

OCAK 2025

Yüksek Lisans Tezi-Biyoloji

OMAR NABEEL AZEEZ

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MİYELOBLASTİK LÖSEMİ HASTALARINDA BCR-ABL1 P210
TARAMASI VE İMATİNİB DİRENÇLİ HASTALARIN BCR
ABL1 GENİ MUTASYONLARININ DİZİLENMESİ

BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

OMAR NABEEL AZEEZ
OCAK 2025

**MİYELOBLASTİK LÖSEMİ HASTALARINDA BCR-ABL1 P210
TARAMASI VE İMATİNİB DİRENÇLİ HASTALARIN BCR ABL1 GENİ
MUTASYONLARININ DİZİLENMESİ**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Işık Didem KARAGÖZ

Omar Nabeel AZEEZ

Ocak 2025



©2025[Gaziantep Üniversitesi]

**MİYELOBLASTİK LÖSEMİ HASTALARINDA BCR-ABL1 P210
TARAMASI VE İMATİNİB DİRENÇLİ HASTALARIN BCR ABL1 GENİ
MUTASYONLARININ DİZİLENMESİ**

başlıklı bu çalışma, **Omar Nabeel AZZEZ** tarafından hazırlanmış ve yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde** Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Çiğdem AYKAÇ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

.....

Prof.Dr. Murat KÜTÜK
Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı

.....

Prof.Dr. Işık Didem KARAGÖZ
Danışman, Biyoloji
Gaziantep Üniversitesi

.....

Sınav Tarihi: 28 Ocak 2025

SINAV JÜRİSİ ÜYELERİ

Prof.Dr. Işık Didem KARAGÖZ
Gaziantep Üniversitesi

.....

Prof.Dr. İbrahim Halil KILIÇ
Gaziantep Üniversitesi

.....

Dr.Öğr.Üyesi M. Tahir HÜSUNET
Gaziantep İslam Bilim ve Teknoloji Üniversitesi

.....

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilmek suretiyle tezde yer aldığını beyan ederim.

Omar Nabeel AZEEZ

ABSTRACT

SCREENING FOR BCR-ABL1 P210 IN MYELOBLASTIC LEUKEMIA PATIENTS AND SEQUENCING OF BCR-ABL1 GENE MUTATIONS IN IMATINIB-RESISTANT PATIENTS

AZEEZ, Omar Nabeel

M.Sc. in Biology

Supervisor: Prof.Dr. Işık Didem KARAGÖZ

January 2025

71 pages

Imatinib functions as a small molecule inhibitor targeting the BCR-ABL tyrosine kinase. It has been established as the primary treatment for all recently diagnosed chronic phase chronic myeloid leukemia patients. The administration of imatinib leads to a considerable occurrence of complete cytogenetic response. Minimal residual disease in patients with complete cytogenetic response can be determined by utilizing qRT-PCR, allowing for further stratification. This thesis focused on various aspects of molecular monitoring in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib. Through sequential analysis of peripheral blood BCR-ABL transcript levels utilizing qRT-PCR in patients with chronic myeloid leukemia-initiating imatinib therapy, it was observed that the significant decrease in BCR-ABL transcripts primarily occurred within a span of 6 months following the initiation of imatinib treatment. It appears that a plateau in the BCR-ABL transcript level has been observed following 6 months of imatinib treatment, suggesting a consistent number of remaining BCR-ABL positive cells. To investigate markers linked to molecular response in chronic myeloid leukemia patients undergoing imatinib treatment, we examined the mRNA expression of apoptosis-related genes in peripheral blood nucleated cells from chronic myeloid leukemia patients starting imatinib therapy. Sanger sequencing was performed on totally 4 samples which consisted of 3 BCR-ABL patient samples and one control. All samples tested negative for the T315I mutation.

KeyWords: CML, Imatinib, BCR-ABL, Mutation

ÖZET

MİYELOBLASTİK LÖSEMİ HASTALARINDA BCR-ABL1 P210 TARAMASI VE İMATİNİB DİRENÇLİ HASTALARIN BCR ABL1 GENİ MUTASYONLARININ DİZİLENMESİ

AZEEZ, Omar Nabeel
Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji
Danışman: Prof.Dr. Işık Didem KARAGÖZ
Ocak 2025
71 sayfa

İmatinib, BCR-ABL tirozin kinazı hedef alan küçük molekülü bir inhibitör olarak işlev görmektedir. Kronik Myeloid Lösemi hastaları için birincil tedavi olarak kabul edilmiştir. İmatinib uygulanması, tam sitogenetik yanıt(TSY) oranında önemli bir artışa yol açar. (TSY) elde eden hastalarda minimal rezidüel hastalık, qRT-PCR kullanılarak belirlenebilir ve bu, hastaların daha ileri düzeyde sınıflandırılmasına olanak tanır. Bu tez, imatinib ile tedavi edilen kronik myeloid lösemi hastalarında moleküler izleme ile ilgili çeşitli yönler odaklanmaktadır. Kronik myeloid lösemi hastalarında imatinib tedavisine başlanmasını takiben periferik kanda BCR-ABL transkript seviyelerinin ardışık analizi yoluyla, BCR-ABL transkriptlerinde önemli bir azalmanın esas olarak imatinib tedavisine başlandıktan sonraki 6 ay içinde meydana geldiği gözlemlenmiştir. İmatinib tedavisinden sonraki 6 aylık süreçte BCR-ABL transkript seviyesinde bir plato oluştuğu görülmektedir. İmatinib tedavisi gören kronik miyeloid lösemi hastalarında moleküler yanıt ile ilişkili belirteçleri araştırmak amacıyla, imatinib tedavisine başlayan kronik miyeloid lösemi hastalarının periferik kanındaki nükleuslu hücrelerde apoptoz ile ilişkili genlerin mRNA ekspresyonunu inceledik. Sonuçlarımız, tanı sırasında düşük seviyede imatinib tedavisinden sonraki 6 ayda daha iyi bir moleküler yanıt ile ilişkili olduğunu göstermektedir. İmatinib' e yanıt alınamayan 3 BCR-ABL hastası ve 1 kontrol olmak üzere toplam 4 örnekte Sanger dizilemesi gerçekleştirilmiştir. Tüm örnekler T315I mutasyonu açısından negatif sonuç vermiştir.

Anahtar Kelimeler: KML, İmatinib, BCR-ABL, Mutasyon.



“Önce Allah’a, anne ve babama, eşim Bahrine, çocuğum Rawena benimle gurur duyan bu hayali gerçekleştirmemde ısrar eden tüm kardeşlerime ve öğretmenlerime Teşekkürlerimi sunarım”

TEŞEKKÜR

Bu çalıŐmayı tamamlamam için bana hayat, g, huzur ve cesaret veren **Allah'a** ve peygamberi **Muhammed'e** sunuyorum, onlara adıyorum.

Çalışma boyunca bana rehberlik ve destek sağlayan danıŐmanım **Prof.Dr. IŞık Didem KARAGÖZ'e** teşekkür ederim; desteğini asla unutmayacağım. Ayrıca, zihnimde güzel bir kiŐi olarak kalacak **Prof.Dr. İbrahim Halil KILIÇ'a** desteği ve teŐvikleri için minnettarım.

Bio Laboratuvarı ve Nanakali Hastanesi'nin Kan Hastalıkları ve Kanser Bölümü'ndeki tüm personel ve üyelerine, özellikle **Dızar Beye** ve **Dr. Nawsherwan'a** iten teşekkürlerimi sunmak isterim. Laboratuvarda oluŐturdukları samimi ve dostane atmosfer, onlarla çalıŐmayı bir zevk haline getirdi.

Son olarak, bana destek olan ve yol gösteren arkadaŐım **Muhammed Omer** ve bu yolda bana rehberlik eden **Mohammed HASHM'e** teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ABSTRACT	i
ÖZET	ii
İTHAF	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
KISALTMALAR LİSTESİ	ix
BÖLÜM 1 ÇALIŞMANIN AMACI	1
BÖLÜM 2 GENEL BİLGİLER	2
2.1 Kronik Myeloid Lösemi (KML).....	2
2.1.1 KML Klinik Özellikleri	3
2.1.2 Epidemiyoloji.....	3
2.1.3 KML Etiyolojisi ve Patogenezi	3
2.1.4 Moleküler Patoloji.....	4
2.1.5 Klinik Özellikler.....	5
2.1.5.1 Belirtiler ve Semptomlar	5
2.1.5.2 Laboratuvar Bulguları	6
2.1.6 Özel Klinik Özellikler	9
2.1.6.1 Küçük-BCR Kırılma Noktası Pozitif KML	9
2.1.6.2 Hiperlökositoz.....	9
2.1.6.3 Lenfoid Malignansların Birlikte Görülmesi.....	10
2.1.7 Tanı.....	10
2.1.7.1 Moleküler Prob.....	10
2.1.7.2 Floresan In-Situ Hibridizasyon (FISH)	10
2.1.7.3 PCR	11

2.1.7.3.1 Gerçek Zamanlı PCR (Real-time PCR, RT-PCR).....	11
2.1.7.4 Farklı Tanı Teknikleri	12
2.1.8 Tedavi.....	12
2.1.8.1 Hiperürisemi.....	12
2.1.8.2 Lökaferaz	13
2.1.8.3 Hidroksiüre.....	13
2.1.8.4 Interferon-alfa	13
2.1.8.5 Allojenik Kök Hücre Nakli	14
2.1.8.6 TKI' lar ile Tedavi	14
2.1.8.6.1 İmatinib Mesilat Bileşiği.....	14
2.1.8.6.1.1 İmatinib' in Farmakokinetiği.....	17
2.1.8.6.2 Varyant Kromozomal Translokasyonlar veya Kırılma Noktaları Gösteren Bireylerde İmatinib Kullanımı.....	17
2.1.8.6.3 İmatinib' in Pediatrik ve Geriatri Hastalarındaki Etkinliği.....	18
2.1.8.6.4 Hamilelik Sırasında İmatinib Kullanımı.....	18
2.1.8.6.5 Yan Etkiler ve Özel Tedaviye Dair Dikkate Alınması Gerekenler	18
2.1.8.6.6 İmatinib Tedavisi Sırasında Yanıt Tanımlama ve İzleme.....	19
2.1.9 Minimal Rezidüel Hastalığın Tespiti	20
2.1.10 BCR-ABL1 Sinyel iletim Yolları.....	21
2.1.10.1 İmatinib' in Avantajları.....	22
2.1.10.2 İmatinib Hakkındaki Endişeler.....	24
2.1.10.2 İmatinibin Direnci.....	25
BÖLÜM 3 HASTA VE YÖNTEMLER.....	28
3.2 Hematolojik Değerlendirme.....	30
3.3 Moleküler Çalışmalar.....	30
3.3.2 qRT-PCR ile BCR-ABL Mbc P210 Füzyon Transkriptinin Nicel Tespiti .31	
3.3.2.1 Test Yorumu.....	32
BÖLÜM 4 BULGULAR	34
4.1 Yaş ve cinsiyet dağılımı.....	34
4.2 Hemogram Profili	35
4.3 İlaç Tedavisi Öncesi Moleküler Yanıt	37

4.4 Sanger Dizilemesi	41
BÖLÜM 5 TARTIŞMA	42
BÖLÜM 6 SONUÇLAR	45
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	58



TABLULAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 3.1 qRT-PCR TaqMan Premiks Reaktanı Karışımı.....	31
Tablo 3.2 qRT-PCR Reaksiyon Koşulları.....	31
Tablo 4.1 Hastaların ve kontrolarin Hematolojik Parametreleri	37
Tablo 4.2 KML Hastalarında Hasta Bazlı IS Değişimi (6 Ay).....	44
Tablo 4.3 50 KML 50 Hastanın RNA İzolasyon Değerleri.....	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Normal Kromozom 9 ve 22, Translokasyon ve İki Türev.....	5
Şekil 2.2 Normal BCR ve ABL Genlerinin Yapısı ile KML' de Bulunan FüzyonTranskriptleri.....	5
Şekil 2.3 KML' nin Kan Görüntüsü.....	7
Şekil 2.4 KML Kemik İliği Morfolojisi.....	8
Şekil 2.5 Philadelphia kromozomu t(9;22) Floresan İn.....	11
Şekil 2.6 BCR/ABL' nin ATP Aracılı Aşağı Akış Yolağı.....	15
Şekil 2.7 BCR-ABL Sinyal İletim Yolağı.....	21
Şekil 3.1 Teorik Eğri Hesaplama Örneği.....	33
Şekil 3.2 İstatistiksel Power Analiz.....	34
Şekil 4.1 Çalışmaya katılan 50 KML Hastasının Yaş Dağılımı.....	36
Şekil 4.2 Çalışmaya katılan 100 Control grubu Yaş Dağılımı.....	36
Şekil 4.3 Çalışmaya Katılan 50 Hastanın Cinsiyet Dağılımı.....	36
Şekil 4.4 Çalışmaya Katılan 100 kontrol Cinsiyet Dağılımı.....	36
Şekil 4.5 KML Hastasının (Hb) Seviyeleri.....	37
Şekil 4.6 Kontrol grubunun(Hb) Seviyeleri.....	37
Şekil 4.7 Hastaların Beyaz Kan Hücre Sayım severleri.....	37
Şekil 4.8 Kontrol grubunun bayaz kan HücreSayım severleri.....	37
Şekil 4.9 50 KML Hastasının Trombosit Sayımlarının severleri.....	38
Şekil 4.10 Kontrol grubunun Trombosit Sayımların severleri.....	38
Şekil 4.11 KML Hastasının kırmızı kanHücreleri Sayılarının severleri.....	39
Şekil 4.12 Kontrol grubunun kırmızı kan Hücreleri Sayılarının severleri.....	39
Şekil 4.13 Tedavi Öncesi Dört Uluslararası Ölçek Kategorisinde Moleküler Yanıtlar...39	39
Şekil 4.14 Dört Uluslararası Ölçek Kategorisinde Tedavi Sonrası Moleküler Yanıtlar..39	39
Şekil 4.15 BCR/ABL RNA Transkript Seviyesi ≤ 0.1 IS Olan Hasta.....	40

Şekil 4.16 BCR/ABL RNA Transkript Seviyesi %0.1-1 Arasında Olan Hasta.....	41
Şekil 4.17 BCR/ABL RNA Transkript Seviyesi % 1-10 Arasında Olan Hasta	41
Şekil 4.18 BCR/ABL RNA Transkript Seviyesi %10' dan Fazla Olan Hasta	42
Şekil 4.19 BCR/ABL RNA Transkript Seviyesi Negatif Olan Hasta.....	42
Şekil 4.20 İmatinib Dirençli 3 Hastanın Sanger Dizleme Sonuçları	43



KISALTMALAR

KML	Kronik Miyeloid Lösemi
TSY	Tam Sitogenetik Yanıt
ALL	Akut Lenfoblastik Lösemi
INF-α	Interferon-alfa
TKİ	Tirozin Kinaz İnhibitörü
AFG	Asp-Fenil-Gly
Ph-	Philadelphia Kromozom Negatif
PLT	Trombositler
RBC	Kırmızı Kan Hücreleri
WBC	Beyaz Kan Hücreleri
HB	Hemoglobin
JUK	JUN kinaz
MAPK	Mitojenle Aktive olan Protein Kinazları
HKH	Hem atopoetik Kök Hü
KF	Kronik F
AF	Akut Faz
BK	Blast Krizi
BCR	Breakpoint Cluster Region
ABL	Abelson Murine Leukemia Viral Oncogene Homolog 1

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Çalışmanın Amacı

Kronik miyeloid lösemi (KML) hastalarında imatinib tedavisine verilen yanıtı değerlendirmek ve direnç gelişimini erken tespit etmek için moleküler izleme kritik bir yaklaşımdır. BCR-ABL füzyon geninin ekspresyon seviyelerinin kantitatif ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) ile düzenli olarak ölçülmesi, hastalığın moleküler düzeyde izlenmesini sağlar. Bu sayede erken direnç tespiti yapılabilir. BCR-ABL transkript seviyelerindeki artış, hastalığın tedaviye yanıt vermediğini veya sekonder direncin geliştiğini gösterebilir. Bunun yanısıra, yanıt stratejilerinin düzenlenmesi de sağlanabilir. Şöyle ki: yetersiz yanıt tespit edildiğinde, doz artırımı, ikinci nesil tirozin kinaz inhibitörleri (TKI)' ne (dasatinib, nilotinib, bosutinib) geçiş veya mutasyon analizleri gibi tedavi stratejileri uygulanabilir. Ayrıca, uzun dönem takip de kazanılan diğer bir avantajdır. Moleküler yanıtın korunması, hastalığın ilerlemesini önlemek ve tam moleküler remisyon (MR4.5) gibi hedeflere ulaşmak için hayati önem taşır. Bu çalışmanın amacı, kronik miyeloid lösemi (KML) hastalarında imatinib tedavisine yanıtın BCR-ABL p210 düzeyleri üzerinden moleküler takibini yapmak ve tedaviye direnç gelişen hastalarda direnç mekanizmalarını Sanger sekanslama yöntemi ile araştırmaktır. İmatinib tedavisinin başlangıcından itibaren 6 ay sonra BCR-ABL p210 düzeylerinin yeniden değerlendirilmesi, moleküler yanıtı tespit ederek erken dönemde tedavi başarısızlığını belirlemeyi hedeflemektedir. Tedaviye yanıt vermeyen hastalarda sekanslama analizi ile BCR-ABL geninde mutasyon veya diğer genetik değişikliklerin varlığı araştırılarak, imatinib direncinin altında yatan genetik faktörlerin ortaya konması amaçlanmaktadır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1 Kronik Myeloid Lösemi (KML)

Kronik Miyeloid Lösemi (KML), hematopoyetik kök hücrelerin anormal proliferasyonu ile karakterize edilen bir patolojik durumdur (O. N., & Sawyers, C. L. (1994).

Hastalık, genellikle üç ila altı yıl süren bir kronik evre (KE) ile başlayan belirgin üç aşamalı ilerleme sergiler. Bunu takiben, sonunda kısa bir terminal blast evresi ile sonuçlanan hızlanmış bir aşamaya geçiş gerçekleşir (Faderl ve ark., 1999; Sawyers, 1999). KML, iyi belgelenmiş sitogenetik anormallikleri ve karmaşık moleküler yolları nedeniyle en kapsamlı şekilde incelenen hastalıklardan biri olarak geniş çapta kabul edilmektedir. KML, Philadelphia (Ph) kromozomunun keşfi ile malign bir durumla ilişkisi ortaya konulan çığır açıcı bir insan hastalığı olarak ortaya çıkmıştır (Nowell & Hungerford, 1960).

Sonrasında, Ph kromozomunun oluşumunun, kromozom 9 ve 22' nin uzun kolları arasında meydana gelen karşılıklı translokasyonun bir sonucu olduğu kanıtlandı ve bu durum, BCR-ABL füzyon onkogeninin gelişimine yol açtı (Nowell & Hungerford, 1960). BCR-ABL onkoproteini, sürekli aktif bir tirozin kinaz olarak işlev görür ve çeşitli hücre içi sinyal yollarını çekerek aktive eder. Sonuç olarak, bu sinyaller anormal hücresel yapışma, artan proliferasyon ve apoptozun inhibisyonuna yol açar (Deininger ve ark., 2000; Lugo ve ark., 1990). Kronik miyeloid lösemisinin yönetimi, kanser tedavisinde sürekli olarak ön planda kalmıştır. Interferon-alfa (INF- α), lösemik klonu inhibe eden ve sağkalımı artıran biyolojik bir ajan olarak, imatinib mesilat (STI571, imatinib, Glivec® veya Gleevec®, Novartis, Basel, İsviçre) ile hedeflenen ilk neoplastik hastalıklardan biri olan KML bağlamında keşfedilmiştir. İmatinibin olağanüstü terapötik etkinliği, KML tedavisinde devrim niteliğinde bir değişim yaratmıştır. KML' nin yönetimi, kanser tedavisinde sürekli olarak ön planda olmuştur. INF- α , lösemik klonu inhibe eden ve sağkalımı artıran biyolojik

bir ajan olarak, KML erken vakalarından birinde keşfedilmiştir. İmatinibin olağanüstü terapötik etkinliği, KML tedavisinde dönüştürücü bir etki yaratmıştır (Talpaç ve ark., 1987).

2.1.1 KML Klinik Özellikleri

KML yıllık insidans oranı, 100.000 bireyde bir vakadır ve bu da yetişkin lösemi vakalarının %15' ini oluşturmaktadır (Jaffe, 2001). Hastalar genellikle 45 ila 55 yaş aralığında başvurur. Önemli bir oran, hasta grubunun %33' üne kadar, 60 yaş ve üzerindedir. Kök hücre transplantasyonu ve INF- α tedavisi gibi terapötik müdahalelerin etkinliği, bu yöntemlerin dikkatli bir şekilde planlanmasına ve uygulanmasına bağlıdır. KML' nin nedeni çoğu vakada belirsizliğini korumakta olup, yüksek doz iyonize radyasyon potansiyel bir faktörü olarak tanımlanmıştır (Ishihara ve ark., 1983).

2.1.2 Epidemiyoloji

KML, lösemi vakalarının yaklaşık %15' ini oluşturarak Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 5000 yeni vaka meydana getirmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde tahmin edilen yaşa göre düzeltilmiş insidans oranı, erkekler için yaklaşık 100.000 bireyde 2, kadınlar için ise 100.000 bireyde 1.1'dir. Küresel olarak, görülme oranında yaklaşık iki kat artış dikkat çekmektedir. İsveç ve Çin, 100.000 bireyde yaklaşık 0.7 ile en düşük insidans oranına sahipken İsviçre ve Amerika Birleşik Devletleri yaklaşık 1.5 ile en yüksek insidans oranını göstermektedir. 1 ile 20 yaş grubundaki vakaların insidans oranı %10' dan azdır ve KML, çocuklardaki tüm lösemi vakalarının yaklaşık %2' sini oluşturmaktadır. KML' nin ailevi çoklu vakaları nadirdir ve tek yumurta ikizleri arasında hastalığın görülmesine dair bir uyum yoktur (Hemminki & Jiang, 2002).

2.1.3 KML Etiyolojisi ve Patogenezi

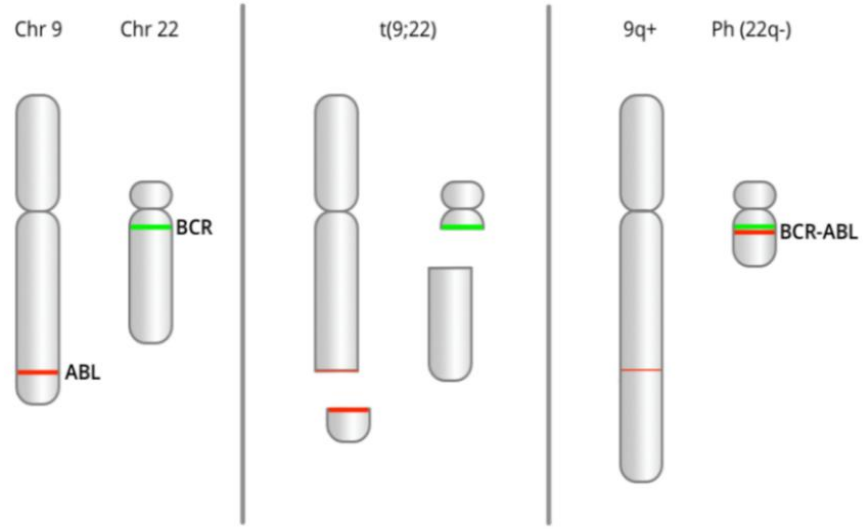
KML insidansı, benzer popülasyonlarda, yüksek seviyelerde iyonize radyasyona maruz kalma nedeniyle beklenen oranın üzerine çıkabilir. Bu durumu pekiştiren üç belirgin örnek bulunmaktadır. Bunlar arasında, Nagasaki ve Hiroshima'daki atom bombalarına maruz kalan Japon vatandaşları, Omurga ışınlanması uygulanan ankilozan spondilit tanısı almış Britanyalı hastalar ve radyoterapi gören rahim kanseri olan kadınlar yer almaktadır. Bu olaylar arasında, KML sıklığının benzer, maruz kalmamış gruplarda beklenenden belirgin şekilde daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Işınlanan spondilitteki vakalarda medyan

latent dönem yaklaşık 4 yıl olup KML, lösemi vakalarının yaklaşık %20' sini oluşturmaktadır (Warlick & Smith, 2007).

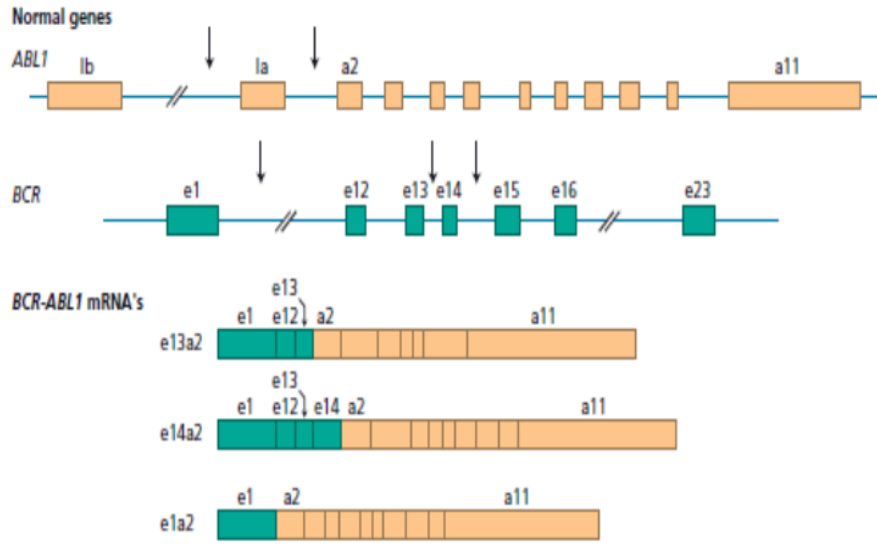
2.1.4 Moleküler Patoloji

Ph kromozomu, 9. kromozomun uzun kolunun segmentlerinin 22. kromozoma yer değiştirmesiyle ortaya çıkan bir karşılıklı translokasyondan kaynaklanır (t(9;22)) (Şekil 2.1). Moleküler düzeyde, translokasyon sürekli olarak ABL geninin ekzon 2'sini etkiler, ancak BCR geninin çeşitli ekzonlarında da gerçekleşir. Ana kırılma bölgesi (M-BCR) ile ilgili füzyon, ekzon 12 ve 13' ü içerir (e13a2 olarak da bilinir). Küçük kırılma bölgesinde (m-BCR) ekzon 1-ekzon 2 kesişiminde (e1a2) bir bozulma, 190 KD proteinini (P190 BCR/ABL) kodlayan daha kısa bir transkripti üretir. Yetişkin KML vakalarının çoğu e13a2 veya e14a2 transkripti (P210 BCR/ABL olarak bilinir) sergilerken, e1a2 transkripti (P190 BCR/ABL olarak bilinir) genellikle akut lenfoblastik lösemi (ALL) ve KML' nin lenfoid patlama krizinde bulunur. KML (P190 BCR/ABL) myelomonosit morfolojisi gösterir. Nadir durumlarda, kırılma noktası (μ -BCR) veya ekzon 19'da (e19a2) gerçekleşir ve bu da kronik nötrofilik lösemi vakalarında gözlenen (P230 BCR/ABL) ürününün oluşumuna yol açar (Goldman, 2010) (Şekil 2.2).

BCR/ABL, Ras, PI3-kinaz, Rac ve Stats gibi hücrelerde ifade edildiğinde güçlü pro-mitogenik ve anti-apoptotik sinyaller oluşturur; bu sinyal yollarının aktivasyonu, BCR/ABL'nin onkogenikliği için kritik öneme sahiptir. Bu nedenle, BCR/ABL' nin sürekli tirozin kinaz aktivitesi, lökemogenezisin itici gücüdür (Ren, 2005).



Şekil 2.1 Normal Kromozom 9 ve 22, Translokasyon ve İki Türev Kromozom 9q+ ve 22q- (Ph). (Ren, 2005).



Şekil 2.2 Normal BCR ve ABL Genlerinin Yapısı ile KML' de Bulunan Füzyon Transkriptleri (Goldman, 2010)

2.1.5 Klinik Özellikler

2.1.5.1 Belirtiler ve Semptomlar

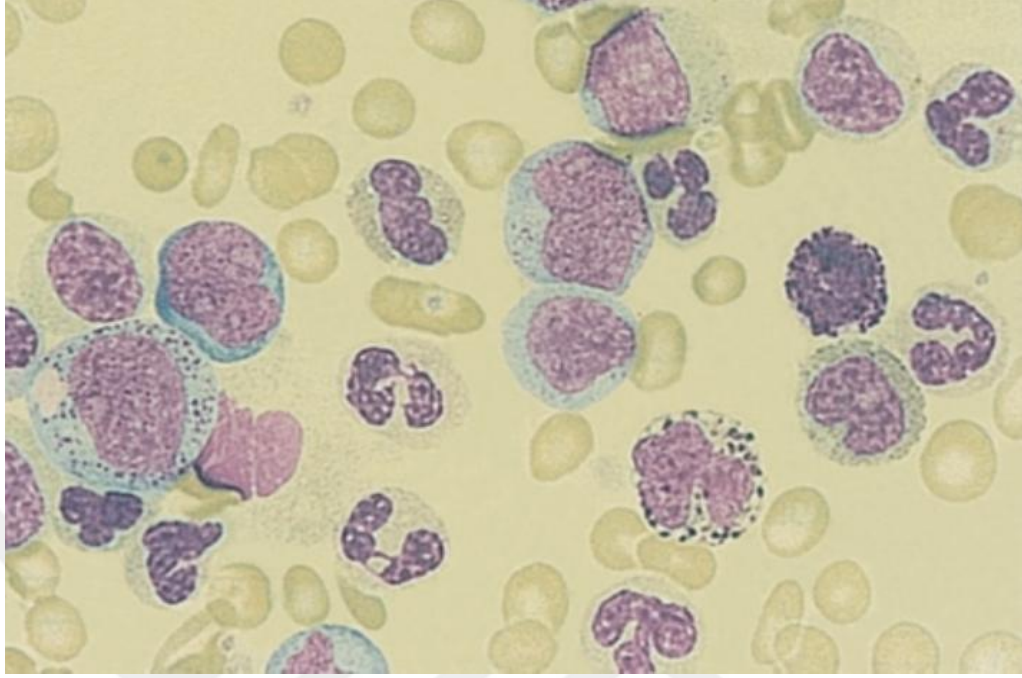
Tanı anında semptom gösteren hastaların %70' i arasında en yaygın bildirilmiş sorunlar arasında kolay yorgunluk, genel iyi olma halinin azalması, efordan azalmış tolerans, iştah

kaybı, karın rahatsızlığı (dalak büyümesi ile ilişkili), kilo kaybı ve aşırı terleme yer almaktadır. Semptomlar belirsizlik gösterir, spesifik değildir ve haftalardan aylara kadar süren yavaş bir başlangıç sergiler. Fizik muayenede, tanı anında hastaların yaklaşık %90'ında solgunluk ve dalağın büyümesi gözlemlenir (Hehlmann ve ark., 2005). Hipermetabolizmayla ilişkili semptomlar arasında gece terlemeleri, sıcak toleranssızlığı ve kilo kaybı bulunurken akut gutun kısmen hiperürikemi ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Hiperlökositoz, lökositoza yol açabilir ve bu da priapizm, kulak çınlaması veya stupor ile ilişkilendirilebilir (Cortes, 2004). Diğer nadir bir sunum, Akut Febril Nötrofilik Dermatöz olarak da bilinen ciltte kızarıklıktr. Bu durum, dermiste nötrofillerin perivasküler infiltrasyonu ile karakterizedir ve ateş ile gövde, kollar, bacaklar ve yüzde ağırlı makülonodüler lezyonların gelişmesine yol açar. Hastalık, rutin kan hücreleri sayım ölçümleri sırasında, spesifik olmayan tıbbi muayenelerde giderek artan bir yüzdede hastada tesadüfen tespit edilmektedir.

2.1.5.2 Laboratuvar Bulguları

Kan Görüntüsü

Belirgin bir sola kayma ile birlikte lökositoz, myelosit ve nötrofillerde zirve yapmasıyla karakteristik özellik taşır (Şekil 2.3). Bazofili ve/veya eozinofili sıklıkla karşılaşılan bulgulardır.



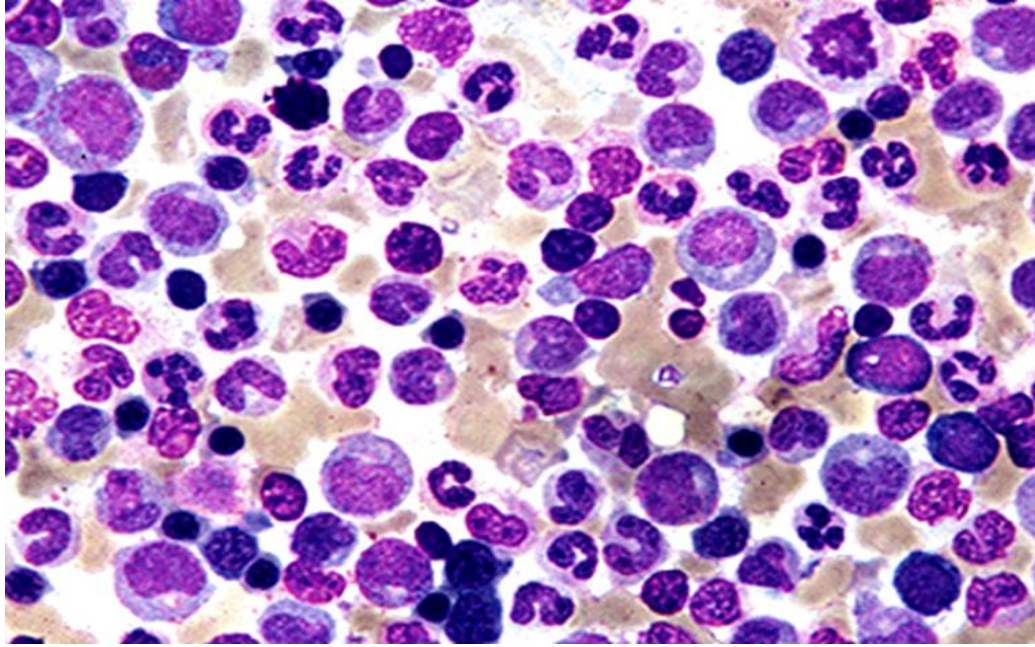
Şekil 2. 3 KML' nin Kan Görüntüsü(Miura, 1998).

Yeni tanı konulan hastalarda, $25 \times 10^9/L^2$ nin üzerinde beyaz kan hücresi (WBC) sayısında önemli bir artış, lökositoz olarak bilinir ve sıkça gözlemlenir. Bazı durumlarda, beyaz kan hücresi sayısı $100 \times 10^9/L'$ yi veya hatta $300 \times 10^9/L'$ yi geçebilir. Genellikle, kronik faz KML hastalarında yüksek nötrofil konsantrasyonları, nötrofillerin hafif işlevsel anormalliklerini dengeleyerek enfeksiyonlara karşı artan duyarlılığı önler (Kavalerchik ve ark., 2008). Yeni tanı konulan KML hastalarının yaklaşık yarısında trombositoz görülmektedir; trombosit sayıları $100 \times 10^9/L$ ile $700 \times 10^9/L$ (%15-34) arasında değişirken, $1.000 \times 10^9/L'$ nin üzerinde sayılar da alışılmadık değildir. Kocaman dalak veya geniş kemik iliği infiltrasyonu durumlarında, hastaların %50' sine kadar değişik derecelerde anemi gözlemlenebilir (Chai, S. K., Nichols, G. L., & Rothman).

İlik Morfolojisi

İlik, %75-90 oranında yüksek hücreliliğe sahip olup yağ içeriği önemli ölçüde azalmıştır. Granulopoez baskın süreçtir ve granulosit ile eritroid oranı 10:1 ile 30:1 arasında değişir; bu da tipik 2:1 ile 4:1 aralığından sapma göstermektedir. Genel olarak, eritropoezde bir azalma görülürken megakaryositlerin sayısı ya normal kalır ya da artar. Eozinofiller ve bazofillerin seviyeleri genellikle kan akışındaki artışla orantılı olarak yükselir, ayrıca mitotik figürlerin sayısı da artar (Lichtman & Rowe, 1982). Bazen, makrofajların

görünüm bakımından Gaucher hücrelerine benzediği durumlar görülebilir. Bu makrofajlar ayrıca lipidleri biriktirebilir ve bu lipidler oksitlenip polimerleştiğinde seroid pigment üretir. Bu pigment, polikrom boyama sonrasında hücelere granüler ve mavi bir ton verir (Buhr ve ark., 1992). Gümüş geçirme boyası ile gösterilen retikülin fibrozisi, tanı anında hastaların yaklaşık yarısında sıklıkla artmıştır ve bu durum kemik iliğindeki megakaryositlerin bolluğu ile ilişkilidir. Artan fibrozis ile daha büyük dalak boyutu, daha şiddetli anemi ve kemik iliği ile kan blast hücrelerinin daha yüksek oranı arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır (Korkolopoulou ve ark., 2003). KML' li hastaların kemik iliğinde, sağlıklı bireylere kıyasla mikrokan damar yoğunluğunda önemli bir artış gözlemlenmektedir; bu da kemikteki anjiogenezin diğer lösemi türlerine göre daha yüksek bir düzeyde olduğunu göstermektedir. Tedavi sonrası, kemikteki bu artmış damar yapısı normal düzeye döner (Rumpel ve ark., 2003; Zhelyazkova ve ark., 2008) (Şekil 2.4).



Şekil 2. 4 KML Kemik İliği Morfolojisi (Rumpel ve ark., 2003)

Kemik iliği, olgunlaşmanın çeşitli aşamalarında granulositlerin baskın olduğu hiperplazi sergilemekte olup arada sırada eritroblastlar da bulunmaktadır (Rumpel ve ark., 2003).

Sitogenetik

Ph kromozomunun varlığı, KML' li hastalarda tüm myeloid hücre serilerinde, ayrıca bir alt grup B hücresinde ve az bir kısmında T hücrelerinde gözlemlenmiştir (Deininger MW 2008). Hastaların yaklaşık %15' inde, genellikle karşılıklı ABL/BCR genini kapsayan, 9q+ türev kromozomunda küçük kromozomal materyal kayıpları gözlemlenir. Bu kayıpların, Ph kromozomundaki BCR/ABL geninin gelişimi ile bağlantılı olduğu düşünülmekte olup imatinib' in kullanılmaya başlanmasından önce nispeten olumsuz bir prognozla ilişkilendirilmiştir (Breccia ve ark., 2006). Klinik olarak klasik KML olan hastaların küçük bir kısmı, Ph kromozomuna sahip değildir ve normal kariyotipe sahiptir; ancak bu hastalar, normal görünen 22. kromozomda P210 onkoproteini olarak ifade edilen tipik BCR/ABL genine sahiptir (çok nadiren normal bir 9. kromozomda da bulunabilir). Bazı hastalar, kronik faz ilerledikçe ek klonal sitogenetik anormallikler geliştirir; ancak patlayıcı transformasyon sırasında, hastaların %80' i Ph translokasyonu ile birlikte klonal sitogenetik değişiklikler gösterir (Baccarani ve ark., 2009).

2.1.6 Özel Klinik Özellikler

2.1.6.1 Küçük-BCR Kırılma Noktası Pozitif KML

Hastaların küçük bir yüzdesinde, BCR geninin başlangıç intronunda (m-BCR) kırılma noktasının varlığı gösterilmektedir; bu durum, çoğunlukla KML hastalarında gözlemlenen 210 kD proteinine karşılık gelen 190 kD moleküler ağırlığa sahip bir füzyon proteini üretir. m-BCR içindeki moleküler anomali, BCR yeniden düzenleme pozitif ALL tanısı almış hastaların yaklaşık %30' unda gözlemlenenle benzerlik göstermektedir. m-BCR KML tanısı konan hastalarda, monositlerin daha belirgin olduğu, ortalama beyaz kan hücre sayısının daha düşük olduğu ve Major BCR kırılma noktası (M-BCR) olan vakalara kıyasla bazofili ve dalak büyümesi insidansının daha az olduğu görülmektedir (Ohsaka ve ark., 2002).

2.1.6.2 Hiperlökositoz

Hastaların yaklaşık %15' inde, beyaz kan hücre sayısının $300 \times 10^9/L$ yi aşması nedeniyle damar içi etkilerle ilişkili semptomlar veya bulgular gözlemlenir. $300-800 \times 10^9/L$ arasındaki toplam lökosit sayısının sonuçları, akciğerlerde, merkezi sinir sisteminde, özel duyu organlarında ve peniste kan akışının bozulmasına yol açar; bu durum hızlı nefes alma, nefes darlığı, mavi renkte lekelenme, baş dönmesi, belirsiz konuşma, kafa karışıklığı, uyuşukluk, bulanık görüş, çift görme, şişmiş retina damarları, retina kanaması,

şışmış optik sinir, kulak çınlaması, işitme kaybı ve sürekli penil ereksiyon gibi semptomların birleşimi ile sonuçlanır (Rowe, 1983).

2.1.6.3 Lenfoid Malignansların Birlikte Görülmesi

KML, lenfoproliferasyon ile ilişkilidir. Non-Hodgkin veya Hodgkin lenfoma tedavisi için radyoterapi alan hastalarda, KML yıllar sonra ortaya çıkabilir. Bu durum, tedavinin uzun vadeli bir sonucu olarak değerlendirilebilir. KML olan hastaların yaklaşık 1/3' ü, hastalığın hızlanan aşamasına geçiş yaparak akut lenfoblastik dönüşüm geçirmektedir. Lenfoma, esas monoklonal gammopati, myelom ve Waldenström makroglobulinemi gibi durumların KML ile ilişkili olarak gözlemlendiği bildirilmiştir (Schwarzmeier ve ark., 2003).

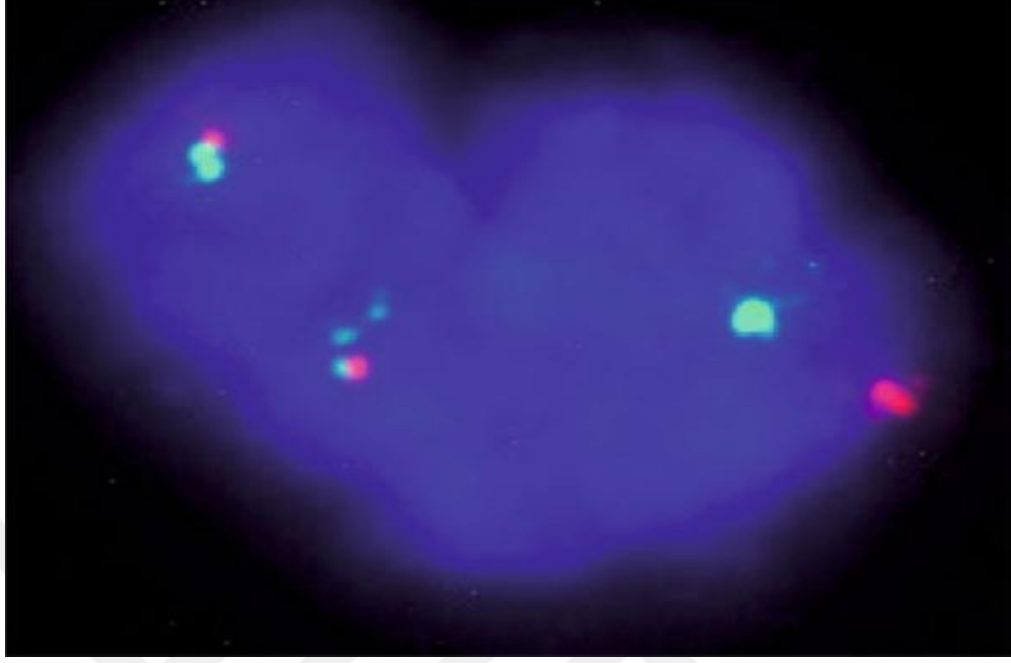
2.1.7 Tanı

2.1.7.1 Moleküler Prob

BCR/ABL' in varlığı, DNA düzeyinde veya RNA düzeyinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile doğrulanabilir. TKI tedavisi gören veya allojenik transplantasyon yapılan hastalarda minimal rezidüel hastalığın tespiti için düzenli olarak kantitatif PCR yapılması önemlidir. PCR, yaklaşık 100.000 hücre arasında tek bir pozitif hücreyi tespit edebilir. Bu yüksek hassasiyetin analizi, negatif kontrol eklenmesi de dahil olmak üzere özel bir dikkat gerektirir (Marin ve ark., 2009).

2.1.7.2 Floresan In-Situ Hibridizasyon (FISH)

FISH, metafaz veya interfaz hücrelerinde BCR/ABL geninin yeniden düzenlemeleri tespit etmek için kullanılabilen bir tekniktir. Bu nedenle, kariyotiplenmenin aksine, kemik iliği aspirasyonu zorunlu değildir. FISH, geleneksel sitogenetik tarafından sıklıkla gözden kaçan atipik gen rearranjmanlarını tespit edebilme kapasitesine sahiptir. FISH kullanıldığında, genellikle kariyotiplemeye kıyasla daha fazla hücre analiz edilir (genellikle >100 hücre FISH ile). FISH, hem tanı hem de izleme için uygun bir yöntemdir ve KML için standart tanı tekniği olarak birçok hematoloji merkezinde yaygın olarak kullanılmaktadır; bu yöntem qPCR eşlik etmektedir. Ancak, geleneksel kariyotiplenmenin aksine, FISH' in imatinib tedavisi gören KML hastalarının izlenmesi için prognostik doğrulama sürecine tabi tutulmamıştır. FISH tekniği, çeşitli moleküler füzyonları (örneğin, e13a2, e14a2, e1a2) tespit etmede yüksek bir hassasiyet gösteren, hem basit hem de doğru bir tanı yöntemi olarak hizmet vermektedir (Schoch ve ark., 2002) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Philadelphia kromozomu t(9,22) Floresan In situ Hibridizasyon (FISH)
(Schoch ve ark., 2002)

2.1.7.3 PCR

PCR, belirli bir dizinin DNA (veya RNA) kopyalarını binlerce ile milyonlarca arasında üssel olarak artırmak için moleküler biyoloji alanında kullanılan bir bilimsel tekniktir. PCR, tıbbi ve araştırma laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir ve çeşitli amaçlar için hizmet vermektedir (Bartlett & Stirling, 2003).

2.1.7.3.1 Gerçek Zamanlı PCR (Real-time PCR, RT-PCR)

RT-PCR, BCR/ABL füzyon ürününün RNA düzeyinde tespit edilmesi için de kullanılır. Bir translokasyonun tanımlanması, varlığı ve konumu ile belirlenebilir. Kırılma noktası, KML vakalarının yaklaşık %98' inde M-BCR gen lokusunda ve %2' den daha azında m-BCR geninde tespit edilir (Pelz ve ark., 2002). PCR, sitogenetik analize kıyasla önemli ölçüde daha yüksek bir hassasiyet sunar. Ayrıca, PCR analizi, hücresel çoğalma gerektirmeden perifer kan hücreleri kullanılarak gerçekleştirilebilir. Bu nedenle, kemik iliği aspirasyonuna ihtiyaç yoktur. Bu da, tedavi sırasında moleküler değişikliklerin yakından izlenmesi için tercih edilen yöntem haline gelir. Şu anda, PCR esasen RT-PCR olarak gerçekleştirilmekte olup PCR reaksiyonu sırasında floresan boyaların eklenmesi, belirli bir örnekte transkript seviyelerinin ölçülmesine olanak tanır. Bu testin

gerçekleştirilmesi için gerekli temel prosedürler, RNA izolasyon, ters transkripsiyon, Taqman gibi teknolojiler kullanarak eşzamanlı hedef cDNA tespiti ile amplifikasyon ve tespit sırasında döngü sayısını kantitatif bir ölçüme dönüştüren bir kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırma yapmaktır (Druker ve ark., 2006). Kantitatif PCR' nin yüksek hassasiyeti, potansiyel tedavi başarısızlıklarının hızlı bir şekilde tespit edilmesini sağlar ve alternatif tedavilerin zamanında başlatılmasını kolaylaştırır. Bu yüksek hassasiyetli yöntem için güvenilir ve karşılaştırılabilir sonuçlar elde etmek amacıyla PCR prosedürünün sıkı kalite kontrolleri şarttır. Sonuç olarak, tanısal PCR analizi yalnızca önemli sayıda PCR örneği işleyen ve sıkı kalite kontrollerini sürdüren laboratuvarlarda gerçekleştirilmelidir (Marin ve ark., 2008).

2.1.7.4 Farklı Tanı Teknikleri

KML tanısı, karakteristik granülozitoz, beyaz kan hücresi diferansiyel sayımı, artmış mutlak bazofil sayısı ve splenomegali değerlendirilerek konulur. Ayrıca, Ph kromozomunun veya varyantlarının (hastaların %95' inden fazlasında gözlemlenir) varlığının dikkate alınması önemlidir. Polisitemi vera, esas trombositoz veya primer miyelofibroz gibi çeşitli kronik hematopoyetik kök hücre bozukluklarından muzdarip bireylerde, benzer özelliklerin zaman zaman görüldüğü tespit edilmiştir. Kromozom 22' de herhangi bir sitogenetik veya moleküler anormalliğin bulunmaması, klasik KML olasılığını büyük ölçüde ortadan kaldırır (Lucia ve ark., 2008).

2.1.8 Tedavi

2.1.8.1 Hiperürisemi

KML tanısı konan hastalarda genellikle hiperürisemi(kanda ürik asit artışı) ve hiperürikosüri (idrarda ürik asit artışı) görülmektedir. Hiperüriseminin tedavi edilmesi gerekliliği, tedavi öncesinde serum ürik asit seviyelerinin yükselmesinden kaynaklanmaktadır. Kandaki beyaz kan hücresi konsantrasyonunun olması, önemli düzeyde hücre yıkımı için yüksek risk olduğunu gösterir. Bu nedenle, tedaviye başlamadan önce günde 300 mg dozunda oral allopurinol verilmesi ve sağlıklı bir idrar akışı sağlamak için yeterli hidrasyon yapılması önerilmektedir (Jeha & Pui, 2005).

Şiddetli hiperürisemi (9 mg/dL' den fazla) durumlarında, idrar alkalizasyonu sodyum bikarbonat kullanılarak gerçekleştirilebilir ve rasburikaz uygulaması düşünülebilir. Rasburikaz, ürik asidi allantoin' e dönüştüren urat oksidaz olarak bilinen rekombinant bir

enzimdir. Allopurinol ile karşılaştırıldığında, rasburikaz ürik asit havuzunu hızla azaltır, ksantin veya hipoksantin birikimini önler ve idrar alkalizasyonunu gerektirmez (Liu ve ark., 2005).

2.1.8.2 Lökaferez

Lökaferez süreci, KML yönetiminde geçici bir etki gösterir. Bu nedenle, uygulaması KML' nin kronik aşamasında nadiren görülür ve yalnızca iki özel hasta grubuna faydalıdır: Hiperlökositoz olan hastalar, burada hızlı sitoredüksiyon semptomları ve lökostaz belirtilerini hafifletebilir; ve KML' li bekleyen bireyler, burada lökaferez tedavisi tek başına durumu etkili bir şekilde yönetebilir. Belirli durumlarda, bu tedavi gebelik süresince devam edilebilir (Rowe, 1983). Lökaferezin, kemoterapinin neden olduğu sitolizle savunmasız hale gelen tümör hücrelerinin sayısını azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir. Bu da ürik asit üretimi ve atılımında bir azalmaya yol açar. Hiperlökositoz olan hamile olmayan hastalar için, beyaz hücre sayısında hızlı ve optimal bir azalma sağlamak için en etkili yaklaşım, lökaferezi hidroksiüre ile birleştirmektir (Strobl ve ark., 1999).

2.1.8.3 Hidroksiüre

Tedaviye başlamak için hidroksiüre, beyaz hücre sayısına bağlı olarak günde 20-30 mg/kg dozunda oral olarak uygulanabilir. Özellikle yüksek toplam beyaz hücre sayılarının acil tedavisi için daha yüksek dozlar gerekebilir. Hidroksiüre dozu, toplam beyaz hücre sayısındaki azalmaya orantılı olarak azaltılmalı ve toplam beyaz hücre sayısı $20 \times 10^9/L$ 'yi aştığında genellikle günde 1-2 g aralığında uygulanmalıdır. Beyaz hücre sayısı $5 \times 10^9/L$ 'nin altına düştüğünde ilaç geçici olarak kesilmelidir (Fausel, 2007). Hidroksiüre, imatinib ile birlikte uygulandığında, tipik protokol, imatinib'e yanıt alındıktan sonra hidroksiürenin kademeli olarak azaltılması ve nihayetinde kesilmesini içermektedir (Guilhot, 2004).

2.1.8.4 Interferon-alfa

İmatinib mesilat, KML için öncelikli tedavi olarak onaylanmadan önce, $INF-\alpha$ genellikle başlangıç tedavisi olarak kullanılıyordu. $INF-\alpha$ ile tam sitogenetik yanıt elde etme durumu nadir olup, yalnızca %13 oranında görülüyordu. Ancak yanıt verenlerde, 10 yıl boyunca yaklaşık %70' lik bir hayatta kalma oranı gözlemlenmiştir (Goldman, 2010).

2.1.8.5 Allojenik Kök Hücre Nakli

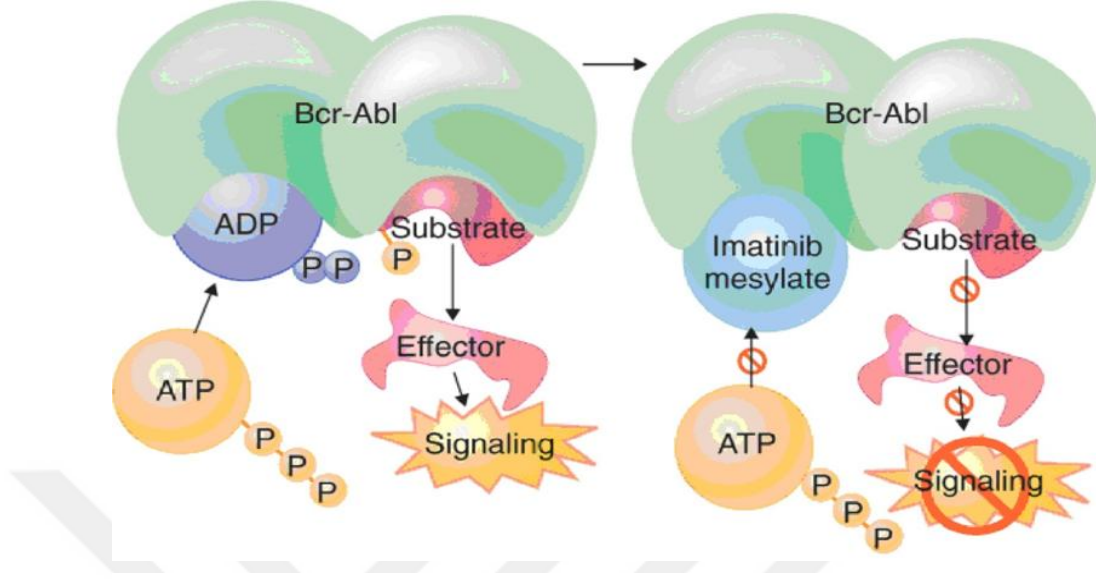
2000 yılında imatinib'in piyasaya sürülmesinden önce, allojenik nakil, uyumlu bir donörü olan 65 yaş altındaki çoğu yeni KML hastası için birincil tedavi yöntemi idi. Ancak, imatinib tedavisinin başlaması ve tam sitogenetik remisyona sağlayan hastaların uzun süreli hayatta kalmalarının ardından, KML için nakil kriterleri değişmiştir (Goldman, 2008). KML için yapılan nakil sayısı dünya genelinde önemli ölçüde azalmıştır; ancak, tam yanıt alan imatinib ile tedavi edilen hastaların, nakil edilen hastalara kıyasla daha iyi bir hayatta kalma oranına sahip oldukları gösterilmektedir. Bununla birlikte, allojenik nakil, imatinib ve diğer TKI' lara yanıt vermeyen hastaların tedavisinde önemli bir rol oynamaya devam etmektedir (Giralt ve ark., 2007).

Bununla birlikte, allojenik nakil, imatinib ve diğer TKI' lara direnç gösteren hastaların yönetiminde önemli bir bileşen olmaya devam etmektedir (Baccarani ve ark., 2013; Maziarz, 2008).

2.1.8.6 TKI' lar ile Tedavi

2.1.8.6.1 İmatinib Mesilat Bileşiği

İmatinib mesilat, Gleevec olarak da bilinir ve signal transduction inhibitor 571 (STI 571) olarak adlandırılır. Bu bileşik, BCR/ABL, trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörleri (PDGFRA ve PDGFRB) ve c-KIT' in tirozin kinaz aktivitesini etkili bir şekilde inhibe eder. Bunu, ATP bağlanma alanını rekabetçi bir şekilde engelleyerek gerçekleştirir. İmatinib, BCR/ABL' in inaktif formuna seçici olarak bağlanarak, tirozin kinazın inaktivasyonunu tetikleyerek dikkate değer bir afinite ve spesifite sergiler (Piccaluga ve ark., 2007). İmatinib, inaktif kinaz formunun varlığında ve ATP erişiminin engellenmesiyle substrat fosforilasyonunu imkansız hale getirir. Bu durum, KML' deki transformasyonu yönlendiren olayların ardından gelen kaskadın engellenmesine neden olur. Şu anda, KML' nin kronik evresindeki neredeyse tüm hastalar için ilk tedavi olarak geniş çapta kabul edilmektedir. Beyaz kan hücresi sayısında önemli bir artış olduğunda, imatinib' den önce hidroksiüre verilebilir. Hızlı sitoredüksiyon gerektiğinde ise, genellikle lökaferez ve hidroksiüre kombinasyonu tercih edilir (Baccarani ve ark., 2006) (Şekil 2.6).



Şekil 2. 6 BCR/ABL' nin ATP Aracılı Aşağı Akış Yolağı

(Baccarani ve ark.,2006)

Imatinib, ATP bağlanma bölgesini inhibe eder ve BCR/ABL' ye inaktif konformasyonunda bağlanarak bu alt proteinler üzerindeki tirozin kalıntılarının fosforile edilmesini engeller. Bu inhibitör etki, KML ile ilişkili onkojenik sinyal iletim kaskadını bozmaktadır (Piccaluga ve ark., 2007). İmatinib' in, kronik faz KML tanısı konan hastalarda günde 400 mg' lık oral bir dozla başlanması önerilmektedir. İmatinib, önceki tedavi seçeneklerine kıyasla daha yüksek hematolojik remisyon, tam sitogenetik remisyon ve moleküler remisyon oranları sağlamaktadır. İmatinib tedavisinin amacı, t(9;22) translokasyonunu taşıyan lösemik hücrelerin sayısını minimum seviyelere düşürerek normal hematopoezin yeniden sağlanmasıdır. İmatinib'in etkinliği, üç faktörün değerlendirilmesiyle belirlenir: hematolojik yanıt, sitogenetik yanıt ve moleküler yanıt (Baccarani ve ark., 2006). Optimal sonuçları elde etmek için gereken süre değişkenlik gösterir ve birkaç ay ile birkaç yıl sürebilir. Bu nedenle, hasta sitogenetik veya PCR değerlendirmeleriyle lösemik klon boyutunda bir azalma göstermeye devam ettiği süreçte, ilaç günde 400 mg dozunda sürdürülür. Hasta, tam sitogenetik remisyon veya tam moleküler remisyon elde etmeden yanıt vermezse, doz 600 mg/gün veya 800 mg/gün (her 12 saatte bir 400 mg) olarak artırılabilir, eğer iyi tolere ediliyorsa. Bununla birlikte, imatinib 400 mg/gün dozunda önemli bir hematolojik yanıt göstermeyen veya nüks etmeyen sınırlı sayıda hastada tam veya kısmi hematolojik yanıt elde edilebilir, özellikle

daha yüksek dozlarla. Ancak, sitogenetik yanıtlar nadirdir (Kantarjian, Talpaz, ve ark., 2003). yüksek dozda imatinib' e yanıtların geçici doğası nedeniyle, yeni tanı almış kronik faz KML hastalarında günde 800 mg (her 12 saatte bir 400 mg) imatinib tedavisi uygulandığında, %90 tam sitogenetik yanıt oranı ve en az %96 büyük sitogenetik yanıt elde edilmiştir. Ortalama 15. ayda, hastaların hiçbiri ilerleme göstermemiş ve %63' ü BCR/ABL transkript seviyesini %0.05 uluslararası standart olarak göstermiştir; %28' lik bir kısımda ise BCR/ABL transkripti tespit edilememiştir. TKI' lar olan nilotinib veya dasatinib gibi yeni jenerasyon tedavilere geçiş yapılmıştır (Baccarani ve ark., 2013; Marin ve ark., 2003; Zonder ve ark., 2003). Yeni tanı almış kronik faz KML hastalarında, günde 800 mg imatinib (her 12 saatte bir 400 mg doz) uygulandığında, %90 tam sitogenetik yanıt oranı gözlemlenmiş, en az %96' sında büyük sitogenetik yanıt elde etmiştir. Ortalama 15. ayda, hastaların hiçbiri hastalık ilerlemesi göstermemiş, %63' ü BCR/ABL transkript seviyesini %0.05 uluslararası standartlara olarak göstermiş, %28'i ise BCR/ABL transkript seviyesinin tespit edilemediği sonuçlar almıştır (Kantarjian ve ark., 2004). Bunlara rağmen, yeni tanı almış hastalar için önerilen başlangıç dozu hâlâ günde 400 mg' dir; bu doz, etkinlik ve tolere edilebilirlik arasında bir denge sağlar. Ayrıca, imatinib' in daha yüksek dozları ile ilişkili yanıt hızındaki artış, mutlaka uzun vadeli sağkalımda bir iyileşme ile sonuçlanmaz. Günde 400 mg' ın altındaki imatinib dozları, tam sitogenetik yanıtların azalmasına ve bu yanıtların süresinin kısalmasına yol açar. Daha yaşlı hastalar ve düşük vücut ağırlığına sahip bireyler, daha yüksek dozlara karşı daha az tolerans gösterebilir ve bu da tam sitogenetik yanıt elde etme olasılığını azaltır (Kanda ve ark., 2008). Eğer bir hasta belirli nedenlerle (örneğin, vücut boyutu veya tolerans seviyesi) daha düşük bir doz (örneğin, günde 300 mg) ile tedavi edilirse, tedaviye başladıktan sonra 12 ay içinde tam hematolojik ve sitogenetik yanıt alırsa, aşırı toksisite olmadan olumlu sonuçlar elde etmek mümkündür (Kobayashi ve ark., 2009). 5 yıllık imatinib deneyimi ışığında, tam moleküler yanıt elde eden hastaların oranında sürekli bir artış gözlemlenmiştir. Bu gözlem süresi boyunca (Atallah & Cortes, 2007; Kantarjian, O'Brien, ve ark., 2003). İmatinib'in çoğu hasta için güvenli ve iyi tolere edildiği gösterilmiştir. Kan hücrelerinde BCR/ABL tespit edilebilen hastaların yaklaşık %25' inde önemli bir moleküler yanıt gözlemlenmemiştir. Kan hücrelerinde BCR/ABL sinyali tespit edilemeyen hastaların hiçbiri, 33 aylık medyan takip süresi boyunca önemli moleküler

yanıt durumunu kaybetmemiştir. Sonuç olarak, bu belirlenen zaman diliminde, tam sitogenetik yanıtın kümülatif insidansı %75' i aşarken, önemli moleküler yanıt insidansı %50' yi geçmiştir. Öte yandan, imatinib tedavisi gören hastaların genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım oranları, o süre zarfında yaklaşık %80 civarında olmuştur (De Lavallade ve ark., 2008).

2.1.8.6.1.1 İmatinib' in Farmakokinetiği

İmatinib, 2-fenilaminopirimidin sınıfına ait olup, ABL tirozinkinaz inhibitörü olarak işlev görmektedir. Ağızdan alındığında biyoyararlanımı %98 gibi yüksek bir oranda kabul edilir ve dozaj ile maruziyet arasında doğrudan bir ilişki vardır. Besin alımının imatinib' in etkileşimi üzerinde belirgin bir etkisi yoktur. Maddelerin yarı ömrü yaklaşık 18 saattir, bu da günlük dozaj uygulanmasına olanak tanır (Peng ve ark., 2005). Katalitik alanda bulunan korunan Asp-Fenil-Gly (AFG) kalıntılarıyla etkileşime girerek, ATP' nin yer değiştirmesine ve sinyal moleküllerinin fosforilasyonunun inhibe edilmesine neden olur. İlaç, esasen sitokrom P450 sistemi tarafından metabolize edilir; burada CYP3A4 izoenzimi imatinib metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Ancak, CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9 ve CYP2C19' un da küçük katkıları vardır. Çalışmalar, CYP3A4 izoenzimini inhibe eden veya indükleyen ilaçların imatinib'in farmakokinetiğini değiştirebileceğini göstermiştir (Peng ve ark., 2004).

2.1.8.6.2 Varyant Kromozomal Translokasyonlar veya Kırılma Noktaları Gösteren Bireylerde İmatinib Kullanımı

Varyant Ph kromozomu translokasyonları gösteren hastalar, imatinib tedavisi gören klasik Ph kromozomu translokasyonları olan hastalarla benzer bir prognoza sahiptir. İmatinib, e13a2 (eski b2a2) P210 BCR/ABL translokasyonunu gösteren hastalarda olumlu yanıtlar verir ve tam sitogenetik remisyon oranları karşılaştırılabilir düzeydedir. e13a2 transkriptinin imatinib' e duyarlılığı, e14a2 transkriptine göre daha fazladır (Snyder ve ark., 2004). Hem e1a2 hem de e14a2 füzyon transkriptleri gösteren bir hastada, yalnızca P210 e14a2 transkripti kaybolurken e1a2 transkripti blast faza geçiş sırasında varlığını sürdürmüştür. ABL' nin kinaz alanında herhangi bir mutasyon tespit edilmemiştir. Bu bulgu, bir hasta içindeki farklı klonların imatinib' e karşı farklı duyarlılık dereceleri gösterebileceğini önermektedir (De Lemos ve ark., 2005).

2.1.8.6.3 İmatinib' in Pediatrik ve Geriatri Hastalarındaki Etkinliği

Kronik faz KML'li çocukların %80'inden fazlasında, 200 ila 500 mg/m² dozda İmatinib tedavisi ile tam sitogenetik remisyon sağlanmaktadır. İmatinib'in en yaygın yan etkisi kilo alımıdır.(Champagne ve ark., 2004). Yaşlı hastalarda (≥60 yaş) ve daha genç hastalarda, eşzamanlı tedavi alan geç kronik faz KML'li bireylerde sitogenetik yanıt ve sağkalım oranlarının benzer olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, yaşın genellikle yanıtı etkilemediğini göstermektedir (Roberto ve ark., 2005).

2.1.8.6.4 Hamilelik Sırasında İmatinib Kullanımı

İmatinib potansiyel olarak teratojeniktir; ancak, hamileliğin erken döneminde imatinib kullanan hastalar sağlıklı bebekler doğurabilmiştir. Hamilelik sırasında imatinib tedavisini durduran çoğu hasta, tam hematolojik remisyon ve sitogenetik yanıtlarını kaybetmektedir. İmatinib tedavisi gören erkekler de sağlıklı bebek sahibi olabilmıştır. Mevcut kılavuzlar, imatinib tedavisi sırasında doğum kontrolü kullanımını önermektedir. Alternatif olarak, hastalığın başlangıcında hamile olan bireyler için doğuma kadar IFN tedavisinin düşünülmesi önerilmektedir (Breccia ve ark., 2007).

2.1.8.6.5 Yan Etkiler ve Özel Tedaviye Dair Dikkate Alınması Gerekenler

İmatinib genellikle iyi tolere edilmektedir ve yönetilebilir yan etkileri, nadiren kalıcı tedavi kesilmesini gerektirir. Subterapötik dozlara düşürmek önerilmez. KML' li hastalarda miyelosüpresyon yaygın bir durumdur ve miyelosüpresyonu yönetmek amacıyla dozağın günde 300 mg' dan daha azaltılması önerilmez. Ancak, kan sayımları tamamen iyileşene kadar ilacın kesilmesi zorunludur (Guilhot, 2004; Marin ve ark., 2003; Quintas-Cardama ve ark., 2004). İmatinib kaynaklı kronik sitopenilerden muzdarip bireyler, alt düzeyde yanıtlar göstermektedir ve miyelosüpresyon, sitogenetik yanıtların elde edilmesinde bağımsız bir olumsuz faktör olarak işlev görmektedir. Ayrıca, imatinib maruziyeti sonrasında şiddetli geri dönüşümsüz kemik iliği aplazisi vakaları kaydedilmiştir (Lokeshwar ve ark., 2005). İmatinib ile ilişkili olarak gözlemlenen başlıca yan etkiler arasında yorgunluk, ödem, bulantı, ishal, kas krampları, döküntü, hafif transaminaz artışları ve hepatotoksisite bulunmaktadır. Hepatotoksisite, nispeten nadir olup, imatinib tedavisinin başlangıcından itibaren 6 ay içinde hastaların yaklaşık %3' ünü etkilemektedir. Ayrıca, akut karaciğer yetmezliği ve zaman zaman şiddetli periorbital ödem vakaları bildirilmiştir (Cross ve ark., 2006). Spermatogenezi etkilediğine dair

herhangi bir rapor bulunmamakla birlikte, doğurganlık çağındaki kadınların gelişmekte olan bir fetüs üzerinde potansiyel teratojenik etkilere maruz kalabileceği unutulmamalıdır. Nadir yan etkiler arasında dalak rüptürü, beyin ödemi, retinal ödem nedeniyle görme bozuklukları, suçiçeği-zoster enfeksiyonu, jinekomasti, bağıışıklık aracılı hemolitik anemi, şiddetli kas ödemi, şiddetli sıvı tutulum, interstisyel akciğer hastalığı ve pannikulit yer almaktadır (Kyathari ve ark., 2008; Ostro & Lipton, 2007).

Hipofosfatemya ve modifiye kemik ve mineral metabolizması, imatinib tedavisi gören hastaların yaklaşık %15' inde deri reaksiyonlarına yol açmaktadır. Ancak, Stevens-Johnson sendromu, eksfoliyatif dermatit ve eritema multiforme gibi şiddetli reaksiyonlar (yaklaşık %5 hastada) dışında, deri reaksiyonları nadiren kalıcı tedavi sonlandırılmasını gerektirir (Fitter ve ark., 2008). Moleküler remisyon sırasında KML hücre infiltrasyonu ile birlikte Sweet sendromu vakalarının kaydedildiği bildirilmiştir. Ayrıca, pityriasis rosea, palmoplantar hiperkeratoz ile birlikte oral ve deride likenoid reaksiyonlar da rapor edilmiştir (Marin ve ark., 2003). İmatinib' reseptör tirozinkinazını inhibe etmesiyle muhtemelen ilişkili olarak saç repigmentasyonu ve ciltte hipopigmentasyon vakaları bildirilmiştir (Pascual ve ark., 2006).

2.1.8.6 İmatinib Tedavisi Sırasında Yanıt Tanımlama ve İzleme

TKI' ların kullanıma girmesi, KML sonuçlarını büyük ölçüde etkilemiştir; ancak hastaların prognozunun değerlendirilmesi hala kemoterapi ve interferon döneminde geliştirilen prognostik skorlara dayanmaktadır. Bununla birlikte, yakın zamana kadar, TKI tedavisi gören KML hastalarının sonuçlarının tahmini, hidroksiüre ve interferon döneminde oluşturulan puanlama sistemlerine dayanıyordu (Hasford ve ark., 1998; Sokal ve ark., 1984). Avrupa Lösemi Ağı tarafından oluşturulan yeni bir puanlama sistemi, Avrupa Tedavi ve Sonuç Çalışması (EUTOS) skoru olarak adlandırılmaktadır. Bu puanlama sisteminin geliştirilmesi, yeni tanı almış KML-KF hastalarından oluşan 2060 kişilik bir kohorttan toplanan verilere dayanmıştır ve bu hastalar imatinib bazlı tedavi rejimleri almışlardır. EUTOS skoru, önceki yöntemle göre daha üstün bir prognostik yetenek göstermiştir; önceki yöntem, hastaları bazofil yüzdesi ve dalak boyutuna göre düşük ve yüksek risk gruplarına ayırmaktaydı (Hasford ve ark., 2011).

2.1.9 Minimal Rezidüel Hastalığın Tespiti

Moleküler prob kullanarak minimal rezidüel hastalığı tespit etmek mümkün hale gelir ve bu, KML klonuna ait yaklaşık 1/100,000 hücrenin tanımlanmasını sağlar. PCR, subklinik hastalığın ilerlemesini, belirtiler ortaya çıkmadan önce izlemeyi ve tedavi sonrasında subklinik hastalığın gerilemesi veya devamını değerlendirmeyi mümkün kılar (Löwenberg, 2003). Ancak, subklinik hastalığın sürekli varlığı, her zaman erken bir nöks garantisi sağlamaz; bu nedenle, minimal sayıda transkript mevcut olduğunda negatif qRT-PCR sonuçlarının yanlış yorumlanma olasılığı artar. Ph kromozomu pozitif metafaz hücrelerinin oranı ile mRNA BCR/ABL seviyeleri arasında belirgin bir korelasyon kurulmuştur (Lin ve ark., 1995).

Ayrıca, transkript sayısındaki artışlara dayanan tedavi kararları, seri ölçümler gerektirmektedir. İmatinib tedavisi gören ve gerçek zamanlı kantitatif PCR ile onaylanmış önemli moleküler yanıtlar gösteren hastalar arasında, kemik iliği hücrelerinde sitogenetik anormalliklerin tespit edilmediği görülmüştür. Bu durum, önemli moleküler yanıtları olan hastalarda düzenli kemik iliği incelemelerinin gereksiz olduğunu önermektedir (Stock ve ark., 2006). Hastalık ilerlemesi başlamadan önce mRNA BCR/ABL ifadesinde bir artış gözlemlenmiştir. Minimal rezidüel hastalığı tespit etme yöntemi son derece hassastır ve KML hastalarının tedavi sürecinde izlenmesi için uygulanabilir. Tam sitogenetik yanıt elde ederken önemli bir moleküler remisyona (medyan başlangıç değerinden 3-log 29 azalma olarak tanımlanır) ulaşan hastalar, bu seviyede moleküler yanıt göstermeyenlere kıyasla daha uzun süreli sitogenetik remisyonlar sergilemiştir (Press ve ark., 2006). FISH tekniği, %5-10 arasında bir yanlış pozitif oranı gösterebilir ve standardizasyon eksikliği vardır. Ancak, 100-500 gibi önemli sayıda hücrenin hızlı analizine olanak tanır. Farklı yanlış pozitif aralıkları ve puanlama kriterleri, fikse etme, örnek hazırlama ve hibridizasyon koşullarına bağlıdır. FISH ve RT-PCR, yararlı tamamlayıcı teknikler olarak hizmet edebilse de, genel olarak minimal rezidüel hastalığı izlemek için FISH önerilmez (Jabbour ve ark., 2008). İmatinib tedavisi, BCR/ABL transkript seviyelerinde hızlı bir azalma ile ilişkilidir. İmatinib tedavisi gören hastalar için qRT-PCR uygulandığında, önemli bir kısmı hastalığın kalıntı bulgularını göstermektedir (Sun ve ark., 2009).

bileşenler, MAPK' lar, özellikle JUK yoludur. BAP-1, BCR ile ilişkili protein 1' i ifade eder; GRB2, büyüme faktörü reseptörü ile bağlı protein 2' yi temsil eder; CBL, B-lineage lymphoma proteinini ifade eder; SHC, SRC homoloji 2 içeren proteini belirtir; CRKL, CRK-onkogen benzeri proteini ifade eder; ve JAK-STAT, Janus kinazı-sinyal iletim ve transkripsiyon aktivatörlerini ifade eder. FAK, odak yapışma kinazı anlamına gelen bir ilgi proteinidir. JAK/STAT5 yolundaki sinyal iletili ve transkripsiyon aktivatörü 5 (STAT5), RAS sinyal iletim yolu olmadan BCR-ABL tarafından doğrudan fosforile edilebilir (Chai ve ark., 1997; Ilaria & Van Etten, 1996). Bu, anti-apoptotik protein BCL-XL' nin yukarı düzenlenmesine yol açar (Gesbert & Griffin, 2000; Horita ve ark., 2000). BCR-ABL, CRKL ve CRK aracılığıyla fosfatidilinozitol-3 kinaz (PI3K) yolunun aktivasyonunu kolaylaştırır ve bu, pro-mitogenik ve anti-apoptotik sinyallerin güçlenmesine yol açar (Skorski ve ark., 1995). C-Myc' in, BCR-ABL sinyal iletim yolunda da bir rol oynadığı bulunmuştur (Afar ve ark., 1994). BCR-ABL' in sinyal iletim yolları üzerine kapsamlı araştırmalara rağmen, KML' de gözlemlenen tüm fenotipik özellikleri açıklayan bir yol bulunmamıştır. Çoğu etkileşim ve aktivasyon sürecinin yalnızca *in vitro* hücre hatlarında, zorla aşırı ifade koşullarında incelendiği önemle belirtilmelidir. Bu nedenle, bunların birincil lösemik hücrelerdeki varlığı ve *in vivo*' daki KML fenotipi üzerindeki etkileri hakkında belirsizlik devam etmektedir. Sonuç olarak, BCR-ABL' nin düzensiz kinaz aktivitesi, anormal hücre proliferasyonuna, lösemik hücrelerin kemik iliği stromasına olan yapışmasının azalmasına ve apoptozun baskılanmasına yol açar.

2.1.10.1 İmatinib' in Avantajları

BCR-ABL tirozin kinazının KML patogenezi üzerindeki önemli rolü nedeniyle, bu kinaza yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gündeme gelmiştir. İmatinib' in öncüsü, başlangıçta Ciba-Geigy (şimdi Novartis olarak bilinir, İsviçre'nin Basel şehrinde) bilim insanları tarafından, platelet kaynaklı büyüme faktörü reseptörü (PDGFR) için hedeflenmiş bir inhibitör geliştirme amacıyla yaratılmıştır. Ayrıca, ABL tirozine kinazı üzerinde de önemli inhibitör aktiviteye sahip olduğu keşfedilmiştir (Buchdunger ve ark., 1995). İmatinib mesilat, v-ABL tirozin kinaz inhibisyonunu optimize etmek için geliştirilmiştir (Manley ve ark., 2002; Traxler ve ark., 2001). İmatinib, BCR-ABL de dahil olmak üzere ABL tirozine kinazını seçici olarak inhibe eder (Buchdunger ve ark., 1996;

Manley ve ark., 2002) Sonraki araştırmalar, imatinib' in ayrıca PDGFR gibi sınırlı bir tirozin kinaz alt kümesini de seçici olarak hedeflediğini ortaya koymuştur (Buchdunger ve ark., 2000). (Heinrich ve ark., 2000). (Okuda ve ark., 2001). Preklinik çalışmalar, imatinib' in p210BCR-ABL taşıyan hücre hatlarının proliferasyonunu ve KML hastalarından elde edilen miyeloid hücrelerin klonal büyümesini seçici olarak inhibe ettiğini göstermiştir (Deininger ve ark., 1997; Druker ve ark., 1996). Ayrıca, fare modellerinde imatinib' in BCR-ABL pozitif hücrelere karşı *in vivo* etkinlik gösterdiği ve imatinib' e sürekli maruz kalmanın tümör yok edilmesi için zorunlu olduğu gösterilmiştir (Druker ve ark., 1996; Le Coutre ve ark., 1999). Klinik denemelere başlamadan önce, imatinib hayvan modellerinde kabul edilebilir bir toksikoloji profili göstermiştir. Haziran 1998' de, IFN bazlı tedavilere dirençli veya yanıt vermeyen kronik faz KML hastalarını hedefleyen bir faz I klinik denemesi başlamıştır. 300 mg veya daha yüksek doz alan hastalar arasında, en az 4 hafta tedavi gören 54 kişiden 53'ünde tam hematolojik yanıt gözlemlenmiştir. Pozitif pH içeren metafazlara rastlanmamıştır. Yönetilebilir yan etkiler arasında bulantı, kas ağrıları ve ödem bulunmaktadır. Tedavi edilen hastaların %16' sında trombositopeni ve %14' ünde nötropeni gözlemlenmiştir. Farmakokinetik çalışmalar, imatinib' in yarı ömrünün 13-16 saat arasında değiştiğini ve günlük bir kez dozaj yapılmasına olanak sağladığını göstermiştir (Druker, Talpaz, ve ark., 2001). Hastaların takip süresinin nispeten kısa olmasına rağmen, veriler ABL spesifik bir tirozin kinaz inhibitörünün, IFN' e dirençli hastalar dahil, KML tedavisinde önemli bir etkinlik gösterdiğini önermektedir. Bu deneme, KML' deki BCR-ABL tirozin kinaz aktivitesinin kritik önemini vurgulamış ve insan malignitelerinde bulunan spesifik moleküler anormallikleri hedef alan bir ilaç geliştirme örneğini sergilemiştir. Sonuçların son derece cesaret verici olması nedeniyle, faz I denemesi KML' nin miyeloid ve lenfoid blast krizine sahip bireyler ile tekrar etme veya dirençli Ph-pozitif ALL hastalarını kapsayacak şekilde genişletilmiştir (Druker, Sawyers, ve ark., 2001). Hematolojik yanıtların tatmin edici bir şekilde ortaya çıkmasına rağmen, çoğu hasta nispeten kısa bir süre içinde relapslar yaşadı. Sonuç olarak, imatinib, KML blast krizi ve Ph-pozitif ALL' de tek başına tedavi olarak dikkate değer bir etki gösterdi; ancak yanıtlar kalıcı değildi. Yine de, bu çalışmalar, BCR-ABL pozitif akut lösemilerde, örneğin KML blast krizinde, lösemik klonun hayatta kalmak için BCR-ABL kinaz aktivitesine belirli bir derecede bağımlılığını sürdürdüğünü

göstermiştir. Faz I denemelerinde, kronik evre KML hastalarında imatinib tedavisinin olumlu sonuçları, geniş çaplı faz II ve faz III araştırmalarını teşvik etmiştir. 1999' un sonlarında, tüm KML evreleri için imatinib' in monoterapi olarak kullanıldığı Faz II çalışmaları başlamıştır (Ottmann ve ark., 2002; Sawyers ve ark., 2002). IFN- α tedavisine yanıt vermeyen kronik faz hastaları için sonuçlar, beklenenden önemli ölçüde daha iyi oldu. Günlük 400 mg imatinib ile tedavi edilen bu hastaların %95' i tam hematolojik yanıt elde ederken, %60' ı da büyük sitogenetik yanıt (MCgR) sağlamıştır (Kantarjian ve ark., 2002). Beklendiği gibi, akut faz hastalarındaki etki, kronik faz hastalarındaki etki arasında yer aldı (Talpaz ve ark., 2002). İmatinib' in etkinliği, uluslararası interferon ile STI-571 (IRIS) randomize çalışmasında IFN- α ve sitarabin kombinasyonu ile karşılaştırılmıştır. Sonraki analizler, imatinib' in IFN- α ' ya göre üstünlüğünü göstermiştir (O'Brien ve ark., 2003). IRIS denemesinden elde edilen beş yıllık takip verileri, imatinib tedavisinin 60. ayında hastaların %98' inin tam hematolojik yanıt ve %87' sinin TSY elde ettiğini göstermiştir. Olaydan bağımsız sağkalım oranı %83 iken, genel sağkalım beş yıl sonra %89' a ulaşmıştır (Druker ve ark., 2006). Yanıtlar, özellikle 12 ay içinde BCR-ABL transkripti sayısında en az 3 log azalma gösteren en elverişli moleküler yanıtları hedef olarak qRT-PCR kullanılarak daha da tabakalandırılabilir. Hastalığın ilerleme riski ise minimaldi (Hughes ve ark., 2003).

2.1.10.2 İmatinib Hakkındaki Endişeler

Moleküler süreklilik kavramı önceden herhangi bir tedavi almamış kronik faz hastalarının yaklaşık %80' inin TSY elde etme olasılığına rağmen, önemli bir hasta grubu qRT-PCR ile değerlendirildiğinde BCR-ABL transkriptleri için pozitif sonuç vermeye devam etmektedir (Hughes ve ark., 2003). Yani, hala kalıcı hastalık belirtileri yaşamaktadırlar. BCR-ABL transkriptleri tespit edilemeyen bireylerde bile, vücutlarında 10^7 kadar lösemik hücrenin bulunması mümkündür (Kaeda ve ark., 2002). İlacın kullanımı durdurulursa, relaps gerçekleşme olasılığı önemli ölçüde artmaktadır (Cortes ve ark., 2004; Rousselot ve ark., 2007). Kemik iliği üzerindeki çalışmalar, kalan Ph-pozitif hücrelerin lösemik kök hücre popülasyonunun bir parçası olduğunu göstermiştir (Bhatia ve ark., 2003; Chu ve ark., 2005). *In vitro* çalışmalar, önemli sayıda ilkel Philadelphia-pozitif progenitör veya kök hücrenin imatinibe karşı nispeten düşük bir duyarlılık gösterdiğini ortaya koymaktadır (Graham ve ark., 2002). Çeşitli kanıtlar, imatinib' in, farklılaşmış KML

hücrelerine karşı yüksek etkinliğine rağmen, lösemik kök hücreleri ortadan kaldırmada muhtemelen etkisiz olduğunu göstermektedir. Kanser kök hücre hipotezi, tümörler içindeki son derece nadir bir hücre popülasyonunun sınırsız öz yenilenme yeteneğine sahip olduğunu öne sürmektedir (Huntly & Gilliland, 2005). Bu teori, KML' deki aşağıdaki modelle örneklendirilmektedir (Michor ve ark., 2005). KML bağlamında, lösemik kök hücreler durgun olarak tanımlanabilir ve çoğunlukla G0 evresinde bulunurlar. Belirli koşullarda, lösemik kök hücreler hücre döngüsüne girebilir ve progenitörler üretebilir, bu da farklılaşmış lösemik hücrelerin oluşumuna yol açar. Sonuç olarak, hastalık nüks eder (Al-Hajj ve ark., 2004; Hope ve ark., 2004; Huntly & Gilliland, 2005). pH-pozitif progenitörlerin genişlemesi imatinib tarafından etkili bir şekilde inhibe edilmektedir (Druker ve ark., 1996). KML' li hastalarda, tedaviye son derece iyi yanıt verenler de dahil olmak üzere, kalan lösemik hücreleri sürekli olarak baskılamak için ömür boyu imatinib tedavisinin gerekli olması oldukça olasıdır. Zorluk, bu durgun kök hücreleri özellikle hedefleyen tedavi yaklaşımları, örneğin immünoterapinin geliştirilmesindedir.

2.1.10.3 İmatinib Direnci

İmatinib' in yüksek oranda tatmin edici yanıtlar oluşturabilmesine rağmen, KML' nin tüm evrelerinde hem primer hem de kazanılmış direnç gözlemlenmektedir. İmatinib' e karşı direncin birçok yönü vardır. Genel olarak 2 direnç kategorisi bulunmaktadır: Primer direnç ve kazanılmış direnç. Primer direncin hematolojik, sitogenetik veya moleküler yönleri açısından kategorize edilebileceği kabul edilmektedir. "Kazanılmış direnç" terimi şu şekilde tanımlanabilir: İleri evre (AF) veya blast krizi (BK) durumuna geçiş. Sürekli tam hematolojik yanıt veya sitogenetik yanıt kaybı. BCR-ABL transkriptlerinin sayısında 5-10 katlık önemli bir artış (Goldman, 2004). Direnç mekanizmalarının incelenmesi son beş yıl boyunca yoğun bir araştırma konusu olmuştur. Bununla birlikte, primer direnç mekanizması büyük ölçüde çözülmemiştir. Genel olarak, imatinib direncinin moleküler mekanizmaları iki kategoriye ayrılabilir: BCR-ABL bağımsız ve BCR-ABL bağımlı durumlar (Tauchi & Ohyashiki, 2004). İlk kategoride, lösemik hücreler ikincil onkogenik değişikliklere uğrayarak BCR-ABL' e bağımlı olmayan hücre proliferasyonuna neden olabilir. Bu durumda, BCR-ABL geçerli bir hedef olmaktan çıkar ve bu bağlamda en etkili

BCR-ABL inhibitörü bile etkisiz hale gelir. Bununla birlikte, bu BCR-ABL bağımsız mekanizmaların özellikle kronik faz KML' de nadir olaylar olması muhtemeldir (Wong & Witte, 2004). İkinci kategori, BCR-ABL bağımlı olarak bilinen, hastada (konak aracılığıyla) veya lösemik klonun (hücre içi) değişiklikler gerçekleştiğinde, ilacın hedef BCR-ABL proteinini etkin bir şekilde baskılama yeteneğini engelleyen bir durumdur. Konak aracılığıyla gelişen direnç, imatinib' in bir karaciğer P450 enzimi tarafından enzimatik olarak değiştirilmesi veya ilacın etkinliğini engelleyen bir protein, örneğin alfa-1 asit glikoprotein sentezi yoluyla kendini gösterebilir (Dai ve ark., 2003; Gambacorti-Passerini ve ark., 2000). Hücre içi direnç, hedef BCR-ABL tirozin kinazında meydana gelen değişikliklerden, örneğin gen amplifikasyonu veya BCR-ABL kinaz alanındaki mutasyonlardan kaynaklanabilir. Alternatif olarak, çoklu ilaç direnci genlerinin yukarı düzenlenmesi nedeniyle hücre içindeki ilaç seviyelerinin azalmasından da kaynaklanabilir. Bu mekanizmalar arasında, BCR-ABL kinaz alanı mutasyonları en kapsamlı araştırmalara konu olmuştur. Dirence neden olan ilk mutasyon T334I (orijinal tip 1a numaralandırma sisteminde T315I) olarak bulunmuştur (Gorre ve ark., 2001). Şu anda, imatinib direnci ile ilişkili olarak 50' den fazla farklı BCR-ABL kinaz alanı mutasyonu tanımlanmıştır (Branford ve ark., 2002; Shah ve ark., 2002). BCR-ABL kinaz alanında bir nokta mutasyonunun meydana gelmesi, amino asit dizisinin değişmesine neden olarak imatinib bağlanması için kritik etkileşim bölgelerini olumsuz etkileyebilir veya proteinin konformasyonunda bir değişiklik oluşturabilir. Üç boyutlu dağılım açısından, BCR-ABL kinaz mutasyonları dört ana kümede gruplandırılmıştır. İlk küme (G250E, Q252H, Y253F ve E255K), genellikle p-loop olarak adlandırılan ATP için nükleotid bağlanma halkasındaki ilgili amino asitleri içerir (Wong, S., & Witte, O. N. (2004), Zonder, J. A., Pemberton) İkinci mutasyon seti, imatinib bağlanma bölgesinde yer alır ve ilacı bir hidrojen bağı (T315I) ve Van der Waals etkileşimleri ile etkiler. V289A, T315I ve F317L mutasyonları önceki bir çalışmada bildirilmiştir (Warlick, E., & Smith, B. (2007), Wong, S., & Witte, O. N. 2004). Üçüncü mutasyon grubu (M388L ve H396P), aktivasyon halkası (A-loop) içinde bulunur (Von Bubnoff ve ark., 2002). Bu mutasyonlar, proteinin inaktif konformasyondan aktif konformasyona geçişine neden olur; bu durumda imatinib bağlanamaz (Schindler ve ark., 2000). Bu çalışmanın amacı, kronik miyeloid lösemi (KML) hastalarında imatinib tedavisine yanıtın BCR-ABL p210 düzeyleri

üzerinden moleküler takibini yapmak ve tedaviye direnç gelişen hastalarda direnç mekanizmalarını Sanger sekanslama yöntemi ile araştırmaktır. İmatinib tedavisinin başlangıcından itibaren 6 ay sonra BCR-ABL p210 düzeylerinin yeniden değerlendirilmesi, moleküler yanıtı tespit ederek erken dönemde tedavi başarısızlığını belirlemeyi hedeflemektedir. Tedaviye yanıt vermeyen hastalarda sekanslama analizi ile BCR-ABL geninde mutasyon veya diğer genetik değişikliklerin varlığı araştırılarak, imatinib direncinin altında yatan genetik faktörlerin ortaya konması amaçlanmaktadır.



BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOTLAR

3.1 Hasta Seçimi

Araştırma aşağıdaki yerlerde gerçekleştirilmiştir:

- Nanakaly Hastanesi, Erbil, Irak.
- Bio Tanı Merkezi, Erbil, Irak.

1. Tez Çalışmasında 50 Hasta ve 100 Kontrol Grubu Katılımcısının Seçimi İçin Kriterler

A- Hasta Grubu İçin Dahil Etme Kriterleri (50 Katılımcı) Tanı: Hastalar KML veya araştırmaya konu olan hastalık ile klinik olarak teşhis edilmiş olmalıdır.

B- Yaş Aralığı: Hastalığın yaygınlığı ve çalışmanın gereksinimlerine göre uygun bir yaş aralığı belirlenmelidir.

C- Cinsiyet: Çalışmanın odak noktasına bağlı olarak her iki cinsiyet veya belirli bir cinsiyet dahil edilebilir.

D- Hastalık Şiddeti: Tüm hastalık evreleri mi yoksa sadece belirli evreler mi dahil edilecek belirlenmelidir.

E- Tıbbi Geçmiş: Çalışma sonuçlarını etkileyebilecek önemli başka bir hastalığı olmayan hastalar seçilmelidir.

F- Tedavi Geçmişi: Tedavi gören, yeni teşhis edilen veya tedavi edilmemiş bireylerin uygunluğu belirlenmelidir.

2. Hasta Grubu İçin Hariç Tutma Kriterleri Sonuçları karıştırabilecek diğer önemli kronik hastalıklara sahip bireyler

A- Sonuçları etkileyebilecek deneysel tedavi alan hastalar

B- Hamile veya emziren kadınlar (eğer çalışma ilaç kullanımı veya müdahale içeriyorsa)..

C-Bilgilendirilmiş onam vermeyen hastalar.

3. Kontrol Grubu İçin Dahil Etme Kriterleri (100 Katılımcı)Sağlıklı Bireyler: Araştırmaya konu olan hastalık için önceden teşhis almamış bireyler

A-Yaş ve Cinsiyet Eşleştirmesi: Hasta grubu ile yaş ve cinsiyet açısından uyumlu kontrol grubu seçimi.

B-Aile Geçmişi: Eğer çalışmaya uygunsa, hastalık aile geçmişi olan bireyler hariç tutulmalıdır.

C-Kronik Hastalıkların Olmaması: Çalışma sonuçlarını etkileyebilecek kronik hastalıkları olmayan bireyler.

D-Benzer Yaşam Tarzı Faktörleri: Sigara, alkol tüketimi ve diyet gibi yaşam tarzı faktörlerinin hasta grubuna benzer olması sağlanmalıdır.

E-Bilgilendirilmiş Onam: Kontrol katılımcıları, gönüllü olarak çalışmaya katılmayı kabul etmelidir.

4. Kontrol Grubu İçin Hariç Tutma KriterleriÇalışılan hastalığa işaret edebilecek semptomları veya teşhis edilmemiş rahatsızlıkları olan bireyler

A-Önemli altta yatan tıbbi durumu olan bireyler.

B-Çalışma sonuçlarını etkileyebilecek ilaçları kullanan bireyler.

C-Hamile veya emziren kadınlar (eğer çalışma tasarımına uygunsa).

D-Çalışmaya katılmayı reddeden veya katılımını geri çeken bireyler.

Veri toplama dönemi, hasta muayenesi ve laboratuvar araştırmaları, Eylül 2023'ten Mart 2024'e kadar prospektif olarak gerçekleştirildi. Yaklaşık 50 KML hastasından ve 100 kontrol hastasından kan örnekleri EDTA' lı tüplere toplandı. KML hastalarının (Uluslararası Standart) değerleri kaydedildi. Örneklerin toplanmasından yaklaşık 6 ay sonra, takip amaçlı KML hastalarından yeniden kan alınarak Uluslararası standart değerleri önceki sonuçlarla karşılaştırıldı .Çalışma, Salahadin Üniversitesi'nin bilimsel ve etik komitelerinden onay alarak Helsinki Bildirgesi'nde belirtilen etik ilkelere uygun şekilde gerçekleştirilmiştir .kaynak (NU:.4S /495) Rutinde toplanan hasta bilgileri ve tüm

klirik bulgular toplanmış ve değerlendirilmiştir. Hastaların hematolojik değerlendirmeleri yapılmış ve sitogenetik durumlarından bağımsız olarak BCR/ABL gen yeniden düzenlenmesi RT-PCR ile çalışılmıştır.

3.2 Hematolojik Değerlendirme

İnceleme, tam kan sayımının yapılmasını ve hemogram profili için Medonic Coulter hematoloji Analiz Cihazı (İsveç) kullanarak ve morfoloji için Leishman boyası ile boyanmış preparatların hazırlanmasını içeriyordu. Ardından tam beyaz kan hücresi diferansiyeli yapıldı.

3.3 Moleküler Çalışmalar

Moleküler testler için tüm 150 katılımcıdan 6 mL venöz kan toplandı. Kan örnekleri iki EDTA' lı tüpe alındı. Örneklerden RNA izolasyonu 12 saatten daha kısa sürede elde edildi.

3.3.1 RNA İzolasyonu

Periferik kan örneklerinden RNA izolasyonu, GeneAll: Hybrid-R Blood RNA mini kit (GeneAll, Kore, Lot No 31522L08027) kullanılarak elde edildi. 3 mL kan, uygun boyutta bir tüpte 12 mL seyreltilmiş Buffer RL ile karıştırıldı. Toplam hacmi 15 mL olan bu tüpte karıştırılan hacim, optimal sonuçlar için (kan + Buffer RL) 10 sn boyunca iyice karıştırıldı. Eğer kullanılan kan yüksek beyaz kan hücresi sayısına sahipse, işleme alınan kan miktarı uygun şekilde azaltıldı. Ardından oda sıcaklığında 10-15 dk inkübe edildi. İnkübasyon sırasında 2 kez kısa süreli vortex ile karıştırıldı. Bulanık süspansiyon, inkübasyon sırasında eritrositlerin lizise olduğunu gösterir şekilde saydam hale gelmektedir. Sonrasında 600xg' de 10 dk 4°C' de santrifüj edildi. Süpernatant tamamen çıkarıldı ve atıldı. Santrifüj sonrası lökositler pellete dönüştü. Süpernatant tamamen çıkarıldı. Kırmızı bir ton veren eritrositlerin iz miktarları, sonraki yıkama adımında ortadan kaldırıldı. 1 mL seyreltilmiş Buffer RL, hücre pelletine eklendi. Hücreler pipetle kısa süre karıştırılarak yeniden süspansiyona getirildi. Oda sıcaklığında 3000 rpm' de 2 dk santrifüj edildi. Süpernatant çıkarıldı ve atıldı. Pellete alınan lökositlere 750 µL RiboEX TM LS eklendi. Oda sıcaklığında 2 dk inkübe edildi. Bu adım, lökositlerin tamamen parçalanmasını sağlar. Homojenize edilmiş lizata 0.2 mL kloroform eklendi, pipetle karıştırıldı ve oda sıcaklığında 2 dk bekletildi. Ardından 12000xg' de 15 dk 4°C' de santrifüj edildi. Karışım üç faza ayrılacaktır: Alt katman, ara faz ve renksiz üst su katmanı olmak üzere. Aköz

fazdan yaklaşık 450 µL ezPure TM filtreye aktarılır. $\geq 10,000xg$ ' de 30 sn santrifüj edilir. Kalan örnek ile aynı adımlar tekrarlanır. Mini kolona 50 µL Buffer RBW eklenir. $\geq 10,000xg$ ' de 30 sn oda sıcaklığında santrifüj edilir. Mini kolona 50 µL Buffer RNW eklenir. $\geq 10,000xg$ ' de 30 sn oda sıcaklığında santrifüj edilir. Geçen süpernatant atılır ve mini kolon aynı tüpe geri konur. Son olarak, residüel yıkama tamponunu çıkarmak için $\geq 10,000xg$ ' de 1 dk daha santrifüj edilir. Mini kolon yeni bir 1.5 mL mikro santrifüj tüpüne aktarılır. Mini kolonun membranının ortasına 30 µL nükleazsız su eklenir ve en son olarak $\geq 10,000xg$ ' de 1 dk oda sıcaklığında santrifüj edilir.

Temizlenmiş RNA, hemen analiz için 4°C' de saklanabilir ve uzun süreli saklama için -70°C' de muhafaza edilebilir. Elde edilen RNA, DNA ve protein içermemekte olup A260/A280 oranı 1.8 ile 2.2 arasında olmalıdır.

3.3.2 qRT-PCR ile BCR-ABL Mbc P210 Füzyon Transkriptinin Nicel Tespiti

PCR amplifikasyonu, 20 µL toplam hacimde, 4 karışım içeren GeneMAP™ BCR-ABL1 p210 (MBCR) master mix ile ve 5 µL RNA kullanılarak gerçekleştirildi (Türkiye, LOT.No: 2303MBCR01221). RNA örnekleri, standartların, primerlerin ve prob karışımlarının kullanımını optimize etmek amacıyla gruplar halinde analiz edildi. Tüm gerekli bileşenler çözüldü ve buz üzerinde bekletildi. İşlem göreceğ örnek sayısına göre aşağıdaki RT karışımı hazırlandı (Tablo 3.1). qRT-PCR reaksiyon şartları Tablo 3.2' de verilmiştir.

Tablo 3.1 qRT-PCR TaqMan Premiks Reaktanı Karışımı

qRT-PCR Premiks Reaktanları	Nihai Konsantrasyon	1 Reaksiyon
5X BCR-ABL P210 ppm	5X	4 µL
5X Tek Aşamalı PCR Tamponu	5X	4 µL
Nükleazsız Su		5.4 µL
Tek Aşamalı Enzim Karışımı		1.6 µL
PCR Mastermix'in Toplam Hacmi		15 µL
Örnek Nükleik Asit RNA		5 µL

Tablo 3.2 qRT-PCR Reaksiyon Koşulları

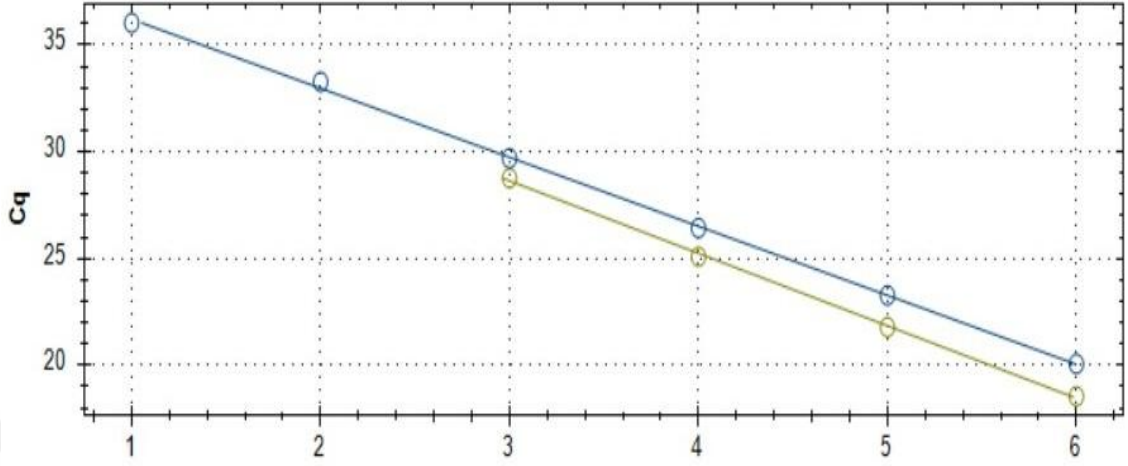
Sıcaklık	Süre	Döngüler
50 °C	30 dk	X1
95 °C	15 dk	X1
95 °C	15 dk	45 Döngü
62 °C	1 dk	

3.3.2.1 Test Yorumu

PCR, TaqMan Probe teknolojisini kullanarak hassas ve spesifik DNA amplifikasyonu gerçekleştirir. Kit, iki temel prosedüre dayanır: nükleik asit ekstraksiyonu ve PCR makinelerinde primer ve prob mekanizmaları kullanarak gerçek zamanlı PCR ile amplifikasyon. BCR-ABL1 IS-MMR kiti, p210 BCR-ABL1 (b2a2, b3a2) ve ABL1' i hedef alarak nükleik asitleri tek aşamada amplifiye eden bir PCR testidir.

TaqMan probu, insan, veteriner ve çevresel tanılarda en yaygın kullanılan qPCR probudur. DNA oligonükleotidinin bir ucunda floresan bir boya, diğer ucunda ise bir quench yer alır. Prob, PCR sırasında, iki primerle çevrili olan hedef DNA dizisine spesifik olarak bağlanır. DNA iplikçik uzaması sırasında, polimerazın eksonükleaz aktivitesi probu parçalar, bu da floroforu quencher'dan ayırır ve floresan yayılmasına neden olur. Reaksiyondaki DNA miktarı ne kadar fazla olursa, floresans o kadar hızlı tespit edilir ve bu da daha erken Ct değerlerine yol açar. Sonuçlar, RT reaksiyonunun yaklaşık 5 µL' sine (1/10) karşılık gelen toplam RNA' nın yaklaşık 100 ng' sine görelerdir.

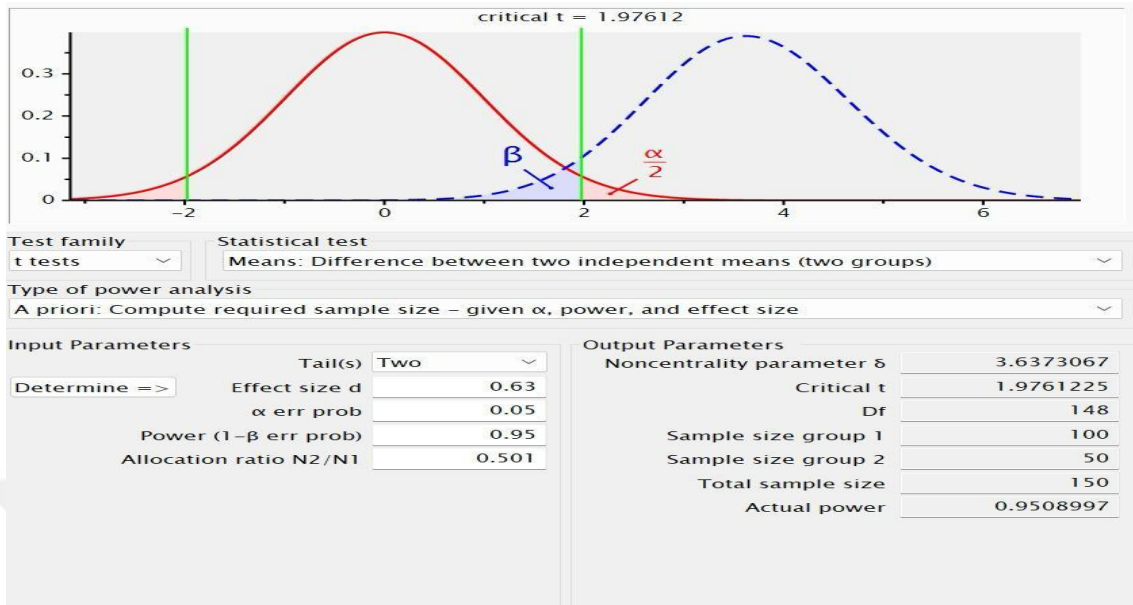
Ham verileri analiz için excel dosyası kullanılabilir. ABL ve BCR/ABL genlerinin ham Ct değerleri, Log Kopya Sayısı (C1, C2 ve C3 için 3, 4 ve 5) ile grafiğe dökülmüştür. Beş standart seyreltme üzerinde hesaplanan teorik eğri, aşağıdaki (Şekil 3.1) ile gösterilmektedir. Her gen (ABL ve BCR/ABL) için, doğrusal bir regresyon eğrisi ($y = ax + b$) hesaplanır; burada a, doğrunun eğimini temsil eder ve b, doğrunun y-eksenini kestiği y-koordinatıdır. Denklemi ve belirleme katsayısı (r^2) grafikte gösterilmektedir.



Şekil 3.1 Teorik Eğri Hesaplama Örneği

3.4 İstatistiksel Analizler

Tüm istatistiksel analizler için GraphPad istatistik yazılımı (sürüm 9.3) kullanılmıştır. İstatistiksel testler olarak, Prism, piyasada bulunan en kolay kullanılan doğrusal olmayan regresyon analizi yazılımıdır. Verilerin parametrik olup olmadığını belirlemek için normallik testleri (Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, D'Agostino) GraphPad 9 Prism (GraphPad Software, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin normal dağılım göstermemesi nedeniyle tüm analizlerde parametrik olmayan testler tercih edildi. Veriler, medyan ve çeyrekler arası aralık (IQR) şeklinde sunuldu. İki'den fazla grup arasındaki karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testleri uygulandı. Ayrıca, Tukey testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalar için post hoc analiz olarak Dunn testi tercih edildi.



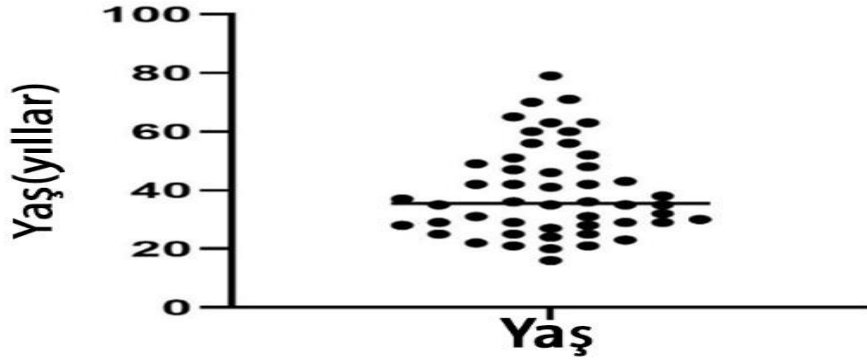
Şekil 3.2 İstatistiksel Power Analiz

BÖLÜM 4

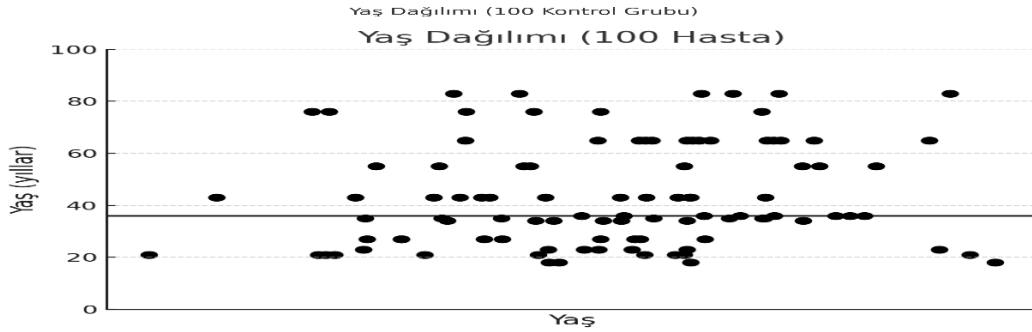
BULGULAR

4.1 Yaş ve Cinsiyet Dağılımı

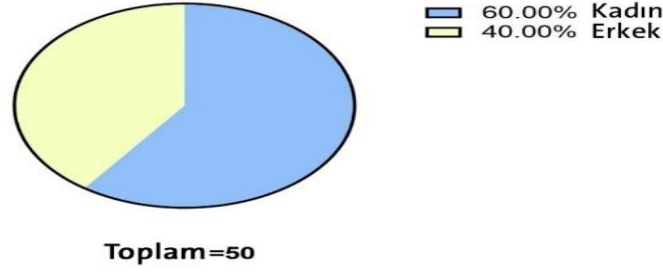
Toplam 50 kayıtlı hastanın yaşları 16-79 arasında değişmektedir ve medyan yaşı 39' dur (SD 15.35). Bu hastaların 20' si (%40) erkek ve 30' u (%60) kadındır. Toplam 100 kontrol grubu üzerinde yapılan değerlendirmede, yaşlar 19-83 arasında değişmekte olup yaş ortalaması (mean) 45.6 yıl olarak belirlenmiştir. Cinsiyet dağılımında ise %57'si kadın ve %43'ü erkektir. Şekil 4.1, hasta kayıtlarının yaşa göre dağılımını gösteren histogramı illüstre etmektedir. Ayrıca, Şekil 4.2, erkek ve kadın dağılımını da göstermektedir.



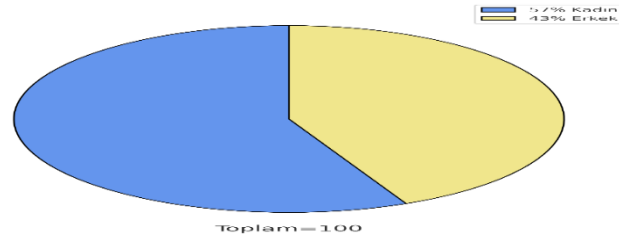
Şekil 4.1 Çalışmaya katılan 50 KML Hastasının Yaş Dağılımı



Şekil 4.2 Çalışmaya katılan 100 Control gurubu Yaş Dağılımı



Şekil 4.3 Çalışmaya Katılan 50 Hastanın Cinsiyet



Şekil 4.4 Çalışmaya Katılan 100 kontrol Cinsiyet

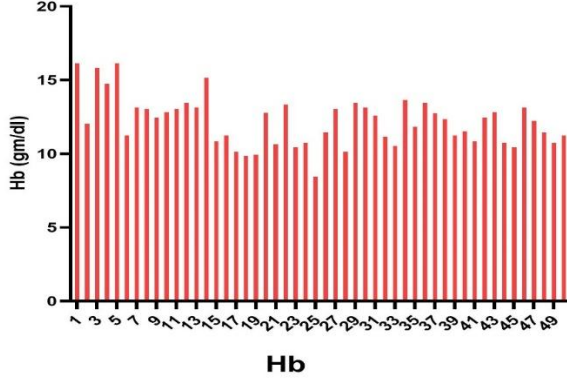
Tablo 4.1 Hastaların ve Kontrol grubunun Hematolojik Parametreleri (Hasta= 50, Kontrol=100)

Parametre	Hasta Grubu			Kontrol Grubu			P-value
	Aralık	Ort.	±SD	Aralık	Ort.	±SD	
Hb (g/dL)	8.5-16.20	12.24	2.0	11.2-15.9	13.55	1.5	0.008
WBC(x109/L)	8.25-278	33.06	49.3	4.2-10.9	7.55	1.8	<0.0001
PLT(x109/L)	154 -794	255.9	128.1	156-385	270.5	80.5	0.44
RBC (x1012/L)	2.80-6.35	4.11	0.78	4.55-5.45	5.0	0.3	0.14
RNA (ng/μL)	93-487	277	115				

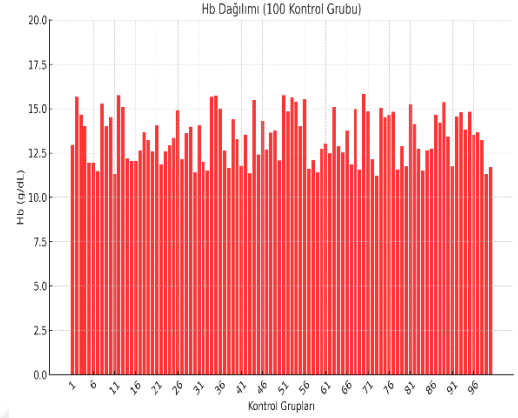
4.2 Hemogram Profili

Tablo 4.1, hastaların kayıt anındaki hemogram özelliklerini göstermektedir. Hemoglobinin konsantrasyonu 8.5-16.20 g/dL arasında değişmekte olup ortalaması 12.24 g/dL (SD 2.0) olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunun hemoglobinin konsantrasyonu 11.2-15.9g/dL

arasında değişmekte olup, ortalaması 13.55 g/dL (SD 1.5) olarak belirlenmiştir. 50 hastanın hemoglobin seviyesini gösteren histogramı aşağıda verilmiştir (Şekil 4.3).

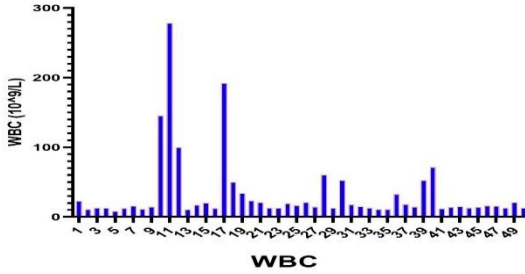


Şekil 4.5 KML Hastasının (Hb) Seviyeleri

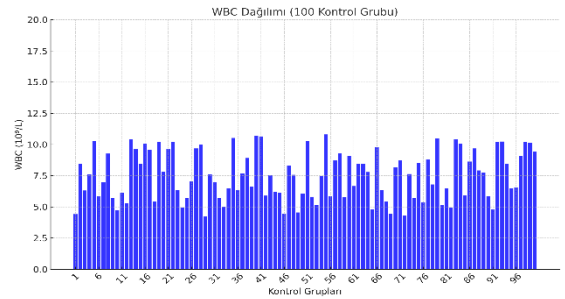


Şekil 4.6 Kontrol grubunun Hb seviyeleri

Beyaz kan hücreleri sayımı, $8.25-278 \times 10^9/L$ arasında değişmekte olup ortalaması $33 \times 10^9/L$ (SD 49.3) olarak belirlenmiştir. Şekil 4.4, kayıtlı hastaların beyaz kan hücreleri sayım dağılımlarını göstermektedir. Kontrol grubunun beyaz kan hücre konsantrasyonu $4.2 \times 10^9/L - 10.9 \times 10^9/L$ arasında değişmekte olup, ortalaması $7.55 \times 10^9/L$ (SD 1.8) olarak belirlenmiştir.

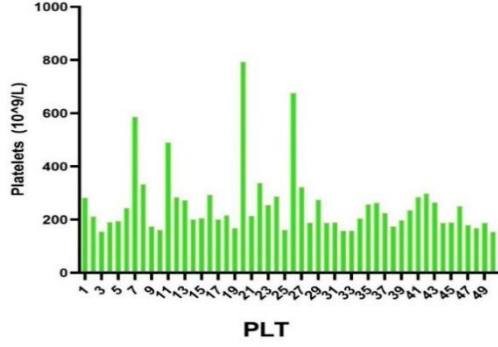


Şekil 4.7 Hastaların Beyaz Kan Hücre Sayım severleri

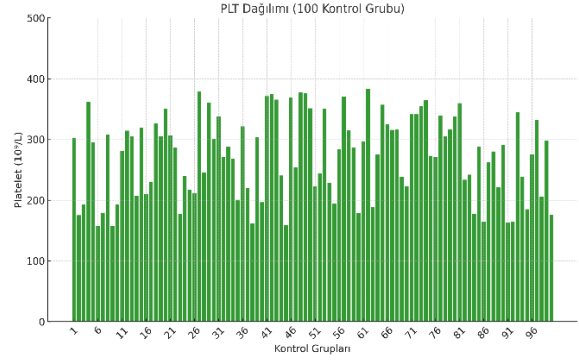


Şekil 4.8 Kontrol grubunun beyaz kan Hücre Sayım severleri

Hemogramda trombosit sayımları $154 \times 10^9/L$ ile $794 \times 10^9/L$ arasında değişmekte olup ortalaması $256,000/\mu L$ (SD 128.1) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.5). Kontrol grubunun trombosit konsantrasyonu $156 \times 10^9/L - 385 \times 10^9/L$ arasında değişmekte olup, ortalaması $270.5 \times 10^9/L$ (SD 80.5) olarak belirlenmiştir.

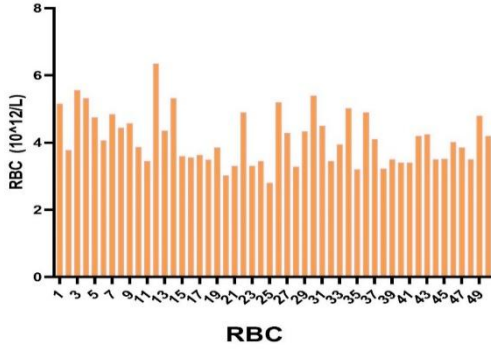


Şekil 4.9 KML Hastasının Trombosit Sayımlarının Dağılımı

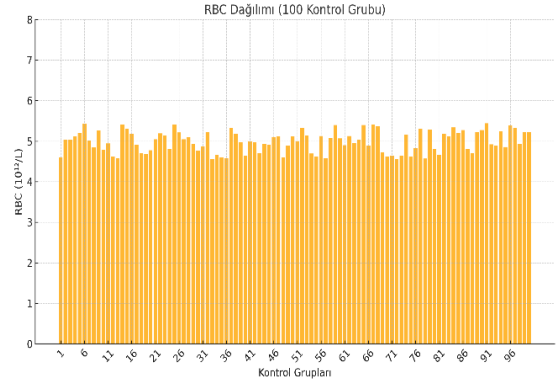


Şekil 4.10 Kontrol grubu Trombosit Sayımlarının Dağılımı

Öncelikle yapılan hemogramda belgelenen kırmızı kan hücreleri sayıları $2.80-6.35 \times 10^{12}/L$ arasında değişmekte olup ortalaması $4.11 \times 10^9/L$ (SD 0.78) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.6). Kontrol grubunun kırmızı kan hücre konsantrasyonu $4.55 \times 10^{12}/L-5.45 \times 10^{12}/L$ arasında değişmekte olup ortalaması $5.0 \times 10^{12}/L$ (SD 0.3) olarak belirlenmiştir.



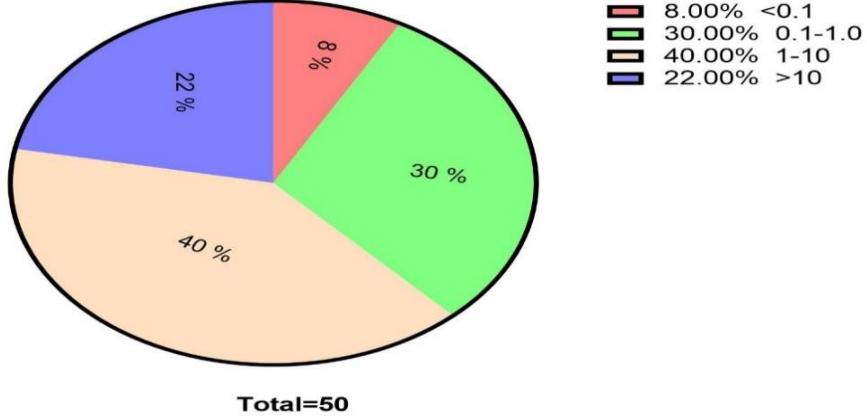
Şekil 4.11 KML Hastasının kırmızı kan Hücreleri Sayılarının severleri



Şekil 4.12 Kontrol grubunun kırmızı kan Hücreleri Sayılarının severleri

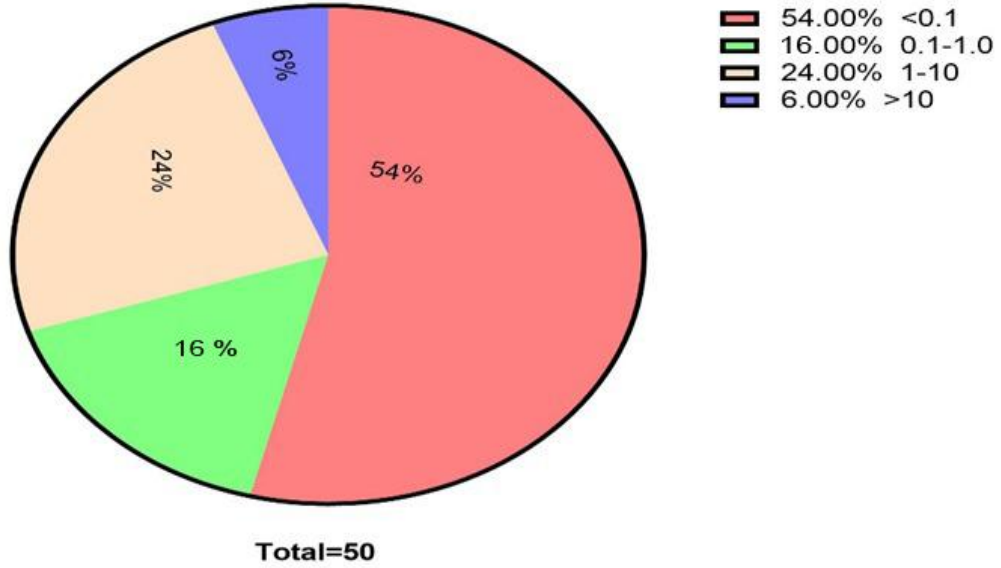
4.3 İlaç tedavisi Öncesi Moleküler Yanıt

RNA transkript düzeyinin gerçek zamanlı PCR ile tespiti, KML hastalarına imatinib tedavisinden önce uygulanmıştır. Kayıtlı 50 hastadan 4' ü (%8) $MMR \leq 0.1$ %IS göstermiştir. 15 hasta (%30) %0.1-1.0 IS aralığında, 20 hasta (%40) %1-10 IS aralığında, kalan 11 hasta (%22) ise $>10\%$ BCR-ABL IS seviyesine sahiptir (Şekil 4.7).



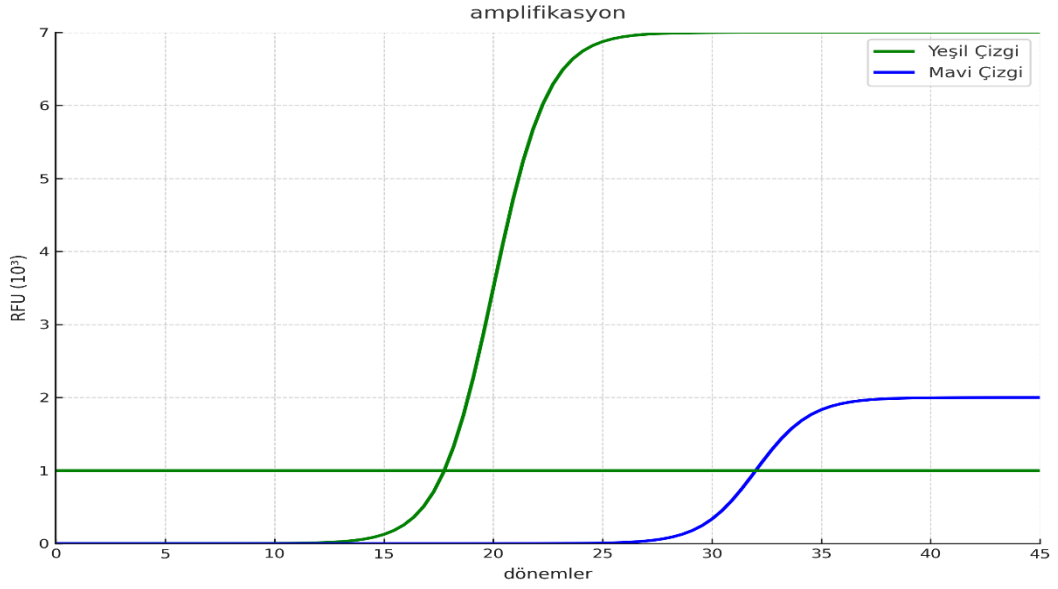
Şekil 4.13 Tedavi Öncesi Dört Uluslararası Ölçek Kategorisinde Moleküler Yanıtlar.

İmatinib tedavisi sonrası yapılan moleküler analizlerde, 50 hastadan 27' si (%54) $MMR \leq 0.1$ %IS) göstermiştir. 8 hasta (%16) %0.1-1 IS aralığında, 12 hasta (%24) %1-10 IS aralığında, kalan 3 hasta (%6) ise $>10\%$ BCR-ABL IS seviyesine sahiptir (Şekil 4.8).

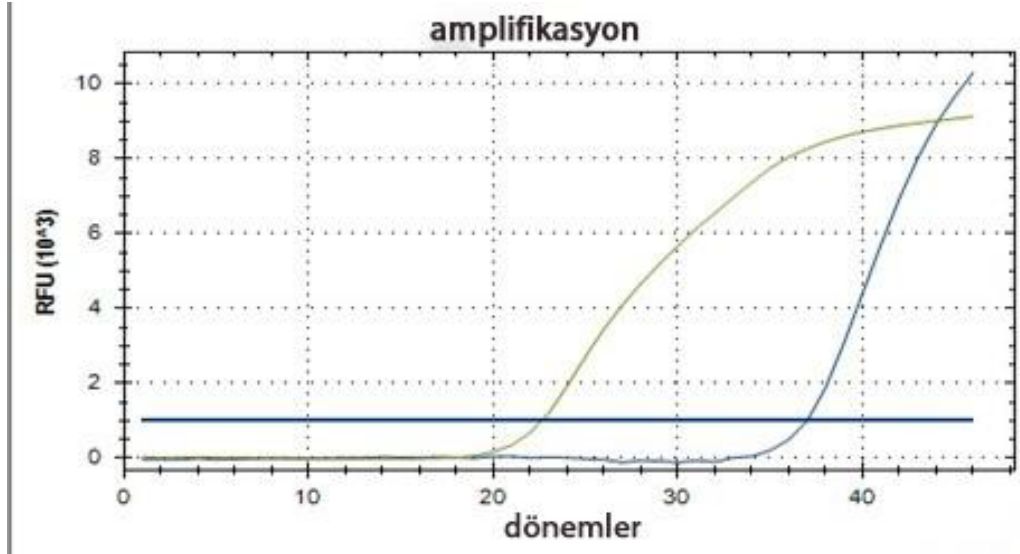


Şekil 4.14 Dört Uluslararası Ölçek Kategorisinde Tedavi Sonrası Moleküler Yanıtlar

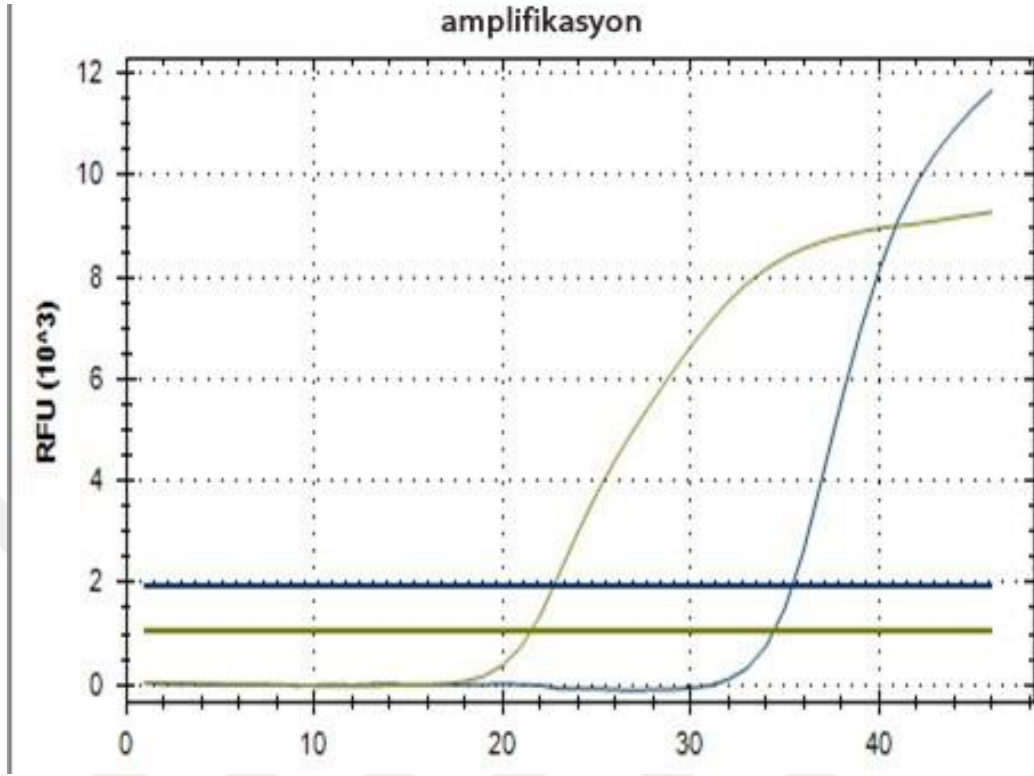
Şekil 4.15-4.19, sırasıyla RNA transkript seviyeleri % ≤ 0.1 IS, % 0.1-1.0 IS, % 1-10 IS ve % >10 olan hastaların örneklerini göstermektedir.



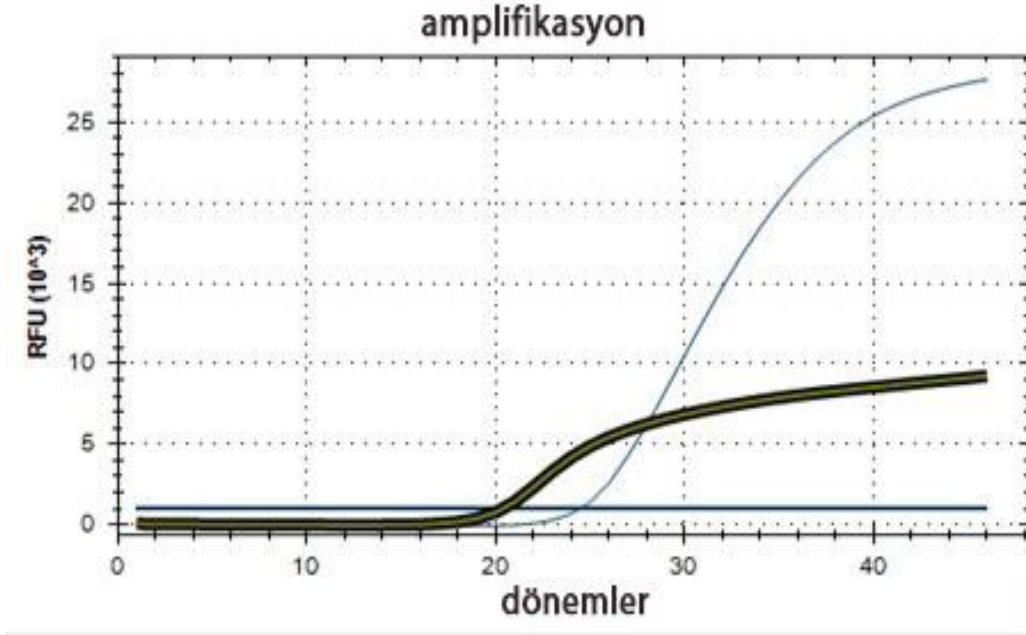
Şekil 4.15 BCR/ABL1 RNA Transkript Seviyesi % ≤ 0.1 IS Olan Hasta



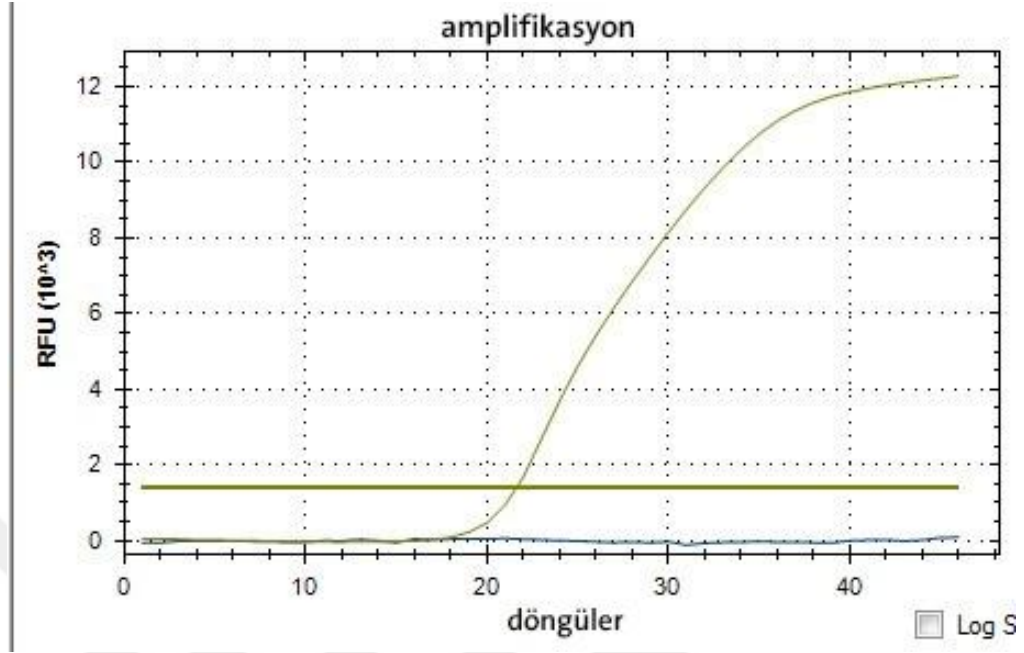
Şekil 4.2 BCR/ABL1 RNA Transkript Seviyesi %0.1-1 Arasında Olan Hasta



Şekil 4.17 BCR/ABL1 RNA Transkript Seviyesi %1-10 Arasında Olan Hasta



Şekil 4.18 BCR/ABL1 RNA Transkript Seviyesi %10' dan Fazla Olan Hasta



Şekil 4.19 BCR/ABL1 RNA Transkript Seviyesi Negatif Olan Hasta

4.4 Sanger Dizilemesi

Çalışmada, 50 KML pozitif hastadan imatinib dirençli 3 hastada Sanger yöntemi ile BCR/ABL1 dizilemesi gerçekleştirilmiştir. Dizilemeye tabi tutulan 3 hastada sonuçlar negatif çıkmıştır. Bu 3 hastada KML' den AML' e geçiş ile imatinib direnci gelişmiş ve budurumun sadece genetik faktörlerden kaynaklanmadığı, hastalığın seyrinin değişmesinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Bunun yanı sıra, diğer hematolojik veya non-hematolojik nedenler de etkili olabilir. Örneğin, hastalar ilacı düzenli almadıysa veya vücutları ilacı tolere edemediyse bu da dirence neden olabilir. Direnç, birçok farklı nedenle ortaya çıkabilir. Diğer 3 hastamızın Sanger dizileme sonuçları Şekil 4.14' te gösterilmiştir.



Şekil 4.20 İmatinib Dirençli 3 Hastanın Sanger Dizleme Sonuçları

Tablo 4.2 KML Hastalarında Hasta Bazlı IS Değişimi (6 Ay)

Hasta ID	Başlangıç IS Değeri	6 Ay Sonraki IS Değeri
1	MMR \leq 0.1 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
2	MMR \leq 0.1 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
3	MMR \leq 0.1 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
4	MMR \leq 0.1 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
5	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
6	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
7	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
8	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
9	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
10	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
11	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
12	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
13	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
14	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
15	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
16	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS

17	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
18	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
19	0.1-1.0 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
20	1-10 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
21	1-10 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
22	1-10 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
23	1-10 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
24	1-10 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
25	1-10 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
26	1-10 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
27	1-10 %IS	MMR \leq 0.1 %IS
28	1-10 %IS	0.1-1.0 %IS
29	1-10 %IS	0.1-1.0 %IS
30	1-10 %IS	0.1-1.0 %IS
31	1-10 %IS	0.1-1.0 %IS
32	1-10 %IS	0.1-1.0 %IS
33	1-10 %IS	0.1-1.0 %IS
34	1-10 %IS	0.1-1.0 %IS
35	1-10 %IS	0.1-1.0 %IS
36	1-10 %IS	1-10 %IS
37	1-10 %IS	1-10 %IS
38	1-10 %IS	1-10 %IS
39	1-10 %IS	1-10 %IS
40	>10 %BCR-ABL IS	1-10 %IS
41	>10 %BCR-ABL IS	1-10 %IS
42	>10 %BCR-ABL IS	1-10 %IS
43	>10 %BCR-ABL IS	1-10 %IS
44	>10 %BCR-ABL IS	1-10 %IS
45	>10 %BCR-ABL IS	1-10 %IS
46	>10 %BCR-ABL IS	1-10 %IS
47	>10 %BCR-ABL IS	1-10 %IS
48	>10 %BCR-ABL IS	>10 %BCR-ABL IS
49	>10 %BCR-ABL IS	>10 %BCR-ABL IS
50	>10 %BCR-ABL IS	>10 %BCR-ABL IS

Tablo 4.3 50 KML 50 Hastanın RNA İzolasyon Değerleri

Hasta ID	RNA İzolasyon Değeri
1	310
2	266
3	412
4	446
5	116
6	164
7	219
8	212
9	341
10	436
11	129
12	118
13	225
14	350
15	333
16	382
17	209
18	124
19	404
20	143
21	463
22	177
23	223
24	277
25	152
26	296
27	328
28	117
29	379
30	146
31	190
32	165
33	309
34	289
35	141
36	482
37	114
38	126
39	380
40	346

41	266
42	284
43	439
44	110
45	465
46	461
47	421
48	340
49	267
50	354



BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Irak'taki KML prevalansının literatürde bildirilen en yüksek rakamlardan biri olan 2/100.000 olduğu (Schranz, 2021). göz önüne alınarak bu hastalığın ülkede daha yaygın hale gelip gelmediğini araştırmak için yola çıkılmıştır. Bunun nedeninin çevresel kirlilik ve son 20 yıldaki uranyumun olumsuz radyasyon etkileri olabileceği düşünülmüştür. Fakat, ilginç bir şekilde, çiftçilerin kimyasallara ve böcek ilaçlarına yoğun şekilde maruz kalmalarına rağmen KML' nin en düşük prevalansına sahip oldukları görülmüş, bu da bize bu maddelerin KML' ye neden olmayabileceğini düşündürmüştür. Mevcut literatür de kimyasalların veya böcek ilaçlarının KML gelişiminde rol oynamadığını desteklemektedir (MUTAGENESIS, 2020).KML, ilerlediğinde 3-6 yıl içinde ölümcül olabilir. Bu çalışmada 150 hastayı değerlendirdik; bunlardan 50' si KML pozitif. Hastaların yaş ortalaması 39, cinsiyet dağılımları %40 erkek ve %60 kadın olacak şekildedir. Benzer bir çalışmada da, erkek hastaların sayısının kadın hastalardan daha az olduğu bulunmuştur (Jbireal ve ark., 2019). KML hastalarında hemoglobin seviyeleri 8.5-16.2 g/dL, beyaz kan hücresi sayısı $8.25-278 \times 10^9/L$, trombosit sayısı ise $154-794 \times 10^9/L$ ve kırmızı kan hücresi sayısı $2.80-6.35 \times 10^{12}/L$ arasında bulunmuştur. Bu değerler, hastadan hastaya ve ülkeden ülkeye önemli ölçüde farklılık gösterebilir.

KML yönetimi, özellikle imatinib ile birlikte TKI' ların geliştirilmesiyle devrim niteliğinde bir değişim geçirmiştir. İlk etkinliğine rağmen, zamanla hastaların önemli bir kısmı imatinibe karşı direnç veya intolerans geliştirmekte, bu da tedavi stratejilerinin dikkatli bir şekilde izlenmesini ve ayarlanmasını gerektirmektedir. Etkili yönetimin merkezinde, direnç mekanizmalarının, özellikle BCR/ABL1 kinaz alanındaki mutasyonların erken tespiti yatmaktadır. Kantitatif PCR ve sonraki nesil dizileme gibi moleküler izleme yöntemleri, bu mutasyonları yüksek hassasiyetle tanımlamak için vazgeçilmez araçlar haline gelmiştir. Direnç mutasyonlarının tespiti, klinisyenlerin tedavi rejimlerini zamanında değiştirmesine olanak tanıyarak terapötik sonuçları optimize etmelerini sağlar. Literatür taramamızda, imatinib direncine karşı moleküler izleme ile

ilgili birkaç önemli nokta ortaya çıkmıştır. İlk olarak, belirli aralıklarla düzenli izleme, klinik ilerleme olmadan önce ortaya çıkan mutasyonları tespit etmek için kritik öneme sahiptir. Bu proaktif yaklaşım, zamanında müdahale olanağı sunarak hastalık ilerlemesini önlemeye ve blast krizi gelişme riskini minimize etmeye yardımcı olabilir. İkinci olarak, imatinib direnci sonrasında izlenecek tedavi seçenekleri, spesifik mutasyon profiline ve bireysel hasta faktörlerine bağlıdır. Dasatinib ve nilotinib gibi ikinci nesil TKI' lar, direnç mutasyonlarına karşı daha geniş bir kapsama sunar ve genellikle birinci basamak alternatifleri olarak değerlendirilir.

T315I mutasyonu taşıyan hastalar veya diğer tedavilere yanıt vermeyen hastalar için, dirençli BCR/ABL1 formlarına karşı güçlü inhibitör aktivitesi nedeniyle ponatinib, üçüncü nesil TKI olarak kullanılmaktadır. Çünkü son raporlar, tedaviye karşı direncin BCR/ABL1 genindeki mutasyonlarla bağlantılı olabileceğini, bu mutasyonların imatinibin bağlanma afinitesini azalttığını önermektedir (Moore ve ark., 2013). Moleküler yanıtların derinliği, örneğin moleküler remisyonun 4.5 MR (major response) veya daha derin seviyelerde sağlanması ve sürdürülmesi, uzun vadeli sonuçları öngörmeye önem kazanmıştır. Bu derin yanıtları elde eden hastaların, hastalık ilerleme oranlarının daha düşük ve genel sağkalım oranlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu durum, moleküler izleme ile yönlendirilen tedavi optimizasyonunun önemini vurgulamaktadır. Bu ilerlemelere rağmen, moleküler izleme tekniklerinin klinik uygulamasında zorluklar devam etmektedir. Test metodolojilerinin standardizasyonu, düşük seviyeli mutasyonların yorumlanması ve kaynak sınırlı ortamlarda rutin izlemenin maliyet etkinliği gibi konular daha fazla araştırma gerektirmektedir.

Gelecekte, yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesi ve daha hassas izleme tekniklerinin geliştirilmesi üzerine devam eden araştırma çabaları sürmektedir. Kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımlarının entegrasyonu, biyomarkerler ve genomik profil oluşturma gibi yöntemler, tedavi stratejilerini bireysel hasta profillerine uyarlamada umut vaat etmekte ve terapötik etkinliği maksimize edip yan etkileri minimize etmeyi hedeflemektedir. Sonuç olarak, moleküler izleme, imatinib direncine sahip KML yönetiminde direnç mekanizmalarının erken tespiti ve kişiselleştirilmiş tedavi kararlarını yönlendirme konusunda kritik bir rol oynamaktadır. Moleküler tanı ve tedavi stratejilerindeki sürekli ilerlemeler, bu zor

hastalıkla mücadele eden hastaların sonuçlarını ve yaşam kalitesini daha da iyileştirmek için esastır.

Bu çalışmada, 50 KML pozitif hastadan 3 imatinib dirençli hastada BCR/ABL1 T315I mutasyonu Sanger ile dizilenmiştir. Ancak Sanger sekanslama sonuçlarında bu bölgede bir mutasyon saptanmamıştır. Bu bulgu, imatinib direncinin sadece BCR/ABL1 kinaz domaininde meydana gelen mutasyonlarla sınırlı olmadığını ve alternatif mekanizmaların da direnç gelişiminde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Örneğin, ilaç atılım yollarındaki değişiklikler, BCR/ABL1 dışı sinyal yollarının aktivasyonu veya epigenetik düzeydeki değişiklikler direnç mekanizmaları arasında yer alabilir.

Elde edilen bu sonuçlar, KML hastalarında tedavi yanıtının izlenmesinde yalnızca standart mutasyon analizlerinin yeterli olmadığını göstermektedir. Bu nedenle, daha hassas ve geniş kapsamlı yeni nesil dizileme (NGS) gibi yüksek çözünürlükte analiz yöntemlerinin kullanılması ön plana çıkmaktadır. Gelecekteki çalışmalar, Sanger sekanslama ile tespit edilemeyen nadir ve kompleks mutasyonların ortaya konması için NGS gibi yüksek kapasiteli teknolojilere yönelmelidir. Ayrıca, direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılabilmesi için, imatinib tedavisine yanıt vermeyen hastalarda epigenetik değişikliklerin, transkriptomik profillemenin ve proteomik analizlerin yapılması önerilmektedir. Bu çalışma, KML hastalarında imatinib direncinin kapsamını anlamak adına Irak popülasyonunda bir başlangıç niteliğindedir ve ileri düzey moleküler analizlerin önemini bir kez daha ortaya koyulmuştur.

BÖLÜM 6

SONUÇLAR

- 1- Toplamda 50 pozitif hasta ve 100 kontrol çalışmaya dahil edilmiştir. Bu hastaların yaşları 16 ile 79 arasında değişmekte olup, medyan yaş 39'dur.
- 2- Hastaların 20'si erkek olup bu oran toplam hasta sayısının %40' ına denk gelmektedir. Geriye kalan 30 hasta ise kadın olup toplam hasta sayısının %60' ını oluşturmaktadır.
- 3- Hastaların KML tanısında dikkate alınan hemogram parametreleri incelenmiştir. Hemoglobin seviyeleri 8.5-16.20 g/dL arasında değişmektedir. Ortalama hemoglobin seviyesi 12.24 g/dL olarak hesaplanmıştır.
- 4- Hastaların beyaz kan hücreleri sayımı 8.25-278x10⁹/L arasında değişmektedir. Ortalama WBC değeri 33x10⁹/L olarak hesaplanmıştır.
- 5- Hemogramda hastaların trombosit sayımları 154-794x10⁹/L arasında değişmektedir. Ortalama trombosit sayısı 256x10⁹/L olarak hesaplanmıştır.
- 6- Kırmızı kan hücreleri sayıları 2.80-6.35x10¹²/L arasında değişmektedir. Ortalama kırmızı kan hücre sayısı 4.11x10¹²/L olarak hesaplanmıştır.
- 7- İmatinib tedavisi öncesinde, 50 KML hastasının 4'ü (%8) MMR ≤0.1 %IS düzeyinde bulunmuştur. Hastaların 20'si (%40) %0.1-1.0 IS aralığında, 15'i (%30) %1-10 IS aralığında tespit edilmiştir. Kalan 11 hasta (%22) ise >10% BCR-ABL IS seviyesine sahiptir.
- 8- İmatinib tedavisi sonrası yapılan moleküler analizlerde, 50 hastadan 27'si (%54) MMR ≤ 0.1 %IS düzeyinde bulunmuştur. 8 hasta (%16) %0.1-1.0 IS aralığında, 12 hasta (%24) %1-10 IS aralığında yer almaktadır. Kalan 3 hasta (%6) ise >10% BCR-ABL IS seviyesine sahiptir.

9- Çalışmada, 50 KML pozitif hastadan imatinib dirençli 3 hasta BCR/ABL1 T315I mutasyonu bakımından negatif çıkmış ve imatinib direncinin sadece genetik faktörlerden değil, hastalığın seyrindeki değişikliklerden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

Gelecek çalışmalarda dikkate alınması gereken en önemli tavsiyeler şunlar olabilir:

1-Daha Fazla Hasta Katılımı: Daha geniş hasta gruplarıyla çalışmak, sonuçların genellenebilirliğini artıracaktır.

2-Uzun Dönem Takip: Tedavi sonrası uzun dönem izlem, imatinib direncinin gelişim sürecini daha iyi anlamaya yardımcı olabilir.

3-Genetik ve Moleküler Analizlerin Derinleştirilmesi: Sanger sekanslamanın yanı sıra, daha gelişmiş moleküler analiz teknikleri kullanılarak genetik değişikliklerin daha ayrıntılı bir şekilde incelenmesi faydalı olacaktır.

4-İlaç Uyumu ve Tolerans: İlaç uyumunun ve hastaların ilaca karşı toleransının daha dikkatlice izlenmesi, direncin gelişimi üzerinde önemli bir rol oynayabilir.

5-Ekstra Hematolojik ve Non-Hematolojik Faktörler: İmatinib direncini etkileyebilecek diğer faktörlerin (beslenme, komorbid hastalıklar, yaşam tarzı, vb.) daha kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi önerilebilir.

KAYNAKLAR

- Afar, D. E., Goga, A., McLaughlin, J., Witte, O. N., & Sawyers, C. L. (1994). Differential complementation of Bcr-Abl point mutants with c-Myc. *Science*, 264(5157), 424-426. <https://doi.org/10.1126/science.8153630>
- Al-Hajj, M., Becker, M. W., Wicha, M., Weissman, I., & Clarke, M. F. (2004). Therapeutic implications of cancer stem cells. *Current opinion in genetics & development*, 14(1), 43-47. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2003.11.007>
- Atallah, E., & Cortes, J. (2007). Optimal initial therapy for patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase. *Current opinion in hematology*, 14(2), 138-144. <https://doi.org/10.1097/MOH.0b013e32801684a3>
- Baccarani, M., Cortes, J., Pane, F., Niederwieser, D., Saglio, G., Apperley, J., Cervantes, F., Deininger, M., Gratwohl, A., & Guilhot, F. (2009). Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. *Journal of Clinical Oncology*, 27(35), 6041. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.25.0779> .
- Baccarani, M., Deininger, M. W., Rosti, G., Hochhaus, A., Soverini, S., Apperley, J. F., Cervantes, F., Clark, R. E., Cortes, J. E., & Guilhot, F. (2013). European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 122(6), 872-884. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-05-501569>
- Baccarani, M., Saglio, G., Goldman, J., Hochhaus, A., Simonsson, B., Appelbaum, F., Apperley, J., Cervantes, F., Cortes, J., & Deininger, M. (2006). Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*, 108(6), 1809-1820. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-02-005686>

- Bartlett, J. M., & Stirling, D. (2003). A short history of the polymerase chain reaction. *PCR protocols*, 3-6. <https://doi.org/10.1385/1-59259-384-4:3>
- Bhatia, R., Holtz, M., Niu, N., Gray, R., Snyder, D. S., Sawyers, C. L., Arber, D. A., Slovak, M. L., & Forman, S. J. (2003). Persistence of malignant hematopoietic progenitors in chronic myelogenous leukemia patients in complete cytogenetic remission following imatinib mesylate treatment. *Blood*, *101*(12), 4701-4707. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-09-2780>
- Branford, S., Rudzki, Z., Walsh, S., Grigg, A., Arthur, C., Taylor, K., Herrmann, R., Lynch, K. P., & Hughes, T. P. (2002). High frequency of point mutations clustered within the adenosine triphosphate-binding region of BCR/ABL in patients with chronic myeloid leukemia or Ph-positive acute lymphoblastic leukemia who develop imatinib (STI571) resistance. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *99*(9), 3472-3475. <https://doi.org/10.1182/blood.v99.9.3472>
- Breccia, M., Cannella, L., Montefusco, E., Frustaci, A., Pacilli, M., & Alimena, G. (2007). Male patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib involved in healthy pregnancies: report of five cases. *Leukemia research*, *32*(3), 519-520. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2007.07.022>
- Breccia, M., Diverio, D., Pane, F., Nanni, M., Russo, E., Biondo, F., Frustaci, A., Gentilini, F., & Alimena, G. (2006). Discontinuation of imatinib therapy after achievement of complete molecular response in a Ph+ CML patient treated while in long lasting complete cytogenetic remission (CCR) induced by interferon. *Leukemia research*, *30*(12), 1577-1579. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2006.05.006>
- Buchdunger, E., Cioffi, C. L., Law, N., Stover, D., Ohno-Jones, S., Druker, B. J., & Lydon, N. B. (2000). Abl protein-tyrosine kinase inhibitor STI571 inhibits in vitro signal transduction mediated by c-kit and platelet-derived growth factor receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *295*(1), 139-145.
- Buchdunger, E., Zimmermann, J., Mett, H., Meyer, T., Müller, M., Druker, B. J., & Lydon, N. B. (1996). Inhibition of the Abl protein-tyrosine kinase in vitro and in

vivo by a 2-phenylaminopyrimidine derivative. *Cancer research*, 56(1), 100-104.

- Buchdunger, E., Zimmermann, J., Mett, H., Meyer, T., Müller, M., Regenass, U., & Lydon, N. B. (1995). Selective inhibition of the platelet-derived growth factor signal transduction pathway by a protein-tyrosine kinase inhibitor of the 2-phenylaminopyrimidine class. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(7), 2558-2562. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.20.12069-a>
- Buhr, T., Choritz, H., & Georgii, A. (1992). The impact of megakaryocyte proliferation for the evolution of myelofibrosis: Histological follow-up study in 186 patients with chronic myeloid leukaemia. *Virchows Archiv A*, 420, 473-478. <https://doi.org/10.1007/BF01600251> .
- Chai, S. K., Nichols, G. L., & Rothman, P. (1997). Constitutive activation of JAKs and STATs in BCR-Abl-expressing cell lines and peripheral blood cells derived from leukemic patients. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 159(10), 4720-4728.
- Champagne, M. A., Capdeville, R., Krailo, M., Qu, W., Peng, B., Rosamilia, M., Therrien, M., Zoellner, U., Blaney, S. M., & Bernstein, M. (2004). Imatinib mesylate (STI571) for treatment of children with Philadelphia chromosome-positive leukemia: results from a Children's Oncology Group phase 1 study. *Blood*, 104(9), 2655-2660. <https://doi.org/doi.org/10.1182/blood-2003-09-3032>
- Chu, S., Xu, H., Shah, N. P., Snyder, D. S., Forman, S. J., Sawyers, C. L., & Bhatia, R. (2005). Detection of BCR-ABL kinase mutations in CD34+ cells from chronic myelogenous leukemia patients in complete cytogenetic remission on imatinib mesylate treatment. *Blood*, 105(5), 2093-2098. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-03-1114>
- Cortes, J. (2004). Natural history and staging of chronic myelogenous leukemia. *Hematology/Oncology Clinics*, 18(3), 569-584. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2004.03.001> .

- Cortes, J., O'Brien, S., & Kantarjian, H. (2004). Discontinuation of imatinib therapy after achieving a molecular response. *Blood*, *104*(7), 2204-2205. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-04-1335>
- Cross, T. J., Bagot, C., Portmann, B., Wendon, J., & Gillett, D. (2006). Imatinib mesylate as a cause of acute liver failure. *American journal of hematology*, *81*(3), 189-192. <https://doi.org/10.1002/ajh.20486>
- Dai, H., Marbach, P., Lemaire, M., Hayes, M., & Elmquist, W. F. (2003). Distribution of STI-571 to the brain is limited by P-glycoprotein-mediated efflux. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *304*(3), 1085-1092. <https://doi.org/10.1124/jpet.102.045260>
- De Lavallade, H., Apperley, J. F., Khorashad, J. S., Milojkovic, D., Reid, A. G., Bua, M., Szydlo, R., Olavarria, E., Kaeda, J., & Goldman, J. M. (2008). Imatinib for newly diagnosed patients with chronic myeloid leukemia: incidence of sustained responses in an intention-to-treat analysis. *Journal of Clinical Oncology*, *26*(20), 3358-3363. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.15.8154>
- De Lemos, J., de Oliveira, C. M., Scerni, A., Bentes, A. Q., Beltrão, A. C., Bentes, I., Azevedo, T. C., & Maradei-Pereira, L. (2005). Differential molecular response of the transcripts B2A2 and B3A2 to imatinib mesylate in chronic myeloid leukemia. *Genet Mol Res*, *4*(4), 803-811.
- Deininger, M. W., Goldman, J. M., Lydon, N., & Melo, J. V. (1997). The tyrosine kinase inhibitor CGP57148B selectively inhibits the growth of BCR-ABL–positive cells. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *90*(9), 3691-3698.
- Deininger, M. W., Goldman, J. M., & Melo, J. V. (2000). The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *96*(10), 3343-3356. <https://doi.org/10.1182/blood.V96.10.3343>
- Druker, B. J., Guilhot, F., O'Brien, S. G., Gathmann, I., Kantarjian, H., Gattermann, N., Deininger, M. W., Silver, R. T., Goldman, J. M., & Stone, R. M. (2006). Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *New*

England Journal of Medicine, 355(23), 2408-2417.

<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1102025> .

Druker, B. J., Sawyers, C. L., Kantarjian, H., Resta, D. J., Reese, S. F., Ford, J. M., Capdeville, R., & Talpaz, M. (2001). Activity of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome. *New England Journal of Medicine*, 344(14), 1038-1042.

<https://doi.org/10.1056/NEJM200104053441402>

Druker, B. J., Talpaz, M., Resta, D. J., Peng, B., Buchdunger, E., Ford, J. M., Lydon, N. B., Kantarjian, H., Capdeville, R., & Ohno-Jones, S. (2001). Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, 344(14), 1031-1037.

<https://doi.org/10.1056/NEJM200104053441401>

Druker, B. J., Tamura, S., Buchdunger, E., Ohno, S., Segal, G. M., Fanning, S., Zimmermann, J., & Lydon, N. B. (1996). Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nature medicine*, 2(5), 561-566. <https://doi.org/10.1038/nm0596-561>

Faderl, S., Talpaz, M., Estrov, Z., O'Brien, S., Kurzrock, R., & Kantarjian, H. M. (1999). The biology of chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, 341(3), 164-172. <https://doi.org/10.1056/NEJM199907153410306>

Fausel, C. (2007). Targeted chronic myeloid leukemia therapy: seeking a cure. *American journal of health-system pharmacy*, 64(24_Supplement_15), S9-S15.

<https://doi.org/doi.org/10.2146/ajhp070482>

Fitter, S., Dewar, A. L., Kostakis, P., To, L. B., Hughes, T. P., Roberts, M. M., Lynch, K., Vernon-Roberts, B., & Zannettino, A. C. (2008). Long-term imatinib therapy promotes bone formation in CML patients. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 111(5), 2538-2547. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-07-104281>

Gambacorti-Passerini, C., Barni, R., le Coutre, P., Zucchetti, M., Cabrita, G., Cleris, L., Rossi, F., Gianazza, E., Brueggen, J., & Cozens, R. (2000). Role of α 1 acid glycoprotein in the in vivo resistance of human BCR-ABL+ leukemic cells to the

- Abl inhibitor STI571. *Journal of the National Cancer Institute*, 92(20), 1641-1650. <https://doi.org/10.1093/jnci/92.20.1641>
- Gesbert, F., & Griffin, J. D. (2000). Bcr/Abl activates transcription of the Bcl-X gene through STAT5. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 96(6), 2269-2276.
- Giralt, S. A., Arora, M., Goldman, J. M., Lee, S. J., Maziarz, R. T., McCarthy, P. L., Sobocinski, K. A., Horowitz, M. M., Blood, C. L. W. C. o. t. C. f. I., & Research, M. T. (2007). Impact of imatinib therapy on the use of allogeneic haematopoietic progenitor cell transplantation for the treatment of chronic myeloid leukaemia. *British journal of haematology*, 137(5), 461-467. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2007.06582.x>
- Goldman, J. (2008). Allogeneic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia—status in 2007. *Bone marrow transplantation*, 42(1), S11-S13. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.9-3-271>
- Goldman, J. M. (2004). Chronic myeloid leukemia—still a few questions. *Experimental hematology*, 32(1), 2-10. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2003.10.001>
- Goldman, J. M. (2010). Chronic myeloid leukemia: a historical perspective. *Seminars in hematology*,
- Gorre, M. E., Mohammed, M., Ellwood, K., Hsu, N., Paquette, R., Rao, P. N., & Sawyers, C. L. (2001). Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification. *Science*, 293(5531), 876-880. <https://doi.org/10.1126/science.1062538>
- Graham, S. M., Jørgensen, H. G., Allan, E., Pearson, C., Alcorn, M. J., Richmond, L., & Holyoake, T. L. (2002). Primitive, quiescent, Philadelphia-positive stem cells from patients with chronic myeloid leukemia are insensitive to STI571 in vitro. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 99(1), 319-325. <https://doi.org/10.1182/blood.v99.1.319>
- Guilhot, F. (2004). Indications for imatinib mesylate therapy and clinical management. *The oncologist*, 9(3), 271-281. <https://doi.org/0.1634/theoncologist.9-3-271>

- Hasford, J., Baccarani, M., Hoffmann, V., Guilhot, J., Saussele, S., Rosti, G., Guilhot, F., Porkka, K., Ossenkoppele, G., & Lindoerfer, D. (2011). Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression-free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *118*(3), 686-692.
<https://doi.org/10.1182/blood-2010-12-319038>
- Hasford, J., Pfirrmann, M., Hehlmann, R., Allan, N. C., Baccarani, M., Kluin-Nelemans, J. C., Alimena, G., Steegmann, J. L., & Ansari, H. (1998). 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. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, *90*(11), 850-859.
<https://doi.org/10.1093/jnci/90.11.850>
- Hehlmann, R., Berger, U., & Hochhaus, A. (2005). Chronic myeloid leukemia: a model for oncology. *Annals of hematology*, *84*, 487-497.
<https://doi.org/10.1007/s00277-005-1039-z>
- Heinrich, M. C., Griffith, D. J., Druker, B. J., Wait, C. L., Ott, K. A., & Zigler, A. J. (2000). Inhibition of c-kit receptor tyrosine kinase activity by STI 571, a selective tyrosine kinase inhibitor. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *96*(3), 925-932.
- Hemminki, K., & Jiang, Y. (2002). Familial myeloid leukemias from the Swedish Family-Cancer Database. *Leukemia research*, *26*(6), 611-613.
[https://doi.org/10.1016/S0145-2126\(01\)00156-4](https://doi.org/10.1016/S0145-2126(01)00156-4)
- Hope, K. J., Jin, L., & Dick, J. E. (2004). Acute myeloid leukemia originates from a hierarchy of leukemic stem cell classes that differ in self-renewal capacity. *Nature immunology*, *5*(7), 738-743. <https://doi.org/10.1038/ni1080>
- Horita, M., Andreu, E. J., Benito, A., Arbona, C., Sanz, C., Benet, I., Prosper, F., & Fernandez-Luna, J. L. (2000). Blockade of the Bcr-Abl kinase activity induces apoptosis of chronic myelogenous leukemia cells by suppressing signal transducer and activator of transcription 5–dependent expression of Bcl-xL. *The Journal of experimental medicine*, *191*(6), 977-984.
<https://doi.org/10.1084/jem.191.6.977>

- Hughes, T. P., Kaeda, J., Branford, S., Rudzki, Z., Hochhaus, A., Hensley, M. L., Gathmann, I., Bolton, A. E., Van Hoomissen, I. C., & Goldman, J. M. (2003). Frequency of major molecular responses to imatinib or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, 349(15), 1423-1432. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa030513>
- Huntly, B. J., & Gilliland, D. G. (2005). Leukaemia stem cells and the evolution of cancer-stem-cell research. *Nature Reviews Cancer*, 5(4), 311-321. <https://doi.org/10.1038/nrc1592>
- Ilaria, R. L., & Van Etten, R. A. (1996). P210 and P190BCR/ABL induce the tyrosine phosphorylation and DNA binding activity of multiple specific STAT family members. *Journal of Biological Chemistry*, 271(49), 31704-31710. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.49.31704>
- Ishihara, T., Sasaki, M., Oshimura, M., Kamada, N., Yamada, K., Okada, M., Sakurai, M., Sugiyama, T., Shiraishi, Y., & Kohno, S.-i. (1983). A summary of cytogenetic studies on 534 cases of chronic myelocytic leukemia in Japan. *Cancer genetics and cytogenetics*, 9(1), 81-91. [https://doi.org/10.1016/0165-4608\(83\)90028-6](https://doi.org/10.1016/0165-4608(83)90028-6)
- Jabbour, E., Cortes, J. E., & Kantarjian, H. M. (2008). Molecular monitoring in chronic myeloid leukemia: response to tyrosine kinase inhibitors and prognostic implications. *Cancer*, 112(10), 2112-2118. <https://doi.org/10.1002/cncr.23427>
- Jaffe, E. S. (2001). *Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues* (Vol. 3). Iarc.
- Jbireal, J., Azab, A., Alzahani, S., & Elshareef, M. (2019). Haematological and cytogenetic changes in CML patients treated with imatinib mesylate in Western Libya. *Hematol Transfus Int J*, 7(3), 50-57. <https://doi.org/10.15406/htij.2019.07.00205>.
- Jeha, S., & Pui, C.-H. (2005). Recombinant urate oxidase (rasburicase) in the prophylaxis and treatment of tumor lysis syndrome. *Hyperuricemic Syndromes: Pathophysiology and Therapy*, 147, 69-79. <https://doi.org/10.1159/000082545>

- Kaeda, J., Chase, A., & Goldman, J. M. (2002). Cytogenetic and molecular monitoring of residual disease in chronic myeloid leukaemia. *Acta haematologica*, *107*(2), 64-75. <https://doi.org/10.1159/000046635>
- Kanda, Y., Okamoto, S., Tauchi, T., Kizaki, M., Inokuchi, K., Yabe, M., Yokoyama, K., Ito, Y., Kimura, Y., & Higashihara, M. (2008). Multicenter prospective trial evaluating the tolerability of imatinib for Japanese patients with chronic myelogenous leukemia in the chronic phase: does body weight matter? *American journal of hematology*, *83*(11), 835-839. <https://doi.org/10.1002/ajh.21274>
- Kantarjian, H., Sawyers, C., Hochhaus, A., Guilhot, F., Schiffer, C., Gambacorti-Passerini, C., Niederwieser, D., Resta, D., Capdeville, R., & Zoellner, U. (2002). Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *New England Journal of Medicine*, *346*(9), 645-652. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011573>
- Kantarjian, H., Talpaz, M., O'Brien, S., Garcia-Manero, G., Verstovsek, S., Giles, F., Rios, M. B., Shan, J., Letvak, L., & Thomas, D. (2004). High-dose imatinib mesylate therapy in newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic phase chronic myeloid leukemia. *Blood*, *103*(8), 2873-2878. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-11-3800>
- Kantarjian, H. M., O'Brien, S., Cortes, J., Giles, F. J., Rios, M. B., Shan, J., Faderl, S., Garcia-Manero, G., Ferrajoli, A., & Verstovsek, S. (2003). Imatinib mesylate therapy improves survival in patients with newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in the chronic phase: comparison with historic data. *Cancer*, *98*(12), 2636-2642. <https://doi.org/10.1002/cncr.11831>
- Kantarjian, H. M., Talpaz, M., O'Brien, S., Giles, F., Garcia-Manero, G., Faderl, S., Thomas, D., Shan, J., Rios, M. B., & Cortes, J. (2003). Dose escalation of imatinib mesylate can overcome resistance to standard-dose therapy in patients with chronic myelogenous leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *101*(2), 473-475. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-05-1451>

- Kavalerchik, E., Goff, D., & Jamieson, C. H. (2008). Chronic myeloid leukemia stem cells. *Journal of Clinical Oncology*, 26(17), 2911-2915.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2008.17.5745> .
- Kobayashi, S., Kimura, F., Kobayashi, A., Sato, K., & Motoyoshi, K. (2009). Efficacy of low-dose imatinib in chronic-phase chronic myelogenous leukemia patients. *Annals of hematology*, 88, 311-315. <https://doi.org/10.1007/s00277-008-0589-2>
- Korkolopoulou, P., Viniou, N., Kavantzas, N., Patsouris, E., Thymara, I., Pavlopoulos, P., Terpos, E., Stamatopoulos, K., Plata, E., & Anargyrou, K. (2003). Clinicopathologic correlations of bone marrow angiogenesis in chronic myeloid leukemia: a morphometric study. *Leukemia*, 17(1), 89-97.
<https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402769> .
- Kyathari, S., Chao, K., Liu, D., & Seiter, K. (2008). Severe imatinib-associated muscle edema in patients with chronic myelogenous leukemia and marked leukocytosis. *Leukemia & lymphoma*, 49(5), 1002-1004.
<https://doi.org/10.1080/10428190801959034>
- Le Coutre, P., Mologni, L., Cleris, L., Marchesi, E., Buchdunger, E., Giardini, R., Formelli, F., & Gambacorti-Passerini, C. (1999). In vivo eradication of human BCR/ABL-positive leukemia cells with an ABL kinase inhibitor. *Journal of the National Cancer Institute*, 91(2), 163-168. <https://doi.org/10.1093/jnci/91.2.163>
- Lichtman, M. A., & Rowe, J. M. (1982). Hyperleukocytic leukemias: rheological, clinical, and therapeutic considerations.
<https://doi.org/10.1182/blood.V60.2.279.279> .
- Lin, F., Chase, A., Bungey, J., Goldman, J. M., & Cross, N. C. (1995). Correlation between the proportion of Philadelphia chromosome-positive metaphase cells and levels of BCR-ABL mRNA in chronic myeloid leukaemia. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 13(2), 110-114.
<https://doi.org/10.1002/gcc.2870130207>
- Liu, C. Y., Sims-McCallum, R. P., & Schiffer, C. A. (2005). A single dose of rasburicase is sufficient for the treatment of hyperuricemia in patients receiving

- chemotherapy. *Leukemia research*, 29(4), 463-465.
<https://doi.org/10.1016/j.leukres.2004.09.004>
- Lokeshwar, N., Kumar, L., & Kumari, M. (2005). Severe bone marrow aplasia following imatinib mesylate in a patient with chronic myelogenous leukemia. *Leukemia & lymphoma*, 46(5), 781-784. <https://doi.org/10.1080/10428190500046778>
- Löwenberg, B. (2003). Minimal residual disease in chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, 349(15), 1399-1401.
<https://doi.org/10.1056/NEJMp038130>
- Lucia, E., Martino, B., Mammi, C., Vigna, E., Mazzone, C., Gentile, M., Qualtieri, G., Bisconte, M. G., Naccarato, M., & Gentile, C. (2008). The incidence of JAK2 V617F mutation in bcr/abl-negative chronic myeloproliferative disorders: assessment by two different detection methods. *Leukemia & lymphoma*, 49(10), 1907-1915. <https://doi.org/10.1080/10428190802290652> .
- Lugo, T. G., Pendergast, A.-M., Muller, A. J., & Witte, O. N. (1990). Tyrosine kinase activity and transformation potency of bcr-abl oncogene products. *Science*, 247(4946), 1079-1082. <https://doi.org/10.1126/science.2296710>
- Manley, P., Cowan-Jacob, S., Buchdunger, E., Fabbro, D., Fendrich, G., Furet, P., Meyer, T., & Zimmermann, J. (2002). Imatinib: a selective tyrosine kinase inhibitor. *European journal of cancer*, 38, S19-S27.
[https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(02\)80599-8](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(02)80599-8)
- Marin, D., Khorashad, J. S., Foroni, L., Milojkovic, D., Szydlo, R., Reid, A. G., Rezvani, K., Bua, M., Goldman, J. M., & Apperley, J. F. (2009). Does a rise in the BCR-ABL1 transcript level identify chronic phase CML patients responding to imatinib who have a high risk of cytogenetic relapse? *British journal of haematology*, 145(3), 373-375. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2009.07646.x>
- Marin, D., Markt, S., Foot, N., Bua, M., Goldman, J. M., & Apperley, J. F. (2003). Granulocyte colony-stimulating factor reverses cytopenia and may permit cytogenetic responses in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib mesylate. *Haematologica*, 88(2), 227-229.

- Marin, D., Milojkovic, D., Olavarria, E., Khorashad, J. S., De Lavallade, H., Reid, A. G., Foroni, L., Rezvani, K., Bua, M., & Dazzi, F. (2008). European LeukemiaNet criteria for failure or suboptimal response reliably identify patients with CML in early chronic phase treated with imatinib whose eventual outcome is poor. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *112*(12), 4437-4444. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-05-161546> .
- Maziarz, R. T. (2008). Who with chronic myelogenous leukemia to transplant in the era of tyrosine kinase inhibitors? *Current opinion in hematology*, *15*(2), 127-133. <https://doi.org/10.1097/MOH.0b013e3282f428ac>
- Michor, F., Hughes, T. P., Iwasa, Y., Branford, S., Shah, N. P., Sawyers, C. L., & Nowak, M. A. (2005). Dynamics of chronic myeloid leukaemia. *Nature*, *435*(7046), 1267-1270. <https://doi.org/10.1038/nature03669>
- Moore, F. R., Yang, F., & Press, R. D. (2013). Detection of BCR-ABL1 kinase domain mutations causing imatinib resistance in chronic myelogenous leukemia. *Hematological Malignancies*, 25-39.
- MUTAGENESIS, I. E. (2020). Environmental and Molecular Mutagenesis. <https://doi.org/10.1002/em.20547>
- Nowell, P. C., & Hungerford, D. A. (1960). Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes. *Journal of the National Cancer Institute*, *25*(1), 85-109.
- O'Brien, S. G., Guilhot, F., Larson, R. A., Gathmann, I., Baccarani, M., Cervantes, F., Cornelissen, J. J., Fischer, T., Hochhaus, A., & Hughes, T. (2003). Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, *348*(11), 994-1004. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa022457>
- Oda, T., Heaney, C., Hagopian, J. R., Okuda, K., Griffin, J. D., & Druker, B. J. (1994). Crkl is the major tyrosine-phosphorylated protein in neutrophils from patients with chronic myelogenous leukemia. *Journal of Biological Chemistry*, *269*(37), 22925-22928.
- Ohsaka, A., Shiina, S., Kobayashi, M., Kudo, H., & Kawaguchi, R. (2002). Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia expressing p190BCR-ABL.

- Internal medicine*, 41(12), 1183-1187.
<https://doi.org/10.2169/internalmedicine.41.1183> .
- Okuda, K., Weisberg, E., Gilliland, D. G., & Griffin, J. D. (2001). ARG tyrosine kinase activity is inhibited by STI571. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 97(8), 2440-2448. <https://doi.org/10.1182/blood.v97.8.2440>
- Ostro, D., & Lipton, J. (2007). Unusual fluid retention with imatinib therapy for chronic myeloid leukemia. *Leukemia & lymphoma*, 48(1), 195-196.
<https://doi.org/10.1080/10428190600923157>
- Ottmann, O. G., Druker, B. J., Sawyers, C. L., Goldman, J. M., Reiffers, J., Silver, R. T., Tura, S., Fischer, T., Deininger, M. W., & Schiffer, C. A. (2002). A phase 2 study of imatinib in patients with relapsed or refractory Philadelphia chromosome-positive acute lymphoid leukemias. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 100(6), 1965-1971.
<https://doi.org/10.1182/blood-2001-12-0181>
- Pascual, J. C., Matarredona, J., Miralles, J., Conesa, V., & Borrás-Blasco, J. (2006). Oral and cutaneous lichenoid reaction secondary to imatinib: report of two cases. *International journal of dermatology*, 45(12), 1471-1473.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2006.03171.x>
- Pelz, A., Kröning, H., Franke, A., Wieacker, P., & Stumm, M. (2002). High reliability and sensitivity of the BCR/ABL1 D-FISH test for the detection of BCR/ABL rearrangements. *Annals of hematology*, 81, 147-153.
<https://doi.org/10.1007/s00277-002-0570-5> .
- Peng, B., Hayes, M., Resta, D., Racine-Poon, A., Druker, B. J., Talpaz, M., Sawyers, C. L., Rosamilia, M., Ford, J., & Lloyd, P. (2004). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of imatinib in a phase I trial with chronic myeloid leukemia patients. *Journal of Clinical Oncology*, 22(5), 935-942.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2004.03.050>
- Peng, B., Lloyd, P., & Schran, H. (2005). Clinical pharmacokinetics of imatinib. *Clinical pharmacokinetics*, 44, 879-894. <https://doi.org/10.2165/00003088-200544090-00001>

- Piccaluga, P. P., Rondoni, M., Paolini, S., Rosti, G., Martinelli, G., & Bacarani, M. (2007). Imatinib mesylate in the treatment of hematologic malignancies. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 7(10), 1597-1611.
<https://doi.org/10.1517/14712598.7.10.1597>
- Press, R. D., Love, Z., Tronnes, A. A., Yang, R., Tran, T., Mongoue-Tchokote, S., Mori, M., Mauro, M. J., Deininger, M. W., & Druker, B. J. (2006). BCR-ABL mRNA levels at and after the time of a complete cytogenetic response (CCR) predict the duration of CCR in imatinib mesylate-treated patients with CML. *Blood*, 107(11), 4250-4256. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-11-4406>
- Puil, L., Liu, J., Gish, G., Mbamalu, G., Bowtell, D., Pelicci, P., Arlinghaus, R., & Pawson, T. (1994). Bcr-Abl oncoproteins bind directly to activators of the Ras signalling pathway. *The EMBO journal*, 13(4), 764-773.
<https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1994.tb06319.x>
- Quintas-Cardama, A., Kantarjian, H., O'Brien, S., Garcia-Manero, G., Rios, M. B., Talpaz, M., & Cortes, J. (2004). Granulocyte-colony-stimulating factor (filgrastim) may overcome imatinib-induced neutropenia in patients with chronic-phase chronic myelogenous leukemia. *Cancer*, 100(12), 2592-2597.
<https://doi.org/10.1002/cncr.20285>
- Raitano, A. B., Halpern, J. R., Hambuch, T. M., & Sawyers, C. L. (1995). The Bcr-Abl leukemia oncogene activates Jun kinase and requires Jun for transformation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(25), 11746-11750.
<https://doi.org/10.1073/pnas.92.25.11746>
- Ren, R. (2005). Mechanisms of BCR-ABL in the pathogenesis of chronic myelogenous leukaemia. *Nature Reviews Cancer*, 5(3), 172-183.
<https://doi.org/10.1038/nrc1567> .
- Roberto, L., Massimo, B., Ida, C., Chiara, S., Enrico, M., Marco, M., Antonio, C., Eleonora, R., Giacomo, M. S., & Francesca, B. (2005). Elderly patients with Ph+ chronic myelogenous leukemia (CML): results of imatinib mesylate treatment. *Leukemia research*, 29(3), 287-291.
<https://doi.org/10.1016/j.leukres.2004.08.002>

- Rousselot, P., Hugué, F., Rea, D., Legros, L., Cayuela, J. M., Maarek, O., Blanchet, O., Marit, G., Gluckman, E., & Reiffers, J. (2007). Imatinib mesylate discontinuation in patients with chronic myelogenous leukemia in complete molecular remission for more than 2 years. *Blood*, *109*(1), 58-60. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-03-011239>
- Rowe, J. (1983). Clinical and laboratory features of the myeloid and lymphocytic leukemias. *The American journal of medical technology*, *49*(2), 103-109.
- Rumpel, M., Friedrich, T., & Deininger, M. W. (2003). Imatinib normalizes bone marrow vascularity in patients with chronic myeloid leukemia in first chronic phase. *Blood*, *101*(11), 4641-4643. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-07-2273> .
- Sawyers, C. L. (1999). Chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, *340*(17), 1330-1340. <https://doi.org/10.1056/NEJM199904293401706>
- Sawyers, C. L., Hochhaus, A., Feldman, E., Goldman, J. M., Miller, C. B., Ottmann, O. G., Schiffer, C. A., Talpaz, M., Guilhot, F., & Deininger, M. W. (2002). Imatinib induces hematologic and cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in myeloid blast crisis: results of a phase II study: Presented in part at the 43rd Annual Meeting of The American Society of Hematology, Orlando, FL, December 11, 2001. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *99*(10), 3530-3539. <https://doi.org/10.1182/blood.v99.10.3530>
- Sawyers, C. L., McLaughlin, J., & Witte, O. N. (1995). Genetic requirement for Ras in the transformation of fibroblasts and hematopoietic cells by the Bcr-Abl oncogene. *The Journal of experimental medicine*, *181*(1), 307-313. <https://doi.org/10.1084/jem.181.1.307>
- Schindler, T., Bornmann, W., Pellicena, P., Miller, W. T., Clarkson, B., & Kuriyan, J. (2000). Structural mechanism for STI-571 inhibition of abelson tyrosine kinase. *Science*, *289*(5486), 1938-1942. <https://doi.org/10.1126/science.289.5486.1938>
- Schoch, C., Schnittger, S., Bursch, S., Gerstner, D., Hochhaus, A., Berger, U., Hehlmann, R., Hiddemann, W., & Haferlach, T. (2002). Comparison of

chromosome banding analysis, interphase-and hypermetaphase-FISH, qualitative and quantitative PCR for diagnosis and for follow-up in chronic myeloid leukemia: a study on 350 cases. *Leukemia*, 16(1), 53-59.

<https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402283>

Schranz, T. (2021). Ein Vergleich der sonographisch bestimmten Milzgröße einer zufälligen Bevölkerungsstichprobe und eines Kollektivs des Universitätsklinikums Ulm zur Bestimmung von Normalwerten und Einflussfaktoren. <https://doi.org/doi:10.1055/a-1404-4097>.

Schwarzmeier, J., Shehata, M., Ackermann, J., Hilgarth, M., Kaufmann, H., & Drach, J. (2003). Simultaneous occurrence of chronic myeloid leukemia and multiple myeloma: evaluation by FISH analysis and in vitro expansion of bone marrow cells. *Leukemia*, 17(7), 1426-1428. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402971> .

Senechal, K., Halpern, J., & Sawyers, C. L. (1996). The CRKL adaptor protein transforms fibroblasts and functions in transformation by the BCR-ABL oncogene. *Journal of Biological Chemistry*, 271(38), 23255-23261.

<https://doi.org/10.1074/jbc.271.38.23255>

Shah, N. P., Nicoll, J. M., Nagar, B., Gorre, M. E., Paquette, R. L., Kuriyan, J., & Sawyers, C. L. (2002). Multiple BCR-ABL kinase domain mutations confer polyclonal resistance to the tyrosine kinase inhibitor imatinib (STI571) in chronic phase and blast crisis chronic myeloid leukemia. *Cancer cell*, 2(2), 117-125. [https://doi.org/10.1016/s1535-6108\(02\)00096-x](https://doi.org/10.1016/s1535-6108(02)00096-x)

Skorski, T., Kanakaraj, P., Nieborowska-Skorska, M., Ratajczak, M. Z., Wen, S.-C., Zon, G., Gewirtz, A. M., Perussia, B., & Calabretta, B. (1995). Phosphatidylinositol-3 kinase activity is regulated by BCR/ABL and is required for the growth of Philadelphia chromosome-positive cells.

Snyder, D. S., McMahon, R., Cohen, S. R., & Slovak, M. L. (2004). Chronic myeloid leukemia with an e13a3 BCR-ABL fusion: Benign course responsive to imatinib with an RT-PCR advisory. *American journal of hematology*, 75(2), 92-95.

- Sokal, J. E., Cox, E. B., Baccarani, M., Tura, S., Gomez, G. A., Robertson, J. E., Tso, C., Braun, T. J., Clarkson, B. D., & Cervantes, F. (1984). Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia.
- Stock, W., Yu, D., Karrison, T., Sher, D., Stone, R. M., Larson, R. A., & Bloomfield, C. D. (2006). Quantitative real-time RT-PCR monitoring of BCR-ABL in chronic myelogenous leukemia shows lack of agreement in blood and bone marrow samples. *International journal of oncology*, 28(5), 1099-1103.
- Strobl, F. J., Voelkerding, K. V., & Smith, E. P. (1999). Management of chronic myeloid leukemia during pregnancy with leukapheresis. *Journal of Clinical Apheresis: The Official Journal of the American Society for Apheresis*, 14(1), 42-44. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-1101\(1999\)14:1<42::aid-jca8>3.0.co;2-2](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-1101(1999)14:1<42::aid-jca8>3.0.co;2-2)
- Sun, X., Li, J., Chen, J., Li, D., Chen, L., Xu, W., Yang, Y., Wu, Y., Jiang, P., & Xie, W. (2009). Flow cytometric assay of phosphotyrosine levels in Bcr-Abl-positive chronic myelogenous leukemias: a potential prognostic marker. *Annals of hematology*, 88, 29-36. <https://doi.org/10.1007/s00277-008-0563-z>
- Talpaz, M., Kantarjian, H. M., McCredie, K. B., Keating, M. J., Trujillo, J., & Gutterman, J. (1987). Clinical investigation of human alpha interferon in chronic myelogenous leukemia.
- Talpaz, M., Silver, R. T., Druker, B. J., Goldman, J. M., Gambacorti-Passerini, C., Guilhot, F., Schiffer, C. A., Fischer, T., Deininger, M. W., & Lennard, A. L. (2002). Imatinib induces durable hematologic and cytogenetic responses in patients with accelerated phase chronic myeloid leukemia: results of a phase 2 study. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 99(6), 1928-1937. <https://doi.org/10.1182/blood.v99.6.1928>
- Tauchi, T., & Ohyashiki, K. (2004). Molecular mechanisms of resistance of leukemia to imatinib mesylate. *Leukemia research*, 28, 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2003.10.007>
- Traxler, P., Bold, G., Buchdunger, E., Caravatti, G., Furet, P., Manley, P., O'Reilly, T., Wood, J., & Zimmermann, J. (2001). Tyrosine kinase inhibitors: from rational

- design to clinical trials. *Medicinal research reviews*, 21(6), 499-512.
<https://doi.org/10.1002/med.1022>
- Von Bubnoff, N., Schneller, F., Peschel, C., & Duyster, J. (2002). BCR-ABL gene mutations in relation to clinical resistance of Philadelphia-chromosome-positive leukaemia to STI571: a prospective study. *The Lancet*, 359(9305), 487-491.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)07679-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)07679-1)
- Warlick, E., & Smith, B. (2007). Myelodysplastic syndromes: review of pathophysiology and current novel treatment approaches. *Current Cancer Drug Targets*, 7(6), 541-558. <https://doi.org/10.2174/156800907781662284>
- Wong, S., & Witte, O. N. (2004). The BCR-ABL story: bench to bedside and back. *Annu. Rev. Immunol.*, 22, 247-306.
<https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.22.012703.104753>
- Zhelyazkova, A., Tonchev, A., Kolova, P., Ivanova, L., & Gercheva, L. (2008). Prognostic significance of hepatocyte growth factor and microvessel bone marrow density in patients with chronic myeloid leukaemia. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 68(6), 492-500.
<https://doi.org/10.1080/00365510701857392> .
- Zonder, J. A., Pemberton, P., Brandt, H., Mohamed, A. N., & Schiffer, C. A. (2003). The effect of dose increase of imatinib mesylate in patients with chronic or accelerated phase chronic myelogenous leukemia with inadequate hematologic or cytogenetic response to initial treatment. *Clinical cancer research*, 9(6), 2092-2097.
- Mutagenesis. Genomics Society 51st Annual Meeting, September 12-16, 2020. (2020). Environmental and molecular mutagenesis, 61 Suppl 1, 1-96.
<https://doi.org/10.1002/em.22405>
- Moore, F. R., Yang, F., & Press, R. D. (2013). Detection of BCR-ABL1 kinase domain mutations causing imatinib resistance in chronic myelogenous leukemia. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 999, 25-39.
https://doi.org/10.1007/978-1-62703-357-2_2

Deininger MW (2008). Milestones and monitoring in patients with CML treated with imatinib. *Am Soc Hematol Educ Program Hematol*; 1(7):419-426.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: OMAR AZEEZ

Öğrenim Durumu:

Derece	Alan	Yıl
Lisans	Biyoloji Bölümü	2012-2016
Yüksek Lisans	Moleküler Biyoloji	2022-2025

Bildirileri:

KRONİK MİYELOİD LÖSEMİ HASTALARINDA BCR-ABL1 P210 TARAMASI
ve İMATİNİB YANITININ DEĞERLENDİRİLMESİ

<https://www.isarconference.org> › ...