



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI HEMATOLOJİ BİLİM DALI**

**KRONİK MİYELOİD LÖSEMİDE MUTASYONLARIN
ARAŞTIRILMASI VE KLİNİKLE OLAN İLİŞKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

DR. PELİN AYTAN

HEMATOLOJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. BİROL GÜVENÇ**

ADANA - 2013

TEŞEKKÜR

Üç yıllık hematoloji uzmanlık eğitimim boyunca bilimsel gelişimime olan büyük katkıları, her konudaki desteği ve değerli önerileri için tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Birol Güvenç'e,

Değerli tecrübelerinden faydalanmama olanak veren, yetişmemde büyük katkıları olan Sayın Prof. Dr. Fikri Başlamışlı'ya,

Emekleri, yardımları ve rehberliği için Sayın Prof. Dr. Emel Gürkan'a,

Tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen hematoloji ve çocuk onkoloji laboratuvarında çalışan arkadaşlarıma,

Berber çalışmaktan gurur duyduğum iyi ve kötü günümde yanımda olan Dr. Dicle İskender'e, hematoloji kliniği hemşirelerimize, personelimize ve sekreterlerimize,

Beni hala yetiştirmeye devam eden canım anneme, nazımı çeken kardeşlerime, sınava hazırlık dönemimde bilgilerinden faydalandığım her zaman yardımını aldığım sevgili eşime ve beni hoş gören kızlarıma,

Teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA NO</u>
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO LİSTESİ	iii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
KISALTMA LİSTESİ	v
ÖZET ve ANAHTAR SÖZCÜKLER	vii
ABSTRACT – KEY WORDS	viii
1.GİRİŞ-AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1 Tirozin kinaz inhibitör tedavisi	4
2.2 TKI tedavisine direnç	11
2.2.1 Primer direnç	11
2.2.2 İkincil direnç	11
2.2.3 ABL kinaz domain mutasyonları	12
2.3 Birinci kuşak TKI tedavisi izlemi	12
2.4 Akselere faz KML	14
2.5 Blastik faz	15
2.6 Allojenik hematopoetik kök hücre transplantı	15
2.6.1 Allojenik HSCT endikasyonları	16
2.6.2 NCCN 2013 önerileri	16
2.6.3 Nakil sonrası relaps önerileri	16
3. YÖNTEM ve GEREÇ	18
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇLAR	39
6. KAYNAKLAR	40
7. EKLER	52

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Isı protokolü	20
Tablo 2. Birinci basamak ilaç kullanımı ile ilgili veriler	28
Tablo 3. İkinci basamak ilaç kullanımı ile ilgili veriler	29
Tablo 4. Üçüncü basamak ilaç kullanımı ile ilgili veriler	30
Tablo 5. İlaçlarla elde edilen majör moleküler yanıtın karşılaştırması	31
Tablo 6. Majör moleküler yanıt başlangıç süresi ile kullanılan ilaçların karşılaştırması	31
Tablo 7. Mutasyon durumu ile kullanılan ilaca majör moleküler yanıtın karşılaştırması	32

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. E255K Mutasyonu Olmadığını Gösteren Erime Eğrisi Grafiği	22
Şekil 2. E255V Mutasyonu Olmadığını Gösteren Erime Eğrisi Grafiği	22
Şekil 3. rs121913448-49 Erime Tepe Noktaları	22
Şekil 4. M351T Mutasyonu Olduğunu Gösteren Erime Eğrisi Grafiği	23
Şekil 5. rs121913457 Erime Tepe Noktaları	23
Şekil 6. T315I Mutasyonu Olduğunu Gösteren Erime Eğrisi Grafiği	24
Şekil 7. rs121913459 Erime Tepe Noktaları	24
Şekil 8. Y253H Mutasyonu Olmadığını Gösteren Erime Eğrisi Grafiği	25
Şekil 9. rs121913461 Erime Tepe Noktaları	25
Şekil 10. Tedavi öncesi ve sonrası log BCR-ABL değerleri	33

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ABL	: Abelson murine leukemia
AF	: Akselere faz
AL	: Akut lenfoblastik lösemi
BCR	: Break point cluster region
BELA	: “Bosutinib Efficacy and Safety in Newly Diagnosed CML
BF	: Blastik faz
CRP	: C reaktif protein
DASISION	: Dasatinib versus Imatinib Study in Treatment-Naïve CML Patients
DSÖ	: Dünya sağlık örgütü
ECOG	: Eastern Cooperative Oncology Group
FDA	: Food and Drug Association
FISH	: Fluorescent In Situ Hybridization
GIMEMA	: the Italian Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto
HSCT	: Hematopoetik stem cell transplantation
IRIS	: International Randomized Study of Interferon versus STI571
KD	: Kinaz domain
KF	: Kronik faz
KİT	: Kemik iliği transplantasyonu
KML	: Kronik myeloid lösemi
LBK	: Lenfoid blastik kriz
MBK	: Myeloid blastik kriz
MMY	: Major moleküler yanıt
MSY	: Major sitogenetik yanıt
MY	: Moleküler yanıt
NCCN	: National Comprehensive Cancer Network
PACE	: Ponatinib Ph+ ALL and CML Evaluation
PDGFR	: Platelet derived growth factor receptor
Ph kromozomu:	Philedelphia kromozomu

PSY	: Parsiyel sitogenetik yanıt
RT-PCR	: Reverse transkriptase polimerase chain reaction
STIM	: Stop Imatinib trial
SY	: Sitogenetik yanıt
THY	: Tam hematolojik yanıt
TKI	: Tirozin kinaz inhibitörü
TMY	: Tam moleküler yanıt
TOPS	: Tyrosine Kinase Inhibitor Optimization and Selectivity
TSY	: Tam sitogenetik yanıt

ÖZET

Kronik Miyeloid Lösemide Mutasyonların Araştırılması ve Klinikle Olan İlişkilerinin İncelenmesi

AMAÇ: Kronik Myeloid Lösemi (KML) sık görülen ve önemli bir hematolojik hastalıktır. Tedavisinde son yıllarda yeni ilaçların kullanılmaya başlanması ile yüz güldürücü sonuçlar alınmaya başlanmış olsa da bazı hastalarda kullanılan yeni nesil ilaçlara karşı yanıtızlık tespit edilmektedir. Bu hastalarda sekonder direncin en yaygın mekanizması BCR-ABL aktivasyonunun reaktivasyonudur. TKI tedavisine direnç sıklıkla BCR-ABL geninin ABL tirozin kinaz domainindeki nokta mutasyonlarıyla gelişir. Bu çalışmada amaç kliniğimizde KML tanısı ile takip ve tedavi edilen hastalarda mutasyon durumlarının incelenmesi ve verilen tedaviye olan yanıtın araştırılmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM: Araştırmamızda kliniğimizde takip edilen tüm KML hastaları - toplam 100 hasta – çalışmaya davet edilmiş, 6 hastaya ulaşamadığından, 2 hasta da çalışmaya katılmak istemediklerinden çalışma dışı bırakılmış, geri kalan 92 hasta değerlendirilmiştir. Bu hastaların bilgilerine medikal kayıtlardan ve bire bir görüşmelerden ulaşılmıştır. Hastalarda en sık görülen mutasyonlardan beş tanesi - T315I, Y253H, E255K, E255V ve M351T mutasyonları - çalışıldı. Mutasyon varlığı ile hastalarda elde edilen majör moleküler yanıt arasındaki ilişki değerlendirildi.

BULGULAR: İncelenen hasta grubunda mutasyon oranı % 3.3 olarak tespit edildi. Çalışmamızda mutasyonu olan 2 hastada T315I mutasyonu mevcut idi ve bu hastalarda nilotinib ve dasatinib tedavileri etkili olmadı. Bu hastalar halen akselere fazda idi. Yine diğer M351T mutasyonu olan hastada da bu ilaçlar ile majör moleküler yanıt elde edilemedi.

SONUÇ: ABL kinaz domain mutasyonları arasında T315I mutasyon varlığı imatinib, dasatinib ve nilotinibe en yüksek direnci gösterir. T315I'ya ilave olarak F317 ve V299 dasatinibe ve Y253H, E255 ve F359 nilotinibe dirençlidir. Bu çalışmada da mutasyon mevcudiyetinin uygulanan tedavi ile elde edilen majör moleküler yanıt üzerine negatif etkili olabileceğini tespit ettik.

Anahtar Kelimeler: kronik myeloid lösemi, tirozin kinaz inhibitörü, BCR-ABL, mutasyon

ABSTRACT

Investigation of Mutations in Chronic Myeloid Leukemia and Assessment of the Relation between Mutations and the Clinical Response

AIM: Chronic Myeloid Leukemia (CML) is a common and important hematological disorder. Although recently good results have been obtained with the administration of new drugs, resistance to new generation drugs have been observed in some patients. In these patients the most common mechanism of secondary resistance is the reactivation of BCR-ABL activation. Resistance to TKI treatment often develops with the point mutations in the ABL tyrosine kinase domain of the BCR-ABL gene. The aim of the present study is to assess the mutation status of the patients with CML who have been treated and followed-up in our clinics and to assess the response to the treatments.

MATERIALS and METHODS: All the patients with the diagnosis of CML treated in our clinics – totally 100 patients – were invited, 6 patients who could not be reached and 2 patients who did not want to participate were excluded and the remaining 92 patients were studied. The data of the patients were gathered from patient files and from the interview with the patients. The most common 5 mutations - T315I, Y253H, E255K, E255V and M351T mutations - were assessed. The association between the presence of mutations and rate of the major molecular response that had been obtained were analyzed.

RESULTS: The prevalence of the mutations in the studied population was found to be %3.3. T315I mutation was detected in 2 patients and no response could be obtained with either nilotinib or dasatinib in these two patients. These patients were still in the accelerated phase. In one patient with M351T mutation major molecular response could not be obtained with these two drugs.

CONCLUSION: Among ABL kinase domain mutations presence of T315I mutation is associated with the highest degree of resistance to imatinib, dasatinib and nilotinib. In addition to T315I, F317 and V299 mutations are resistant to dasatinib and Y253H, E255 ve F359 mutations are resistant to nilotinib. In this it was found that presence of mutations may affect the rate of major molecular response negatively.

Key Words: Chronic Myeloid Leukemia, tyrosine kinase inhibitors, BCR-ABL, mutation

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik Myeloid Lösemi (KML) myeloid öncül hücrelerin anormal klonal çoğalması ile kendini gösteren bir kök hücre hastalığı olup erişkin lösemilerin %15'ini oluşturur. İnsidansı 1-2/100000'dir. Ortalama görülme yaşı 67 olmakla birlikte tüm yaş gruplarında görülebilir.

KML'de kromozom 9 ve 22 arasındaki resiprokal translokasyon t(9;22) sonucu 22. kromozomun 11q bandındaki BCR (breakpoint cluster region) geni ile 9. kromozomun q 34 bandına yerleşik ABL (abelson murine leukemia) geninin 22. Kromozom (ph kromozomu) üzerinde birleşmesi ile BCR-ABL füzyon geni oluşur.¹ Bu genin ürünü olan p210 peptidi tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. Bu protein BCR'nin NH2 terminal domainini ve ABL'nin COOH- terminal domainini kapsar. Başka bir füzyon proteini olan p190 genellikle ph+ ALL'de bulunur.

P210 peptidinin benign durumdan malign duruma geçişteki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak BCR sekansının ABL'ye bağlanması 3 kritik fonksiyonel değişikliklerle sonuçlanır:

1) ABL protein tirozin kinaz enzimi olarak çok aktif olur. 2) ABL'nin DNA protein bağlanma aktivitesi azalır 3) ABL'nin sitoskeletal aktin mikrofilamanlara bağlanması artar. Bu etkiler proliferasyonu artırır, farklılaşmayı etkiler, apoptozu bloke eder.

KML'nin 3 evresi vardır: 1) Kronik faz %85 2) Akselere faz %10 3) Blastik faz %5 Genellikle kronik fazda tanı alır. Tedavi edilmeyen kronik faz KML hastaları 3-5 yıl içinde ileri evreye progrese olur.²

Sokal ve Hansfort KML'nin risk belirlemede etkili olan 2 prognostik skorlama sistemidir.^{3,4}

Sokal skorlaması hastanın yaşına, dalak boyutuna, platelet sayısına ve periferik kandaki blast yüzdesine dayanır.³ Hasford modelinde periferik kandaki eozinofil ve bazofil miktarı da önem kazanır.⁴

European LeukemiaNet tedaviye yanıt tanımları:

Tam hematolojik yanıt (THY):^{5,6}

- lökosit sayısı <10000/ microlitre
- çevresel kanda bazofil <%5
- çevresel kanda myeloblast, promyelosit, myelosit görülmemesi
- trombosit sayısı <450000 / microlitre
- dalağın ele gelmemesi

Sitogenetik yanıt (SY):

- Tam sitogenetik yanıt (TSY): Ph+ metafazın olmaması
- Parsiyel sitogenetik yanıt (PSY) : Ph+ metafaz %1-%35
- Minör sitogenetik yanıt: Ph+ %36-%65
- Minimal sitogenetik yanıt: Ph+ metafaz%66-%95
- Sitogenetik yanıtsızlık: > %95 Ph+ metafaz
- Major sitogenetik yanıt(MSY) tam ve kısmi sitogenetik yanıtı içerir: Ph+ metafaz %0-%35

Tam moleküler yanıt: RT-PCR veya 'nested' PCR kullanıldığında ardışık 2 ölçüm ile BCR-ABL kimerik mRNA'sının saptanmaması

Major moleküler yanıt (MMY): BCR-ABL/ABL oranının uluslar arası ölçeğe göre \leq % 0.1 olması

Tedavi yanıtının izlenmesi: ⁵

Hematolojik değerlendirme: Tanı sonrasında tam hematolojik yanıt sağlanana kadar 15 günde bir, daha sonra en az 3 ayda bir veya gerek olduğunda yapılmalıdır.

Sitogenetik değerlendirme: Tanıda 3. ve 6. ayda, tam sitogenetik yanıt elde edilmesine kadar 6 ayda bir, daha sonra 12 ayda bir yapılır. Sitogenetik değerlendirme tedaviye yanıtsızlık (primer veya sekonder direnç) durumunda ve açıklanamayan anemi, trombositopeni, lökopeni gelişiminde her zaman yapılmalıdır.

RT-PCR ile moleküler izlem: MMY elde edilmesine ve doğrulanmasına kadar 3 ayda bir, daha sonra en az 6 ayda bir yapılmalıdır.

Moleküler mutasyon analizi: Suboptimal yanıt veya yanıtızsızlık durumunda ve diğer tirozin kinaz inhibitörleri veya başka tedavilere geçmeden önce daima bakılmalıdır.

Bu bilgiler ışığında çalışmamızda amacımız kliniğimizde KML tanısıyla takip edilen hastaların tedaviye yanıtlarını incelemek ve mutasyon varlığıyla tedaviye verilen yanıt arasındaki ilişkiyi incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tirozin kinaz inhibitör tedavisi

İmatinib mesilat BCR-ABL tirozin kinazın seçici inhibitörüdür.^{7,8} 5 yıllık takiplerde hastaların % 41'inde tam sitogenetik yanıt görülürken %44'ü imatinible devam eder. 6 yılda progresyonsuz yaşam (akselere ya da blastik faza geçiş olmadan) ve hastalıksız sağkalım %61 ve %76'dır.⁹ Yeni KML tanısı almış hastalar IRIS çalışmasında değerlendirilmiştir. 1106 hastaya başlangıç tedavisi olarak 400 mg imatinib veya interferon alfa ve düşük doz cytarabine verilmiş.¹⁰ 19 aylık takiplerde imatinib grubunda 18. ayda major sitogenetik cevap %87 iken kontrol grubunda %34.7 idi. Tam sitogenetik yanıt imatinib alanlarda %76.2 iken interferon tedavisi alanlarda %14.5 idi. İmatinibin daha etkili olmasının yanısıra interferon-sitarabin kombinasyon tedavisine göre toleransı daha iyiydi. Aralık 2002'de IRIS çalışmasına göre FDA imatinib tedavisini KML'de 1. kuşak tedavisi olarak onayladı.

IRIS çalışmasının uzun süreli takiplerinde^{11,12}, ortalama 60 aylık takiplerinde 12. ayda TSY %69 iken 60. ayda %87 idi. Hastaların sadece %7'si akselere veya blastik faza ilerlemişti. Başlangıç tedavisi olarak imatinib kullanan hastalarda OS 60. ayın sonunda %89¹¹, 8 yıllık olaysız sağkalım %81, progresyonsuz yaşam %92, hastalıksız sağkalım %85 idi.¹² Major moleküler yanıt 6. ayda %24 iken 12. ayda %39 idi. 8 yıllık takiplerde MMY %86 tespit edildi. 12. Ayda MMY olan hastaların hiçbirinde blastik veya akselere faza geçiş gözlenmedi. Bu sonuçlar göstermiştir ki kronik faz KML'de devamlı imatinib tedavisi relaps riskini azaltır.

Guilnat ve arkadaşları IRIS çalışmasında imatinib alan hastaların 54 aylık izlemlerinde %93'de THY, MSY ve TSY %86 ve %81'de sağladı.¹³

İmatinib mesilat genel olarak iyi tolere edilir. Sık rapor edilen 3.-4. derece toksisiteler nötropeni ve trombositopenidir. Daha sık görülenler gastrointestinal problemler, ödem, döküntü, kas-iskelet sistemi şikâyetleridir. Ancak bunların hiçbirinde tedavi sonlandırılmasına gerek duyulmaz.¹⁴ Çoğu hastada 400 mg/gün imatinib dozu ile rezidüel moleküler hastalık görülüyor. 600-800 mg imatinib dozu iyi tolere edilmekle birlikte superior sitogenetik ve moleküler cevap alınabiliyor.^{15, 6} Faz 2 çok merkezli çalışmada (RIGHT) yeni tanı alan hastalar (n:115, %70 sokal düşük risk) günde 2 kez

400 mg imatinib ile tedavi edildiler ve hızlı ve iyi yanıt sağladılar.¹⁷ 6, 12 ve 18. aylarda THY sağlandı. 12 ve 18. aylarda MSY %90 ve %96, TSY %85 ve %83 idi. 6 ve 12. aylarda MMY %48 ve %54 idi. Günde 400 mg imatinib alan IRIS çalışmasındaki hastalarla kıyaslandığında bu çalışmada alınan cevaplar daha yüksekti. MMY 12. ayda RIGHT çalışmasında %54 iken IRIS çalışmasında %39 idi. 18. ayda MSY ve TSY RIGHT çalışmasında %90 ve %85 iken, IRIS çalışmasında %85 ve %69 idi.

TIDEL çalışmasında günde 600 mg imatinib alan hastalarda 12. ve 24. aylarda MMY %55 ve %77 iken başlangıç dozu daha düşük olan hastalarda %32 ve %53 idi.¹⁵

Orta-yüksek sokal riski olan kronik faz KML hastalarda günlük 800 mg imatinib etkisi GİMEMA KML çalışma partisi ve European leukemianet çalışma grubu tarafından değerlendirildi.^{18,19} Bu faz iki çalışması orta sokal risk grubunda olan hastalarda yüksek doz imatinib tedavisi hızlı sitogenetik ve moleküler cevap sağlamıştır.¹⁸ European leukemia net çalışması yüksek sokal risk hastaları 800 mg ve 400 mg imatinib almalarına göre randomize etmiştir. 3 ve 6 aylık dönemlerde TSY ve herhangi bir zamanda MY'ta bir farklılık gözlenmemiştir, yüksek doz imatinib anlamlı bir fayda sağlamamıştır.¹⁹

TOPS (Tyrosine Kinase Inhibitor Optimization and selectivity) çalışması yeni tanı KF-KML hastalarında daha yüksek doz imatinib ve standard doz imatinib tedavisinin etkisini karşılaştırmıştır.²⁰ Bu çalışma 476 hastayı 800 mg veya standard doz imatinib (günlük 400 mg) olmasına göre randomize etmiştir. Yüksek doz imatinib iyi tolere edilmiş ve standard doz imatinibe göre daha hızlı cevap vermiştir. Yüksek sokal risk skorlu hastalarda 12. ayda MMY yüksek doz imatinib için %51 iken standard dozda %31'dir.

Yeni tanı almış hastalarda yüksek doz imatinib yüksek ve hızlı TSY ve MMY'a neden olur ancak 12. ayda 2 kol arasında cevap hızları yönünden fark tespit edilmemiştir.

Dasatinib: Güçlü, oral alım için uygun bir ABL kinaz inhibitörüdür. İmatinibe benzer ancak hem aktif hem de inaktif ABL kinaz domain konformasyonuna bağlandığı için ilave bir avantajı vardır. Sonuç olarak dasatinib in vitro, imatinib rezistan BCR-ABL mutasyonlarına karşı aktiftir.²¹ Faz 1 doz eskalasyon çalışmasında, dasatinib imatinibe

rezistan veya tolere edemeyen KML veya ph+ ALL hastalarda hematolojik ve sitogenetik cevapları arttırır.²² Bu sonuçlar imatinib rezistan veya tolere edemeyen hastalarda faz 2 çalışmaların (SRC-ABL tirozin kinaz inhibisyon aktivitesi: dasatinibin araştırma çalışmaları) (START) başlamasına olanak verdi. 3-6 ay içinde tam hematolojik yanıtın gelişmemesi veya 12. ayda MSY'nin yokluğu veya tedaviye cevap sonrası hastalığın progresyonu imatinibe direnç olarak tanımlanır. Dasatinib günde 2 kez 70 mg devamlı verilir.

START-C çalışmasında, imatinibe dirençli veya intoleran KF-KML hastaları günde 2 kez 70 mg dasatinib ile tedavi edildi.²³ 186 hastalık başlangıç sonuçları hastaların %90'ında THY geliştiğini gösterdi. Dasatinib ayrıca hastaların %52'sinde MSY sağladı. Sadece hastaların %2'si major sitogenetik cevap geliştikten sonra progrese oldu veya öldü. 8 aylık takiplerde progresyonsuz yaşam oranı %92 idi. Genişletilmiş 2 yıllık izlemde dasatinibin sitogenetik cevabı sağladığı doğrulandı.²⁴ 24 aylık takip sonrası THY, MSY, TSY ve MMY %91, %62, %53, %47 oranında gözlemlendi. Hastaliksız yaşam ve progresyonsuz yaşam 24. ayda %94 ve %80 idi.²⁴ 2 yıllık izlemlerde (imatinib rezistan hastalarda) MSY ve TSY 2.9 ay ve 5.5 ay idi. İmatinib intoleran hastalarda MSY ve TSY'nin ikisi de 2.8 ayda sağlandı. İmatinib rezistan (%84 MSY ve %86 TSY) ve imatinib intoleran (%97 MSY, %98 TSY) hastalar 24. ayda cevaplarını korudular.²⁵

START-A çalışması imatinib rezistan veya intoleran akselere faz KML hastalarında günde 2 kez 70 mg dasatinibin etkinliğini ve güvenilirliğini değerlendirdi.²⁶ 8 aylık izlemde ilk 107 hasta değerlendirildiğinde, MHY %64 ve MSY %33 ve progresyonsuz hasta %76 idi. Tüm 174 hasta izlemindeki veriler imatinib rezistan veya intoleran AF-KML hastalarında dasatinib tedavisinin güvenilirliğini ve etkinliği doğruladı.²⁷ 12 aylık progresyonsuz yaşam ve hastaliksız yaşam % 66 ve % 82 idi. Myeloid blast krizde veya lenfoid blast krizdeki imatinib rezistan veya intoleran hastalarda dasatinibin etkinliği START-B ve START-L çalışmalarında değerlendirildi.²⁸ Myeloid blast krizde olan KML hastalarının 6 aylık izleminde MHY %32 oranında sağlandı ve bu cevap 8. ayda %34'e yükseldi. Bu oran 12. ayda da korundu.²⁹ MSY hastaların %31'inde sağlandı. Lenfoid blast krizde KML grupta 6. ayda MHY hastaların %31'inde sağlandı ve 12. ay izleminde %35'e yükseldi.²⁹ En az 12 ay takip sonrası

MBK-KML MCyR %33 ve LBK-KML'de %52 ve her 2 grupta TSY %26 ve %46 idi. MBK hastalarında progresyonsuz yaşam ve hastalısız sağkalım 6.7 ve 11.8 ay idi. LBK'de bu oran 3 ve 5.3 ay idi.²⁹

Doz ilişkili randomize çalışmada günde 100 mg dasatinib günde 2 kez 70 mg olan hastalarda aynı şekilde etkili olmuştur.^{30,31} Plevral efüzyon ve trombositopeni gelişme insidansı 100 mg/gün alan hastalarda daha düşük olup, doz ayarlamasına daha az ihtiyaç olmuştur.

Bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak FDA başlangıç dozunu günde 100 mg olarak kabul etmiştir.

Kantarjian ve arkadaşları günde bir kez 140 mg dasatinib kullanımının etkisinin günde 2 kez 70 mg kullanma ile aynı olduğunu ve güvenlik profilinin akselere faz KML hastalarda daha iyi olduğunu rapor etmişlerdir.³² 2 yıllık izlemde bir faz 3 çalışmasında günde tek doz 140 mg dasatinib blastik fazda KML hastalarında günde 2 kez 70 mg tedavi ile karşılaştırıldığında eşit etkinlikte ve daha güvenlidir.³³

Ekim 2010'da FDA yeni tanı Ph+ KF-KML hastalarında günlük 100 mg dasatinib tedavisini onayladı. 24 aylık takipte dasatinibin yeni tanı KF-KML hastalarda yüksek TSY, yüksek ve hızlı MMY ile imatinibe üstünlüğü doğrulanmıştır.³⁴ İntergrup faz 2 randomize çalışmada dasatinib 100 mg verildiğinde imatinib 400 mg ile karşılaştırıldığında 12. ayda derin moleküler cevap (BCR-ABL düzeyinde 3 log düşüş) sağlanmıştır.³⁵

Nilotinib BCR-ABL tirozin kinazın imatinibe göre daha güçlü (imatinib dirençli hücre gruplarında 20-50 kat daha güçlü ve imatinib duyarlı hücre gruplarında 3-7 kat daha güçlü) yüksek selektif inhibitördür.

Bir faz 1 çalışmasında nilotinibin, imatinib rezistan KML'de aktif ve güvenilirlik profili anlamlı bulunmuştur.³⁶

Bu çalışmayı takiben, bir faz 2 çalışması imatinib dirençli ve intoleran KF ve akselere faz KML hastalarında nilotinibin etkinliğini ve güvenilirliğini değerlendirdi. Nilotinib günde 2 kez 400 mg verildi. Kronik faz KML'de etkinlik son noktası MSY ve AF-KML'de ise major hematolojik yanıttır. Kronik faz KML'li 280 hastanın 6 aylık

takipleri rapor edildi.³⁷ MSY hastaların % 48'inde, TSY hastaların %31'inde gözlemlendi. 2 yıllık takip sonuçları da güvenilirlik profilinde değişiklik olmadan cevapların devamlılığını doğruladı.³⁸ MMY, MSY, TSY sırasıyla %28, %59, %44 ve 24. ayda korunmuş TSY %84 iken korunmuş MSY %77 idi.³⁸ Yine progresyonsuz sağkalım ve hastaliksız sağkalım %64 ve %87 idi. Akselere faz KML hastalarında hematolojik cevap hastaların %47'sinde ve MSY hastaların %29'unda gözlemlendi.³⁹ 12. ayın sonunda 119 hastada hastaliksız yaşam %79 idi. Hematolojik olmayan yan etkiler orta-ılımlı idi. 3. derece ve daha yüksek bilirubin ve lipaz değerleri hastaların %9 ve %18'inde oluştu.

Uzun süreli takip sonuçları imatinib tedavisine rezistan veya intoleran AF-KML hastalarda nilotinibin kabul edilebilir risk/fayda profili ile hızlı ve devamlı cevap sağlandığını doğruladı.⁴⁰ Nilotinib bir grup blastik faz KML hastasında da aktivite göstermiştir. 136 hastalık faz 2 çalışmasında (%82 imatinib dirençli, %18 imatinib intoleran) %13 hastada nilotinib komplet hematolojik remisyona sağlamıştır. Nilotinib henüz FDA tarafından blastik faz KML'de onaylanmamıştır.

Faz 3 randomize çok merkezli ENESTND (Evaluating Nilotinib Efficacy and Safety in clinical Trials newly diagnosed patients) çalışmasında yeni tanı KF-KML hastalarında nilotinibin etkinliği ve güvenilirliği (günde 2 kez 300mg n:282 veya günde 2 kez 400 mg n:281), günde 1 kez 400 mg imatinib (n:283) ile karşılaştırılmıştır.⁴⁰ 12. ayda MMY oranı 600 mg doz için %44, 800 mg doz için %43 ve imatinib için %22 idi. TSY oranları 12. ayda 600 mg doz için %80, 800 mg doz için %78 ve imatinib için %65 olup nilotinib tedavisi alanında imatinibden daha yüksekti. Akselere ya da blastik faza progresyon nilotinib ile %1'den az, imatinib ile %4 idi. Yüksek sokal riski olan 600 mg nilotinib, 800 mg nilotinib ve imatinib alan hastalarda TSY oranları %74, %63 ve %49 idi.

Yine bu dozları ve tedavileri alan hastalar da 12. ayda MMY %41, %32 ve %17 idi. Her üç çalışma grubunun içinde 600 mg dozunda nilotinib alan hastalarda yan etkilerden ve laboratuvar anormalliklerden dolayı tedaviye devamsızlık en düşük oranlardaydı. Bu çalışmanın sonucuna göre Haziran 2010'da FDA günde 2 kez 300 mg nilotinib tedavisini yeni tanı alan ph+ KF-KML hastalarında onayladı. 24 aylık takiplerde nilotinib yüksek MMY, TMY (tam moleküler yanıt) ve daha az progresyon sağladı.⁴¹ 24. ayda MMY oranları günde 2 kez 300 mg ve 400 mg nilotinib alan

hastalarda %71 ve %67, günde bir kez 400 mg imatinib alan hastalarda %44 idi. Yüksek sokal riski olan hastalarda 24. ayda MMY oranı 600 mg, 800 mg nilotinib, günde bir kez 400 mg imatinib alan hastalar için %65, %56 ve %32 idi. Akselere veya blastik faza progresyon 600 mg nilotinib alan hastalarda %0.7 (2 hasta), 400 mg nilotinib alanlarda %1.1 (3 hasta) ve imatinib alan hastalarda %4 (12 hasta) idi. 24. ayda 3 tedavi grubunda progresyonsuz sağkalım oranı sırasıyla %98, %97.7 ve %95 idi.

Bosutinib ABL-SRC kinaz ailesinin üyesidir. İmatinibe, dasatinibe ve nilotinibe dirençli T315I dışında pek çok BCR-ABL kinaz mutasyonlarına karşı Kit ve PDGFR'nin minimal inhibisyonu ile aktivitesi vardır. Faz 3 randomize çalışmasında (BELA) günde bir kez 500 mg bosutinib (n=250) günde tek doz 400 mg imatinib (N=252) yeni tanı almış KF-KML hastalarında karşılaştırıldı.⁴³ 12. ayda bosutinib ile daha yüksek MMY oranı (%41'e karşı imatinib alan grupta %27), akselere ya da blastik faza daha az geçiş (%2'e karşı imatinibde %4) ve daha hızlı TSY ve MMY elde edildi. Ancak bu çalışma 12. ayda TSY'de primer sonlanım noktasına ulaşmadı. 12. ayda TSY oranları bosutinib ve imatinib için %70 ve %68 idi.

Tek kol çok merkezli faz 1-2 çalışmasında günde tek doz 500 mg bosutinibin etkinliği ve güvenilirliği değerlendirildi. Başlangıç tedavisine dirençli ya da intoleran 570 hasta bunların 288'i imatinib tedavisini takiben KF-KML, 118'i imatinib tedavisi sonrası dasatinib ve nilotinib ile takip edilen KF-KML hastaları ve 164'ü akselere ve blastik fazda KML veya ALL hastaları idi.^{44,45}

İmatinib ile tedavi edilen 288 KF-KML hastasında (200 hasta imatinibe dirençli, 88 hasta imatinibe intoleran) 24. ayda MSY hastaların %31'inde sağlandı.⁴⁴ 24 aylık takipte THY, MSY ve TSY hastaların %86, %53 ve %41'inde sağladı. TSY'si olan hastaların %64'ünde MMY ve %53'ünde TMY sağlandı. 2 yıllık progresyonsuz sağkalım ve hastalısız yaşam %79 ve %92 idi.⁴⁴ Daha önceden birden fazla tirozin kinaz ile tedavi edilmiş olan 118 KF-KML hastasının 28.5 aylık takiplerinde THY, MSY ve TSY hastaların %73, %32 ve %24'ünde sağlandı.⁴⁶ Dasatinibe intoleran olan hastalarda dasatinibe dirençli olan hastalara göre hematolojik yanıt oranı %67'e %50, TSY %28'e %14 ve MMY %25'e %3 idi. AF-KML ve BF-KML'ye progresyon %4 ve %0 idi. 2 yıllık progresyonsuz yaşam ve hastalısız yaşam %73 ve %83 idi AF-KML ve BF-KML hastalarında bosutinib BCR-ABL mutasyonu olan veya olmayan hasta

gruplarında THY ve MSY gelişmiştir.⁴⁵ Cevap için değerlendirilen AF-KML hastaların arasında THY, MSY ve TSY %61, %48 ve %33 oranında sağlanmıştır. Yanıt için değerlendirilebilen BF-KML hastaları arasında THY, MSY ve TSY %32, %52 ve %29 oranında idi. Bu çalışmaların sonuçlarına dayanarak FDA KML'nin her fazındaki önceki TKI tedavisine dirençli veya intoleran hastalarda bosutinib tedavisini onaylamıştır.

Ponatinib Oral alınabilen güçlü, T315I dâhil pek çok BCR-ABL kinaz mutasyonuna karşı aktif olan çok hedefli kinaz inhibitörüdür.^{47,48} Tek kollu çok merkezli faz 2 çalışmasında (PACE) T315I mutasyonu olan veya önceki TKI inhibitörüne dirençli veya intoleran 449 hastada etkinlik ve güvenilirlik değerlendirildi (270 hasta KF-KML, 85 hasta AF-KML , 94 hasta BF-KML veya ALL).⁴⁹ KF-KML hastalarında MSY, TSY ve MMY %56, %46 ve %34 oranında idi.

Önceden daha az TKI alan hastalarda yanıt oranı daha yüksektir. Bir TKI ile tedavi edilen hastalarda MSY, TSY ve MMY oranları %84, %79 ve %53 iken, öncesinde üç TKI ile tedavi edilen olgularda %46, %38, %29 idi.⁵⁰ 12. ayda progresyonsuz sağkalım ve hastaliksız sağkalım %80 ve %94'tür.

Ponatinib aynı zamanda ilerlemiş fazla KML hastalarda hematolojik ve sitogenetik cevapları artırır.⁵¹ Akselere faz KML dasatinib ve nilotinib tedavisine rezistan veya intolere AF-KML hastaları içinde MHY, MSY ve TSY %50, %56 ve %33 oranında gözlenmiştir.⁵¹ T315I mutasyonu olan hastalarda yanıt oranları %58, %34, %22 idi. 6 ve 12. aylarda progresyonsuz sağ kalım %80 ve %57 oranında korunur. Dasatinib ve nilotinibe rezistan veya intoleran blastik faz KML hastalarında MHY, MSY ve TSY hastaların %29, %29, %21'inde gözlenmiştir. T315I mutasyonu olan hastalarda cevap oranı %32, %18 ve %16'dır. 6. ayda ve 12. ayda olası progresyonsuz yaşam oranı %34 ve %20 idi.

Bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak FDA ponatinibi başlangıçtaki TKI tedavisine dirençli veya intoleran her 3 fazdaki KML hastalarının tedavisi için onaylandı. Tüm tirozin kinaz inhibitörlerinde trombositopeni ve nötropeni en yaygın görülen evre 3-4 hematolojik toksisitelerdir.

IRIS çalışmasının 5 yıllık izleminde 12. ayda TSY ve MMY sağlanan hastaların hiçbirisi akselere veya blastik faza ilerlemedi.¹¹ 24. ayda progresyonsuz sağkalım, 12. ayda TSY ve en azından 3 log düşüş sağlanan BCR-ABL düzeyinde olan hastalarda %100 idi. 12. ayda TSY ve 3 logdan daha az BCR-ABL düşüşü olan hastalarda bu oran %95 idi. 12. ayda TSY'yi başarmış hastalarda MMY'nin prognostik önemi yoktur.

Güncel çalışmalar göstermiştir ki 3. aydan sonra erken moleküler cevap (< %10 düşüş) birinci kuşak TKI kullanan hastalarda BCR-ABL düzeyinde uzun süreli cevap ve sağkalım için etkili bir prognostik belirleyicidir.^{52,53}

DASISION çalışmasında 3. ayda BCR-ABL %10 ve daha fazla altında olması 12. ayda TSY'a, 24. ayda MMY'a ulaşma olasılığını artırır. 3 yıllık progresyonsuz sağkalım ve 3 yıllık hastalısız sağkalım bu cevaba ulaşamamış olanlara göre anlamlı olarak daha iyidir.^{52,54}

Artan BCR-ABL düzeyleri Bazı çalışmalar göstermiştir ki artan BCR-ABL düzeyleri gelecekte BCR-ABL mutasyonlarında artmış risk ve sitogenetik relaps ile ilişkilidir.^{55,56}

2.2. TKI tedavisine direnç

2.2.1. Primer direnç Yeni tanı almış ph+ KF-KML hastalarında primer hematolojik direnç (tedavinin başlangıcının 3-6 ayında hematolojik remisyon sağlanamaması) nadirdir. Ancak primer sitogenetik direnç (6. ayda herhangi düzeydeki sitogenetik cevaba, 12. ayda major sitogenetik cevap veya 8. ayda TSY'a ulaşmada başarısızlık) hastaların %15-25'inde görülür İmatinib, dasatinib ve nilotinibin %90'dan fazlası plazma proteinlerine bağlanır.⁵⁷ İmatinibin yetersiz plazma konsantrasyonu primer rezistansın nedenlerinden biri olabilir.^{58,60} IRIS çalışmasının alt tip analizinde tedavinin 1. ayında imatinibin plazma düzeyleri uzun dönem klinik cevap için önemli bir prognostik faktördür.⁵⁹ Ancak imatinibin plazma düzeyine rutin bakılması önerilmemektedir.

2.2.2. İkincil direnç Bu direncin en yaygın mekanizması BCR-ABL aktivasyonunun reaktivasyonudur.⁵⁷ Sıklıkla BCR-ABL geninin ABL tirozin kinaz domainindeki mutasyonlarla gelişir.^{61,62}

2.2.3. ABL kinaz domain mutasyonları TKI tedavisine dirençte en sık rastlanan mekanizma ABL kinaz domainindeki nokta mutasyonlarıdır. 319 kronik faz hastalarından oluşan büyük bir çalışmada kinaz domain mutasyonları TSY kaybındaki tek bağımsız öngördürücüdür (prediktör).⁶³ ABL kinaz domain mutasyonları arasında T315I mutasyon varlığı imatinib, dasatinib ve nilotinibe en yüksek direnci gösterir. T315I'a ilave olarak F317 ve V299 dasatinibe ve Y253H, E255 ve F359 nilotinibe dirençlidir.

Müller ve arkadaşları KF-KML 1043 hastada BCR-ABL mutasyon varlığına göre imatinib yetersizliği sonrası dasatinibe klinik cevabı rapor etmişlerdir. T315I ve F317L mutasyon varlığı⁶⁴ daha az yanıt alınması ile ilişkilidir. T315I mutasyonu olan hastalarda THY ve MSY gibi nadir cevap alınmıştır ancak TSY alınmamıştır. F317L mutasyonu olan hastalarda THY yüksek oranda (%93) alınmış ancak MSY ve TSY (%14, %7) çok düşük olarak elde edilmişti. E255 K/V ve L248V gibi yüksek imatinib rezistan mutasyonlara sahip hastalarda TSY oranları iyidir. Hughes ve arkadaşları imatinib rezistan KF-KML hastalarında başta bakılan BCR-ABL mutasyonlarının etkisinin nilotinib tedavisine etkisini incelemişlerdir.⁶⁵ 12. ayda Y253H, E255V/K, F359V/C mutasyonlarına sahip hastaların MSY oranları çok düşüktü. (%13,%43,%9) ve hiçbirinde TSY alınmadı. E255K/V, F359C/V, Y253H ve T315I mutasyonları hastalık progresyonu ile ilişkilidir.

PACE çalışmasında T315I'ya ek olarak ponatinib, dasatinib ve nilotinibe dirençli diğer BCR-ABL mutasyonları olan F317L, E255K, F359V ve G250E'ye karşı da aktiftir. Bu mutasyonlara sahip KF-KML hastalarında MMY oranları sırasıyla %41, %50, %31 ve %38'dir.⁶⁶

Omacetaxine bir protein sentez inhibitörüdür.⁶⁷ T315I mutasyonu olan hasta tedavisinde güvenli ve etkilidir. Ekim 2012'de önceki 2 veya daha fazla TKI tedavisine yanıt vermemiş veya intoleran KF-KML veya AF-KML hastalarında FDA tarafından onaylanmıştır.

2.3. 1.Kuşak TKI tedavisi izlemi Çoğu hastalarda TKI tedavisi aldıktan sonra 3. ayda komplet hematolojik cevap, 6., 12. ve 18. ayda ise TSY alınır. Eğer bu zaman aralıklarında hematolojik ve sitogenetik cevap alınmazsa mutasyon analizi akla gelmeli

ve tedavi yeniden gözden geçirilmeli. Tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde FISH önerilmez. Günümüz bilgilerine dayanarak sitogenetiğin prognostik önemini ve 3. ayda moleküler cevabı göstermek için BCR-ABL'e Q-PCR ile bakılır. Hasta tedaviye cevap veriyorsa BCR-ABL düzeyi 3 ayda bir istenmelidir. Kemik iliği sitogenetiği TSY ve MMY'si olan hastalarda 12. ayda, 12. ayda MMY'si olmayan veya TS cevap azlığı olan hastalarda 18. ayda önerilir. 3. ayda PSY veya BCR-ABL düzeyinde %10'dan az düşme sağlanan veya 12 ve 18. ayda TSY sağlanamayan olgular gibi başlangıç cevabının yetersiz olduğu hastalarda mutasyon analizi ve TKI tedavisinin yeniden gözden geçirilmesi önerilir. 12. ayda parsiyel sitogenetik cevap alınan olgularda 2. kuşak TKI'ya geçilebilir ya da dasatinib, nilotinib, bosutinib veya omacetaxin kullanması kontrendike ise imatinib dozu 800mg'a çıkarılabilir.

Tanı anında düşük sokal risk skoru, imatinibe en iyi sitogenetik cevabın alınacağını öngörebilir. İmatinib kullanırken herhangi bir zamanda büyüme faktörüne rağmen imatinib tedavi dozu azaltmayı gerektiren nötropeni ve imatinib yetersiz gelen hastalarda 2. kuşak TKI inhibitörü başlanması 2. kuşak TKI alanlarda sitogenetik cevap için belirleyici risk faktörüdür.⁶⁸

Bilgilerimize dayanarak 3, 6 veya 12. ayda sitogenetik veya moleküler yanıt alınamayan nilotinib veya dasatinib alan hastalar alternatif tedaviler veya uygun donör varsa alloHSCT için düşünülmeli.

Kılavuzlar 3. ayda parsiyel SY gelişen (IS kullanılarak Q-PCR tarafından bakılan BCR-ABL düzeyinin %10'dan daha düşük olan hastalar) hastalarda aynı doz TKI'nın (imatinib, dasatinib, nilotinibin) devam etmesini öneriyorlar. Bu hastalarda 3 ayda bir Q-PCR bakılmalıdır.⁶⁹ 12. ayda PSY'si olan hastalarda 2. kuşak TKI'ya geçmek aynı dozdan dasatinib, nilotinib veya bosutinible devam etmek ya da hastanın dasatinib, nilotinib, bosutinib veya omacetaxine kullanması kontrendike ise ve hasta tolere edebilirse 800 mg imatinible devamı önerilir.

Tam ve arkadaşları, dasatinib veya nilotinib kullanarak 12. ayda MSY gelişen hastaların minör sitogenetik cevap veya komplet hematolojik cevap geliştirenlere göre daha avantajlı olduklarını rapor etmişlerdir.⁷⁰ Tedaviye ara verme veya TKI tedavisine uyumsuzluk istenmeyen klinik sonuçlara neden olabilir.⁷¹⁻⁷³ KML'li hastalarda imatinib

tedavisine uyumsuzluk sonuçlarını değerlendiren ADAGIO (Adherence Indicators and outcomes) çalışmasında nonadherence imatinibe zayıf cevap ile ilişkiliydi. Marin ve arkadaşları yakın zamanda standart doz imatinib alan hastalarda TMY'ı tek bağımsız belirleyici olarak tanımladılar.⁷² İmatinib dozu artırılmış hastaların bu tedaviye zayıf bağlanması (%86) bulunmakta olup bu hastalarda bağlanma MMY'ye ulaşmadaki başarısızlık için tek bağımsız belirleyicidir. Hala kronik faz KML hastalarında TKI'ya uyumsuzluk göstermek için BCR-ABL katlanma zamanı (doubling time) bir belirteçtir.⁷⁴

İmatinib yetersizliğini takiben dasatinib ve nilotinib kullanan hastalarda TKI tedavisine zayıf bağlanma rapor edilmiştir.^{75,76} Tıbbi açıdan gerekli tedaviye kısa süreli ara vermeler veya doz azaltmanın hastalığın kontrolüne olumsuz etkisi yoktur. Yan etkilerin yeterli ve uygun yönetimi, uygun hasta takipleri hastanın tedaviye bağlanmasını arttırmada yardımcı olur.⁷⁷

KML hastalarında TKI tedavisi standarttır. İmatinib 5-6 yıllık tedavide mortaliteyi anlamlı olarak azaltır ve bu cevabı uzun süre devam ettirir.^{12,78} İmatinib tedavisi alan hastaların çoğunda TSY alınır ve 7 yıllık imatinib tedavisi alan hastaların %40'ında TMY alınır.⁷⁹ Günümüz randomize çalışmalar göstermiştir ki dasatinib ve nilotinib daha çabuk ve daha derin tedavi yanıtları vermiştir.⁸⁰⁻⁸² Bazı çalışma sonuçlarına göre imatinib tedavisi ile 2 yıl veya daha fazla stabil olan hastaların tedavisi yakın moleküler takip ile sonlandırılabilir.⁸³⁻⁸⁹ Ancak Mahon ve arkadaşlarının yaptığı çok merkezli STIM çalışmasında 12 aydan uzun takip edilen 69 hastada TMY %39 oranında korundu ve hastaların %61'inde relaps tespit edildi.

2.4. Akselere faz KML Aşağıdakilerden herhangi birinin varlığı akselere faz KML'yi tanımlar.

- Periferik kan veya kemik iliğinde %10-19 blast
- Periferik kanda %20'nin üzerinde bazofil
- Tedaviyle ilişkisiz trombositopeni (100 binin altında) veya tedaviye cevapsız trombositoz (1 milyonun üzerinde)
- Artmış dalak boyutu

- Tedaviye cevapsız artmış beyaz kan hücresi

Corts ve arkadaşları DSÖ kriterlerinden farklı bir öneri getirmiş ve periferik kanda blast oranı için %15 ve fazlası, periferik kanda %30 ve daha fazla blast ve promyelosit, %20 ve daha fazla bazofil, trombosit düzeyi 100 bin ve altı olmasını önermişlerdir.⁹¹

2.5. Blastik faz Uluslararası KİT birimine göre blastik kriz, kanda veya kemik iliğinde veya her ikisinde %30 ve üzeri blast artışı veya ekstramedüller hastalık varlığı olmasıdır.⁹² DSÖ kriterlerine göre blastik kriz periferik kanda veya kemik iliğinde %20 ve üzeri blast hücreleri, ekstramedüller blast varlığıdır.⁹⁰

AF-KML ve BF-KML hastalarına tedavi başlangıcında kemik iliği sitogenetiği ve mutasyonel analiz ve hepsine klinik bir çalışmaya katılım önerilir.

Myeloid BF-KML olan 36 hastalık bir çalışmada daunorubicin ve sitarabin tedavisine imatinib eklenmesi ile 6 yıllık takiplerde %78 hematolojik cevap alınmıştır.⁹³

TKI tedavisini takiben AF-KML'ye progresyon olduğunda dasatinib (140 mg günde bir defa) nilotinib 400mg (günde 2 kez) veya bosutinib (500 mg günde bir) veya ponatinib (45 mg günde bir) uygun seçeneklerdir. TKI tedavi seçimi önceki tedavi ve/veya mutasyon testlerine dayanır. TKI tedavisine cevaba göre allojenik HSCT kararı verilir. 2 veya daha fazla TKI tedavisine dirençli veya intoleran olan AF-KML'e ilerleyen hastalar için omacetaxine iyi bir tedavi seçeneğidir.

2.6. Allojenik Hematopoetik Stem Cell Transplant: Allojenik HSCT güçlü küratif bir tedavidir ancak KML hastalarında TKI tedavisinin mükemmel sonuçları allojenik HSCT tedavisinin birinci basamak tedavisindeki rolünü değiştirmiştir.^{94,95}

Allojenik HSCT sonuçları hastalığın fazı, HLA uygunluğu, yaş, cinsiyet ve tanıdan nakle kadar geçen süre ile değişebilir.⁹⁶ Düşük HSCT komorbidite indeksi ve düşük CRP düzeyi prognostik belirleyicilerdir.⁹⁷ HLA uyumlu transplantasyonlarda 5 yıllık sağkalım oranları KF hastalarda %75, akselere fazda %40 ve blastik faz hastalarda %10'dur.⁹⁸ İlk kronik fazda allojenik HSCT olan hastalarda en az 5 yıl remisyon ve uzun dönem sağkalım görülür.⁹⁹

2.6.1. Allojenik HSCT endikasyonları

Allojenik HSCT tanı sırasında blastik fazda olan nadir, T315I mutasyon tespit edilen hastalarda tüm TKI'lara rezistan diğer BCR-ABL mutasyonu tespit edilen hastalarda ve tüm TKI'lara intoleran nadir hastalarda uygun bir seçenektir.^{94,100}

MD Anderson kanser merkezinin güncel raporuna göre allojenik HSCT, T315I mutasyonu olan KML hastalarında özellikle erken evrelerde etkili bir stratejidir ve kronik fazda nakle giden hastalarda en iyi sonuç alınır.¹⁰¹ BCR-ABL mutasyonu olan ve transplant yapılan hastalarda 2 yıllık olaysız sağkalım %36 iken, BCR-ABL mutasyonu olmayanlarda bu oran %58'dir.

2.6.2. NCCN 2013 Önerileri

İmatinib tedavisinin hastaların çoğunda başarılı cevaplar vermesi ve dasatinib ve nilotinib tedavilerinin yeni tanı hastalarda erken etki göstermesinden dolayı allojenik HSCT kronik faz KML hastalarında artık ilk tedavi seçenekleri arasında değildir.

- BCR-ABL/ABL >%10 (IS) veya PSY (daha düşük cevap) 3. ayda
- 12. ayda minör sitogenetik cevap veya sitogenetik cevabın alınmaması
- 18. ayda PSY
- 6, 12 veya 18. ayda sitogenetik relaps olması

Radich ve arkadaşları HSCT sonrası 6. veya 12. ayda PCR pozitifliğini (hastaların %42'si) hastaların %3'ünde test edilen PCR negatifliği ile karşılaştırıldığında relaps için yüksek riskli olarak rapor etmişlerdir. Bu çalışma göstermiştir ki erken PCR pozitifliği daha agresif hastalık ve relaps için yüksek risk ile ilişkilidir.¹⁰²

2.6.3. Nakil sonrası relaps tedavisi

Allojenik HSCT sonrası relaps KML hastalarında, donör lenfosit infüzyonu kronik fazda akselere faz relapsa göre daha etkilidir. Transplant sonrası imatinib tedavisinde komplet hematolojik ve sitogenetik cevap oranları kronik faz relapsta

akselere faza göre daha yüksektir. İmatinib yüksek riskli hastalarda transplantasyonu takiben relapsı önlemek için profilaktik olarak da etkilidir.

Bosutinib ve ponatinib, dasatinib ve nilotinibe rezistan BCR-ABL mutasyonu olan hastalarda etkilidir. Ponatinib diğer tüm TKI'ne dirençli T315I mutasyonuna da etkilidir.

3. YÖNTEM VE GEREÇ

Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Hematoloji Kliniği tarafından Kronik Myeloid Lösemi (KML) tanısı ile takip edilen hastalar değerlendirilmiştir. Çalışmaya dâhil edilme kriteri olarak kliniğe düzenli takiplerine gelmek ve medikal bilgilerine ulaşılabilir olmak esas alınmıştır. Klinikte bu tanı ile takip edilen ve kriterlere uyan toplam 100 hasta çalışmaya katılmak üzere telefon ile davet edilmiş ve araştırma hakkında detaylı bilgi verilerek katılmak isteyenlerin onamları alınmıştır. Hastalardan 6 tanesine ulaşılamamış, 2 tanesi de çalışmaya katılmak istemediklerini belirtmişlerdir. Kalan 92 hasta çalışmaya alınmış ve hastaların tüm medikal bilgileri hasta dosyaları ve hasta muayeneleri yolu ile elde edilmiştir. Çalışma Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik kurulunca onaylanmıştır.

Hastaların tedaviye verdikleri hematolojik yanıt European LeukemiaNet kriterlerine göre değerlendirilmiştir (5, 6). Buna göre hematolojik yanıt tam, kısmi ve yanıtsızlık olarak değerlendirildi. BCR-ABL/ABL oranının uluslar arası ölçeğe göre \leq %0.1 olması major moleküler yanıt olması olarak kabul edildi. Tüm hastalara BCR-ABL düzeyi hematoloji laboratuvarında tedavi öncesi ve tedavi sonrası 3 aylık aralar ile bakıldı. BCR-ABL düzeyleri Roche LightCycler® t(9;22) Quantification Kit kullanılarak ölçüldü. Bu kit BCR-ABL'nin G6PDH'ye oranının kantitatif değerlendirilmesine olanak vermektedir ve kontaminasyon riskini minimuma indirmek için non-nested PCR yöntemini kullanmaktadır. Hastalar her basamak tedavi öncesinde hastalığın hangi fazında oldukları açısından tekrar değerlendirildi.

Ocak 2012 – Ekim 2013 tarihleri arasında kliniğe gelen hastaların rutin muayene ve tetkikleri yapıldı. Ek olarak mutasyon analizi için bir EDTA'lı tüpe 5 ml kan alındı. Bu kanlar -20 °C'de saklandı. Tüm kanlar toplandıktan sonra DNA izolasyon aşamasına geçildi. "Roche High Pure PCR Template Preparation Kit" hazırlanarak aşağıdaki izolasyonlar yapılmıştır. Isı bloğu 70°C'ye ayarlandıktan sonra (hasta sayısı x 100 mikrolitre) ELUTION SOLÜSYONU boş bir eppendorfa konuldu ve ısı bloğuna konuldu. (Hasta sayısı x 40 mikrolitre) PROTEİNAZ K çıkarıldı. Daha sonra sırasıyla 200 µl BINDING BUFFER + 200 µl TAM KAN + 40 µl PROTEİNAZ K vidalı

eppendorflara konuldu. İyice karıştırılarak ısı bloğunda 70 °C’de 10 dakika bekletildi. Isı bloğundan alınan tüplerin üzerine 100 µl İZOPROPANOL koyuldu ve iyice karıştırıldı. Eppendorf pipeti 560 µl’ye ayarlandı ve tüm karışım numaralanan filtreli tüplere aktarıldı (alt tarafta toplayıcı tüp üstte filtreli tüp olacak şekilde). 8000 rpm’de 1 dakika çevrildi. Altta kalan tüp atıldı. 500 µl İNHİBİTÖR REMOVAL BUFFER koyuldu. 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Altta kalan tüp atıldı. 500 µl WASH BUFFER koyuldu. 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Altta kalan tüp atıldı. 500 µl WASH BUFFER tekrar koyuldu. 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Altta kalan tüp döküldü. 13000 rpm’de 10 saniye santrifüj edildi. Altta kalan tüp atıldı. Filtreli tüpler, isim ve numara yazılmış olan kapaklı eppendorfların içine koyuldu. Isı bloğundaki ELUTION BUFFER’den 100’er µl tüplerin içine koyuldu. (Isı önemli olduğundan hızlı bir şekilde koyuldu). 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Filtreli tüpler atıldı. Altta kalan eppendorf tüpündeki elde edilen DNA -20 °C’de saklandı.

Elde edilen c- DNA’lardaki 5 mutasyon (E255K, E255V, M351T, T315I ve Y253H) TIBMOLBIOL firmasıyla sentezletilen LightSNiP 121913448-49-57-59 ve 61 nolu rs kitleri ile üretici firmanın göndermiş olduğu protokollere göre çalışıldı. Çalışma protokolü aşağıdaki gibidir.

REAL TIME PCR AŞAMASI

Reagent Miks Hazırlama

RS121913448-49-57-59 ve 61 nolu mutasyonlar için TIBMOLBIOL tarafından sentezlenen ve liyofilize halde bulunan LightSNiP’lerin herbiri üretici firma tavsiyelerine uyularak 100’er ul PCR grade water ile çözdürüldü.

Reaksiyon Miksi Hazırlama (Örnek başına)

Reagent Miks	1 ul
Pcr Grade Water	4 ul
<u>LC 480 Probe Master</u>	<u>10 ul</u>
Total	15 ul

Beş mutasyon için de uygun Reagent Miksi seçilerek aynı miks protokolü kullanılmıştır. Hazırlanan reaksiyon miksi Roche LightCycler 480 II Real Time PCR sistemine uygun 96 kuyucuklu levhalara yüklendi (Kuyucuk başına 15 ul hacimde miks

dağıtıldı.). Ardından her bir DNA örneğinden 5'er ul alınarak kuyucuklara yüklendi ve toplamda 20'şer ul hacme ulaşıldı. (Her mutasyon çalışılırken kontrol amaçlı 1'er adet de Negatif Kontrol olarak PCR grade water yüklendi). Levhanın üzeri Sealing Foil ile kapatıldı. Ardından plate LightCycler 480 II sistemine uygun protokol ile yüklendi (Tablo 1). Beş mutasyon için de aynı ısı protokolü kullanıldı.

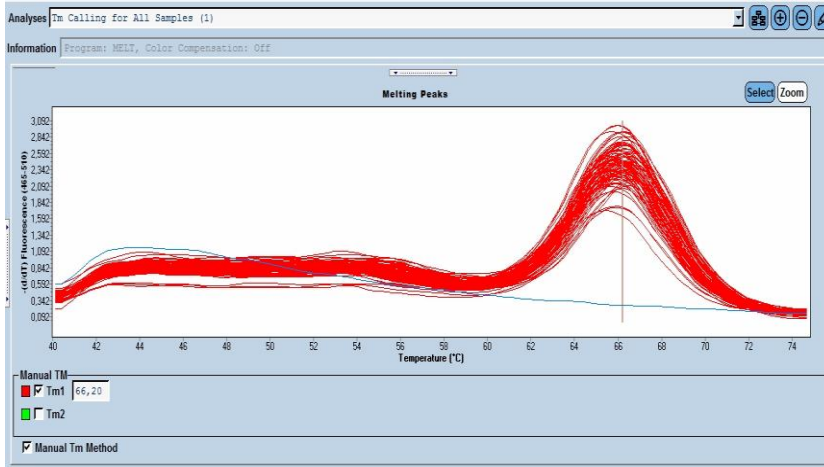
Tablo 1. Isı Protokolü

	Denaturation	Cycling			Melting			Cooling
Parameter								
Analysis Mode	None	Quantification			Melting Curves			None
Cycles	1	45			1			1
Segment	1	1	2	3	1	2	3	1
Target [°C]	95	95	60	72	95	40	75	40
Hold [hh:mm:ss]	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:15	00:00:30	00:02:00	00:00:00	00:00:30
Ramp Rate [°C/s]384	4.6	4.6	2.4	4.6	4.6	2.0	-	2.0
Ramp Rate [°C/s]96	4.4	4.4	2.2	4.4	4.4	1.5	-	1.5
Acquisitions Mode	None	None	Single	None	None	Single	Contin.	None
Acquisitions [per °C]							3	

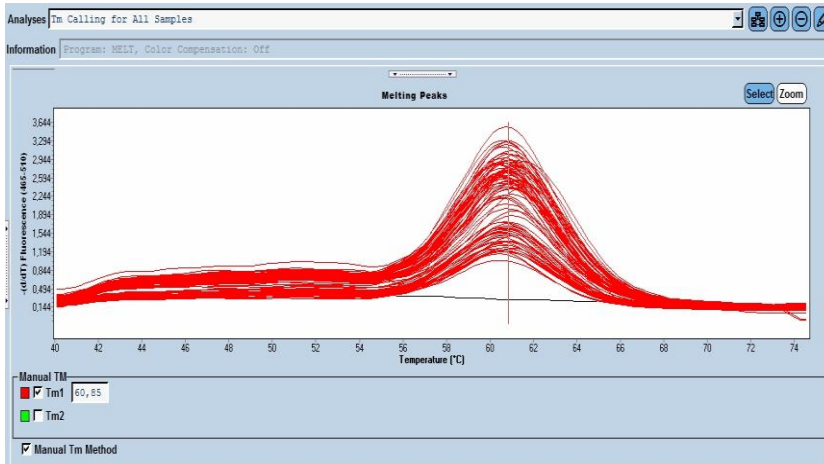
ANALİZ AŞAMASI

Çalışmaların analizleri LightCycler 480 II sistemine ait software üzerinden TM CALLING analiz tipi seçilerek ve TM (Erime Eğrisi) dereceleri incelenerek yapılmıştır. Erime eğrileri ve referans baz dizileri Şekil 1-9'da gösterilmiştir.

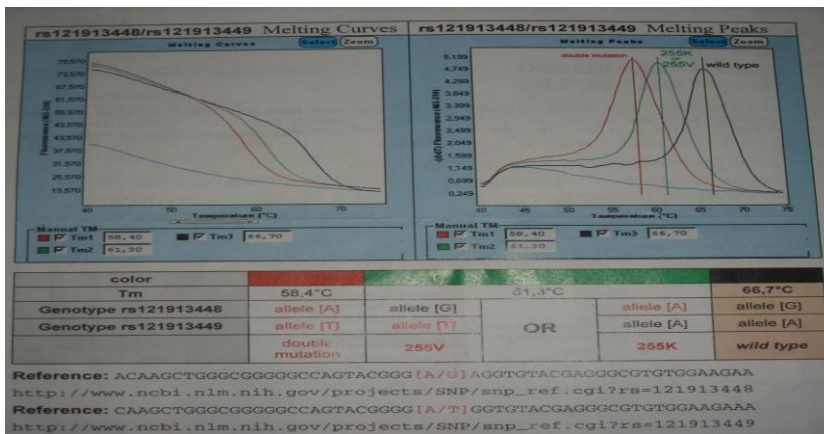
Şekil 1. E255K Mutasyonu Olmadığını Gösteren Erime Eğrisi Grafiği



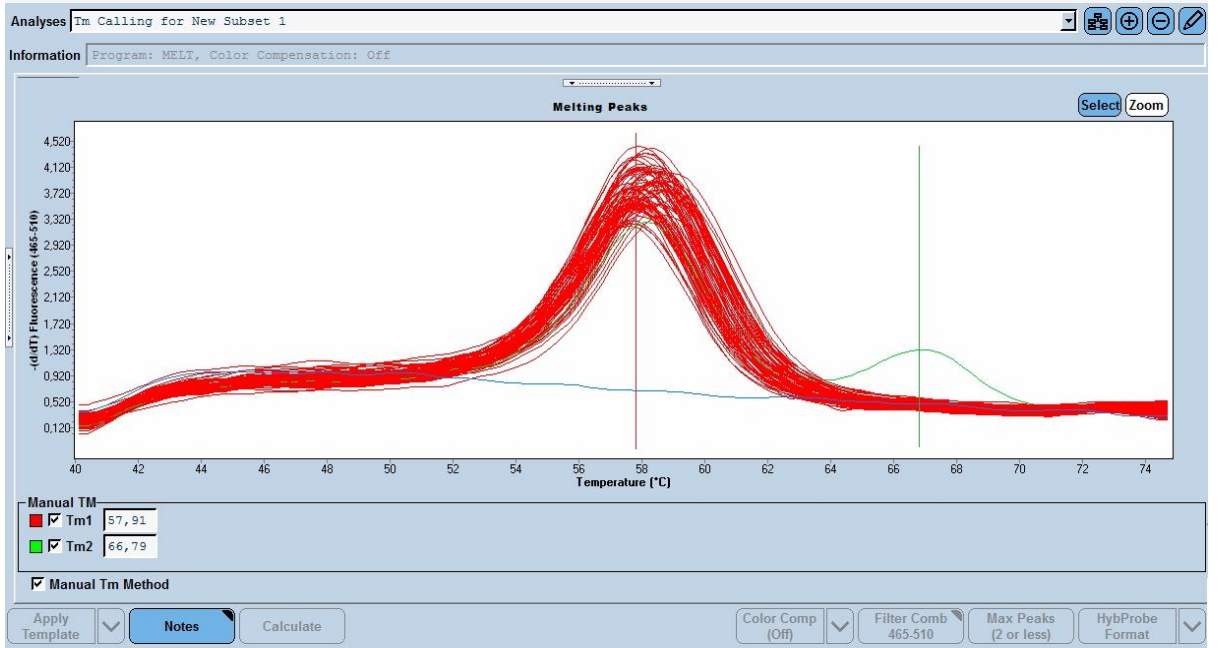
Şekil 2. E255V Mutasyonu Olmadığını Gösteren Erime Eğrisi Grafiği



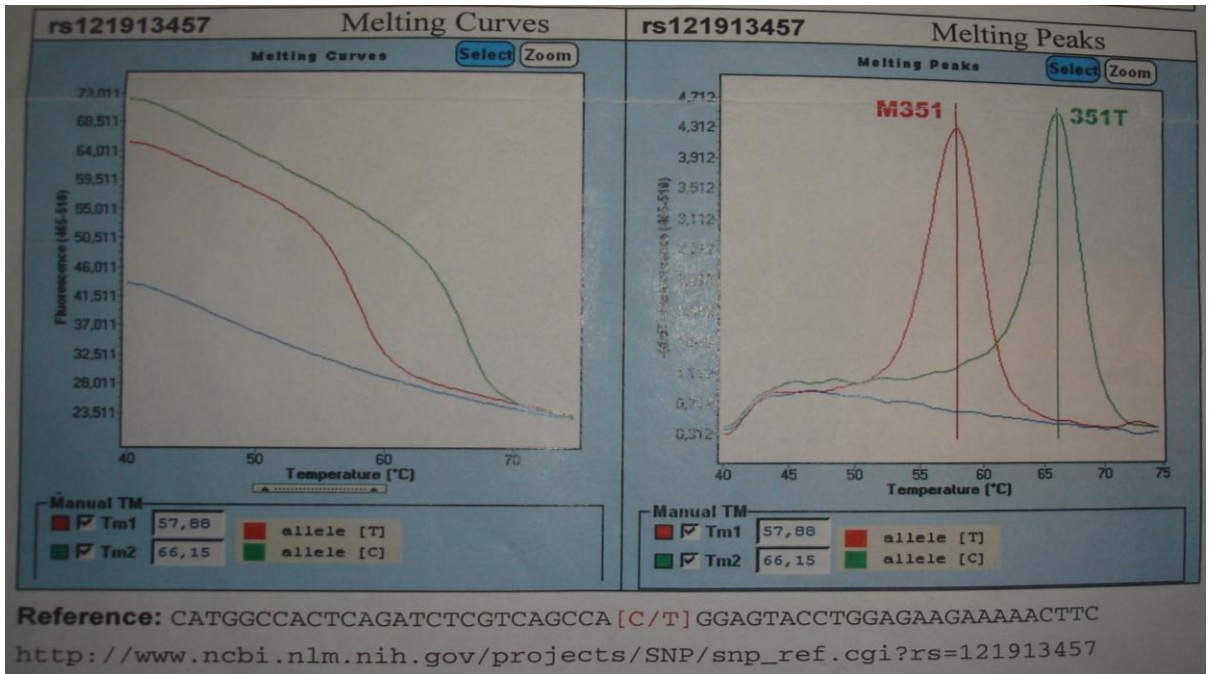
Şekil 3. rs121913448-49 Erime Tepe Noktaları



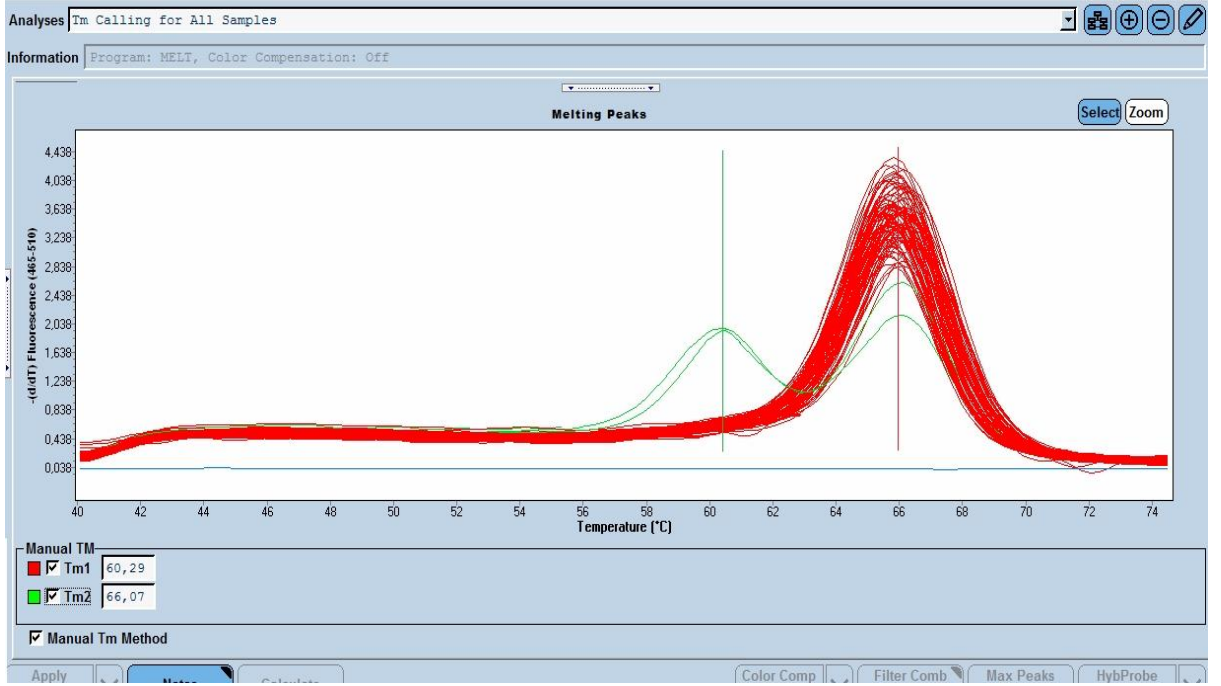
Şekil 4. M351T Mutasyonu Olduğunu Gösteren Erime Eğrisi Grafiği



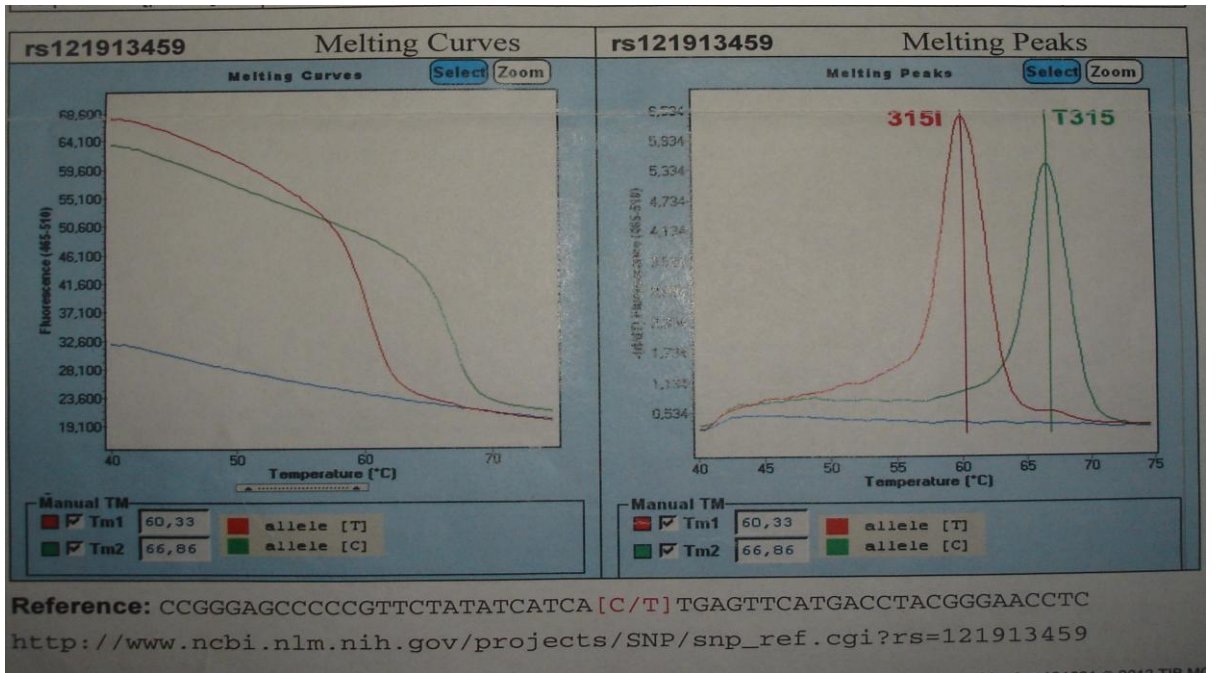
Şekil 5. rs121913457 Erime Tepe Noktaları



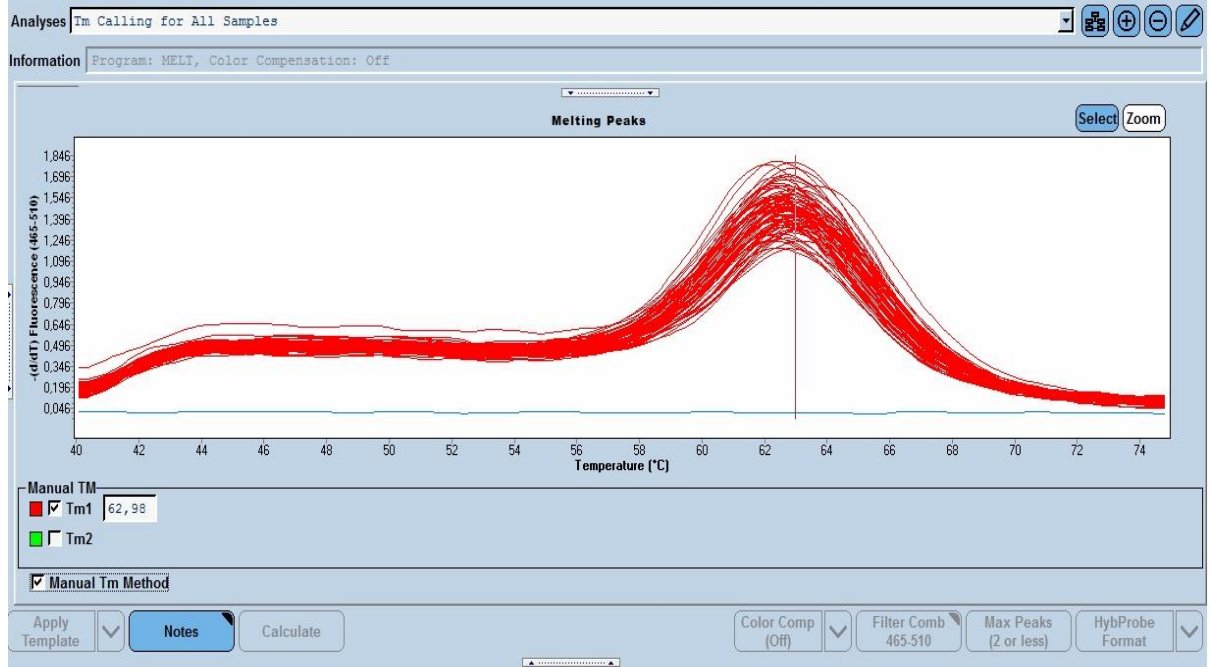
Şekil 6. T315I Mutasyonu Olduğunu Gösteren Erime Eğrisi Grafiği



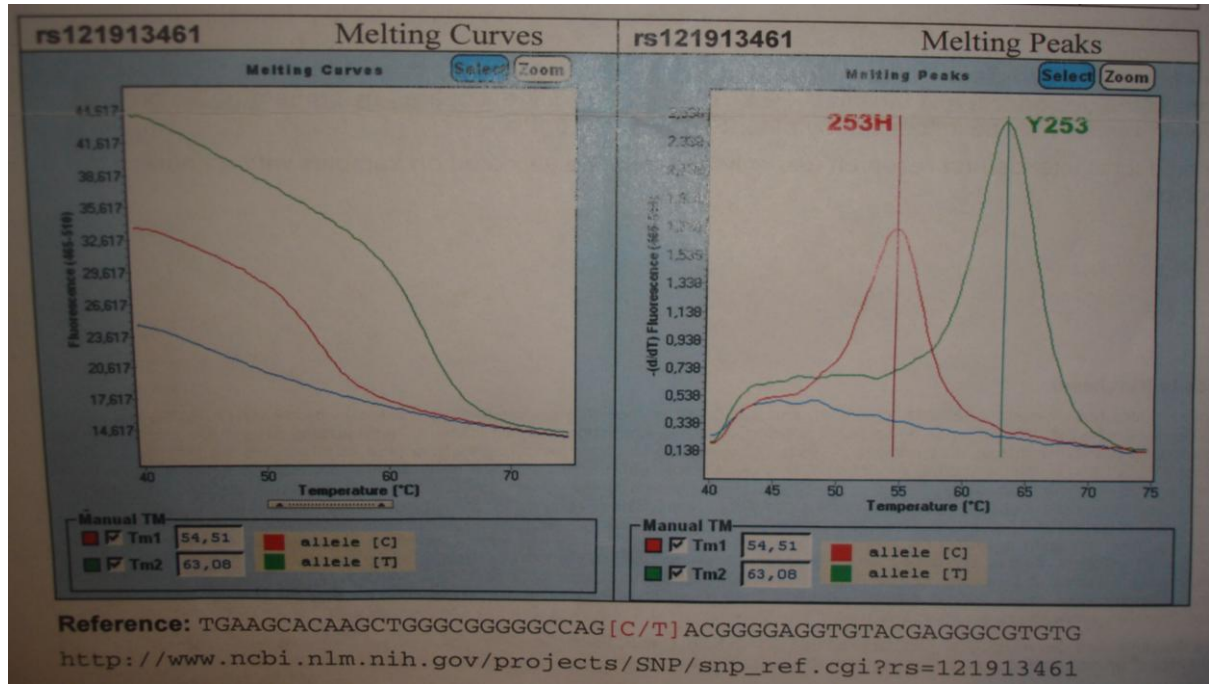
Şekil 7. rs121913459 Erime Tepe Noktaları



Şekil 8. Y253H Mutasyonu Olmadığını Gösteren Erime Eğrisi Grafiği



Şekil 9. rs121913461 Erime Tepe Noktaları



İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS programı (SPSS v. 15.0, demo, Illinois, USA) kullanıldı. Parametrik verilerin normal dağılıma uyup uymadıkları Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak test edildi. Normal dağılmayan veriler için ortanca [median] (minimum – maksimum) değerleri kullanıldı. Bunların karşılaştırmalarında ikiden fazla grup için Kruskal Wallis, ikili gruplar için Mann-Whitney U testleri kullanıldı. BCR-ABL değerlerine logaritmik dönüşüm uygulandı ve dönüştürme sonucunda normal dağılım elde edildi. Tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırma için eşleştirilmiş grupta t testi uygulandı. Non-parametrik verilerin karşılaştırmaları için ki kare testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık seviyesi için p değeri <0.05 olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan toplam 92 hastanın 45'i (%49) kadın iken, 47'si (%51) erkek idi. Ortalama yaş 49.3 ± 15.3 idi. En uzun süre takip edilen hasta 1995 yılından bu yana takip ediliyorken tanıdan bu yana geçen ortanca zaman 3 yıl (0-18 yıl) idi. Hastaların tanı anındaki ek hastalıkları incelendiğinde diyabetes mellitus ile hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar sırasıyla %5.4 ve %4.3 sıklık ile en sık görülen ek hastalıklar olarak bulunmuştur. Yine tanı tarihinde hastaların %70.7'sinde splenomegali tespit edilmişti.

Hastalara ilk basamak ilaç olarak ülkemizde imatinib olmadığı yıllarda interferon- α (12 hasta) verilmiş ve daha sonraki yıllarda imatinibe erişim mümkün olduğunda imatinib (80 hasta) verilmişti. Birinci basamak ilaçlar ortanca zaman olarak 18.5 ay (minimum 2, maksimum 108 ay) kullanılmıştı. Tablo 2'de birinci basamak ilaç uygulamalarının sonuçları verilmiştir. Tablodan da görüleceği üzere tanı anında en sık karşılaşılan hastalık fazı %89.2 ile kronik faz idi. Blastik faz hastaların %4.3'ünde mevcut idi. Hematolojik yanıt hastaların büyük bir çoğunluğunda, %90.2, elde edildi. Hastaların %33.7'si birinci basamak ilaca majör moleküler yanıt vermiş ve majör moleküler yanıtın başlangıç süresinin ortancası 12 ay (minimum 2, maksimum 72 ay) olarak bulunmuştur. 92 hastanın 50'sinde (%54.3) en sık sebep majör moleküler yanıt olmaması endikasyonu (%86) ile ikinci basamak ilaç tedavisine ihtiyaç duyulmuştur. Birinci basamak ilaçlara karşı en sık gözlenen yan etki, hematolojik toksisite (%8.7) olarak bulunmuştur.

Tablo 2. Birinci basamak ilaç kullanımı ile ilgili veriler.

		N	%
Hastalık Fazı	Kronik Faz	82	89.2
	Akselere Faz	6	6.5
	Blastik Faz	4	4.3
Birinci basamak ilaç	İmatinib	80	87
	İnterferon- α	12	13
İlk ilaç hematolojik yanıt	Var	83	90.2
	Yok	9	9.8
Birinci ilaca majör moleküler yanıt	Yok	61	66.3
	Var	31	33.7
Majör moleküler yanıtın başlama süresi	Ortanca [Median] (ay)	12	
	Genişlik [Range] (ay)	2-72	
Yeni ilaç ihtiyacı	Oldu	50	54.3
	Olmadı	42	45.7
Yeni ilaç endikasyonu	Majör moleküler yanıtızsızlık	43	86
	Majör moleküler yanıt yetersiz	5	10
	İntolerans	2	4
İlk ilaç yan etki	Yok	82	89.1
	Hematolojik toksisite	8	8.7
	Hematolojik toksisite ve ödem	1	1.1
	Karaciğer enzimlerinde yükselme	1	1.1

İkinci basamak ilaç tedavisine ihtiyaç duyulan 50 hastanın verileri Tablo 3'te sunulmuştur. Yine ikinci basamak ilaç tedavisinin başlangıcında da hastaların büyük çoğunluğu kronik fazda idi (%92). İkinci basamak ilaç olarak nilotinib, dasitinib ve imatinib kullanılmıştı. Nilotinib %48 ile en sık kullanılan ikinci basamak ilaç idi. İkinci basamak ilaç kullanma ortanca süresi 23.5 ay (minimum 3, maksimum 108 ay) idi. Hastaların %86'sında hematolojik yanıt elde edilmiş, majör moleküler yanıt ise %50 hastada elde edilmişti. Majör moleküler yanıt elde edilen hastalarda bu yanıt alınması için geçen zamanın ortancası 12 ay (minimum 3, maksimum 72) idi. Toplam 20

hastanın (%40) üçüncü basamak ilaç ihtiyacı oldu. İkinci basamak ilaç tedavisine karşı en sık görülen yan etki hematolojik toksisite ile karaciğer enzimlerinde yükselme idi.

Tablo 3. İkinci basamak ilaç kullanımı ile ilgili veriler.

		N	%
İkinci basamak ilaç verilmesi esnasındaki faz			
	Kronik Faz	46	92
	Akselere Faz	4	8
	Blastik Faz	0	0
İkinci ilaç			
	Nilotinib	24	48
	Dasitinib	14	28
	İmatinib	12	24
İkinci basamak ilaç hematolojik yanıt			
	Var	43	86
	Yok	7	14
İkinci basamak ilaca majör moleküler yanıt			
	Yok	25	50
	Var	25	50
Majör moleküler yanıtın başlama süresi			
	Ortanca [Median] (ay)	12	
	Genişlik [Range] (ay)	3-72	
Yeni ilaç ihtiyacı			
	Oldu	20	40
	Olmadı	30	60
İkinci basamak ilaç yan etki			
	Yok	42	84
	Hematolojik toksisite	3	6
	Diğer	2	4
	Karaciğer enzimlerinde yükselme	3	6

Üçüncü basamak ilaç kullanımı ile ilgili veriler Tablo 4’te sunulmuştur. En sık görülen faz %70 ile kronik faz idi. Üçüncü basamak ilaç olarak en sık tercih edilen ilaç %55 ile dasatinib idi. Hastalarda hematolojik yanıt %70 oranında görülürken, majör moleküler yanıt oranı %55 idi. Üçüncü basamak ilaçlar ortanca olarak 5 ay (minimum 2, maksimum 52 ay) kullanılmış idi. Majör moleküler yanıtın başlama süresinin ortancası 12 ay (minimum 2, maksimum 48 ay) idi. Üçüncü basamak ilaç kullanımında da en sık görülen yan etki hematolojik toksisite idi.

Tablo 4. Üçüncü basamak ilaç kullanımı ile ilgili veriler.

Üçüncü basamak ilaç verilmesi esnasındaki faz		
Kronik Faz	14	70
Akselere Faz	5	25
Blastik Faz	1	5
Üçüncü basamak ilaç adı		
Nilotinib	6	30
Dasatinib	11	55
İmatinib	3	15
Üçüncü basamak ilaç hematolojik yanıt		
Yok	6	30
Var	14	70
Üçüncü basamak ilaca majör moleküler yanıt		
Yok	9	45
Var	11	55
Majör moleküler yanıtın başlama süresi		
Ortanca [Median] (ay)	12	
Genişlik [Range] (ay)	2-48	
Üçüncü basamak ilaç yan etki		
Yok	15	75
Hematolojik toksisite	3	15
Pankreatit	1	5
Karaciğer enzimlerinde yükselme	1	5

Birinci, ikinci ve üçüncü basamak olarak kullanılan ilaçların majör moleküler yanıt elde etme açısından karşılaştırmaları Tablo 5'te sunulmuştur. Birinci basamak ilaç olarak İnterferon- α ile hiçbir hastada majör moleküler yanıt alınamamışken, İmatinib kullanan hastaların %38.8'inde (31/80) majör moleküler yanıt elde edilmişti ve bu fark anlamlı idi ($p=0.007$, ki kare) (Tablo 5). Fakat ikinci ve üçüncü basamak olarak kullanılan ilaçlar arasında majör moleküler yanıt elde etme oranı açısından herhangi bir fark mevcut değildi (sırasıyla $p=0.116$ ve $p=0.616$) (Tablo 5).

Tablo 5. İlaçlarla elde edilen majör moleküler yanıtın karşılaştırması

		Moleküler yanıt yok	Moleküler yanıt var	p*
Birinci basamak ilaç	İmatinib	49	31	0.007
	İnterferon- α	12	0	
İkinci basamak ilaç	Nilotinib	13	11	0.116
	Dasatinib	9	5	
	İmatinib	3	9	
Üçüncü basamak ilaç	Nilotinib	3	3	0.616
	Dasatinib	4	7	
	İmatinib	2	1	

*: ki kare testi

Majör moleküler yanıtın başlaması için geçen süre açısından yapılan analiz Tablo 6'da gösterilmiştir. Birinci ilaç olarak yalnızca imatinib kullananlarda majör moleküler yanıt olmuş, interferon kullanan hastaların hiçbirinde majör moleküler yanıt elde edilememiştir. İmatinib ile majör moleküler yanıtın alındığı 31 hastada majör moleküler yanıt alma süresinin ortancası 14 ay (minimum 2, maksimum 72 ay) idi. İkinci basamak ilaçlar ile majör moleküler yanıtın alınmasına kadar geçen sürelerin karşılaştırmasında Dasatinib ile elde edilen majör moleküler yanıtın İmatinibe oranla anlamlı derecede daha kısa sürede elde edildiği bulunmuştur (Tablo 6). Üçüncü basamak ilaçlar arasında fark bulunmamıştır.

Tablo 6. Majör moleküler yanıt başlangıç süresi ile kullanılan ilaçların karşılaştırması

	Nilotinib	Dasatinib	İmatinib	p*
İkinci basamak ilaç olarak	12 (5-20)	5 (3-20)**	12 (12-72)	0.022
Üçüncü basamak ilaç olarak	12 (12-36)	6 (3-48)	36 (36)	0.866

*: Kruskal Wallis testi

** : Mann-Whitney U testi, anlamlı olarak İmatinibten farklı, p=0.03

Toplam 92 hastanın 3'ünde (%3.3), 2'si T315I ve diğeri M351T olmak üzere, mutasyon tespit edildi. Mutasyon durumu ile birinci, ikinci ve üçüncü basamak ilaçlara olan majör moleküler yanıtların karşılaştırması Tablo 7'de gösterilmiştir. İkinci basamak ilaç kullanımında mutasyon olan hastaların hiçbirinde majör moleküler yanıt alınmazken (%0) bu oran mutasyon olmayan hastalarda %46.8 idi (p=0.037). Üçüncü basamak ilaç kullanımında mutasyonu olmayan hastaların %38.9'unda majör moleküler yanıt yokken bu oran mutasyon olan hastalarda %100 idi (p=0.063).

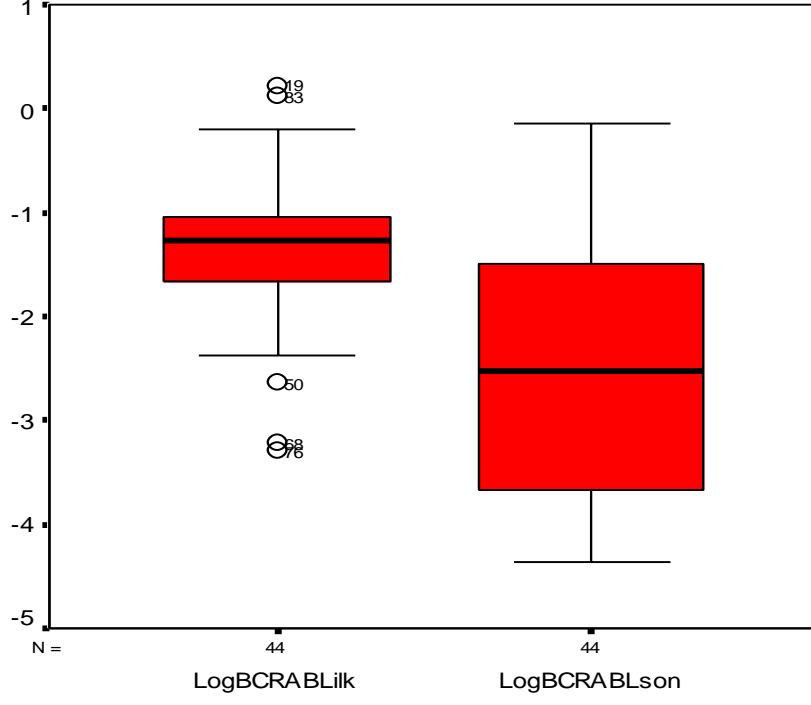
Tablo 7. Mutasyon durumu ile kullanılan ilaca majör moleküler yanıtın karşılaştırması

	Mutasyon Yok		Mutasyon Var	p*
İlk ilaç majör moleküler yanıt	Yok	58	3	0.113
	Var	31	0	
İkinci ilaç majör moleküler yanıt	Mutasyon Yok		Mutasyon Var	0.037
	Yok	22	3	
	Var	25	0	
Üçüncü ilaç majör moleküler yanıt	Mutasyon Yok		Mutasyon Var	0.063
	Yok	7	2	
	Var	11	0	

*: ki kare testi.

Hastaların birinci basamak tedavi öncesi ölçülen logaritmik BCR-ABL değerleri ile aldıkları son tedavi sonrası ölçülen logaritmik BCR-ABL değerleri Şekil 10'da gösterilmiştir. BCR-ABL değerleri tedavi sonrasında 48 hastada sifıra düşmüştü. Tedavi öncesi ortalama logaritmik BCR-ABL değeri $\log -1.41 \pm 0.71$ iken tedavi sonrası ortalama değer $\log -2.51 \pm 1.16$ olarak bulunmuştur ve bu değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (eşleşmeli iki grupta t testi, $p < 0.0001$).

Şekil 10. Tedavi öncesi ve sonrası log BCR-ABL değerleri



5. TARTIŞMA

Bu çalışmada kliniğimizde takip edilen KML tanılı hastalarda en sık görülen beş adet BCR-ABL mutasyonu varlığı ve mutasyon durumunun tedaviye verilen yanıt ile olan ilişkisi araştırılmış, incelenen hasta grubunda mutasyon oranı %3.3 olarak tespit edilmiş ve mutasyon mevcudiyetinin uygulanan tedavi ile elde edilen majör moleküler yanıt üzerine negatif etkili olabileceği tespit edilmiştir.

BCR-ABL mutasyon varlığı ile verilen tedaviye yanıt arasındaki ilişki son yıllarda üzerinde sık çalışılan bir konudur. Yabancı ülkelerde yapılan bu çalışmalarda BCR-ABL mutasyonlarının prevalansı imatinib tedavisinin başarısız olduğu hastalarda %36 ile %55.7 arasında değişmektedir.¹⁰⁹ Çalışmamızda incelediğimiz toplulukta hizmet verdiğimiz Adana ili ve çevresinde yaşayan KML'li hastalarda en sık görülen beş mutasyonun prevalansının %3.3 olduğunu tespit ettik. İlk basamak tedavileri incelendiğinde interferon kullanan ve tedaviye yanıt vermeyen 12 hastanın 2'sinde (%16.7) [1 adet T315I ve 1 adet M351T mutasyonu) mutasyon mevcut idi. İlk ilaç olarak imatinib kullanan ve tedaviye yanıt vermeyen 38 hastadan birinde (%2.6) T315I mutasyonu mevcut idi.

İmatinibin etkileyici sonuçlarına rağmen, imatinible tedavi edilen bir grup hastada direnç gelişir. Tedavi cevabında başarısızlık primer direnç olarak değerlendirilir, primer hematolojik direnç ve primer sitogenetik direnç olarak ayrılır. Sekonder direnç ise önce tedaviye yanıt daha sonra takip eden hematolojik veya sitogenetik cevapta kayıptır. Hematolojik direnç %2-4 vakada tespit edilirken, sitogenetik direnç %15 - %25 vakada saptanmış olup daha yaygındır. BCR-ABL'de mutasyonlar primer dirençten çok nadiren sorumludur. Son çalışmalar primer direnci ilaç metabolizma geni olan prostaglandin-endoperoksidaz sentaz 1, siklooksijenaz 1'in artışı ile ilişkilendirmiş olup imatinibe primer direnci olan hastaları ayırt etmede bir belirteç olarak kullanılabilir.¹⁰³ İmatinib direnci 2 kategoriye ayrılabilir. BCR-ABL bağımlı ve BCR-ABL bağımsız.

1. grup BCR-ABL'nin amplifikasyon veya overekspresyonunu veya protein ürününü ve ABL sekansının nokta mutasyonunu içerir.^{61,62} İkinci grup çoklu ilaç direnci ekspresyonunu ve Src kinazın overekspresyonunu içerir.¹⁰⁴ BCR-ABL bağımlı

mekanizmalar yaygındır. Bunlar imatinibe klinik direnç geliştiren hastaların %50'de saptanan nokta mutasyonlarıdır.^{105, 106}

Yeni tanı almış KML hastalarında bazal mutasyon görüntülenmesinin cevap tahminine bir katkısı yoktur ve rutin olarak kullanılmamalıdır.¹⁰⁸ Bir çalışmada yüksek sensitivitede DNA sekans tekniği kullanılarak imatinible tedavi edilen hastalarda mutasyonun bazal değeri ve cevap, progresyonsuz sağkalım ve hastaliksız sağkalım arasında bir bağlantı gösterilmemiştir. Diğer çalışmalarda tedavi öncesi mutasyon belirlemesinin imatinibe insensitiviteyi gösteremeyeceğini doğrulamıştır.¹⁰⁹⁻¹¹¹ Bu çalışmada da benzer olarak ilk basamak tedavi olarak imatinib ve interferon kullanan hastalarda mutasyon varlığı ile majör moleküler yanıt arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

Redaelli ve arkadaşları nilotinib, dasatinib ve bosutinibin 18 BCR-ABL mutasyonuna karşı in vitro aktivitesini raporlamışlardır.¹¹² En sık görülen 8 mutasyon (T315I, Y253F/H, E255D/K/R/V, M351T, G250A/I/E, F359C/L/V, H396P/R ve M244V mutasyonu olan hastaların %85'inde saptanır. Mutasyonlar yarı maksimal inhibitör konsantrasyon (IC50) değerleri kullanılarak sensitif, orta rezistan, rezistan ve yüksek rezistan olarak ayrılır. Yazarların bulunduğu nokta bu bilgilerin 'doğru hasta doğru TKI tedavisini' seçmek için hekimlere olanak sağladığıdır. Hipertansiyon, atipik enfeksiyon ve pulmoner hastalık öyküsü olan, F317L, V299L veya Q252H mutasyonları olan hastalarda nilotinib, E255K/V, Y253H ve F359C/V mutasyonu olan hastalarda dasatinib tercih edilmelidir. T315I mutasyonu olan hastalarda omacetaxin, AP24534, klinik çalışmalar veya HSCT düşünülmelidir.

Dasatinib ve nilotinib T315I BCR-ABL'ye karşı etkisiz olmasına rağmen bu mutasyon daha çok KML'nin ilerlemiş fazlarını etkiliyor gibi görünmektedir. Bu çalışmada da T315I mutasyonu olan 2 hastada da nilotinib veya dasatinib ile majör moleküler yanıt elde edilememiştir. T315I bulunan hastalarda diğer terapilerle (AP24534, omacetaxin) iyi sonuçlar alınmaktadır. Kök hücre transplantasyonu ikinci ya da üçüncü kuşak TKI tedavisine yanıt vermeyen veya T315I mutasyonlu hastalarda yeni ajanlara yanıt olmadıysa uygulanabilir. Mutasyonu olan veya olmayan hastalarda hematolojik ve sitogenetik cevap aynıdır. Altı yıllık takiplerde olaysız sağkalım %83 ve hastaliksız sağkalım %90 olarak rapor edilmiştir.¹¹³ İmatinibin anlamlı yanıtına rağmen

bazı kronik faz yeni tanı almış hastalarda %1-%7 rezistans gelişebilir.^{113,114} BCR-ABL'nin kinaz alanındaki (domain) mutasyonlar KML hastalarında imatinib rezistansının en sık görülen mekanizmasıdır.

İmatinib rezistansının üstesinden gelmek için dasatinib, nilotinib gibi daha güçlü TKI'lar geliştirilmiştir. T315I dışında çoğu imatinib rezistan KD mutasyonuna karşı etkili olmuşlardır.^{115,116} Çalışmamızda mutasyonu olan 2 hastada T315I mutasyonu mevcut idi ve bu hastalarda nilotinib ve dasatinib etkili olmadı. Bu hastalar halen akselere fazda idi. Yine diğer M351T mutasyonu olan hastada da bu ilaçlar ile majör moleküler yanıt alınamamıştır.

İlginç olarak ilerlemiş fazlarda olan hastalarda mutasyonların in vitro duyarlılığı olaysız ve hastalısız sağkalıma minimal etkili veya hiç etkili değildir. Bu şöyle açıklanabilir: ilerlemiş fazlarda rezistans multifaktoriyeldir. Sıklıkla ilave kromozomal ve olası diğer onkojenik yolların aktivasyonu ile birlikte dir.^{107,117}

Yüzün üzerinde BCR-ABL mutasyonu belirlenmiştir.¹⁰⁷⁻¹¹⁹ Çoğu imatinibe duyarlı kalmasına rağmen¹²⁰ bazıları azalmış cevap ve dirençle ilişkilidir fakat mutasyon varlığı her zaman direnci göstermez.¹⁰⁷

Mutasyon analizi pahallı olmasına rağmen başarısız tedavinin maliyeti daha büyük olabilir. İmatinib bağlanmasını engelleyen ATP bağlama paketini bozan T315I mutasyonu en iyi karakterize edilmiş mutasyondur.

İmatinib direncinin üstesinden gelmenin bir başka yolu ikinci kuşak TKI'lara geçmektir. T315I olmayan en sık BCR-ABL mutasyonları olan M244V, G250E ve M351T in vitro olarak hem nilotinibe hem dasatinibe yüksek duyarlıdır.¹¹⁶ Fakat bu çalışmada M351T mutasyonu olan tek hastada gerek nilotinib gerekse de dasatinib ile moleküler yanıt elde edilememiştir.

BCR-ABL mutasyon oluşumu ve tedaviye cevap arasındaki ilişkiyi daha iyi anlamamız sonucunda mutasyon testi, klinik cevap ile devam eden imatinib dirençli KML'de ve ikinci kuşak TKI tedavisi altında klinik progresyon gösteren imatinib dirençli hastalarda önerilmektedir.¹²¹⁻¹²³ Bu bilgilerin eşliğinde klinikte karar verirken dikkatli olmak gerekmektedir. Güncel çalışmalar göstermiş ki tüm mutasyonlar klinik

ve prognostik öneme sahip değildirler.¹⁰⁸ Düşük düzeylerde mutant klonları tedaviye direnç göstermeyen pek çok hastada da mevcuttur.^{107,109,111} Mutasyon testleri KML için tedavinin bir bölümü olarak bir bütünün içinde olacaksa mutasyon analizleri için daha ileri arındırılmış tekniklere ve bu bulgulara dayanan optimal klinik yolu daha iyi anlamaya ihtiyaç vardır.

KML tedavisinde amaç %100 sağkalım ve normal hayat kalitesidir. Tedaviyi sonlandırmak başarılı bir tedavinin cazip bir sonucu olarak düşünülse de stabil bir tam molekuler yanıtı başaran hasta sayısı azdır. Tedaviye ara vermek, major molekuler yanıtı olan ve güvenli gebelik geçirmek isteyen kadınlarda düşünülmelidir.¹²⁴

Daha önceki imatinib tedavisi alloHSCT sonuçlarını etkilemez.¹²⁵⁻¹²⁷ Şu ana kadar ki bilgilerde nilotinib veya dasatinible daha önce tedavi edilen hastalarda transplant ilişkili toksisite bildirilmemiştir.^{128,129}

Tedavi önerileri: Hidroksiüre kısa bir süre için veya TKI'nın önerilmediği durumlarda kullanılabilir. İmatinib gebeliğin başında ve tüm gebelik boyunca kullanılmadığı için interferon alfa gebelikte tedavi seçeneğidir.¹²⁴ Ayrıca düşük riskli hastalarda imatinibin uygun olmadığı zamanlarda kullanılabilir. Bunların dışında kronik faz KML hastalarında imatinib dozu günde 400 mg, ilaca tolerans olduğunda seçenekler nilotinib ve dasatinibdir. AlloHSCT akselere faz ve blastik faz hastalarda veya T315I mutasyonu olup 2. kuşak TKI'ların başarısız olduğu durumlarda önerilir.

TKI ile başarılı bir tedaviyi normal olarak sonlandırmamalı. Önemli yan etkiler dışında tedaviyi standart dozun altına düşürmemek gerekir.

Tam hematolojik yanıt ve tam sitogenetik yanıt ilerlemiş KML hastalarda düşük düzeydedir.¹³² Her yıl kronik faz hastaların %6'da yanıt kaybı olup imatinibin standart dozlarına karşı direnç gelişmektedir.¹ İlerlemiş KML hastalarda rezistans daha yüksektir.^{107,130-133}

Hematolojik rezistans hastaların %2-4'ünde gelişirken sitogenetik direnç daha sık olup %15-25 hastada görülür.¹³⁴ BCR-ABL mutasyonları nadiren primer dirençten sorumludurlar.¹³⁵ Sekonder direnç hematolojik cevap veya sitogenetik cevabın kazanılıp daha sonra kaybıdır. BCR-ABL mutasyon varlığı her zaman klinik dirence neden

olmaz. Aslında direncin boyutu mutasyonun imatinibe duyarlılığına bağlıdır.¹²⁰

Yeni tanı KML hastalarında bazal mutasyon düzeyinin cevaba faydasının olmadığı gösterilmiştir¹⁰⁸ ve rutin olarak uygulanmamalıdır. İlave çalışmalar tedaviden önce mutasyonun belirlenmesinin imatinibe duyarsızlık hakkında bilgi vermeyeceğini doğrulamıştır.¹⁰⁹

Dasatinibe özellikle direnç geliştiren mutasyonlar T315A, V299L ve F317L/C/V ve nilotinibe direnç geliştirenler Y253H, E255K/V, L273M ve F359V mutasyonlarıdır.

Çalışmalar göstermiştir ki progresyon gösteren bir kısım hastada mutasyon saptanmamıştır.^{109,136} İlave olarak diğer çalışmalar göstermiştir ki TSY olan hastalar BCR-ABL mutasyonu geliştirebilir ve TSY'ı devam ettirebilir.^{111,137}

Bazal BCR-ABL mutasyonları imatinib tedavi sonucunu belirleyemeyeceği için bazal mutasyon testleri gerekli değildir. İmatinib tedavi başarısızlığı sonucunda alternatif yaklaşıma ihtiyaç vardır. İmatinibin dozu arttırılabilir ama hiç hematolojik veya sitogenetik yanıt alınmamış veya bilinen imatinib rezistan mutasyonu olan hastalarda etkisi olmaz.

En büyük amaç tedaviye cevabı en doğru şekilde belirleyecek pek çok faktöre dayanan, hasta prognozunu gösterecek bir skorlama sistemi geliştirmektir. Bu skorlama sistemi aşağıdakilerden bir veya bir kaçını içerir: ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) performans skoru, imatinibe önceki sitogenetik cevap, belli bir TKI'ya düşük duyarlılık ile bazal mutasyonlar, bazofili, sokal skoru ve rekürren nötropeni.^{68,138,139}

Bu çalışmada not edilmesi gereken bazı kısıtlamalar mevcuttur. Öncelikle değerlendirilen hasta popülasyonunun sayısı 92 gibi az bir sayıdır ki incelenen mutasyonlar sadece 3 hastada tespit edilebilmiştir. Bir diğer konu da tedaviye yanıt değerlendirilirken sitogenetik yanıt değerlendirilmemiş, hematolojik ve moleküler yanıtlar göz önünde bulundurulmuştur. Sonuçlar değerlendirilirken bu konular göz ardı edilmemelidir.

6. SONUÇLAR

- ✓ Bu çalışmanın sonuçlarına göre mutasyon varlığı ikinci basamak ilaç tedavisinde istatistiksel olarak anlamlı ve üçüncü basamak ilaç tedavisinde de istatistiksel anlamlılığa çok yakın olmak üzere majör moleküler tedaviye yanıtı negatif etkilemektedir.
- ✓ Çalışmamızda toplam 3 mutasyonun 2'si tedavilere en dirençli mutasyon tipi olan T315I mutasyonuydu. İki hastamız da ikinci kuşak TKI tedavisine yanıt vermemiş ve akselere fazdaydılar.
- ✓ M351T mutasyonunun hem nilotinibe hem dasatinibe yüksek duyarlı olduğu bilinmektedir fakat bu çalışmada M351T mutasyonu olan tek hastada gerek nilotinib gerekse de dasatinib ile moleküler yanıt elde edilememiştir.
- ✓ Tüm mutasyonlar ilaca direnç ile ilişkili değildir. Tedaviye yanıt bu çalışmada olduğu gibi mutasyon tipi ile ilişkili olabilir.
- ✓ Buradan hareketle yeni tanı KML hastalarında bazal mutasyon bakılmasına gerek yoktur. İmatinib dirençli olgularda mutasyon bakılması uygun 2. kuşak tirozin kinaz inhibitörünün belirlenmesinde katkı sağlayabilir.
- ✓ KML tedavisinde amaç %100 sağkalım ve normal hayat kalitesidir.
- ✓ Hastada ilaçlara direncin yüksek olduğu bir mutasyon gösterildiği zaman hastaya gereksiz ilaç tedavisi ile vakit ve kaynak kaybının önüne geçilmiş olacaktır.
- ✓ İleriki çalışmalarımızda daha fazla hasta ve daha çok mutasyon ile çalışılarak tespit edilecek mutasyonun artması mümkündür.

6. KAYNAKLAR

1. **Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, et al.** The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* **1999**;341:164-172.
2. **Sawyers CL.** Chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* **1999**;340:1330-1340.
3. **Sokal J, Cox E, Baccarani M, et al.** Prognostic discrimination in 'good-risk' chronic granulocytic leukemia. *Blood* **1984**; 63:789-799.
4. **Hasford J, Pffirman M, Hehlmann R, et al.** A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. Writing Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group. *J Natl Cancer Inst* **1998**; 90:850-858.
5. **Michele Baccarani, Jorge Cortes, Fabrizio Pane, et al.** Chronic myeloid leukemia: An Update of Concepts and Management Recommendations of European Leukemianet. *J Clin Oncol.* **2009** Dec 10;27(35):6041-6051
6. **Neil P Shah, Hagop P Kantarjian, Dong-Wook Kim, et al.** Intermittent Target Inhibition with Dasatinib 100 mg Once Daily Preserves Efficacy and Improves Tolerability in Imatinib – Resistant and Intolerant Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol* **2006**:3204-3212.
7. **Jabbour E, Cortes JE, Giles FJ, et al.** Current and emerging treatment options in chronic myeloid leukemia. *Cancer* **2007**;109:2171-2181.
8. **Stone RM.** Optimizing treatment of chronic myeloid leukemia: a rational approach. *Oncologist* **2004**;9:259-270.
9. **Hochhaus A, Druker B, Sawyers C, et al.** Favorable long term follow-up results over six years for response, survival, and safety with imatinib mesylate therapy in chronic-phase chronic myeloid leukemia after failure of interferon-alpha treatment. *Blood* **2008**;111:1039-1043.
10. **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.
11. **Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, et al.** Five-year follow-up patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* **2006**;355:2408-2417.
12. **Deininger M, O'Brien SG, Guilhot F, et al.** International randomized study of interferon vs STI571 (IRIS) 8-year follow-up: sustained survival and low risk for progression or events in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) treated with imatinib. *Blood* **2009**;114:Abstract 1126.
13. **Guilhot F, Druker B, Larson RA, et al.** High rates of durable response are achieved with imatinib after treatment with interferon alpha plus cytarabine: results from the International Randomized Study of Interferon and STI571 (IRIS) trial. *Haematologica* **2009**;94:1669-1675.
14. **Schiffer CA.** BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors for chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* **2007**;357:258-265.

15. **Hughes TP, Branford S, White DL, et al.** Impact of early dose intensity on cytogenetic and molecular responses in chronic phase CML patients receiving 600 mg/day of imatinib as initial therapy. *Blood* **2008**;112:3965-3973.
16. **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.
17. **Cortes JE, Kantarjian HM, Goldberg SL, et al.** High dose imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: high rates of rapid cytogenetic and molecular responses. *J Clin Oncol* **2009**;27:4754-4759.
18. **Castagnetti F, Palandri F, Amabile M, et al.** Results of high-dose imatinib mesylate in intermediate Sokal risk chronic myeloid leukemia patients in early chronic phase: a phase 2 trial of the GIMEMA CML Working Party. *Blood* **2009**;113:3428-3434.
19. **Baccarani M, Rosti G, Castagnetti F, et al.** Comparison of imatinib 400 mg and 800 mg daily in the front-line treatment of high-risk, Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia European LeukemiNet Study. *Blood* **2009**;113:4497-4504.
20. **Cortes JE, Baccarani M, Guilhot F, et al.** Phase III randomized, open-label study of daily imatinib mesylate 400 mg versus 800 mg in patients with newly diagnosed, previously untreated chronic myeloid leukemia in chronic phase using molecular end points: tyrosine kinase inhibitor optimization and selectivity study. *J Clin Oncol* **2010**; 28:424-430.
21. **Shah NP, Tran C, Lee FY, et al.** Overriding imatinib resistance with a novel ABL kinase inhibitor. *Science* **2004**; 305:399-401.
22. **Talpaz M, Shah NP, Kantarjian H, et al.** Dasatinib in imatinib-resistant Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med* **2006**;354:2531-2541.
23. **Hochhaus A, Kantarjian HM, Baccarani M, et al.** Dasatinib induces notable hematologic and cytogenetic responses in chronic-phase chronic myeloid leukemia after failure of imatinib therapy. *Blood* **2007**;109:2303-2309.
24. **Mauro MJ, Baccarani M, Cervantes F, et al.** Dasatinib 2 year efficacy in patients with chronic-phase chronic myelogenous leukemia (CML-CP) with resistance or intolerance to imatinib (START-C). *J Clin Oncol* **2008**;26:7009.
25. **Baccarani M, Rosti G, Saglio G, et al.** Dasatinib time to and durability of major and complete cytogenetic response (MCyR and CCyR) in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) [abstract]. *Blood* **2008**;112:Abstract 450
26. **Guilhot F, Apperley J, Kim DW, Bullorsky EO, Baccarani M, Roboz GJ, Amadori S, de Souza CA, Lipton JH, Hochhaus A, Heim D, Larson RA, Branford S, Muller MC, Agarwal P, Gollerkeri A, Talpaz M.** Dasatinib induces significant hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or -intolerant chronic myeloid leukemia in accelerated phase. *Blood*. **2007**;109:4143-50.

27. **Apperley JF, Cortes JE, Kim DW, Roy L, Roboz GJ, Rosti G, Bullorsky EO, Abruzzese E, Hochhaus A, Heim D, de Souza CA, Larson RA, Lipton JH, Khoury HJ, Kim HJ, Sillaber C, Hughes TP, Erben P, Van Tornout J, Stone RM.** Dasatinib in the treatment of chronic myeloid leukemia in accelerated phase after imatinib failure: the START a trial. *J Clin Oncol.* **2009**;27:3472-9.
28. **Cortes J, Rousselot P, Kim DW, Ritchie E, Hamerschlak N, Coutre S, Hochhaus A, Guilhot F, Saglio G, Apperley J, Ottmann O, Shah N, Erben P, Branford S, Agarwal P, Gollerkeri A, Baccarani M.** Dasatinib induces complete hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or -intolerant chronic myeloid leukemia in blast crisis. *Blood.* **2007**;109:3207-13.
29. **Cortes J, Kim DW, Raffoux E, Martinelli G, Ritchie E, Roy L, Coutre S, Corm S, Hamerschlak N, Tang JL, Hochhaus A, Khoury HJ, Brümmendorf TH, Michallet M, Rege-Cambrin G, Gambacorti-Passerini C, Radich JP, Ernst T, Zhu C, Van Tornout JM, Talpaz M.** Efficacy and safety of dasatinib in imatinib-resistant or -intolerant patients with chronic myeloid leukemia in blast phase. *Leukemia.* **2008**;22:2176-83.
30. **Shah NP, Kantarjian HM, Kim DW, Réa D, Dorlhiac-Llacer PE, Milone JH, Vela-Ojeda J, Silver RT, Khoury HJ, Charbonnier A, Khoroshko N, Paquette RL, Deininger M, Collins RH, Otero I, Hughes T, Bleickardt E, Strauss L, Francis S, Hochhaus A.** Intermittent target inhibition with dasatinib 100 mg once daily preserves efficacy and improves tolerability in imatinib-resistant and -intolerant chronic-phase chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* **2008**;26:3204-12
31. **Shah NP, Kim DW, Kantarjian H, Rousselot P, Llacer PE, Enrico A, Vela-Ojeda J, Silver RT, Khoury HJ, Müller MC, Lambert A, Matloub Y, Hochhaus A.** Potent, transient inhibition of BCR-ABL with dasatinib 100 mg daily achieves rapid and durable cytogenetic responses and high transformation-free survival rates in chronic phase chronic myeloid leukemia patients with resistance, suboptimal response or intolerance to imatinib. *Haematologica.* **2010**;95:232-40
32. **Kantarjian H, Cortes J, Kim DW, Dorlhiac-Llacer P, Pasquini R, DiPersio J, Müller MC, Radich JP, Khoury HJ, Khoroshko N, Bradley-Garelik MB, Zhu C, Tallman MS.** Phase 3 study of dasatinib 140 mg once daily versus 70 mg twice daily in patients with chronic myeloid leukemia in accelerated phase resistant or intolerant to imatinib: 15-month median follow-up. *Blood.* **2009**;113:6322-9.
33. **Saglio G, Hochhaus A, Goh YT, Masszi T, Pasquini R, Maloisel F, Erben P, Cortes J, Paquette R, Bradley-Garelik MB, Zhu C, Dombret H.** Dasatinib in imatinib-resistant or imatinib-intolerant chronic myeloid leukemia in blast phase after 2 years of follow-up in a phase 3 study: efficacy and tolerability of 140 milligrams once daily and 70 milligrams twice daily. *Cancer.* **2010**;116:3852-61
34. **Kantarjian H, Shah NP, Cortes J, et al.** Dasatinib or imatinib (IM) in newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): Two-year follow-up from DASISION (abstract). *J Clin Oncol* **2011**;29(Suppl 15): Abstract6510.
35. **Radich JP, Kopeccky KY, Kamel-Reid S, et al.** A randomized phase II trial of dasatinib 100 mg vs imatinib 400 mg) in newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): the S0325 Intergroup trial (abstract). *Blood* **2010**;116;Abstract LBA-6.
36. **Kantarjian H, Giles F, Wunderle L, Bhalla K, O'Brien S, Wassmann B, Tanaka C, Manley P, Rae P, Mielowski W, Bochinski K, Hochhaus A, Griffin JD, Hoelzer D, Albitar M,**

Dugan M, Cortes J, Alland L, Ottmann OG. Nilotinib in imatinib-resistant CML and Philadelphia chromosome-positive ALL. *N Engl J Med.* **2006**;354:2542-51

37. **Kantarjian HM, Giles F, Gattermann N, Bhalla K, Alimena G, Palandri F, Ossenkoppele GJ, Nicolini FE, O'Brien SG, Litzow M, Bhatia R, Cervantes F, Haque A, Shou Y, Resta DJ, Weitzman A, Hochhaus A, le Coutre P.** Nilotinib (formerly AMN107), a highly selective BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor, is effective in patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in chronic phase following imatinib resistance and intolerance. *Blood.* **2007**;110:3540-6.
38. **Kantarjian HM, Giles FJ, Bhalla KN, Pinilla-Ibarz J, Larson RA, Gattermann N, Ottmann OG, Hochhaus A, Radich JP, Saglio G, Hughes TP, Martinelli G, Kim DW, Shou Y, Gallagher NJ, Blakesley R, Baccarani M, Cortes J, le Coutre PD.** Nilotinib is effective in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase after imatinib resistance or intolerance: 24-month follow-up results. *Blood.* **2011**;117:1141-5
39. **le Coutre P, Ottmann OG, Giles F, Kim DW, Cortes J, Gattermann N, Apperley JF, Larson RA, Abruzzese E, O'Brien SG, Kuliczowski K, Hochhaus A, Mahon FX, Saglio G, Gobbi M, Kwong YL, Baccarani M, Hughes T, Martinelli G, Radich JP, Zheng M, Shou Y, Kantarjian H.** Nilotinib (formerly AMN107), a highly selective BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor, is active in patients with imatinib-resistant or -intolerant accelerated-phase chronic myelogenous leukemia. *Blood.* **2008**;111:1834-9
40. **le Coutre PD, Giles F, Hochhaus A, et al.** Nilotinib in chronic myeloid leukemia patients in accelerated phase (CML-AP) with imatinib (IM) resistance or intolerance: Longer follow-up results of a phase II study. *J Clin Oncol* **2009**;27 (Suppl 15):Abstract 7057.
41. **Saglio G, Kim DW, Issaragrisil S, le Coutre P, Etienne G, Lobo C, Pasquini R, Clark RE, Hochhaus A, Hughes TP, Gallagher N, Hoenekopp A, Dong M, Haque A, Larson RA, Kantarjian HM; ENESTnd Investigators.** Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* **2010**;362:2251-9.
42. **Larson RA, Kim D, Rosti G, et al.** Comparison of nilotinib and imatinib in patients (pts) with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): ENESTnd 24-month follow-up (abstract). *J Clin Oncol* **2011**;29 (Suppl 15):Abstract 6511.
43. **Cortes JE, Kim DW, Kantarjian HM, Brümmendorf TH, Dyagil I, Griskevicius L, Malhotra H, Powell C, Gogat K, Countouriotis AM, Gambacorti-Passerini C.** Bosutinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: results from the BELA trial. *J Clin Oncol.* **2012**;30:3486-92
44. **Cortes JE, Kantarjian HM, Brümmendorf TH, Kim DW, Turkina AG, Shen ZX, Pasquini R, Khoury HJ, Arkin S, Volkert A, Besson N, Abbas R, Wang J, Leip E, Gambacorti-Passerini C.** Safety and efficacy of bosutinib (SKI-606) in chronic phase Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia patients with resistance or intolerance to imatinib. *Blood.* **2011**;118:4567-76.
45. **Gambacorti-Passerini C, Cortes JE, Khoury HJ, et al.** Safety and efficacy of bosutinib in patients with AP and BP CML and ph+ ALL following resistance/intolerance to imatinib and other TKIs: Update from study SKI-200. *J Clin Oncol.* **2010**;28 Abstract: 6509
46. **Khoury HJ, Cortes JE, Kantarjian HM, Gambacorti-Passerini C, Baccarani M, Kim DW, Zaritsky A, Countouriotis A, Besson N, Leip E, Kelly V, Brümmendorf TH.** Bosutinib is

active in chronic phase chronic myeloid leukemia after imatinib and dasatinib and/or nilotinib therapy failure. *Blood*. **2012**;119:3403-12.

47. **O'Hare T, Shakespeare WC, Zhu X, Eide CA, Rivera VM, Wang F, Adrian LT, Zhou T, Huang WS, Xu Q, Metcalf CA 3rd, Tyner JW, Loriaux MM, Corbin AS, Wardwell S, Ning Y, Keats JA, Wang Y, Sundaramoorthi R, Thomas M, Zhou D, Snodgrass J, Commodore L, Sawyer TK, Dalgarno DC, Deininger MW, Druker BJ, Clackson T.** AP24534, a pan-BCR-ABL inhibitor for chronic myeloid leukemia, potently inhibits the T315I mutant and overcomes mutation-based resistance. *Cancer Cell*. **2009**;16:401-12.
48. **Cortes JE, Kantarjian H, Shah NP, Bixby D, Mauro MJ, Flinn I, O'Hare T, Hu S, Narasimhan NI, Rivera VM, Clackson T, Turner CD, Haluska FG, Druker BJ, Deininger MW, Talpaz M.** Ponatinib in refractory Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med*. **2012**;367:2075-88.
49. **Cortes JE, Kim D-W, Pinilla-Ibarz J, et al.** A Pivotal Phase 2 Trial of Ponatinib in Patients with Chronic Myeloid Leukemia (CML) and Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia (Ph+ALL) Resistant or Intolerant to Dasatinib or Nilotinib, or with the T315I BCR-ABL Mutation: 12-Month Follow-up of the PACE Trial. *Blood* **2012**;120:Abstract 153
50. **Kim D-W, Cortes JE, Pinilla-Ibarz J, et al.** Efficacy and Safety of Ponatinib According to Prior Approved Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI) Therapy in Patients with Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase (CP-CML): Results From the PACE Trial. *Blood* **2012**;120:Abstract 3749
51. **Kantarjian HM, Kim D-W, Pinilla-Ibarz J, et al.** Efficacy and Safety of Ponatinib in Patients with Accelerated Phase or Blast Phase Chronic Myeloid Leukemia (AP-CML or BP-CML) or Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia (Ph+ ALL): 12-Month Follow-up of the PACE Trial. *Blood* **2012**;120:Abstract 915
52. **Hochhaus A, Saglio G, Chuah C, Pavlovsky C, Garelick BB, Lambert A, Shah.** Dasatinib and Imatinib-Induced Reductions in BCR-ABL Transcript Levels Below 10% At 3 Months Are Associated with Improved Responses in Patients with Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase (CML-CP): Analysis of Molecular Response Kinetics in the DASISION Trial *Blood*, **2011**;118: Abstract 2767
53. **Hehlmann R, Hanfstein B, Müller MC, Erben P, Lauseker M, Fabarius A, Schnittger S, Haferlach C, Goehring G, Krause SW, Dengler J, Falge C, Neubauer A, Stegelmann F, Pfreundschuh M, Spiekermann K, Baerlocher GM, Hasford J, Saussele S, Hochhaus A, SAKK and the German CML Study Group.** The prognostic significance of early molecular and cytogenetic response for long-term progression-free and overall survival in imatinib-treated chronic myeloid leukemia (CML). *J Clin Oncol* **2012**;30:6510
54. **Saglio G, Kantarjian HM, Shah N, et al.** Early Response (Molecular and Cytogenetic) and Long-Term Outcomes in Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase (CML-CP): Exploratory Analysis of DASISION 3-Year Data. *Blood* **2012**;120:Abstract 1675
55. **Branford S, Rudzki Z, Parkinson I, Grigg A, Taylor K, Seymour JF, Durrant S, Browett P, Schwarzer AP, Arthur C, Catalano J, Leahy MF, Filshie R, Bradstock K, Herrmann R, Joske D, Lynch K, Hughes T.** 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**;104:2926-32.

56. **Press RD, Willis SG, Laudadio J, Mauro MJ, Deininger MW.** Determining the rise in BCR-ABL RNA that optimally predicts a kinase domain mutation in patients with chronic myeloid leukemia on imatinib. *Blood.* **2009**;114:2598-605.
57. **Milojkovic D, Apperley J.** Mechanisms of Resistance to Imatinib and Second-Generation Tyrosine Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res.* **2009**;15:7519-7527
58. **Gambacorti-Passerini C, Zucchetti M, Russo D, Frapolli R, Verga M, Bungaro S, Tornaghi L, Rossi F, Pioltelli P, Pogliani E, Alberti D, Corneo G, D'Incalci M.** Alpha1 acid glycoprotein binds to imatinib (STI571) and substantially alters its pharmacokinetics in chronic myeloid leukemia patients. *Clin Cancer Res.* **2003**;9:625-32.
59. **Larson RA, Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, Riviere GJ, Krahnke T, Gathmann I, Wang Y; IRIS (International Randomized Interferon vs STI571) Study Group.** Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: a subanalysis of the IRIS study. *Blood.* **2008**;111:4022-8.
60. **Picard S, Titier K, Etienne G, Teilhet E, Ducint D, Bernard MA, Lassalle R, Marit G, Reiffers J, Begaud B, Moore N, Molimard M, Mahon FX.** Trough imatinib plasma levels are associated with both cytogenetic and molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. *Blood.* **2007**;109:3496-9
61. **Gorre ME, Mohammed M, Ellwood K, Hsu N, Paquette R, Rao PN, Sawyers CL.** Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification. *Science.* 2001;293:876-80.
62. **Le Coutre P, Tassi E, Varella-Garcia M, Barni R, Mologni L, Cabrita G, Marchesi E, Supino R, Gambacorti-Passerini C.** Induction of resistance to the Abelson inhibitor STI571 in human leukemic cells through gene amplification. *Blood.* **2000**;95:1758-66.
63. **Khorashad JS, de Lavallade H, Apperley JF, Milojkovic D, Reid AG, Bua M, Szydlo R, Olavarria E, Kaeda J, Goldman JM, Marin D.** Finding of kinase domain mutations in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia responding to imatinib may identify those at high risk of disease progression. *J Clin Oncol.* **2008**;26:4806-13.
64. **Müller MC, Cortes JE, Kim DW, Druker BJ, Erben P, Pasquini R, Branford S, Hughes TP, Radich JP, Ploughman L, Mukhopadhyay J, Hochhaus A.** Dasatinib treatment of chronic-phase chronic myeloid leukemia: analysis of responses according to preexisting BCR-ABL mutations. *Blood.* **2009**;114:4944-53.
65. **Hughes T, Saglio G, Branford S, Soverini S, Kim DW, Müller MC, Martinelli G, Cortes J, Beppu L, Gottardi E, Kim D, Erben P, Shou Y, Haque A, Gallagher N, Radich J, Hochhaus A.** Impact of baseline BCR-ABL mutations on response to nilotinib in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase. *J Clin Oncol.* **2009**;27:4204-10
66. **Hochhaus A, Kim D-W, Pinilla-Ibarz J, et al.** Molecular Responses with Ponatinib in Patients with Philadelphia Chromosome Positive (Ph+) Leukemia: Results From the PACE Trial. [Abstract] *Blood* **2012**;120:Abstract 3763

67. **Chen Y, Hu Y, Michaels S, Segal D, Brown D, Li S.** Inhibitory effects of omacetaxine on leukemic stem cells and BCR-ABL-induced chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia in mice. *Leukemia*. **2009**;23:1446-54.
68. **Milojkovic D, Nicholson E, Apperley JF, Holyoake TL, Shepherd P, Drummond MW, Szydlo R, Bua M, Foroni L, Reid A, Khorashad JS, de Lavallade H, Rezvani K, Paliompeis C, Goldman JM, Marin D.** Early prediction of success or failure of treatment with second-generation tyrosine kinase inhibitors in patients with chronic myeloid leukemia. *Haematologica*. **2010**;95:224-31
69. **Jabbour E, Kantarjian HM, O'Brien S, Shan J, Quintás-Cardama A, Garcia-Manero G, Rios MB, Cortes JE.** Front-line therapy with second-generation tyrosine kinase inhibitors in patients with early chronic phase chronic myeloid leukemia: what is the optimal response? *J Clin Oncol*. **2011**;29:4260-5.
70. **Tam CS, Kantarjian H, Garcia-Manero G, Borthakur G, O'Brien S, Ravandi F, Shan J, Cortes J.** Failure to achieve a major cytogenetic response by 12 months defines inadequate response in patients receiving nilotinib or dasatinib as second or subsequent line therapy for chronic myeloid leukemia. *Blood*. **2008**;112:516-8.
71. **Darkow T, Henk HJ, Thomas SK, Feng W, Baladi JF, Goldberg GA, Hatfield A, Cortes J.** Treatment interruptions and non-adherence with imatinib and associated healthcare costs: a retrospective analysis among managed care patients with chronic myelogenous leukaemia. *Pharmacoeconomics*. **2007**;25:481-96.
72. **Marin D, Bazeos A, Mahon FX, Eliasson L, Milojkovic D, Bua M, Apperley JF, Szydlo R, Desai R, Kozlowski K, Paliompeis C, Latham V, Foroni L, Molimard M, Reid A, Rezvani K, de Lavallade H, Guallar C, Goldman J, Khorashad JS.** Adherence is the critical factor for achieving molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia who achieve complete cytogenetic responses on imatinib. *J Clin Oncol*. **2010**;28:2381-8.
73. **Noens L, van Lierde MA, De Bock R, Verhoef G, Zachée P, Berneman Z, Martiat P, Mineur P, Van Eygen K, MacDonald K, De Geest S, Albrecht T, Abraham I.** Prevalence, determinants, and outcomes of nonadherence to imatinib therapy in patients with chronic myeloid leukemia: the ADAGIO study. *Blood*. **2009**;113:5401-11.
74. **Branford S, Yeung DT, Prime JA, Choi SY, Bang JH, Park JE, Kim DW, Ross DM, Hughes TP.** BCR-ABL1 doubling times more reliably assess the dynamics of CML relapse compared with the BCR-ABL1 fold rise: implications for monitoring and management. *Blood*. **2012**;119:4264-71.
75. **Wu EQ, Guerin A, Yu AP, Bollu VK, Guo A, Griffin JD.** Retrospective real-world comparison of medical visits, costs, and adherence between nilotinib and dasatinib in chronic myeloid leukemia. *Curr Med Res Opin*. **2010**;26:2861-9
76. **Yood MU, Oliveria SA, Cziraky M, Hirji I, Hamdan M, Davis C.** Adherence to treatment with second-line therapies, dasatinib and nilotinib, in patients with chronic myeloid leukemia. *Curr Med Res Opin*. **2012**;28:213-9.
77. **Cornelison M, Jabbour EJ, Welch MA.** Managing side effects of tyrosine kinase inhibitor therapy to optimize adherence in patients with chronic myeloid leukemia: the role of the midlevel practitioner. *J Support Oncol*. **2012**;10:14-24.

78. **Hochhaus A.** Advances in the treatment of haematological malignancies: optimal sequence of CML treatment. *Ann Oncol.* **2007**;18 Suppl 9:ix58-63.
79. **Branford S, Seymour JF, Grigg A, Arthur C, Rudzki Z, Lynch K, Hughes T.** BCR-ABL messenger RNA levels continue to decline in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib for more than 5 years and approximately half of all first-line treated patients have stable undetectable BCR-ABL using strict sensitivity criteria. *Clin Cancer Res.* **2007**;13:7080-5.
80. **Kantarjian HM, Shah NP, Cortes JE, Baccarani M, Agarwal MB, Undurraga MS, Wang J, Ipiña JJ, Kim DW, Ogura M, Pavlovsky C, Junghanss C, Milone JH, Nicolini FE, Robak T, Van Droogenbroeck J, Vellenga E, Bradley-Garelik MB, Zhu C, Hochhaus A.** Dasatinib or imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: 2-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood.* **2012**;119:1123-9.
81. **Kantarjian HM, Hochhaus A, Saglio G, De Souza C, Flinn IW, Stenke L, Goh YT, Rosti G, Nakamae H, Gallagher NJ, Hoenekopp A, Blakesley RE, Larson RA, Hughes TP.** Nilotinib versus imatinib for the treatment of patients with newly diagnosed chronic phase, Philadelphia chromosome-positive, chronic myeloid leukaemia: 24-month minimum follow-up of the phase 3 randomised ENESTnd trial. *Lancet Oncol.* **2011**;12:841-51
82. **Hochhaus A, Shah NP, Cortes JE, et al.** Dasatinib versus imatinib (IM) in newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): DASISION 3-year follow-up. *J Clin Oncol* **2012**;30:6504.
83. **Rousselot P, Huguet F, Rea D, Legros L, Cayuela JM, Maarek O, Blanchet O, Marit G, Gluckman E, Reiffers J, Gardembas M, Mahon FX.** Imatinib mesylate discontinuation in patients with chronic myelogenous leukemia in complete molecular remission for more than 2 years. *Blood.* **2007**;109:58-60.
84. **Ross DM, Grigg A, Schwarzer A, et al.** The Majority of Chronic Myeloid Leukaemia Patients Who Cease Imatinib after Achieving a Sustained Complete Molecular Response (CMR) Remain in CMR, and Any Relapses Occur Early. *Blood* **2008**;112:Abstract 1102.
85. **Mahon FX, Réa D, Guilhot J, Guilhot F, Huguet F, Nicolini F, Legros L, Charbonnier A, Guerci A, Varet B, Etienne G, Reiffers J, Rousselot P; Intergroupe Français des Leucémies Myéloïdes Chroniques.** Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol.* **2010**;11:1029-35.
86. **Goh H-G, Choi S-Y, Bang JH, et al.** Discontinuation of Imatinib Therapy in Chronic Myeloid Leukemia Patients with Sustained Complete Molecular Response4.5 (CMR4.5). *Blood* **2011**; 118:2763
87. **Matsuki E, Ono Y, Sakurai M, et al.** Discontinuation of Imatinib in Patients with CML and Sustained Complete Molecular Response (CMR) for Over 2 Years in the Japanese Population – An Interim Analysis of KEIO STIM Study. *Blood* **2011**; 118:3765
88. **Takahashi N, Kyo T, Maeda Y, Sugihara T, Usuki K, Kawaguchi T, Usui N, Okamoto S, Ohe Y, Ohtake S, Kitamura K, Yamamoto M, Teshima H, Motoji T, Tamaki T, Sawada K, Ohyashiki K.** Discontinuation of imatinib in Japanese patients with chronic myeloid leukemia. *Haematologica.* **2012**;97:903-6

89. **Ross M, Branford S, Seymour J, et al.** Frequent and sustained drug-free remission in the Australasian CML8 trial of imatinib withdrawal. (abstract) *Haematologica* **2012**;97(Suppl 1):Abstract 0189.
90. **Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al.** WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (ed 4). Lyon, France: IARC Press **2008**
91. **Cortes JE, Talpaz M, O'Brien S, Faderl S, Garcia-Manero G, Ferrajoli A, Verstovsek S, Rios MB, Shan J, Kantarjian HM.** Staging of chronic myeloid leukemia in the imatinib era: an evaluation of the World Health Organization proposal. *Cancer*. **2006**;106:1306-15
92. **Druker BJ, Lee S.** Chronic myelogenous leukemia. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 9th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins; **2011**:1962-1972.
93. **Deau B, Nicolini FE, Guilhot J, Huguet F, Guerci A, Legros L, Pautas C, Berthou C, Guyotat D, Cony-Makhoul P, Gardembas M, Michallet M, Hayette S, Cayuela JM, Weiss IR, Réa D, Castaigne S, Mahon FX, Guilhot F, Rousselot P.** The addition of daunorubicin to imatinib mesylate in combination with cytarabine improves the response rate and the survival of patients with myeloid blast crisis chronic myelogenous leukemia (AFR01 study). *Leuk Res*. **2011**;35:777-82
94. **Radich J.** Stem cell transplant for chronic myeloid leukemia in the imatinib era. *Semin Hematol*. **2010**;47:354-61
95. **Pavlu J, Szydlo RM, Goldman JM, Apperley JF.** Three decades of transplantation for chronic myeloid leukemia: what have we learned? *Blood*. **2011**;117:755-63
96. **Thomson AJ, Lunan CB, Ledingham M, Howat RC, Cameron IT, Greer IA, Norman JE.** Randomised trial of nitric oxide donor versus prostaglandin for cervical ripening before first-trimester termination of pregnancy. *Lancet*. **1998**;352(9134):1093-6.
97. **Pavlu J, Kew AK, Taylor-Roberts B, Auner HW, Marin D, Olavarria E, Kanfer EJ, MacDonald DH, Milojkovic D, Rahemtulla A, Rezvani K, Goldman JM, Apperley JF, Szydlo RM.** Optimizing patient selection for myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation in chronic myeloid leukemia in chronic phase. *Blood*. **2010**;115:4018-20.
98. **Horowitz MM, Rowlings PA, Passweg JR.** Allogeneic bone marrow transplantation for CML: a report from the International Bone Marrow Transplant Registry. *Bone Marrow Transplant*. **1996** May;17 Suppl 3:S5-6.
99. **Goldman JM, Majhail NS, Klein JP, Wang Z, Sobocinski KA, Arora M, Horowitz MM, Rizzo JD.** Relapse and late mortality in 5-year survivors of myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for chronic myeloid leukemia in first chronic phase. *J Clin Oncol*. **2010**;28:1888-95.
100. **Baccarani M, Cortes J, Pane F, Niederwieser D, Saglio G, Apperley J, Cervantes F, Deininger M, Gratwohl A, Guilhot F, Hochhaus A, Horowitz M, Hughes T, Kantarjian H, Larson R, Radich J, Simonsson B, Silver RT, Goldman J, Hehlmann R; European LeukemiaNet.** Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. *J Clin Oncol*. **2009**;27:6041-51

101. **Velev N, Cortes J, Champlin R, Jones D, Rondon G, Giralt S, Borthakur G, Kantarjian HM, De Lima M.** Stem cell transplantation for patients with chronic myeloid leukemia resistant to tyrosine kinase inhibitors with BCR-ABL kinase domain mutation T315I. *Cancer*. **2010**;116:3631-7
102. **Radich JP, Gehly G, Gooley T, Bryant E, Clift RA, Collins S, Edmands S, Kirk J, Lee A, Kessler P, et al.** Polymerase chain reaction detection of the BCR-ABL fusion transcript after allogeneic marrow transplantation for chronic myeloid leukemia: results and implications in 346 patients. *Blood*. **1995**;85:2632-8
103. **Zhang WW, Cortes JE, Yao H, et al.** Predictors of primary imatinib resistance in chronic myelogenous leukemia are distinct from those in secondary imatinib resistance. *J Clin Oncol* **2009**;27:3642-9.
104. **Weisberg E, Griffin JD.** Mechanism of resistance to the ABL tyrosine kinase inhibitor STI571 in BCR/ABL- transformed hematopoietic cell lines. *Blood* **2000**;95:3498-505.
105. **Branford S, Rudzki Z, Walsh S, et al.** 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**;102:276-83.
106. **Hochhaus A, Kreil S, Corbin AS, et al.** Molecular and chromosomal mechanisms of resistance to imatinib (STI571) therapy. *Leukemia* **2002**; 16:2190-6.
107. **Jabbour E, Kantarjian H, Jones D, et al.** Frequency and clinical significance of BCR-ABL mutations in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib mesylate. *Leukemia* **2006**;20:1767-73.
108. **Willis SG, Lange T, Demehri S, et al.** High-sensitivity detection of BCR-ABL kinase domain mutations in imatinib-naive patients: correlation with clonal cytogenetic evolution but not response to therapy. *Blood* **2005**;106:2128-37.
109. **Khorashad JS, Anand M, Marin D, et al.** The presence of a BCR-ABL mutant allele in CML does not always explain clinical resistance to imatinib. *Leukemia* **2006**;20:658-63.
110. **Mauro MJ.** Mutational analysis and overcoming imatinib resistance in chronic myeloid leukemia with novel tyrosine kinase inhibitors. *Curr Treat Options Oncol* **2007**;8:287-95.
111. **Sherbenou DW, Wong MJ, Humayun A, et al.** Mutations of the BCR-ABL kinase domain occur in a minority of patients with stable complete cytogenetic response to imatinib. *Leukemia* **2007**;21:489-93.
112. **Redaelli S, Piazza R, rostagno R, et al.** Activity of bosutinib, dasatinib and nilotinib against 18 imatinib-resistant BCR-ABL mutants. *J Clin Oncol* **2009**;27:469-71.
113. **Hochhaus A, Druker B, Larson RA, et al.** IRIS 6-year follow-up: sustained survival and declining annual rate of transformation in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) treated with imatinib. *Blood* **2007**;110(11):15a.

114. **Hochhaus A, Hughes T.** Clinical resistance to imatinib: mechanisms and implications. *Hematol Oncol Clin North Am* **2004**;18(3):641-656.
115. **Weisberg E, Manley PW, Breitenstein W, et al.** Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell* **2005**;7(2):129-141.
116. **O'Hare T, Walters DK, Stoffregen EP, et al.** In vitro activity of Bcr-Abl inhibitors AMN107 and BMS-354825 against clinically relevant imatinib-resistant Abl kinase domain mutants. *Cancer Res* **2005**;65(11):4500-4505.
117. **Quintas-Cardama A, Kantarjian HM, Cortes JE.** Mechanisms of primary and secondary resistance to imatinib in chronic myeloid leukemia. *Cancer Control*.**2009**;16(2):122-131.
118. **Soverini S, Martinelli G, Colarossi S, Gnani A, Castagnetti F, Rosti G, et al.** Presence or the emergence of a F317L BCR-ABL mutation may be associated with resistance to dasatinib in Philadelphia chromosome-positive leukemia. *J Clin Oncol.* **2006**;24:e51-2.
119. **Apperley JF.** Part 1: mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukemia. *Lancet Oncol.* **2007**;8:1018-29.
120. **Corbin AS, La Rosee P, Stoffregen EP, Druker BJ, Deiniger MW.** Several BCR-abl kinase domain mutants associated with imatinib mesylate resistance remain sensitive to imatinib. *Blood.* **2003**;101:4611-4.
121. **Kantarjian H, Schiffer C, Jones D, Cortes J.** Monitoring the response and course of chronic myeloid leukemia in the modern era of BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors: practical advice on the use and interpretation of monitoring methods. *Blood.* **2008**;111:1774-80.
122. **Baccarani M, Saglio G, Goldman J, Hochhaus A, Simonsson B, Appelbaum F, et al.** Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European leukemiaNet. *Blood.* **2006**;108:1809-20.
123. **National Comprehensive Cancer Network.NCCN:** Clinical practice guidelines in oncology.Chronic myelogenous leukemia. 2006 National Comprehensive Cancer Network. Inc. Version 2.**2009.** Jenkintown. PA.
124. **Pye SM, Cortes J, Ault P, et al.** The effects of imatinib on pregnancy outcome. *Blood* **2008**;111:5505-5508,
125. **Deininger M, Schleuning M, Greinix H, et al.** The effect of prior exposure to imatinib on transplant-related mortality. *Haematologica* **2006**;91:452-459
126. **Oehler VG, Gooley T, Synder DS, et al.** The effect of imatinib mesylate treatment before allogeneic transplantation for chronic myeloid leukemia. *Blood* **2007**;109:1782-1789
127. **Lee SJ, Kukreja M, Wang T, et a.** Impact of prior imatinib mesylate on the outcome of hematopoietic cell transplantation for chronic myeloid leukemia. *Blood* **2008**; 112:3500-3507,
128. **Jabbour E, Cortes J, Kantarjian H, et al.** Novel tyrosine kinase inhibitor therapy before allogeneic stem cell transplantation in patients with chronic myeloid leukemia. *Cancer* **2007**;110:340-344

129. **Shimoni A, Leiba M, Martineau G, et al.** Prior treatment with the tyrosine kinase inhibitors dasatinib and nilotinib allows stem-cell transplantation (SCT) in a less advanced disease phase and does not increase SCT toxicity in patients with chronic myelogenous leukemia and Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* **2009**;23:190-194.
130. **Goldman JM.** How I treat chronic myeloid leukemia in the imatinib era. *Blood* **2007**;110:2828-2837.
131. **Deininger MW, Goldman JM, Melo JV.** The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* **2000**;96:3343-3356.
132. **Druker BJ, Sawyers CL, Kantarjian H, et al.** Activity of a specific inhibitor of BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myelogenous leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome. *N Eng J Med* **2001**;344:1038-1042.
133. **Von Bubnoff N, Schneller F, Peschel C, Duyster J.** BCR-ABL gene mutation in relation to clinical resistance of Philadelphia chromosome positive leukemia to STI571: a prospective study. *Lancet* **2002**;359:487-491.
134. **Shah NP.** Medical management of CML. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. **2007**:371-375.
135. **Deininger MW.** Optimizing therapy of chronic myeloid leukemia. *Exp Hematol*. **2007**;35:144-154.
136. **Soverini S, Colarossi S, Gnani A, et al.** Contribution of ABL kinase domain mutations to imatinib resistance in different subsets of Philadelphia-positive patients: by the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res*. **2006**;12:7374-7379.
137. **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**;105:2093-2098.
138. **Kantarjian HM, Jabbour E, Giles FJ, et al.** Prognostic factors for progression-free survival in patients with imatinib-resistant or -intolerant chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) treated with nilotinib based on 24 month data. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* **2009**;114:1278-1279. Abstract 3298.
139. **Jabbour e, Kantarjian H, O'Brien S, et al.** Predictive factors for response and outcome in patients treated with second generation tyrosine kinase inhibitors for chronic myeloid leukemia in chronic phase post imatinib failure. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. **2009**;114:210-211. Abstract 509.

7. EKLER

GÖNÜLLÜ DENEK BİLGİLENDİRME VE ONAY FORMU

Araştırmanın konusu:

Kronik myeloid lösemi olgularında mutasyonların araştırılması ve klinikle olan ilişkilerinin incelenmesi

Araştırmanın amacı:

Saptanacak bulguların hastalığın takip ve tedavisini yönlendirecek biçimde kullanılması

Araştırmaya katılma süresi: Hastalık nedeniyle takip sırasında bir kez

Araştırmaya katılacak yaklaşık gönüllü sayısı: 100 Kronik myeloid lösemi tanısı almış birey Hematoloji bölümünde yapılan muayene ve tetkikler sonrasında kronik myeloid lösemi hastası olduğunuz ve bu hastalık sebebiyle takip edilmeniz gerektiği belirlenmiştir. Tedavinizi takip amacıyla sizden rutin olarak belli aralıklarla kan ya da kemik iliği örnekleri alınacaktır. Bu çalışmada sizden takip amaçlı alınan örneklerin sonuçları kullanılacaktır. Ayrıca şu andaki durumunuzu değerlendirmek için sizden 5 ml kan alınıp cDNA eldesi yapılarak ilaç direnci ile ilişkili bir genetik değişikliğin sizde olup olmadığı araştırılacaktır. Aynı cDNA örneğinden ilaç direncine etkisi olduğu düşünülen en sık görülen beş BCR-ABL mutasyonuna bakılacaktır. Bu işlemler için sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecek ve rutin takipleriniz etkilenmeyecektir. Bu bilgiler ışığında,

Biyolojik materyallerimin bu çalışma için kullanılmasına izin veriyorum.

Biyolojik materyallerimin bu çalışma ve bundan sonraki çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.

Biyolojik materyallerimin bu çalışma dışındaki başka çalışmalar için kullanılmasına izin vermiyorum. Yukarıdaki, araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri içeren metni okudum. Bana, tanık huzurunda, aşağıda konusu belirtilen araştırmayla ilgili yazılı ve sözlü açıklama yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı ve katılmama hakkımın olduğunu, araştırma başladıktan sonra devam etmeyi istememe hakkına sahip olduğum gibi, kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum. Bu koşullarda söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, kendi rızam ile katılmayı kabul ediyorum.

GÖNÜLLÜ

Adı Soyadı: Telefon : (0) Adresi: Faks : (0)

İmza Bilgi verebilecek kişi: VELİ, VASİ veya VEKİL

Adı Soyadı: Telefon : (0) Adresi: Faks : (0)

Đmza Yakınlığı: ARAŞTIRMACI

Adı Soyadı: Telefon : (0) Adresi: Faks : (0)

GEREKTiğİNDE GÖNÜLLÜ VEYA YAKINININ BİLGİ İÇİN
BAŐVURABİLECEĐİ KİŞİ

Adı Soyadı: Telefon : (0) Adresi: Faks : (0) TANIK Adı Soyadı: Telefon :
(0) Görevi: Faks : (0) Adresi: Đmza

TANIK

Adı Soyadı: Telefon : (0) Görevi: Faks : (0) Adresi: İmza Not. Bu belge dört
örnek halinde hazırlanacak birer örnek araőtirmacı, gönüllü, tanık ve kurum tarafından
saklanacaktır.