

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

**PHILADELPHIA POZİTİF KRONİK MYELOSİTER LÖSEMİ
HASTALARINDA İMATİNİB MESİLATA ALINAN KLİNİK,
HEMATOLOJİK, SİTOGENETİK VE MOLEKÜLER YANITIN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Yusuf BİLEN

**Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Fuat ERDEM**

Uzmanlık Tezi

ERZURUM

2009

İÇİNDEKİLER	I
ONAY	II
ÖZET	III
SUMMARY	IV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 KML'nin tanımı ve epidemiyolojisi.	2
2.2 Kronik myeloid löseminin sitogenetiği ve sitokinetiği	5
2.3 Varyant Ph kromozomları	7
2.4 Ph negatif ve BCR-ABL füzyon geni pozitif KML	7
2.5 Klonal değerlendirme	7
2.6 KML patolojisi ve moleküler genetik	8
2.6.1 ABL geni	8
2.6.2 BCR geni	10
2.6.3 BCR-ABL füzyon geni	11
2.7 KML tanı ve takibinde genetik analizler	11
2.8.KML'nin tedavisi	12
2.8.1.İmatinib	12
2.8.2 İmatinibe Karşı Direnç	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
4. BULGULAR	20
5. TARTIŞMA	35
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	50
7. KAYNAKLAR	52

O N A Y

“Philadelphia pozitif Kronik Myeloid Lösemi tanılı hastalarda imatinib mesilata alınan klinik, hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıtın değerlendirilmesi” adlı çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nın 28.01.2008 tarih 31 sayılı kararı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı’nın 11.01.2008 tarih ve 1 nolu toplantı 2 nolu kararı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı’nın 08.05.2008 tarih ve 1 sayılı oturum, 7 nolu kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir. 05.10.2009

ÖZET

Kronik myeloid lösemi (KML); hematolojik bir kök hücre hastalığı olup myeloid seri hücrelerinin aşırı ve kontrolsüz bir biçimde çoğalması ile karakterizedir. KML'nin genetik belirleyicisi Philadelphia (Ph) kromozomudur. Bu füzyon geninin hastalık patogenezindeki rolünden yola çıkılarak tirozin kinaz inhibitörü olan imatinib KML tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır.

Biz bu çalışmada hastanemizde takip edilen KML tanılı hastaların demonstratif özelliklerini ve mevcut standart tedavi olarak kabul edilen imatinib tedavisine alınan yanıt oranlarını araştırmayı amaçladık. Hastaların takibi esnasında tedaviye cevapları hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıtlar olarak değerlendirildi.

Çalışmamıza Ph (+) KML tanılı 31 hasta dahil edildi. Hastaların 12'si erkek 19'u bayandı. Yaş ortalamaları 48.9 yıl idi. Hastaların ortalama takip süresi 40.9 ay, hastaların imatinib tedavisi altında takip süreleri ise ortalama 27.9 (3 - 52) ay idi. Hastaların tamamı kronik faz KML hastasıydı. Hastaların hastalıklarının fazı tanıdan tedaviye kadar geçen süre 6 aydan kısa ise erken kronik faz, 6 aydan uzun ise geç kronik faz olarak tanımlandı. Hastalara standart doz 400mg/gün imatinib başlandı. Hastaların takibinde 3., 6., 12., 18., 24. ve 36. aylarda hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıtları değerlendirildi.

Hastaların tamamında 2. ayda hematolojik yanıt alındı. 12. ayda tam sitogenetik yanıt (TSY) oranı % 78, 18 ayda ise % 88 olarak bulundu. 18 aylık takibe ulaşan 25 hastada tam veya major moleküler yanıt oranı % 72, 36. ayda ise % 81 olarak bulundu. Erken kronik faz hastalarda geç kronik faz hastalara göre daha erken ve daha yüksek oranda TSY ve tam moleküler yanıt alındı (TMY) (sırasıyla p=0.035, p=0.03). Hastaların başvuru beyaz küre sayıları ve LDH seviyeleri dalak büyüklüğü ile doğru orantılıydı. En sık görülen yan etki ödem, ikinci sırada dispeptik yakınmalar oldu. Hastaların hiçbirinde ilaç dozunun azaltılmasını veya kesilmesini gerektirecek grade 3 veya 4 yan etki görülmedi.

Sonuç olarak imatinib mesilat kronik faz KML hastalarında güncel pratikte kullanılabilecek standart tedavi seçeneğidir. Yüksek sağkalım oranları sağlamaktadır ve yan etkiler bakımından genellikle iyi tolere edilmektedir.

Anahtar kelimeler: KML, İmatinib mesilat, Yanıt oranları

SUMMARY

EVALUATION OF RESPONSE TO IMATINIB AT CLINICAL, HEMATOLOGICAL, CYTOGENETIC AND MOLECULAR LEVELS IN PHILADELPHIA (+) CML PATIENTS

Chronic myeloid leukemia (CML) is a hematologic stem cell disorder that results in over and uncontrolled production of myeloid line stem cells. The genetic anomaly in Ph chromosome is the production of BCR/ABL fusion gene. Imatinib is a tyrosine kinase inhibitor that has being developed upon the role of this fusion gene at disease pathogenesis.

The aim of this study is to investigate the demonstrative features of CML patients and their responses to imatinib therapy. Response of the patients to the therapy was evaluated at clinical, hematological, cytogenetic and molecular levels.

Thirty one chronic phase (CP) Ph (+) CML patients were enrolled into our study. Twelve of them were males and the remaining 19 were females. The median follow-up was 40.9 (sd $\pm$ 29.3) months. The median follow-up under imatinib therapy was 27.9 (sd $\pm$ 13.1) months. All the patients were at the CP of the disease. Two groups were established according to the time interval between the diagnosis of CML and the initiation of imatinib: The early CP group (time interval shorter than 6 months between diagnosis and treatment) and the late CP group (time interval more than 6 months). Oral, daily 400 mg imatinib was applied as the initial therapy.

All of the patients gained complete hematologic response at the end of the 2nd month. The rate of complete cytogenetic response at the 12th and 18th months were 78 % and 88 % accordingly. The rate of the patients who achieved complete or major molecular response at the 18th month was 85 % and 90 % at the 36th month of the study. Early CP patients obtained earlier and superior rates of complete cytogenetic and molecular response compared to late CP patients (p=0.0035 and p=0.03 respectively). The most commonly reported side effect was edema followed by gastrointestinal complaints. Any grade 3 or 4 hematologic side effect was not observed.

In conclusion, imatinib mesylate is currently a favorable choice of treatment for CML patients. It enables high overall survey rates and has tolerable side effects.

Key words: CML, Imatinib mesylate, Response rate

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik myeloid lösemi (KML) hematolojik bir kök hücre hastalığıdır. Myeloid seri hücrelerinin aşırı ve kontrolsüz bir biçimde çoğalması ile karakterizedir. KML ilk olarak 1845 yılında John Huges Bennet ve David Craigie tarafından birbirlerinden bağımsız olarak tanımlanmıştır. Hastalığın insidansı 1.5/100.000/yıldır. Hemen her yaşta görülebilmekle birlikte insidansı ilerleyen yaş ile birlikte yavaş bir şekilde artış göstermekte ve 5. on yılda pik yapmaktadır. Hastaların çoğu kronik fazda başvurmaktadırlar. Tanı anında hastaların yaklaşık % 10'u hastalığın akselere fazında ve diğer % 10'u da hastalığın blastik kriz fazındadır (1).

KML'nin genetik belirleyicisi Philadelphia (Ph) kromozomudur. Bu kromozom 9. ve 22. kromozomlar arasındaki resiprokal bir translokasyon sonucu, 9.q34 kromozomu üzerindeki tirozin kinaz “Abelson murine lösemi” (c-ABL) geninin 22.q11 kromozomu üzerindeki “Break point cluster Region” (BCR) geni ile 22. kromozom üzerinde birleşmesi ile oluşmaktadır. Ph kromozomu 1960 yılında tanımlanmış, 1973 yılında translokasyonun tipi, daha sonraki yıllarda da moleküler yapısı ve hastalık etiyolojisindeki rolü belirlenmiştir. Daha sonraki yıllarda BCR/ABL füzyon geninin hastalık patogenezindeki rolünden yola çıkılarak hedeflenmiş tedavilerin aranmasına başlanmıştır (2, 3).

“International Randomized Study of Interferon and STI571” (IRIS) çalışması sonrası imatinib mesilat kronik faz KML tedavisinde standart tedavi olma yolunda hızla ilerlemiştir. Çalışmanın beş yıllık verilerine göre imatinib mesilat tedavisi ile KML de % 97 tam hematolojik yanıt (THY), % 82 TSY elde edilmiştir. Genel sağkalım olasılığının yaklaşık % 90, akselere veya blastik faz gelişmeden sağkalım olasılığının ise % 93 olarak hesaplandığı bildirilmiştir (4, 5).

Bu çalışmada amacımız KML’de güncel ve geçerli olan imatinib mesilat (Gleevec) tedavisine bölgemizde alınan klinik, hematolojik, sitogenetik ve moleküler düzeylerdeki yanıtları tayin etmek, elde ettiğimiz sonuçları literatür verileri ile karşılaştırmaktır. Elde edeceğimiz sonuçlar uygulanmakta olan tedavinin bölgemizdeki başarısının aydınlatılması konusunda yol gösterici olabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kronik Myeloid Lösemi Tanımı ve Epidemiyolosu

Kronik myeloid lösemi (KML); kronik myelositer lösemi, kronik myelositik lösemi, kronik granülositik lösemi olarak da adlandırılmaktadır. KML, hematopoetik kök hücresinin malign klonal bir hastalığıdır. İlk olarak 1845 yılında masif splenomegali ve lökositozu olan ve splenomegali nedenini açıklayacak başka bir etyolojinin tespit edilemediği 2 hastada tarif edilmiştir. Kronik lösemi ilk kez 1887 yılında Paul Ehrlich tarafından myeloid ve lenfoid olarak sınıflandırılmıştır (2).

KML, spesifik karyotipik anomalinin saptandığı ilk hastalıktır. Moleküler düzeyde en iyi karakterize edilmiş lösemi tipidir (3). Aynı zamanda biyolojik ajan olan interferon kullanılarak lösemik klonun baskılandığı ve sağkalımın uzatıldığı ilk neoplastik hastalık olma özelliğini de taşımaktadır (6).

KML, erişkin lösemilerinin % 15-25'ini oluşturur. İnsidansı 1.5/100.000/yıldır. Hastalığın ortalama ortaya çıkışı 4. veya 5. dekada olmaktadır. Vakaların % 12 - 30'u ise 60 yaş üzerindedir. Bununla birlikte hemen her yaşta hastalık ortaya çıkabilmektedir. Belirgin bir cinsiyet farkı görülmemiştir (7).

Vaka'ların çoğu sporadik olup, etyolojide suçlanan izole tek bir ajan bulunmamaktadır. KML riskinin iyonize radyasyon maruziyetinden sonra artabileceği bildirilmiştir. Ankilozan spondilit nedeniyle radyoterapi alanlarda artmış KML insidansı saptanmıştır. Japonyada 1945' teki atom bombası patlamasından sonra radyasyona maruz kalanlarda artmış KML insidansı saptanmış ve maruziyetten 5 – 12 yıl sonra bu riskin pik yaptığı ve doza bağımlı olduğu görülmüştür. Bununla birlikte nükleer endüstrilerde çalışanlarda artmış bir KML riski gösterilmemiştir. 1940 öncesinde yeterli korunma sağlanmadan çalışan radyologlarda myeloid lösemi gelişme ihtimali varken son zamanlarda yapılan çalışmalarda böyle bir birliktelik gösterilememiştir. Benzen maruziyeti akut myelositer lösemi riskinde artışa neden olurken böyle bir risk artışı KML için bulunmamaktadır. KML alkilleyci ajanların kullanımı veya radyoterapi sonrası sekonder bir lösemi olarak karşımıza çıkmamaktadır (2, 3, 6, 8).

KML de görülen semptomlar genellikle splenomegali ve anemi nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Kronik fazda en sık görülen semptomlar arasında halsizlik, iştahsızlık, kilo kaybı ve abdominal dolgunluk hissi bulunmaktadır. Daha nadiren kanama ve tromboz görülebilir. Baş ağrısı, kemik ağrısı, artralji, splenik enfarkta bağlı ağrı ve ateş KML'nin erken evrelerinde nadir görülmesine karşın hastalığın ilerlemesi ile birlikte görülme sıklığı artmaktadır. Priapizm belirgin lökositozu veya trombositozu olanlarda görülebilir. Kronik fazda beyaz küre sayısının $400 \times 10^9/L$ üzerine çıktığı değerlerde bile dispne, koordinasyon bozukluğu ve konfüzyon gibi pulmoner ve serebral perfüzyon bozukluğunu gösteren lökostatik semptomlar az görülen semptom ve bulgulardandır. Akselere ve blastik fazda immatür hücrelerin artmasıyla birlikte kronik fazda nadir görülen bu semptomların görülme sıklığı da artmaktadır (3, 8).

Hastalığın klinik seyri; kronik, akselere ve blastik faz olmak üzere 3 evreye ayrılabilir. Herhangi bir tedavi verilmeyen kronik faz KML tanıdan itibaren ortalama 3 - 5 yıl sonra akselere faza ilerler. Bunu takip eden dönemde de blastik faza ilerler (9). Akselere faz; tedaviye rağmen cevabın kaybedildiği ve kemik iliğinde ilave kromozomal anomalilerin görüldüğü fazdır. Bu fazda kemik iliği veya periferik kanda blast oranı % 10-19'dur. Blastik fazda ortalama yaşam süresi 2 ila 4 ay civarında olup bu dönemde kan ve kemik iliği elemanlarının % 20'sinden fazlası blastik yapıdadır ve myeloid öncül hücreler lenf nodlarında, ciltte ve kemikte tümöral dokular oluşturabilirler. Yine bu fazda hastaların % 70 - 80'inde ikinci Ph kromozomu, trizomi 8, iso(17q), +19 ve Y kromozomu kaybı gibi ek kromozomal anomaliler ortaya çıkar (10).

Splenomegali, KML'nin en sık saptanan fizik muayene bulgusu olup hastaların % 50 - 60 kadarında tespit edilmektedir. Splenomegali, genellikle masif splenomegali şeklinde olup dalak pelvise kadar inebilir. Splenomegali, hastanın ilk prezentasyon şekli olabilir. Dalak, genellikle lökosit sayısı $40 \times 10^9/L$ geçince palpe edilebilir. Dalak büyüklüğü lökosit sayısı ile koreledir Dalak palpasyonunda hassasiyet dalak enfarktı gelişmedikçe gözlenmez. Hepatomegali daha nadir olup hastaların % 10 - 20 kadarında gözlenmektedir. Hepatomegali, genellikle kosta kenarını orta klaviküler hatta 1 - 3 cm geçen minör bir hepatomegalidir. Lösemik hücrelerin cilt ve diğer dokuları infiltrasyonu sık tespit edilen bulgulardan değildirler. Bu bulgular Ph negatif KML veya akselere veya blastik faz KML'de daha sık görülür. (3, 7, 8, 11, 12).

Ateş, gece terlemesi, halsizlik, kilo kaybı, refrakter splenomegali ve kemik ağrıları akselere ve blastik fazda en sık görülen semptomlar arasındadırlar. Bu semptom ve bulgulara ilave olarak lenfadenopati ve ekstramedüler blastik kloromalar blastik fazda daha sık görülürler (13).

KML'deki patoloji; myleoid, monositik, eritroid, megakaryositik, B-lenfoid ve nadiren de T-lenfoid serilerinin tümünü içerir. Beyaz küre sayısı tam kan sayımında artmış olup, genellikle $25 \times 10^9/L$ 'nin üzerindedir. Beyaz küre sayısı $10 \times 10^9/L$ ile $1.000 \times 10^9/L$ arasında değişen miktarlarda olabilir. Hastalığın erken döneminde lökosit sayısı yükselmeden önce mutlak bazofil sayısında artış görülebilir. Anemi erken bir bulgu değildir. Lökosit alkalin fosfataz (LAP) skoru (normal değeri: 20 - 100) düşüktür. Ancak KML'ye eşlik eden enfeksiyon varlığında, KML tedavisi veya akselere ve/veya blastik faza geçişle birlikte LAP skoru artar. Hastalarda semptomların ortaya çıkışı lökosit sayısının $30 \times 10^9/L$ üzerindeki değerlerde gözlenir (14).

Artan nötrofil sayısı ile birlikte nötrofiller tarafından üretilen transkobalamin I, III ve kobalamin bağlayan glikoproteinlerin serum düzeyleri artar, Bu da yüksek serum kobalamin düzeylerine neden olur. Vitamin B12' nin düzeyi normalden 10 kat fazla ölçülebilir. Serum laktat dehidrogenaz (LDH), ürik asit ve lizozim düzeyleri genellikle artmıştır (8).

Kemik iliği hipersellülerdir ve yağ oranı azalmıştır. Myeloid/eritroid (M/E) oranı normal kemik iliğinde 3:1 iken bu oran KML'de 15:1 – 20:1 olacak kadar artmıştır. Megakaryositler sayıca artmıştır (15).

3–5 yıl süren benign kronik ve stabil fazı takiben hızlı bir biçimde ölümcül olabilen blastik fazın gelişimi KML'nin doğal hikayesidir. Blastik kriz genellikle nötrofil sayısını düşürebilmek için artmış hidroksiüre ve busulfan kullanımının gerekli olduğu akselere fazı takiben ortaya çıkmaktadır (7, 9).

Akselere veya blastik faza gidiş riski ilk 2 yıl için % 10 daha sonraki yıllarda ise her yıl için % 15 - 20 arasındadır (8). KML' nin blastik fazı kemik iliği veya periferik kanda % 20 ve üzeri blastın bulunması ile veya ekstramedüller blastik hastalık varlığında teşhis edilmektedir. Çoğu hastada blastik kriz öncesi akselere faz bulguları

ortaya çıkmaktadır (Tablo 1). Fakat % 20 kadar hasta hiçbir semptom ve bulgu vermeden direkt olarak blastik faza ilerleyebilir. Blastik fazdaki ekstramedüler blastik infiltrasyonlar dalak, lenf nodları, cilt, meninksler, kemik ve diğer dokularda görülebilir. KML' nin blastik fazında 5 ay gibi düşük bir yaşam beklentisi vardır. Bu hastaların % 25 kadarı lenfoid blastik faza girerken 2/3 kadarı ise akut myeloblastik lösemiye benzer fenotip gösterirler (8, 9).

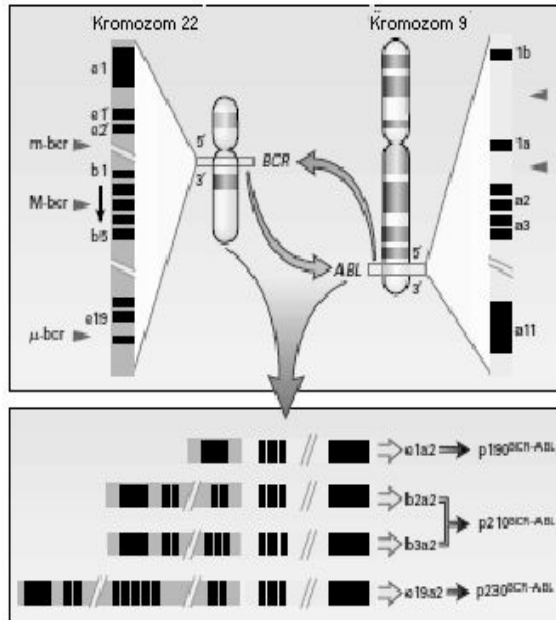
2.2. Kronik Myeloid Löseminin Sitogenetiği ve Sitokinetiği

KML'nin pluripotent hematopoetik bir kök hücrenin BCR-ABL füzyon genini taşıyan Ph kromozomu edinmesi sonrasında proliferasyon avantajını kullanarak zaman içerisinde normal hematopoezi baskılayacak şekilde çoğalması ile oluştuğu düşünülmektedir. Bu hipotezin delili; elde edilen moleküler anomalinin hastaların hemen hepsinde aynı şekilde bulunmasıdır. Fakat bu oluşum mekanizmasının hangi sitogenetik veya moleküler değişiklikler sonrası olduğu bilinmemektedir. Benzer şekilde kök hücre tarafından elde edilen proliferatif avantajın moleküler temelleri de henüz tamamen aydınlatılamamış olmakla birlikte lösemik progenitör hücrelerin interlökin - 3 (IL - 3) ve granülosit koloni - stimulan faktör (G - CSF) gibi büyüme faktörleri ile sürekli uyarılması ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (16).

Ph kromozomu 9. ve 22. kromozomların uzun kolları arasındaki resiprokal translokasyon t(9;22)-(q34;q11) sonucu oluşan kısalmış kromozom 22 dir (Şekil 1). KML'nin en belirleyici özelliğidir ve hastaların % 90 - 95'inde bulunur. Aynı zamanda erişkin akut lenfoblastik lösemilerin (ALL) % 15 - 30'unda ve çocukluk çağı ALL'lerin % 5'inde, yeni tanı almış akut myeloblastik lösemilerin % 2'sinde saptanır. Ph translokasyonu kromozom 9q34'teki 3' ABL gen segmentini, kromozom 22q11' deki 5'BCR gen segmentine ekler. Bu translokasyon sonucunda messenger ribonükleik asid (mRNA) transkripsiyonu olan hibrid BCR-ABL geni oluşur (17).

Tablo 1. KML ‘nin Akselere ve Blastik Fazlarının Tanımında Kullanılan WHO Kriterleri – (18)

Akselere Faz Tanı Kriterleri*
Tedaviden ilişkisiz persistan trombositopeni ($< 100 \times 10^6/\text{ml}$)
Tedaviye cevapsız trombositoz ($> 1000 \times 10^6$)
Tedaviye cevapsız artan beyaz küre sayısı ve dalak boyutunda artma
Sitogenetik klonal evrim
Periferik kandaki basofili ($\geq 20\%$)
Perifeik kandaki veya kemik iliğindeki myeloblast oranı ($\% 10 - 19$)
<i>*Yukarıdaki kriterlerden birtanesinin veya daha fazlasının bulunması hastada akselere faza geçişi göstermektedir</i>
Blastik Faz Tanı Kriterleri **
Perifeik kandaki veya kemik iliğindeki blast oranı ($\geq \% 20$)
Ekstramedüler blastik proliferasyon
<i>**Yukarıdaki kriterlerden bir tanesinin veya daha fazlasının bulunması hastada blastik faza geçişi göstermektedir</i>



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

2.3. Varyant Ph Kromozomları

KML hastalarının % 5 - 10 kadarında varyant Ph kromozomu (9 yada 22 kromozom ile başka kromozomlar arasında oluşan translokasyonlar) oluşmaktadır. Bunlar t(V;22) veya t(V;9) şeklinde gösterilmekte olup V “varyant kromozom” u temsil etmektedir. Kompleks varyant translokasyonlar 9. ve 22. kromozomların yanı sıra bir veya daha fazla translokasyonun bir arada olduğu translokasyonlardır {örn t(V;9;22)} (19). Ph translokasyonunun tipi ne olursa olsun buradaki kilit nokta: 9q34 ve 22q11 kromozomal bölgelerinin etkilenmesi ile breakpoint bölgesinde BCR-ABL füzyon geninin oluşmasıdır. Ph translokasyon tipinin prognostik önemi yıllardır kafa kurcalayan sorular arasında bulunmaktadır (20).

2.4. Ph Negatif ve BCR-ABL Füzyon Geni Pozitif KML

Küçük bir grup hastada klinik tablo KML ile uyumlu iken sitogenetik olarak Ph kromozomu gözlenmemektedir. Bu vakalarda kromozomal değişiklikler submikroskopik düzeydedir ve konvansiyonel sitogenetik çalışmalarda Ph kromozomu negatif gibi görülebilir. Bu durum “kriptik translokasyon” veya “maskelenmiş Ph kromozomu” olarak adlandırılabilir. Bununla birlikte sitogenetik olarak herhangi bir anomali gözlenmeyen durumlarda bile moleküler düzeyde KML için karakteristik BCR-ABL füzyon geni tespit edilebilir. Bu durum Ph negatif, BCR-ABL pozitif KML olarak adlandırılır. Bu vakalar standard Ph pozitif hastalardan füzyon gen oluşumu dışında farklılık göstermemektedir (21, 22). BCR/ABL moleküler düzenlemesinin gerçekten olmadığı Ph negatif vakalar farklı bir grupta incelenmekte olup kronik nötrofilik lösemi veya atipik KML olarak adlandırılırlar. Bu hastalıklar WHO sınıflamasına göre kronik myeloproliferatif veya myelodisplastik/myeloproliferatif hastalıklar olarak sınıflandırılmaktadırlar (23).

2.5. Klonal Değerlendirme

İleri evre KML hastalarının çoğunda Ph pozitif hücrelerde sekonder kromozomal değişiklikler de gelişmektedir. Blastik krizdeki KML hastalarının % 75 - 80 kadarında ilave anormallikler tespit edilebilmektedir. Sekonder değişikliklerin ortaya çıkışı sitogenetik klonal evrim olarak adlandırılmaktadır. Klonal evrim lösemik hücrelerin

genetik instabilitesini yansıtmakla birlikte hastalığın ilerlemesinin bir işareti olabilir (24).

Sekonder kromozomal değişiklikler gelişimi güzel olmayıp en sık ortaya çıkanlar; izokromozom 17q (i(17) (q10)), trisomi 8 (+8), ilave Ph kromozomu (+der(22) t(9;22) (q34;q11.2)) ve daha az sıklıkta trizomi 19 (+19)'dur. Bu değişikliklerden ilk 3 tanesi tespit edilen ilave kromozomal değişikliklerin % 90 kadarını oluşturmaktadır. Bunlar ve benzer şekilde oluşan kromozomal değişikliklerden sıklığı % 5'i geçenler "major yolak", daha az sıklıkta görülenler (trizomi 21, kromozom 7 ve 17 monozomileri) ise "minör yolak" olarak adlandırılmaktadır (25).

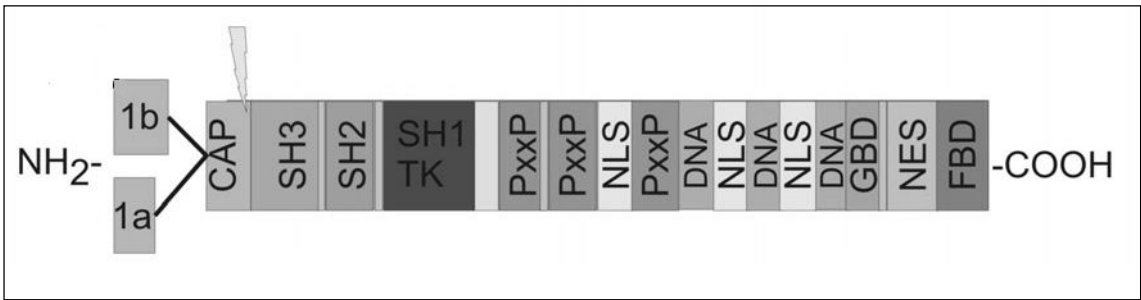
2.6. KML Patolojisi ve Moleküler Genetik

KML'de moleküler düzeyde birincil olarak etiklenen genler ABL ve BCR' dir. Ph translokasyonu şimerik bir füzyon geni olan BCR-ABL oluşumu ile sonuçlanır. Bu gen; hücre proliferasyonunu hızlandıran, apoptotik uyarılara direnç gösteren ve hücre adezyonunda değişikliklere neden olan yapısal bir kinaz aktivitesi sağlar. Protein tirozin kinazlar çeşitli protein substratların tirozin kalıntılarını fosforilleyerek bu enzimlerin aktivitelerini düzenlerler. Fosforilasyonun hedefi kinaz enziminin kendisi (otofosforilasyon) veya diğer çeşitli sinyal yollarındaki proteinler olabilir. Tirozin kinazlar intraselüler sinyal - ileti yollarını düzenlerler ve bu nedenle hücre proliferasyonu ve diferansiasyonu üzerinde önemli role sahiptirler (22, 26). Onkogenik tirozin kinazlar, translokasyon veya delesyon gibi kromozomal rearanjman sonucu oluşan şimerik füzyon gen ürünleri olabilecekleri gibi gen mutasyonu veya gen amplifikasyonu sonucu da ortaya çıkabilirler. Tirozin kinazlar; stem cell factor reseptörü C-KIT (CD117) gibi transmembranik veya ABL gibi sitoplazmik olmak üzere iki grupta incelenebilirler (27).

2.6.1 ABL Geni

Abl tirozin kinazı; 9q 34.1 lokalizasyonunda bulunan abelson murine lösemi viral homolog 1 onkogeni (abl, abl1) tarafından kodlanmaktadır. Sürekli olarak ekspresse edilen abl proteini hem stoplazmada hem de nükleus içerisinde bulunarak iki kompartman arasında geçişe izin verir. Abl geni toplam 11 exona sahip olup bu

exonlardan birincisi alternatif olarak iki bölgeye bölünebilmektedir (1a veya 1b). Abl'nin transkripsiyonu 5 kb ve 6.5 kb boyutlarında iki farklı mesajcı RNAs (mRNAs) oluşturur. Bu mRNA'lar ilk 19 aminoterminal ucu farklı olan 145 kd boyutunda izoform proteinler (Ia ve Ib) oluştururlar. İzofom Ib amino terminalinde myristyl fatty asid bağlı bir c14 atomu bulundurmakta olup myristoillenmemiş Ia formuna göre daha fazla ekspresse olmaktadır. Miristolasyon işlemi; ondört karbonluk doymuş yağ asidi olan myristate'tın, proteinlerin glisin amino asitlerinin amino terminal bölgelerine eklenmesidir (28 - 32). ABL' nin fonksiyonel parçaları Şekil 2'de gösterildi.



Şekil 2. ABL proteininin şematik yapısı. ABL SRC homoloji bölgelerinden SH1,SH2 ve SH3'ü bulundurmaktadır. SH1 tirozin kinaz bölgesi olarak işlem görmekte iken SH2 ve SH3 farklı proteinler için bağlanma noktası olarak fonksiyon görürler. Nükleer lokalize edici sinyal (NLS) ve bir nükleer-ihraç sinyali (NES) hücre çekirdeğinde birikmekte olan protein miktarının dengeler. DNA bağlanma bölgesinin nükleer ABL'in kromatin bağlanmasında rolü vardır. ABL 'ninsitoplazmadaki aktin filamentlerine yapışması G- ve F-aktin bağlayıcı bölgeler aracılığı ile olmaktadır (GBD,FBD) (33).

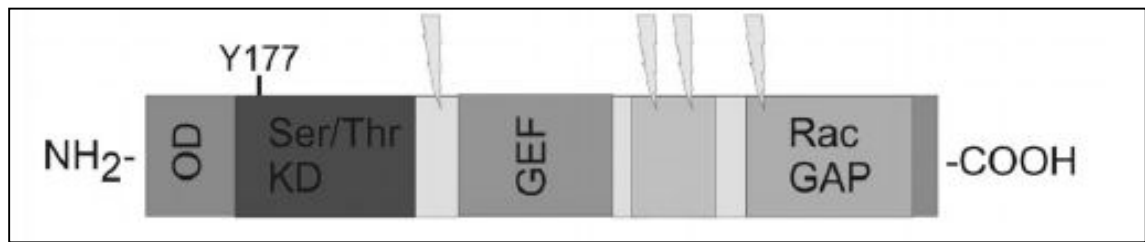
ABL; hücre proliferasyonunun düzenlenmesi, adhezyon ve hücre ölümü gibi çeşitli hücresel işlevlerden sorumlu tutulmaktadır. ABL, hücre büyümesini hem hızlandırmakta hem de inhibe etmektedir. ABL; pasif hücrelerde RB proteinine bağlanarak inaktif tutulmaktadır. Hücrenin S fazında bu protein fosforillenerek ABL' den ayrılır. Bu ayrılma sonrası ABL aktif hale gelir. Aktivasyon sonrasında ABL diğer genleri aktive eder. Bunun aksine bazı çalışmalar ABL overekspresyonunun hücre siklusunun G1 fazında duraklamasına neden olduğunu bildirmiştir. Nükleer ABL, deoksi ribonükleik asit (DNA) hasarı ile indüklenen apoptozdan sorumlu tutulmuştur. ABL ile indüklenen apoptoz p53 ve p53 homologu p73 proteinlerinin büyümei durdurması veya apoptoza yol açması aracılığı ile olur. ABL iyonize radyasyon ve oksidatif stres gibi hücresel stres durumlarına cevaben aktive olur. Sitoplazmik ABL aktin iğcikleri ile ilişkili olup bu iğcikler hücresel iskeletin temel yapısını oluşturduklarından

ABL “platelet derived growth factor” (PDGF)-aracılıklı motilite ve hücre adezyonunda rol almaktadır (33).

Normal ABL’nin tirozin kinaz aktivitesi sıkı kontrol altındadır. ABL proteininin amino ucunda “cap” denen bir yapı bulunmaktadır. Bu yapı ABL proteininin kinaz aktivitesini ABL proteinin SH3 ve katalitik bölgelerine bağlanarak inhibe etmektedir. İb izoformundaki myristol modifikasyonu da katalitik bölgeye bağlanarak kinaz aktivitesini düzenleyici rol göstermektedir (34 - 37).

2.6.2. BCR Geni

BCR geninin kodladığı protienin fonksiyonları ABL’ ninkinden çok daha az bilinmektedir. BCR geni 22q11.2 kormozomu üzerinde bulunmakta olup 23 exondan oluşmaktadır. İlk iki tanesi 130 kD ve 160 kD büyüklüğündeki proteinleri kodlayan 4.5 kb ve 7 kb’ lık iki faklı mRNAs bulundurmaktadır. Sürekli olarak expresse edilen BCR; eskiden sitoplazmik protein olarak kabul edilsede sonraki çalışmalarda DNA ile ilişkilendirilebilecek özellikler göstermiştir. BCR proteini BCR geninin ilk exonu tarafından kodlanan serine/threonin kinaz aktivitesine sahiptir (38). Bunun yanında “Guanosin three phosphate (GTP) binding protein” p21^{Rac} gibi intraselüler sinyal iletimi, hücresel iskeletin düzenlenmesi ve hücrenin normal büyüme ve gelişmesinde de rolü olan G proteinleri ile de etkileşir (Şekil 3) (39).



Şekil:3. BCR proteininin şematik yapısı. Amino terminali tetramerizasyonu ve aktivasyonu sağlayan kıvrılmış kuyruk bölgesini içeriyor.Tirozin 177 ucu growth factor receptor bound protein 2 (GRB2)’ ye bağlanma fonksiyonuna sahiptir GEF: Guanidine exchange factor, GAP: Guanosin triphosphate-activating protein (33).

2.6.3. BCR-ABL Füzyon Geni

Genin 5' ucu BCR den gelen exonlardan oluşurken 3'ucu ABL orijinlidir. KML hastalarının çoğunda (% 95) ve Ph (+) ALL hastalarında BCR geni major bcr olarak adlandırılan 12. ile 16. exonlar arasındaki 5.8 kb lik bir bölgeden kırılmaktadır. BCR geninde minor-bcr (m-bcr) ve micro-bcr (μ -bcr) olarak adlandırılan iki farklı break point cluster region daha bulunmaktadır (40).

Nadir olarak (< KML vakalarının % 5) başka BCR-ABL eşleşmeleri olmaktadır. ABL ve BCR üzerindeki kırılma noktaları değişken olup exonlar üzerinde bile olabilmektedir. "Multiplex reverse transkriptaz" polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniği ile KML vakalarında bu nadir füzyon transkriptler tanınabilmektedir (41).

2.7. KML Tanı ve Takibinde Genetik Analizler

KML tanısı Ph kromozomu ve/veya BCR-ABL füzyon transkriptinin varlığının gösterilmesi ile doğrulanmaktadır. Ph kromozomunun varlığı genellikle konvansiyonel sitogenetik yöntem olan G-bantlama metodu ile kemik iliği materyalinde gösterilmektedir. Bu teknikte hücreler siklisun metafaz evresinde incelenir. Genellikle 20 mitotik hücrenin genetik analizi yapılmaktadır bu nedenle sensitivitesi düşüktür. Sitogenetik anomali hücrelerin en az 2 - 5'inde yoksa saptanamaz. Konvansiyonel sitogenetik yöntemlerde sıklıkla BCR ve ABL lokuslarına yönelik fluorescence in situ hybridization (FISH) assay probu da kullanılmaktadır. Bu teknikte hücreler siklisun interfaz evresinde incelenmektedir. Kullanılmakta olan 3'ABL ve 5'BCR problemleri kırmızı ve yeşil floresan verir. FISH, BCR-ABL füzyon geninin varlığını ve lokalizasyonunu tespit ederken Ph negatif BCR-ABL pozitif vaka'ları da tespit eder. Çok sayıda (100 – 500 gibi) hücre incelendiği için kemik iliği örneklemesine gerek kalmadan periferik kanda çalışılabilir. Yüksek yalancı-pozitiflik (% 10 - 15) ve uygulanan tekniğe bağlı dezavantajları vardır. FISH probu kullanılarak yapılan diğer bir sitogenetik yöntem ise hipermetafaz FISH tekniğidir. Bu teknikte 400-500 metafaz incelenerek yalancı pozitiflik oranı minimize edilir. Periferik kana uygulanmaz. Kemik iliği aspirasyon örneklemesi gerekir (42).

Tanıda kullanılan moleküler genetik analizler BCR-ABL füzyon transkriptinin gösterilmesine odaklanmaktadır. Bu genellikle Bidirectional PCR (PQ-PCR) veya daha nadir füzyon tiplerini yakalayan kalitatif multiplex-PCR sistemleri ile yapılmaktadır. Quantitative PCR (RQ-PCR) bazlı moleküler tanı yöntemleri hastaya özel tedaviye cevabın moleküler takibi ve tedaviye cevap düzeyinin belirlenmesinde kullanılır. RT-PCR, Ribonükleik asit (RNA) düzeyinde BCR-ABL transkriptlerini saptar. Periferik kanda çalışılıp 10^{-5} - 10^{-6} lara ulaşan yüksek sensitivitesi nedeniyle bir çok merkezde minimal rezidüel hastalığın (MRH) monitorizasyonunda tercih edilen yöntemdir (43).

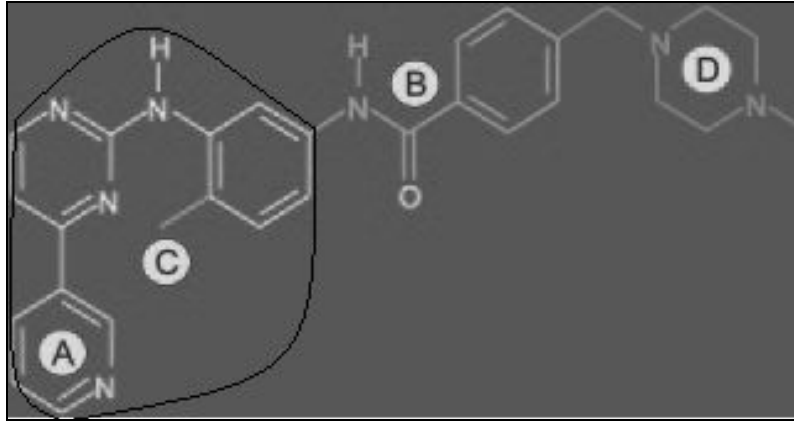
Bunun dışında daha az kullanılan öncül yöntemlerden Southern Blot ve Western Blot yöntemleri bulunmakla birlikte bu yöntemlerin sensitivitesi düşüktür (44).

2.8. KML'in Tedavisi

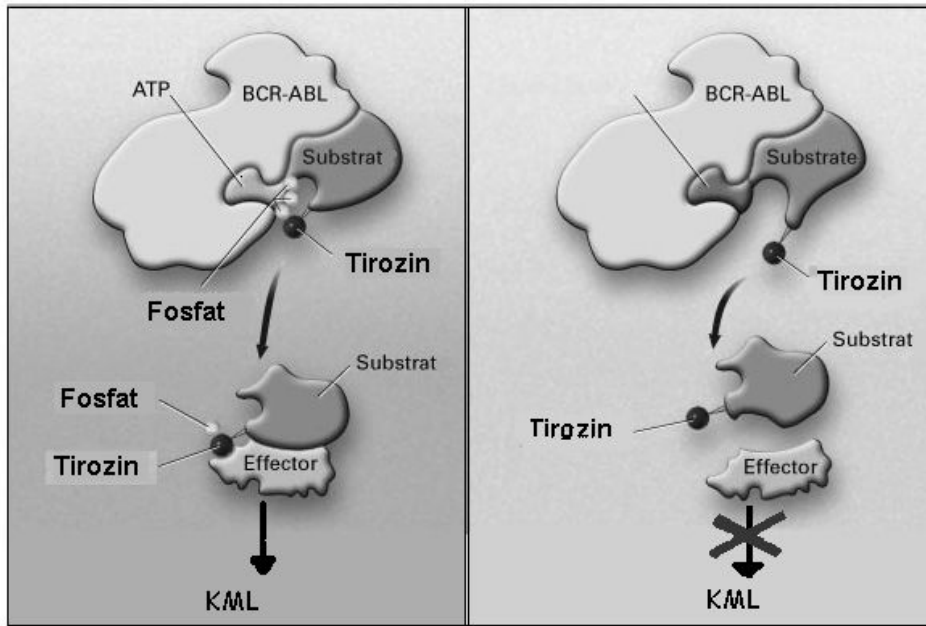
KML' in tedavisi geçtiğimiz 10 yıl içerisinde hızlı bir gelişim ve değişim göstermiştir. Busulfan ve hidroksiüre gibi sitotoksik ajanlar hematolojik yanıt yanında hastalık ile ilgili semptomları azaltırken sağkalım üzerinde bir değişiklik sağlamamaktaydı ve hastalık kaçınılmaz olarak ileri evrelere geçmekteydi. İnterferon- α , hematolojik yanıt yanında % 20–60 kadar hastada da sitogenetik düzelme ve sağ kalımda artış sağlamaktadır. Fakat önemli bir orandaki hastada toksik yan etkiler ortaya çıkmaktadır (45 - 47).

2.8.1. İmatinib

İmatinib mesilat (Glivec®, Gleevec™, önceleri STI571 veya CGP57148B); Ph (+) KML ve ALL tedavisinde tirozin kinaza yönelik hedeflenmiş selektif bir moleküldür (Şekil 4) (48). İmatinib, BCR-ABL otofosforilasyonunun ve substrat fosforilasyonunun inhibisyonunu gerçekleştirerek etkilenen hücrelerin proliferasyonunu ve BCR-ABL onkoproteininin etkilerini bloke ederek etkisini gösterir (49, 50). İmatinib, ABL kinaz bölgesindeki aminoasitlere bağlanır ve adenosin trifosfat (ATP)'in bağlanmasını bloke ederek BCR-ABL proteininin inaktif formda kalmasını sağlar. Bu durumda ATP'den fosfat transferini engeller ve aşağı yönde sinyal ileti yollarını bloke ederek büyüme duraklamasına ya da apoptozise neden olur (Şekil 5) (51).



Şekil 4 İmatinib'in kimyasal yapısı.Çember içerisindeki alan imatinibin 2-fenilaminopirimidin omurgası. A:Hücresel çalışmalarda etkinlik gösteren 3' pozisyonda bulunan 3' piridil grubu. B:Tirozin kinaza karşı aktiviteyi arttıran fenil halkası, C: Protein kinaz C'ye karşı olan etkinliği azaltan metil grubu, D:Oral yararlanımı ve suda çözünürlüğü arttıran N-metilpiperazin



Şekil 5. İmatinibin etki mekanizması

İmatinibin tirozin kinaza olan yüksek spesifitesi kinaz molekülüne inaktif formda iken bağlanmasından kaynaklanmaktadır. Kinaz molekülü inaktif halde iken merkezde konuşlanmış olan aktivasyon halkası fosforillenmemiş ve dolayısı ile inaktiftir. Fosforillendikten sonra aktivasyon halkası genişler ve aktif hale gelir. Bilinen tüm kinazlarda aktif form benzerdir. Hâlbuki inaktif form, protein kinazlar içerisinde büyük değişiklik göstermekte olup imatinibin spesifitesini anlaşılır kılmaktadır (52).

İmatinib tedavisi ile alınan hematolojik, sitogenetik ve moleküler yanıt kriterleri Tablo 2’de verildi (37).

Tablo 2. Hematolojik, Sitogenetik ve Moleküler Yanıt Kriterleri

Hematolojik yanıt	Tam yanıt	BK < 10.000/mm ³ Trombosit < 450.000/mm ³ Periferik kanda myelosit + Metamyelosit < % 5 Periferik kanda bazofil < % 20 Periferik kanda blast ve promyelosit olmaması Ekstramedüler tutulum olmaması Hastalığa ait belirti-bulgu olmaması
	Kısmi yanıt	Beyaz küre sayısının normale gelmesi ancak immatür hücreler veya splenomegali veya trombositlerin yalnızca tedavi öncesi değerinin % 50’sinin altına düşmesi
Sitogenetik Yanıt	Tam	Ph(+) hücrelerin kaybolması
	Parsiyel	Metafazların % 1-34’ünde Ph(+) olması
	Minör	Metafazların % 35-90’ında Ph(+) olması
	Yanıtsızlık	Tüm metafazların Ph(+) olması
Moleküler yanıt	Major	Bazal değere göre BCR-ABL değerinde 3 log azalma olması
	Tam	BCR-ABL’nin negatif olması

İmatinib, erken kronik faz hastalarda yaklaşık % 100 hematolojik yanıt ve % 87 sitogenetik yanıt, blastik kriz safhasındaki hastalarda ise % 8 hematolojik yanıt ve % 16 sitogenetik yanıtı indüklediği rapor edilmiştir (53).

2.8.2. İmatinib’e Karşı Direnç

KML hastalarının büyük bir bölümü imatinib tedavisine mükemmel yanıt vermekte iken bir miktar hastada optimal veya yeterli cevap elde edilemeyip bir kısım hastada da elde edilmiş olan cevap kaybedilmektedir. Bu durum sırasıyla tedaviye primer ve sekonder direnç olarak yorumlanmaktadır.

Primer direnç, imatinib ile tedavi başlandıktan sonra üç ay içinde tam hematolojik yanıt (THY) sağlanamaması, altı ay içinde sitogenetik yanıtın gözlemlenmemesi ve oniki ay içinde parsiyel sitogenetik yanıtın olmaması şeklinde ifade edilmektedir. Hematolojik yanıtın ve parsiyel sitogenetik yanıtın kaybedilmesi ya da tam sitogenetik yanıtın (TSY) kaybedilmesi ile BCR-ABL'nin on kat artması durumunda sekonder dirençten bahsedilir (37, 54). İmatinib direncinde başlıca dört mekanizma tanımlanmıştır ve bunlar Tablo 3'te özetlenmiştir (37, 55 - 59).

ABL kinaz bölgesindeki nokta mutasyonlar primer dirençten ziyade özellikle kazanılmış dirençte görülmekte ve KML'nin tüm fazlarında bulunmasına rağmen daha sıklıkla hastalığın geç kronik veya akselere fazında gözlenmektedir. Bunlardan en çok araştırılmış olan ikisi T315I ve F317L mutasyonlarıdır (60 - 62).

Tablo 3. İmatinib direncinde belli başlı mekanizmalar

İmatinibe karşı gelişen direnç mekanizmaları	
1)	Azalmış intraselüler ilaç düzeyleri
a.	Plazmada alfa-1 asid glikoprotein tarafından bağlanması
b.	P-glikoprotein (MDR-1) over ekspresyonu nedeniyle ilacın hücreden atılması
2)	Genomik amplifikasyon nedeniyle BCR-ABL'nin artmış ekspresyonu
3)	Klonal evrimleşme (BCR-ABL bağımsız mekanizmalar)
4)	BCR-ABL'nin ABL kinazında mutasyonlar nedeniyle ilaç veya kinaz aktivitesinin etkilenmesi (örn;T315I, F317L, F359V)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Ocak 2006 tarihinden itibaren Atatürk Üniversitesi Yakutiye Araştırma Hastanesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Hematoloji servisi ve polikliniğinde kronik myeloid lösemi (KML) tanısı ile takip edilen ve değerlendirme için yeterli verileri bulunan 31 hasta alındı.

Hastalarda KML tanısı; tam kan sayımı, periferik yayma (Wright boyası kullanıldı), kemik iliği aspirasyonu, “fluorescence in situ hybridisation” (FISH) veya “reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu” (RT-CR) yöntemleri ile Philadelphia kromozomu pozitifliğine bakılarak konuldu.

Hastaların tanı anındaki evrelemesi “World Health Organisation” (WHO) sınıflandırmasına, risk skorlaması ise Sokal indeksine göre yapıldı. Sokal indeksi : $SI = EXP (0.0116 (yaş-43.4) + 0.0345 \{dalak \text{ büyüklüğü (kot altı, cm)}- 7.51\} + 0.188 (trombosit \text{ sayısı}/700) 2 - 0.563) + 0.0887 (periferik \text{ blast yüzdesi} - 2.10))$ formülü ile hesaplandı.

Çalışmaya alınan hastaların hastalıklarının fazı; tanıdan tedaviye kadar geçen süre eğer 6 aydan kısa ise erken kronik faz (EKF), 6 aydan uzun ise geç kronik faz (GKF) olarak tanımlandı.

Hastalara tanı sonrası imatinib mesilatın her gün aynı saatte bol miktarda su ile veya yemeklerle birlikte alınması gerektiği, ilacın kullanımı esnasında oluşabilecek yan etkiler (vucutta şişlik, dispeptik yakınmalar, gibi) hakkında bilgilendirme yapıldı. Ayrıca imatinib kullanımı süresince (imatinib mesilatın muhtemel ilaç etkileşimleri nedeniyle) başka bir ilaç kullanmaları gerektiği takdirde imatinibi başlatan hekime danışmaları gerektiği anlatıldı. Yani hastalara ilaç ile ilgili kısa bir eğitim verildikten sonra Ph (+) 31 hastaya 400 mg/gün imatinib mesilat başlandı.

Çalışmaya alınan hastaların başvuru anındaki şikâyetleri, fizik muayene (dalak büyüklükleri, karaciğer büyüklükleri gibi.), laboratuvar bulguları (beyaz küre, trombosit, eozinofil, bazofil, myelosit, metamyelosit, myeloblast oranları, LDH, ürik asit serum düzeyleri) kaydedildi. Hastaların imatinib mesilat tedavisine bağlı yan etkiler ve tedaviye alınan yanıt düzeyleri ya da yanıtızlıkları kayıt altına alındı.

Hastaların tedaviye yanıtları “National Comprehensive Cancer Network” ‘un klinik pratik klavuzuna göre; hematolojik, sitogenetik ve moleküler olmak üzere 3 başlık altında değerlendirildi.

Hematolojik yanıt ilk 3 ay içerisinde tam veya parsiyel olmak üzere 2 şekilde değerlendirildi. Hem Hematolojik yanıtın hemde hematolojik yan etkilerin değerlendirilmesi açısından tedavinin ilk ayında haftada bir, tedavinin 2. ve 3. ayında 15 günde bir, tedavinin 4.,5. ve 6. aylarında ayda bir, 6. aydan sonra ise 3 ayda bir tam kan sayımı yapıldı. Tam kan sayımı Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı’na bağlı Hematoloji laboratuvarında tam otomatik kan sayımı (Beckman Coulter LH 750® ABD) cihazında orijinal kitleri kullanılarak yapıldı.

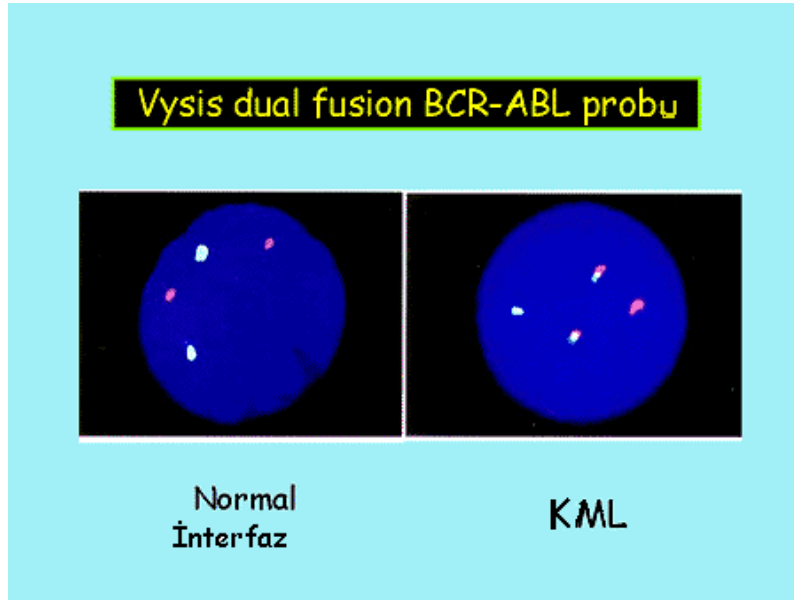
Sitogenetik yanıt; minör, parsiyel, tam sitogenetik yanıtı (TSY) ve yanıtsızlık olmak üzere 4 grupta değerlendirildi. Sitogenetik yanıt değerlendirmesi tedavinin 6, 12 ve 18. aylarında yapıldı. Sitogenetik yanıt Atatürk Üniveristesi Tıp Fakültesi Tıbbi genetik laboratuvarında Floresans İn Situ Hybridisation (FISH) yöntemi kullanılarak belirlendi. Bu yöntem için Abbott Vysis LSI BCR/ABL Dual Color, Dual Fusion Translocation® Illinois USA probu kullanıldı. Sitogenetik yanıt “Break point cluster region/ Abelson murine leukemia” (BCR/ABL) pozitif interfazların yüzdesine göre hesaplandı.

FISH (Vysis prob protokolü)

Bu teknikte; 9. ve 22. kromozomlardan sırasıyla yeşil ve kırmızı renkli sinyaller ve derivatif kromozom 9 ve derivatif kromozom 22’den (Philadelphia kromozom) gelen yeşil ve kırmızı renkli sinyallerin kaynaşmasıyla sarı (S) renkte bir füzyon sinyal oluşmaktadır. Birleşmiş kırmızı ve yeşil sinyaller bir veya iki sarı füzyon şeklinde görüldüğünde BCR/ABL yeni düzenlemeleri için pozitif olarak değerlendirilmektedir. FISH uygulaması, üretici firmanın protokolüne göre yapıldı. Preparatlar, 2XSSC solüsyonunda 20-25 °C’de 2 dakika bekletildikten sonra % 70, % 85, % 100’lük alkol serilerinde 2’şer dakika tutuldu. Lam üzerine 15µl hibridizasyon solüsyonu koyularak prob lameliyle kapatıldı ve lamelin kenarları yapıştırıcı solüsyon ile yapıştırıldı. Etüvde 37 °C’de 3 - 4 dakika bekletildi. Preparatlar, 76 °C’de 5 dakika bekletilerek denatüre edildikten sonra bir gece benmaride 37 °C’de bekletilerek prob ile hedef

deoksiribonükleik asit (DNA)'nın hibridizasyonu sağlandı. Hibridizasyondan sonra, preparatlar benmaride 72 °C'de 0.4XSSC solüsyonunda 2 dakika bekletildikten sonra oda ısısında NP - 40 yıkama solüsyonunda 30 saniye daha bekletildi.

Hedef alana, solüsyon - 1 tespit solüsyonundan 50 µl koyulup preparatın üzeri parafilmle kapatıldı ve benmaride 37 °C'de 10 dakika bekletildi. Parafilm uzaklaştırıldı ve oda ısısında 1XST buffer yıkama solüsyonunda 5 dakika bekletildi. Bu işlem solüsyon - 2, solüsyon - 3 tespit solüsyonları için tekrarlandı. Hedef alana 10 µl DAPI eklenerek lamel ile kapatıldı. + 4°C'de en az 1 saat bekletildikten sonra floresans mikroskopta incelendi. Her bir hastadan 200 interfaz hücresi incelenerek elde edilen sonuçlar % olarak verildi. (Şekil 6)



Şekil.6. FISH yöntemi ile hazırlanmış normal ve KML interfaz görüntüleri

Moleküler yanıt major ve tam (MMY ve TMY) olmak üzere 2 şekilde değerlendirildi. Moleküler yanıt değerlendirmesi; tedavi başlangıcının 12. ayından itibaren takip süresince yılda iki defa yapıldı.

Moleküler yanıt; periferik kandan izole edilen DNA'nın RT-PCR yöntemi ile çoğaltılarak incelenmesi ile yapıldı. Moleküler incelemeler Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji laboratuvarında yapıldı.

Moleküler inceleme prosedürü:

EDTA'lı periferik kan örneklerinden BCR-ABL füzyon transkriptleri; kuantifikasyon kiti (Roche LightCycler® t(9;22) Quantification Kit Branchburg, USA) kullanıldı ve kantitatif olarak tespit edildi. LightCycler® t(9;22) Quantification Kit, LightCycler aleti kullanılarak cam kapillerlerde PCR için adapte edildi. Messenger RNA (mRNA) veya total RNA izolasyonu kan ve kemik iliği hücrelerinden RNA izolasyonu özelliğine sahip kit (Roche HighPure RNA) kullanılarak gerçekleştirildi. Yöntem üretici firmanın yönergesine (LightCycler® t(9;22) Quantification Kit Instruction Manual, 2006) göre uygulandı. Elde edilen mRNA veya total RNA, revers transkriptaz enzimi kullanılarak cDNA'ya çevrildi. Bu amaçla revers transkriptaz enzimi ve tampon çözeltileri kullanıldı. cDNA iki adımlı RT-PCR yöntemi ile spesifik primerler yardımıyla çoğaltıldı. G6PDH reaksiyon ürünü hem RT-PCR performansı için kontrol hem de benzer reaksiyonlar için referans olarak görev yapmıştır.

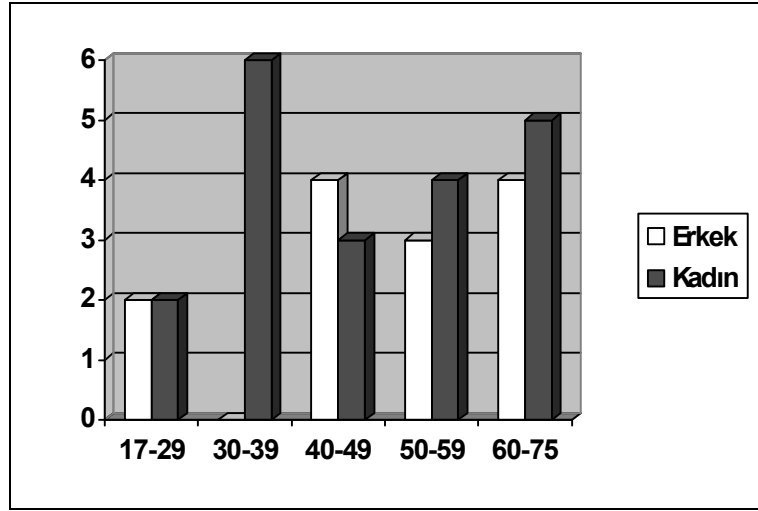
İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

İstatistiksel analizler SPSS 11.5 programı kullanılarak yapıldı. Veriler; sayı, yüzde, ortalama, standart sapma olarak verildi. Gruplar arası karşılaştırmalar kategorik değişkenler için fisher exact, korelasyonlarda sürekli değişkenler için pearson, kategorik değişkenler için sperman testleri ile analiz edildi. Hastaların sağkalım analizinde; hastalıksız sağkalım (HS) imatinib tedavisinin başlandığı günden ölüm gününe, akselere veya blastik faz gelişme günü veya takibin sonlandırıldığı güne kadar geçen süreye göre hesaplandı. Genel sağkalım (GS) imatinib tedavisinin başlandığı günden herhangi bir nedene bağlı ölüm veya takibin sonlandırıldığı güne kadar geçen süre üzerinden hesaplandı. Sağkalım analizlerinde Kaplan- Meier metodu ve Log-rank testi kullanıldı. $P < 0.05$ olması durumunda fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Yaş ve Cinsiyet Dağılımı

Çalışmaya alınan 31 hastanın 12 (% 38.7)'si erkek, 19 (% 61.8)'u kadındı. Erkek /Kadın oranı 0.63 idi. Hastaların yaş ortalaması 48.9 (18 – 75), erkek hastaların yaş ortalaması 49.7 (18 - 72) kadın hastaların yaş ortalaması ise 48.4 (24 - 75) idi. Çalışmaya alınan hastaların yaş ve cinsiyet dağılımı şekil 7’de verildi.



Şekil 7. Hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları

Hastaların hastaneye başvurusundaki şikâyetleri arasında; birinci sırada halsizlik (% 70), ikinci sırada kilo kaybı (% 54), daha sonra karında şişlik - çabuk doyma (% 42), ateş - aşırı terleme ise % 12 oranında görüldü. 9 (% 29) hastada ise Ph (+) kronik myeloid lösemi (KML) tanısı; başka nedenlerle hastaneye başvuruda yapılan tam kan sayımlarında beyaz küre sayılarının yüksek olması sonucu hematoloji kliniği tarafından yapılan değerlendirmede konuldu.

Hastaların başvurusundaki laboratuvar bulguları: beyaz küre sayısı ortalama $141.2 \times 10^9/L$ (13 - 437), serum laktat dehidrogenaz (LDH) seviyesi ortalama 1054 IU/L (247 - 3133), Ph kromozomu pozitiflik oranı ortalama % 67.4 (20 - 98) olarak bulundu. Hastaların fizik muayene bulguları arasında hepatosplenomegali dışında önemli bir özellik yoktu. Hastaların başvuru esnasındaki muayene ve laboratuvar bulguları Tablo 4’te verildi.

Tablo 4. Hastaların Başvuru Esnasındaki Laboratuar ve Muayene Bulguları

Laboratuar ve muayene bulguları	Minimum	Maximum	Ortalama
Beyaz küre ($\times 10^9/L$)	13	437	141.23
Hematokrit (%)	23	49	34.32
Trombosit ($\times 10^9/L$)	134	1571	513.90
Kot altı dalak (cm)	0	20	5.87
Kot altı karaciğer (cm)	0	16	1.87
FISH (%)	20	98	67.40
Eosinofil (%)	1	8	3.05
Bazofil (%)	0	9	2.8
LDH (IU/L)	247	3133	1054.4
Ürik asit (mg/dl)	2.3	11.9	6.2

Hastaların hastalıklarının fazı “World Health Organisation” (WHO) sınıflandırmasına göre yapıldı. Hastaların tamamı bu sınıflandırmaya göre kronik fazdaydı. Hastaların risk skorlarması Sokal skorlama indekslerine göre yapıldı. Yapılan bu risk skorlamasında tüm hastalar düşük riskli bulundu.

Hastalarda imatinib tedavisi ile ortaya çıkan yan etkiler içerisinde en sık gözlenen yan etki yüzde daha belirgin olmak üzere 12 (% 38.7) hastada ortaya çıkan ödem oldu. İkinci en sık yan etki ise 9 (% 29) hastada ortaya çıkan kas - iskelet sistemi ağrılarıydı. Tek başına veya ödemle birlikte ortaya çıkan dispeptik yakınmalar 6 (% 19.4) hastada tespit edildi. Hastalarımızdan sadece bir tanesinde cilt bulgusu olarak ciltte kaşıntılı erüpsüyonlar ortaya çıktı. Hastanın kaşıntı şikayeti topikal dermatolojik tedavi ile geçti ancak erüpsüyon gözlenen bölgelerde hiper pigmente maküler lezyonlar sebat etti. Hastalardan iki tanesinde ilaç yan etkilerinin üçten fazlası (ödem + kas - iskelet sistemi ağrıları + dispeptik yakınmalar + başka bir yan etki) ortaya çıktı. 10 (% 32.3) hastada ise herhangi bir yan etki gözlenmedi (Tablo 5). Hastaların hiçbirisinde ortaya çıkan yan etkiler nedeniyle imatinib dozu azaltılmadı veya ilaca ara verilmedi.

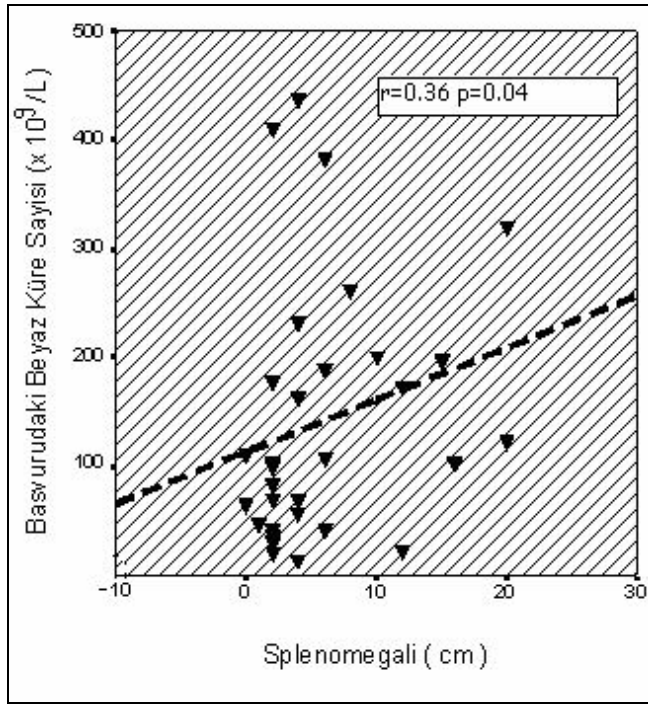
Tablo 5. İmatinib Kullanımı İle Ortaya Çıkan Yanetkiler

Yan Etkiler	Sayı (n)	Yüzde (%)
Yok	10	32.3
Ödem	9	29.0
Eklemağrısı	3	9.7
Dispeptik yakınma	3	9.7
Dispepsi+ödem	3	9.7
Döküntü	1	3.2
3'ten fazla yan etki	2	6.5
Toplam	31	100.0

Çalışmaya alınan 31 hastanın takip süresi ortalama 40.9 ay (4 – 120). idi Hastaların imatinib kullanım süreleri ise ortalama 27.9 (3 – 54) ay idi. Bir hasta (% 3.2) tanı sonrası tedavinin 23. ayında 400 mg/gün imatinib kullanır iken (TMY alındıktan sonra) pnömoni nedeniyle öldü.

Çalışmaya alınan 31 hastanın 20 (% 65) si erken kronik faz (EKF) grubunda, 11 (% 35) tanesi ise geç kronik faz (GKF) grubundaydı GKF hastalarının imatinib öncesi ortalama takip süreleri 34.4 (12 - 68) ay idi. GKF hastalarının imatinib mesilat başladıktan sonraki ortalama takip süreleri 32.4 (18 - 54) ay idi. GKF hastalarının toplam takip süreleri ise ortalama 68.7 (30 - 120) ay idi. GKF grubundaki hastalardan 5 tanesi imatinib öncesi dönemde hidroksiürea ile tedavi edilirken geri kalan 6 hasta ise imatinib mesilat öncesinde herhangi bir tedavi almamışlardı.

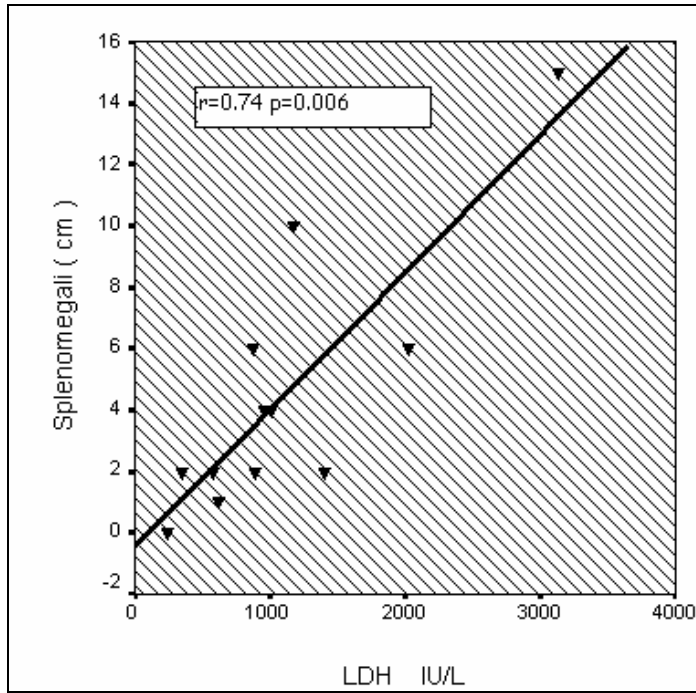
Hastaların başvursunda bakılan beyaz küre sayısı ve serum LDH seviyesi ile muayenede tespit edilen splenomegali boyutları aralarında bir ilişkinin varlığı açısından karşılaştırıldı. Yapılan istatistiksel analizlerde beyaz küre sayısı ve splenomegali arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon tespit edildi ($r=0.36$, $p=0.04$) (Şekil 8). Yani başvuru esnasında hastaların beyaz küre değeri ne kadar yüksek ise muayenede tespit edilen splenomegalinin büyüklüğü o oranda büyüktü.



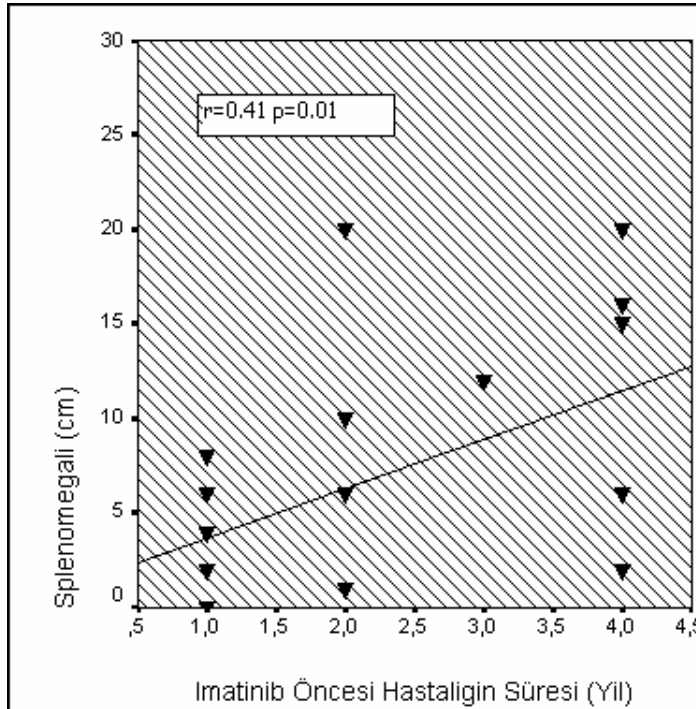
Şekil 8. Tanı Anındaki Beyaz Küre Sayısı İle Splenomegalinin Büyüklüğü Arasındaki İlişki

Başvuru esnasında tespit edilen splenomegalinin büyüklüğü ile serum LDH seviyeleri karşılaştırıldığında ise serum LDH seviyeleri ile başvuru esnasında tespit edilen splenomegalinin büyüklüğü arasında da istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon tespit edildi. ($r=0.74$, $p=0.006$) (Şekil 9). Yani hastaların başvuru esnasındaki serum LDH seviyeleri ne kadar yüksek ise muayenede tespit edilen splenomegali o oranda büyük bulundu.

Hastalığın fazı ile fizik muayenede tespit edilen splenomegalinin büyüklüğü arasında bir ilişki olup olmadığı araştırıldı. GKF grubunda splenomegali büyüklüğünün daha sık görüldüğü tespit edildi. Yapılan istatistiksel analizde GKF hastalarında fizik muayenede tespit edilen splenomagali büyüklüğünün imatinib öncesi geçen süre ile pozitif bir korelasyona ($r=0.41$, $p=0.01$) sahip olduğu tespit edildi (Şekil 10).



Şekil 9. Başvuru Esnasında Serum LDH ve Fizik Muayenede Tespit Edilen Splenomegali Arasındaki İlişki



Şekil 10. Splenomegali İle İmatinib Öncesi Hastalık Süresi Arasındaki İlişki

Çalışmaya alınan 31 hastanın hiçbir tanesinde çalışma sonlandırılana kadar geçen sürede ilacın dozunun azaltılmasını gerektirecek veya ilacın kesilmesini gerektirecek herhangi bir hematolojik yan etki görülmedi.

İmatinib mesilat başlanan hastaların tamamı kronik fazda tanı almış olup, 400 mg/gün imatinib mesilat ile tedaviye başlandı. Tedavinin 3. ayının sonunda çalışmaya alınan 31 hastanın 31(% 100)'inde tam hematolojik yanıt (THY) sağlandı. Çalışmaya alınan 31 hastadan 25 tanesinde (% 80.6) 1. ayda geri kalan 6 (% 19.4) hastada ise 2. ay sonunda THY sağlandı. 24 aylık takip süresine ulaşan 21 hastadan 2 (% 10) tanesinde hematolojik yanıt kaybı oldu. Bu hastalardan bir tanesinin imatinib dozu 600 mg/gün olarak arttırıldı ve takipte tekrar THY sağlandı. İkinci hastada da imatinib dozu 600 mg/gün olarak arttırıldı ve THY sağlandı ancak TMY sağlanamadığından 30 ayda imatinib dozu 800 mg/gün olarak arttırıldı. Bu hastanın tedavisinin 36. ayında THY korunmakta olup tam veya moleküler yanıt (TMY veya MMY) elde edilmediğinden imatinib tedavisi sonlandırılarak 2. kuşak tirozin kinaz inhibitörü başlandı. 36 aylık takibe ulaşan 11 hastanın % 90.9'unda THY korunmaktaydı (Tablo 6). Geriye kalan bir hastada ise hematolojik yanıt kaybı tedavinin 36. ayında ortaya çıktı. Hastanın imatinib dozu 600 mg/gün olarak arttırıldı ve takibi sonlandırıldı.

Tablo 6. Takip Süresince Sağlanan Hematolojik Yanıt Oranları ve Hasta Sayıları

Takip süresi (Ay)	Hasta sayısı (n)	THY n (%)
3	31	31 (100)
6	30	30 (100)
12	28	27 (96)
18	25	25 (100)
24	21	19 (90)
36	11	10 (90)

Çalışmaya alınan 31 hastadan 6 aylık takibe ulaşan 30 hastanın 14 (% 46)' tanesinde TSY, 6 tanesinde (% 19.8) PSY, 8 tanesinde (% 28) minör sitogenetik yanıt, 2 hastada ise tedavinin 6. ayında sitogenetik olarak yanıtsızlık vardı. Tedavinin 6. ayında hastaların tamamında THY devam ettiğinden hiçbir hastada imatinib mesilat dozu değiştirilmedi. Tedavinin 6. ayında sitogenetik olarak yanıtsızlık söz konusu olan 2 hastadan birinde takipte imatinib dozu değiştirilmeden 12. ayda parsiyel sitogenetik yanıt (PSY) elde edildi. İkinci hastada ise 12. ayda PSY alınamaması nedeniyle imatinib

dozu 600 mg/gün olarak arttırıldı. Bu hastanın tedavisinin 18. ayında MMY alınmadığı için imatinib dozu 800 mg/gün olarak arttırıldı. Hastanın tedavisinin 24. ay kontrolünde MMY alınmadığı için imatinib kesilerek 2. kuşak tirozin kinaz inhibitörü başlandı (Tablo 7).

Tablo 7. Hastaların Takibinde Elde Edilen Tam ve Parsiyel Sitogenetik Yanıt Oran ve Sayıları

Takip süresi (Ay)	Hasta sayısı (n)	Yanıt sız + Minör yanıt n (%)	Parsiye + TSY n (%)	TSY n (%)
3	31		6 (19)	1 (3)
6	30	10 (34)	20 (66)	14 (46)
12	28	3 (12)	25 (88)	20 (71)
18	25	3 (12)	22 (88)	22 (88)

Çalışmaya alınan 31 hastadan 12 aylık takibe ulaşan 28 hastanın 20 (% 71)'inde TSY, 25 (% 88) tanesinde ise TSY veya PSY alındı. Geriye kalan 3 hastadan bir tanesi daha önce bahsedilen ve 2. kuşak TKİ başlanan hasta idi. Geriye kalan 2 hastadan birinde tedavisinin 6. ayında TSY alındı fakat 12. ayda sitogenetik yanıt kaybı gözlemlendi. Hastanın imatinib dozu 600 mg/gün olarak arttırıldı. Çalışma sonlandırıldığında hasta tedavisinin 12. ayında idi. Tedavinin 12. ayında TSY veya PSY elde edilemeyen son hastada ise hematolojik yanıt kaybı olmadığından ve 6. ayda elde edilen (MSY) devam ettiğinde imatinib dozu değiştirilmedi. Bu hastada tedavinin 18. ayında TSY elde edildi.

Çalışmaya alınan 31 hastadan 18 aylık takibe ulaşan 25 hastadan 22 (% 88) tanesinde TSY veya PSY alındı. Geriye kalan 3 hastadan biri daha önce değilinilen ve 2. kuşak TKİ başlanan hastaydı. Diğer iki hastadan birinde tedavinin 18. ayında TSY elde edilemediğinden imatinib dozu 600 mg/gün olarak arttırıldı. Hastanın takibinde 24. ayda MMY ve aynı dozda imatinib kullanımı ile 36. ayda TMY elde edildi.

Çalışma alınan 31 hastadan 18 aylık takibe ulaşan 25 hastanın 18 (% 72)'inde major veya TMY alındı. Geriye kalan 7 hasta ise; Birinci hastada daha önce bahsedilen ve 2. kuşak TKİ başlanan hastaydı. 18. ayda TMY veya MMY alınamayan 7 hastadan 5'inde tedavilerinin erken dönemde hematolojik ve sitogenetik tam yanıt aldığından ilaç dozu değiştirilmeden takip edildi ve bu 5 hastada 24. ayda TMY alındı. 18. Ayda TMY

veya MMY alınamayan 7 hastadan sonucunda ise tedavinin 18. ayında MMY alınamaması nedeniyle imatinib dozu 600 mg/güne olarak arttırıldı. Bu hastada tedavinin 24. ayında 600 mg/gün imatinib ile TMY alındı (Tablo 8).

Çalışmaya alınan 31 hastadan tedavinin 24. ayına ulaşan 21 hastanın 18 (% 91) tanesinde MMY veya TMY alındı. Geriye kalan üç hastadan biri daha önce 2. kuşak TKİ başlanan hastaydı. 2 hasta ise 18. ayda TMY alınan hastalardan 24. ayda yanıt kaybına uğrayanlardı. Bu iki hastadan birinde imatinib dozu 600 mg/gün olarak arttırıldı ve hastada 30. ayda tekrar TMY elde edildi. Üçüncü hastada tedavinin 24. ayında yanıt kaybı olması nedeniyle imatinib dozu 600 mg/gün olarak arttırıldı. Hastada 30. ayda MMY elde edilememesi nedeniyle imatinib dozu 800 mg/güne olarak arttırıldı. Hastanın tedavisinin 36. ayında MMY elde edilemediğinden imatinib kesilerek 2. kuşak TKİ başlandı.

Çalışmaya alınan 31 hastadan 30 aylık takibe ulaşan 14 hastanın 11 (% 78) tanesinde TMY veya MMY elde edildi. Geriye kalan 3 hastadan 2 tanesi daha önce belirtilen ve 2. kuşak TKİ başlanan hastalardı. Bir hasta ise tedavinin 18. ayında TMY elde edildikten sonra 30. ayda yanıt kaybı olan bir hastaydı. Bu hastada imatinib dozu 30. ayda 600 mg/gün olarak arttırıldı. Çalışma sonlandırıldığında hastanın takibinin 33. ayı idi.

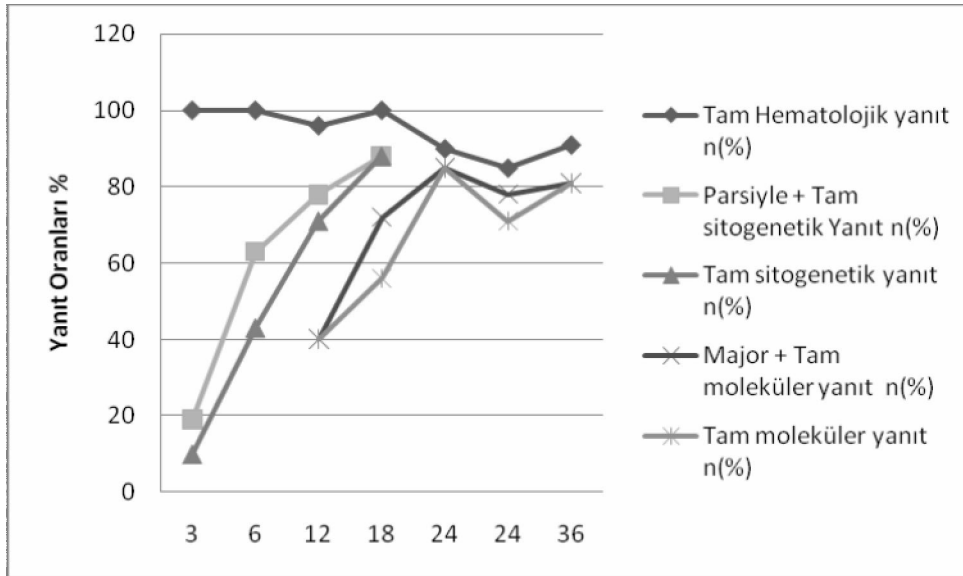
Çalışmaya alınan 31 hastadan 36 aylık takibe ulaşan 11 hastanın 9 (% 81) tanesinde TMY veya MMY korunmaktaydı. Geri kalan 2 hasta daha önce bahsedilen ve 2. kuşak TKİ başlanan hastalardı.

Çalışmanın sonunda 27 hasta halen imatinib kullanmaktaydı. Bu hastalardan 23'ü 400 mg/gün, 5'i 600 mg/gün imatinib mesilat kullanmaktaydı. Geri kalan 4 hastadan 2 tanesi çalışma süresi içerisinde 2. kuşak TKİ başlanan hastalar, bir tanesi tedavinin 23. ayında pnömoni nedeniyle ölen hasta, dördüncüsü ise tedavinin 28. ayından takibinin sonlandırıldığı 40. aya kadar kendi isteği ile imatinib kullanmayan bir hasta idi. Çalışma sonunda 800 mg/gün imatinib kullanan hastamız bulunmamaktaydı. Çalışma süresi içerisinde 800 mg/gün imatinib dozu ile takip edilen 2 hasta takiplerinde tedavi rejimleri dasatinib ve nilotinib ile değiştirilmiş olan hastalardı.

Tablo 8. Takipte Elde Edilen Tam ve Major Moleküler Yanıt Oranları

Takip süresi (Ay)	Hasta sayısı (n)	Major + TMY n (%)	TMY n (%)
12	28	10 (40)	10 (40)
18	25	18 (72)	14 (56)
24	21	18 (85)	18 (85)
30	14	11 (78)	10 (71)
36	11	9 (81)	9 (81)

İmatinib mesilat tedavisi ile elde edilen tam hematolojik, parsiyel ve tam sitogenetik, tam ve major moleküler yanıt oranları grafik olarak Şekil 11’de verildi.

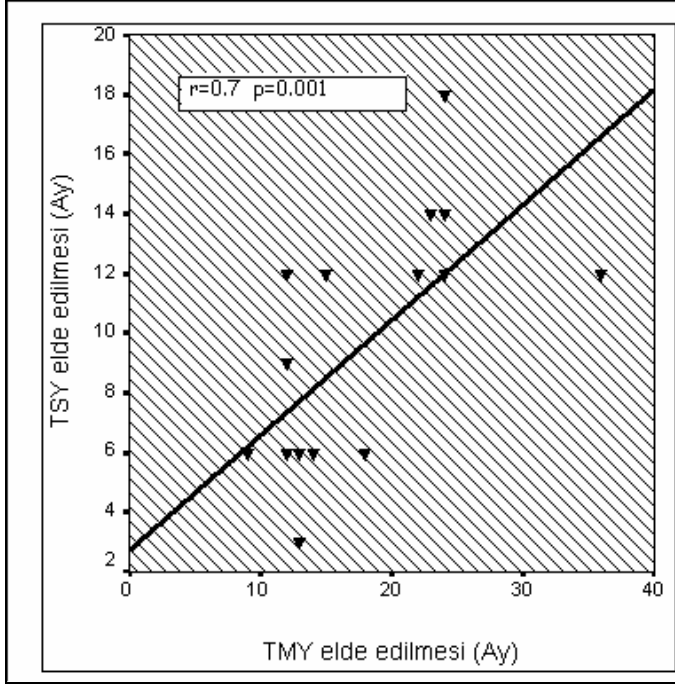


Şekil 11. Hastaların Aylara göre Hematolojik, Sitogenetik ve Moleküler Yanıt Oranları

Tedavinin 12. ayında TSY elde edilen hastalarda tedavinin 18. ayında TMY elde edilme oranlarının daha yüksek olduğu tespit edildi. TSY ve TMY elde zamanlarının arasında bir ilişkinin varlığı araştırıldı. Bu karşılaştırma sonucunda TSY ile TMY arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon olduğu tespit edildi ($P < 0.001$) (Şekil 12).

Yani erken dönemde TSY elde edilen hastalarda TMY elde edilme oranı daha yüksek bulundu. Bu korelasyon aynı hasta grubu ile hepatomegali, hastalığın sentez evreleme modeline göre evresi, sokal indeksine göre risk skoru ve diğer demonstratif

parametrelerle bakıldı. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon tespit edilemedi ($p>0.05$).



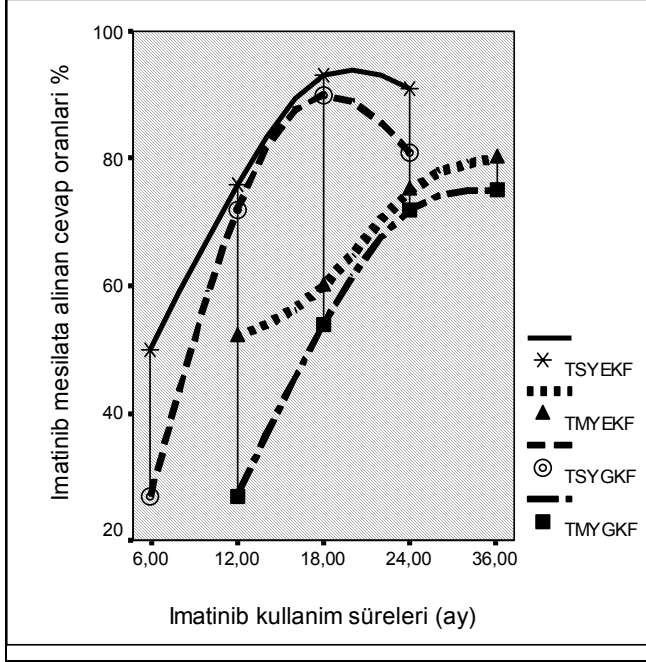
Şekil 12:TSY ve TMY Arasındaki Korelasyon

Hastaların başvuruındaki demografik özelliklerine göre, tedavi ile elde edilen sitogenetik ve moleküler yanıt oranları, hasta sayıları ile birlikte Tablo 9’da verildi.

Tablo 9. Hastaların Başvuru Esnasındaki Demografik Özellikleri ve Tedavi ile Alınan Sitogenetik ve Moleküler Yanıt Oranları

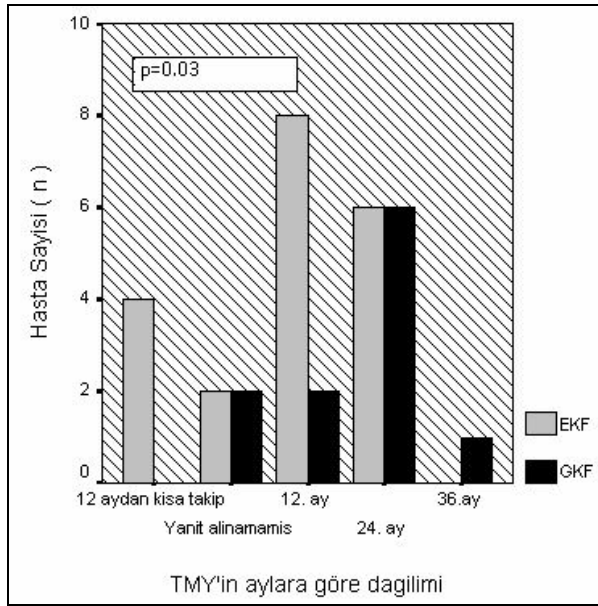
	12. Ayda Parsiyel + Tam SY n (%)	18. Ayda Parsiyel + Tam SY n (%)	18. Ayda Major + Tam MY n (%)	24. Ayda Tam MY n (%)	36. ayda Tam MY n (%)
Yanıt alınan hasta/ Takipteki hasta sayısı (yanıt oranı)	25/28 (% 78)	22/25 (% 88)	18/25 (% 72)	18/21 (% 85)	9/11 (% 81)
Cinsiyet					
Bayan	14/17(87)	12/14 (85)	11/14 (78)	10/10 (100)	5/6 (83)
Erkek	8/11 (72)	9/11 (81)	5/11 (45)	8/10 (80)	4 /5 (80)
Yaş					
≤ 50	12/15 (80)	12/15 (80)	12/15 (80)	11/14 (78)	8/9 (88)
>50	10/13 (76)	10/10 (100)	6/10 (60)	7/7 (100)	1/2 (50)
Splenomegali					
> 2 cm	9/11 (81)	8/9 (88)	8/9 (88)	8/8 (100)	5/5 (100)
≤ 2 cm	13/17 (76)	14/16 87)	13 /16 (81)	10/13 (76)	4/6 (66)
Lökosit sayısı					
< 50x 10 ⁶	6/8 (75)	6/7 (85)	4/7 (57)	4/6 (66)	3/4 (75)
≥50x 10 ⁶	16/20 (80)	16/18 (88)	14/18 (77)	14/15 (93)	6/7 (85)
Başvurudaki Hb düzeyi					
< 12 g/dl	13/16 (82)	13/15 (86)	12/15 (80)	9/11 (81)	6/7 (85)
≥ 12 g/dl	9/12 (75)	9/10 (90)	6/10 (60)	9/10(90)	3/4 (75)
Plt x 10⁹					
≤ 450	12/16 (75)	13/15 (86)	11/15 (73)	10/13 (76)	5/7 (71)
> 450	10/12 (83)	9/10 (90)	7 /10 (70)	8/8 (100)	4/4 (100)
Erken/Geç Kronik faz KML					
Erken KF KML	13/17 (76)	12/15 (80)	13/15 (86)	11/12 (91)	5/6 (83)
Geç KF KML	9/11 (81)	10/10 (100)	5/10 (50)	7/9 (77)	4/5 (80)
EKF KML hastalarında Hidroksiüre ile tedavi					
Hidroksiüre alan	5/5 (100)	5/5(100)	2/5 (40)	3/5 (60)	3/4 (75)
Hidroksiüre almayan	4/6 (66)	5/5 (100)	3/5 (60)	4/4 (100)	1/1 (100)

Tedavinin 18. ayında EKF grubunda TMY+MMY yanıt oranı % 91 iken bu oran GKF grubunda % 50 olarak bulundu. Tedavinin 24. ay takiplerinde EKF grubunda TMY oranı % 91 iken bu oran GKF grubunda % 77 idi (Şekil 13)



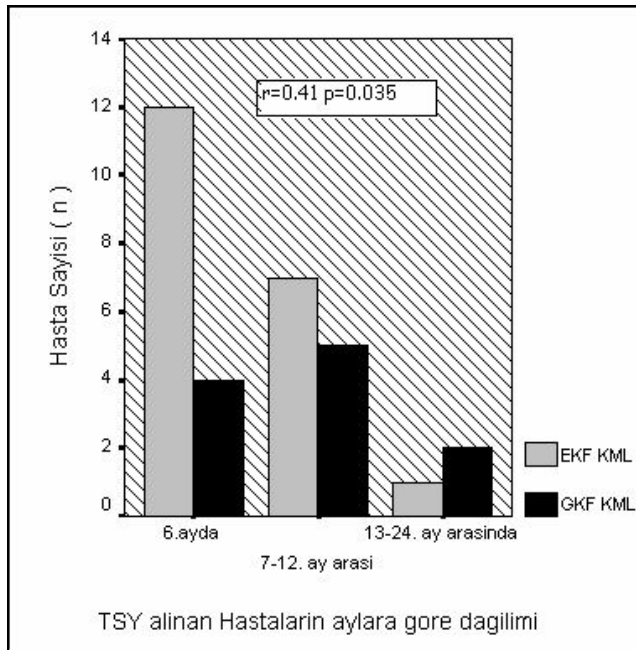
Şekil 13. EKF – KML ve GKF – KML Hasta Gruplarında İmatinib İle Elde Edilen Tam Sitogenetik Ve Moleküler Cevap Oranları. TSY: Tam Sitogenetik yanıt, TMY: Tam moleküler yanıt, EKF: Erken kronik faz, GKF: Geç kronik faz

TMY oranları EKF ve GKF hastalar arasında karşılaştırdı. Yapılan karşılaştırmada EKF hastalarda TMY'nin daha erken sağlandığı ve bu oranın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p=0.03$) (Şekil 14).



Şekil 14. TMY Elde Edilme Zamanı ile KML Hastalarının Fazı Arasındaki İlişki

EKF ve GKF hastalarında tedavi ile TSY elde edilen hasta sayılarının aylara göre dağılımına bakıldığında EKF hastalarında TSY'nin GKF hastalarına göre anlamlı oranda daha erken elde edildiği görüldü. Yapılan korelasyon analizinde hastaların fazı ile TSY elde edilme süresi arasında pozitif bir korelasyon tespit edildi ($r=0.41$, $p=0.035$) (Şekil 15)

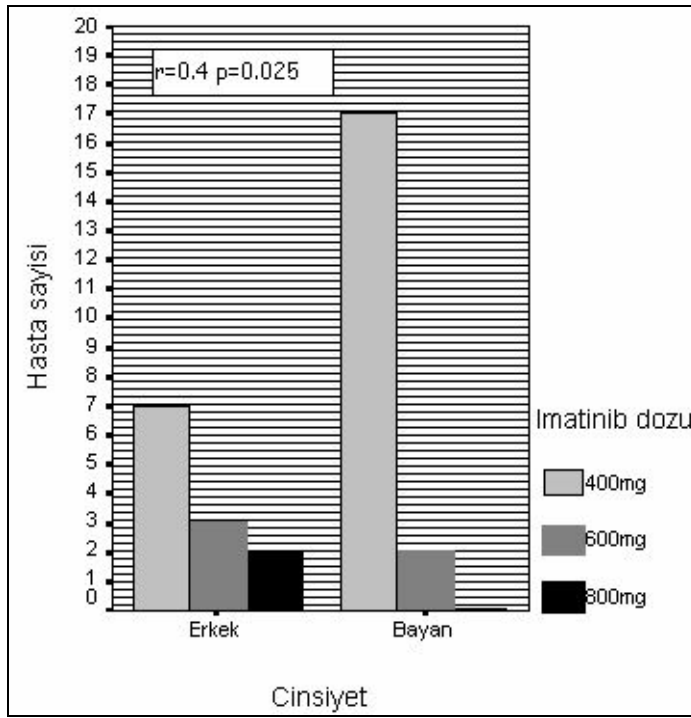


Şekil 15. EKF - KML, GKF - KML de TSY Zaman ilişkisi

İmatinib tedavisi altında ortalama 27.9 ay olmak üzere ortalama 40.9 aylık takip süresince hastaların hiç birisinde blastik yada akselere faza geçiş tespit edilmedi.

Çalışma sonlandırıldığında hastalar ortalama 27.9 ay imatinib tedavisi altında takip edilmişti. Çalışmaya alınan 31 hastandan bir tanesi 23. ayında pnömoni nedeniyle (18. ayda moleküler cevaplı) öldü.

Hastaların cinsiyetleri ile son kullanmakta oldukları ilaç dozları arasında bir iliki olup olmadığı araştırıldığında yüksek doz imatinib (600-800 mg/gün) kullanan hastalar içerisinde erkeklerin oranın kadınlardan fazla olduğu tespit edildi. Yapılan istatistiksel analizlerde erkek cinsiyet ile yüksek doz imatinib kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulundu ($r=0.4$, $p=0.025$) (Şekil 16).

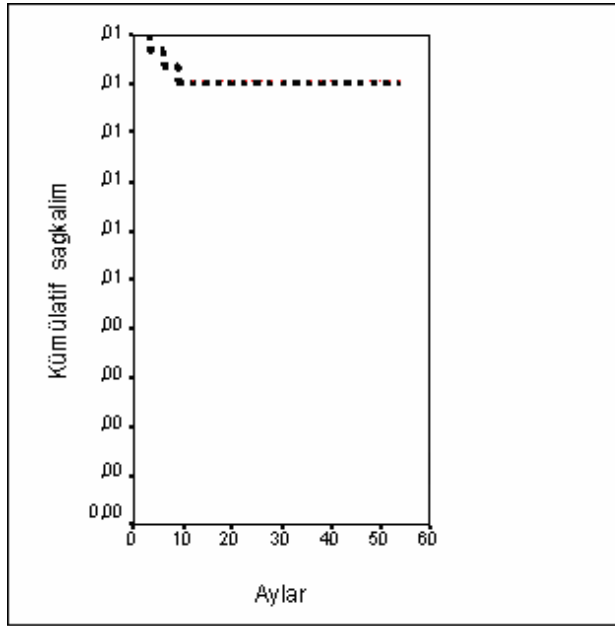


Şekil 16. Cinsiyet ile Kullanılan İmatinib Dozu Arasındaki İlişki

Bir hasta tam sitogenetik ve moleküler yanıt alındıktan sonraki takip döneminde hastalığı kabullenme ile ilgili psikiatrik sorunları nedeni ile ilacını bir yıl süreyle tavsiye edilmesine rağmen kullanmadı. Bu hastanın imatinib başlandıktan sonraki takip süresi 40 ay olup bu dönemin son 12 ayında hiç ilaç kullanmamıştı. Bu hastanın son kontrolünde daha önceden elde edilen tam hematolojik ve TSY'ların halen korunduğu

görüldü. Hastanın son kontrolünde ilaç kullanmaması nedeniyle moleküler yanıt araştırılmadı.

Hastaların 12 aylık takip sonrası elde edilen verilerine göre yapılan istatistiksel analizlerde 5 yıllık HS ve GS tahimini % 96.7 olarak hesaplandı. Yine bu dönemdeki veriler kullanılarak yapılan hesaplamalara göre 5 yıllık TSY oranı % 90.3 (Şekil 17) ve TMY oranı % 70.9 olarak hesaplandı.



Şekil 17. Birinci Yılda Elde Edilen Verilere Göre Hastaların Genel ve Hastalısız Sağkalım Oranları

5. TARTIŞMA

Kronik myeloid lösemi (KML) spesifik sitogenetik anomalisi Ph kromozomu olan myeloproliferatif bir hastalıktır. KML tedavisinde zaman içerisinde büyük değişiklikler olmuştur. Tedaviye sitoredüktif ajanlarla başlanmış (HU, busulfan), daha sonra biyolojik yanıt düzenleyici ilaçlar (IFN) ve sinyal iletimi blokajı ile etki eden ilaçlarla (imatinib, dasatinib, nilotinib) devam edilmiştir. Bu gelişim ve dönüşüm sürecinde küratif tedavi olarak kabul edilen allogenik kök hücre transplantasyonu, özellikle ileri yaşlı ve komorbiditesi olan hastalar başta olmak üzere, yüksek mortalite nedeni ile kısıtlı olarak uygulanabilmiştir. İmatinibin uygulama alanına girmesi KML’de tedavi algoritmasını değiştirmiştir. İmatinibin uygulanmakta olan diğer tedavilere nazaran daha az toksisiteye ve daha yüksek etkinliğe sahip olduğu IRIS çalışmasının 18 ve 60 aylık sonuçları ile net bir şekilde ortaya konmuştur (4,5).

İmatinib mesilat bir 2-fenilaminopürimidin bileşiğidir. Preklinik çalışmalarda “Break point cluster region/Abelson murine leukemia” (BCR-ABL) pozitif kolonilerin çoğalmasında % 92 - 98 baskılama sağlarken normal kolonilerde herhangi bir inhibisyon yapmamıştır. Bu gözlem sonrasında BCR-ABL pozitif lösemilerin tedavisinde potansiyel etkileri olabileceği düşünülmüştür. İmatinib; BCR- ABL ve ABL inhibisyonunun yanında ABL ilişkili ARG proteinine ve protein tirozin kinaz reseptörleri olan PDGFR α , PDGFR β ve C-KIT’e karşı da afinite göstermektedir (63). İmatinibin etkin doz aralığının belirlendiği faz I çalışmasından sonra kronik fazda interferon alfa ile yeterli cevap alınamayan 532 KML tanılı hastanın alındığı faz II çalışmasında 400 mg /gün dozu ile hastaların % 60’ında MSY, % 41’inde TSY elde edildiği, 18 aylık takip sonunda ise hastaların % 95’inin halen yaşamakta olduğu ve % 89’unun ise halen kronik fazda olduğu rapor edilmiştir. İmatinibin Faz II çalışmasında etkinliğinin gösterilmesi üzerine çok merkezli, prospektif, açık uçlu, randomize bir faz III çalışması olan IRIS çalışmasında imatinib mesilat ile interferon alfa + cytarabine (IFN + CYT) karşılaştırılmıştır (64).

IRIS çalışmasına 2000 Haziran ile 2001 Ocak arasında başlanmıştır. Çalışmaya; alınan hastalar 18-70 yaş aralığında, Ph pozitif geç kronik faz (GKF) KML tanısı olan hastalar arasından seçilmiştir. Çalışmaya toplam 1106 hasta alınmış olup, bu hastalar iki gruba randomize edilmiştir. Çalışmaya alınan hastalar imatinib veya interferon +

cytarabine gruplarına randomize edilmişlerdir. Her iki gruba randomize edilen hasta sayısı 553'tür. Çalışmanın imatinib koluna randomize edilen 553 hastaya imatinib mesilat 400 mg/gün oral başlanmıştır. Çalışmanın diğer koluna ise interferon alfa + düşük doz cytarabine kombinasyon tedavisi başlanmıştır. İnterferon alfa tedavisi düşük dozlardan başlanıp 5.000.000 U/vucut yüzey alanı (m²) olana kadar veya grade 3 veya 4 toksisite ortaya çıkana kadar doz titrasyonu yapılmıştır. Maksimal doz interferona ulaştıktan sonra düşük doz cytarabine (20 mg/m², maksimum 40 mg/gün) eklenmiştir. Çalışmanın her iki kolu arasında geçişlere izin verilmiştir. İmatinib kolundaki hasta grubunda 3. ayda hematolojik yanıt ya da 12. ayda kemik iliğinde % 65'ten fazla Ph (+) hücre bulunması halinde tolere edilebilen maksimum doza kadar kademeli olarak imatinib dozu arttırılmıştır. Yine bu gruptaki hastalarda relaps, 6 ay içerisinde major sitogenetik yanıt alınamaması halinde hastalara çalışmanın diğer koluna geçmesi önerilmiştir.

Çalışmada primer sonlanım noktası olaysız sağkalım olarak kabul edilirken ikincil sonlanım noktası ise; tam hematolojik yanıt (THY), kemik iliğinde sitogenetik yanıt alınması (tam, parsiyel, major), genel sağkalım, akselere faza geçiş veya blastik kriz, güvenilirlik, tolerabilite olarak alınmıştır. Moleküler yanıtlar THY alındıktan sonra 3 ayda bir değerlendirilmiştir.

Çalışmanın 18. ayında interferon grubundaki hastaların % 57'si imatinib koluna geçmişlerdir. IFN + CYT kolundan imatinib koluna geçme sebeplerinin başında tedaviye intolerans (% 42), 6 ay içerisinde hematolojik yanıt alınamaması (% 12), 12 ay içerisinde sitogenetik yanıt alınamaması (% 16.6), hastalığın progresyonu (% 13), ilaç yan etkileri (% 18) gibi sebepler rapor edilmiştir. Çalışmanın 18. ay sonuçlarına göre IFN + CYT kolundaki hastalardan 159 (% 28.8) tanesine cytarabine verilememiştir. IFN alan hastaların ortalama IFN dozu 4.8 MU/gün ve IFN kürü sayısı ortalama 4 (1 - 23) olarak bildirilmiştir. İmatinib kolundaki hastalarda en sık ortaya çıkan yan etkileri olarak, ödem % 55, bulantı % 43, kas krampları % 38, döküntü % 36, halsizlik % 34, ishal ise % 32 olguda bildirilmiştir. Hematolojik grade 3 – 4 düzeyde yan etkiler arasında anemi % 3, nötropeni % 14, trombositopeni % 7.8 olarak bildirilmiştir. İmatinib kolunda ilaç dozu ortalama 400 mg/gün (114 - 732) olarak bildirilmiştir.

Çalışmanın 18 aylık sonuçlarında imatinib kolunda THY oranı % 95.3 ve THY elde edilme süresi ortalama 1 ay iken IFN + CYT kolunda THY oranı % 55.5 ve THY elde edilme süresi ise ortalama 2.5 ay olarak bildirilmiştir. İmatinib kolunda MSY oranı % 85.2 iken IFN + CYT kolunda ise % 22.1 olarak bildirilmiştir. İmatinib kolunda bulunan hastalar Sokal skorlamasına göre orta ve yüksek risk skorlu olarak gruplandırıldığında 18. aylık tedavi ile elde edilen MSY oranları % 69 ve % 56 olarak bildirilmiştir. Çalışmanın 18 aylık döneminde IFN + CYT kolundan imatinib koluna geçen 318 hastanın % 82.4'ünde THY ve % 55.7'sinde MSY alındığı bildirilmiştir.

Çalışmanın 5 yıllık sonuçları 2006 Ocak ayında açıklanmıştır. 5 yıl sonunda interferon grubundaki hastaların % 65'inin imatinib grubuna geçtiği, grup değiştirmedeki hasta kökenli en büyük nedenin IFN + CYT tedavisine intoleransın 144 (% 26) olduğu rapor edilmiştir. Bu koldaki 90 (% 16) hasta tedavi ile tam hematolojik veya major sitogenetik yanıt alınamadığından, 77 (% 14) hasta ise hastalıklarında progresyon gözlemlendiği için imatinib koluna geçmişlerdir. IFN + CYT kolundaki 178 (% 32) hasta kendi isteğiyle çalışmadan ayrılırken imatinib kolundan 157 (% 28) hastanın çalışmayı kendi isteği ile bıraktığı bildirilmiştir. İmatinib kolundaki hastaların % 69'unun 5 yıl sonunda halen imatinib kolunda tedaviye devam ettiği bildirilmiştir. 5 yıl sonunda IFN + CYT kolunda 16 hasta takip edildiği bildirilmiştir. İmatinib kullanımı ile ortaya çıkan yan etkilerin oranları çalışmanın 18 aylık sonuçlarına benzer oranlarda bildirilmiştir. İmatinib ile ortaya çıkan grade 3 - 4 hematolojik yan etkilerin çoğunlukla ilk iki yılda ortaya çıktığı takip eden 3. ve 4. yıllarda ortaya çıkan hematolojik yan etkilerin % 1 - 3 arasında olduğu bildirilmiştir. İmatinib ile tedavi edilen grupta ortalama ilaç dozu 382 mg/gün iken hastaların % 82'sinin son kontrolde 400 mg/gün ilaç aldığı raporlanmıştır.

Çalışmanın 5 yıllık sonuçlarında imatinibin etkinliği ile ilgili olarak; THY oranı % 96, MSY oranı % 89, TSY oranı % 82 olarak bildirilmiştir. IFN + CYT grubunda takip edilen hasta sayısı yetersiz olduğundan çalışmanın bu kolundaki hastalarda alınan sonuçlara değinilmemiştir. İmatinib kolundaki hastalardan 124 tanesinde 1. ve 4. yıllarda moleküler yanıt araştırılmış ve birinci yılda % 53 olan major moleküler yanıt (MMY) oranının 4. yıl sonunda % 80 olduğu tespit edilmiştir. Sokal skorlamasının TSY

alınan hastalarda hastalığın progreyonuna yönelik bilgi vermediği yorumu yapılmıştır (5).

Bu çalışmanın 7 yıllık sonuçlarının güncellenmesinde; çalışmaya halen 554 hastanın devam ettiği (% 50) ve bu hastalardan 545'inin (% 98.4) imatinib kolunda olup 9 hastanın (% 1.6) halen IFN + CYT koluna devam ettiği bildirilmiştir. Takip edilmekte olan 554 hastanın 213'ü IFN + CYT kolundan imatinib koluna geçen hastalardan oluştuğu bildirilmiştir (5,65).

7 yıllık sonuçlara göre genel sağkalım % 86 iken KML ilişkili sağkalım 7 yıl sonunda % 94 olarak rapor edilmiştir. Yine 7 yıllık olaysız sağkalım % 81, akselere veya blastik kriz gerçekleşmeme ihtimali % 93 olarak rapor edilmiştir. 7 yıl içerisinde TSY elde edilen 456 hastanın 15'inde (% 3) hastalığın akselere faza veya blastik faza ilerlediği, 10 hastanın ise KML nedeniyle öldüğü rapor edilmiştir. Bu çalışmada progresyon gösteren ve ölen hasta sayısı ile TSY elde edilmesinden sonra geçen süre arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki bulunduğu; yani TSY elde edildikten sonra geçen süre ne kadar uzun ise hastalığın progresyon gösterme ihtimalinin o kadar düşük olduğu rapor edilmiştir. Bu nedenle elde edilen sitogenetik yanıtın kalıcılığı oranında iyi prognoza işaret etmekte olduğu yorumu yapılmıştır. Benzer olarak imatinib tedavisinin süresi ile orantılı olarak elde edilen major ve TMY oranlarının da arttığı rapor edilmiştir (5, 65).

Bizim çalışmamızda da imatinib mesilat başlandıktan sonraki süre arttıkça TMY oranlarında arttığını tespit ettik. Hastaların 12. aydaki TSY ve TMY oranları sırasıyla % 70 ve % 39 iken bu değerler 24. ayda yine sırasıyla % 85 ve % 90'a yükseldi. Hastalarımızda 36 aylık takibe ulaşanlarda TMY oranı % 81 olarak bulundu. IRIS çalışmasında moleküler yanıt takibi yapılan 124 hastanın 48 aylık takip sonunda TMY + MMY oranı % 80 olarak bildirilmiştir. Bizim 36. ay TMY + MMY oranımız % 90 olarak bulundu. Bu sonuçlar IRIS çalışmasında elde edilen sonuçlarla uyumlu idi (5).

IRIS çalışmasına dahil edilen hastalarda en sık gözlenen yan etkinin ödem (% 60) olduğu, bunu kas krampları, ishal, bulantı, kas iskelet sistemi ağrılarının ve cilt şikayetlerinin takip ettiği, grade 3 veya 4 düzeyinde nötropenin % 17,

trombositopeninin % 9, aneminin % 4 olduğu, bir hastada konjestif kalp yetmezliği geliştiği bildirilmiştir (5).

Bizim hasta grubumuzda da görülen yan etkilerin oranları IRIS çalışmasındaki yan etki oranlarına benzerlik göstermekteydi ancak bu durumun aksine hastalarımızın hiç birisinde grade 3 veya 4 düzeyinde hematolojik yan etki görülmedi. Bunun nedeninin sadece hasta sayımızın azlığı ile açıklamak mümkün olmamaktadır. Çünkü hematolojik yan etkiler diğer çalışmalarda da % 10 - 20 civarında görülmüştür. Bu oranlar bizim hastalarımıza uyarlandığında 3 ila 6 hastada hematolojik yan etki görülmesi gerekirdi. Hastalarımızdaki düşük hematolojik yan etki oranlarının muhtemel genetik farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

IRIS çalışmasının imatinib kolunda tüm hastalarda ortalama bir ay içerisinde THY elde edildiği bildirilmiştir. Çalışmamızda da tedavinin 2. ayında tüm hastalarda THY tespit edildi. Çalışmamızın 12. ayında TSY oranı % 71 olup bu oran 18. ayda % 88 idi. IRIS çalışmasının 18 aylık sonuçlarındaki major sitogeneitik yanıt (MSY) oranı % 85, tam sitogenetik yanıt (TSY) oranının ise % 69 olduğu bildirilmiştir. IRIS çalışmasında 4. yıl sonunda moleküler yanıt araştırması yapılan hastaların % 80'inde MMY elde edildiği bildirilmiştir. Çalışmamızın 36. ayında hastaların % 90'ında tam moleküler yanıt (TMY) elde edildi. Hasta sayımız yetersiz olduğundan yeterli bir karşılaştırma yapılamamış olsa da elde ettiğimiz sonuçlar IRIS çalışmasının sonuçları ile uyumludur.

Yanmin ve ark. (66) tarafından, retrospektif olarak 2003 ile 2008 yılları arasında yapılan ve 116 KML'li hastayı kapsayan çalışmada; çalışmaya alınan hastaların 102 (% 87.9)'sinin kronik fazda, geri kalan 14'ünün ise akselere fazda oldukları, hastaların ortalama takip süresinin 39 ay, erkek:kadın oranının ise 2.4 olduğu bildirilmiştir. Hastaların sadece 40 tanesi imatinibi ilk tedavi olarak almaktayken, geriye kalan hastaların imatinib öncesi KML tanısı ile takip edilme sürelerinin ise ortalama 9 ay olduğu rapor edilmiştir. Kronik fazdaki 96 hastanın % 94.1'inde 3 ay sonunda THY alındığı, hastaların % 69.6'sında TSY alındığı, % 54.9'unda TMY alındığı rapor edilmiştir. Çalışmanın 12. ayında elde edilen TSY oranının % 47.9 olduğu bildirilmiştir. Çalışmaya alınan akselere fazdaki 14 KML hastasının % 85'inde THY, % 35'inde TSY ve % 28.6'sında TMY alındığı bildirilmiştir. Erken kronik faz (EKF)'daki hastalarda

TSY'nin oranı % 78.4 iken geç kornik faz (GKF)'daki hastalarda ise % 35.7 olduğu bildirilmiştir. Karyotip incelemesi yapılmış ve varyant Ph kromozomu taşıyan hastalarda TSY oranı % 20 olarak rapor edilmiştir. İmatinib kullanımı ile ortaya çıkan en sık yan etki hipopigmentasyon olarak bildirilmiştir. Bunu gastrointestinal semptomlar (% 35), ödem (% 25), halsizlik (% 22), kas kramplarının (% 10) takip ettiği bildirilmiştir. Grade 3 - 4 düzeyinde hematolojik yan etki olarak; aneminin % 4.3, nötropeninin % 17, trombositopeninin % 22 olduğu bildirilmiştir. 5 yıllık sağ kalım ise % 74.3 olduğu bildirilmiştir. Prognostik faktörler olarak hastalığın fazı, TSY elde edilememesi, tanı ile imatinib tedavisi arasında geçen süre bildirilmiştir.

Çalışmamızın sonuçları ile Yanmin ve arkadaşlarının yapmış oldukları bu çalışmayı karşılaştırdığımızda; bizim çalışmada akselere fazda hasta olmadığından çalışmamızın sonlandırıldığı dönemde elde edilen TSY ve TMY oranlarının % 88 ve % 90 olduğu, bu oranların Yanmin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada elde edilen TSY oranından daha yüksek olduğu tespit edildi. Bu çalışmada EKF hastalarında daha yüksek oranlarda TSY elde edildiği rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda da EKF hastalarında GKF'lı hastalara oranla daha erken ve daha yüksek oranda TSY ve TMY elde edildi. Bizim çalışmamızdan farklı olarak Yanmin ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada en sık görülen yan etkinin hipopigmentasyon olduğu, grade 3 - 4 hematolojik yan etki sıklığının % 20 gibi oldukça yüksek oranda olduğu bildirilmiştir. Çalışmada elde edilen ilaç etkinliği ve yan etki profilinin bizim çalışmamızdan farklı olmasının sebepleri arasında öncelikli olarak asya ırkında imatinibin hematolojik yan etkilerinin daha yüksek oranda görülüyor olması, bu çalışmaya alınan hastaların arasından risk skorlamasında daha yüksek riskli hastaların olması ve yapılan karyotipik incelemede görüldüğü üzere klonal evrim geçiren hastaların bulunması sayılabilir. Yazarlar imatinib ile elde edilen yanıt oranlarının düşük olmasının bir nedeninin de imatinibin hastalarına geç ulaşımı olduğunu vurgulamışlardır.

KML hastalarında imatinib direncinin moleküler temelini tespiti; prognostik bilgi olarak ve direncin üstesinden gelmek üzere uygun tedaviyi tanımlamak açısından önemlidir (67). Ph kromozomu pozitif KML hastalarında sekonder imatinib direncinin majör nedeni olarak; BCR-ABL ile imatinib bağlanmasına zarar veren kinaz bölge mutasyonları gösterilmektedir (68).

Palandri F. ve ark (69) tarafından; Haziran 2000 ile Temmuz 2001 tarihleri arasında yapılan iki farklı çalışmaya alınan 115 GKF ve 54 EKF hastasının ortalama 60 ay (30 - 77) takip edildiği, hastalara 3- 6 ay aralıklarla moleküler cevap değerlendirmesi yapıldığı, çalışmada değerlendirilen hastaların tamamında imatinib tedavisi altında TSY elde edildiği bildirilmiştir. EKF hastalarında tedavinin 12. ayında % 75 olan TMY/MMY'nin 60. ayda % 98 olduğu bildirilmiştir. GKF hastalarında ise 36. ayda % 70 olan TMY/MMY'nin 60. ayda % 75 olduğu bildirilmiştir. Çalışmanın sonunda EKF hastalarında GKF hastalarına göre daha erken ve daha yüksek oranlarda moleküler yanıt alındığı, EKF hastalarında elde edilen moleküler yanıtın GKF hastalarına göre daha kalıcı olduğu bildirilmiştir.

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da yukarıdaki verilere benzer olarak EKF'li hastaların GKF'li hastalara göre daha erken ve daha yüksek oranda sitogenetik ve moleküler cevap elde edildi. Hasta sayımızın ilerleyen takip döneminde az olması nedeniyle elde edilen yanıtların kalıcılığı istatistiksel olarak karşılaştırmadı. Ancak tedavinin 24. aya ulaşan hastalara baktığımızda TMY oranının EKF'li hastalarda % 91 iken GKF'li hastalarda % 77 olduğu görüldü. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar Palandri ve ark. elde ettiği sonuçları desteklemektedir.

Nannya Y. ve arkadaşları (70) çalışmalarına; 17 erkek, 18 kadın toplam 33 hastayı aldıklarını, hastalarının 29'unun kronik fazda, birinin akselere fazda 3'ünün de blastik fazda olduklarını, takip süresinin ortalama 1.163 gün olduğunu rapor etmişlerdir. Hastaların tamamının EKF da çalışmaya alındığı, hastaların tümünde ortalama 28 gün (7 – 80 gün) sonunda THY sağlandığı, parsiyel SY'nin ortalama 105 gün (70 -259), TSY'nin ortalama 165 (77 - 1,152 gün) gün sonunda elde edildiği bildirilmiştir. Bir yıl sonunda hastaların % 82'sinde, iki yıl sonunda ise % 93'ünde TSY elde edildiği, hastaların tam moleküler yanıt (TMY) oranlarının ise birinci ve ikinci yıl sonu itibarıyla % 20.8 ve % 50 olduğu, major moleküler yanıt (MMY) oranlarının % 45 ve % 71 olduğu rapor edilmiştir. Hastaların 14 (% 45)' ünde yan etki nedeniyle imatinib dozu geçici süreyle azaltılmak zorunda kalmıştır. Yan etki ortadan kalktıktan sonra haftalık doz titrasyonu ile takip edilen hastaların 2 tanesinde 100 mg/gün, 2 tanesinde 200 mg/Gün, 2 tanesinde ise 300 mg/gün dozun üzerine çıkılamamıştır. Geri kalan 8 hastada 400 mg/gün doza çıkılmıştır. Hastalarda görülen en sık yan etkinin nötropeni (% 57)

olduğu rapor edilmiştir. Kronik fazdaki hastalardan bir tanesinde takipte progresyon görüldüğü ve hastanın 475. günde öldüğü bildirilmiştir.

Hasta sayısı ve alt grupları kısmen de olsa bizim çalışmamızla benzerlik göstermesine rağmen Nanna Y ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada hastaların yaş ortalamaları 54 iken bizim çalışmamızda 48.9'du. Bu çalışmada erkek/bayan oranı 1.06 iken bizim çalışmamızda 0.63'tü. Çalışmanın 24 aylık verilerine göre MMY/TMY oranı % 71 olup bu değer bizim çalışmamızda % 95 olarak bulundu. 12 ve 24 aylık sitogenetik yanıt oranlarına bakıldığında ise Nannya Y ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada 12 ve 24 aylık TSY oranları % 82 ve % 93 olarak rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise 12 aylık TSY oranı % 78 idi. Bizim çalışmamızdaki TSY oranları bu çalışma ile benzer iken TMY oranlarımız bu çalışmadaki değerlerden yüksek bulunmuştur. Bu durum muhtemelen imatinibin yan etkileri nedeniyle bu çalışmaya alınan hastalarda ilacın etkin dozda kullanılmamış olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Nitekim bu çalışmaya alınan hastalardan doz azaltımı yapılan hastalar kendi içlerinde değerlendirildiğinde 300mg/gün altında imatinib kullanan hastalarda MMY oranı daha düşük bulunmuştur. Bu çalışmaya alınan hastalarda yan etki insidansı bizim çalışmamızda tespit ettiğimiz yan etki insidansından yüksek bulunmuştur. Bu yüksek yan etki oranı birkaç sebep nedeniyle ortaya çıkmış olabilir. Birincisi kısmen bu çalışmadaki hastaların ileri yaşı olması ve ileri yaşlarda ortaya çıkan metabolizmadaki yavaşlama. İkinci olarak bu durum etnik farklılıklardan kaynaklanabilecek nedenler, üçüncü olarak asya ırkından hastaların oluşturduğu bu çalışmada hastaların BMI değerlerinin bizim hastalardan düşük olduğu ve dolayısıyla plazma imatinib konsantrasyonlarının bizim hastalardan yüksek olabileceğini düşünmekteyiz.

Sugita J. ve arkadaşlarının (71) yapmış olduğu bir çalışma asya ırklarlarında imatinibin standart dozlarda daha yüksek yan etki ortaya çıkardığı yorumunu desteklemektedir. Bu çalışmada imatinib mesilat ile tedavi edilmekte olan 213 japon hasta retrospektif olarak incelenmiştir. Hastalardan 42 tanesinin imatinib dozu 300 - 400mg/gün, 44 tanesinin 200-300mg/gün, 22 tanesinin ise <200 mg/gün olduğu bildirilmiştir. Ortalama 300mg/gün ve üzerinde imatinib kullanan hastalarda TSY oranı % 94.8, 200-300mg/gün imatinib kullanan hastalarda ise TSY oranı % 78.6 ve 24 aylık takipte elde edilen TSY'nin korunma oranları sırasıyla % 95.6 ve % 81.3 olarak

bildirilmiştir. Bu çalışmada da bir önceki çalışmaya benzer olarak asya ırkında standart doz imatinib kullanımı ile batı ülkelerine göre daha yüksek oranlarda ilaç yan etkisi ortaya çıkmıştır. Ortaya çıkan yan etkiler nedeniyle imatinib standart dozda veya yüksek dozlarda kullanılamamış ve zaman içerisinde elde edilen TSY ve TMY kalıcılığını yitirmiştir. Asya ülkelerinde daha düşük dozlarda imatinib kullanımı ile batı ülkelerindekilerine benzer oranlarda TSY ve TMY elde edilmiş olması dikkat çekici bir noktadır. Bu durum asya ırkında BMI değerlerinin daha düşük olması ve dolayısıyla standart doz imatinib ile daha yüksek serum konsantrasyonlarının elde edilmesinden kaynaklanabilir.

Michael EO ve arkadaşlarının (72) yapmış oldukları çalışmaya; interferona dirençli 141 kronik faz KML'li hastayı aldıkları, hastaların ortalama yaşının 58 (19-80), hastaların erkek/bayan oranının 1.2/1, ortalama takip süresinin 15.9 ay olduğu, 6. ayda THY oranının % 95, 18. ayda % 98, 6, 12 ve 18. aylarda TSY oranlarının sırasıyla % 21, % 27, % 36 olduğu rapor edilmiştir. 18 aylık takipte hastaların % 14'ünde hematolojik relaps görülmüştür. Çalışmaya alınan hastalardan 22 tanesinde Ph kromozomuna ilave klonal evrim tespit edildiği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda 12 ve 18. aylarda TSY oranları % 71 ve % 88 idi. Bizim çalışmamızda elde edilen TSY ve THY oranlarının bu çalışmadaki oranlardan daha yüksek olmasının muhtemel sebepleri arasında; bu çalışmaya alınan hastaların yaş ortalamasının bizim hastalardan daha yüksek olması, bu çalışmaya alınan hastaların tamamının GKF hastalarından oluşuyor olması, bu çalışmaya alınan hastaların tamamının IFN'a dirençli hastalardan oluşuyor olması ve bu çalışmaya alınan hastaların % 15'inde çalışmanın başında klonal evrimin bulgularının tespit edilmiş olmasıdır.

Scerni ACC ve arkadaşlarının (73) yapmış olduğu bir çalışmada 2002 ve 2007 yılları arasında kronik faz KML tanısı ile takip edilen ve imatinibi, ikinci seri tedavi olarak alan 44 hasta değerlendirilmiştir. Bu hastalarda imatinib, interferon tedavisine dirençli veya interferona intoleransı olan hastalarda 400mg/gün dozunda kullanılmıştır. Hastalar EKF ve GKF olarak gruplandırılırken tanı ile imatinib tedavisi arasında geçen sürenin bir yıl olduğu bildirilmiştir. Çalışmaya yaşları ortalama 49 (22- 76) olan 18 erkek ve 26 bayan alındığı, hastaların 16 (% 37)'sının EKF grubunda, geriye kalan 28 (% 63)'inin GKF grubunda olduğu, MMY oranının % 31, MMY kalıcılığının ise

ortalama 26 ay olduğu rapor edilmiştir. Yine elde ettikleri verilerin istatistiksel analizlerinde EKF hastalarında MMY elde etme ihtimalinin % 60 iken GKF hastalarında ise bu değerin % 40 olduğu, MMY elde edilen EKF hastalarında 30 ay sonunda elde edilen MMY'ı koruma ihtimalinin % 80 iken GKF hastalarında ise bu ihtimalin % 44'e düştüğu bildirilmiştir. Brezilaya kökenli bu çalışmada hastaların tamamının IFN ile tedavi edilmiş olmasının nedeni 2008 yılı öncesinde Brezilya'da imatinibin KML'nin tedavisinde ilk seçenek olarak hükümet tarafından karşılanmaması olarak bildirilmiştir. Çalışmaya alınan hasalardaki düşük MMY oranı yazarlar tarafından tanı ile imatinib tedavisi arasında geçen sürenin artmış olmasına bağlanmıştır.

Scerni ACC ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada EKF hastalarında elde edilen MMY'ın GKF hastalarında elde edilen MMY'tan daha yüksek oranlarda olduğu ve daha kalıcı olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da EKF hastalarında GKF hastalarına göre daha erken ve daha yüksek oranda MMY/TMY elde edildi. Dolayısı ile Scerni ACC ve arkadaşlarının sonuçları ile bizim sonuçlarımız paralellik göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda genellikle EKF ve GKF hastalarında elde edilen yanıt oranlarının farklı olduğu ve EKF hastalarında daha yüksek yanıt oranlarının elde edildiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, bu iki grupta benzer yanıt oranlarının alındığını ve imatinib tedavisi sonrası bu iki grupta benzer sağ kalım oranlarının elde edildiğini bildiren bir çalışmada 99 hastanın takip edildiği, çalışmaya alınan GKF'li hastaların imatinib öncesi interferon veya hidroksiüre ile tedavi edildiği, çalışmada her iki grupta genel sağ kalım ve hastalıksız sağ kalım oranları arasında istatistiksel bir fark bulunmadığı bildirilmiştir. Ancak yazarlar bu çalışmada EKF ve GKF gruplandırmasında kullandıkları zaman sürecinden bahsetmemişlerdir (74).

Kantarjian H ve arkadaşlarının (75) yapmış oldukları bir çalışmaya 114 yeni tanı kronik faz KML hastası alındığı, hastaların yaş ortalamasının 48 (17-84) yıl olduğu, 50 hastanın imatinib öncesi IFN veya HU ile tedavi edildiği, hastaların 6 tanesinde sitogenetik evrimin çalışma öncesinde tespit edildiği bildirilmiştir. Hastaların ortalama takip süresinin 15 ay olduğu, hastalara imatinibin 400mg 2 x 1 dozunda başlandığı ve hematolojik yan etki takibi yapılarak gereğinde imatinib dozunun 600mg ve 400mg/gün olarak azaltıldığı, çalışma sonunda THY oranının % 98, MSY oranının % 96, TSY

oranının % 90 olduğu bildirilmiştir. Takibin 3. ayında hastaların % 52'sinde, 6. ayında ise % 82'sinde TSY elde edildiği bildirilmiştir. Sokal skoru yüksek olan hastaların daha düşük TSY oranlarına sahip oldukları ve yüksek doz imatinib ile standart doz imatinibe göre anlamlı olarak daha iyi TSY oranları elde edildiği bildirilmiştir. Bu çalışmada ayrıca yüksek doz imatinibin tolerable olduğu da vurgulanmıştır.

Kantarjian ve arkadaşlarının yapmış oldukları bu çalışmada hastaların yaklaşık olarak yarısının GKF hastalarından oluşması, çalışmanın başlangıç aşamasında 6 hastada klonal evrim bulunması gibi kötü prognoz işaretlerinin bulunmasına rağmen elde edilen TSY ve MSY oranları bizim çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerden daha yüksek bildirilmiştir. Bizim alışmamızda daha düşük yanıt oranlarının çalışma başında hastaların imatinib dozunun Kantarjian ve arkadaşlarının çalışmasındaki dozun yarısı olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bizim alışmamızda standart doz imatinib ile başlandı ancak primer veya sekonder direnç tespit edilen hastalara 2.kuşak TKİ ncesi imatinib dozu titre edilerek takip edildi. Yukarıdaki çalışmaya benzer olarak 400mg/gün imatinib ile TSY veya TMY elde edemediğimiz 5 hastada 600mg/gün imatinib ile TSY ve TMY elde edildi. Bu hastalarda elde edilen sonuçlar yukarıdaki çalışmayı desteklemektedir.

İmatinib tedavisinde 300 mg/gün üzerindeki dozlarda doz ile yanıt arasında bir korelasyon bulunmaktadır. Buna ilave olarak kronik fazdaki hastalardan standart doz ile cevap alınamayanların % 40 kadarında 800 mg/güne kadar olan doz artırımını ile cevap sağlanmaktadır (76, 77). Daha yüksek dozlarda yanıt alınan hastalarda muhtemel mutasyonlar ve ilave genetik anormallikler açısından genetik inceleme yapılması gerektiğini düşünüyoruz. Çünkü benzer çalışmalarda daha yüksek dozlarla yanıt elde edilen hastalarda 9. kromozom delesyonu gibi genetik anormallikler tespit edilmiştir (78). Hatta bazı çalışmalarda kronik faz KML hastalarında daha yüksek başlangıç imatinib dozları ile (rneğin 600 – 800 mg/gün) daha başarılı sonuçlar alındığı gösterilmiştir (75, 79).

İki hastamızda 800mg/gün imatinib kullanılmasına rağmen TSY veya TMY elde edilemedi. Bu durum yüksek doz imatinibin her zaman çözüm getiremeyeceğini göstermekte ve hangi hastada yüksek dozu ne kadar süre kullanmalıyız sorusunu akla getirmektedir. İmatinib direnci ve yüksek dozlarda imatinib kullanımının gerektiği

durumlar mutasyonların araştırılmasında endikasyon olarak kabul edilebilir bir kriter gibi görünmektedir. Birincil veya ikincil direnç RT-PCR yöntemi ile periferik kandan ölçülen seri BCR-ABL değerleri ile saptanabilir (80). RT-PCR yöntemi ile elde edilen seri BCR-ABL seviyelerinde 2 kat artış veya yarım log artışın daha yüksek relaps riskini ve kinaz domaininde mutasyonu işaret ettiği bildirilmiştir (67, 81).

Çalışmamızda hiçbir hastada takip süresince akselere veya blastik faza geçiş görülmedi. İlacı değiştirilen iki hastamızdan birincisinde TMY alınmadığından ve elde edilmiş olan minör sitogenetik yanıt kaybolduğundan, ikinci hastada ise elde edilen TMY'nin kaybedilmesi sonrası doz arttırımına rağmen tekrar TMY elde edilemediğinden 2. kuşak TKİ başlandı. Bizim hastalarımızda akselere veya blastik faza geçiş görülmemesi muhtemelen hasta sayısının az olması, takip süresinin erken kronik faz hastalarında bu progresyonun gözlenmesi için yeterli olmaması gibi nedenlerden kaynaklanabilir. Ancak hasta sayısı yüksek olan diğer çalışmalarda az da olsa takipteki ilk yıllardan itibaren akselere veya blastik faza geçiş görülmektedir (5 ,66, 82).

Sokal indeksi veya Hasford risk skalası imatinib öncesi dönemde KML hastalarında prognoz ve hastalığın progresyonu ile ilgili relatif bilgiler verse de imatinib sonrası dönemde bu kriterler (ileri yaş) (83) özellikle düşük risk gurupları için geçerliliğini yitirmiştir. Öncelikli olarak bizim hasta grubumuzda orta veya yüksek riskli hasta tespit edilememiştir. Bu nedenle bu skora yöntemleri ile istatistiksel analiz yapılamamıştır. Bu durum tanı yöntemlerindeki ilerlemeye paralel olarak hastaların çok daha erken fazlarda tanı alması ile açıklanabilir. Hastaların hepsi kronik fazda tanı almıştır. İmatinib tedavisi ile hastaların takibinde prognostik kriterler sitogenetik, moleküler yöntemler ile elde edilen mutasyonlar ve minimal rezidüe hastalık varlığı gibi kriterler olmuştur.

Ph kromozomuna ilave kromozomal anomalilerin Sokal skorlamasından daha yüksek prognostik önemi olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. Kromozom 9 ve 22'de ortaya çıkan ilave kırıkların ve mutasyonların prognostik öneme sahip olmasının dışında imatinib direnci açısından da oldukça önemli oldukları bildirilmiştir (83 - 85).

Richard ve arkadaşlarının (81) yapmış oldukları bir çalışmada; imatinib tedavisi altında TSY elde edilmiş 90 hastanın ortalama 41 ay takip edildiği, takipte 3 ayda bir

RT-PCT ile BCR/ABL tayini yapıldığı, hastaların % 22'sinde relaps tespit edildiği bildirilmiştir. Çalışma sonunda yorum olarak BCR-ABL RNA seviyelerinin ölçümünde mümkün olan en hassas yöntemlerle elde edilen en düşük değerin daha yüksek prognostik değere sahip olduğu vurgulanmıştır. TMY elde edilen hastaların MMY elde edilip TMY elde edilemeyen hastalara göre 11 kat daha düşük relaps riskine sahip oldukları da vurgulanmış, dolayısıyla RT-PCR yöntemiyle elde edilen seri ölçümlerin sadece relaps riski hakkında değil elde edilen yanıtın kalıcılığı ile ilgili prognostik bilgi verebileceği yorumu yapılmıştır.

Kronik faz KML hastalarında ilacın kesilmesi durumunda nasıl sonuçlar alınacağı konusunda pek fazla bilgi bulunmayıp genellikle yorum yapılmaktadır. Bu duruma açıklık getirebilecek bir çalışma da; hematolojik yan etki veya diğer yan etkilerden dolayı ilaç kullanımına ara verilmesi gereken 12 hastanın retrospektif olarak incelendiği, hastaların tamamının iyi veya orta prognostik skorlarda olduğu, ortalama 30.3 aylık takiplerinde hastaların 3 tanesinde 1 - 3gün/hafta dozun sitogenetik cevabın korunması için yeterli olduğu 5 hastada intermitan imatinib tedavisi ile sitogenetik yanıtta iyileşme olduğu, genel olarak 12 hastanın 2 sinde TSY 5 tanesinde ise parsiyel sitogenetik yanıt elde edildiği, bir hastada ise hematolojik progresyon gözlemlendiği, bir hastada da klonal evrim tespit edildiği rapor edilmiştir (86).

Bir hastamız tedaviye uyumsuzluk nedeniyle THY ve TSY elde edildikten sonraki takip döneminde bir yıl süreyle ilaç kullanmamıştı. Ancak bir yıl sonunda ilaç kullanılmamasına rağmen elde edilen hematolojik ve sitogenetik yanıt devam etmekteydi. Bu durum acaba tam moleküler ve/veya sitogenetik yanıt elde edilen stabil hastalarda ilaç kullanımına daha ne kadar devam edilmeli sorusunu aklımıza getirmektedir. Daha önce yayımlanan yayınlarda sitogenetik ve/veya moleküler yanıt alınmış hastalarda ilacın kesilmesine ilişkin herhangi bir öneri bulunmazken kesilmemesine yönelik yorum ve öneriler bulunmaktadır (64, 79, 87 - 89). Bu yayınlarda tam sitogenetik veya moleküler yanıt alınmış olsa da tespit edilemeyecek düzeylerde BCR-ABL transkripsiyonunun devam ettiği, imatinibin malign klonu tamamen ortadan kaldıramadığı dolayısı ile relapsların görüleceği yorumu yapılmaktadır. Bizim bir hastamızda ilaç kullanılmamasına rağmen takipte relaps

olmaması TSY veya TMY elde edildikten sonra ilacın kesilebileceği yorumunu yaptırmamaktadır.

Shorbagı AB (90)'nin uzmanlık tezi olarak yaptığı çalışmaya 172 KML hastası alınmış ancak, hastalardan sadece 48'i çalışma dönemi içerisinde imatinib ile tedavi edilmiştir. Bu 48 hastadan 30'unun GKF hastaları iken 18'inin EKF hastaları olduğu, hastaların erkek/kadın oranının: 1/1.4, hastaların yaş ortalamasının 44 yıl, hastaların 38'inin kronik fazda, 8'inin akselere fazda ve 2'sinin blastik fazda takip edildiği bildirilmiştir. İmatinib ile takip edilme süreleri kronik faz hastalarında 13.4 (1 - 60) akselere faz hastalarında 14.7 blastik faz hastalarında 6.3 ay olarak bildirilmiştir. Hastaların imatinib ile tedavi sürelisi sonunda kronik faz KML hastalarının TSY oranı % 54.5 MMY oranı % 48.5 olarak bildirilmiştir. İmatinib kullanımı ile ortaya çıkan yan etkiler genellikle non-hematolojik ve tolerable olarak bildirilmiştir. Grade 3 - 4 düzeyinde yan etkiler hastaların % 4'ten azında bildirilirken, en sık bildirilen yan etki her çalışmada olduğu gibi ödem olarak raporlanmıştır.

Shorbagı AB (90)'nin bu çalışmasında cinsiyet, yan etki, bir yıllık süre sonunda alınan sitogenetik ve moleküler yanıt oranlarının bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara paralel olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak; elde ettiğimiz sonuçların literatür ile karşılaştırmalara bakarak öncelikle hastalarımızdaki tedaviye yanıt oranlarının gelişmiş ülkelerdekinden daha düşük olmadığını söyleyebiliriz. Buna ilave olarak hastalarımızda görülen yan etki oranlarının asya ülkelerindeki oranlardan daha düşük batı ülkelerindeki yan etki oranları ile benzer olduğu, ancak grade 3 – 4 düzeyindeki hematolojik yan etki oranlarımızın her iki gruptaki hastalardanda daha düşük olduğu bulundu. Kronik faz KML hastalarında şu an için standart tedavi olarak kabul edilen imatinib mesilat ile hastalarımızda elde ettiğimiz THY, TSY ve TMY oranlarımızın literatür verileri ile uyumlu olduğu görüldü. Bununla birlikte düşük oranlarda da olsa bazı hastalarda primer veya sekonder direnç görüldü. Hastaların bir kısmında bu direnci yenmek için imatinib dozunun arttırılması yeterli olurken bir kısmında yeterli olmadı. İmatinib dozunun arttırılması gereken veya diğer tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi gerektiren hastalarda malign klonal hücrede ortaya çıkan yeni genetik anomalilerin araştırılması gerektiği düşünüldü.

İmatinib mesilat milenyumun başında mucize ilaç gibi görünse de ilerleyen yıllarda ortaya çıkan direnç mekanizmaları nedeniyle bu alanda daha fazla çalışma yapılmasını gerektiğini düşünmekeyiz.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kronik myeloid lösemi (KML) myeloproliferatif bir hastalıktır. Ph kromozomu KML patogeneğinde önemli role sahip olduğundan hastalığın tanısında ve tedaviye alınan yanıtın değerlendirmesinde kullanılmaktadır. Ph kromozomu genetik ve moleküler yöntemlerle tayin edilebilmektedir. Yapmış olduğumuz bu çalışma sonucunda;

1. Bölgeımızde KML tanısı ile takip ettiğimiz hastalar genellikle erken kronik fazda tanı almaktaydı.

2. Hastalarda imatinib kullanımı ile ortaya çıkan yan etkiler genellikle iyi tolere edilmektedir.

3. Çalışmaya alınan hastalarda tam hematolojik yanıt (THY) oranı 3. ay sonunda % 100 idi. Tedavinin 36. ayında halen takibi devam eden 11 hastanın % 90'ında THY devam etmekteydi.

4. On ikinci. ayda elde edilen tam sitogenetik yanıt (TSY) oranı % 71, 18. ayda ise % 88 idi.

5. On sekizinci. ayda elde edilen tam + major moleküler yanıt % 72, 24. ayda elde edilen tam + major moleküler yanıt ise % 95 idi.

6. İmatinibe sekonder direnç gelişen ve hematolojik + moleküler yanıt kaybı olan 6 hastadan 5 inde doz artırımı ile takipte THY ve major moleküler yanıt tekrar sağlandı. Bir hastada ise tam moleküler yanıt (TMY) tekrar sağlanamadığından 2. kuşak TKİ başlandı.

7. Bir hastada imatinibe primer direnç olduğundan TSY veya TMY elde edilmedi ve 2. kuşak tirozin kinaz inhibitörü (TKİ) başlandı.

8. Bir hastamız THY ve TSY elde edildikten sonra takipte bir yıl süreyle ilacını kullanmamasına rağmen elde edilen THY ve TSY korunmaktaydı.

9. Çalışmaya alınan 31 hastadan tedavinin 36. ayına ulaşan 11 hastanın 9'u (% 90.9) halen imatinib mesilat kullanmaya devam etmekteydi. 2 hasta ise 2. kuşak TKİ kullanıyordu.

10. EKF hastalarında GKF hastalarına göre daha erken sürede ve daha yüksek oranda TSY ve TMY elde edildi.

11. Hasta popülasyonumuzda imatinib mesilat ile elde edilen yanıt oranları literatür verileri ile benzerlik göstermekteydi.

12. KML tanısı konulan hastalarda daha erken ve daha kalıcı yanıt elde edilmesi için imatinib mesilata mümkün olan en kısa sürede başlanması gerektiğini düşünüyoruz.

13. Son olarak imatinib mesilat tedavisi altında primer veya sekonder direnç gelişen hastalarda mutlaka ilave genetik anomalilerin olabileceğinin hatırlanmasının ve bu yönde araştırma yapılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Geary CG. The story of chronic myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2000; 110:2-11.
2. Meir W, John CB, Clara DB. Acute and Chronic Myeloid Leukemia In Anthony SF, Eugene B, Dennis LK, Stephen LH, Dang LL, Lary M, Joseph L (eds). *Harrison's Principles Of Internal Medicine*. New York: McGraw Hill, 2008: 677-86.
3. Fardel S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brein S, Kurzrock R, Kantajian HM. The biology of the chronic leukemias. *N Eng J Med* 1999; 341:164–172.
4. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2003; 348:994-1004.
5. Brian JD, Francois G, et al. Five-Year Follow-up of Patients Receiving Imatinib for Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 2006; 355:2408–17.
6. Talpaz M, Kantarjian HM, Mc Credie KB. Clinical investigation of human alpha interferon in chronic myelogenous leukemia. *Blood* 1987; 69: 1280–8.
7. Sawyers CL. Chronic myeloid leukemia. *N Eng J Med* 1999; 340:1330–1340.
8. Kantarjian H, O'Brain S. The chronic leukemias in Goldman L and Ausiello D (Eds) *Cecil Textbook of Medicine*. 23rd edition. Philadelphia: Saunders, 2008: 1397–1402.
9. Kantarjian H, Dixon D, Keating MJ, Characteristics of accelerated disease in chronic myelogenous leukemia. *Cancer* 1988; 61:1441–6.
10. Hagop MK, Moshe T, Francis G, Susan O, Jorge C. New Insights into the Pathophysiology of Chronic Myeloid Leukemia and Imatinib Resistance. *Ann Intern Med* 2006; 145:913–923.
11. Soysal T. Kronik Miyelositer Lösemide Çifte Çetrefil: Transplantasyon'a Karşı İmatinib. *Türk Hematoloji Derneği. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu Özet Kitapçığı*. Antalya 2006; 34-41.
12. Ian R, Richard SL. Chronic Myeloid Leukemia in. Greer JP, Rodgers GM, Forester J, Paraskevas F, Lukens JN, Glader B. (Eds): *Wintrobe's Clinical Hematology* 11th Ed. Philadelphia: Lipincott Williams&Wilkins, 2004: 2235-59.

13. Kaddu S, Zenahlik P, Schmid BC, Kerl H, Cerroni L. Specific cutaneous infiltrates in patients with myelogenous leukemia: A clinicopathologic study of 26 patients with assessment of diagnostic criteria. *Journal of the American Academy of Dermatology* 1999; Volume 40, Number 6, Part 1; 966–978.
14. İlhan O. Kronik myelositer lösemi. III. Ulusal İç Hastalıkları Kongre Kitabı 2001: 40–43.
15. John DA, Dan LL. Anemia and Polycythemia in Goldman L and Ausiello D. (Eds) *Cecil Textbook of Medicine*. 23rd edition. Philadelphia: Saunders, 2008: 355-63.
16. Goldman JM, Melo JV. Chronic Myeloid Leukemia-Advances in biology and new approaches to treatment. *N Engl J Med* 2003; 349:1451-64.
17. Kuzrock R, Gutterman JU, Talpaz M. The molecular genetics of Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med* 1988; 319:990–8.
18. Vardiman JW, Melo JV, Baccarini M, Thiele J. Chronic myelogenous leukemia BCR-ABL 1 positive in Steven HS, Elias C, Nancy LH (edts). *WHO Classification of Tumors of Hemapoetic and Lymphoid Tissues* 4th edition Lyon, France: International Agency for Research on Cancer (IARC) 2008: 32-37.
19. Huret, JL. Complex translocations, simple variant translocations and Ph-negative cases in chronic myelogenous leukaemia. *Hum Genet* 1990; 85:565–568.
20. Johansson B, Fioretos T, Mitelman F. Cytogenetic and molecular genetic evolution of chronic myeloid leukemia. *Acta Haematol* 2002; 107:76-94.
21. Fugazza G, Garuti A, Marchelli S, Miglino M, Bruzzzone R, Gatti AM, ve ark. Masked Philadelphia chromosome due to atypical BCR/ABL localization on the 9q34 band and duplication of the der(9) in a case of chronic myelogenous leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2005; 163:173- 175.
22. Chase A, Huntly BJP, Cross NCP. Cytogenetics of chronic myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001; 14:553–571.
23. Imbert M, Bain B, Pierre R, Vardiman JW, Brunning RD, Flandrin G. Chronic neutrophilic leukaemia. In: *World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid*

- Tissues. Jaffe E, Harris NL, Stein H, Vardiman JW eds. Lyon, France: IARC Press 2001; 27–28.
24. Johansson B, Fioretos T, Mitelman F. Cytogenetic and molecular genetic evolution of chronic myeloid leukemia. *Acta Haematol* 2002; 107,76–94.
 25. Chase A, Cross NC. Signal transduction therapy in haematological malignancies: identification and targeting of tyrosine kinases. *Clin Sci (Lond)* 2006; 111:233–249.
 26. Macdonald D, Cross NC. Chronic Myeloproliferative Disorders: The Role of Tyrosine Kinases in Pathogenesis, Diagnosis and Therapy. *Pathobiology* 2007; 74:81–88.
 27. Krause DS, Van Etten RA. Tyrosine kinases as targets for cancer therapy. *N Engl J Med* 2005; 353:172–187.
 28. Y Shaul. C-abl: activation and nuclear targets. *Cell death and differentiation* 2000; 7; 10–16.
 29. Van Etten RA, Jackson PK, Baltimore D, Sanders MC, Matsudaira PT, Janmey PA. The cooh terminus of the c-abl tyrosine kinase contains distinct f- and g-actin binding domains with bundling activity. *J cell biol* 1994; 124:325–340.
 30. Taagepera S, Mcdonald D, Loeb JE, Whitaker LL, Mcelroy AK, Wang JY, et al. Nuclear-cytoplasmic shuttling of c-abl tyrosine kinase. *Proc natl acad sci USA* 1998; 95,7457–7462.
 31. Van Etten RA. Cycling, stressed-out and nervous: cellular functions of c-abl. *Trends cell biol* 1999; 9:179–186
 32. Bacco A, Keeshan K, Mckenna SL, Cotter TG. Molecular abnormalities in chronic myeloid Leukemia: deregulation of cell growth And apoptosis. *The oncologist* 2000; 5:405–415.
 33. Tuija Lundán. Novel prognostic factors in chronic myeloid leukemia. Helsinki University Printing House 2008;25-33.
 34. Blume JT, Hunter T. Oncogenic kinase signalling. *Nature* 2001; 411:355–66.
 35. Wang JY. Regulation of cell death by the Abl tyrosine kinase. *Oncogene* 2000; 19:5643–5650.
 36. Sawyers CL. Disabling Abl-perspectives on Abl kinase regulation and cancer therapeutics. *Cancer Cell* 2002; 1:13–15.

37. Litzow MR. Imatinib Resistance Obstacles and Opportunities. *Arch Pathol Lab Med* 2006;130:669–679.
38. Maru Y, Witte, ON. The BCR gene encodes a novel serine/threonine kinase activity within a single exon. *Cell* 1991; 67:459–468.
39. Kurzrock R, Kantarjian HM, Druker BJ, Talpaz M. Philadelphia chromosome-positive leukemias: from basic mechanisms to molecular therapeutics. *Ann Intern Med* 2003; 138:819–830.
40. Charles MR, John JC, Maura ND, David L, Stephen DS, Carol AW. Heterogeneity of genomic fusion of BCR and ABL in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci* 1988; 85: 2795-2799.
41. Barnes DJ, Melo JV. Cytogenetic and molecular genetic aspects of chronic myeloid leukaemia. *Acta Haematol* 2002; 108:180–202.
42. Landstrom AP, Tefferi A. Fluorescent in situ hybridization in the diagnosis, prognosis and treatment monitoring of chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2006; 47:397–402.
43. Kaeda J, Chase A, Goldman JM. Cytogenetik and molecular monitoring of residual disease in chronic myeloid leukemia. *Acta Hematologica* 2002; 107:64-75.
44. Garcia MG, Talpaz M, Fardel S, Kantarjian HM. Chronic myeloid leukemia in Handlin RI, Lux SE, Stossel TP (eds). *Principles and Practice of Hematology*, Philadelphia. Lippincot Williams and Wilkins 2003: 433 – 454.
45. Baccarani M, Russo D, Rosti G, Martinelli G. Interferon-alfa for chronic myeloid leukemia. *Semin Hematol* 2003; 40:22–33.
46. Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M. Chronic myeloid leukaemia. *The Lancet* 2007;370:342–350.
47. Kujawski LA, Talpaz M. The role of interferon-alpha in the treatment of chronic myeloid leukemia. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2007; 18:459–471.
48. Goldman JM, Melo JV. Targeting the BCR-ABL Tyrosine Kinase in Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 2001; 344:1084–1086.
49. Walz C, Sattler M. Novel targeted therapies to overcome imatinib mesylate resistance in chronic myeloid leukemia (CML). *Clinical Rev. Onc/Hemat* 2006; 57:145–164.

50. Gambacorti C, Gunby R, Piazza R. Molecular mechanisms of resistance to imatinib in Philadelphia-chromosome-positive leukemias. *Lancet Oncology* 2003; 4:75–85.
51. Branford S, Rudzki Z, Walsh S, Parkinson I, Grigg A, Szer J, Taylor K, Herrmann R, Seymour JF, Arthur C, Joske D, Lynch K, Hughes T. Detection of BCR-ABL mutations in patients with CML treated with imatinib is virtually always accompanied by clinical resistance, and mutations in the ATP phosphate-binding loop (P-loop) are associated with a poor prognosis. *Blood* 2003; 102(1):276–283.
52. Greco A, Roccato E, Miranda C, Cleris L, Formelli F, Pierotti MA. Growth-inhibitory effect of STI571 on cells transformed by the COL1A1/PDGFB rearrangement. *Int J Cancer* 2001; 92:354–360.
53. Barnes DJ, Palaiologou D, Panousopoulou E, Schultheis B, Yong ASM, Wong A, Pattacini L, Goldman JM, Melo JV. Bcr-Abl expression levels determine the rate of development of resistance to Imatinib mesylate in chronic myeloid leukemia. *Cancer Research* 2005; 65(19):8912–8919.
54. Wei Y, Hardling M, Olsson B, Hezaveh R, Ricksten A, Stockelberg D, Wadenvik H. Not all imatinib resistance in CML are BCR-ABL kinase domain mutations. *Ann Hematol* 2006; 85(12): 841–7.
55. Mahon FX, Deininger MW, Schultheis B, 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; 96:1070–1079.
56. Larghero J, Leguay T, Mourah S, et al. Relationship between elevated levels of the alpha 1 acid glycoprotein in chronic myelogenous leukemia in blast crisis and pharmacological resistance to imatinib (Gleevec) in vitro and in vivo. *Biochem Pharmacol* 2003; 66:1907–1913.
57. Hochhaus A, La Rosee P. Imatinib therapy in chronic myelogenous leukemia: strategies to avoid and overcome resistance. *Leukemia* 2004; 18:1321–1331.
58. Hochhaus E, Ernst M. Resistance to Targeted Therapy in Chronic Myelogenous Leukemia. *Semin Hematol* 2007; 44:15–24.
59. Apperley JF. Part I: Mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncol.* 2007; 8:1018–1029.

60. Deininger M, Buchdunger E, Druker BJ. The development of imatinib as a therapeutic agent for chronic myeloid leukemia. *Blood* 2005; 105:2640–2653.
61. Nardi V, Azam M, Daley GV. Mechanisms and implications of imatinib resistance mutations in BCR-ABL. *Current Opinion in Hematology* 2004; 11:35–43.
62. Melo JV, Chuah C. Resistance to imatinib mesylate in chronic myeloid leukemia. *Cancer Letters* 2006; 249:121–32.
63. Kawaguchi Y, Jinnai I, Nagai K, Yagasaki F, Yakata Y, Matsuo T, Kuriyama K, ve Tomonaga M. Effect of a selective Abl tyrosine kinase inhibitor, STI571, on *in vitro* growth of BCR-ABL-positive acute lymphoblastic leukemia cells *Leukemia* 2001; 15: 590–594.
64. Mauro MJ, Druker BJ. STI571: Targeting BCR-ABL as Therapy for CML. *The Oncologist* 2001; 6:233-238.
65. Stephen O, Francois G, Brain D et al. ThO'Brien S, et al. International Randomized Study of Interferon versus STI571 (IRIS) 7-year follow-up Sustained survival, low rate of transformation and increased rate of major molecular response in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase treated with imatinib. 2008 Annual Meeting American Society of Haematology, San Francisco, CAe IRIS study in early chronic phase CML 7 year Follow-up. 2009: Abstract # 186
66. Yanmin Z, Lizhen L et all. Efficacy and prognosis of chronic myeloid leukemia treated with imatinib mesylate in a Chinese population. *Int J Hematol* 2009; 89:445–451.
67. Branford S, Rudzki Z, Parkinson I, Grigg A, Taylor K, Seymour JF, et al. Real-time quantitative PCR analysis can be used as a primary screen to identify patients with CML treated with imatinib who have BCR-ABL kinase domain mutations. *Blood* 2004; 104:2926–2932.
68. Kang HY. ve ark. Comparison of allele specific oligonucleotide-polymerase chain reaction and direct sequencing for high throughput screening of ABL kinase domain mutations in chronic myeloid leukemia resistant to imatinib. *Haematologica* 2006; 91:659–662.
69. Palandri F, Iacobucci I, Quarantelli F, et al. Long-term molecular responses to imatinib in patients with chronic myeloid leukemia: comparison between

- complete cytogenetic responders treated in early and in late chronic phase. *Haematologica* 2007; 92,1579–80.
70. Nannya Y, Yokota H, Sato Y, et al. Molecular and cytogenetic response of chronic myelogenous leukemia treated with imatinib mesylate: one institutional experience in Japan. *Int J Hematol* 2008; 88:159–64.
 71. Sugita J, Tanaka J, Kurosawa M, Fukuhara T, Hashino S, Torimoto E, Koizumi K, Masauji N, Nishimura S, Koda K, Imamura M, Kasai M. Effects of the mean daily doses of imatinib during the first year on survival of patients with chronic myeloid leukemia in Japan: a study of the Hokkaido Hematology Study Group *European Journal of Haematology* 2008; 80(2):160–163.
 72. Michael EO, Michael JM, Carolyn B, Melanie F, Gwen K, Yi-Ching H, Motomi M, Brian JD. Clonal evolution and lack of cytogenetic response are adverse prognostic factors for hematologic relapse of chronic phase CMLpatients treated with imatinib mesylate. *Blood* 2004; 103: 451-455.
 73. Scerni ACC, Alvares LA, Beltrão AC, Bentes R, Azevedo TC, Bente AQ, Lemos JAR. Influence Of Late Treatment On How Chronic Myeloid Leukemia Responds To Imatinib. *Clinics* 2009; 64(8): 731-4.
 74. Matsuo E, Miyazaki Y, Tsutsumi C, Inoue Y, Yamasaki R, Hata T, ve ark. Imatinib provides durable molecular and cytogenic response in a particular setting for both newly diagnosed and previously treated chronic myelogenous leukemia: a study in nagasaki prefecture, Japan. *Int J Hematol* 2007; 85:132-9.
 75. Kantarjian H, Talpaz M, O'Brien S, et al. High-dose imatinib mesylate therapy in newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic phase chronic myeloid leukemia. *Blood* 2004; 103:2873–2878.
 76. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *New Engl J Med* 2001; 344:1031–1037.
 77. New Strategies in Chronic Myelogenous Leukemia (CML) *Leukemia Insights* 2006; 11(2):1-7.
 78. Beyhan D, Olga MA, Şule Y, Muhsin Ö, Zafer G, Sevilhan A. Bcr-Abl Pozitif Lösemilerde Klasik Sitogenetik, Fish ve Rt-pcr Analizlerinin Karşılaştırılması *Osmangazi Tıp Dergisi* 2008; 30(1):1-9.

79. Cortes J, Giles F, O'Brien S, et al. Result of high-dose imatinib mesylate in patients with Philadelphia chromosome-- positive chronic myeloid leukemia after failure of interferon-alpha. *Blood* 2003;102:83–86.
80. Wang, L, Knight, K, Lucas, C, Clark, RE. The role of serial BCR-ABL transcript monitoring in predicting the emergence of BCR-ABL kinase mutations in imatinib-treated patients with chronic myeloid leukemia. *Haematologica* 2006; 91:235–239.
81. Press RD, Galderisi C, Yang R, Rempfer C, Willis SG, Mauro MJ, 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; 13:6136–6143.
82. Palandri F, Iacobucci I, et al. Treatment of Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia with imatinib: importance of a stable molecular response. *Clin Cancer Res* 2009;15(3):1059–63.
83. Huntly BJP, Reid AG, Bench AJ, Campbell LJ, Telford N, Shepherd P, et al. Deletions of the derivative chromosome 9 occur at the time of the Philadelphia translocation and provide a powerful and independent prognostic indicator in chronic myeloid leukemia. *Blood* 2001; 98:1732–1738.
84. Sinclair PB, Nacheva EP, Leversha M, Telford N, Chang J, Reid A, et al. Large deletions at the t(9;22) breakpoint are common and may identify a poor-prognosis subgroup of patients with chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000; 95:738–743.
85. Huntly BJP, Bench AJ, Delabesse E, et al. Derivative chromosome 9 deletions in chronic myeloid leukemia: poor prognosis is not associated with loss of ABL-BCR expression, elevated BCR-ABL levels, or karyotypic instability. *Blood* 2002; 99:4547–4553.
86. Faber E, Nausová J, Jarosová M, Egorin MJ, Holzerová M, Rozmanová S, Maresová I, Divoký V, Indrák K. Intermittent dosage of imatinib mesylate in CML patients with a history of significant hematologic toxicity after standard dosing. *Leukemia & lymphoma* 2006;47(6):1082–90.
87. Thomas J, Wang L, Clark RE, Pirmohamed M. Active transport of imatinib into and out of cells: implications for drug resistance. *Blood* 2004; 104:3739–45.

88. Chu S, Xu H, Shah NP, et al. Detection of BCR-ABL kinase mutations in CD34+ cells from chronic myelogenous leukemia patients in complete cytogenetic remission on imatinib mesylate treatment. *Blood* 2005;105:2093–8.
89. Cortes J, O'Brien S, Kantarjian H. Discontinuation of imatinib therapy after achieving a molecular response. *Blood* 2004; 104:2204–5.
90. Shorbagı AS. Akut lenfoblastik lösemi ve kronik myeloid lösemide imatinib mesilat ile “Hedeflenmiş Tedavi”, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalık Anabilim Dalı, Uzmanlık tezi, Ankara, 2007.