الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
كلية الطب البشري
قسم الأمراض الباطنة

The efficacy of Nilotinib in patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelgenous leukemia in chronic phase following Imatinib resistance

دراسة فعالية Nilotinib عند مرضى الابيضاض النقوي المزمن إيجابيي صبغي فيلادلفيا في الطور المزمن والمعندين على Imatinb

بحث علمي مُعدّ لنيل شهادة الدِّراسات العليا التَّخصصية في أمراض الدّم و الأورام

إعداد: د. ليلى خضور

إشراف
أ.د. عبير قدَّار

برئاسة
أ.د. حسام الدِّين شبلي

خلاصة البحث:

خلفية البحث:

رغم النجاح الباهر الذي حققه اكتشاف الـ Imatinib كمثبط نوعي للتيروزين كيناز للـ Abl في علاج مرضى الـ CML إلا أن المقاومة عليه فرضت تحديا جديدا قادت لمزيد من الأبحاث لتطوير مثبطات نوعية أخرى أقوى فعالية في إحداث الاستجابة المطلوبة، سميت بمثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني والتي أثبتت الدراسات العالمية أنها أقوى فاعلية من الـ Imatinib في إحداث كل من الاستجابة الصبغية و الجزيئية سواء لدى استخدامها كخط أول في العلاج أو بعد فشل الـ Imatinib لدى مرضى الـ CML في الطور المزمن. يعتبر الـ Nilotinib و هو دواء فموي من مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني ذو فعالية أقوى بحوالي 30 ضعف على تثبيط كيناز الـ Abl مقارنة مع الـ Imatinib .

الطرائق:

تم تقييم فعالية الـ Nilotinib بجرعة 400 مغ مرتين يوميا خلال 12 شهر من متابعة 37 مريض من مرضى الابيضاض النقوي المزمن في الطور المزمن و المعندين على الـ Imatinib .

النتائج:

كانت الاستجابة الدموية الكاملة محققة لدى 81.5% و 58.8% في الشهر 6 و 12 على التوالي ، الاستجابة الصبغية الكبرى لدى 72.9% و 55.9% في الشهر 6 و 12 على التوالي ، الاستجابة الصبغية التامة لدى 43.2% و 50% في الشهر 6 و 12على التوالي. تحققت الاستجابة الجزيئية الكبرى لدى 26.5 % من المرضى بعد 12 شهراً من العلاج (53%من المرضى المحققين للاستجابة الصبغية التامة).

كانت نسبة الاستجابة الصبغية الكبرى الباكرة لدى المرضى الذين بدأوا بـ Nilotinib و هم بحالة استجابة دموية تامة أعلى من المرضى الذين بدأوه وهم بحالة عدم استجابة دموية تامة (86.4%، 53.3% على التوالي P= 0.003)، كما كانت الاستجابة الصبغية الكبرى الباكرة لدى المرضى مع مدة مرض تساوي او أكثر من 3 سنوات أعلى من المرضى مع مدة مرض أقل من 3 سنوات (86.2%، 25% على التوالي P= 0.002).

كان هناك علاقة قوية بين حدوث الـ MCgR في الشهر الثالث و استمرارها للشهر السادس، التاسع، والثاني عشر بمعامل ارتباط 0.967، 0.663، و 0.586 على التوالي (P<0.0001)

كانت معظم التأثيرات الجانبية الحاصلة نتيجة للعلاج خفيفة و لم تستدع إيقاف الدواء، سجلت التأثيرات الجانبية الدموية من الدرجة 3 أو 4: نقص صفيحات 8.1%، نقص بيض 2.7%، ونقص عدلات 2.7% ، بينما كانت جميع حالات السمية الدوائية غير الدموية من الدرجة 1 أو 2.

الاستنتاج:

تبعا للنتائج السابقة، إن الـ Nilotinib دواء آمن و فعال في علاج مرضى الـ CML في الطور المزمن المعندين على الـ Imatinib، خاصة لدى المرضى الذين لم يخسروا الاستجابة الدموية الكاملة و الذين أبدوا استجابة طويلة الأمد على الـ Imatinib.

Abstract

Background: **Despite the spectacular success in discovery of Imatinib as selective inhibitor of Abl tyrosine kinase that has changed the landscape of CML management, resistant to Imatinib has imposed a new challenge led to more research that revealed more potent second generation tyrosine kinase inhibitors. The efficacy of seconed generation TKIs was proved in multiple international studies as first line or after imatinib failure in chronic phase CML patients. Nilotinib, an orally bioavailable, selective Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitor, is 30-fold more potent than imatinib and overcomes most imatinib resistant BCR-ABL mutations.**

Methods: **we evaluated the clinical efficacy and safety of nilotinib 400 mg twice daily after 12 month of follow up in 37 CML patients in chronic phase following imatinib resistance.**

Results: **CHR was achieved in 81.5% and 58.8% after 6, and 12 months respectively. MCgR was achieved in 72.9% and 55.9% after 6 and 12 months respectively. CCgR was achieved in 43.2% and 50% after 6 and 12 months respectively. MMolR was achieved in 26.5% of patients after 12 months of nilotinib treatment (53% of patients achieved CCgR). Early MCgR proportion was higher in: patients who started nilotinib with CHR compares to whom started nilotinib with no CHR (86.4% vs 53.3% respectively, P=0.003), patients with disease duration $\geq$ 3 years compared to patients with disease duration < 3 years (86.2% vs 25% respectively P=0.002). There was strong correlation between MCgR in 3rd month and continuatuion of these MCgR to the 6th, 9th, 12th, month with Correlation coefficient 0.967, 0.663, 0.586 respectively (P<0.0001)**

Adverse events due to nilotinib treatment was mild and did not require treatment cessation. Grade 3/4 heamtologic toxicities were: thrombocytopenia 8.1%, leucopenia 2.7%, and neutropenia 2.7%. all nonhematologic toxicities were grade 1/2.

Conclusion: **Nilotinib is safe and effective agent in the treatment of CML patients in chronic phase following imatinib resistance especially in patients who did not lose CHR and/or did not develop early resistance to imatinib.**

المحتويات

جدول المصطلحات 5

القسم الأول: الدراسة النظرية

1- لمحة تاريخية 7
2- تعريف الابيضاض النقوي المزمن 7
3- الوبائيات و عوامل الخطورة 8
4- التظاهرات السريرية للابيضاض النقوي المزمن 8
5- تشخيص الابيضاض النقوي المزمن 9
6- البيولوجيا الجزيئية 11
6-1- مورثة الـ ABL 11
6-2- مورثة الـ BCR 12
6-3- التشريح الجزيئي لمورثة الاندماج BCR-ABL 13
6-4- آليات التحول الخبيث المتواسطة بالـ BCR-ABL 15
6-4-1- فقدان السيطرة على فعالية التيروزين كيناز للـ ABL 15
6-4-2- الخصائص البيولوجية للخلايا إيجابية الـ BCR-ABL و سبل الإشارة المفعلة فيها 16
6-4-3- ميدان الكيناز فعال مقابل غير فعال 19
7- مثبطات التيروزين كيناز 21
8- العلاج 25
8-1- الفعالية السريرية لمثبطات التيروزين كيناز 25
8-1-1- الـ Imatinib 25
8-1-2- مراقبة المرضى و تقييم فعالية العلاج 26
8-1-3- المقاومة على الـ Imatinib 29
8-1-4- رفع جرعة الـ Imatinib 30
8-1-5- خيارات العلاج بعد فشل أو عدم تحمل الـ Imatinib 31
8-2- الـ Nilotinib في علاج مرضى الـCML

القسم الثاني: الدراسة العملية 34

1. خلفية البحث 34
2. أهداف البحث 34
3. المواد والطرق 35
4. النتائج و المناقشة 40
5. التوصيات 63

المراجع 65

جدول المصطلحات

المصطلح	التعريف	
CML	Chronic Myelogenous leukemia	الابيضاض النقوي المزمن
Ph	Philadelphia chromosome	صبغي فيلادلفيا
ABL	Abelson murine leukemia viral oncogene	مورثة الـ ABL الورمية
Abl	Abl protein	بروتين الـAbl
BCR	Breakpoint Cluster Region gene	مورثة الـ Bcr
Bcr	Breakpoint cluter region protein	بروتين الـ Bcr
BCR-ABL	BCR-ABL fusion gene	مورثة الاندماج BCR-ABL
Bcr-Abl	Bcr-Abl fusion protein	البروتين المندمج Bcr-Abl
CP	Chronic phase	الطور المزمن
AP	Accelerated phase	الطور المتسارع
Bp	Blast phase	الطور الأرومي
SH1	SRC Homology domain 1	ميدان متماثلة الـ SRC 1
SH2	SRC Homology domain 2	ميدان متماثلة الـ SRC 2
SH3	SRC Homology domain 3	ميدان متماثلة الـ SRC 3
Crk or p38	Crk adapter protein	بروتين الـ Crk الملئم
Y393	Tyrosine393 residue	ثمالة التريوزين 393
F401	Phynylalanine401 residue	ثمالة القينيل ألانين 401
PTK	Protein Tyrosine Kinase	كيناز بروتين التيروزين
PH	pleckstrin Homology	متماثلة البلكسترين
Rho-GEF	Rho guanidine nucleotide exchange factor	العامل Rho المبدل لنيكلوتيد الغوانيدبن
GTPase	Guanidine Triphosphatase	فوسفاتاز الغوانيدين الثلاثي
NF-κB	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells	العامل النووي المعزز للسلسلة الخفيفة في الخلايا البائية المفعلة
Rac	Ras-related C3 botulinum toxin substrate	
CaLB	Calcium-dependent lipid binding	
DD	Dimerization domain	ميدان تكوين المثنويات
M-BCR	Major breakpoint cluster region	نقطة الكسر الكبرى
m-BCR	Minor breakpoint cluster region	نقطة الكسر الصغرى
µ-*BCR*	Micro breakpoint cluster region	نقطة الكسر الأصغر
Abi-1	Abl interactor proteins 1	
Abi-2	Abl interactor proteins 2	
Grb-2	Growth factor receptor-bound protein 2	البروتين الرابط لمستقبل عامل النمو-2
Gab-2	GRB2-associated binding protein 2	
Erk	extracellular signal-regulated kinase	
Jnk	c-Jun N-terminal kinase	
PI3K	phosphatidylinositol 3-kinas	
STAT5	Signal transducer and activation of transcription 5	
ICSBP	interferon consensus sequence binding protein	
12/15-LO	12/15-lipoxygenase	

الاستجابة الدموية الكاملة	Complete hematologic response	CHR
الاستجابة الصبغية التامة	Complete cytogenetic response	CCgR
الاستجابة الصبغية الجزئية	Patrial cytigenetic response	PCgR
الاستجابة الصبغية الكبرى	Major cytogenetic response	MCgR
الاستجابة الصبغية الصغيرة	Minor cytogenetic response	mCyr
الاستجابة الصبغية الصغرى	Minimal cytogenetic response	minCgR
الاستجابة الصبغية المعدومة	No cytogenetic response	noCgR
الاستجابة الجزيئية التامة	Complete molecular response	CMolR
الاستجابة الجزيئية الكبرى	Major molecular rsponse	MMolR
تفاعل سلسلة البوليميراز	Polymerase chain reaction	PCR
تفاعل سلسلة البوليميراز الانتساخي العكسي	Revesrse trancriptional Polymerase chaim=n reaction	RT-PCR
تفااعل سلسلة البوليميراز الكمي	Quantitive Polymerase chain reaction	QPCR
التهجين المفلور في المكان	Fluorescent in situ hybridization	FISH

القسم الأول : الدراسة النظرية

1- لمحة تاريخية:

قد يكون الابيضاض النقوي المزمن Chronic Myelogenous Leukemia CML أحد أكثر الأمراض التي درست على أوسع نطاق. تم اكتشاف صبغي فيلادلفيا (Ph) في عام 1960 كأول اضطراب صبغي مترافق بشكل نوعي مع الابيضاض [1]. ثم استغرق التأكد من أن صبغي فيلادلفيا ناجم عن الإزفاء المتبادل(9;22)t Reciprocal translocation 13 عاماً [2], و 10 سنوات أخرى لمعرفة أن هذا الإزفاء يتضمن طليعة المورثة الورميةABL (Proto-oncogene) الموجودة بشكل طبيعي على الصبغي 9 و مورثة أخرى كانت غير معروفة حينها على الصبغي 22 [3] ،والتي عرفت لاحقاً بمورثة BCR (breakpoint cluster region)[4]. ثم عُرِّفت فعالية التيروزين كيناز الشاذة للـ Abl على أنها الآلية الإمراضية الأساسية[5]، فيما بعد طُوِّرت التجارب على النماذج الحيوانية الأولى[6] . توجت هذه الأبحاث بالاكتشاف المذهل لمثبطات التيروزين كيناز النوعية للـ Abl و التي تعمل بشكل انتقائي على تثبيط نمو الخلايا إيجابية الـBCR-ABL بداية في المختبر[8] [7] ثم حيوياً[9] .

2- تعريف الابيضاض النقوي المزمن

يعد الـ CML أحد الأمراض النقوية التكاثرية والذي يتميز بتكاثر غير مضبوط للسلسلة النقوية بكافة مراحل التمايز [10]. يترافق الـ CML مع اندماج مورثتين: BCR (على الصبغي 22) و ABL1 (على الصبغي 9) مما يقود للمورثة المدمجة BCR-ABL1 والناجمة عن الإزفاء المتبادل t(9;22)(q34;q11) [2] [3] [4].

يتألف السير السريري للـ CMLمن ثلاثة أطوار:

- الطور المزمن Chronic phase:

يكتشف الـ CML لدى أكثر من 85% من المرضى في هذا الطور[11] ، والذي يتميز بارتفاع تعداد البيض (فوق 100 x10^9/ل عادة) في الدم المحيطي[12] مع تواجد كافة عناصر السلسلة النقوية ابتداء من الأرومات النقوية (والتي لا تتجاوز نسبتها عادة الـ 2%[13]) إلى الكريات

العدلة الناضجة، إضافة لذلك يتميز الطور المزمن بوجود الضخامة الطحالية و ارتفاع تعداد الصفيحات [14].

- الطور المتسارعAccelerated phase: يعرف بوجود إحدى المعايير التالية[15] :
- نسبة الأرومات في الدم أو النقي بين 10-19%.
- ارتفاع تعداد الكريات البيض رغم العلاج.
- تعداد الصفيحات أقل من 100.000/ مكل لا علاقة له بالعلاج، أو أكثر من 1000.000/مل غير مستجيب على العلاج.
- نسبة الأسسات أكثر من 20%.
- ضخامة طحالية مترقية رغم العلاج.
- تطور اضطرابات صبغية غير موجودة سابقا.

- الطور الأرومي Blast phase:

يعرف بوجود إحدى المعايير التالية [15]:

- نسبة الأرومات في الدم المحيطي او النقي أكثر من 20%.
- تكاثر أرومي خارج النقي extramedullary.
- تجمع غزير للأرومات في بؤرة او أكثر في خزعة نقي العظام.

3- الوبائيات و عوامل الخطورة

يشكل الـ CML حوالي 15-20% من الابيضاضات عند البالغين [16]، مع معدل وقوع سنوي 1-2 حالة لكل 100,000 وأرجحية طفيفة لإصابة الذكور[17] . يعتبر التعرض للأشعة المؤينة العامل الوحيد المعروف لحد الآن كعامل خطورة لحدوث الـ CML[14].

4- التظاهرات السريرية للابيضاض النقوي المزمن

تختلف التظاهرات السريرية للـ CML حسب الطور السريري، يكتشف المرض غالبا في الطور المزمن و يكون لا عرضياً في 20-50% من الحالات [11][18] ، يوضح الجدول التالي الأعراض و العلامات السريرية للـ CML [18].

العرض	النسبة المئوية من المرضى العرضيين%
وهن	33.5
نزوف	21.3
نقص وزن	20
الم مراق أيسر	18.6
حس امتلاء بطني	14.8
تعرق	14.6
آلام عظمية	7.4
إنتان	6.2
صداع	5.8
زلة تنفسية	4.5
اضطرابات بصرية	4.4
آلام مفصلية	4
دوام	2.2

الجدول 1: الأعراض السريرية للـCML

العلامة السريرية	النسبة المئوية%
ضخامة طحالية	75.8
ضخامة كبدية	2.2
فرفريات	15.8

الجدول 2: العلامات السريرية للـ CML

5- تشخيص الابيضاض النقوي المزمن

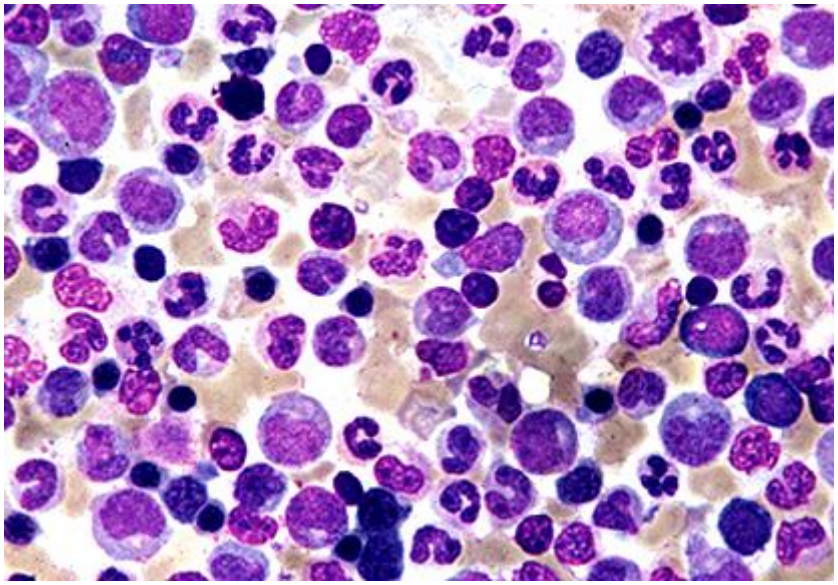
اللطاخة المحيطية:

تتميز بارتفاع الكريات البيض مع تواجد كافة عناصر السلسلة النقوية بأشكالها الطبيعية دون مظاهر خلل التنسج : الأرومات النقوية، سليفات النقوية، الكريات النقوية، خليفات النقوية ، الشريطيات ، و العدلات الناضجة. بالإضافة إلى زيادة الأسسات.

تتميز عدلات الـ CML بانخفاض معدل الفوسفاتاز القلوية للعدلات neutrophil alkaline phosphatase والذي يساعد على تمييز الـ CML عن التفاعل الابيضاضي و باقي الأمراض النقوية التكاثرية.

بزل و خزعة نقي العظم:

يشاهد فيه أيضا فرط تنسج السلسلة النقوية بكافة مراحل التمايز(الشكل 1)، كما يمكن مشاهدة ظاهرة التليف الشبكيني المميزة لكافة الأمراض النقوية التكاثرية ، يتم أيضا تحديد نسبة الأرومات النقوية بالاعتماد على بزل النقي وبالتالي تحديد طور المرض.



الشكل 1: بزل نقي العظم للـ CML

الاختبارات الوراثية:

يتم تحري وجود مورثة الاندماج BCR-ABL أو منتجات جزيء mRNA المدمج التابع لمورثة الاندماج BCR-ABL بواسطة إحدى الاختبارات التالية:

- تحليل الصيغة الصبغية الاعتيادي Conventional cytogenetic (Karyotyping): يجرى على عينة من نقي العظم و يمكن بواسطته الكشف عن إيجابية صبغي فيلادلفيا بدراسة 20 خلية في طور الانقسام metaphase بالإضافة إلى إمكانية كشف الشذوذات الصبغية الأخرى المرافقة.
- التهجين المفلور في المكان Fluorescent in Situ Hybridization: و الذي يمكن إجراؤه على عينة من الدم المحيطي أو نقي العظم ويتمتع بحساسية أكبر لكشف وجود BCR-ABL في 200 خلية بطور الـ interphase أو Metaphase، لكن لا يمكن من تحديد وجود شذوذات صبغية أخرى.
- تفاعل سلسلة البوليمراز الانتساخي العكسي Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR): ويعتبر الوسيلة الأكثر حساسية للكشف عن وجود BCR-ABL.

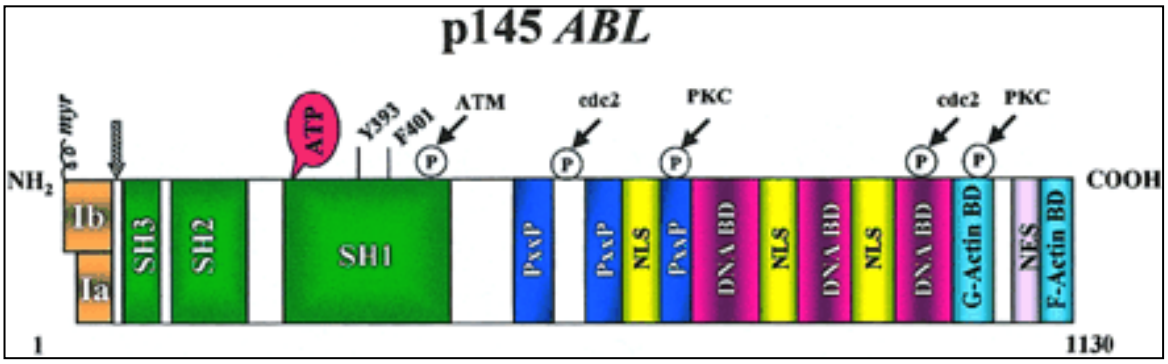
تعتبر موجودات اللطاخة المحيطية و بزل النقي المذكورة سابقا موجهة بشدة للـ CML، إلا أن تأكيد التشخيص يكون بإثبات وجود صبغي فيلادلفيا، وذلك بالاعتماد تحليل الصيغة الصبغية الاعتيادي Conventional Cytogenetics، التهجين المفلور في المكان Fluorescence in Situ Hybridization (FISH)، أو تفاعل سلسة البوليمراز الانتساخي العكسي Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR).

6- البيولوجيا الجزيئية للـ CML :

6-1- مورثةالـ ABL:

إن مورثة الـ ABL هي النظير البشري للمورثة الورمية v-abl المحمولة على الفيروس Abelson murine leukemia virus (A-MuLV) [19] وترمز لتيروزين كيناز بدون مستقبل nonreceptor tyrosine kinase [20]. يعبرالـ Abl البشري عن بروتين وزنه 145-kd يتمثّل بنمطينIa,Ib ناجمين عن التضفير التبادلي alternative splicing للإكسون الأول [20].

يمكن التعرف على عدة مناطق بنيوية متضمنة في هذا البروتين (الشكل 2): تتوضع 3 ميادين لمتماثلة الـ SRC (تدعى SH1، SH2، و SH3) عند النهاية الأمينية للبروتين حيث تحمل الـ SH1 وظيفة التيروزين كيناز، بينما تسمح كل من الـ SH2 و الـ SH3 بالتفاعل مع البروتينات الأخرى[21] . تتواجد متسلسلة غنية بالبرولينProline-rich sequences في مركز الجزيء والتي بدورها تسمح بالتفاعل مع منطقة الSH3 لبروتينات أخرى مثل Crk [22]. و تتواجد بالقرب من النهاية 3`كل من إشارات التوضع النووية (nuclear localization signals)، عنصر الارتباط بالـ DNA (DNA binding motif)، و عنصر الارتباط بالأكتين (Actin binding motif) [23].



الشكل 2 بنية بروتين الـAbl:
النمط Ia أقصر بقليل من النمط Ib, يحتوي الأخير على موقع myr (myristoylation site) المسؤول عن الارتباط بالغشاء الخلوي. تتواجد ثمالة التيروزين393 (Y393) ضمن منطقة الكيناز وهي أهم موقع مسؤول عن الفسفرة الذاتية autophosphorylation. كما تتميز ثمالة الفينيل ألانين 401 (F401) بأنها مصانة بشدة ضمن كيناز بروتين التيروزين (PTKs) لميدان الـ SH1. يبين الشكل أيضا مواقع الفسفرة لـ ATM, cdc2 و PKC . يشير السهم لنقطة الكسر breakpoint في البروتين المدمج لـ Bcr-Abl.

تتميز الـ Abl بعدة وظائف فيزيولوجية[24] ، حيث يساهم بروتين الـ Abl بتنظيم الدارة الخلوية وذلك كاستجابة الخلية لعوامل الشدة السمية الجينية genotoxic stress [25]، و نقل معلومات محيط الخلية بواسطة إشارة الإنتغرين Integrin signaling [26]. وبشكل عام تبين أن بروتين

الـ Abl يقوم بدور معقد كوسيط خلوي لتوصيل الإشارات من عدة مصادر داخل و خارج خلوية مما له تأثير على دارة الخلية و الموت الخلوي المبرمج [24].

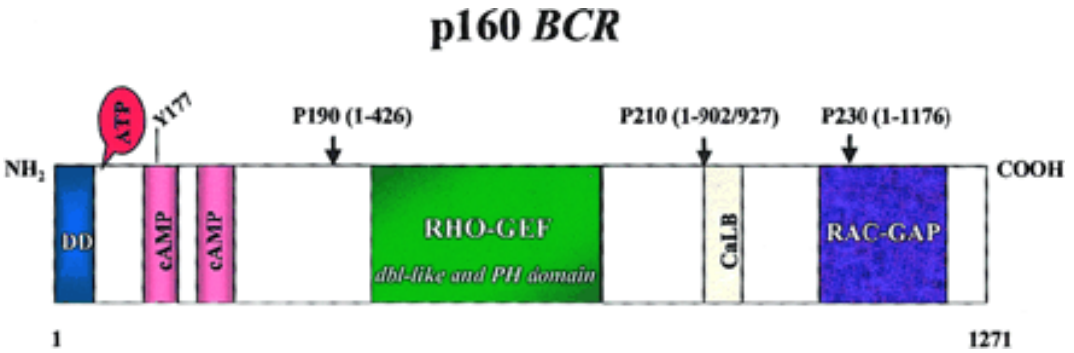
2-6- مورثة الـ BCR

من جهة أخرى يتكون بروتين الـ Bcr ذو الـ 160-kd من عدة مقاطع بنيوية أيضاً (الشكل3). يرمز الإكسون الأول من الجهة الأمينية لكيناز السيرين-ثريونين Serine-therionin kinase، حتى الآن لم يعرف إلا ركيزة احدة لهذا الكينازهي Bap-1 وهي إحدى عناصر عائلة البروتينات 14-3-3 [27] ومن المحتمل أن يكون بروتين الـ Bcr أيضا ركيزة لهذا الكيناز [20].

يسمح ميدان الـ coiled-coil الموجود أيضا من الجهة الأمينية لبروتين الـ Bcr بتكوين المثنويات (Dimer) [28]. يحتوي مركز الجزيء على ميدان dbl-like و ميدان pleckstrin-homology (PH) والتي تحرض تبديل الغوانيدين ثلاثي الفوسفات GTP (guanidine triphosphate) إلى غوانيدين ثنائي الفوسفات GDP (guanidine diphsphate) على عوامل Rho لتبادل الغوانيدين Rho guanidine exchange factors [29]، مما يقود إلى تفعيل عدة عوامل انتساخ منها الـ NF-κB [30].

تحتوي النهاية الكربوكسيلية على فعالية الـ GTPase للـ Rac [31]، و فعالية GTPase صغيرة لعائلة الـ RAS التي تنظم تبلمرالأكتين actine polymerization و نشاط الـ NADPH Oxidase في الخلايا البالعة [32]. بالإضافة يمكن فسفرة الـBcr في عدة ثمالات تيروزين[33] خاصة التيروزين 177 الذي يرتبط بـ Grb-2 والذي يعتبر بدوره جزيء مهم في تفعيل سبيل الـ Ras pathway Ras [34]. ومن المثير للاهتمام فإن الـ Abl يقوم بفسفرة الـ Bcr في خلايا الـ COS1 مما يؤدي لانقاص فعالية الكيناز للـ Bcr [35]، لا تزال هذه المعطيات في موقع جدل خاصة فيما يتعلق لدور Bcr في تنبيغ الأشارة signal transduction لذلك لابد من تفسيرالدور البيولوجي لهذه المعطيات.

و يمكن القول أنه حتى الآن لايزال الدور البيولوجي للـ Bcr مبهماً نوعا ما خاصة بعد ما تبين ان الفئران منزوعة الـBcr عيوشة و أن الخلل الوحيد المكتشف عند هذه الفئران هو ازدياد الهبَّة التأكسدية Oxidative burst في العدلات [36]. ومن الجدير بالذكر أنه حتى الآن لم تعرف الآلية الإمراضية للـ Bcr في الابيضاض إيجابي صبغي فيلادلفيا خاصة أن معدل الوقوع والبيولوجيا للابيضاض المحدث بـ $P190^{BCR-ABL}$ لدى فئران -/-BCR متماثلة مع فئران النمط السوي wild type [37] .



الشكل 3: بنية بروتين الـ Bcr :

لاحظ ابتداء من النهاية الأمينية ، ميدان تكوين المثنويات DD (Dimerization Domain) و المنطقتين النظريتين لكيناز الأدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي (cyclic adenosine monophosphate kinase homologous domains). يعتبر موقع الفسفرة الذاتية autophosphorylation الـ Y177 الأهم للارتباط مع Grb-2. يحتوي مركز الجزيء على ميدان الـ Rho-GEF (Rho guanidine nucleotide exchange factors) بالإضافة إلى ميداني الـ dbl-like و PH. باتجاه النهاية الكربوكسيلية يتواجد موقع مفترض للارتباط بالدسم المعتمد على الكالسيوم CaLB (calcium-dependet lipid binding)، وأخيرا ميدان الـ Rac-GAB المسؤول عن فعالية Rac-GTPase. تشير الأسهم لمواقع الكسر breakpoint في البروتين الناجم من مورثة الاندماج BCR-ABL.

3-6- التشريح الجزيئي لمورثة الاندماج BCR-ABL:

يمكن أن تكون نقطة الكسر ضمن مورثة الـ ABL المتوضعة على 9q34 في اي موقع على امتداد واسع من هذه المورثة يشمل 300 kb قريبا من النهاية 5′ ، وذلك إما قبل upstream الإكسون التبادلي الأول Ib أو بعد downstream الإكسون التبادلي الثاني Ia ، أو الاشيع أن يكون بين هذين الإكسونين[38] (الشكل 4). و بغض النظر عن نقطة الكسرفي الـ ABL فإنه ينجم عن تضفير (splicing) النسخة الأولية الهجينة (primary hybrid transcript) جزيء mRNA حيث متواليات الـ BCR تندمج مع الإكسون a2 للـ ABL [38].

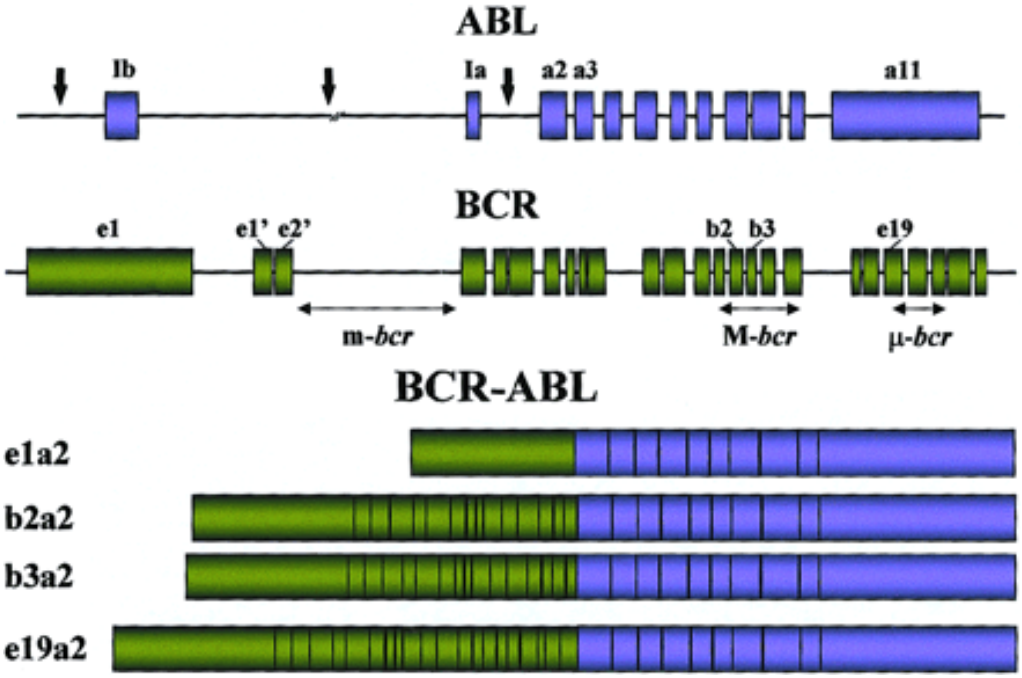
ومن جهة اخرى، ونقيضا للـ ABL فإن نقطة الكسر لمورثة الـ BCR تتوضع في واحدة من 3 مناطق وهذا سبب تسمية المورثة بـ breakpoint cluster regions [38].

تحدث نقطة الكسر لدى غالبية مرضى الـ CML و حوالي ثلث مرضى الـ ALL، إيجابيي صبغي فيلادلفيا، خلال منطقة من 5.8-kb ممتدة من الإكسونات 12-16 (معروفة سابقا من b5-b1) لمورثة الـ BCR، تدعى هذه المنطقة منطقة الكسر الكبرى للـBCR (M-bcr). و بسبب التضفير التبادلي alternative splicing يتشكل نسخة mRNA مدمجة بإحد الوصلين b2a2 أو b3a2، يتم ترجمتها إلى بروتين مدمج بوزن جزيئي 210-kd ($P210^{BCR-ABL}$) [38].

أما لدى نسبه قليلة من مرضى الـ CML و حوالي ثلثي مرضى الـ ALL، إيجابيي صبغي فيلادلفيا، تحدث نقاط الكسر في منطقة تمتد لـ 54.4-kb قبل بين الإكسونين التبادليين e2′ و e2 لمورثة الـ BCR، تدعى هذه المنطقة بمنطقة الكسر الصغرى (m-bcr) [38]، ينجم عن

ترجمة الـ (e1a2 mRNA) بروتين ذو وزن جزيئي 190-kd ($P190^{BCR-ABL}$) [38]، سريرياً يتميز المرضى الحاملون لهذا النوع من مورثة الاندماج بارتفاع نسبة الوحيدات[39].

تم التعرف على منطقة ثالثة للكسر دعيت بمنطقة الكسر الأصغر (μ-*bcr*) بعد downstream الإكسون 19 و ينجم عنها بروتين مدمج ذو وزن جزيئي 230-kd ($P230^{BCR-ABL}$) و يترافق مع حالات نادرة لابيضاض العدلات المزمن إيجابي صبغي فيلادلفيا (Ph-positive chronic neutrophilic leukemia) [40].



الشكل 4: نقاط الكسر في كل من مورثتي الـ BCR و الـ ABL و الأشكال البنيوية المتعددة الناجمة عن الـ mRNA المختلط المتشكل من كل من هذه المواقع.

سجلت حالات قليلة لمرضى CML و ALL مع مواقع ربط junctions غير المذكورة مثل، b2a3، b3a3، e1a3، e6a2،(41) أو e2a2 [23]. ومن المثير للاهتمام، أنه حتى لو شملت مورثة الاندماج على الإكسون الأول للـ ABL، يتم اقتطاعه خارجا من جزيء الـ mRNA المدمج الأولي بواسطة عملية التضفير.

من الملاحظ أن جزء الـ Abl من البروتين المدمج ثابت دائما، بينما جزء الـ bcr متنوع بشكل كبير، لذلك يعتقد أن الـ Abl هو المسؤول عن عملية التحول Transformation بينما تحدد الأحجام المختلفة للـ Bcr نمط المرض [38].

على عكس الـ p190 و p210، لا يمتلك الـ $p230^{BCR-ABL}$ القدرة على التحول إلى حالة عدم الاعتماد على عوامل النمو، مما يفسر السير الحميد للابيضاض المزمن بالعدلات[42].

6-4- آليات التَّحول الخبيث المتواسطة بالـ ABL-BCR :

6-4-1- فقدان السيطرة على فعالية التيروزين كيناز للـ Abl:

في الظروف الفيزيولوجية، تتم السيطرة على فعالية التيروزين كيناز للـ Abl بشدة ضمن الخلية، حيث يلعب ميدان الـ SH3 الدور الأساسي في تثبيط هذه الفعالية إذ أنَّ حذفه أو تغيير مكانه يؤدي لتفعيل الكيناز [43]. يقوم مجال SH3 بتثبيط الـ Abl بعدة طرق [23]:

1. ترتبط عدة بروتينات بميدان SH3 و تفعل وظيفته بتثبيط كيناز Abl نذكر منها بروتيني Abi-1 و Abi-2 " Abl interactor proteins 1 and 2" وبروتين Pag/Msp23.
2. يرتبط ميدان SH3 داخلياً بالمنطقة غنية البرولين في مركز جزيء Abl محدثا تغيير بشكل الجزيء يمنع ارتباط الركائز البروتينية به.
3. يرتبط ميدان SH3 داخليا أيضا مع ثمالة الفينيل ألانين 401 (F401) من ميدان كيناز Abl مؤديا لتثبيط الكيناز حيث تبين أن هذه الثمالة مصانة بشدة ضمن ميدان الكيناز وأن الطفرة التي تؤدي إلى استبدال الفالين بالفينيل ألانين في الموقع 401 تؤدي للتفعيل الشاذ للـ c-Abl.

من المتعارف عليه الآن أن اندماج متواليات 5` للـ Bcr مع ميدان SH3 لـ Abl ينهي التثبيط الفيزيولوجي للكيناز ناقلا إياه إلى حالة التفعيل المستمر [23].

من ناحية أخرى يمكن فسفرة عدة ركائز بواسطة التيروزين كيناز لبروتين Bcr-Abl، و يمكن القول أنه بسبب الفسفرة الذاتية هناك زيادة بعدد التيروزين المفسفر على الـ Bcr-Abl نفسه مما يخلق عدة مواقع ارتباط مع ميدانSH2 لبروتينات أخرى [23]. يمكن تصنيف ركائز الـ Bcr-Abl حسب الدور الفيزيولوجي الذي تلعبه إلى [23] :

1. الجزيئات الملئمة "adapter molecules" مع السبل الأخرى مثل Crkl و $P62^{DOK}$.
2. بروتينات مسؤولة عن تنظيم الهيكل الخلوي و غشاء الخلية مثل Paxillin و talin.
3. بروتينات تقويضية مثل nonreceptor tyrosin Kinase Fes و phosphatase Syp.

ومن الجدير بالذكر أن نوع الركائز يختلف بنوع الخلية، على سبيل المثال تهيمن فسفرة بروتين الـ Crkl من قبل التيروزين كيناز في عدلات الـ CML[44]، بينما تهيمن فسفرة بروتين $P62^{DOK}$ في الخلايا الجذعية الباكرة [45].

يوضح الجدول 3 ركائز الـ Bcr-Abl مع الدور الفيزيلوجي لكل منها [23].

الركيزة	الوظيفة
$P62^{DOK}$	بروتين ملئم
Crkl	بروتين ملئم
Crk	بروتين ملئم
Shc	بروتين ملئم
Talin	بروتين هيكل خلوي/ غشاء خلوي
Paxillin	بروتين هيكل خلوي/ غشاء خلوي
Fak	بروتين هيكل خلوي/ غشاء خلوي
Fes	التمايز النقوي
Ras-GAP	Ras-GTPase
GAP-associated proteins	تفعيل سبيل الـ Ras
PLCg	Phospholipase
PI3 kinase (p85 subunit)	كيناز السيرين
Syp	فوسفاتاز سيتوبلاسمي
Bap-1	عائلة بروتينات 14-3-3
Cbl	غير معروف
Vav	تمايز الخلايا الدموية

الجدول 3: ركائز الـ Bcr-Abl

6-4-2 الخصائص البيولوجية للخلايا إيجابية الـ BCR-ABL و سبل الإشارة المفعلة فيها:

تتواسط أربع آليات في التحول الخبيث المحدث بواسطة الـ Bcr-Abl[23] :

1. تبدل خصائص الالتصاق مع خلايا اللحمة و المادة خارج الخلوية.
2. التفعيل المستمر لإشارات الانقسام.
3. تثبيط عملية الموت الخلوي المبرمج.
4. تقويض البروتينات المثبطة للـ Abl بواسطة proteasome.

تبدل خصائص الالتصاق:

لالتصاق الخلايا المولدة للدم مع خلايا لحمة النقي دور مثبط في تنامي هذه الخلايا، تبدي الخلايا المولدة للدم في الـ CML قابلية أقل للالتصاق بخلايا اللحمة لنقي العظام و المادة الخارج خلوية [46]، يعتبر الـ β-integrins من أهم الجزيئات التي لها الدور في تنظيم التصاق الخلايا المولدة للدم مع خلايا اللحمة، يتواجد في خلايا الـ CML نوع β1 integrin مثبط للالتصاق لايتواجد في الخلايا الطبيعية[47] .
ينشأ عن ارتباط الانتغرين بمستقبله إشارة توصيل طبيعيية من الخارج إلى الداخل تؤدي إلى تفعيل خاصية الالتصاق، تكون هذه الإشارة مثبطة في خلايا الـ CML [23]. أيضا يتدخل Crkl وهو أحد أهم البروتينات التي يتم تفعيلها من قبل الـ Bcr-Abl في تنظيم حركية الخلايا cell motility والتصاق الخلايا المتواسط بالانتغرين وذلك بالتعاون مع بروتينات الاتصاق الموضعية الأخرى مثل Paxillin، Fak، p130Cas، وHef1 [23].

تفعيل الإشارات المحرضة على الانقسام:

تقوم الـ Bcr-Abl بتفعيل عدة سبل تحتها (الشكل 4)، تعتبر فسفرة ثمالة الـ Tyr177 من الـ Bcr أساسية في التحول الابيضاضي المتواسط بـ Bcr-Abl [48]، حيث تعمل ثمالة الـ Tyr177 كموقع عالي الألفة لإرساء البروتين الملئم Grb-2 (Growth factor receptor-bound protein 2) الذي بدوره يفعل الـ Gab2 (Grb2 associated binding protein 2)، و يجند الـ Sos (son of sevenless; guanine-nucleotide exchanger) مما يؤدي إلى استقرارالـ Ras في الشكل المفعل المرتبط مع GTP [49]. يعمل أيضا كل من البروتينين الملئمين Crkl و Shc على تفعيل الـ Ras [44] [50]. تبين أن الطفرة التي تستبدل الفينيل ألانين بالتيروزين في الموقع 177 تمنع ارتباط الـ GRB2 و بالتالي تقلل بشكل كبير من تفعيل سبيل الـRAS [51].

يؤدي تفعيل سبيل الـ Ras إلى تجنيد كيناز السيرين-ثريونين Raf والذي بدوره يبدأ شلال إشارة من خلال كيناز سيرين-ثريونين Mek1/Mek2 و Erk، مما يقود في النهاية إلى تفعيل عملية الانتساخ الجيني [52].

تبين أيضا أنه شبكة السبل المفعلة بـ Bcr-Abl في خلايا الـ CML معتمدة بشكل كبير على Rac GTPase [53]، حيث تتألف تحت عائلة Rac للغوانوزين ثلاثي الفوسفات من ثلاثة عناصر Rac1، Rac2 و Rac3 مسؤولة عن عدة وظائف خلوية [54]. و أن استهداف مورثتي Rac1 و Rac2 لدى فئران محدث لديها داء نقوي تكاثري بإدخال $p210^{BCR-ABL1}$ أدى إلى تأخر ملحوظ في تطور المرض و توقف شلال الفسفرة المحدث بـ Bcr-Abl منهيا تفعيل سبل إشارة Crkl، Erk، Jnk و p38 [53].

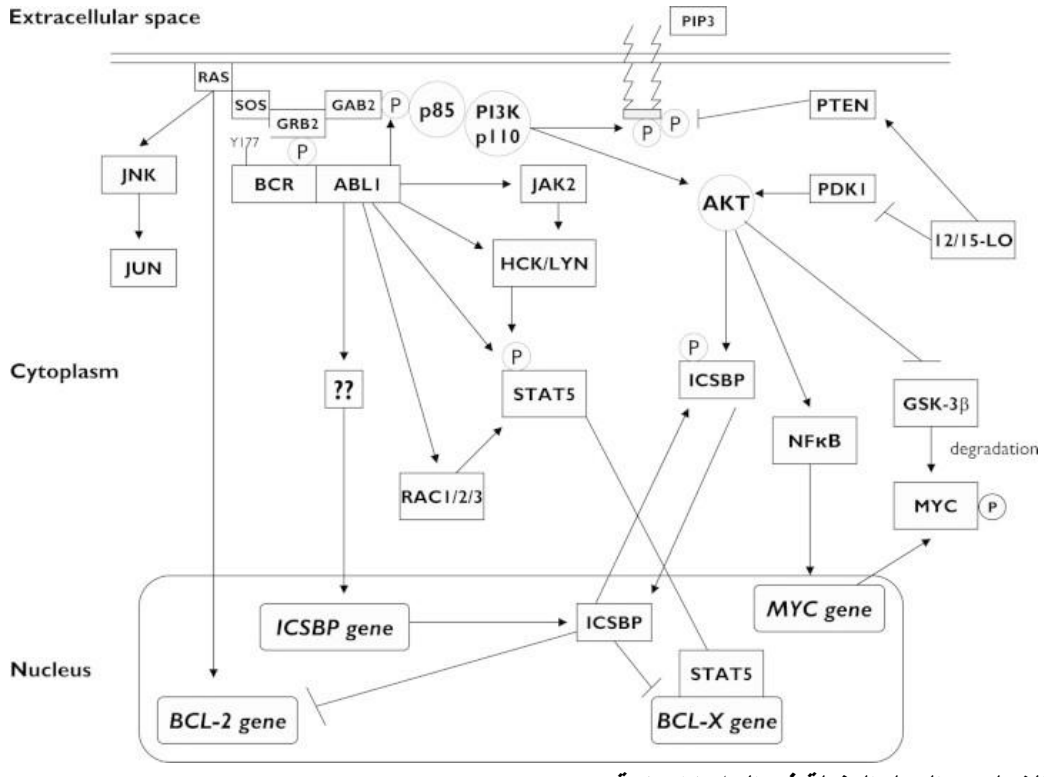
تعمل Bcr-Abl من خلال فسفرة الـ Gab2 بواسطة معقد Grb2/Gab2 [55] على التفعيل المستمر لـ PI3K/AKT phosphatidylinositol 3-kinas [56]، و تفعيل extracellular signal-regulated kinase (ERK) في خلايا الـ CML الأولية [57]. يكون تفعيل Mek-Erk معتمدا على السيتوكين في الطور المزمن ويصبح مستمرا في الطور الأرومي[57].

من أهم تأثيرات تفعيل سبيل الـ Akt تعطيل بروتين الـ Bad المعروف بدوره المساعد في الموت الخلوي المبرمج [58]. يعمل الـ Aktعلى فسفرة الـ Bad وبالتالي احتباسه بواسطة مجموعة بروتينات 14-3-3 السيتوبلاسمية و بذلك يصبح غير قادرعلى الارتباط ببروتين Bcl-XLالمضاد للموت الخلوي المبرمج [59]، وبذلك تم استنتاج أن Bcr-Abl يقلد الدور الفيزيولوجي لإشارة البقيا للـ IL-3 لكن بالاعتماد على تفعيل كيناز PI3K [59].

يقوم الـ Bcr-Abl أيضا بفسفرة عائلة كيناز الـ Src "SRC family kinases (SFKs)": Hck، Lyn، و Fgr. تؤدي فسفرة الـ Hck إلى تجيند STAT5 (transcription factor signal transducer and activation of transcription 5) التي تعدل انتساخ الجينات و تزيد من نسخ الـ cyclin D1 مما يؤدي إلى تطور الدارة الخلوية من حالة G1 إلى S. كما يمكن تفسير التأثير المضاد للموت الخلوي المبرمج للـ Stat5 من خلال دوره بزيادة انتساخ البروتين المضاد للموت الخلوي antiapoptotic protein Bcl-X [60] والذي يتم تثبيطه بواسطة عامل الانتساخ ICSBP (interferon consensus sequence binding protein) [61].

يعمل الـ ICSBP كمنظم سلبي لتمايز المحببات negative regulator of granulocyte differentiation [62]، ومن الملاحظ انخفاض التعبير الجيني لهذا البروتين في الخلايا إيجابية Bcr-Abl وأن الإدخال القسري لـ ICSBP يثبط تطور الـ CML المحدث بـBcr-Abl حيوياً [63].

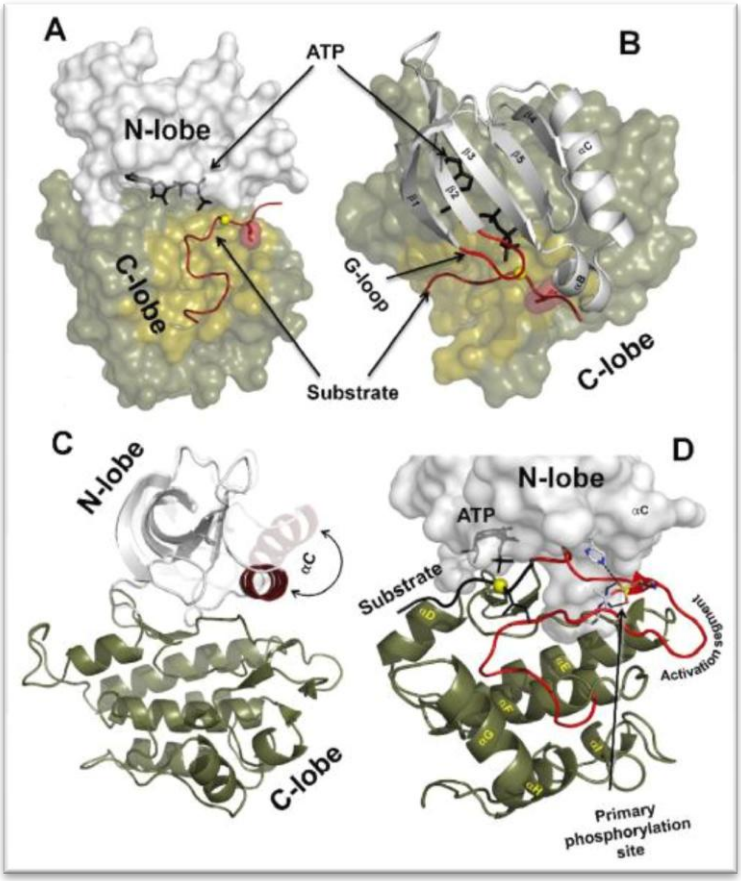
من ناحية أخرى تم إثبات دور أنزيم 12/15-LO (12/15-lipoxygenase) في تثبيط تطور أدواء النقي التكاثرية من خلال ملاحظة أن الفئران منزوعة هذا الانزيم طورت أدواء نقوية تكاثرية بنفوذية 100% غير معتمدة على وجود فعالية Abl شاذة [64]، حيث أبدت خلايا ابيضاضية في الطور المزمن معزولة من فئران منزوعة 12/15-LO زيادة في تفعيل سبيل PI3k/Akt بالإضافة إلى فسفرة شاذة لعامل الانتساخ ICSBP تؤدي إلى منع ارتباطه مع الـ DNA وبالتالي تحد من دوره في تثبيط انتساخ مورثة Bcl-2 والنتيجة: تعزيز بقيا الخلايا الابيضاضية [64].



الشكل 5: السبل المفعلة في الخلايا إيجابية BCR-ABL

3-4-6 ميدان الكيناز فعال مقابل غير فعال

تم التوصل إلى معرفة الشكل الكريستالي لكيناز البروتين المعتمد على على الـcAMP (PKA) لأول مرة عام 1991 [65] (الشكل 6)، والذي تم استخدامه لاحقا كنموذج للتعرف على بنية الكينازات الأخرى[66] ومنها كيناز الـ Abl [67].



الشكل 6: يوضح بنية كيناز البروتين: A و B- بنية الفص الأميني، C و D- بنية الفص الكربوكسيلي.

يتكون المجال التحفيزي للـ Abl مثل أي كيناز بروتين من فصين Bilobal هما الفص الأميني N-terminal lobe و الفص الكربوكسيلي C-terminal lobe[66]. يرتبط جزيء الـ ATP بشق عميق بين هذين الفصين بينما ترتبط الركائز البروتينية بالفص الكربوكسيلي. يتضمن الفص الأميني 5 شرائط متوازية من β-sheet (β1-β5) و مركب α-helix (αC) (الشكل 5B) بينما يتكون الفص الكربوكسيلي من شرائط حلزونية طويلة α-helix تمتد على عرض نواة المركب (الشكل 5C). تمتاز العروة المتشكلة بين الشريطين β1 و β2 من الفص الأميني بأنها غنية بالغلايسن وتعرف بالعروة G أو العروة P "P Loop" و التي تمتاز بأنها مرنة جدا و تتدلى فوق مركبتي الفوسفات بيتا و غاما من جزيء الـ ATP المرتبط [66].

يعتبرتفاعل الفوسفات غاما أيضا مع العروة التحفيزية "catalytic loop" من الفص الكربوكسيلي مهما في عملية التحفيز التي تزود الأساس التحفيزي Asp363 من الـ Abl بتفاعل نقل الفوسفوريل. يشكل الأدنين من جزيء الـ ATP المرتبط برابطتين هيدروجينيتين مع ذرتي السلسلة الأساسية من القسم الرابط بين الفصين " المفصلة" "the hinge" و تصلان بين الفصين الكربوكسيلي و الأميني. تسمى الثمالة المتوضعة خلف الجيب الارتباط بالـ ATP بـ "حارس البوابة" "Gatekeeper" وهي مهمة في تحديد ارتباط المثبط و نوعيته [68]. يمتلك الـ Abl ثريونين Thr315 بموضع حارس البوابة وتؤدي الطفرة التي تستبدله إلى Isoleucine إلى المقاومة على الـImatinib [69] .

تعتبر عروة التفعيل "activation loop" القسم الأكثر مرونة من الكيناز والتي تنشأ من الفص الكربوكسيلي و تلعب الدور الأساسي في تفعيل الكيناز [66]. تتوضع هذه العروة مركزيا و تتضمن عنصر DFG (Asp381-Phe382-Gly383) في النهاية الأمينية بينما يحتوي القسم الأوسط على تيروزين (Tyr393) تؤدي فسفرتها إلى تفعيل الكيناز [67]. في الشكل المفعل، تأخذ عروة التفعيل الشكل المفتوح أو الممتد حيث يتوجه الأسبارتات من عنصر الـ DFG داخلا نحو موقع الارتباط مع الـ ATP مجهزا لعمل شوارد المغنزيوم يدعى هذا التشكل بـ "DFG-in"، بينما تشكل النهاية الكربوكسيلية من العروة جزءا من المنصة المعدة للارتباط مع الركائز البروتينية [67]. ومن الجدير ذكره تشابه جميع الكينازات الفعالة بخاصية الشكل الممتد لعروة التفعيل [70].

في الكيناز الخامل Inactive Kinase تستطيع عروة التفعيل أن تتخذ عدة أشكال، ترتبط معظم مثبطات الـ Abl بالكيناز بشكله الخامل، يرتبط الدواء بالـ Abl بالحالة الخاملة حيث تنطوي عروة التفعيل داخلا باتجاه موقع ارتباط الـ ATP، يمنع القسم الأوسط من العروة المحتوي على Tyr393 ارتباط الركائز الببتيدية، بينما يدور الـ Asp381 من عنصر DGF بعيدا عن الموقع الفعال وبذلك يكون غير قادر على تسهيل عمل شوارد المغنزيوم. يدعى هذا التشكل بـ " DFG - out" لعروة التفعيل مفضيا إلى تموضع جيب النوعية " specificity pocket" خلف ثمالة "حارس البوابة" محدودا بعروة التفعيل من جهة و αC helix من الجهة الأخرى. يختلف حجم هذا الجيب حسب نوع الكيناز ومن هنا نشأت فكرة تطوير مثبطات نوعية لكل كيناز على حدة [70].

7ـ مثبطات التيروزين كيناز :

رغم أن الاكتشاف المذهل لـ Imatinib كمثبط نوعي لـ Bcr-Abl غير علاج الـ CML كلياً [71]، إلا أن التعنيد على الـ Imatinib الذي اكتشف لاحقا كنتيجة لحدوث طفرات في ميدان الكيناز بشكل أساسي قاد لمزيد من الأبحاث لتطويرمثبطات أخرى تتجاوز هذه الطفرات [72]. تم ترخيص كل من الـ Nilotinib والـ Dasatinib كمثبطات أقوى لالتيروزين كيناز لعلاج مرضى الـ CML المعندين على الـ Imatinib [73] [74]. تتشابه جميع مثبطات التيروزين كيناز بأنها مثبطات تنافسية مع الـ ATP حيث تمنع ارتباطه بالكيناز و بالتالي تمنع تفعيله.

7-1- Imatinib (STI-571):

يرتبط الـ Imatinib بين الفصين الأميني و الكربوكسيلي و يمتد على كامل عرض الكيناز(الشكل A 7) مشكلا 6 روابط هيدروجينية مع جزيء الـ Abl (الجدول 5) [67]. تتوضع حلقة الفينيل المركزية بشكل مقابل لثمالة حارس البوابة Thr315، بينما يشكل طرفي الجزيء " أقصى اليسار: المكون من البيريدين والبيرميدين" و " أقصى اليمين: المكون من البنزاميد و البيبرازين" زاوية 120 درجة تتناسب مع جيب الأدينين و جيب النوعية على التوالي، يرتبط الـ Imatinib بالكيناز الخامل حيث تكون عروة التفعيل مطوية باتجاه الموقع الفعال و يمنع جزؤها الأوسط ارتباط الركائز البيبتيدية. يأخذ عنصر الـDFG نمط DFG-out حيث يدور الـ Phe382 باتجاه موقع ارتباط الـ ATP بينما يتجه الـ Asp381 بعيدا عن الموقع الفعال [67]. تنطوي العروة P فوق حلقتي البيريدين و البيرميدين آخذة الشكل الملتوي "kinked conformation" المعاكس لشكلها المنبسط في الكيناز المفعل [67].

موضع الرابطة من جزيء الـimatinib	موضع الرابطة الموافق على الـ Abl
الجذر الأميني للبيريدين	أميد السلسلة الأساسية للـ Met318
المجموعة الأمينية للبيرميدين	هيدروكسيل السلسلة الجانبية للـ Thr315
الجذر الـ NH للأميد	كربونيل السلسلة الأساسية للـ Glu286
الجذر CO للأميد	أميد السلسلة الأساسية للـ Asp381
البيبرازين البروتوني	كربونيل الساسة الأساسية للـ Ile360
البيبرازين البروتوني	كربونيل الساسة الأساسية للـ His361

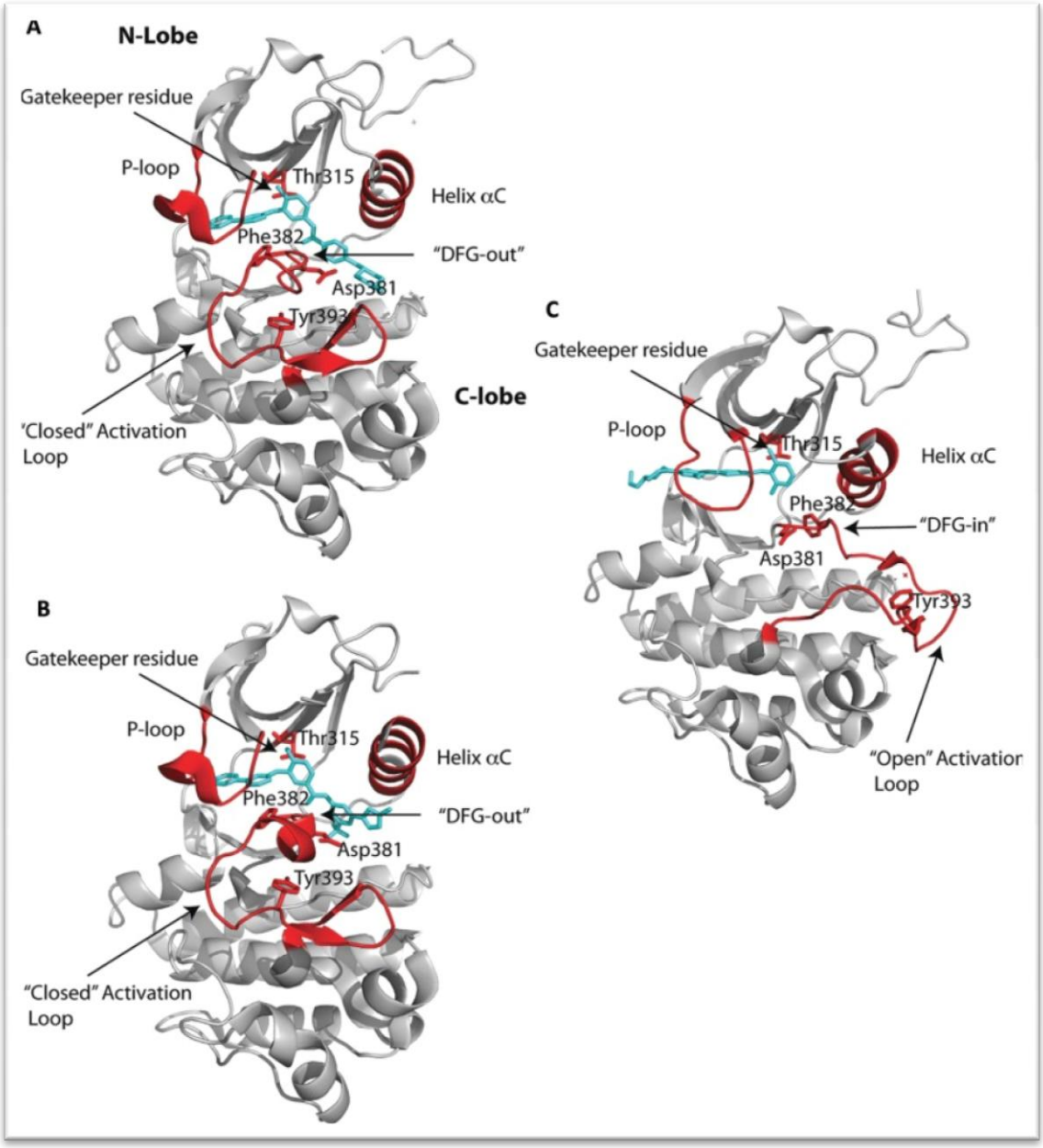
الجدول 5: مواقع الروابط الهيدروجينية بين جزيئي الـ Imatinib و Abl

7-2- Nilotinib (AMN107):

يمتلك الـ Nilotinib فعالية أقوى من Imatinib بأكثر من 20 ضعف على تثبيط الـBcr-Abl كما يبدي فعالية تجاه معظم طفرات التعنيد على الـ Imatinib [74] [75]. تم تطوير الـ Nilotinib من الـ Imatinib و ذلك بدمج مجموعات بديلة إلى N-methylpiperazine للارتباط بالـ Abl مع الحفاظ على العناصر التي تشكل روابط هيدروجينية مع الـ Glu286 و Asp381 [74].
كما في الـ Imatinib، يرتبط الـ Nilotinib بالشكل الخامل لـ Abl (الشكل B7)، كما أن معظم نقاط التفاعل بين Nilotinib-Abl تتشابه مع نقاط التفاعل مع الـ Imatinib إذ تفسر ألفة الارتباط الأعلى لـ Nilotinib مع Abl بنشوء روابط من نوع Van der waals كنتيجة لوجود بدائل trifluoromethyl و imidazole على حلقة الفينيل [74] [76].
على الرغم من التشابه الكبير بين الدوائين إلا أن الـ Nilotinib يبدي فعالية تجاه طفرات التعنيد على الـ Imatinib بمافيها طفرات L248V، G250E، Q252H، و F317L. كما أنه أقل حساسية تجاه طفرات الفص الكربوكسيلي . وهو غير فعال تجاه طفرة " حارس البوابة " T315I [70].

7-3. Dasatinib (BMS-354825):

يتميز الـ Dasatinib بأنه من مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني الأقوى فعالية من الـ Imatinib، ذلك لقدرته الارتباط بالشكل المفعل للـ Abl [73]، حيث تكون عروة التفعيل بالتشكل المفتوح المنبسط بينما يكون عنصر الـ DFG بالتشكل DFG-in و تتوجه الـ Asp381 نحو موقع ارتباط الـATP. يتميز الـ Dasatinib عن الـ Imatinib و Nilotinib بأنه لا ينتأ داخل جيب النوعية سامحا لعروة التفعيل أن تأخذ التشكل المنبسط (الشكل C 7)، بذلك يكون جيب الأدينين هو الموقع الوحيد لارتباط الـ Dasatinib [73]. يبدي الـ Dasatinib فعالية تجاه طفرات العروة P و طفرات عروة التفعيل [73].



الشكل 7: A- يوضح ارتباط الـ Imatinib مع الـ Abl، B- يوضح ارتباط الـ Nilotinib مع الـAbl، C- يوضح ارتباط الـ Dasatinib مع الـ Abl

4-7 طفرات ميدان الكيناز:

يمثل تطور طفرات على ميدان كيناز الـ BCR-ABL الآلية الأكثر شيوعا للتعنيد على العلاج بمثبطات التيروزين كيناز Tyrosin Kinase Inhibitors (TKI) لدى مرضى الـ CML [77]، حيث تم ضبطها لدى 40% إلى 90% من المرضى المعندين على الـ Imatinib [77] [72].

حتى الآن تم اكتشاف أكثر من 100 طفرة نقطية مختلفة تصيب مجال كيناز الـ BCR-ABL إما لدى مرضى CML معندين على الـ Imatinib [78] أو بإحداثها بالمختبر بالاعتماد على التطفير العشوائي للـ BCR-ABL [79] [80]. يتم عادة تموضع طفرات التعنيد على Imatinib في المواقع التالية (الجدول 4) :

- طفرات العروة P من مجال الكيناز (الثمالات من 244 إلى 255) و التي تعمل كموقع إرساء لأجزاء الفوسفات من الـ ATP، ربطت بعض الدراسات بين طفرات العروة P و الإنذار السريري الأسوء [81]، بينما لم تستطع دراسات أخرى إثبات هذه الملاحظة [77]. ومن الجدير بالذكر أن مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني (Dasatinib ،Nilotinib) فعالة تجاه طفرات العروة P [70].
- طفرات موقع الارتباط مع الـ ATP: أهمها طفرة T315I المسؤولة عن التعنيد على كل من الـ Imatinib، Nilotinib، و Dasatinib [70].
- طفرات عروة التفعيل من مجال الكيناز (الثمالات من 381 إلى 402) التي تمنع الكيناز من اكتساب الشكل الخامل الضروري لارتباط الـ Imatinib [70].
- طفرات المجال التحفيزي catalytic domain (الثمالات من 350 إلى 363) [70].

على الرغم من العدد الكبير من الطفرات النقطية المحتمل حدوثها في BCR-ABL، إلا أن معظم هذه الطفرات نادر الحدوث، حيث تشكل الطفرات التي تشمل ثمالات Gly250، Tyr253، Glu255، Thr315، Met351، و Phe359 حوالي 60% إلى 70% من جميع الطفرات [82].

- تفرض طفرة "حارس البوابة" T315I تحديا سريرا في علاج الـ CML باعتبارها غير حساسة على كل من Imatinib، Nilotinib و Dasatinib ، وتتواجد لدى 15% من مرضى الـ CML المعندين على الـ Imatinib[83]، إذ يعتبر الـ Ponatinib الدواء الوحيد المرخص من مجموعة مثبطات التيروزين كيناز الفعال تجاه هذه الطفرة [84].

Dasatinib (nM)	Nilotinib (nM)	Imatinib (nM)	نوع الطفرة	مكان الطفرة
0.8	13	260	**BCR-ABL الأصلي**	**مكان الطفرة**
1.3	38	2000	M244V	**العروة P**
1.8	48	1350	G250E	
3.4	70	1325	Q252H	
1.3	450	6400 <	Y253H	
1.4	125	3475	Y253F	
5.6	200	5200	E255K	
11	430	6400<	E255V	
18		540	V299L	
1.3	23	480	F311L	**موقع الارتباط بـ ATP**
200<	2000 <	6400 <	T315I	
125	61	971	T315A	
7.4	50	1050	F317L	
53	NA	350	F317V	
1.1	115	880	M35T	**المجال التحفيزي**
1.8		2300	E355G	
2.2	175	1825	F359V	
0.8	51	1630	V379I	
2	49	1000	L387M	**عروة التفعيل**
1.3	41	1750	H396R	
0.6	41	850	H396P	

حساسية ضعيفة حساسية متوسطة حساسية جيدة

الجدول (4) : فعالية الـ Imatinib ، Nilotinib، و Dasatinib تجاه مجموعة من طفرات الـ BCR-ABL لدى مرضى الـ CML (جميع التراكيز المبينة بـ نانومول/مل وتمثل قيمة IC50)

8- العلاج

حتى عام 1998 كانت الخيارات العلاجية المتوافرة لعلاج الـ CML في الطور المزمن محصورة بـ: Interferon alpha، Busulfan، Hydroxyuria، و زرع النقي الخيفي.
أحدث اكتشاف مثبط التيروزين كيناز الانتقائي في عام 1996 ثورة في علاج الـCML [(7)]، حيث بينت هذه الدراسة انخفاض بنسبة 92-98% في عدد مستعمرات الخلايا إيجابية ال-BCR ABL المنماة من دم أو نقي عظم مرضى الـ CML بدون أن تتأثر المستعمرات الطبيعية. تمت دراسة فعالية الـ Imatinib السريرية لأول مرة لدى مرضى الـ CML عام 2001 [(71)]

يمكن علاج الـ CML في الطور المزمن بإحدى الخيارين التاليين كخط أول:

1. مثبطات التيروزين كيناز.
2. زرع النقي الخيفي ALlogeneic hematopoietic cell transplantation

يعتبر زرع النقي الخيفي الخيار الشافي الوحيد المتوافر للـ CML، لكن بسبب نسبة الاختلاطات والوفيات الباكرة الأعلى مقارنة مع مثبطات التيروزين كيناز، و التي بدورها أبدت سيطرة طويلة الأمد مع تحمل جيد للدواء، فإنّ مثبطات التيروزين كيناز هي الخيار الأمثل للبدء بالعلاج، مع الاحتفاظ بزرع النقي كخط بديل في التعنيد على مثبطات التيروزين كيناز [85].

1-8 الفعالية السريرية لمثبطات التيروزين كيناز:

1-1-8 الـ Imatinib:

تم ترخيص الـ Imatinib، و هو الدواء الأول المكتشف من مجموعة مثبطات التيروزين كيناز، في الـ2001 بعد إثبات فعاليته في إحداث الاستجابة الدموية و الصبغية لدى مرضى الـ CML المعندين على الانترفيرون و السيتارابين [71].

إن الجرعة الموصى بها لعلاج مرضى الابيضاض النقوي المزمن في الطور المزمن هي 400 مغ يوميا، مع نسبة تحمل جيدة من قبل أغلب المرضى.

دراسة الـ IRIS (*International Randomized Study* of *Interferon* and STI57)

وهي دراسة عالمية معشاة تصالبية من الطور الثالث أجريت في عدة مراكز لمقارنة الـ Imatinib 400 مغ يوميا مع العلاج التشاركي للانترفيرون(5 مليون وحدة/م2 باليوم) مع السيتارابين (20 مغ/ م2 يوميا لمدة 10 أيام شهريا) لدى 1160 مريضا مشخصين حديثا بـ CML بالطور المزمن [86]، والتي أظهرت نتائجها الأولية تفوق الـ Imatinib على المجموعة الأخرى بعد 18 شهر من المتابعة في إحداث الاستجابة (الجدول 5):

- الاستجابة الدموية الكاملة: 97 مقابل 69%.
- الاستجابة الصبغية الكبرى: 87 مقابل 35% [87].
- الاستجابة الصبغية التامة: 76 مقابل 14%.
- الاستجابة الجزيئية الكبرى: 39 مقابل 2% [88].
- مدة البقيا بدون تطور المرض: 97 مقابل 92%.
- عدم تحمل الدواء: <1 مقابل 25%.
- نوعية حياة أفضل [89].

أظهرت متابعة مجموعة الـ Imatinib في دراسة الـIRIS لمدة 8 سنوات النتائج التالية[90] :

- المرضى المعالجين بالـ Imatinib كخط أول للطور المزمن أبدوا معدل بقيا كلية overall survival ومعدل بقيا دون حدث event-free survival بنسبة 89% و 83%، على التوالي.
- كان المعدل السنوي لتطور المرض إلى الطور المتسارع أو الطور الاروميي 0.6% في السنة الخامسة من العلاج، والذي كان أقل من النسب المسجلة في السنوات الأربعة الأولى من العلاج (1.5 ، 2.8، 1.6 و 0.9 %، على التوالي).
- المرضى الذين حققوا الاستجابة الصبغية التامة خلال اول 12 شهر من العلاج كان لديهم معدل بقيا كلية دون ترقي المرض overall survival without progression للطور المتسارع أو الأروميي أعلى مقارنة مع المرضى الذين لم يحققوا الاستجابة الصبغية الكبرى خلال أول 12 شهر من العلاج (97 مقابل 81 %).
- لم يتطور المرض إلى الطور المتسارع أو الأروميي على مدى 6 سنوات لدى أي من المرضى الذين حققوا استجابة جزيئية كبرى خلال أول 12 شهر من العلاج.

8-1-2 مراقبة المرضى و تقييم فعالية العلاج:

- **عند بدء التشخيص** [91]:

- قصة مرضية مع الفحص السريري و قياس حجم الطحال بالـ سم تحت الحافة الضلعية
- تعداد دم كامل، صيغة، خضاب، وصفيحات
- خزعة نقي عظم و رشافة: - تقييم مورفولوجي و تحديد نسبة الأروميات و الأسسات
  -تحليل صيغة صبغية Karyotype ، أو FISH.
  - تحليل تفاعل سلسلة البوليميراز الكمي QPCR.
  - من الممكن إجراء التنميط النسيجي في حال تقرر إجراء زرع نقي عظم.

يتم تقييم فعالية العلاج بتحديد الاستجابة الحاصلة، هناك ثلاثة أنواع للاستجابة: الاستجابة الدموية، الاستجابة الصبغية، و الاستجابة الجزيئية (الجدول 5):

الاستجابة الدموية الكاملة	- تعداد الكريات البيض < 10×10^9/ ل. - نسبة الأسسات < 5%. - عدم وجود خلايا نقوية، خليفات نقوية، أو أروميات نقوية بالدم المحيطي. - تعداد الصفيحات< 450×10^9/ ل. - الطحال غير مجسوس	
الاستجابة الصبغية	التامة CCgR	نسبة صبغي Ph 0%
	الجزئية PCgR	نسبة صبغي Ph 1-35%
	الصغيرة mCgR	نسبة صبغي Ph 36-65%
	الصغرى minCgR	نسبة صبغي Ph 66-95%
	المعدومة noCgR	نسبة صبغي Ph >95%

	الكبرى MCgR	نسبة صبغي CCgR Ph بالإضافة إلى PCgR
الاستجابة الجزيئية	التامة CMolR	انعدام نسخ الـ mRNA الخاصة بـBCR-ABL لدى تحريها في الدم بإجراء تحليل تفاعل سلسلة البوليمراز الكمي بالزمن الحقيقي أو الشبكي في مناسبتين متتاليتين مع الأخذ بعين الاعتبار أن تكون نوعية تحليل جيدة (حساسية > 10^4) .
	الكبرى MMolR	نسبة BCR-ABL إلى ABL (أو إحدى جينات الـ Housekeeping) ≥ 0.1% حسب المقياس العالمي

الجدول 5 : تعاريف أنواع الاستجابة

- **في الشهر الثالث من العلاج بالـ Imatnib 400 مغ كخط أول [91]:**

الهدف : الوصول إلى الاستجابة الدموية الكاملة المعرفة

- في حال تحققت الاستجابة الدموية الكاملة، يستمر المريض بتناول الـ Imatinib بنفس الجرعة 400 مغ يوميا
- في حال الفشل في الوصول إلى الاستجابة الدموية الكاملة: يجب التأكد من مطاوعة المريض ففي تناول الدواء كما يقضل التحري عن طفرات الـ BCR-ABL، قبل الانتقال إلى أدوية الخط الثاني من مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني.

- **في الشهر السادس من العلاج بـ Imatinib 400 مغ [91]:**

الهدف: الوصول إلى الاستجابة الصبغية كبرى المعرفة بـ نسبة صبغي فيلادلفيا أقل من 35% بواسطة تحليل الصيغة الصبغية أو الـ FISH.

- في حال تحققت الاستجابة الصبغية الكبرى، يتم الاستمرار بـ Imatinib بنفس الجرعة
- في حال تم الوصول إلى استجابة صبغية صغيرة، هناك خيارين: إما رفع جرعة الـ Imatinib إلى 800 مغ يوميا، أو الانتقال إلى الخط الثاني من مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني.
- في حال الفشل في الوصول إلى أية استجابة صبغية: يجب التأكد من مطاوعة المريض في تناول الدواء، بالإضافة إلى تحري طفرات الـBCR-ABL، قبل الانتقال إلى الخط الثاني من مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني.

- **في الشهر 12 من العلاج بـ Imatinib 400 مغ [91]:**

الهدف: الوصول إلى الاستجابة الصبغية التامة المعرفة بـسلبية صبغي فيلادلفيا.

- في حال تحققت الاستجابة الصبغية التامة يستمر المريض بتناول الـ Imatinib بنفس الجرعة
- في حال تم الحفاظ على الاستجابة الصبغية الجزئية، يمكن رفع جرعة الـ Imatinib إلى 800 يوميا، أو الانتقال إلى أدوية الخط الثاني من مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني.
- في حال تطور المرض، يجب التأكد من مطاوعة المريض في تناول الدواء، بالإضافة إلى تحري طفرات الـBCR-ABL، قبل الانتقال إلى الخط الثاني من مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني.

- **في الشهر 18من العلاج بـ Imatinib 400 [91]:**

الهدف: الوصول إلى الاستجابة الجزيئية الكبرى المعرفة بـ انخفاض نسبة نسخ الـ mRNA للـ BCR-ABL إلى أقل من 3 log.

- في حال الوصول إلى الاستجابة الجزيئية الكبرى يستمر المريض بـ Imatinib بنفس الجرعة.
- في حال لم تتحقق الاستجابة الجزيئية الكبرى، يجب الانتقال إلى أدوية الخط الثاني من مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني.

8-1-3- المقاومة على الـ Imatinib :

تحدث المقاومة لدى أكثر من ثلث مرضى الـ CML المعالجين بـ Imatinib بشكل أساسي نتيجة لتتطور طفرات في مجال كيناز Bcr-Abl، و بشكل عام يمكن تصنيف الآليات المتواسطة في عدم أو فشل الاستجابة على الـ Imatinib حسب مايلي [92]:

1. الطفرات الحاصلة على مجال الكيناز المذكورة سابقا Kinase domain في جزيء الـ Bcr-Abl والتي تمنع الـ Imatinib من الارتباط به.
2. التحول النسيلي clonal evolution.
3. تغير الخصائص الحراكية الدوائية للـ Imatinib.
4. تضخم مورثة الاندماج BCR-ABL (amplification of the BCR-ABL)
5. زيادة تعبيرية المورثة المسؤولة عن نقل الدواء overexpression of drug transporter genes.
6. زيادة تعبيرية كينازات التيروزين مثل عائلة كينازات الـ Src (Src family kinases) (SFKs).
7. الاضطرار إلى قطع العلاج أو تخفيض الجرعة بسبب الآثار السمية أوعدم التحمل.

تقسم المقاومة على الـ Imatinib إلى [93]:

مقاومة أولية Primary resistance : تحدث لدى 25% من المرضى المعالجين بـImatinib في الطور المزمن من المرض [93]، وتعرف بإحدى مايلي [94]:

- مقاومة دموية أولية لدى الفشل في الوصول إلى الاستجابة الدموية الكاملة بعد 3 أشهر من بدء العلاج.
- مقاومة صبغية أولية عند الفشل للوصول إلى إحدى النقاط التالية: أي استجابة صبغية في الـ 6 أشهر الأولى من العلاج، استجابة صبغية كبرى بعد 12 شهر من العلاج، أو استجابة صبغية تامة بعد 18 شهر من العلاج.

مقاومة ثانوية Secondary resistance : تحدث عندما يخسر المريض الاستجابة التي وصل إليها سابقا، تحدث لدى 8% من مرضى الـCML في الطور المزمن المعالجين بـ Imatinib بعد سنتين من العلاج [93].

عند حدوث المقاومة على الـ Imatinib يجب اتباع الخطوات التالية:

- استجواب المريض بشكل مفصل و التأكد من مطاوعته بتناول الدواء بالجرعة المطلوبة و عدم مشاركته مع الأدوية الثانية خصوصا العشبية التي تبين أنها تخفض من فعاليته [95]. يتوجب إجراء عيار الـ Imatinib بالدم عند الشك بمطاوعة المريض حيث تبين أنه يزداد احتمال تطور المرض لدى وجود عيار أقل من 1000 نغ/مل[96] .
- يجب إعادة تقييم المريض بشكل كامل بإجراء تعداد دم كامل، خزعة نقي عظم مع إجراء تحليل الصيغة الصبغية. بالإضافة إلى تحري طفرات الـ BCR-ABL، حيث أن بالاعتماد على نوع الطفرات الحاصلة يتقرر الخط العلاجي الأفضل.
- المرضى الذين يتطور المرض لديهم إلى المرحلة المتسارعة أو الأرومية رغم العلاج يجب ان يتم تدبيرهم بشكل مختلف عن المرضى الذين يتطور لديهم المرض لكن مع الحفاظ على الطور المزمن.

4-1-8 رفع جرعة الـ Imatinib:

أجريت عدة دراسات لتقييم فعالية رفع جرعة الـImatinib لدى مرضى الـ CML بعد فشل الجرعة الاعتيادية (400 مغ يوميا) [97] [98] [99] [100] [101] [102]، حيث تواجدت عدة أسباب للاعتقاد أن رفع جرعة الـ Imatinib قد تؤدي لتجاوز التعنيد الحاصل على الجرعة الاعتيادية:

1. وجود تراكيز أعلى من الـ Imatinib يتجاوز المقاومة الحاصلة إذا كانت زيادة تعبيرية الـ Bcr-Abl أو التضخيم الجيني لمورثة BCR-ABL هي الآلية المسؤولة عن هذه المقاومة [69] [103].
2. حقيقة أن بعض الطفرات حساسة على تراكيز أعلى من الـ Imatinib [104] [105].

3. التجارب السريرية في دراسات الطور الأول التي بينت التأثير الطردي بين الجرعة و الاستجابة [71].

يبين الجدول التالي الاستجابة المحققة لدى مرضى الـ CML في الدراسات وحيدة الذراع لرفع جرعة الـ Imatinbi المجراة في عدة بلدان:

الدراسة	الجرعة المعطاة	متوسط مدة متابعة المرضى	عدد المرضى	الاستجابة الصبغية التامة	الاستجابة الصبغية الكبرى	نسبة البقيا بدون تطور المرض
Jabbour 2009 (97)	IM800 IM 600	 61 شهر	**21 فشل دموي** 63 فشل صبغي	**%5** %52	%15 %68	%65 %36
Breccia 2010 (101)	IM800 IM600	36 شهر	74	%36.4	%63.5	%87
Koh 2010 (102)	IM800 IM600	12	71	%23.9	%39.4	
Rajappa 2010 (100)	IM800	18	90	%27.7	%39	%34

الجدول 6: الدراسات وحيدة الذراع المجراة لتقييم فعالية رفع جرعة الـ Imatinib

أما في دراسة START-R وهي دراسة مزدوجة الذراع مجراة للمقارنة بين الـ Dasatinib و رفع جرعة الـ Imatinib بعد فشل الجرعة الاعتيادية من الـ Imatinib لدى مرضى الـ CML في الطور المزمن مع متابعة المرضى لمدة سنتين على الأقل فقد بينت النتائج التالية [98] [99] :

START-R	عدد المرضى	الاستجابة الدموية الكاملة	الاستجابة الصبغية التامة	**الاستجابة الصبغية الكبرى**	الاستجابة الجزيئية الكبرى	الحفاظ على الاستجابة الصبغية الكبرى بعد 18 شهر
Dasatinib 70	101	%93	%44	**%53**	%29	%90
Imatinib 800	49	%82	%18	**%33**	%12	%74
P-value		0.034	0.0025	**0.017**	0.028	

الجدول 7: نتائج دراسة START-R

8-1-5- خيارات العلاج بعد فشل أو عدم تحمل الـ Imatinib:

الخيارات العلاجية المتاحة بعد الفشل على الـ Imatinib:

- الانتقال إلى مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني أو الثالث.
- زرع النقي الخيفي.

تعتبر مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني (Dasatinib، Nilotinib، Bousitinib) أو الثالث (Panotinib) حتى الآن خيار أفضل من زرع النقي الخيفي كخط ثاني في علاج الـ CML في الطور المزمن بعد فشل الـ Imatinib لأنها أبدت فعالية جيدة في الوصول غلى الاستجابة الصبغية التامة وبتأثيرات جانبية أقل مقارنة مع زرع النقي[106] .

ومن الجدير بالذكر أنه لا يوجد حتى الآن دراسات لمقارنة مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني فيما بينها لكنها تبدو بفعالية متقاربة حسب دراسات الطور الثاني المجراة على كل واحد منها على حدة.

يبقى انتقاء الدواء المناسب اعتمادا على حالة المريض و التأثيرات الجانبية إضافة للطفرات الموجودة على الـ BCR-ABL:

- يعتبر الـ Dasatinib خيارا أفضل لدى المرضى مع سوابق التهاب بنكرياس، ارتفاع بيليروبين، أو ارتفاع سكر الدم، بينما يكون الـ Nilotinib خيارأفضل لدى المرضى مع سوابق انصباب جنب أو انصباب تامور.
- يعتر الـ Dasatinib الحاجز الدموي الدماغي مما يجعله خيارا أفضل عند وجود إصابة دماغية.
- يجب تجنب كل من الـ Dasatinib والـ Nilotinib لدى المرضى مع تطاول QT باعتبار كلاهما يؤدي لتطاول QT، بينما لا يؤدي الـ Bosutinib لتطاول QT.

8-2- Nilotinib فعال في علاج مرضى الـ CML في الطور المزمن بعد فشل الـ Imatinib حسب الدراسات المجراة عالمياً

أجريت عدة دراسات لتقييم فعالية الـ Nilotinib لدى مرضى الـ CML المعندين على أو غير المتحملين لـ Imatinib. أبدى الـ Nilotinib فعالية في الوصول إلى الاستجابة الدموية الكاملة والاستجابة الصبغية التامة بنسبة 90% و 30-40 % على التوالي، تم إيقاف الـ Nilotinib لدى 15 % من المرضى تبعا للسمية الدوائية [91] .

الجرعة الموصى بها من قبل منظمة الأدوي قو الغذاء الأمريكية US Food and Drug Administration هي 400 مغ مرتين يوميا للمرضى المعندين على الـ imatinib و 300 مغ مرتين يوميا كخط اول في علاج الـ CMLفي الطور المزمن.

فيما يلي ملخص للدراسات المجراة على الـ Nilotinib:

- تم إجراء دراسة من الطور الثاني على 321 مريض في الطور المزمن معندين على أو غير محتملين لـ Imatinib [107] [108]. تلقى المرضى الـ Nilotinib 400 مغ مرتين

يوميا مع رفع الجرعة إلى 600 مغ مرتين يوميا في حال عدم الوصول إلى الاستجابة المطلوبة، والنتائج كانت كما يلي:

- تم الوصول إلى الاستجابة الصبغية الكبرى، الاستجابة الصبغية التامة، و الاستجابة الجزيئية الكبرى لدى 59، 40، و 28 % على التوالي.
- تضمنت السمية الدوائية الدموية من الدرجة الثالثة أو الرابعة (الجدول 8)، نقص الصفيحات (28%)، نقص العدلات (28%)،أما السمية الدوائية غير الدموية من الدرجة الثالثة أو الرابعة فتضمنت: ارتفاع الـ AST (1%)، ارتفاع الـ ALT (4%)، ارتفاع ليباز الدم (14%)، و ارتفاع بيليروبين الدم (9%). أما بالنسبة لكل من انصباب الجنب، انصباب التامور، و الوذمة الرئوية فكانت نسبة حدوثها بجميع الدرجات أقل من 1%.

التأثير الجانبي / الدرجة		الدرجة 1	الدرجة 2	الدرجة 3	الدرجة 4	الدرجة 5
فقر الدم	تركيز الخضاب مغ/ دل	<ح.ط.أ- 10	<10- 8	<8- 6.5	< 6.5	الوفاة
نقص البيض	تعداد البيض $10x^9$/ ل	<ح.ط.أ- 3	<3- 2	<2- 1	<1	الوفاة
نقص العدلات	تعداد العدلات $10x^9$/ ل	<ح.ط.أ- 1.5	<1.5-1	<1- 0.5	<0.5	الوفاة
نقص الصفيحات	تعداد الصفيحات $10x^9$/ ل	<ح.ط.أ- 75	<75- 50	<50- 25	<25	الوفاة

الجدول 8: تعريف السمية الدوائية الدموية حسب Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE)، ح.ط.أ: الحد الطبيعي الأدنى

- تم تقدير معدل البقيا الكلية و معدل البقيا دون ترقي المرض بعد سنتين من العلاج بـ 87 و64 % على التوالي [108]. وبعد أربع سنوات من المتابعة كانت النسب 78 و 57% على التوالي[109] . الحفاظ على الاستجابة بعد اربع سنوات كان 89% لدى المرضى الذين حققوا الاستجابة الصبغية التامة خلال 12 شهر من بدء العلاج.

- تم إجراء دراسة عالمية (دراسة ENACT: Expanding Nilotinib Access in clinical trials) شملت 1422 مريضاً في الطور المزمن معندين على (60%) أو غير محتملين لـ Imatinib، حيث عولجوا بالـ Nilotinib 400 مغ مرتين يوميا[110] . تحققت الاستجابة الصبغية الكبرى لدى 45% من المرضى (34% باستجابة تامة). قدر معدل البقيا دون تطور المرض في الشهر 18 بـ 80%.
أما السمية الدوائية من الدرجة الثالثة أو الرابعة فكانت كما يلي: نقص صفيحات (22%) ، نقص عدلات (14%).، ارتفاع ليباز(7%)، ارتفاع بيليروبين (4%).
أما التأثيرات الجانبية غير الدموية فكانت طفيفة وتضمنت: طفح، صداع، وهن، حكة، غثيان، وآلام عضلية.

دعمت هذه الدراسات استخدام الـ Nilotinib لدى مرضى الـCML في الطور المزمن و المعندين على الـ Imatinib .

- بالإضافة لذلك تبين أن البقيا لدى هؤلاء المرضى مرتبط بمدى الاستجابة المحققة حيث كان معدل البقيا بعد 48 شهراً 95، 82، و 73% لدى المرضى مع معدلات نسخ الـ BCR-ABL أقل أو يساوي 1%، 1-10%، أكثر من 10%، على التوالي [108].

- ترتبط فعالية الـ Niotinib أيضا بنوع الطفرات الحاصلة على BCR-ABL، حيث أبدى المرضى إيجابيو طفرات T315I، Y253H، و E255V/K مقاومة على العلاج بالـ Nilotinib [111] [112] [113].

- تم إجراء دراسة لتحري العوامل المنبئة المترافقة مع معدل بقيا دون ترقي المرض على 321 مريضا بمتوسط مدة متابعة 28 شهر [114]:

1. تحقق الـ MCgR خلال الإثني عشر شهر الأولى من العلاج.
2. تركيز خضاب قاعدي ≤ 12 مغ/دل.
3. نسبة الأساست القاعدية <4%.
4. تحري طفرات قاعدي سلبي.

القسم الثاني: الدراسة العملية

المقدمة :

رغم النجاح الباهر الذي حققه اكتشاف الـ Imatinib كمثبط نوعي للتيروزين كيناز للـ Abl في علاج مرضى الـ CML إلا أن المقاومة عليه فرضت تحديا جديدا قادت لمزيد من الأبحاث لتطوير مثبطات نوعية أخرى أقوى فعالية في إحداث الاستجابة المطلوبة، والتي سميت تباعا بمثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني(Dasatinib، Nilotinib، Bosutinib) والثالث (Ponatinib) والتي أثبتت الدراسات العالمية أنها أقوى فعالية من الـ Imatinib في إحداث كل من الاستجابة الصبغية و الجزيئية سواء لدى استخدامها كخط أول في العلاج أو بعد فشل الـ Imatinib لدى مرضى الـ CML في الطور المزمن. يعتبر الـ Nilotinib و هو دواء فموي من مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني ذو فعالية مثبطة لكيناز الـ Abl أقوى بحوالي 30 ضعف مقارنة مع الـ Imatinib.

أجريت عدة دراسات عالمية متعددة المراكز على لتقييم فعالية و سلامة الـ Nilotinib لدى مرضى الابيضاض النقوي المزمن في الطور المزمن بعد فشل أو عد تحمل الـ Imatinib، حيث أبدت النتائج الأولية من دراسة شملت 321 مريضاً بعد 6 أشهر من المتابعة فعالية الـ Nilotinib في إحداث الاستجابة الصبغية الكبرى لدى 45% من المرضى [107]. بينما بينت الدراسة المجراة لمتابعة نفس العينة لمدة 24 شهر أن الـ Niltinib فعال لإي إحداث الاستجابة الصبغية الكبرى لدى 59% من المرضى بعد فشل الـ Imatinib وفي إحداث الاستجابة الصبغية التامة والجزيئية الكبرى لدى 40%، 28 % على التوالي [108].

كما تم إجراء عدة دراسات لتحديد المعايير المنبئة بحدوث الاستجابة و المحافظة عليها [108]، و دراسات أخرى لتحري العوامل الإنذارية المترافقة مع ترقي المرض [114].

قمنا بإجراء هذه الدراسة باعتبار لا يوجد حتى الآن أي دراسة محلية لتقييم فعالية مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني لدى مرضى الـ CML بعد فش الـ Imatinib مع الأخذ بعين الاعتبار المعطيات المحلية لإمكانيات المتابعة المخبرية لدينا و التركيز على المعطيات السريرية في استقراء العوامل المنبئة بنجاح أو فشل العلاج.

أهداف البحث:

1. الهدف الأساسي:

تقييم فعالية الـ Nilotinib في إحداث الاستجابة الصبغية الكبرى لدى مرضى الابيضاض النقوي المزمن في الطور المزمن والمعندين على الـ Imatinib.

2. الأهداف الثانوية :

- تحديد نسب كل من الاستجابة الدموية الكاملة و الاستجابة الجزيئية التامة والكبرى ومقارنة نسب الاستجابة المحققة لدينا مع نتائج الدراسات العالمية المشابهة.
- تحديد العوامل المنبئة بإحداث كل من الاستجابة المطلوبة و استمرار هذه الاستجابة.
- تحديد العوامل المنبئة بترقي المرض خلال فترة المعالجة.
- تحديد نسب التأثيرات الجانبية الحاصلة خلال فترة العلاج بالـ Nilotinib.

المواد و الطرق:

تعاريف و مصطلحات :

- **الابيضاض النقوي المزمن CML** : أحد الأمراض النقوية التكاثرية والذي يتميز بتكاثر غير مضبوط للسلسلة النقوية بكافة مراحل التمايز [10]. يترافق الـ CML مع اندماج مورثتين: BCR (على الصبغي 22) و ABL1 (على الصبغي 9) مما يقود للمورثة المدمجة BCR-ABL1 والناجمة عن الإزفاء المتبادل t(9;22)(q34;q11) [2] [3] [4].
- **الطور المزمن:** والذي يتميز بارتفاع تعداد البيض (فوق 100 x 10^9/ل عادة) في الدم المحيطي (12) مع تواجد كافة عناصر السلسة النقوية ابتداء من الأرومات النقوية (والتي لا تتجاوز نسبتها عادة الـ 2%[13]) إلى الكريات العدلة الناضجة، إضافة لذلك يتميز الطور المزمن بوجود الضخامة الطحالية و ارتفاع تعداد الصفيحات [14].
- **الـ Imatinib: د**واء فموي، مثبط تيروزين كيناز من الجيل الأول يستخدم كخط أول لدى جميع مرضى الابيضاض النقوي المزمن، تعرف الجرعة الاعتيادية بـ 400 مغ يوميا و الجرعة العالية بـ 600 أو 800 مغ يومياً.
- **المقاومة على الـ Imatinib**: تعرف بالفشل في الوصول إلى الاستجابة المطلوبة أو خسارة الاستجابة المحققة سابقا، تقسم المقاومة على الـ Imatinib إلى مقاومة أولية و مقاومة ثانوية [93] [91].

نوع المقاومة		التعريف
أولية	أولية دموية	عدم تحقق الـ CHR بعد 3 أشهر من العلاج بـImatinib
	أولية صبغية	عدم تحقق أي مما يلي : - أية درجة من الاستجابة الصبغية خلال الـ6 أشهرالأولى من العلاج بـ Imatinib - الاستجابة الصبغية الكبرى MCgR خلال الـ 12 شهر الأولى من العلاج - الاستجابة الصبغية التامة CCgR خلال الـ18 شهرالأولى من العلاج
ثانوية		خسارة الاستجابة المحققة سابقا على الـ Imatinib في أي وقت

الجدول 1: أنواع المقاومة على الـImatinib

- **الـ Nilotinib**: دواء فموي من مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني و الذي أثبتت فعاليته في علاج مرضى الـ CML المعندين على الـ Imatinib حسب الدراسات العالمية المجراة في عدة مراكز.

- الاستجابة الدموية الكاملة (CHR) معرفة بـ [91]:

- تعداد الكريات البيض < 10×10^9/ ل.
- نسبة الأسسات < 5%.
- عدم وجود خلايا نقوية، خليفات نقوية، أو أورمات نقوية بالدم المحيطي.
- تعداد الصفيحات< 450×10^9/ ل.
- الطحال غير مجسوس

-الاستجابة الصبغية (CgR) معرفة بـ [91]:

- الاستجابة الصبغية التامة (CCgR): انعدام وجود صبغي فيلادلفيا في الخلايا المنقسمة
- الاستجابة الصبغية الجزئية (PCgR): تواجد صبغي فيلادلفيا بنسبة 1-35% من الخلايا المنقسمة
- الاستجابة الصبغية الكبرى (MCgR): الاستجابة الصبغية التامة بالإضافة إلى الجزئية.
- الاستجابة الصبغية الصغيرة (mCgR): تواجد صبغي فيلادلفيا بنسبة 36-65% من الخلايا المنقسمة.

- الاستجابة الصبغية الصغرى (minCgR): تواجد صبغي فيلادلفيا بنسبة 66-95% من الخلايا المنقسمة
- الاستجابة الصبغية المعدومة (noCgR): تواجد صبغي فيلادلفيا بنسبة > 96% من الخلايا المنقسمة.

-الاستجابة الجزيئية معرفة بـ [91]:

- الاستجابة الجزيئية التامة (CMolR): انعدام نسخ الـ mRNA الخاصة بـBCR-ABL لدى تحريها في الدم بإجراء تحليل تفاعل سلسلة البوليمراز الكمي بالزمن الحقيقي أو الشبكي في مناسبتين متتاليتين مع الأخذ بعين الاعتبار أن تكون نوعية تحليل جيدة (حساسية > 10^4) .
- الاستجابة الجزيئية الكبرى (MMolR): نسبة BCR-ABL إلى ABL (أو إحدى جينات الـ Housekeeping) ≤ 0.1% حسب المقياس العالمي.

الاستجابة: يختلف تعريفها حسب الأطوار الزمنية من مراحل متابعة المريض [91] (الجدول 2)

متابعة المريض	الاستجابة المثلى	الاستجابة المحذورة	فشل العلاج
الشهر الثالث	تحقق الـ CHR وعلى الأقل mCgR	عدم تحقق أية درجة من الاستجابة الصبغية	عدم تحقق الـ CHR
الشهر السادس	تحقق الـ PCgR على الأقل	تحقق الـ mCgR أو minCgR	عدم تحقق أي درجة من الاستجابة الصبغية
الشهر 12	تحقق الـCCgR	تحقق الـ PCgR	عدم الوصول إلى الـ PCgRعلى الأقل
الشهر 18	تحقق الـMMolR	أقل من MMolR	عدم الوصول إلىCCgR

الجدول 2: معايير الاستجابة مرضى الـ CML في الطور المزمن على مثبطات التيروزين كيناز.

- **ترقي المرض**: يعرف بأحد مايلي:
  1. تطور الـ CML من حالة الطور المزمن إلى حالة الطور المتسارع أو الأرومي

2. خسارة الاستجابة المحققة سابقاً: و هو خسارة الاستجابة الدموية الكاملة المحققة سابقاً، أو خسارة الاستجابة الصبغية المحققة سابقاً.
3. الوفاة أثناء تلقي العلاج لأي سبب كان.

- **السمية الدوائية** : وهي التأثيرات الجانبية الحاصلة بعد تناول الدواء دون سبب مفسر آخر، وتقسم إلى:
1. سمية دوائية دموية: تتضمن نقص البيض، نقص العدلات، فقر الدم، نقص الصفيحات، التثبيط النقوي الشامل
2. سمية دوائية غير دموية: تتضمن باقي التأثيرات الجانبية (تطاول QT، اعتلال عضلة قلبية، انصباب جنب، وهن، آلام الأطراف، وذمة، طفح،غثيان، إقياء، إسهال، إمساك، صداع، الاضطرابات الشاردية، اضطرابات الوظيفة الكلوية والكبدية).

نمط الدراسة : Single arm treatment, open label study دراسة سريرية مستقبليةغير معماة وحيدة الذراع .

مكان الدراسة : مشفى البيروني الجامعي

زمان الدراسة : المرضى الذين تلقوا الـ Nilotinib ابتداءً من1-6-2011 وحتى 30 -6-2012

معاييرالاشتمال :

☒ جميع مرضى الابيضاض النقوي المزمن في الطور المزمن إيجابيي صبغي فيلادلفيا المراجعين لمشفى البيروني الجامعي الذين أبدوا مقاومة على الـ Imatinib
☒ حالة عامة مقدرةبـ ≥2 بحسب مقياس ECOG.
☒ وظيفة قلبية وكبدية وكلوية طبيعية وعيار بوتاسيوم الدم على الحد الأدنى للطبيعي أو مصحح للطبيعي.

مع العلم أن المرضى المعندين على الـ Imatinib عولجوابجرعة 600-800 مغ لمدة 3 أشهر على الأقل .مع متابعة المريض لمدة 12 شهر (6 أشهر على الأقل)

معايير الاستبعاد:

☒ مرضى الابيضاض النقوي المزمن في الطور المتسارع أو طور التحول الأرومي،
☒ المرضى الذين لديهم تطاول QT
☒ نقص بوتاسيوم أو نقص مغنزيوم غير قابل للتصحيح.

خطة العمل:

تمت متابعة 37 مريضاً بالغاً من مرضى الـ CML في الطور المزمن من كلا الجنسين والذين وضعوا على ال Nilotinib بعد أن أبدو مقاومة على كل من الـ Imatinib الجرعة الاعتيادية (400 مغ/اليوم) والجرعة العالية(600 أو 800 مغ/ اليوم).

أعطي الـNilotinib بجرعة 400 مغ مرتين يومياً (اي بجرعة 800 مغ يومياً) لجميع المرضى ، مع تخفيف الجرعة أو إيقاف الدواء مؤقتا في حال تطور سمية دوائية وذلك حسب توصيات National Comprehensive Cancer Network:
(Practice Guidelines in Oncology: Chronic Myelogenous Leukemia Version 2) [115].

تم إخبار المرضى أن يصوموا لمدة ساعتين على الاقل قبل الجرعة و ساعة على الأقل بعد الجرعة .

تم تقييم المرضى حسب الخطة التالية :

اليوم 0 من الدراسة:

- تقييم سريري : تقييم الحالة العامة، الوزن، فحص سريري وتقييم وجود الضخامة الطحالية سريريا.
- إجراء تخطيط قلب كهربائي، إيكو قلب مع تحديد الوظيفة الانقباضية Ejection fraction.
- تقييم مخبري: تعداد عام وصيغة Complete blood count، لطاخة دم محيطية، التراكيز المصلية لكل من : السكر، الكرياتينين، البولة، الكالسيوم، الفوسفور، الصوديوم، البوتاسيوم، الأميلاز، ناقلات الأمين (GOT/GPT)، البيليروبين الكلي و المباشر.
- تقييم وراثي: بإجراء تحليل الصيغة الصبغية الاعتيادي Karyotype أو FISH في حال عدم إمكانية إجراء الـ Karyotype

تمت متابعة المرضى شهرياً:

- تقييم سريري: تقييم الحالة العامة، الوزن، فحص سريري مع تقييم وجود الضخامة الطحالية سريريا وتقييم السمية الدوائية الحاصلة مع تقدير درجتها حسب

National Cancer Institute Common Terminology Criteria For Adverse Events version 4.00

- تقييم مخبري: تعداد عام وصيغة Complete blood count (CBC)، لطاخة دم محيطية، التراكيز المصلية لكل من : السكر، الكرياتينين، البولة، الكالسيوم، الفوسفور، الصوديوم، البوتاسيوم، الأميلاز، ناقلات الأمين (GOT/GPT)، البيليروبين الكلي و المباشر

تمت متابعة المرضى في الشهر الثالث و السادس و التاسع و الثاني عشر بإجراء:

- تحديد الاستجابة الدموية بالاعتماد على فحص الضخامة الطحالية سريريا، CBC، واللطاخة المحيطية
- تحديد الاستجابة الصبغية الحاصلة بواسطة:

تحليل الصيغة الصبغية على عينة من النقي (Karyotype):

(الحاضنة :New Brunswick Galaxy 170R، مجهر Nickon Eclipse E600، كاميرا CCD-1300QB، Software Lucia)

أو التهجين المفلور في المكان (Fluorescent in Situ Hybridization) على النقي أو الدم المحيطي:

(الحاضنة :New Brunswick Galaxy 170R، مجهر Nickon Eclipse E600، كاميرا CCD-1300QB، التهجين Dccko hybridizer، Software Lucia)

- تم تحديد الاستجابة الجزيئية بواسطة تحليل تفاعل سلسلة البوليميراز الكمي لدى المرضى المحققين للاستجابة الصبغية التامة:

(الكيت: Lightcycler-t(9,22) Quantification Kit، الجهاز: LightCycler، الشركة الصانعة: Roche، الطريقة : Reverse transcription ثم Real-time PCR).

- تم جمع البيانات على نظام Excel ver.2007 ، تم حساب المتوسط الحسابي والانحراف المعياري للمتغيرات الكمية و حساب النسبة المئوية للمتغيرات الكيفية ومعالجة البيانات بنظام SPSS ver.18 وتم استخدام كاي مربع للمتغيرات الكيفية، و T test للمتغيرات الكمية.

- تم الحصول على الموافقة من جميع المرضى قبل الدخول في الدراسة والتأكيد على الالتزام بالتحاليل المطلوبة.

الموافقة المستنيرة :

عنوان البحث: دراسة فعالية ال Nilotinib عند مرضى الابيضاض النقوي المزمن إيجابيي صبغي فيلادلفيا في الطور المزمن والمعندين على Imatinib

قبل الموافقة على المشاركة في هذا البحث يرجى الاطلاع على مايلي:

- **تفسير الإجراءات: يهدف هذا البحث إلى دراسة فعالية دواء التاسيغنا على مرضى الابيضاض النقوي المزمن بعد فشل الإيماتينيب. سيجرى للمشاركين في البحث تحاليل مخبرية وتقييم سريري شهرياً، تخطيط قلب و بزل نقي كل 3 أشهر لتحليل اصيغة الصبغية.**
- **المخاطر: لا توجد مخاطر ناجمة عن المشاركة في البحث**
- **الانسحاب: المشاركة في هذه الدراسة طوعية مع إمكانية رفض المشاركة أوالانسحاب في أي مرحلة دون أن يترتب على ذلك أي نوع من العقوبات**
- **السرية : كل المعلومات التي ستستخدم في الدراسة ستبقى سرية و لن يضطلع عليها إلا القائمين على البحث**
- **الكلفة : لا يوجد أي تكاليف مادية مطلوبة من المشاركين ولا أية مكافآت مادية مقابلة للمشاركة**
- **الموافقة: بعد الإطلاع على ما سبق ، توقيعك أدناه إقرار بموافقتك على المشاركة بالبحث**

التاريخ	اسم المشارك	توقيع المشارك
.....	.....	.....

توقيع الباحث

.....

النتائج و المناقشة:

توصيف العينة:

حتى تاريخ البدء بالدراسة كان عدد مرضى الـ CML في الطور المزمن المراجعين لمشفى البيروني الجامعي و قيد العلاج على الـ Imatinib 346 مريضاً منهم 69 مريض على Imatinib بجرعة 600 أو 800 مغ يوميا.

تمت دراسة 37 مريض ابيضاض نقوي مزمن في الطور المزمن من المرضى المراجعين لمشفى البيروني الجامعي وهم جميع المرضى الذين كل أبدوا تعنيد على الـ Imatinib بالجرعة الاعتيادية، ثم الـ Imatinib بالجرعة العالية في الفترة من 1-6-2011 وحتى 30 - 6-2012، مع متابعة المرضى المشاركين لمدة 12 شهر. تمت دراسة توزع العينة وفقا للاستجابة السابقة على الـ Imatinib بالجرعة الاعتيادية و العالية، كما تمت دراسة توزع العينة وفقا للعلاجات السابقة، والتحاليل الدموية قبل البدء بالـ Nilotinib (الجدول 1) .

المتغيرات القاعدية للعينة المدروسة	
عدد المرضى	37
متوسط العمر (مجال)	39.9(70-19)
نسبة الذكور%	%51.4
متوسط مدة المرض سنوات(مجال)	%5.4 (13-1)
الضخامة الطحالية% القاعدية	%18.9
متوسط رقم الخضاب (مجال)	11.2 (14-8)
متوسط تعداد البيض (مجال)	23.1 (144-1.6)
متوسط تعداد الصفيحات (مجال)	384.2 (1347-54)
نسبة الاستجابة الصبغية التامة على Imatinib400مغ	%43.2
نسبة العلاجات السابقة	
الانترفيرون	%40.5
الهيدروكسي يوريا	%89.2
السيتارابين	%13.5
بوسولفان	%2.7
نسبة المقاومة الأولية على الـ Imatinib بالجرعة العالية	%83.8
نسبة الشذوذات الصبغية الأخرى	%10.8

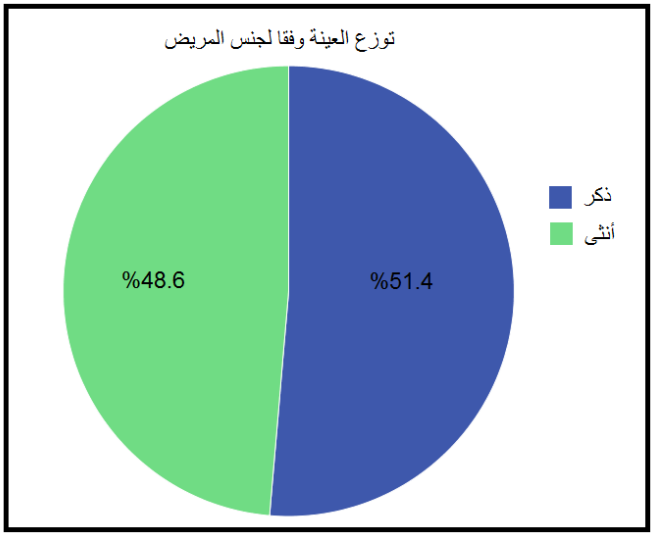
الجدول رقم 3: خصائص العينة المدروسه

توزع العينة وفقا للجنس:

من 37 مريضا كان عدد المرضى الذكور 19مريضاً (51.4%) و عدد المرضى الإناث 18 مريضة (49.6%).

جنس المريض	العدد	النسبة المئوية
ذكر	19	%51.4
أنثى	18	%49.6

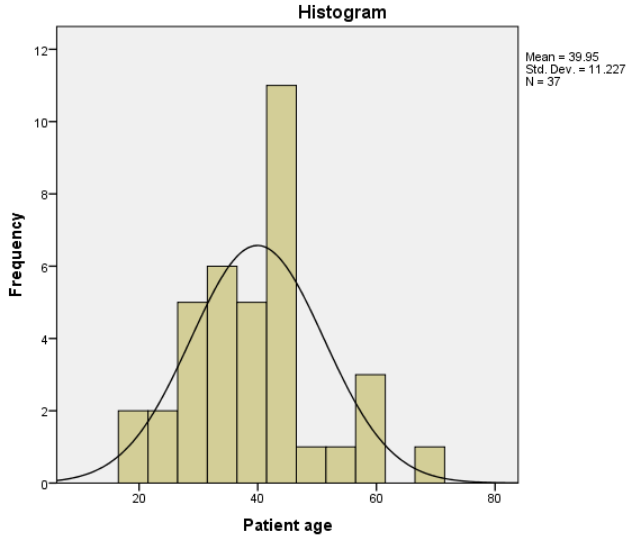
الجدول 4: توزع العينة وفقا للجنس



مخطط 1: توزع العينة وفقا لجنس المريض.

توزع العينة وفقا لعمر المريض:

كان متوسط أعمار المرضى الداخلين في الدراسة 39.9 سنة (19سنة-70 سنة) مع انحراف معياري 11.227 سنة



مخطط 2: توزع العينة وفقا للعمر

توزع العينة وفقاً لمدة المرض الإجمالية

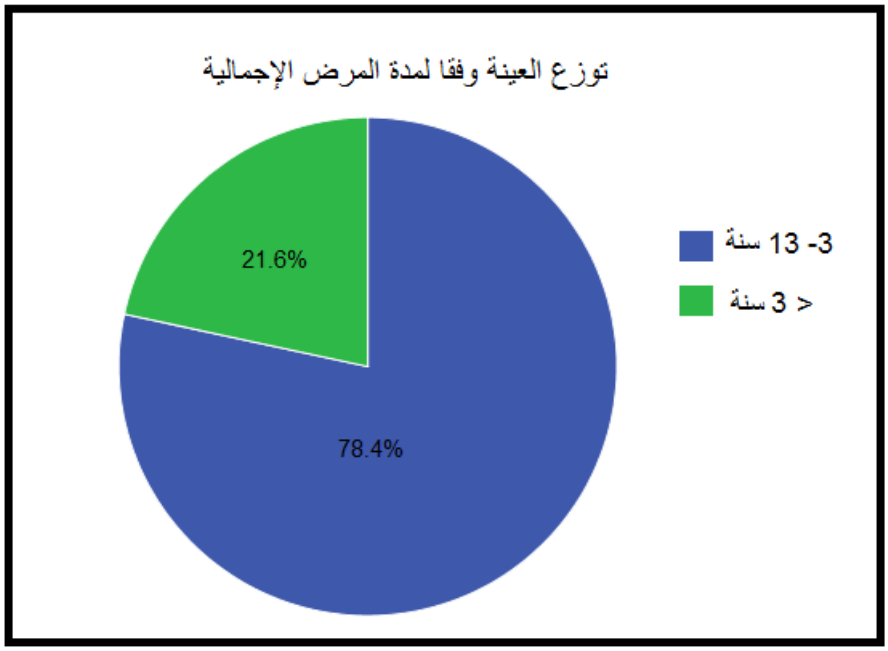
كان متوسط مدة المرض لدى العينة 5.41 سنة، 78.4% من المرضى كانت مدة المرض لديهم تساوي أو أكثر من 3 سنوات

	المتوسط	المجال	الانحراف المعياري
مدة المرض (سنة)	5.41	13 -1	3.068

جدول 5: خصائص متغير مدة المرض

مدة المرض (سنة)	عدد المرضى	النسبة المئوية %
≤3 سنوات	29	78.4
3 >سنوات	8	21.6

جدول 6: توزع المرضى حسب مدة المرض بالسنوات.



مخطط 3: توزع العينة حسب مدة المرض الإجمالية

توزع العينة وفقا للاستجابة على الـ Imatinib 400 مغ:

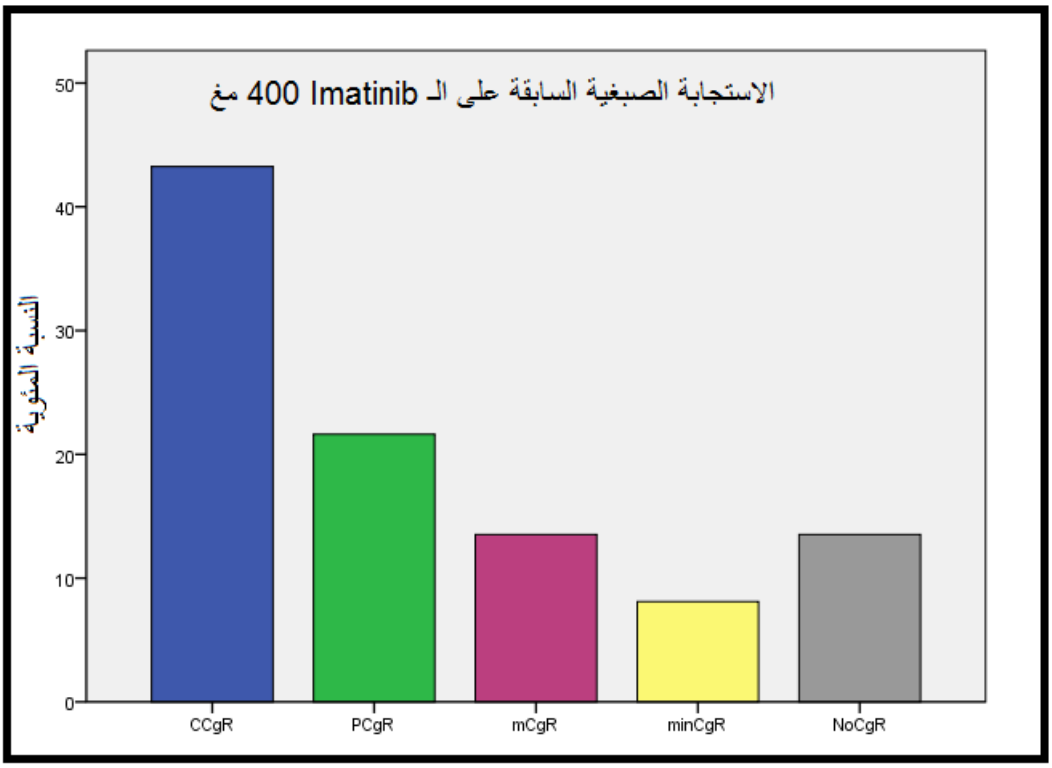
كان متوسط فترة العلاج بالـ Imatinib 400مغ 23.3 شهر، حقق 43.2% من المرضى الاستجابة الصبغية التامة على الـ Imatinib 400 مغ ، و وصل 64.8% للاستجابة الصبغية الكبرى. وصل 8% منهم للاستجابة الجزيئية التامة، بينما أبدى 35.1% منهم مقاومة أولية على الـ Imatinib 400.

مدة العلاج بالـ Imatinib 400 مغ (شهر)	المتوسط	المجال	الانحراف المعياري
	23.35	84 -3	20.834

الجدول 7: خصائص مدة العلاج بـ Imatinib 400

الاستجابة على الـ Imatinib 400 مغ	عدد المرضى	النسبة المئوية
استجابة صبغية تامة	16	43.2
استجابة صبغية جزئية	8	21.6
استجابة صبغية صغيرة	5	13.5
استجابة صبغية صغرى	3	8.1
عدم استجابة	5	13.5

الجدول 8: توزع المرضى وفقا للاستجابة الصبغية السابقة على الـ Imatinib 400 مغ



مخطط 4: نسب الاستجابة الصبغية السابقة على الـ Imatinib 400 مغ

الاستجابة الجزيئية على الـ Imatinib 400 مغ	عدد المرضى	النسبة المئوية
تامة	3	8.1
كبرى	9	24.3
غير محددة	25	67.6

الجدول 10: توزع المرضى وفقا للاستجابة الجزيئية على Imatinib 400 مغ

المقاومة على الـ Imatinib 400 مغ	عدد المرضى	النسبة المئوية
أولية	13	35.1
ثانوية	24	64.9

الجدول 11: توزع المرضى وفقا لنوع المقاومة على الـImatinib 400

توزع العينة وفقا للاستجابة السابقة على الـ Imatinib بالجرعة العالية

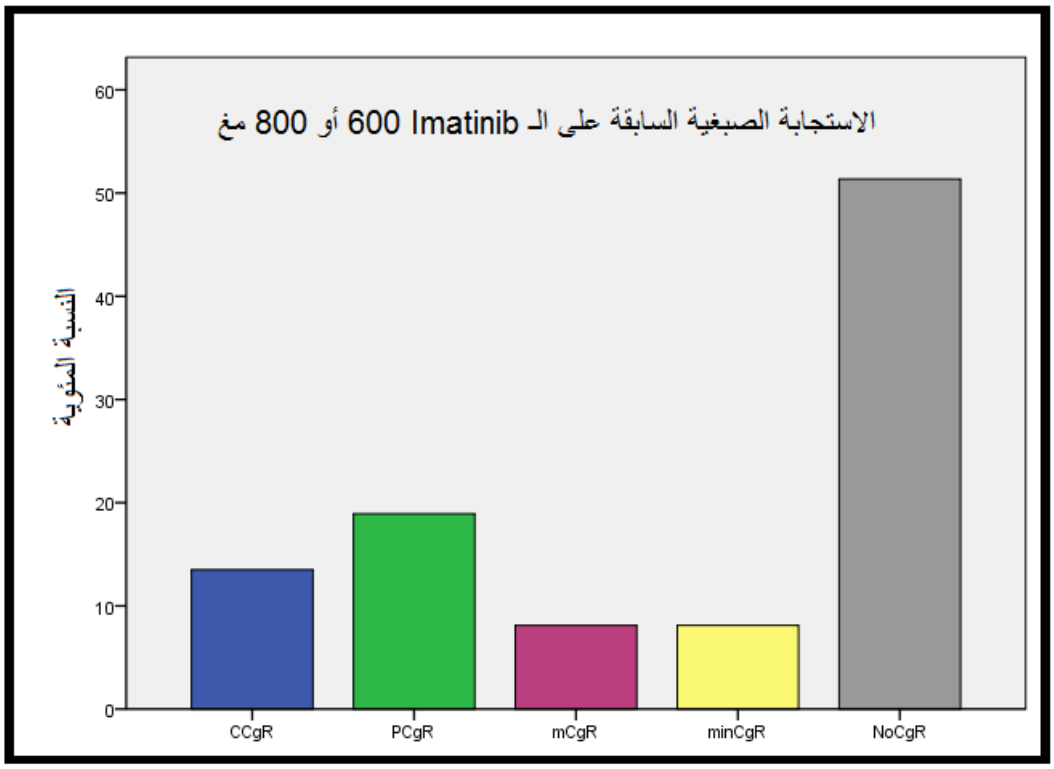
كان متوسط العلاج بـ Imatinib 800 10.37 أشهر،13.5% فقط وصلوا إلى الاستجابة الصبغية التامة، لم يصل أيٌّ منهم إلى الاستجابة الجزيئية التامة.

مدة العلاج بالـ Imatinib بالجرعة العالية (شهر)	المتوسط	المجال	الانحراف المعياري
	10.37	72-3	11.43

الجدول 12: خصاشص مدة العلاج بـ Imatinib بالجرعة العالية

الاستجابة الصبغية على الـ Imatinib بالجرعة العالية	عدد المرضى	النسبة المئوية
استجابة صبغية تامة	5	13.5
استجابة صبغية جزئية	7	18.9
استجابة صبغية صغيرة	3	8.1
استجابة صبغية صغرى	3	8.1
عدم استجابة	19	51.4

الجدول 13: توزع المرضى وفقا للاستجابة السابقة على الـ Imatinib 800 مغ



مخطط 5: الاستجابة الصبغية السابقة على الـ Imatinib بالجرعة العالية

الاستجابة الجزيئية على الـ Imatinib بالجرعة العالية	عدد المرضى	النسبة المئوية
تامة	0	0
كبرى	3	8.1
غير محدد	34	91.9

الجدول 12 : توزع المرضى وفقا للاستجابة الجزيئية السابقة على الـ Imatinib بالجرعة العالية.

المقاومة على الـ Imatinib بالجرعة العالية	عدد المرضى	النسبة المئوية
أولية	31	83.8
ثانوية	6	16.2

الجدول14: توزع المرضى وفقا لنوع المقاومة على الـ Imatinib بالجرعة العالية.

توزع العينة حسب تلقيهم لعلاجات سابقة إضافة للـ Imatinib:

بالنسبة للعلاجات الأخرى فقد تلقى 40.5% من المرضى الـ Interferon سابقاً، بينما تلقى 89% الـ Hydroxyuria، و 18% الـ Cytarabine.

العلاجات السابقة عدا TKI		عدد المرضى	النسبة المئوية
الانترفيرون	نعم	15	40.5
	لا	22	59.5
الهيدروكسي يوريا	نعم	33	89.2
	لا	4	10.8
السيتارابين	نعم	5	13.5
	لا	32	68.5
البوسولفان	نعم	1	2.7
	لا	36	97.3

الجدول 15: توزع العينة حسب تلقي علاجات سابقة عدا مجموعة مثبطات التيروزين كيناز

توزع العينة حسب التحاليل الدموية :

كان متوسط تعداد الكريات البيض قبل البدء بالعلاج 23.1 $10x^9$/ل، متوسط تركيز الخضاب 11.2 مغ/دل، ومتوسط تعداد الصفيحات 384.2$10x^9$/ل. بينما كان متوسط نسبة إيجابية صبغي Ph 85.9% .

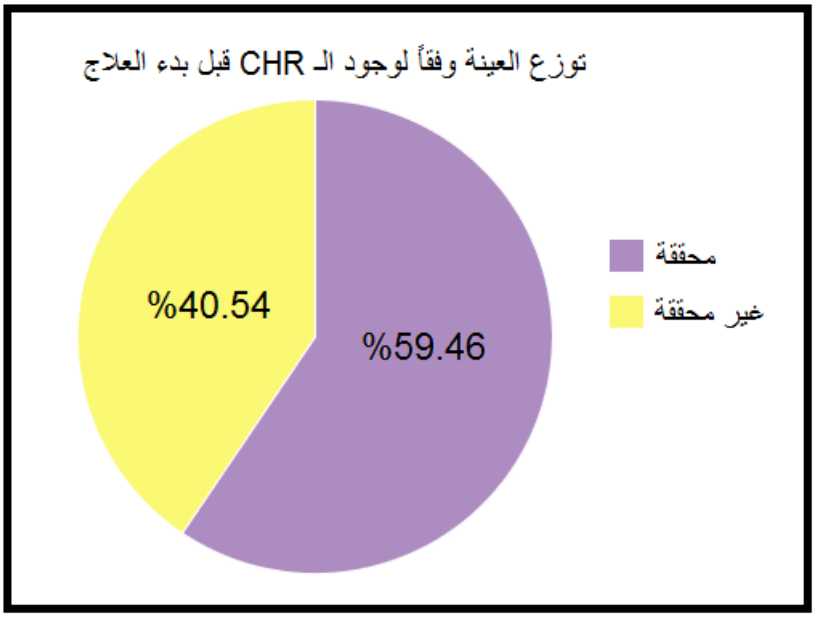
	المتوسط	المجال	الانحراف المعياري
تعداد الكريات البيض ($10x^9$/ل)	23.11	23.11 -1.6	31.04
تركيز الخضاب (مغ/دل)	11.21	11.2 -8	1.57
تعداد الصفيحات ($10x^9$/ل)	384.21	1347 -12	312.88
نسبة إيجابية Ph (%)	85.94	100 -4	19.99

الجدول 16: خصائص التقييم الدموي قبل العلاج

توزع المرضى حسب وجود الاستجابة الدموية التامه قبل البدء بالعلاج:

الاستجابة الدموية الكاملة قبل بدء العلاج بالـ Nilotinib	عدد المرضى	النسبة المئوية
محققة	22	59.5
غير محققة	15	40.5

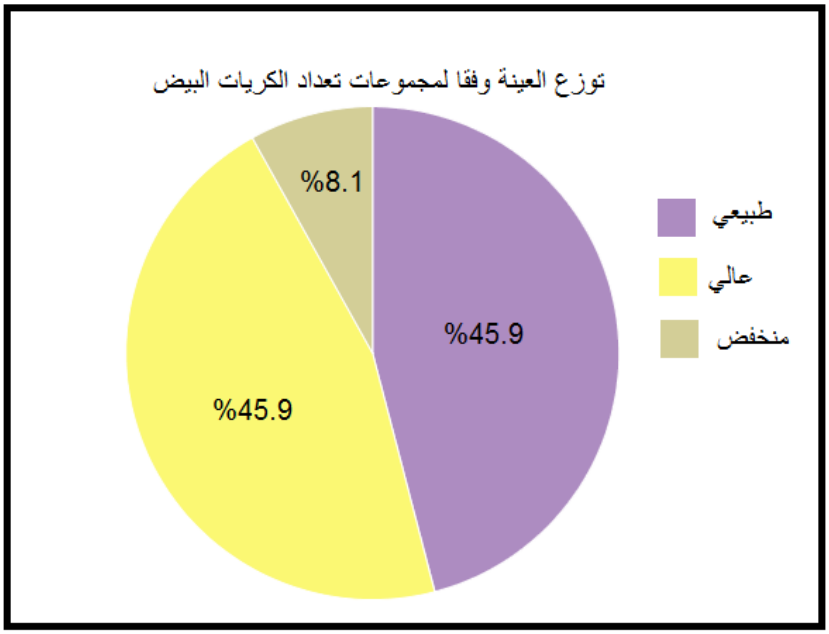
الجدول 17: توزع العينة حسب وجود الاستجابة الدموية الكاملة قبل البدء



مخطط 6: توزع العينة وفقا للاستجابة الدموية التامة قبل البدء بالـ Nilotinib

تعداد الكريات البيض 10^9 x /ل	عدد المرضى	النسبة المئوية	النسبة المئوية التراكمية
طبيعي (4-10)	17	45.9	45.9
عالي (10<)	17	45.9	91.9
منخفض(4>)	3	8.1	100

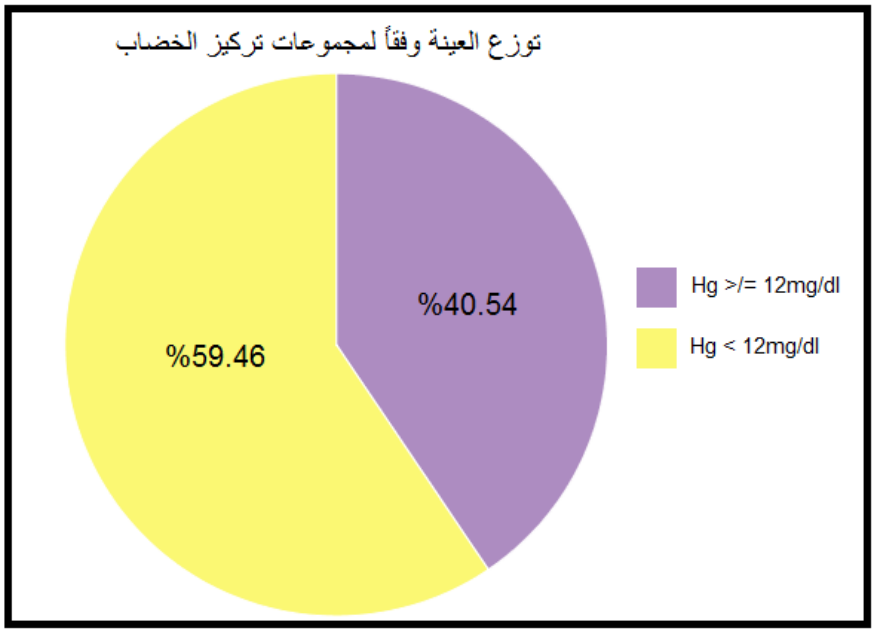
الجدول 18: توزع العينة وفقا لتعداد الكريات البيض



مخطط 7: توزع العينة وفقا لتعداد الكريات البيض قبل البدء

رقم الخضاب غ/دل	عدد المرضى	النسبة المئوية
أقل من 12	22	59.5
أكثرأو يساوي 12	15	40.5

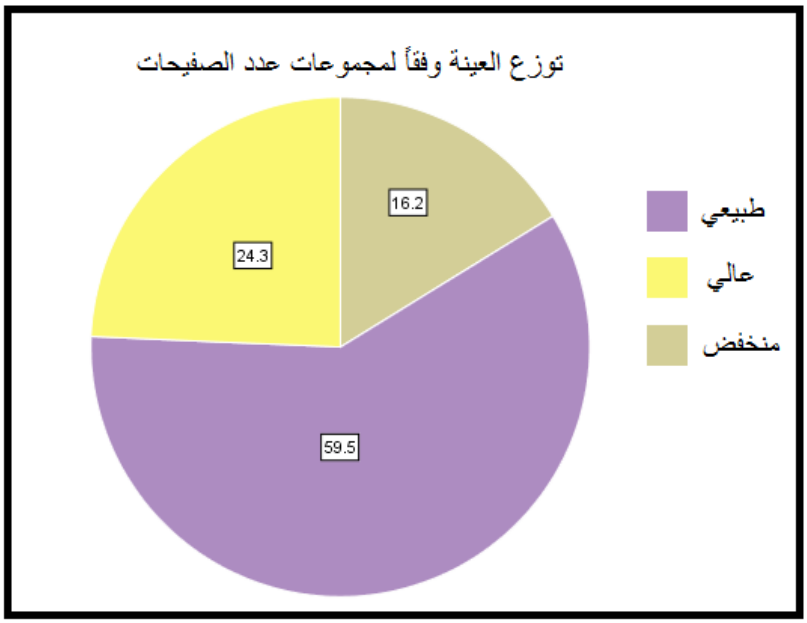
الجدول 19: توزع العينة وفقا لتركيز الخضاب قبل البدء



مخطط 8: توزع العينة وفقا لتركيز الخضاب قبل البدء

تعداد الصفيحات $10x^9$/ل	عدد المرضى	النسبة المئوية
أقل من 150	6	16.2
بين 150 و 450	22	59.9
أكثر من 450	9	24.3

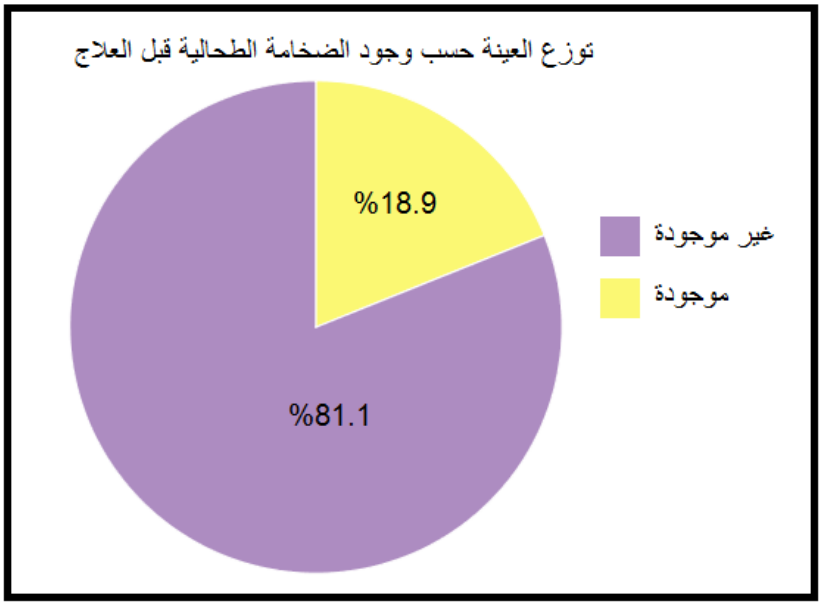
الجدول 20: توزع العينة وفقا لتعداد الصفيحات قبل البدء



مخطط 9: توزع العينو وفقا لمجموعات عدد الصفيحات

الضخامة الطحالية	عدد المرضى	النسبة المئوية
موجودة	7	18.9
غير موجودة	30	81.1

الجدول 21: توزع العينة وفقا لوجود الضخامة الطحالية



مخطط 10 : توزع العينة وفقا لوجود الضخامة الطحالية قبل البدء

توزع العينة وفقا لوجود الشذوذات الصبغية الأخرى:

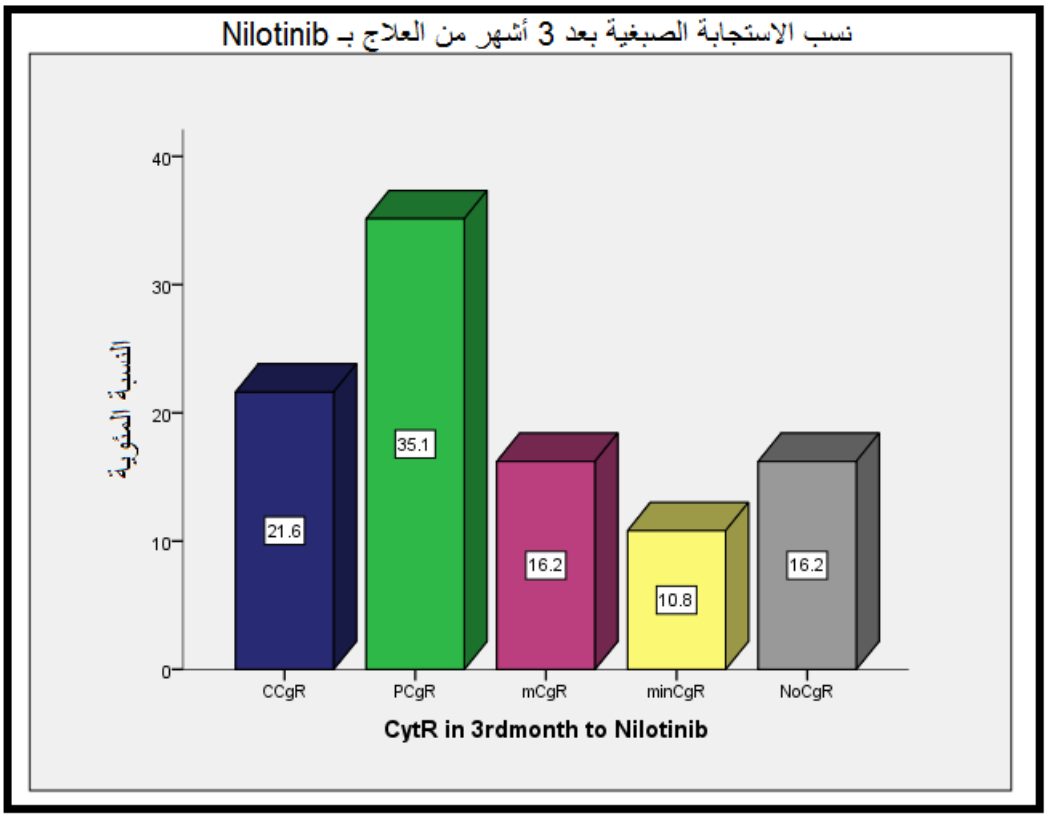
كان عدد المرضى الداخلين بالدراسة مع شذوذات صبغية قاعدية مرافقة لصبغي Ph 4 مرضى (10.8%)، 3 مرضى كان لديهم der 22+ و مريض واحد كان لديه der 9+.

مع نهاية الشهر الثالث من العلاج:

- تحققت الاستجابة الدموية الكاملة لدى 11 مريضا من الـ 15 (73.3%) الذين دخلوا الدراسة وهم بحالة عدم استجابة دموية.
- خسر مريض واحد من الـ 22 (95.4%) الاستجابة الدموية الكاملة في نهاية الشهر الثالث من العلاج.
- تحققت الاستجابة الصبغية التامة لدى 8 مرضى و الاستجابة الجزئية لدى 13 مريض مع نهاية الشهرالثالث من العلاج.

الاستجابة الصبغية مع نهاية الشهر الثالث من العلاج بـNilotinib	عدد المرضى	النسبة المئوية من العينة
استجابة تامة	8	21.6
استجابة جزئية	13	35.1
استجابة كبرى	21	56.7
استجابة صغيرة	6	16.3
استجابة صغرى	4	10.8
عدم استجابة	6	16.2

الجدول 22: نسب الاستجابة الصبغية بعد 3 أشهر من العلاج



مخطط 11: نسب الاستجابة الصبغية المحققة في نهاية الشهرالثالث من العلاج

- بالمحصلة فإن 86.1% من المرضى حققوا الاستجابة الدموية الكاملة، و56.7% حققوا الاستجابة الصبغية الكبرى مع نهاية الشهر الثالث من العلاج.

- استمر 32 (86.5%) مريضاً بالدراسة مع نهاية الشهر الثالث بينما خرج 5 مرضى (13.5%) مرضى بسبب عدم تحقق أو خسارة الاستجابة الدموية الكاملة.

تقييم فعالية العلاج بعد الشهر الثالث	عدد المرضى	النسبة المئوية من العينة
استجابة	32	86.5
عدم استجابة	4	10.8
خسارة الاستجابة	1	2.7

الجدول 23: تقييم فعالية العلاج بعد الشهر الثالث

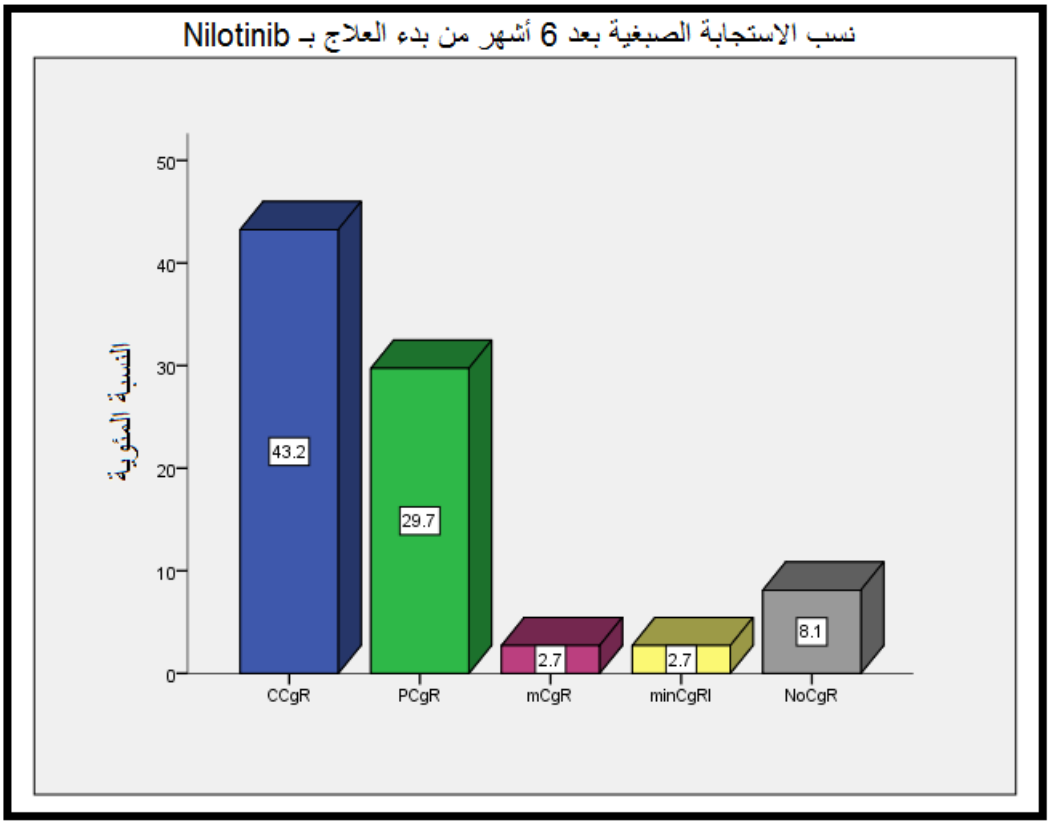
مع نهاية الشهر السادس من العلاج:

- كان عدد المرضى المتابعين 32 مريضاً.
- حافظ 30 مريضاً (81.1%) على الاستجابة الدموية الكاملة بينما خسرها اثنان منهم (كانو من المرضى الذين دخلو الدراسة بحالة عدم استجابة دموية)
- تحققت الاستجابة الصبغية التامة لدى 16 (43.2%) مريضاً والاستجابة الجزئية لدى 11 (29.7%)مريضاً.

- حافظ الـ 8 مرضى المحققون للـ CCgR في الشهر الثالث عليها، بينما وصل إليها 6(16.2%)، 2(5.4%)، مرضى من المرضى المحققين للـ PCgR، mCgR، في الشهر الثالث على التوالي.
- حافظ 7 (18.9%) مرضى من المرضى المحققين للـ PCgR عليها، بينما وصل إليها 2(5.4%)، 1(2.7%)، 1(2.7%) مرضى من المرضى المحققين للـ mCgR، minCgR، NoCgR في الشهر الثالث
- خسر مريض واحد (2.7%) الـ mCgR المحققة في الشهر الثالث.
- خسر مريض واحد (2.7%) الـ minCgR المحققة في الشهر الثالث.
- فشل مريضان (5.4%) من مرضى الـ NoCgR في الشهر الثالث في الوصول إلى أية استجابة بينما حقق مريض (2.7%) الـ mCgR.
- بالتالي كانت نسب الاستجابة الصبغية المحققة في الشهر السادس كما يلي(الجدول 22):

الاستجابة الصبغية مع نهاية الشهر السادس من العلاج بـ Nilotinib	عدد المرضى	النسبة المئوية من العينة
تامة	16	43.2
جزئية	11	29.7
كبرى	27	72.9
صغيرة	1	2.7
صغرى	1	2.7
عدم استجابة	3	8.1

الجدول 24: نسب الاستجابة الصبغية المحققة بعد 6 أشهر من العلاج



مخطط 12: نسب الاستجابة المحققة بعد 6 أشهر من العلاج

- بالمحصلة تحققت الاستجابة الصبغية الكبرى لدى 27 مريضاً (72.9%).
- تم تحري الاستجابة الجزيئية لدى 7 مرضى حيث حقق مريضان (5.4%) الـ CMolR و3 مرضى (8.1%) الـ MMolR.
- في نهاية الشهر السادس استمر 27 (72.9%) مريضاً بالدراسة بينما خرج 2 (5.4%) بسبب عدم الاستجابة، و 3 (8.1%) مرضى بسبب خسارة الاستجابة.

تقييم الاستجابة في نهاية الشهر السادس	عدد المرضى	النسبة المئوية من العينة
استجابة	27	72.9
عدم استجابة	2	5.4
خسارة الاستجابة	3	8.1
العدد الكلي	32	86.5

الجدول 25: تقييم الاستجابة بعد 6 أشهر من العلاج

في نهاية الشهر التاسع:

- كان عدد المرضى المتابعين 26 مريضاً (انقطع مريض واحد عن المتابعة)
- خسر مريضان (5.4%) من الـ 26 الاستجابة الدموية الكاملة بينما حافظ عليها 24 مريضا.

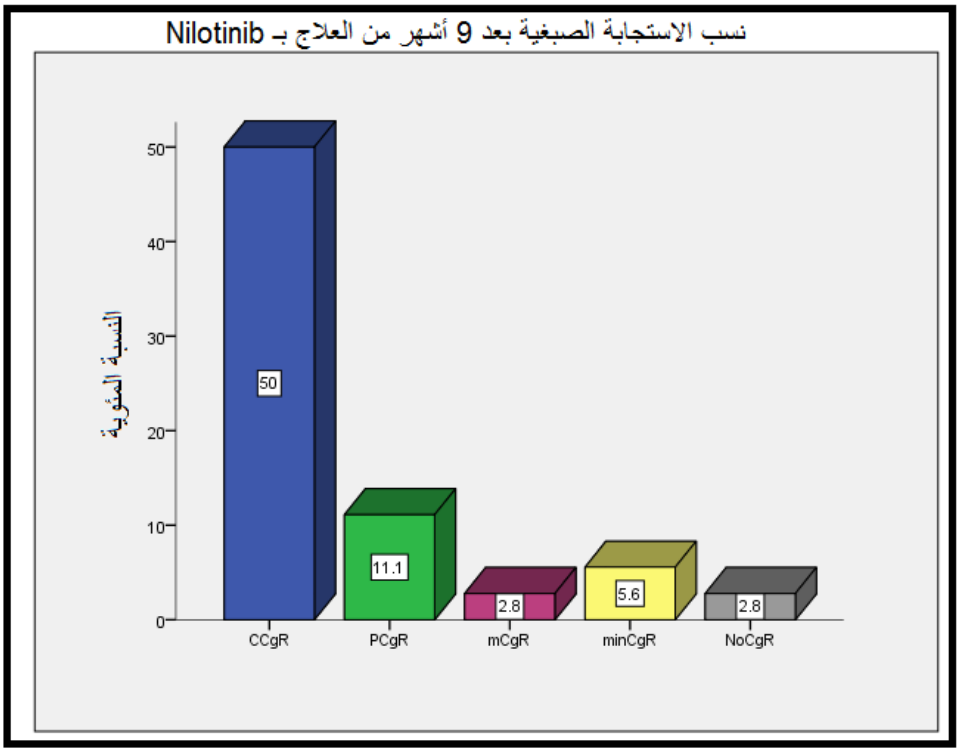
الاستجابة الدموية الكاملة في الشهر9	عدد المرضى	النسبة المئوية من العينة
محققة	24	66.7
غير محققة	2	5.4

الجدول 26: الاستجابة الدموية الكاملة بعد 3 أشهر من العلاج

- حافظ 13 (36.1%) مريضاً من المرضى المحققين للـCCgR في الشهر السادس عليها بينما خسرها 2 (5.6%، أحدهما خسرها إلى PCgR)، بينما وصل إليها 4 (11.1%)، و 1 (2.8%) مريضا من المرضى المحققين للـ PCgR، و mCgR في الشهر السادس على التوالي. انقطع مريض واحد من مرضى الـ CCgR في الشهر السادس عن المتابعة.
- حافظ 3 مرضى (9.4%) من المرضى المحققين للـ PCgR في الشهر السادس عليها، و خسرها 3 مرضى (9.4%) أيضاً، تراجعت الاستجابة لدى مريض واحد من CCgR في الشهر السادس إلى PCgR في الشهر التاسع "لم يتم إيقاف الدواء لدى هذا المريض واستمر به للشهر الثاني عشر".
- حافظ المريض المحقق للـ minCgR (2.8%) في الشهر السادس عليها.

الاستجابة الصبغية على الـ Nilotinib في الشهر9	عدد المرضى	النسبة المئوية من العينة
تامة	18	50
جزئية	4	11.1
كبرى	22	61.1
صغيرة	1	2.8
صغرى	2	5.6
عدم استجابة	1	2.8

الجدول 27: نسب الاستجابة الصبغية المحققة بعد 9 أشهر من العلاج



مخطط 13: نسب الاستجابة الصبغية المحققة بعد 9 أشهر من العلاج

تقييم العلاج في نهاية الشهر التاسع	عدد المرضى	النسبة المئوية
استجابة	22	61
خسارة الاستجابة	4	11.1
العدد الكلي	26	74.5

الجدول 28 : تقييم فعالية العلاج بعد 9 أشهر من العلاج

- بالمحصلة كانت نسبة الاستجابة الصبغية الكبرى المحققة في نهاية الشهر التاسع 61.1%.
- تم تحري الاستجابة الجزيئية لدى 8 مرضى من المرضى المحققين لـ CCgR، 6 منهم وصل لـ CMolR، و 2 وصلو إلى MMolR.

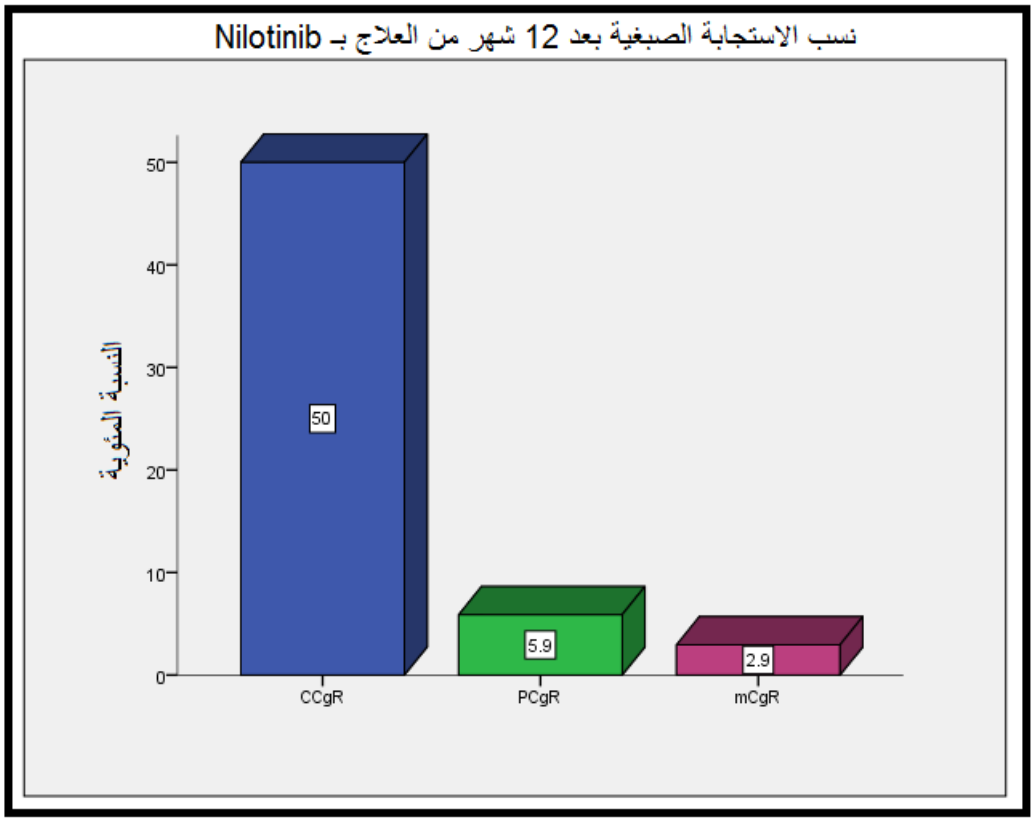
- خرج 4 مرضى (11.1%) بسبب خسارة الاستجابة بينما استمر 22 مريض في الدراسة (61.1%).

في نهاية الشهر الثاني عشر من العلاج:

- كان عدد المرضى المتابعين 20 (انقطع مريضان عن المتابعة كلاهما من مرضى الـ CCgR)
- لم يخسر أي مريض الاستجابة الدموية الكاملة في الشهر الثاني عشر.
- جميع المرضى الذين حققوا الـ CCgR في الشهر التاسع حافظو عليها للشهر الثاني عشر، بينما وصل إليها مريض واحد من المرضى المحققين للـ PCgR "وهو نفس المريض الذي تراجعت لديه الاستجابة من CCgR في الشهر السادس إلى PCgR في الشهر التاسع" .
- حافظ مريضان من المرضى المحققين للـ PCgR في الشهر التاسع عليها، بينما خسرها مريض واحد.

الاستجابة الصبغية على الـNilotinib في الشهر 12	عدد المرضى	النسبة المئوية
تامة	17	50
جزئية	2	5.9
كبرى	19	55.9
صغيرة	1	2.9
صغرى	0	0
عدم استجابة	0	0

الجدول 29: نسب الاستجابة الصبغية بعد 12 شهر من العلاج

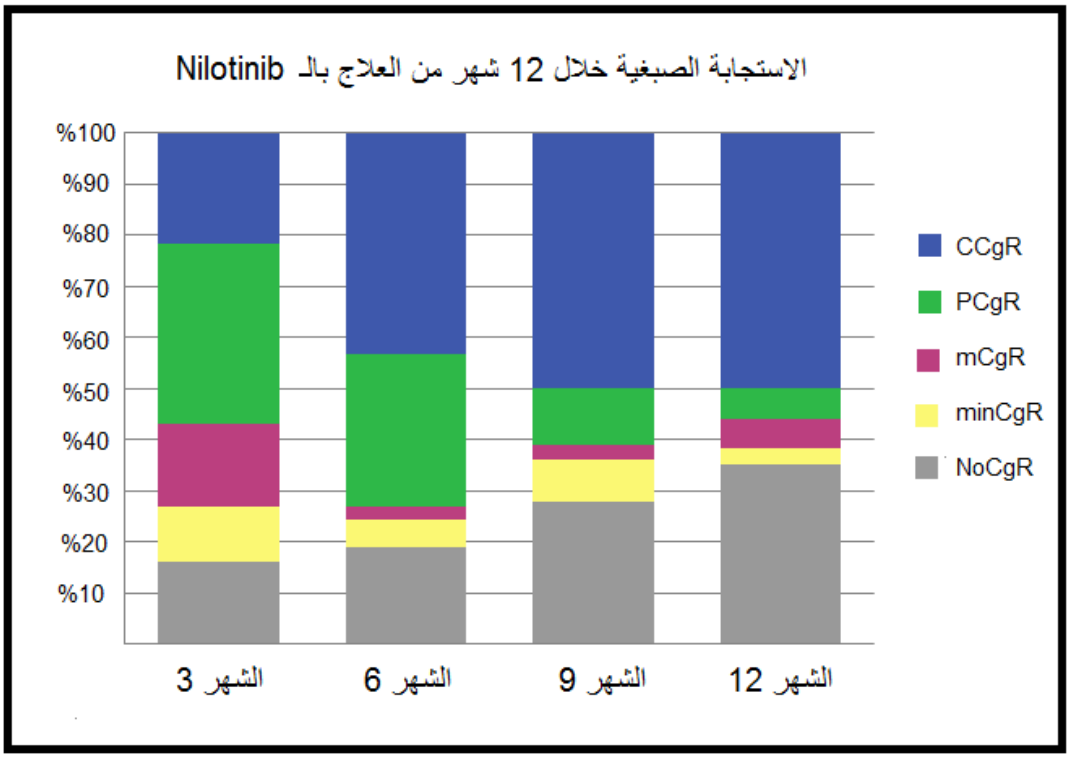


مخطط 14: نسب الاستجابة الصبغية بعد 12 شهر من العلاج

- بالمحصلة، كانت نسبة المرضى المستجيبين للعلاج بـ Nilotinib في نهاية الشهر الثاني عشر 55.9%.
- تم تحري الاستجابة الجزيئية لدى 9 مرضى من مرضى الـ CCgR، 7 منهم حقق الـ CMolR و 2 منهم حقق الـ MMolR.

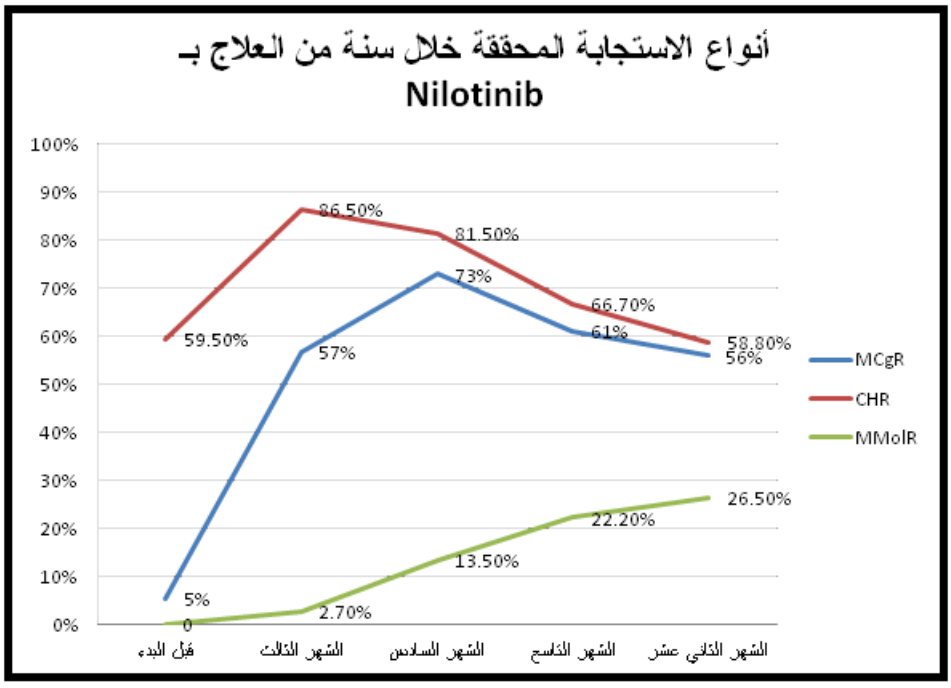
تقييم الاستجابة على الـ Nilotinib في الشهر 12	عدد المرضى	النسبة المئوية من العينة
استجابة	19	55.9
عدم استجابة	0	0
خسارة الاستجابة	1	2.9

الجدول 30: تقييم فعالية العلاج بعد 12 شهر من العلاج



مخطط 15: الاستجابة الصبغية المحققة خلال سنة من العلاج بـ Nilotinib

نلاحظ من المخطط 15 تزايد نسبة حدوث الاستجابة الصبغية الكبرى خلال سنة من المتابعة وع تزايد نسبة حدوث الاستجابة الصبغية التامة أيضا.



مخطط 16: أنواع الاستجابة المحققة خلال سنة من العلاج بـ Nilotinob

المقارنة مع نتائج الدراسات العالمية

تم إجراء دراسة من الطور الثاني على 321 مريض في الطور المزمن معندين على أو غير محتملين لـImatinib. تلقى المرضى الـ Nilotinib 400 مغ مرتين يوميا مع رفع الجرعة إلى 600 مغ مرتين يوميا في حال عدم الوصول إلى الاستجابة المطلوبة، والنتائج كانت كما يلي:

لدى متابعة المرضى لمدة 6 أشهر على الأقل (نشرت النتائج الأولية لدى 280 مريضاً) [107]، في الشهر السادس تحققت الاستجابة الدموية التامة، الاستجابة الصبغية الكبرى، الاستجابة الصبغية التامة عند 74%، 45%، 31% على التوالي بينما كانت في دراستنا 81.2%، 72.9%، 43.1%

أي أن معدلات تحقيق الاستجابة في دراستنا كانت أعلى بعد 6 أشهر من العلاج.

في الشهر 6	% CHR	% MCgR	% CCgR
دراستنا	81.2	72.9	43.1
دراسة Kantarjian et al 2007 [107]	74	45	31

الجدول 31 : المقارنة بين نتائج الدراسة المحلية و دراستنا

بعد 24 شهر من متابعة نفس المرضى تم الوصول إلى الاستجابة الصبغية الكبرى، الاستجابة الصبغية التامة، و الاستجابة الجزيئية الكبرى لدى 59%، 40%، و 28 % على التوالي [108].

بينما كانت النسب في دراستنا 55.9%، 50%، 26% على التوالي بعد 12 شهر من المتابعة.

العوامل المنبئة بحدوث الاستجابة الصبغية الكبرى:

تمت المقارنة بين مجموعات المرضى حسب التقييم المجرى قبل البدء بالدراسة و المبين بالجدول (29) بالاعتماد على تطبيق كاي مربع، حيث كانت MCgR الباكرة (في الشهر الثالث) أعلى لدى:

- مجموعة المرضى مع مدة المرض الإجمالية ≤ 3 سنوات مقارنة مع مجموعة >3 سنوات (P=0.041)
- مجموعة المرضى المحققين للـ MCgR على Imatinib بالجرعة العالية (P= 0.035).
- مجموعة المرضى مع مقاومة ثانوية على Imatinib بالجرعة العالية مقارنة مع المقاومة الأولية (P= 0.027).
- مجموعة المرضى مع تعداد الكريات البيض طبيعي (4-10 x910/ل) مقارنة مع التعداد المنخفض أو العالي (P=0.0001)

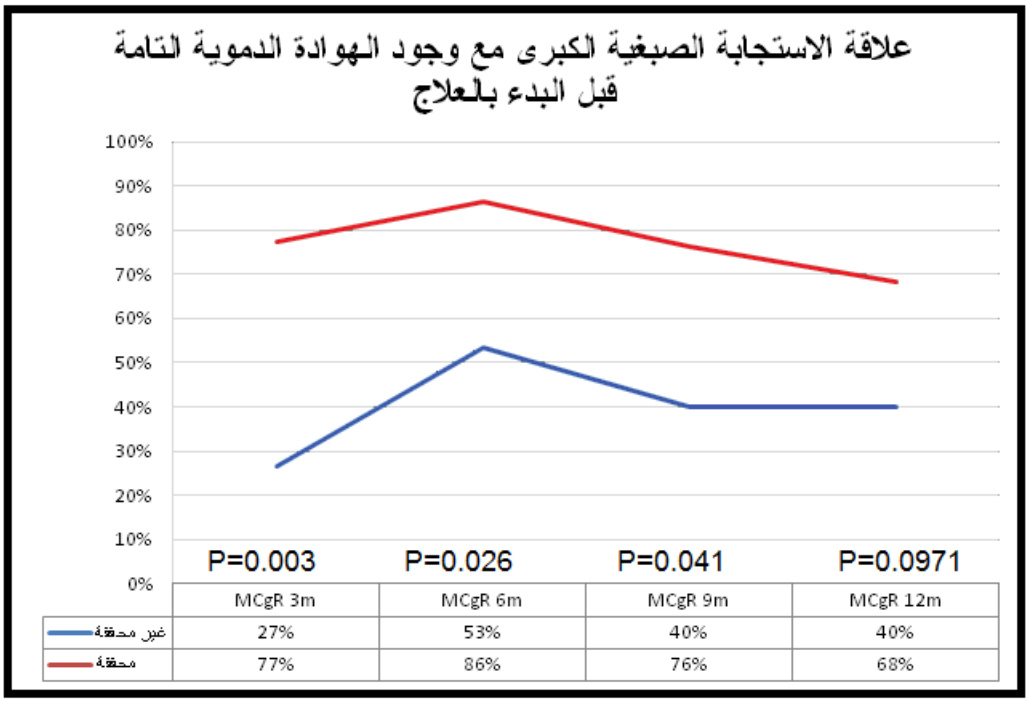
- مجموعة المرضى بدون ضخامة طحالية مقارنة مع المرضى مع ضخامة طحالية (P=0.027).
- مجموعة المرضى مع هوداة دموية تامة مقارنة مع المرضى بدون استجابة دموية تامة (P=0.003).

لم يكن لأي من العوامل السابقة تأثير مهم إحصائيا في الحفاظ على الاستجابة المحققة إلى 12 شهر.

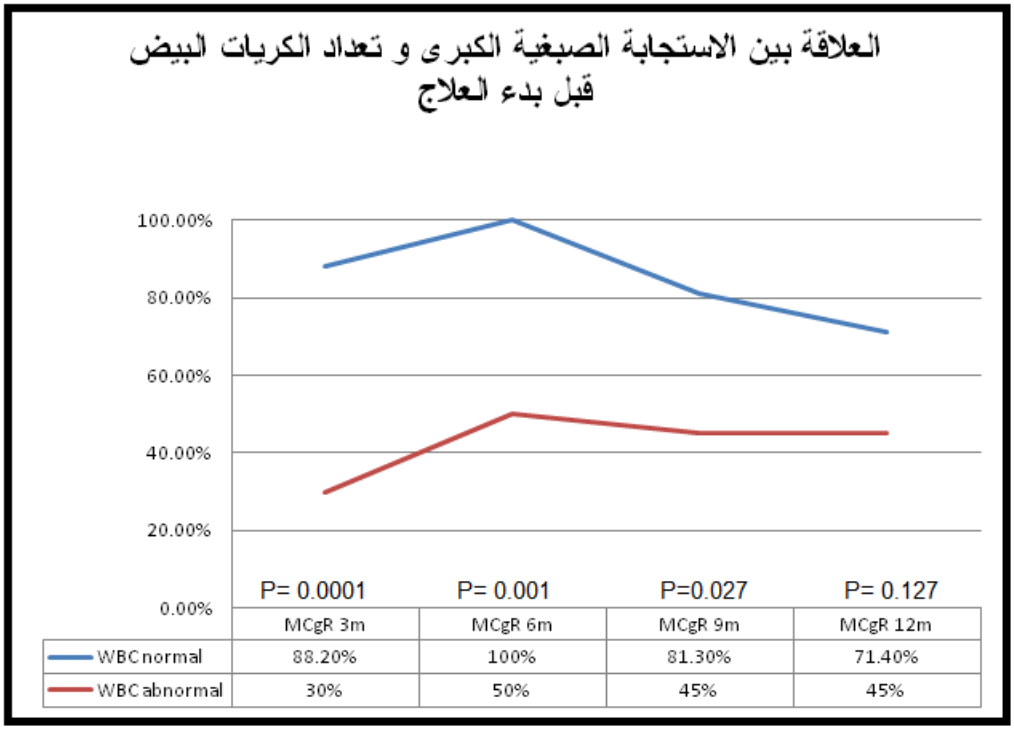
المتغير	الوصف	% من العينة	MCgR 3m %	P	MCgR6 m %	P	MCgR 9m %	P	MCgR 12m %	P
الجنس	**ذكر**	51.4	47.4	0.22	63.2	0.167	44.4	0.08	41.2	0.168
	أنثى	48.6	66.7		83.3		77.8		70.6	
مدة المرض (سنة)	**≤ 3**	**78.4**	**65.5**	**0.041**	**86.2**	**0.002**	**67.9**	**0.12**	**65.4**	**0.1**
	> 3	**21.6**	**34.5**		**25**		**37.5**		**25**	
MCgRعلى IM400 سابقاً	محققة	64.9	58.3	0.793	79.2	0.249	65.2	0.501	59.1	0.61
	غير محققة	35.1	53.8		61.5		53.8		50	
CCgR على IM400 سابقا	محققة	56.8	68.8	0.199	87.5	0.082	68.8	0.4	66.7	0.260
	غير محققة	43.2	47.6		61.9		55		47.4	
MCgRعلى IM 600/800 سابقا	محققة	**32.4**	**83.3**	**0.035**	**83.3**	**0.445**	**63.6**	**0.837**	**63.6**	**0.326**
	غير محققة	**67.6**	**44**		**60**		**60**		**52.2**	
CCgRعلى IM 600/800 سابقاً	محققة	**13.5**	**100**	**0.036**	**100**	**0.143**	**75**	**0.546**	**75**	**0.412**
	غير محققة	**86.5**	**50**		**68.8**		**59.4**		**53.3**	
MMolRعلى IM 400 سابقاً	محققة	32.4	66.7	0.491	83.3	0.445	66.7	0.727	63.6	0.715
	غير محققة	67.6	52		68		58.3		52.2	
MMolR على IM 600/800 سابقا	محققة	8.1	100	0.243	100	0.548	100	0.511	100	0.492
	غير محققة	91.9	52.9		70.6		58.8		53.1	
المقاومة على IM 400	أولية	35.1	53.8	0.791	61.5	0.249	58.3	0.809	54.5	0.914
	ثانوية	64.9	58.3		79.2		62.5		56.5	
المقاومة على IM 600/800	أولية	**83.8**	**48.4**	**0.027**	**67.7**	**0.103**	**58.1**	**0.350**	**51.4**	**0.240**
	ثانوية	**16.2**	**100**		**100**		**80**		**80**	
العلاج السابق بالانترفيرون	نعم	40.5	60	0.742	80	0.481	66.7	0.563	66.7	0.260
	لا	59.5	54.5		68.2		57.1		47.4	
العلاج السابق بالهيدروكسي يوريا	نعم	89.2	51.5	0.065	59.4	0.197	69.7	0.546	54.8	0.694
	لا	11.8	100		75		100		66.7	
العلاج السابق بالسيتارابين	نعم	13.5	60	0.875	60	0.482	60	0.956	55.2	0.841
	لا	86.5	56.3		75		61.3		60	
تعداد الكريات البيض قبل البدء بالـ nilotinib	طبيعي	**45.9**	**88.2**	**<0.0001**	**100**	**0.001**	**81.3**	**0.027**	**71.4**	**0.127**
	عالي أو منخفض	**54.1**	**30**		**50**		**45**		**45**	
عدد الصفيحات قبل البدء بالـ Nilotinib	طبيعي	59.5	59.1	0.729	81.8	0.142	71.4	0.133	65	0.201
	عالي أو منخفض	40.5	53.3		60		46.7		42.9	
تركيز الخضاب قبل البدء بالـ Nilotinib	طبيعي	40.5	60	0.793	76.9	0.690	53.8	0.503	53.8	0.610
	منخفض	59.5	54.5		70.8		65.2		57.1	
الضخامة الطحالية قبل البدء بالـ Nilotinib	موجودة	18.9	**28.6**	**0.045**	**42.9**	**0.046**	**28.6**	**0.049**	**28.6**	**0.102**
	غير موجودة	81.1	**63.3**		**80**		**69**		**63**	
الهوادة الدموية التامة قبل البدء بالـNilotinib	موجودة	**59.5**	**86.4**	**0.003**	**86.4**	**0.026**	**76.2**	**0.041**	**68.4**	**0.097**
	غير موجود	**40.5**	**53.3**		**53.3**		**40**		**40**	
الشذوذات الصبغية الأخرى	موجودة	10.8	100	0.118	100	0.318	75	0.643	66.7	1.000
	غير موجودة	89.2	51.5		69.7		59.4		54.8	

الجدول 32 : نسب الاستجابة الصبغية الكبرى حسب مجموعات العينة

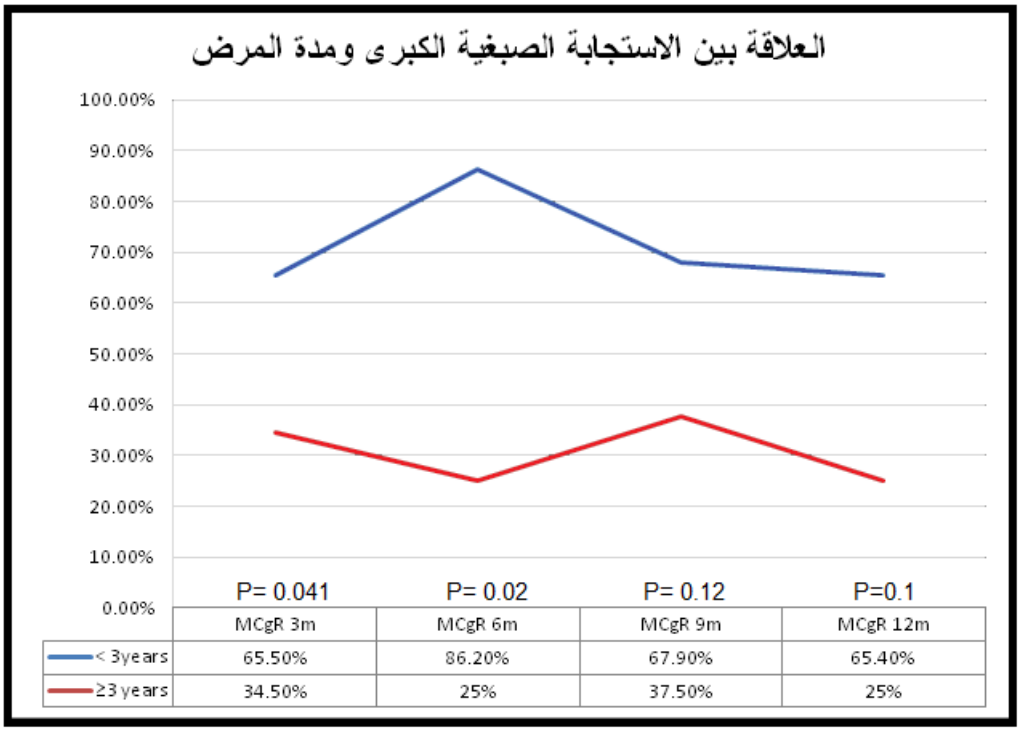
تم تحليل المعطيات السابقة باستخدام تطبيق Binary Logistic Regression لاستبعاد التأثير المتداخل لكل منها، ومنه تبين أن العوامل المنبئة بحدوث الاستجابة الصبغية الكبرى الباكرة هي فقط : تعداد كريات بيض طبيعي، الاستجابة الدموية الكاملة قبل البدء (P=0.003، P=0.005) على التوالي.



مخطط 17: علاقة الاستجابة الصبغية الكبرى مع الاستجابة الدموية قبل البدء



مخطط 18: علاقة الاستجابة الصبغية الكبرى مع التعداد البيض قبل البدء



مخطط 19: علاقة الاستجابة الصبغية الكبرى مع مدة المرض

دراسة الارتباط بين الاستجابة الصبغية الكبرى الباكرة (في الشهر الثالث) و الحفاظ على هذه الاستجابة للشهر الثاني عشر:

تمت دراسة الارتباط correlation بين نسب الاستجابة الصبغية الكبرى في الفترات الزمنية 3، 6، 9، 12 شهر (الجدول 30)، حيث تبين :

- هناك علاقة قوية بين حدوث الـ MCgR في الشهر الثالث و استمرارها للشهر السادس، التاسع، والثاني عشر بمعامل ارتباط 0.967، 0.663، و 0.586 على التوالي (P<0.0001)
- هناك علاقة قوية بين الـ MCgR في الشهر السادس و استمرارها للشهر التاسع و الثاني عشر بمعامل ارتباط 0.650، و 0.596 على التوالي (P<0.0001)
- هناك أيضا علاقة قوية بين الـ MCgR في الشهر التاسع و استمرارها للشهر الثاني عشر بمعامل ارتباط 0.942 (P<0.0001).

MCgR 12 mo	MCgR 9 mo	MCgR 6 mo	MCgR 3 mo	Spearman rho	
0.586	0.663	0.967	1	معامل الارتباط	MCgR 3 mo
0.000	0.000	0.000	-	الأهمية	
0.596	0.650	1	0.967	معامل الارتباط	MCgR 6 mo
0.000	0.000	-	0.000	الأهمية	

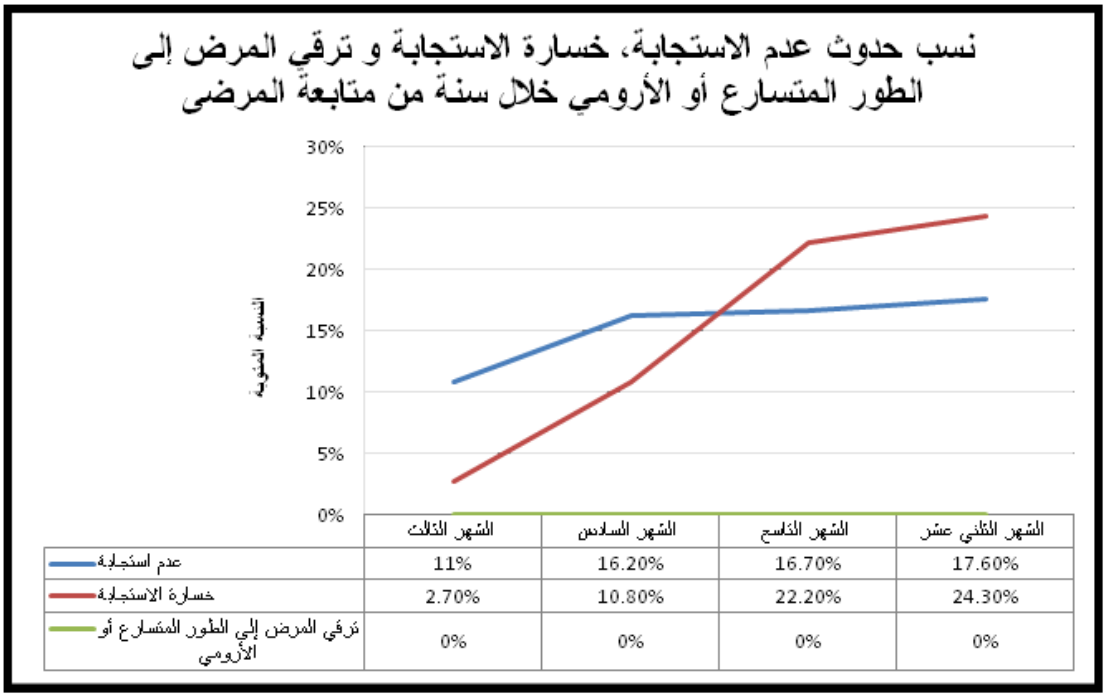
MCgR 9 mo	معامل الارتباط الأهمية	0.663 0.000	0.650 0.000	1 -	0.942 0.000
MCgR 12 mo	معامل الارتباط الأهمية	0.586 0.000	0.596 0.000	0.942 0.000	1 -

الجدول 33: الارتباط بين الاستجابة الصبغية الكبرى في الفترات 3، 6، 9، 12 شهر

نستنتج من الجدول السابق أن تحقق الـ MCgR الباكرة على الـ Nilotinib هو أهم عامل منبئ باستمرار هذه الاستجابة حتى الشهر الثاني عشر.

العوامل المؤثرة في ترقي المرض :

خلال سنة من متابعة العينة المدروسة تم إيقاف الـ Nilotinib لدى 6 مرضى (17.6%) بسب عدم تحقيق الاستجابة المطلوبة و 9 مرضى (26.5%) بسب خسارة الاستجابة الدموية أو الصبغية، حيث كان متوسط فترة العلاج لدى هاتين لمجموعتين 6.4 شهر مع انحراف معياري 2.9 شهر. لم يترق المرض إلى المرحلة المتسارعة أو الأرومية لدى أي مريض من العينة.



مخطط 20 : نسب فشل الاستجابة و خسارة الاستجابة خلال 12 ضهر من متابعة العينة

سبب إيقاف الدواء	عدد المرضى	النسبة المئوية
عدم الاستجابة الدموية	4	10.8
عدم الاستجابة الصبغية	5	13.5
خسارة الاستجابة الدموية	5	13.5
خسارة الاستجابة الصبغية	1	2.7

الجدول 34: سبب إيقاف الدواء خلال 12 شهر من متابعة العينة

تمت دراسة العومل المنبئة بحدوث ترقي المرض بواسطة تطبيق Cox Regression (الجدول32)، حيث كانت نسبة ترقي المرض أعلى لدى المرضى بوجود إحدى العوامل التالية : عدم وجود CHR قبل البدء، وجود الضخامة الطحالية قبل البدء، تعداد بيض <4 أو> 10 قبل البدء، أو مدة المرض أقل من 3 سنوات.

المتغيرات	الوصف	%	HR	P-value
الجنس	ذكر	51.4		
	أنثى	48.6	0.402	0.098
تركيز الخضاب مغ/دل	≤ 12	40.5		
	12 <	59.5	0.835	0.732
تعداد الصفيحات $10x^9$/ل	150- 450	59.5		
	150> أو >450	40.5	2.170	0.135
الضخامة الطحالية	موجودة	28.6		
	غير موجودة	63.3	3.288	0.023
تعداد الكريات البيض $10x^9$/ل	10-4	45.9		
	4> أو> 10	54.1	3.223	0.046
CHR	موجودة	59.5		
	غير موجودة	40.5	3.223	0.046
مدة المرض سنة	3≤	78.4		
	3 <	21.6	3.652	0.015
الشذوذات الصبغية الأخرى	موجودة	10.8		
	غير موجودة	89.2	2.013	0.494

الجدول 35: العلاقة بين فشل الاستجابة أو خسارة الاستجابة و عوامل التقييم قبل البدء.

تم إجراء دراسة لتحري العوامل الإنذارية المنبئة بمعدل أعلى للبقيا دون ترقي المرض على الـ 321 مريضا المدروسين سابقا بمتوسط مدة متابعة 28 شهر:

- تحقق الـ MCgR خلال الإثني عشر شهر الأولى من العلاج.
- تركيز خضاب قاعدي ≤ 12 مغ/دل.
- نسبة الأسسات القاعدية <4%.
- تحري طفرات قاعدي سلبي.

مقارنة مع نتائج دراستنا المحلية:

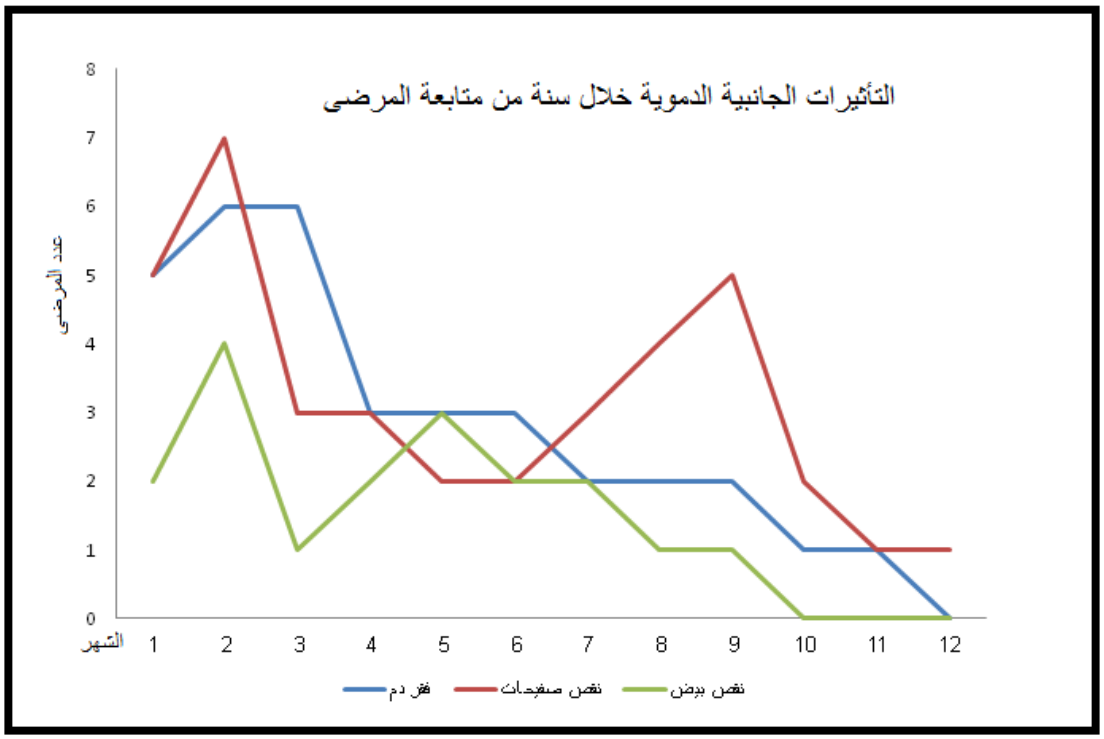
- لم يكن لتركيز الخضاب القاعدي أي أهمية إنذارية لترقي المرض.
- لم نتحرى القيمة الإنذارية لنسبة الأسسات بسبب أنه لم تسجل أي قيمة للأسسات أعلى من 4%
- قمنا بتحري القيمة الإنذارية لوجود الشذوذات الصبغية القاعدية و ليس الطفرات القاعدية و لم يكن لها أي قيمة إنذلرية مهمة (قد يكون صغر حجم العينة السبب الأساسي لهذه النتيجة)

التأثيرات الجانبية:

لم يبد الـ Nilotinib الكثير من التأثيرات الجانبية، حيث كانت بمجملها عابرة و لم تستوجب إيقاف الدواء. التأثيرات الدموية كانت الأشيع (الجدول 33)، كانت نسب حدوث السمية الدوائية الدموية بجميع الدرجات : فقر الدم 18.9%، نقص البيض 16.2%، نقص العدلات 18.9%، نقص الصفيحات 25.3%، بينما كانت نسب حدوث السمية الدوائية الدموية من الدرجة 3 أو 4: نقص صفيحات 8.1%، نقص بيض 2.7%.

	جميع الدرجات		الدرجة 3 أو 4 %	
التأثير الجانبي الدموي	لدينا	ENACT	لدينا	ENACT
فقر دم	18.9	11.3	0	3.2
نقص صفيحات	25.3	28.7	8.1	21.7
نقص بيض	16.2	6	2.7	2.5
نقص عدلات	18.9	17.2	2.7	14.3

الجدول 36 : نسب التأثيرات الجانبية الدموية مع مقارنتها بدراسة ENACT العالمية



مخطط 22 : نسب التأثيرات الجانبية الدموية خلا سنة من متابعة المرضى

أما التأثيرات الجانبية غير الدموية كانت أقل حدوثاً، كانت أيضا عابرة ولم تستلزم إيقاف العلاج (الجدول 34)، أشيعها كان الوهن بنسبة 16.2%.

التأثير الجانبي	جميع الدرجات%		درجة 3 أو 4 %	
	لدينا	ENACT	لدينا	ENACT
الطفح الجلدي	2.7	24.5	0	2.7
الوهن	16.2	14.1	2.7	1.6
آلام الاطراف	8.1		0	
آلام عضلية	5.4	11.1	0	0.9
الإمساك	5.4	5.1	0	0.1
الغثيان	5.4	11.6	0	0.8
الوذمة	8.1		0	
الصداع	8.1	16.4	0	1.9
ارتفاع بيليروبين الدم	5.4	25.2	0	4.1
ارتفاع GPT	5.4	13.6	0	2.1
ارتفاع GOT	5.4	8.5	0	0.8
ارتفاع أميلاز الدم	2.7	5.7	0	0.8

الجدول 37: نسب التأثيرات الجانبية غير الدموية و مقارنتها مع دراسة الـ ENACT العالمية

لم تسجل اي حالة انصباب جنب،وذمة رئة، انصباب تامور، تطاول QT، قصور قلب، أو التهاب بنكرياس.

الاستنتاج :

- أبدى الـ Nilotinib فعالية جيدة لدى مرضى الابيضاض النقوي المزمن في الطور المزمن والمعندين على الـ Imatinib باستجابة صبغية كبرى بنسبة 56.7، 72.9، 61.1، و 55.9 % من المرضى في الشهر3، 6، 9، و 12 على التوالي.
- كانت نسبة الاستجابة الدموية الكاملة 86.5، 81.5، 66.7، و 58.8% في الأشهر 3، 6، 9، و 12 على التوالي.
- كانت نسبة الاستجابة الجزيئية الكبرى MMolR بعد سنة من متابعة المرضى 26.5% (53% من المرضى المحققين للـ CCgR).
- تحققت الاستجابة الصبغية الكبرى الباكرة لدى 86.4% من المرضى الذين دخلوا الدراسة بحالة الهوادة الدموية التامة مقارنة مع 53.3 من المرضى بحالة عدم استجابة دموية تامة (P=0.003) ، كما تحققت لدى 86.2% من المرضى مع مدة مرض تساي أو أكثرمن 3 سنوات مقارنة 25% من المرضى مع مدة المرض أقل من 3 سنوات (P=0.002).
- العوامل المنبئة بترقي المرض: عدم وجود CHR قبل البدء بالعلاج، تعداد البيض<4 أو >10، وجود الضخامة الطحالية القاعدية، مدة المرض أقل من 3 سنوات.

- هناك علاقة قوية بين حدوث الـ MCgR في الشهر الثالث و استمرارها للشهر السادس، التاسع، والثاني عشر بمعامل ارتباط 0.967، 0.663، و 0.586 على التوالي (P<0.0001).
- هناك علاقة قوية بين الـ MCgR في الشهر السادس و استمرارها للشهر التاسع و الثاني عشر بمعامل ارتباط 0.650، و 0.596 على التوالي (P<0.0001)
- هناك أيضا علاقة قوية بين الـ MCgR في الشهر التاسع و استمرارها للشهر الثاني عشر بمعامل ارتباط 0.942 (P<0.0001).
- الـ Nilotinib دواء آمن، السمية الدوائية من الدرجة 4/3 كانت دموية حصرا بنسبة 21.7% لنقص الصفيحات و 2.7% لنقص البيض، كانت نسبة نقص الصفيحات بجميع الدرجات 25.3% ونقص بيض 16.2%، فقر الدم 18.9% تم تدبيرها بإنقاص الجرعة أو إيقاف الدواء مؤقتا وتراجعت عفويا مع تقدم العلاج في أغلب الحالات. السمية الدوائية غير الدموية كانت طفيفة و لم تستلزم إيقاف الدواء لدى أي مريض.

التوصيات والمقترحات:

- ينصح باستعمال الـ Nilotinib في علاج مرضى الابيضاض النقوي المزمن في الطور المزمن بعد فشل الـ Imatinib.
- يوصى بالاعتماد على العوامل المنبئة بحدوث الاستجابة أو فشل العلاج قبل استعمال الـ Nilotinib.
- يوصى بإجراء تحري للطفرات الحاصلة على ميدان الكيناز في الـ BCR-ABL خاصة لدى المرضى ذوي خسارة الاستجابة او المقاومة الباكرة على الـ Imatinib ، للتمكن من إجراء دراسات مستقبلية تربط فعالية العلاج التيروزين كيناز مع هذه الطفرات مما سيمكننا من اختيار الدواء الأمثل.
- إجراء دراسات متابعة طويلة الأمد للمرضى الموضوعين حاليا على الـ nilotinib لمعرفة مدى الاستجابة طويلة المدى على مثبطات التيروزين كيناز من الجيل الثاني.

نهاية البحث

المراجع

1. **Nowell P, Hungerford D.** *A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia.* Sience 1960; 132:1497.

2. **Rowley, JD.** *A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining.* Nature 1973; 243:290-293.

3. **Bartram, CR, de Klein, A and Hagemeijer, A.** *Translocation of c-abl oncogene correlates with the presence of a Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukaemia.* Nature 1983; 306:277-280.

4. **Groffen J, et al.** *Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22.* Cell 1984; 36:93-99.

5. **Lugo TG, et al.** *Tyrosine kinase activity and transformation potency of bcr-abl oncogene products.* Sience 1990; 247:1079-1082.

6. **Daley GQ, Van Etten RA and Baltimore D.** *Induction of chronic myelogenous leukemia in mice by the P210bcr/abl gene of the Philadelphia chromosome.* Sience 1990; 247:824-830.

7. **Druker BJ, Tamura S and Buchdunger E.** *Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells.* Nat Med 1996; 2:561-566.

8. **Deininger M, Goldman JM, Lydon NB, Melo JV.** *The tyrosine kinase inhibitor CGP57148B selectively inhibits the growth of BCR-ABL positive cells.* Blood 1997; 90:3691-3698.

9. **Druker BJ, Talpaz M, Resta D, et al.** *Clinical efficacy and safety of an ABL-specific tyrosine kinase inhibitor as targeted therapy for chronic myeloid leukemia.* Blood 1999; 94:368.

10. **Tefferi, A and Vardiman, JW.** *Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms.* Leukemia 2008; 22:14–22.

11. **Stefan Faderl, M.D., Moshe Talpaz, M.D., Zeev Estrov, M.D., Susan O'Brien, M.D., Razelle Kurzrock, M.D., and Hagop M. Kantarjian, M.D.** *The Biology of Chronic Myeloid Leukemia.* N Engl J 1999; 341:164-172.

12. **Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al.** *World Health Orgnization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid tissue.* Lyon: IRAC Press 2008.

13. **Spiers AS, Bain BJ, Turner JE.** *The peripheral blood in chronic granulocytic leukaemia. Study of 50 untreated Philadelphia-positive cases.* Scand J Haematol 1977; 18:25.

14. **Faderl, S, Talpaz, M and Estrov, Z.** *The biology of chronic myeloid leukemia.* N Engl J Med 1999; 341:164.

15. **Vardiman, JW, et al.** *The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasm.* Blood 2002; 100:2292.

16. **Siegel, R, Naishadham, D and Jemal, A.** *Cancer stastistics.*CA Cancer J Clin 2013; 63:11..

17. **Smith, A, Howell, D and Patmore, R.** *Incidence of haematological malignancy by sub-type: a report from the Haematological Malignancy Research Network.* Br J Cancer 2011; 105:1684.

18. **Savage DG, Szydlo RM, Goldman JM.** *Clinical features at diagnosis in 430 patients with chronic myeloid leukaemia seen at a referral centre over a 16-year period.* Br J Haematol 1997; 96:111.

19. **Abelson HT, Rabstein LS.** *Lymphosarcoma: virus-induced thymic-independent disease in mice.* Cancer Res 1970; 30:2213-222.

20. **Laneuville P.** *Abl tyrosine protein kinase.* Semin Immunol 1995; 7:255-266.

21. **Cohen GB, Ren R, Baltimore D.** *Modular binding domains in signal transduction proteins.* Cell 1995; 80:237-248.

22. **Feller SM, Knudsen B, Hanafusa H.** *c-Abl kinase regulates the protein binding activity of c-Crk.* EMBO J 1994; 13:2341-2351.

23. **Van Etten RA, Jackson P, Baltimore D.** *The mouse type IV c-abl gene product is a nuclear protein, and activation of transforming ability is associated with cytoplasmic localization.* Cell 1989; 58:669-678.

24. **Deininger M, Goldman J, Melo J.** *The molecular biology of chronic myeloid leukemia.* Blood, 2000. 96: 3343-3356.

25. **Yuan ZM, Shioya H, Ishiko T, et al.** *p73 is regulated by tyrosine kinase c-Abl in the apoptotic response to DNA damage.* Nature 1999; 399:814-817.

26. **Lewis JM, Schwartz MA.** *Integrins regulate the association and phosphorylation of paxillin by c-Abl.* J Biol Chem 1998; 273:14225-14230.

27. **Reuther GW, Fu H, Cripe LD, Collier RJ, Pendergast.** *Association of the protein kinases c-Bcr and Bcr-Abl with proteins of the 14-3-3 family.* Sience 1994; 266:129-133.

28. **McWhirter JR, Galasso DL, Wang JY.** *A coiled-coil oligomerization domain of Bcr is essential for the transforming function of Bcr-Abl oncoproteins.* Mol Cell Biol 1993; 13:7587-7595.

29. **Dehardt, DT.** *Signal-transducing protein phosphorylation cascades mediated by Ras/Rho proteins in the mammalian cell: the potential for multiplex signalling.* Biochem J 1996; 318:729-747.

30. **Montaner S, Perona R, Saniger L, Lacal JC.** *Multiple signaling pathways lead to the activation of the nuclear factor κB by the Rho family of GTPases.* J Biol Chem 1998; 273:12779-12785.

31. **Diekmann D, Brill S, Garrett MD, et al.** *Bcr encodes a GTPase-activating protein for p21rac.* Nature 1991; 351:400-402.

32. **Diekmann D, Nobes CD, Burbelo PD, Abo A, Hall A.** *Rac GTPase interacts with GAPs and target proteins through multiple effector sites.* EMBO J 1995; 14:5297-5305.

33. **Wu Y, Liu J, Arlinghaus RB.** *Requirement of two specific tyrosine residues for the catalytic activity of Bcr serine/threonine kinase.* Oncogene 1998; 16:141-146.

34. **Ma G, Lu D, Wu Y, Liu J, Arlinghaus RB.** *Bcr phosphorylated on tyrosine 177 binds Grb2.* Oncogene 1997; 14:2367-2372.

35. **Liu J, Wu Y, Ma GZ, et al.** *Inhibition of Bcr serine kinase by tyrosine phosphorylation.* Mol Cell Biol 1996; 16:998-1005.

36. **Voncken JW, van Schaick H, Kaartinen V, et al.** *Increased neutrophil respiratory burst in bcr-null mutants*.Cell 1995; 80:719-728.

37. **Voncken JW, Kaartinen V, Groffen J, Heisterkamp N.** *Bcr/Abl associated leukemogenesis in bcr null mutant mice.* Oncogene 1998; 16:2029-2032.

38. **Melo, JV.** *The diversity of BCR-ABL fusion proteins and their relationship to leukemia phenotype.* Blood 1996; 8:208-211.

39. **Ravandi F, Cortes J, Albitar M, et al.** *Chronic myelogenous leukaemia with p185(BCR/ABL) expression: characteristics and clinical significance.* Br J Haematol 1999; 107:581-586.

40. **Pane F, Frigeri F, Sindona M, et al.** *Neutrophilic-chronic myeloid leukemia: a distinct disease with a specific molecular marker (BCR/ABL with C3/A2 junction).* Blood 1996; 88:2410-2414.

41. **Melo JV.** *BCR-ABL gene variants.*Baillieres.Clin.Haematol 1997; 10:203-222.

42. **Quackenbush RC, Reuther GW, Miller JP, Courtney KD, Pear WS, Pendergast AM.** *Analysis of the biologic properties of p230 Bcr-Abl reveals unique and overlapping properties with the oncogenic p185 and p210 Bcr-Abl tyrosine kinases.*Blood 2000; 95:2913-2921.

43. **Mayer BJ, Baltimore D.** *Mutagenic analysis of the roles of SH2 and SH3 domains in regulation of the Abl tyrosine kinase.* Mol Cell Biol 1994; 14:2883-2894.

44. **Oda T, Heaney C, Hagopian JR, Okuda K, Griffin JD, Druker BJ.** *Crkl is the major tyrosine-phosphorylated protein in neutrophils from patients with chronic myelogenous leukemia.* J Biol Chem 1994; 269:22925-22928.

45. **Carpino N, Wisniewski D, Strife A, et a.** *p62(dok): a constitutively tyrosine-phosphorylated, GAP-associated protein in chronic myelogenous leukemia progenitor cells.* Cell 1997; 88:197-204.

46. **Gordon MY, Dowding CR, Riley GP, Goldman JM, Greaves MF.** *Altered adhesive interactions with marrow stroma of haematopoietic progenitor cells in chronic myeloid leukaemia.* Nature 1987; 328:342-344.

47. **Bhatia R, Wayner EA, McGlave PB,** *Presence of the adhesion inhibitory β1B integrin isoform on CML but not normal progenitors is at least in part responsible for the decreased CML progenitor adhesion.* Blood 1997; 90:393a.

48. **Zhang X, Subrahmanyam R, Wong R, Gross AW, Ren R.** *The NH(2)-terminal coiled-coil domain and tyrosine 177 play important roles in induction of a myeloproliferative disease in mice by Bcr-Abl.* Mol Cell Biol 2001; 21:840–853.

49. **Ren, R.** *Mechanisms of BCR-ABL in the pathogenesis of chronic myelogenous leukaemia.* Nat Rev Cancer 2005; 5:172–183..

50. **Pelicci G, Lanfrancone L, Salcini AE, et al.** *Constitutive phosphorylation of Shc proteins in human tumors.* Oncogene 1995; 11:899-907.

51. **Pendergast AM, Quilliam LA, Cripe LD, et al.** *BCR-ABL-induced oncogenesis is mediated by direct interaction with the SH2 domain of the GRB-2 adaptor protein.* Cell 1993; 75:175–185.

52. **Cahill MA, Janknecht R, Nordheim A.** *Signalling pathways: jack of all cascades.* Curr Biol 1996; 6:16-19..

53. **Thomas EK, Cancelas JA, Chae HD, et al.** *Rac guanosine triphosphatases represent integrating molecular therapeutic targets for BCR-ABL-induced myeloproliferative disease.*Cancer Cell 2007; 12:467–478.

54. **Cancelas JA, Lee AW, Prabhakar R, Stringer KF, Zheng Y, Williams DA.** *Rac GTPases differentially integrate signals regulating hematopoietic stem cell localization.* Nat Med 2005; 11:886–891.

55. **Sattler M, Mohi MG, Pride YB, et al.** *Critical role for Gab2 in transformation by BCR/ABL.*Cancer Cell 2002; 1:479–492.

56. **Skorski T, Kanakaraj P, Nieborowska-Skorska M, et al.** *Phosphatidylinositol-3 kinase activity is regulated by BCR/ABL and is required for the growth of Philadelphia chromosome-positive cells.* Blood 1995; 86:726–736.

57. **Notari M, Neviani P, Santhanam R, et al.** *A MAPK/HNRPK pathway controls BCR/ABL oncogenic potential by regulating MYC mRNA translation.* Blood 2006; 107:2507–2516.

58. **Franke TF, Kaplan DR, Cantley LC.** *PI3K: downstream AKTion blocks apoptosis.* Cell 1997; 88:435-437.

59. **del Peso L, Gonzalez-Garcia M, Page C, Herrera R, Nunez G.** *Interleukin-3-induced phosphorylation of bad through the protein kinase akt.*Science 1998; 278:687-689..

60. **Gesbert F, Griffin JD.** *Bcr/Abl activates transcription of the Bcl-X gene through STAT5*. Blood 2000; 96:2269–2276.

61. **Gabriele L, Phung J, Fukumoto J, et al.** *Regulation of apoptosis in myeloid cells by interferon consensus sequence-binding protein.* J Exp Med 1999; 190:411–421.

62. **Holtschke T, Lohler J, Kanno Y, et al.** *Immunodeficiency and chronic myelogenous leukemia-like syndrome in mice with a targeted mutation of the ICSBP gene* Cell 1996; 87:307–317.

63. **Hao SX, Ren R.** *Expression of interferon consensus sequence binding protein (ICSBP) is downregulated in Bcr-Abl-induced murine chronic myelogenous leukemia-like disease, and forced coexpression of ICSBP inhibits Bcr-Abl-induced myeloproliferative disorder.* Mol Cell Biol 2000; 20:1149–116.

64. **Middleton MK, Zukas AM, Rubinstein T, et al.** *Identification of 12/15-lipoxygenase as a suppressor of myeloproliferative disease.* J Exp Med 2006; 203:2529–2540.

65. **Knighton DR, Zheng JH, Ten Eyck LF, Ashford VA, Xuong NH, Taylor SS, Sowadski JM.** *Crystal structure of the catalytic subunit of cyclic adenosine monophosphate-dependent protein kinase.* Science 1991; 253(5018):407-14..

66. **Kornev AP, Taylor SS.** *Review Defining the conserved internal architecture of a protein kinase.* Biochim Biophys Acta 2010; 1804(3):440-4.

67. **Schindler T, Bornmann W, Pellicena P, Miller WT, Clarkson B, Kuriyan J.** *Structural mechanism for STI-571 inhibition of abelson tyrosine kinase.* Science 2000; 289(5486):1938-42.

68. **Liu Y, Shah K, Yang F, Witucki L, Shokat KM.** *A molecular gate which controls unnatural ATP analogue recognition by the tyrosine kinase v-Src.*Bioorg Med Chem 1998; 6(8):1219-26.

69. **Gorre ME, Mohammed M, Ellwood K, et al.** *Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification.*Science 2001; 293(5531):876-80.

70. **Reddy E, Aggarwal A.** *The Ins and Outs of Bcr-Abl Inhibition.* Genes and cancer 2012; 3(5-6): 447–454.

71. **Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al.** *Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia.* N Engl J Med 2001; 344:1031-1037.

72. **Shah NP, Nicoll JM, Nagar B, et al.** *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 2002; 2:117–125.

73. **Tokarski JS, Newitt JA, Chang CY, et al.** *The structure of dasatinib (BMS-354825) bound to activated ABL kinase domain elucidates its inhibitory activity against imatinib-resistant ABL mutants.*Cancer Res 2006; 66(11):5790-7.

74. **Weisberg E, Manley PW, Breitenstein W, Brüggen J, Cowan-Jacob SW, et al.** *Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl.* Cancer Cell 2005; 7(2):129-41.

75. **Kantarjian H, Giles F, Wunderle L, et al.** *Nilotinib in imatinib-resistant CML and Philadelphia chromosome-positive ALL.* N Engl J Med 2006; 354(24):2542-51.

76. **Cowan-Jacob SW, Fendrich G, Floersheimer A, et al.** *Structural biology contributions to the discovery of drugs to treat chronic myelogenous leukaemia.* Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 2007; 63(Pt 1):80-93.

77. **Jabbour E, Kantarjian H, Jones D, et al.** *Frequency and clinical significance of BCR-ABL mutations in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib mesylate.*Leukemia 2006; 20:1767–1773.

78. **Quintas-Cardama AG, Gibbons DL, Kantarjian H, et al.** *Mutational analysis of chronic myeloid leukemia (CML) clones reveals heightened BCR-ABL1 genetic instability and wild-type BCR-ABL1 exhaustion in patients failing sequential imatinib and dasatinib therapy.*Blood (ASH Annual Meeting Abstracts) 2007; 110:1938.

79. **Azam M, Latek RR, Daley GQ.** *Mechanisms of autoinhibition and STI-571/imatinib resistance revealed by mutagenesis of BCR-ABL.* Cell 2003; 112:831–843.

80. **Hochhaus A, Kreil S, Corbin AS, et al.** *Molecular and chromosomal mechanisms of resistance to imatinib (STI571) therapy.* Leukemia 2002; 16:2190–2196.

81. **Branford S, Rudzki Z, Walsh S, et al.** *Detection of BCR-ABL mutations in patients with CML treated with imatinib is virtually always accompanied by clinical resistance, and mutations in the ATP phosphate-binding loop (P-loop) are associated with a poor prognosis.* Blood 2003; 102:276–283.

82. **Weisberg E, Manley PW, Cowan-Jacob SW, Hochhaus A, Griffin JD.** *Second generation inhibitors of BCR-ABL for the treatment of imatinib-resistant chronic myeloid leukaemia.*Nat Rev Cancer 2007; 7:345–356.

83. **Cortes J, Jabbour E, Kantarjian H, et al.** *Dynamics of BCR-ABL kinase domain mutations in chronic myeloid leukemia after sequential treatment with multiple tyrosine kinase inhibitors.*Blood 2007; 110:4005–4011.

84. **O'Hare T, Shakespeare WC, Zhu X, et al.** *AP24534, a pan-BCR-ABL inhibitor for chronic myeloid leukemia, potently inhibits the T315I mutant and overcomes mutation-based resistance.* Cancer Cell 2009; 16(5):401-12.

85. **Cortes J, Kantarjian H.** *How I treat newly diagnosed chronic phase CML.* Blood 2012; 120:1390.

86. **O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, et al.** *Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia.* N Engl J Med 2003; 348:994.

87. **Kantarjian HM, Cortes JE, O'Brien S, et al.** *Imatinib mesylate therapy in newly diagnosed patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia: high incidence of early complete and major cytogenetic responses.* Blood 2003; 101:97.

88. **Hughes TP, Kaeda J, Branford S, et al.** *Frequency of major molecular responses to imatinib or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed chronic myeloid leukemia.* N Engl J Med 2003; 349:1423.

89. **Hahn EA, Glendenning GA, Sorensen MV, et al.** *Quality of life in patients with newly diagnosed chronic phase chronic myeloid leukemia on imatinib versus interferon alfa plus low-dose cytarabine: results from the IRIS Study.* J Clin Oncol 2003; 21:2138.

90. **Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, et al.** *Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia*. N Engl J Med 2006; 355:2408.

91. **Baccarani M, Cortes J, Pane F, et al.** *Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet.* J Clin Oncol 2009; 27:6041.

92. **Assouline S, Lipton JH.** *Monitoring response and resistance to treatment in chronic myeloid leukemia.*Current Oncology 2011; Vol. 18.

93. **Shah NP.** *Medical management of CML.* Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2007; 371.

94. **Kantarjian H, O'Brien S, Shan J, et al.** *Cytogenetic and molecular responses and outcome in chronic myelogenous leukemia: need for new response definitions?.* Cancer 2008; 112:837.

95. **Noens L, van Lierde MA, De Bock R, et al.** *Prevalence, determinants, and outcomes of nonadherence to imatinib therapy in patients with chronic myeloid leukemia: the ADAGIO study.* Blood 2009; 113:5401.

96. **Singh N, Kumar L, Meena R, Velpandian T.** *Drug monitoring of imatinib levels in patients undergoing therapy for chronic myeloid leukaemia: comparing plasma levels of responders and non-responders.* Eur J Clin Pharmacol 2009; 65:545.

97. **Jabbour E, Kantarjian HM, Jones D.** *Imatinib mesylate dose escalation is associated with durable responses in patients with chronic myeloid leukemia after cytogenetic failure on standard-dose imatinib therapy.* Blood 2009; 113: 2154-2160.

98. **Kantarjian H, Pasquini R, Hamerschlak N, Rousselot P, Holowiecki J, Jootar S, et al.** *Dasatinib or high-dose imatinib for chronic-phase chronic myeloid leukemia after failure of first-line imatinib: a randomized phase 2 trial.* Blood 2007; 109:5143–50.

99. **Kantarjian H, Pasquini R, Levy V, Jootar S, Holowiecki J, Hamerschlak N, et al.** *Dasatinib or high-dose imatinib for chronic-phase chronic myeloid leukemia resistant to imatinib at a dose of 400 to 600 milligrams daily.* Cancer 2009; 115:4136–47.

100. **Rajappa S, Mallavarapu KM, Gundeti S, Roshnipaul T, Jacob RT, Digumarti R.** *Kinase domain mutations and responses to dose escalation in chronic myeloid leukemia resistant to standard dose imatinib mesylate.* Leuk Lymphoma 2010; 51:79-84.

101. **Breccia M, Stagno F, Vigneri P, Latagliata R, Cannella L, Del Fabro V, et al.** *Imatinib dose escalation in 74 failure or suboptimal response chronic myeloid leukaemia patients at 3-year follow-up.* Am J Hematol 2010; 85:375-7.

102. **Koh Y, Kim I, Yoon SS, Kim BK, Kim DY, Lee JH, et al.** *Phase IV study evaluating efficacy of escalated dose of imatinib in chronic myeloid leukemia patients showing suboptimal response to standard dose imatinib.* Ann Hematol 2010; 89:725-31..

103. **Hochhaus A, La Rose´e P.** *Imatinib therapy in chronic myelogenous leukemia: strategies to avoid and overcome resistance.* Leukemia 2004; 18:1321-1331.

104. **Weisberg E, Griffin JD.** *Mechanism of resistance to the ABL tyrosine kinase inhibitor STI571 in BCR/ABL-transformed hematopoietic cell lines.* Blood 2000; 95:3498-3505.

105. **Mahon FX, Deininger MW, Schultheis B, et al.** *Selection and characterization of BCR-ABL positive cell lines with differential sensitivity to the tyrosine kinase inhibitor STI571: diverse mechanisms of resistance.* Blood 2000; 96:1070-1079.

106. **Milojkovic D, Apperley JF, Gerrard G, et al.** *Responses to second-line tyrosine kinase inhibitors are durable: an intention-to-treat analysis in chronic myeloid leukemia patients.*Blood 2012; 119:1838.

107. **Kantarjian HM, Giles F, Gattermann N, et al.** *Nilotinib (formerly AMN107), a highly selective BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor, is effective in patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in chronic phase following imatinib resistance and intolerance.*Blood 2007; 110:3540.

108. **Kantarjian HM, Giles FJ, Bhalla KN, et al.** *Nilotinib is effective in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase after imatinib resistance or intolerance: 24-month follow-up results.* Blood 2011; 1117:114.

109. **Giles FJ, le Coutre PD, Pinilla-Ibarz J, et al.** *Nilotinib in imatinib-resistant or imatinib-intolerant patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase: 48-month follow-up results of a phase II study.* Leukemia 2013; 27:107.

110. **Nicolini FE, Turkina A, Shen ZX, et al.** *Expanding Nilotinib Access in Clinical Trials (ENACT): an open-label, multicenter study of oral nilotinib in adult patients with imatinib-resistant or imatinib-intolerant Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia in the chronic phase.* Cancer 2012; 118:118.

111. **Bradeen HA, Eide CA, O'Hare T, et al.** *Comparison of imatinib mesylate, dasatinib (BMS-354825), and nilotinib (AMN107) in an N-ethyl-N-nitrosourea (ENU)-based mutagenesis screen: high efficacy of drug combinations.* Blood 2006; 108:2332.

112. **von Bubnoff N, Manley PW, Mestan J, et al.** *Bcr-Abl resistance screening predicts a limited spectrum of point mutations to be associated with clinical resistance to the Abl kinase inhibitor nilotinib (AMN107).* Blood 2006; 108:1328.

113. **Jabbour E, Kantarjian H, Jones D, et al.** *Characteristics and outcomes of patients with chronic myeloid leukemia and T315I mutation following failure of imatinib mesylate therapy.* Blood 2008; 112:53.

114. **Jabbour E, le Coutre PD ,Cortes J, Giles F, et al.** *Prediction of outcomes in patients with Phþ chronic myeloidleukemia in chronic phase treated with nilotinib after imatinib resistance/intolerance.* Leukemia 2013; 27, 907–913.

115. **National Comprehensive Cancer Network®(NCCN).** *"Practice Guidelines in Oncology: Chronic Myelogenous Leukemia Version 2.*2010.