esas tirozin kinaz aktivitesi, KML'de kontrolsüz hücre gelişiminden sorumludur ve diferansiasyon, adezyon, migrasyon ve apoptotik cevap gibi normal selüler fonksiyonlarda çeşitli değişikliklere neden olduğu düşünülmektedir. Bundan dolayı yeni tanı KML hastalarında ve imatinib tedavisi ile BCR-ABL supresyonu sağlanan hastalarda çeşitli leptin reseptör izoformlarının ekspresyon düzeylerinin bilinmesi lösemi patogenezindeki ilişkisi açısından önemlidir (25).

Obez (ob) gen ürünü olan leptin, kendi reseptörüne bağlanarak multipl biyolojik fonksiyonları düzenler. Leptin, kemik iliği kavitesi ve mikroçevreyi dolduran yağ dokusundan da sentezlenir. Sadece normal hematopoetik kök hücre proliferasyon ve diferansiasyonun kontrolünde rol oynamakla kalmaz ayrıca lösemik hücrenin yaşam ve gelişimini stümüle eder. Yapılan çalışmalarda AML, ALL, KML’li hastaların lösemik hücrelerinin leptin reseptörü eksprese ettiği, buna ilaveten anjiogenezi destekleyerek lösemik hücrelerin gelişimini stimüle ettiği belirtilmiştir. Bu bulgular, leptin ve reseptörlerinin lösemi patofizyolojisinde rol oynadığını düşündürmektedir. Leptin’in reseptörüne bağlanmasının blokajı lösemnin tedavisinde terapötik avantaj sağlayabileceği düşünülmektedir (27).

Yapılan diğer çalışmalarda; AML, KML, ve ALL hastalarının lösemik hücrelerinden leptin reseptör ekspresyonu saptanmıştır. KML’li hastaların leptin reseptör ekspresyon düzeyinin klinik faza bağlı olduğu düşünülmektedir. Blastik krizde kronik fazdan daha fazla ekspresyon görülmüştür. Blastik krizin gelişiminde olduğu gibi, immatür blast ve promyelositlerin sayısı nispeten artar. KML’de leptin reseptör ekspresyonunun immatür lösemik blast hücrelerine bağlı olduğu düşünülmektedir. Benzer şekilde matür nötrofillere göre CD34+ immatür hematopoetik hücrelerde leptin reseptörlerinin yüksek ekspresyonu görülmektedir (26). Gainsford ve arkadaşları (28); matür granülositlere göre immatür granülositlerde leptin reseptör ekspresyonunun fazla olduğunu, Mikhail ve arkadaşları (29); leptinin hematopoetik gelişimde belirgin etkisi olduğunu, Umemoto ve arkadaşları(30); myelositik ve primitif hematopoetik progenitor hücre proliferasyonunu stümüle ettiğini raporlamışlardır. Leptin, erken hematopoezde hematopoetik büyüme faktörü gibi rol oynayabilmektedir. Çeşitli hematopoetik büyüme faktörleri spesifik reseptörleri ile lösemik hücrelerin gelişimini stümüle eder. Kemik iliği leptinin doğal kaynağı olarak adiposit içerir. Bunun, kemik iliğinde lösemik hücre proliferasyonunda önemli rol oynayabileceği üstünde durulmaktadır (26).

Alonci ve arkadaşlarının (31) yapmış olduğu çalışmada; imatinib tedavisinden önce ortalama leptin düzeyinin kontrol grubundan farklı olmadığı, imatinib tedavisinden

sonra moleküler remisyonadaki tüm hastalarda leptin düzeyinde artış olduğu saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda; KML hastalarının leptin düzeyi ile kontrol grubunun leptin düzeyi karşılaştırıldığında hasta grubunda ortalama leptin değerleri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Bu sonuç; leptinin lösemi patogenezinde rolü olduğunu düşündürmektedir. Yeni tanı alan KML hastaları, daha önceden tanı almış hastalarla karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da eski tanıli hasta grubunda ortalama leptin değerleri yüksek bulundu. İmatinib ve 2. Kuşak TKI alan hastaların serum ortalama leptin değerleri karşılaştırıldığında; imatinib alan hastaların serum leptin ortalaması istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Hastaların %83.6'sı hematolojik, sitogenetik veya moleküler remisyondaydı. Bu hastaların da %78'i imatinib tedavisi almaktaydı. Tüm bu sonuçlar leptin düzeyindeki artışın remisyon süreci ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir. Elde ettiğimiz bu sonuçlar literatürle uyumludur. Bu çalışma daha çok sayıda nilotinib ve dasatinib alan hasta elde edildiğinde tekrar edilebilir.

Serum leptin ve OB-R ekspresyon düzeyleri çoğu kanser tipinde obeziteye bağlı olarak artsa da lenfoid ve miyeloid malignitelerde serum leptin düzeyinin azaldığını belirten yayınlar da vardır (32,33).

Kamile ve arkadaşlarının(25) yapmış olduğu bir çalışmada; KML hastalarında belirgin düşük leptin reseptör düzeylerinin bulunması; miyeloid gelişim ve diferansiasyonda, leptin reseptörlerinin ilgili olduğunu tanımlamaktadır. Leptin reseptörlerinin anormal ekspresyonu KML patogenezi ile ilgili olabileceği, ek olarak aynı çalışmada imatinib tedavisinin takibinde imatinibin leptin reseptör ekspresyon düzeyini etkilemediği rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında KML hastalarında leptin düzeyinin yüksek bulunması bize farklı sonuçların olabileceğini göstermiştir. Bu farklılık hastaların değerlendirmeye alınmayan vücut kitle indeksleriyle ilgili olabilir. Yine çalışmamızda, leptin ortalaması imatinib kullanan hastalarda yüksek saptanmıştır ve bu durum remisyon süreci ile ilgili olabilir ancak bu konuyla ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Malign transformasyonda BCR-ABL onkoproteini ile birlikte birçok mekanizma rol oynar. Esas olarak PI3 kinaz yolağı gibi mitojenik sinyal yolları aktive olur. Bir kez aktive olduğunda; hücre gelişimini, proliferasyon ve apoptozu kontrol eder. Bu, tümör formasyonu ve malign hücre yayılımı ile ilgilidir. Kemik iliğı mikroçevresindeki değişiklikler ve sitokin üretiminin düzensiz paterni, hematopoetik kapasite yetmezliğine neden olur, sonuç olarak stromal hücre popülasyonu azalır. Morfolojik olarak tanımlanan adipositler, sağlıklı insanlardaki kemik iliğı stromal hücrelerde myeloid diferansiasyonda inhibitör etki gösterir. KML’li hastalarda kronik faz boyunca pre-adipositlerin sayısı artar, KML bir kez blastik faza girdiğinde azalır. Remisyonunda kemik iliğı adipositleri tekrar görülür (34,35).

Birçok çalışmada; AML’ye karşı leptinin protektif etkisinin tanımlanmasına rağmen KML’de leptinin rolü açık değildir. Tersine, adipositlerle ilgili olarak miyeloid orijinli lösemik hücreler lipitleri biriktirir. Bu lipit birikimi sudan-black boyası ile gösterilebilir. Miyeloid hücrelerdeki lipit birikimi, ateroskleroz ve astım gibi bazı patolojik olayların görülmesine neden olur. Kanserde bu birikimin mikroçevresel sitokinlerden hücreleri koruduğı ve KML hastalarının kemik iliğinde sıklıkla gözlenen inflamatuvar cevabı indüklediğı düşünülmektedir. Bu, proliferasyonun azalmasıyla ilişkilendirilmektedir (36,37).

Aurore ve arkadaşlarının (36) yapmış olduğı çalışmada; ayrıca, BCR-ABL pozitif hücre serileri adipositlere kültüre edildiğinde leptin üretiminin arttığı görülmüştür.

Leptinin çoğı kanserde proliferatif ve antiapoptotik ajan olduğu bilinmektedir. Son yayınlara göre leptinin etkisi; reseptörü (OB-R) ve PI3K yolağı ile ilgilidir. Bu çalışmada da leptinin tek başına OB-R ekspresyon, proliferasyon ve KML sağkalımına etkisi olmadığı görülmüştür. Bu farklılık, kullanılan leptin miktarı ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir (36).

Adipositlerden sekrete edilen leptin, invitro progenitör hücre düzeyinde hematopoezi stümüle eder. İn vivo kan hücre miktarı ile leptin düzeyi koreledir. Minami

ve arkadaşlarının (38) kemoterapi altındaki hastalarda kan hücre düzeyi ile leptin düzeyinin karşılaştırıldığı bir çalışmada; cinsiyet, kilo veya beden kitle indeksi (BMI) farkı olmaksızın kan örnekleri tedaviden önce, tedavi sırasında ve nekahat evresinde alınmıştır. Bazı hastalardan, periferik kan örnekleri yanında aynı zamanda kemik iliğinden de örnek alınmış, kemik iliği örneğinde leptin düzeyi periferik kandan daha düşük bulunmuştur. Kemoterapi alan grupta plazma leptin düzeyi nötrofil sayısı düşüken azalmış, nötrofil sayısı $>500/\text{ml}$ iken artmış olarak bulunmuştur. Kemoterapi ve kök hücre nakli yapılan hastaların olduğu grupta tersine plazma leptin düzeyinin nötrofil sayısı düşüken arttığı, nötrofil sayısı $>500/\text{ml}$ iken artışı sürdürdüğü saptanmıştır. Bu grupta, daha ciddi miyelosupresyonu olan hastalarda kemoterapi boyunca daha fazla sitokin üretilir. Daha ciddi nötropenisi olan hastalarda leptine yapısal benzerlik gösteren G-CSF düzeyi yüksektir. Ayrıca TNF- α ve IL- β ,ob gen ekspresyonunun bir düzenleyicisidir ve kemik iliği transplantasyonu sonrası artışı saptanmıştır.

Kemik iliğinde, leptinin yüksek düzeyini sekrete eden % 50 oranında adiposit bulunmaktadır. Bu çalışmada kemik iliği ve periferik kandaki leptin düzeyi arasında güçlü korelasyon vardır. Ekstramedüller adipositlerle karşılaştırıldığında, periferik kandaki düşük leptin düzeyi, çeşitli etkilerle kemik iliği adipositlerinin düşük duyarlılığına bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak leptin sitokin ağının önemli bir üyesidir. Primitif hematopoetik hücrelerin diferansiasyon ve kontrolünü sağlar (38).

Çalışmamızda da; cinsiyet, kilo veya BMI farkı olmaksızın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; beyaz küre sayısı $<4000/\text{mm}^3$ olan hastalarda leptin düzeyi düşük saptandı. Bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı idi.

Prokalsitoninin, günümüzde bakteriyel enfeksiyonların erken ve doğru teşhisinde güçlü bir marker olduğu bilinmektedir (20). Akut faz reaksiyonları malignitelere olduğu gibi ilaç alımı ve kan ürünü transfüzyonlarında da artabilir. Özellikle de solid organ kanserlerinde veya lenfomalı hastalarda yüksek tümör turnoverına bağlı artabilir ve spontan tümör lizisinde sistemik inflamasyona neden

olabilir veya bunlar çeşitli enfeksiyonları taklit edebilir. Çünkü bu hastalardaki enfeksiyonlar sıklıkla yaşamı tehdit edicidir ve inflamasyonun orijinini acil belirlemeye yönelik markerlar gereklidir. Prokalsitonin konsantrasyonu bu konuda ümit vericidir. PCT bakteriyel ve fungal enfeksiyon süresince dolaşımda endotoksin ve sitokin üretimi ile sistemik cevabın bir kısmını oluşturur. Plazma konsantrasyonu şiddetli enfeksiyonlar ile koreledir. Lokalize bakteriyel veya viral enfeksiyonlara göre sistemik bakteriyel enfeksiyonlarda konsantrasyonu yüksektir (39,40).

Yüksek PCT konsantrasyonu, septik komplikasyonlar ve nonenfeksiyöz nedenler, ciddi hastalarda inflamatuvar reaksiyon, organ alıcılarında transplant rejeksiyon ve enfeksiyonun ayırtedilmesinde önemlidir (39).

Yüksek PCT konsantrasyonu, hemato-onkolojik nötropenik ve enfeksiyonlu hastalarda ayrıca saptanabilir (39).

Silke ve arkadaşlarının (39) yapmış olduğu 111 hastadan alınan prospektif çalışmada; 42 hastada enfeksiyon (7'si gr (-) bakteriyemi, 3'ü gr (+) bakteriyemi), 39 hastada nedeni bilinmeyen ateş, 30'unda ilaca bağlı reaksiyon veya tümör saptamışlardır. PCT konsantrasyonunun özellikle pnömoni, bakteriyemi ve klinik olarak enfeksiyon saptanan hastalarda yüksek olduğu görülmüştür. Tümör grubundan 2 hastada yüksek saptanmıştır. Literatür incelemelerinde de enfeksiyonlu ve maligniteli hastalardaki bulgular uyumludur.

Prokalsitoninin belirgin düşük konsantrasyonu, sadece enfeksiyonlu nötropenik hastalarda saptanmıştır. Benzer sonuç nötropenik hastalarda düşük PCT konsantrasyonu olması ve herhangi bir nedene bağlı olmaması ise literatürle çelişkilidir (39).

Bir KML vakası ile 10 sağlıklı gönüllünün PCT konsantrasyonlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada; KML hastasında PCT konsantrasyonu sağlıklı gönüllülerden yüksek saptanmıştır. 49 yaşında ve prokalsitonin yüksekliği saptanan hastanın beyaz küre sayısı periferal kanda miyeloid seride $11.4 \times 10^4 / \mu\text{l}$, lökosit alkalin fosfataz düzeyi anormal düşük ölçülmüş, batın USG'de hepatosplenomegali, BCR-ABL

FISH ile pozitif saptanmıştır. Laboratuvar sonuçlarına göre kronik faz KML tanısı konan hastanın teşhisinde enfeksiyona ait klinik semptom bulunamamıştır. PCT 0.15 ng/ml ve CRP 0.4 mg/dl olan hastanın periferik kandaki beyaz küre sayısının ve PCT düzeyinin kemoterapi süresince hızla azaldığı fakat serum CRP düzeyinin normal referans aralığında kaldığı görülmüş. Serum PCT düzeyinin serum CRP düzeyinden bağımsız olarak değiştiği görülmüştür (41). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada KML hastaları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında PCT ortalaması, KML hastalarında yüksek olmakla birlikte istatistiksel fark bulunamamıştır. KML hastalarında yüksek serum PCT değeri bulunması PCT' in mononükleer hücrelerden salındığını göstermektedir ve bu da literatürle uyumludur.

Yine yapmış olduğumuz çalışmada; yeni tanı KML hastaları ile eski tanı KML hastaları serum prokalsitonin değerlerinin ortalaması karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da eski tanıli hastalarda ortalama serum PCT değerleri yüksek olarak bulundu. Bu da remisyonda PCT düzeyinin yüksek olduğunu göstermektedir. Fakat bununla ilgili daha fazla çalışma gerekmektedir.

Prokalsitonin, non-lökopenik hastalarda sistemik bakteriyel enfeksiyonlarda sensitif bir markerdir ve konsantrasyonu ciddi enfeksiyonlar ile koreledir (40). Nylen ve arkadaşlarının(42) yapmış olduğu bir çalışmada; PCT' in lökopenik hastalarda düşük değerlerde olduğu gözlenmiştir. Bertegna ve arkadaşları (43), yaygın enfeksiyonlarda PCT düzeyi 24 saat içinde bazal değerden 10000 kat artabildiğini tespit etmişlerdir. PCT' in yalnızca nöroendokrin veya küçük hücreli karsinom hücrelerinden üretilmediği bulunmuştur (43). PCT için ümit verici nokta, immünreaktif hücrelerden üretimidir, çünkü güneş çarpması, gönüllülerde lipopolisakkarit (LPS) enjeksiyonu sonrası PCT düzeyi yüksek bulunmuştur (44). Yakın zamanda, mononükleer hücrelerde intraselüler PCT üretimi kanıtlanmıştır (45). Diğer yandan, bazı araştırmacılar LPS ile indüklenen PCT üretiminin azalmasına dayanarak dolaşımdaki kan hücrelerinden PCT üretiminin artmadığını tespit etmişlerdir (46).

Diğer sonuç; muhtemel PCT kaynağı için lökositozun ilgisi olup olmadığı, lökopeni süresince PCT düzeyinin azaldığıdır (47). Bu çalışma, data ile uyumludur.

Çünkü hepatik hücrelerin PCT üretiminin kaynağı olduğu, örneğin hematolojik hastalarda kemoterapinin neden olduğu karaciğer hasarında PCT düzeyinin azalmasının sorumlu olabileceği düşünülmüştür (48). Silke ve arkadaşlarının (39) yapmış olduğu bir çalışmada; kemoterapi altındaki lökopenik ve nonlökopenik hastalar araştırılmış, lökopeni durumunda PCT değerinin yüksek olması daha yaygın bir sonuç olarak görülmüştür.

Gr (-) bakteri sepsisi süresince PCT düzeyi, gr (+) bakteri sepsisinde olduğundan belirgin derecede yüksek saptanmıştır. Bu, gr (-) bakterinin dış membran yapısındaki lipopolisakkaritin sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Endotoksin LPS, makrofaj aktivasyonu, IL-1, TNF gibi endojen pirojenik substans(madde) üretiminin indüksiyonu gibi farklı biyolojik özelliklere sahiptir. Yüksek PCT düzeyi, nonlökopenik hastalarda daima ciddi hastalığın işaretidir. Diğer yandan, PCT tespiti ağır lökopenik hastalarda sınırlı değerdir, çünkü WBC sayısı $< 1 \times 10^9 /L$ olan hastalarda PCT değeri belirgin düşüktür. Gr (-) bakteriyemiye bağlı sepsisteyse 0.5-2 ng/ml arasındaki değerler ciddi ve hayat tehdit eden sağlık sorununun göstergesidir. Özet olarak PCT sepsis markeridir ve WBC sayısı $> 1 \times 10^9/L$ ise yüksek pozitif ve negatif tahmin edici(prediktif) değeri vardır, fakat lökosit sayısı düşükse uygun bir marker değildir (49).

Bizim çalışmamızda; beyaz küre sayısı $< 4000/ml$ olan hastalar; beyaz küre sayısı $4000-10000/mm^3$, $> 4000/mm^3$ ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak anlamlı olmasa da serum PCT değerlerinin ortalaması yüksek bulunmuştur. Literatürde farklı sonuçlar olmasına rağmen bizim çalışmamızda serum prokalsitonin değeri nötroopenik hastalarda yüksek bulunmuştur.

Daha önceki yayınlarda; PCT' in şiddetli enfeksiyonların tespitinde erken bir marker olduğu ve esas olarak nonlökopenik hastalarda kullanıldığı ileri sürülmüştür. Yapılan bir çalışmada ateş süresince ve sonrasında, enfeksiyonun erken tespitinde, şiddetli ve orta derece enfeksiyon ve nedeni bilinmeyen ateş ayırımında, şiddetli kemoterapi alan agresif tedavi altındaki hastalar için de erken bir marker olarak kullanılmaktadır (49). Oberhoff ve arkadaşları (45) sepsisli hastalarda mononükleer hücrelerin PCT' in esas kaynağı olduğunu kanıtlamışlardır.

Maria ve arkadaşlarının (50) yapmış olduğu çalışmada; enfeksiyon ateşi veya inflamasyona bağlı ateşin ayrımı için PCT düzeyleri değerlendirilmiş, agresif kemoterapi alan hematoonkolojik hastalarda PCT düzeylerinin ölçüldüğü bu çalışmada PCT değerine -1, 0, 1, 3 ve 5. günlerde bakılmıştır. 39 bakteriyemiye bağlı, 62 diğer enfeksiyon ve 135 nedeni bilinmeyen ateş tanılı hasta incelenmiş; PCT'nin bakteriyemi ve diğer enfeksiyonlarda sadece erken dönemde arttığı, en yüksek düzeyine 1. Günde ulaştığı, düşük beyaz küre düzeyi ile farklı bir yaklaşım bulunmadığı görülmüştür. PCT düzeyinin febril epizoddaki hematoonkolojik hastaların takibinde belirgin ölçüde katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Ayrıca lökopenik onkolojik febril epizoddaki hastalarda PCT erken klinik bilgi verdiği ve hastalığın etyolojisi ve tedaviye yaklaşımda önemli olduğu belirtilmiştir.

Luisa ve arkadaşlarının (51) yapmış olduğu çalışmada; kemoterapiyi takiben PCT'in bir enfeksiyon markeri olduğu tanımlanmıştır. 6 aylık süreçte 34 solid tümör, 31 hematolojik hastalığa sahip 65 hastanın PCT düzeyi immunassay yöntemi ile çalışılmış, PCT değerlerinin yaş, cinsiyet, terapötik yaklaşımdan etkilenmediği, G-CSF veya performans durumuyla ilgili olmadığı, sonradan lokalize enfeksiyon gelişen ve gelişmeyen hastalarda arada farklılık olmadığı gözlenmiştir. Solid tümörü olan hastalara göre hematolojik hastalarda PCT konsantrasyonu daha yüksek saptanmıştır. Hastanede yatan hastalarda ayaktan tedavi gören hastalara göre daha yüksek saptanmıştır. PCT düzeyleri neoplastik hastalığın tipi ile koreledir. Akut lösemilerde yüksek konsantrasyon saptanmıştır. Onkohematolojik nötropenik hastalarda PCT' in kullanışlı bir marker olmadığı zaten yüksek PCT konsantrasyonunun hastanede yatan hastalarda olduğu gibi hematolojik tümörle ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bizim çalışmamızda; KML hastalarının prokalsitonin düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da yüksek bulunmuştur. Bu da hematoonkolojik hastalık süresince PCT değerlerinin yükseldiğini göstermektedir.

Kanser hastalarının morbidite ve mortalitesi, agresif kemoterapiyi izleyen infeksiyöz komplikasyonlardan kaynaklanır. Antineoplastik kemoterapiyi takiben tedaviye bağlı nötropeni veya neoplastik hastalığın kendisinden kaynaklanan nötropeni enfeksiyon riski ile ilişkilidir. PCT, enfeksiyon indikatörü olarak ortaya çıkmıştır ve

bunun konsantrasyonu enfeksiyonda çok hızlı artar ve immünsupresyonda da güvenilirdir. PCT 0.5 µg/L konsantrasyonu lokalize enfeksiyonlarda, >1µg/L bakteriyemi ve sepsisle ilgilidir. Bu çalışmada hematolojik hastalığı olan ve hastanede tedavi altındaki hastalarda belirgin yüksek PCT değerleri elde edilmiştir (51).

Beyaz küre sayısı <4000/mm³ olan hastalarda, istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da serum PCT değerlerinin ortalaması diğer gruplara göre yüksek ölçüldü. Kemoterapiye bağlı nötropeni veya neoplastik hastalığın kendisinden kaynaklanan nötropeni ve bunun enfeksiyon riski ile ilişkili olması PCT yüksekliğini açıklayabilir. Bununla birlikte literatürdeki çelişkiler nedeniyle daha çok çalışma gereklidir.

Yine yapmış olduğumuz çalışmada; imatinib alan grubun serum PCT ortalaması, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da 2.kuşak tirozin kinaz inhibitörü alan hastalara göre yüksek saptanmıştır. Bu da PCT düzeyi ile cevap derinliği arasında ilişki olduğunu fakat ayrıntılı inceleme gerektiğini düşündürmektedir.

Hans ve arkadaşlarının (52) yaptığı bir çalışmada; akut graft versus host hastalığı gelişen ve T hücre antikor infüzyonu yapılan hastalarla, genç transplant alıcıları nonspesifik PCT yüksekliğinin muhtemel nedeni olarak tanımlanmıştır. Benzer şekilde T hücre antikoru ile tedavi altındaki hastalarda enfeksiyon dışında PCT değerleri yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada 56 hastada 110 febril epizod tanımlanmış, bu hastalardan 3' ü KML hastası ve alemtuzumab kullanan 5 hastanın 1'i KML hastası olup PCT değerleri yüksek olarak ölçülmüş. 22 T hücre antikor alan hastalardan 2' si KML hastası olup %95.5'inde PCT ≥ 0.5 ng/L ve %68.2'de ≥ 2 ng/ ml olarak gelmiş. Yine 10 GvHH gelişen hastaların 3' ü KML hastası ve bunların %90'ında PCT ≥ 0.5 ng/ml ve %20'sinde ≥ 2 ng/ml ölçülmüş. 19 gr (-) sepsis gelişen hastanın 1' i KML hastası. Bu hastaların %100'de PCT ≥ 0.5 ng/ml ve % 80 de ≥ 2 ng/ml saptanmıştır (38). Bu sonuçlara dayanarak hematolojik malignitesi olan hastalarda PCT yüksek olmakla beraber sepsis ve febril süreçte PCT aşırı artışı erken bir belirteç olabileceği düşünülebilir. Hastanede yatan maligniteli hastalarda rutin PCT tetkiki yapılması önerilebilir.

Sonuç olarak; KML'nin etyopatogenezi, tedavi süreci ve tedavi komplikasyonları sürecinde leptin ve prokalsitoninin anlamlı bir marker olabileceği, bununla ilgili daha çok çalışma yapılması gerektiği kanısına varıldı.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tüm bu sonuçlar göz önüne alınarak;

1-Kronik miyelositer lösemi (KML) hastalarında, leptin düzeyinin yüksek çıkması leptin ve reseptörlerinin KML patogenezi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Leptinin reseptörüne bağlanmasının blokajı lösemnin tedavisinde terapötik avantaj sağlayabilir.

2-İmatinib tedavisi altındaki hastalarda, serum leptin düzeyleri diğer tedavi şekillerinden yüksek bulunması leptin düzeyi ile moleküler cevap arasında ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle imatinibin etki potansiyelinin 2. kuşak tirozin kinaz inhibitörü kullanan hastalara göre daha düşük olmasına bağlanabilir. Bu çalışma daha çok sayıda nilotinib ve dasatinib alan hasta elde edildiğinde tekrar edilebilir.

3-Eski tanılı hastaların leptin ortalamasının istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yeni tanılı hastalardan yüksek bulunması, leptinin değerlerinin tanıyla ilişkili olmayıp tedavi şekli ve remisyon süreci ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

4-Cinsiyet, kilo veya BMI farkı olmaksızın nötropenik hastalarda leptin ortalamasının düşük saptanması hastalığın kötü prognozunu ve imatinib alan hastalarda yüksek bulunması hastalığın tedaviye cevabı ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

5-KML hastalarında, istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da prokalsitonin düzeyinin yüksek çıkması hemato-onkolojik hastalardaki hafif prokalsitonin (PCT) yüksekliğini açıklayabilir.

6-Çalışmamızda, istatistiksel açıdan anlamlı olmasa da kemoterapi altındaki lökopenik hastalarda prokalsitonin (PCT) değeri yüksek bulundu. Bununla ilgili literatürde farklı sonuçlar bildirildiğinden; bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerektiği kanısına varıldı.

7-Prokalsitonin düzeyi, febril epizoddaki hemato-onkolojik hastaların takibinde önemli olabilir. Lökopenik KML’li febril epizottaki hastalarda, PCT değerlerini yüksek bulduk. Dolayısıyla yüksek PCT değerleri, lökopenik olan KML’li hastalarda enfeksiyon varlığını düşündürebilir. Bu durum hastalardaki enfeksiyonun erkenden tedavisini sağlayabilir.

8- KML hastalarının tedavi süresi ile leptin ve prokalsitonin düzeyleri arasında anlamlı korelasyon bulunmadı. Fakat bu değerlerin remisyon süreci ile ilgili olabileceği düşünüldü.

7. KAYNAKLAR

1. Sawyers CL. Chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 1999;340(17):1330-40.
2. Quintas-Cartama A, Cortes JE. Chronic Myeloid Leukemia: Diagnosis and Treatment. Mayo Clin Proc 2006; 81(7):973-88.
3. Pavlovsky C, Kantarjian H, Cortes JE. First-line therapy for chronic myeloid leukemia: past,present,and future. Am J Hematol 2009; 84:287-93.
4. Maisner M. Procalcitonin-a new, innovative infection parameter biochemical and clinical aspects. 3. revised and expanded edition Stuttgart, New York 2000; 145-8.
5. Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. J Leukoc Biol 2000; 68:437-46.
6. Schiffer CA. BCR-ABL Tyrosine Kinase Inhibitors for Chronic Myelogenous Leukemia. N Engl J Med 2007; 357:258-65.
7. Jemal A, Ward E, Siegel R, et al. The impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. CA Cancer J Clin 2011; 61:212-36.
8. Vardiman JW. Chronic Myelogenous Leukemia, BCR-ABL1. Am J Clin Pathol 2009; 132:250-60.
9. Faderl S, Talpaz M, O'Brien, et al. The Biology of Chronic Myeloid Leukemia.N Engl J Med 1999; 341(3):164-72.
10. Reena RMZ, Munchar J, Salwati S, et al. Detection of BCR/ABL Gene in Chronic Myeloid Leukemia: Comparison of Fluorescence in situ Hybridisation (FISH), Conventional Cytogenetics and Polimerase Chain Reaction (PCR) Techniques. Med & Health 2006; 1(1):5-13.
11. Kantarjian H, Schiffer C, Jones D, Cortes J. Monitoring the response and course of chronic myeloid leukemia in the modern era of BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors: practical advice on the use and interpretation of monitoring methods. Blood 2008; 111(4):1774-80.
12. Goldman JM. Treatment strategies for CML. Best Pract Res Clin Haematol 2009; 22(3):303-13.
13. Kim YJ, Kim DW, Lee S, et al. Comprehensive comparison of FISH,RT-PCR, and RQ-PCR for monitoring the BCR-ABL gene after hematopoietic stem cell transplantation in CML. Eur J Haematol 2002; 68:272-80.

14. Schoch C, Schnittger S, Bursch S, et al. Comparison of chromosome banding analysis, interphase-and hypermetaphase-FISH, qualitative and quantitative PCR for diagnosis and for follow-up in chronic myeloid leukemia: a study on 350 cases. *Leukemia* 2002; 16:53-9.
15. Van Etten RA. Clinical manifestations and diagnosis of chronic myeloid leukemia. *UpToDate*, 2011:1-10.
16. Jabbour E, Kantarjian HM, Baccarani M, et al. Minimal cross-intolerance between nilotinib and imatinib in patients with imatinib intolerant chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) or accelerated phase (CML-AP). *Blood* 2008; 93:56.
17. Kantarjian H, Schiffer C, Jones D, et al. Monitoring the response and course of chronic myeloid leukemia modern era of BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors: Practical advice on the use and interpretation of monitoring methods. *Blood* 2008; 111:1774-80.
18. M.Baccarani, Castagnetti F, Gugliotta G, et al. Response definitions and European Leukemianet Management recommendations. *Best Pract Res Clin Haematol* 2009; 22(3):331-41.
19. Goldman JM. Initial treatment for patients with CML. *Hematology* 2009:453-60.
20. Matwiyoff GN, Prah JD, Miller R, et al. Immune regulation of procalcitonin: a biomarker and mediator of infection. *Inflamm Res* 2012; 61:401-9.
21. Meisner M. Pathobiochemistry and clinical use of procalcitonin. *Clin Chim Acta* 2002; 323:17-29.
22. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, et al. Evidence that diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* 1996; 84(3):491-5.
23. Hino M, Nakao T, Yamane T, et al. Leptin receptor and Leukemia. *Leuk Lymphoma* 2000; 36(5-6):457-61.
24. Diaz-Blanco E, Bruns I, Neumann F, et al. Molecular signature of CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells of patients with CML in chronic phase. *Leukemia* 2007; 21:494-504.
25. Öztürk K, Avcu F, Ural U. Aberrant expression of leptin and adiponectin receptor isoforms in chronic myeloid leukemia patients. *Cytokine* 2012; 57:61-7.

26. Nakao T, Hino M, Yamane T, et al. Expression of the leptin receptor in human leukaemic blast cells. *Br J Haematol* 1998; 102:740-5.
27. Ning HM, Zhang Y, Mao N. Leptin and its receptor in acute myeloid leukemia. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2010; 18(1):234-7.
28. Gainsford T, Wilson T, Metcalf D, et al. Leptin can induce proliferation, differentiation, and functional activation of hematopoietic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(25):14564-8.
29. Mikhail A, Beck E, Shafer A, et al. Leptin stimulates fetal and adult erythroid and myeloid development. *Blood* 1997; 89(5):1507-12.
30. Umemoto Y, Tsuji K, Yang FC, et al. Leptin stimulates the proliferation of murine myelocytic and primitive hematopoietic progenitor cells. *Blood* 1997; 90(9):3438-43.
31. Alonci A, Allegra A, Russo S, et al. Imatinib mesylate therapy induces reduction in neutrophil gelatinase-associated lipocalin serum levels and increase in leptin concentrations in chronic myeloid leukemia patients in molecular remission. *Acta Haematol* 2012; 127(1):1-6.
32. Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanism. *Nat Rev cancer* 2004; 4:579-91.
33. Wex H, Ponelis E, Wex T, et al. Plasma and leptin receptor expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol* 2002; 76:446-52.
34. Hirata J, Takahira S, Kaneko S, et al. Bone marrow stromal cells in myeloproliferative disorders. *Acta Haematol* 1989; 81:35-9.
35. Frater JL, Tallman MS, Druker BJ, et al. Chronic myeloid leukemia following therapy with imatinib mesylate (Gleevec). *Am J Clin Pathol* 2003; 119:833-41.
36. Beaulieu A, Poncin G, Belaid-Choucair Z, et al. Leptin reverts pro-apoptotic and antiproliferative effects of α -lipoic acids in BCR-ABL positive leukemic cells: involvement of PI3K pathway. *Plos ONE* 2011; 6(10):e25651.
37. Kim JY, Park HK, Yoon JS, et al. Molecular mechanisms of cellular proliferation in acute myelogenous leukemia by leptin. *Oncol Rep* 2010; 23:1369-74.
38. Minami R, Muta K, Ilseung C, et al. Plasma leptin levels vary with the periods during chemotherapy. *Am J Haematol* 2003; 74:144-8.

39. Schüttrumpf S, Lutz Binder L, Hagemann T, et al. Utility of Procalcitonin Concentration in the Evaluation of Patients with Malignant Diseases and Elevated C-Reactive Protein Plasma Concentrations. *Clin Infect Dis* 2006;43:468-73.
40. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet* 1993; 341:515-8.
41. Takubo T, Kumura T, Ohta K, et al. Elevation of serum procalcitonin level in a patient with chronic myelocytic leukemia. *Haematologia* 2001; 31(2):177-9.
42. Nylen ES, Al Arifi A, Becker KL, et al. Effect of classic heatstroke on serum procalcitonin. *Crit Care Med* 1997; 25:1362-5.
43. Bertagna XY, Nicholson WE, Pettengill OS, et al. Ectopic production of high molecular weight calcitonin and corticotropin by human small cell carcinoma cells in tissue culture: evidence for separate precursors. *J Clin Endocrinol Metab* 1978; 47:1390-3.
44. Dandona P, Nix D, Wilson MF, et al. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1605-8.
45. Oberhoffer M, Stonans I, Russwurm S, et al. Procalcitonin expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines in vitro. *J Lab and Clin Med* 1999; 134(1):49-55.
46. Monneret G, Laroche B, Bienvenu J, et al. Procalcitonin is not produced by circulating blood cells. *Infection* 1999; 27:34-5.
47. Al-Nawas B, Shah PM. Procalcitonin in patients with and without immunosuppression and sepsis. *Infection* 1996; 24(6):434-6.
48. Nijsten MW, Olinga P, The TH, et al. Procalcitonin behaves as a fast responding acute phase protein in vivo and in vitro. *Crit Care Med* 2000; 28(2):458-61.
49. Svaldi M, Hirber J, Lanthaler AI, et al. Procalcitonin-reduced sensitivity and specificity in heavily leucopenic and immunosuppressed patients. *Br J Haematol* 2001; 115:53-7.
50. Sandri MT, Passerini R, Leon ME, et al. Procalcitonin as a Useful Marker of Infection in Hemato-oncological Patients with Fever. *Anticancer Res* 2008; 28:3061-5.
51. Carnino L, Betteto S, Loiacono M, et al. Procalcitonin as a predictive marker of infections in chemotherapy-induced neutropenia. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136:611-5.

52. Jürgen HD, Volker S, Petra S, et al. Non-infectious causes of elevated procalcitonin and C-reactive protein serum levels in pediatric patients with hematologic and oncologic disorders. Support Care Cancer 2008; 16:1035-40.

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**Tirozin Kinaz İnhibitörleri ile Tedavi Altındaki Kronik Myelositer
Lösemi Tanılı Hastalarda Leptin ve Prokalsitonin Düzeyi**

Dr. Sema TANRISEVER

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi : 29.08.2008

Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi : 21.09.2012

Uzmanlık Sınavı Tarihi : 16.10.2012

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Fuat ERDEM

Jüri üyesi : Prof. Dr. Mehmet GÜNDOĞDU

Jüri üyesi : Prof .Dr. Nihat OKÇU

Jüri üyesi : Prof. Dr. Şule KARAKELLEOĞLU

Jüri üyesi : Prof. Dr. Metin GÖRGÜNER

Jüri üyesi : Prof. Dr. Fuat ERDEM

Prof. Dr. Mehmet GÜNDOĞDU
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

EKİM-2012
ERZURUM