

Aus der Klinik für Innere Medizin C
kommissarischer Leiter: Prof. Dr. C. A. Schmidt
der Universitätsmedizin der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

**Molekulares Ansprechen auf eine Imatinibtherapie:
Vergleich First- versus Secondlinetherapie an 88 CML-Patienten
aus Mecklenburg-Vorpommern**

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des akademischen
Grades
Doktor der Medizin
(Dr. med.)
der
Universitätsmedizin
der
Ernst-Moritz-Arndt-Universität
Greifswald
2014

vorgelegt von: Bernadette Alice Rexa
geb. am: 24.04.1979
in: Rodewisch

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Max P. Baur

1. Gutachter: PD Dr. T. Kiefer - Trendelenburg

2. Gutachter: Prof. Dr. J. Finke

Ort, Raum: Greifswald, Universitätsmedizin, Klinik für Innere Medizin C SR

Tag der Disputation: 05.06.2015

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Geschichte der chronisch myeloischen Leukämie	1
1.2	Einteilung der Leukämien	2
1.3	Epidemiologie der Leukämien.....	3
1.4	chronisch myeloische Leukämie (CML)	4
1.4.1	Ursachen und Risikofaktoren.....	6
1.4.2	Diagnostik der Leukämien	6
1.4.3	Therapie	6
1.4.4	MRD - Monitoring	9
1.4.5	Was sollte das Ziel der Therapie sein?	11
1.5	IRIS – International Randomized Study of Interferon versus STI571	14
1.6	CML/002/STI571-Studie der GIMEMA-Arbeitsgruppe.....	16
1.7	Fragestellung.....	17
2	Material und Methoden.....	18
2.1	Patientenkollektiv – Secondline-Imatinibtherapie	18
2.2	Patientenkollektiv – Firstline-Imatinibtherapie	19
2.3	Datenerfassung und Datenauswertung.....	19
2.4	Methoden	20
2.4.1	quantitative RT-PCR.....	20
2.4.2	Statistik und Einsatz statistischer Verfahren	20
3	Ergebnisse	21
3.1	Demographische Daten	21
3.2	Patientenkollektiv – Secondline-Imatinibtherapie	21
3.3	Patientenkollektiv – Firstline-Imatinibtherapie	23
3.4	Demographische Daten im Vergleich.....	23
3.5	Vergleich molekulares Ansprechen First- vs. Secondline-Imatinibtherapie	24
3.6	Vergleich molekulares Ansprechen der bis zu 50-Jährigen vs. der über 50-Jährigen.....	32
4	Diskussion.....	34
4.1	Diskussion der demographischen Daten.....	34
4.2	Diskussion des molekularen Ansprechens bei First- vs. Secondline-Imatinibtherapie	35

4.3	Diskussion des molekularen Ansprechens der bis zu 50-Jährigen vs. der über 50-Jährigen	39
4.4	Diskussion der Fehlermöglichkeiten	39
5	Zusammenfassung.....	41
	Referenzen.....	43
	Anhang.....	48
	Abkürzungen.....	49
	Danksagung	53

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Reziproke Translokation zwischen Chromosom 9 und 22.....	5
Abb. 2	Relation von Anzahl leukämischer Zellen zur Einstufung des Ansprechens (Baccarani 2008).....	13
Abb. 3	Anzahl der Patienten pro Jahr die von der INF α Therapie zu Imatinib wechselten	22
Abb. 4	Kaplan Meier Schätzer für ein Major Molekulares Ansprechen	26
Abb. 5	Kaplan Meier Schätzer für ein MR4	27
Abb. 6	Kaplan Meier Schätzer für das Erreichen eines CMR	28
Abb. 7	Vorthera­pielänge in Abhängigkeit zum späteren Major Mol. Ansprechen auf Imatinib.....	30
Abb. 8	Kaplan Meier Schätzer für Event freies Überleben – Als Event galt ein Krankheitsfortschritt in die AP, BC, ein Rezidiv und der Tod.....	31
Abb. 9	Kaplan Meier Schätzer der Überlebensrate (Overall Survival) – Als Event galt der Tod.....	31
Abb. 10	Kaplan Meier Schätzer – kumulatives Major Molekulares Ansprechen unter Imatinibtherapie bei Secondline-IM-Patienten (n=33) in Abhängigkeit vom Alter	32
Abb. 11	Kaplan Meier Schätzer – kumulatives Major Molekulares Ansprechen unter Imatinibtherapie bei Firstline-IM-Patienten (n=55) in Abhängigkeit zum Alter.....	33
Abb. 12	Anforderungsschein zur PCR – Analyse für t (9;22).....	48

Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Definitionen der Remission – für das Monitoring der CML in CP unter Imatinibtherapie, modifiziert nach den Empfehlungen des ELN (Bubnoff 2010)	12
Tab. 2	Patientenalter bei Diagnosestellung und Imatinibtherapiebeginn und die Dauer der Vorthera­pie.....	21
Tab. 3	Verteilung von Alter und Geschlecht in den Therapiegruppen	24
Tab. 4	Ansprechen mit MMR auf eine Imatinibtherapie nach 12, 24, 48 und 60 Monaten	25
Tab. 5	Ansprechen mit MMR, MR4 und CMR.....	29

„Was wir Ergebnisse nennen, ist nur der Anfang.“

Ralph Waldo Emerson

1 Einleitung

Die Hämatopoese ist der physiologische Prozess zur Proliferation und Differenzierung der Zellen des Blutes und des Knochenmarks, da diese nur eine begrenzte Lebensdauer haben. Somit ist eine ständige Neubildung aus blutzellbildenden pluripotenten Stammzellen nötig unter Steuerung der hämatopoetischen Wachstumsfaktoren. Dabei entstehen gelegentlich Abnormitäten, die hämatologische Erkrankungen verursachen können. So entsteht die chronisch myeloische Leukämie (CML) durch eine Translokation t(9; 22)(q34; q11). (Renz-Polster 2008)

1.1 Geschichte der chronisch myeloischen Leukämie

Schon bevor John Hughes Bennett (Edinburgh) und Robert Virchow (Berlin) im Jahr 1845, jeder unabhängig voneinander, die chronisch myeloische Leukämie beschrieben, erschienen schon 1825 und 1839 Fallbeschreibungen, die auf eine CML schließen lassen. Aber erst die Beschreibungen von Bennett und Virchow gelten als Erstbeschreibung der CML, da sie klinische Symptome und mikroskopische post-mortem Details zusammen betrachteten. Klinisch fielen ihnen in diesen Fällen die stark vergrößerte Milz und Leber auf, zudem beschrieben sie vergrößerte Lymphknoten. Des Weiteren dokumentierte Virchow Müdigkeit, Nasenbluten, geschwollene Beine und einen aufgetriebenen Bauch bei seiner Patientin. Beiden fiel bei der Mikroskopie des Blutes auf, dass die roten Blutzellen stark in der Minderheit sind und glaubten, dass es sich bei der großen Anzahl der farblosen Zellen um Eiterzellen handelte. Virchow nutze den Begriff „*weißes Blut*“ dafür. Später, im Jahr 1847, schlägt er den Begriff „*Leukämie*“ für diese Erkrankung vor. Jedoch stößt dies nicht auf allseitige Zustimmung, so legt Bennett in seinem Buch 1852 den Begriff „*Leukocythaemia*“ nahe. Als Ursache vermuteten Craigie und Bennett einen unüblichen infektiösen Prozess in der Milz oder im Blut selbst. Virchow wandte sich bald ab von der Theorie einer pyämischen Ursache, da es dafür keine Beweise gab. Im Jahr 1856 veröffentlichte Virchow eine Zusammenfassung seiner Erkenntnisse der letzten 10 Jahre, diese enthielt in Grundzügen viele der Ansichten

zur Pathologie der CML, wie sie auch heute noch aktuell sind. Er fasste dabei die üblichen Situationen zusammen, in denen Leukozytose vorkommt, und betont nachdrücklich, dass dies nicht eine Erkrankung „*sui generis*“ (eigener Art) ist, sondern ein sichtbarer autonom fortschreitender Prozess ist. Auch folgerte er, dass die Charakterisierung der Leukämie nicht allein über die Zunahme der weißen Blutkörperchen erfolgen kann, aber über die Abnahme der Anzahl der roten Blutkörperchen. Die Ursache der Krankheit deutet er in dem Gewebe, das normalerweise die weißen Blutzellen erzeugt. Diese Ansicht vertrat er 30 Jahre, bevor Färbemethoden für Blut eingeführt wurden. Desweiteren schlug Virchow zwei Hauptvarianten der chronischen Leukämie vor: die lymphatische und die der Milz. Die akute Form wurde erstmals durch Friedreich 1859 benannt und später ausführlich von Ebstein 1879 beschrieben. Aber erst 1870 kam die Vermutung durch Neumann auf, dass das Knochenmark eine wichtige Rolle spielt für die Bildung der Blutzellen. Somit beschreibt er eine „*myeloische*“ Leukämie, die seiner Meinung nach neben den beiden von Virchow beschriebenen existiert. Erst Paul Ehrlichs Färbemethoden 1879 zeigten, dass es sich bei der myeloischen Leukämie und der Virchowschen Milz-Leukämie um ein und dasselbe Blutbild handelt. Zu sehen waren polymorphkernige und einkernige Zellen gefüllt mit Granula. Aber erst als um 1900 die Peroxidase-Färbung eingeführt wurde, konnte das charakteristische Blutzellenprofil der CML mit Vorherrschaft der segmentkernigen Granulozyten und einer geringeren Erhöhung der Myelozyten Anzahl erkannt werden. Erst 20 Jahre später entdeckte man bei CML-Patienten eine Basophilie und Thrombozytose. (Geary 2000)

1.2 Einteilung der Leukämien

Im Wesentlichen unterscheidet man vier Leukämieformen. Die Einteilung geht aus der Art des betroffenen Zelltyps hervor. Aus den Vorläuferzellen der Granulozyten gehen die myeloischen Leukämien hervor, die akute myeloische Leukämie (AML) und die chronisch myeloische Leukämie (CML). Die akute lymphatische Leukämie (ALL) und die chronisch lymphatische Leukämie (CLL) entstehen aus den Vorläuferzellen der Lymphozyten. Diese Krankheitsformen zeigen grundlegende Unterschiede im Hinblick auf Epidemiologie, Krankheitsverlauf und Prognose.

Daneben gibt es noch verschiedene seltenere Leukämieformen. Des Weiteren gehören maligne Lymphome, Myeloproliferative Erkrankungen und Myelodysplastische Syndrome zu den malignen hämatologischen Erkrankungen. (Renz-Polster 2008)

1.3 Epidemiologie der Leukämien

In Deutschland existiert bisher noch kein zentrales epidemiologisches Register zur Erfassung von Leukämiefällen bei Erwachsenen – im Gegensatz zu den meisten angloamerikanischen und einigen skandinavischen Ländern. Somit ist derzeit bei Erwachsenen keine zuverlässige Aussage über die Inzidenz von Leukämien in Deutschland möglich. Lediglich liegen grobe und durch vielfältige Faktoren beeinflusste Schätzwerte vor. Der beschränkende Faktor bei der flächendeckenden Dokumentation von Krebs-Häufigkeiten in Deutschland sind die derzeit gültigen Datenschutzbestimmungen. Das Saarländische Krebsregister wird in internationalen Studien als Vergleichsdatensatz für ganz Deutschland genutzt, da es eine hohe Vollzähligkeit der Daten aufweist, somit verwertbare Inzidenzdaten bietet und eine gut zu vergleichende Bevölkerungszahl von ca. 1 Million besitzt. (Rohrbacher 2009) Jedoch unterscheidet auch das Saarländische Krebsregister bei der Auswertung der Daten nicht zwischen den einzelnen Leukämieformen, so dass nur Inzidenz- und Mortalitätsraten von Leukämieerkrankungen im Allgemeinen zu bekommen sind. So erkrankten im Saarland 2006 78 Männer und 60 Frauen an Leukämie. Die Inzidenzrate betrug 14,7/100.000 bei Männern und 11/100.000 bei den Frauen. Das mediane Erkrankungsalter lag hier bei 66,8 Jahre für Männer und 72,7 Jahre bei den Frauen. Es verstarben 55 männliche und 49 weibliche Leukämieerkrankte im Jahr 2006. Die Mortalitätsrate beläuft sich bei den männlichen Erkrankten auf 10,8/100.000 und auf 9,1/100.000 bei den weiblichen. (Ziegler 2008) Im Jahr 2006 erkrankten in Deutschland schätzungsweise 5080 Männer und 4220 Frauen an Leukämie (C91-95; ICD 10). Damit stehen bei Männern Leukämieerkrankungen an 11. Stelle aller malignen Krebserkrankungen und bei Frauen an 13. Stelle. Rohrbacher et al. gaben Inzidenzraten von 0,6-2 CML-Erkrankungen auf 100.000 Einwohner an. Das mediane Erkrankungsalter liegt bei 65 Jahren, wobei etwa 10% der Erkrankten bei Diagnosestellung noch unter 35 Jahren sind. Die Erkrankungshäufigkeit steigt mit

dem Alter und betrifft Männer häufiger als Frauen. Jedoch kann die CML in jedem Lebensalter auftreten. (Rohrbacher 2009) Goldman und Melo geben für die CML ebenfalls eine Erkrankungsinzidenz von 2 pro 100000/Jahr an, allerdings mit einem Erkrankungsgipfel bei 50-55 Jahren. (Goldman 2003) Die Mortalitätsrate der Leukämien ist bereits seit 1980 rückläufig. So verstarben im Jahr 2006 laut RKI 3720 Männer und 3387 Frauen an Leukämie. So werden derzeit die relativen 5-Jahres-Überlebensraten mit 35% bis 50% angegeben. Jedoch variiert die Prognose stark, je nach Art der leukämischen Erkrankung. (Husmann et al. 2010)

1.4 chronisch myeloische Leukämie (CML)

„Die CML ist eine klonale myeloproliferative Erkrankung der pluripotenten hämatopoetischen Stammzelle mit Beteiligung der Myelo-, Erythro- und Megakaryopoese sowie der B- und eines Teils der T-Lymphozyten.“ (Hochhaus 2008) Bevor eine Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren möglich war, konnte bei den meisten Patienten ein dreistufiger Krankheitsverlauf beobachtet werden. Die Erkrankung beginnt mit einer chronischen Phase (CP), geht dann über in die akzelerierte Phase (AP), und endet schließlich in der Blastenkrise (BC), einer unbehandelt tödlich verlaufenden akuten Leukämie. (Hehlmann 2007) Die AP ist gekennzeichnet durch 15% - 29% Blasten (nach WHO 10 – 19%) oder $\geq 20\%$ Basophile im Blut oder Knochenmark, dazu eine therapieunabhängige Thrombozytopenie, eine zunehmende Markfibrose oder neben der t(9; 22) zusätzliche chromosomale Aberrationen. Dahingegen gilt als Definition für eine CP, dass keines der AP Kriterien zutrifft. Bei weiterem Anstieg der Blasten $>30\%$ (nach WHO $\geq 20\%$) in Blut oder Knochenmark wird von einer Blastenkrise gesprochen. (Lahaye 2005) (Baccarani 2006) Vor Einführung der Therapie mit Imatinib kam es bei nahezu allen Patienten in chronischer Phase zu einem spontanen Progress in die akzelerierte Phase nach durchschnittlich 5 – 6 Jahren. Üblicherweise folgte ein weiterer Progress in die Blastenkrise nach 6 – 9 Monaten in AP. In dieser Phase verstarben die meisten Patienten nach weiteren 3 – 6 Monaten. (Ernst 2012) Schon seit den 1940er Jahren hat es Versuche gegeben, chromosomale Abnormitäten in leukämischen Zellen zu entdecken. Aber erst in den 1950er Jahren nahm die Forschung bezüglich der chromosomalen Zusammensetzung zu, und Zytogenetiker

sahen die karyotypische Anomalität. Im Herbst 1960 arbeiteten Nowell und Hungerford in Philadelphia, sie beschrieben akrozentrische Chromosomen in Blutzellkulturen von CML-Patienten. Der Fund wurde als Philadelphia Chromosom bekannt (Ph+). (Geary 2000) Heute ist bekannt, dass es sich in den meisten Fällen um eine reziproke Translokation zwischen den Chromosomen 9 und 22 (geschrieben: $t(9; 22)(q34; q11)$) handelt (Abb. 1).

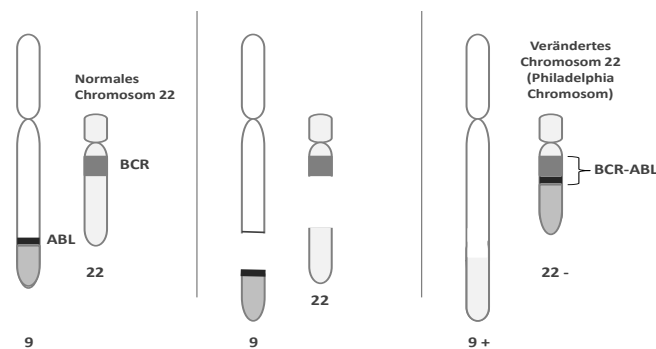


Abb. 1 Reziproke Translokation zwischen Chromosom 9 und 22

Dieser Chromosomenbruch liegt auf beiden Chromosomen im Bereich von Genen. Das ABL-Gen (Protoonkogen) auf Chromosom 9 und das BCR-Gen auf Chromosom 22 sind betroffen. Somit kommt es zu einem BCR/ABL-Fusionsgen. Durch die Translokation wird das Gen der Abelson (ABL)-Tyrosinkinase in die Region des Breakpoint Cluster Region (BCR)-Gens eingefügt. Das ABL-Gen kodiert für eine rezeptorassoziierte Tyrosinkinase (TK) und spielt somit eine wichtige Rolle bei der zellulären Wachstumsregulation. Nach Bildung des Fusionsgens BCR/ABL ist ABL entscheidend in seiner Funktion verändert und die Tyrosinkinaseaktivität ist dauerhaft aktiviert. Die Kinaseaktivität des Fusionsproteins lässt sich nicht regulieren. Die betroffene Zelle teilt sich unkontrolliert und ist zur Tumorzelle geworden. (Sawyers 1999) Hierbei wirkt nur ein einzelnes Onkogen (BCR/ABL) krankheitsauslösend. (Lugo 1990)

1.4.1 Ursachen und Risikofaktoren

Aktuell herrscht noch weitgehend Unklarheit über die genaue Ätiologie der chronisch myeloischen Leukämie. Jedoch wurde auch die CML als hämatologische Folgeerscheinung der Atombombenexplosionen in Japan beschrieben. Zuvor wurde in den 1920er Jahren gelegentlich eine der CML ähnliche, leukämogene Erkrankung bei medizinischen Mitarbeitern beschrieben, die beruflich mit Röntgenstrahlung oder Benzolen zu tun hatten. (Geary 2000)

1.4.2 Diagnostik der Leukämien

Die meisten CML-Erkrankungen fallen bei Routine-Blutuntersuchungen auf durch einen Anstieg der Leukozytenzahlen $> 10.000/\mu\text{l}$. Jedoch gibt es auch Patienten, die zum Zeitpunkt der Diagnosestellung symptomatisch sind. Hierbei fallen die Patienten mit Abgeschlagenheit, Schwäche, Appetitlosigkeit, Gewichtsverlust, Knochen-schmerzen oder Oberbauchbeschwerden bei Milzvergrößerung auf. Entscheidend für die Diagnose sind das Differentialblutbild und der morphologische Knochenmark-befund. Wobei zumeist stark erhöhte Granulozytenzahlen mit typischer Linksverschiebung der Granulopoese sichtbar werden. Die Sicherung der Diagnose wird erreicht durch Identifikation des Philadelphia-Chromosoms durch Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) oder des BCR/ABL-Transkripts mittels RT-PCR aus Blut oder Knochenmark. Meist findet sich bei den Patienten eine unterschiedlich stark ausgeprägte Splenomegalie, dazu erhöhte Thrombozytenzahlen, eine Basophilie und/ oder eine Anämie. (Hehlmann 2007)

1.4.3 Therapie

In den Anfängen der CML-Therapie im 19. Jahrhundert wurde viel experimentiert. Unter anderem gab es Therapieansätze mit Arsen, Senfgas, Beta-chloralkylamin, Milzentfernung und Strahlentherapie. (Geary 2000) Ein großer Fortschritt wurde 1953 mit dem synthetischen Alkylanz Busulfan (1,4-Butandiol-bis(methansulfonat)) erreicht, welches mit großer Zuverlässigkeit die Leukozytenanzahl senkt und so das

Blutbild normalisiert, jedoch bei Überdosierung zu irreversiblen Knochenmarkdepressionen führt und zahlreiche Nebenwirkungen aufwies (pulmonale-, hepatische- und kardiale Fibrose). (Silver 1999) In den 1970er Jahren kam noch Hydroxyurea, ein Zytostatikum, das die Ribonukleotidreduktase hemmt, zu den therapeutischen Möglichkeiten hinzu. Jedoch können mit Hydroxyurea nur hämatologische Remissionen erreicht werden, nicht zytogenetische. (von Bubnoff 2010) Erstmals wurde 1979 bei einem Patienten in Chronischer Phase nach einer Hochdosis-Chemoradiotherapie eine Knochenmarktransplantation durchgeführt. Der Spender war ein genetisch identischer Zwilling. (Fefer 1979) In den folgenden Jahren wurden allogene Knochenmarktransplantationen vor allem bei jungen Patienten durchgeführt, wenn es ein HLA-identisches Geschwister gab. Es wurde schnell klar, dass solche Transplantationen heilen oder zumindest den Krankheitsfortgang verzögern konnten, obwohl sie ein hohes Risiko für Infektionen und Abstoßungsreaktionen (graft-versus-host Disease) mit sich brachten. In den frühen 1980er Jahren konnte erstmals demonstriert werden, dass sich durch die Behandlung mit Interferon alpha (INF α) bei einigen wenigen Patienten in CP eine Ph-negativität und damit ein komplettes zytogenetisches Ansprechen (CCyR) erreicht werden konnte. (Kurzrock 1998)

Metaanalysen zeigen eine 5-Jahres-Überlebensrate von 57% für INF α gegenüber 42% bei Chemotherapie (Busulfan, Hydroxyurea). (Group 1997) Später wurde erkannt, dass durch INF α in Kombination mit dem Zytostatikum Cytarabin eine bessere zytogenetisches Ansprechen und längere Überlebenszeiten erreicht werden, als durch INF α allein. (Guilhot 1997) Bis Ende der 1990-er Jahre wurde neudiagnostizierten jungen CML-Patienten in CP eine allogene Stammzelltransplantation (allo-SCT) angeraten, wenn ein passender Spender gefunden werden konnte. Das Management der CML wechselte grundlegend, als 1998 Imatinib mesylat (2-Phenylaminopyridiminderivat (früher Signaltransduktionsinhibitor: STI571) Handelsname: Glivec® der Firma Novartis) in den USA zugelassen wurde. (Goldman 2007)

Imatinib ist ein Tyrosinkinaseinhibitor (TKI), der selektiv die Tyrosinkinasen ABL, ARG, PDGF-R α und β , deren Derivate, FMS und c-KIT hemmt. Imatinib ist chemisch so modifiziert, dass es mit ATP um die ATP-Bindungsstelle im ABL-Protein konkurriert. Dies blockiert die Fehlregulation der enzymatischen Funktion des

BCR/ABL-Onkoproteins. (Goldman 2009) Die Verabreichung des Wirkstoffs erfolgt oral und zeichnet sich durch eine geringe Toxizität aus. (Goldman 2007) Die häufigsten Nebenwirkungen sind Neutropenie, Thrombozytopenie, erhöhte Leberwerte und Flüssigkeitsretention. Vorwiegend treten diese Nebenwirkungen in den ersten beiden Therapiejahren auf. (von Bubnoff 2010) Bisher konnten sowohl in INF α -refraktärer chronischer Phase als auch in fortgeschrittenen Phasen hämatologische und zytogenetische Remissionen erreicht werden. In einer multizentrischen Phase-II-Studie konnte bei Patienten in INF α -refraktärer chronischer Phase nach durchschnittlich 18 Monaten Imatinibtherapie zu 95% eine komplette hämatologische Remission erreicht werden. (Hochhaus 2008)

In der IRIS-Studie wurden Patienten mit neu diagnostizierter CML in chronischer Phase randomisiert für den Imatinib-Arm oder den Interferon alpha plus Cytarabin-Arm. Die IRIS-Studie zeigte eine komplette zytogenetische Remission bei Patienten unter Imatinibtherapie in 69% der Fälle nach 12 Monaten und zu 87% nach 60 Monaten. (Druker 2006)

In Deutschland wurde Imatinib erst 2001 zugelassen. (von Bubnoff 2010) Der Standard für neudiagnostizierte Patienten in chronischer Phase ist derzeit eine Dosierung von 400 mg Imatinib täglich. (Goldman 2007) Bei Fehlschlägen der Standardtherapie oder sekundären Resistenzen durch Mutationen der BCR/ABL-Tyrosinkinase-Domäne wird derzeit die Therapie auf Tyrosinkinaseinhibitoren der 2. Generation (Dasatinib, Nilotinib) umgestellt. Bei jungen Patienten wird eine allo-SCT angestrebt, wenn ein geeigneter HLA-passender Spender gefunden wurde. (Goldman 2009) Die Häufigkeit der Resistenzentwicklung ist stadienabhängig und tritt mit Fortschreiten der Krankheit gehäuft auf. (Hochhaus 2008)

Die Zulassung für die Therapie der CML in chronischer und akzelerierter Phase erhielt Glivec® (Imatinib) am 7. November 2001 von der Europäischen Kommission für die gesamte Europäische Union. Diese Genehmigung wurde am 7. November 2006 verlängert. Ursprünglich wurde Glivec® unter „außergewöhnlichen“ Umständen zugelassen, da zum Zeitpunkt der Zulassung nur begrenzte Daten verfügbar waren. Dies geschah aufgrund der Seltenheit der betroffenen Krankheiten. Die „außergewöhnlichen Umstände“ wurden am 13. April 2007 aufgehoben.

Imatinib ist also zugelassen für die Therapie von Erwachsenen und Kindern mit neudiagnostizierter PH+ CML in chronischer Phase, für die eine Knochenmarkstransplantation als Erstbehandlungsmöglichkeit nicht in Betracht gezogen wird, sowie

nach Versagen einer Therapie mit INF alpha, in akzelerierter Phase und in Blastenkrise. (emeA 2009)

Nilotinib (Handelsname: Tasigna® der Firma Novartis) ist ein Abkömmling von Imatinib mit deutlich verbesserter ABL-Selektivität und höherer Bindungsaffinität zu BCR/ABL. In vitro zeigt sich eine ca. 30-fach höhere Aktivität als Imatinib. Nilotinib hemmt auch c-KIT, PDGFR- α , ARG und PDGFR-b, aber nicht die SRC-Familie, FLT-3, VEGFR, oder EGFR-Kinasen. Nilotinib ist in vitro gegen fast alle Imatinib-resistenten BCR/ABL-Mutanten außer T315I wirksam. (Kantarjian 2007) Die Einnahme erfolgt zweimal täglich 400 mg per os. (Goldman 2009)

Auch **Dasatinib** (Handelsname: Sprycel der Firma Bristol-Myers Squibb) ist ein Multikinaseinhibitor, der zusätzlich zu ABL, PDGFR α und β , und c-KIT auch die Kinasen der SRC-Familie inhibiert. Dasatinib ist in vitro gegen unmutiertes BCR/ABL etwa 300-fach stärker aktiv als Imatinib und hemmt alle Imatinib-resistenten BCR/ABL-Mutanten außer T315I. (Hochhaus 2008) Die tägliche Dosis beträgt 100 mg per os. (Goldman 2009)

Beide Zweitgenerationstyrosinkinaseinhibitoren sind seit 2011 auch für die Primärtherapie von Patienten mit neu diagnostizierter CML in chronischer Phase zugelassen. In Studien, in denen Nilotinib bzw. Dasatinib randomisiert gegen Imatinib verglichen wurden, zeigte sich unter Therapie mit den Zweitgenerations-TKI eine signifikant höhere Rate an zytogenetischen und molekularen Remissionen sowie eine niedrigere Rate an Progressionen zu einer AP bzw. Blastenkrise. (Saglio 2010) (Kantarjian 2010)

1.4.4 MRD - Monitoring

Der Nachweis des BCR/ABL-Fusionsgenes wurde zu einer wichtigen diagnostischen Methode bei CML und wird ebenso genutzt zur Überwachung des Therapieverlaufs und -optimierung. Bei den meisten CML Patienten treffen inzwischen eine komplette zytogenetische (CCyR) und oft auch molekulare Remission (MR) ein, wobei das Philadelphia Chromosom und/oder das BCR/ABL-Fusionsgen nicht mehr nachgewiesen werden können. Leukämische Zellen, die der Therapie entkommen,

sind die Grundlage des Krankheitsprogresses, der eine Bedrohung für den Patienten und eine große Herausforderung für die Kliniker darstellt. Deshalb ist es notwendig, den Therapieerfolg zu kontrollieren, gegebenenfalls frühzeitig eine minimale Resterkrankung (MRD) zu erkennen und die Therapie dem Krankheitsverlauf anzupassen. Derzeit werden verschiedene Untersuchungsmethoden zur Diagnostik und Überwachung des Krankheitsverlaufs bei CML genutzt, wie die zytogenetische Untersuchung des Knochenmarks (KM), die fluorescence in situ Hybridization (FISH) und real-time quantitative PCR (RTq-PCR). Bei einer konventionellen zytogenetischen Analyse werden Zellen aus dem KM hinsichtlich numerischer und struktureller Veränderungen hin unter dem Lichtmikroskop untersucht. Dies erlaubt eine eindeutige Identifizierung jedes Chromosomenpaares und eine Feinstrukturanalyse mittels Bandenfärbung. Die FISH-Analyse (molekulare Zytogenetik) ermöglicht die Identifizierung von submikroskopischen Chromosomenveränderungen. Dies geschieht mittels fluoreszierenden Sonden (einzelsträngige DNA-Stücke). Diese binden gezielt an den gesuchten DNA-Lokus und zeigen unter dem Fluoreszenzmikroskop ein farbiges Lichtsignal. Anzahl und Position der Lichtsignale im Präparat erlauben eine Interpretation des Befundes. FISH wurde einst zur Diagnostik der CML genutzt. (Lu 2010) Jedoch ist die Sensitivität von FISH-Untersuchungen nicht ausreichend genug als Verlaufsparemeter für eine MRD. (Deininger 2008; Lu 2010; Zhu 2010) Der PCR-basierte Nachweis des BCR/ABL-Transkripts wird derzeit als eine der besten Methoden zur Diagnosestellung einer CML betrachtet. Infolge der hohen Empfindlichkeit ist der quantitative PCR-Nachweis des BCR/ABL-Transkripts eine zuverlässige Methode zur Überwachung des Therapieerfolgs und zur frühzeitigen Erkennung eines Krankheitsrückfalls. (Wang 2006) Außerdem nimmt die relative Konzentration der BCR/ABL-Transkripte schon 1-3 Monate früher zu, bevor ein Krankheitsrückfall klinisch und zytogenetisch sichtbar wird. (Lu 2010)

Bisher galt der RTq-PCR-Test aus Knochenmarksaspirat als Goldstandard zur Kontrolle des Krankheitsverlaufs. Jedoch zeigten inzwischen Studien, dass die gemessenen BCR/ABL-Transkriptmengen aus KM zwar im Durchschnitt höher sind als die aus peripher entnommenen Blut (PB), aber beide den gleichen Schwankungen unterliegen. Somit lassen die Ergebnisse sowohl aus Knochenmarkproben als auch aus peripher entnommenem Blut gleich gut eine Beurteilung des MRD-Status zu. (Ballestrero 2010)

Empfehlungen zum Monitoring wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen erarbeitet, sie variieren jedoch nur leicht in ihren Erkenntnissen. Entscheidend für uns sind derzeit die Empfehlungen des European Leukemia Net (ELN) von 2009. Es werden als optimales Vorgehen nach Diagnosestellung einer CML wöchentliche bis zweiwöchentliche Blutbildkontrollen mit Differentialblutbild angesehen, bis zum Erreichen einer kompletten hämatologischen Remission (CHR). Im Anschluss sollen weitere Blutbildkontrollen alle 3 Monate durchgeführt werden.

Zusätzlich sollten Messungen der BCR/ABL-Transkriptmengen mittels qRT-PCR alle 3 Monate erfolgen, bis eine major molekulare Remission (MMR) erreicht und bestätigt wurde, anschließend weitere Messungen alle 6 Monate. (Deininger 2008) (Baccarani 2009) (von Bubnoff 2010) Im Jahr 2006 wurde der Vorschlag erbracht, zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse verschiedener Zentren untereinander einen International Scale (IS) für BCR/ABL-PCR Ergebnisse einzuführen. (Hughes 2006)

Die laboreigenen Methoden der RNA-Präparation, cDNA-Umschreibung und RT-PCR können dabei beibehalten werden, da die lokalen Ergebnisse in IS-Werte umgerechnet werden. Dazu wird ein Umrechnungsfaktor benötigt. Dieser entsteht durch den Vergleich von mehreren Blutproben, untersucht im eigenen Labor und in einem Referenzlabor. (Branford 2008) (Müller 2010) Bei einem deutlichen Anstieg der BCR/ABL-Last (> 5 fach) mit einem gleichzeitigen Verlust der molekularen Remission (MMR) wird eine Mutationsanalyse empfohlen. Jedoch sollte auch die Patientencompliance überprüft und gegebenenfalls die Neueinnahme von weiteren Medikamenten erfragt werden. Da Imatinib über CYP 3A4 abgebaut wird, kann es hierbei durch Wechselwirkung mit anderen Wirkstoffen zu einem verminderten oder verstärkten Abbau kommen. (Hochhaus 2009) Hierbei kann die Bestimmung der Imatinib-Plasmatalespiegel hilfreich sein.

1.4.5 Was sollte das Ziel der Therapie sein?

Unter der Standardtherapie mit INF α galt als Ziel das Erreichen einer kompletten zytogenetischen Remission (CCyR). Diese Patienten zeigten ein signifikant höheres Überleben mit 78% nach 10 Jahren. (Kantarjian 2003) Mit der Einführung von Imatinib entwickelten sich auch die Instrumente für ein besseres Monitoring der

Patienten. Unter all den Patienten, die ein CCyR erreichten, hatten jene die höchste Wahrscheinlichkeit eines anhaltenden Therapieansprechens, bei denen mittels PCR ein major molekulares Ansprechen (MMR) gezeigt werden konnte. (Cortes 2011) Ein MMR wird definiert als eine Abnahme der Tumorlast auf $\leq 0,1\%$ des Quotienten von BCR/ABL zum Kontrollgen nach internationalem Standard, wobei eine Mindestanzahl von 10 000 Kopien des Kontrollgens in der Probe erforderlich ist. (Hughes 2006)

Von einer kompletten molekularen Antwort (CMR) wird gesprochen, wenn keine BCR/ABL-Transkripte mittels PCR nachweisbar sind. Dies muss in zwei aufeinanderfolgenden Blutproben der Fall sein, bei adäquater Probenqualität (mind. 20 000 Kopien des Kontrollgens pro Probe). (Hehlmann 2007) In den Jahren nach Markteinführung von Imatinib wurde als Therapieziel das Erreichen eines sehr guten molekularen Ansprechens (CMR) angestrebt. (Baccarani 2008)

Ansprechen	Definition (CML CP, Therapie mit Imatinib)	Monitoring
CHR (PB)	<ul style="list-style-type: none"> - Leukozyten < 10 G/L - Thrombozyten < 450 G/L - Differenzialblutbild ohne granulozytäre Vorläufer - < 5% Basophile - Milz nicht tastbar 	alle 2 Wochen bis CHR, dann alle 3 Monate
zytogenetische Remission (Knochenmark)	<ul style="list-style-type: none"> - komplette (CCyR) 0% Ph+ - partiell (PCyR) 1 – 35% Ph+ - minor CyR 36 – 65% Ph+ - minimal CyR 66 – 95% Ph+ - keine CyR > 95% Ph+ 	Monat 3 und 6, dann alle 6 Monate bis CCyR erreicht und bestätigt
molekulare Remission (RTq-PCR, PB)	<ul style="list-style-type: none"> - komplett (MR4,5^{IS}) nicht detektierbar - major (MMR) BCR-ABL/Kontrollgen $\leq 0,1$ 	alle 3 Monate

Tab. 1 Definitionen der Remission – für das Monitoring der CML in CP unter Imatinib-therapie, modifiziert nach den Empfehlungen des ELN (Bubnoff 2010)

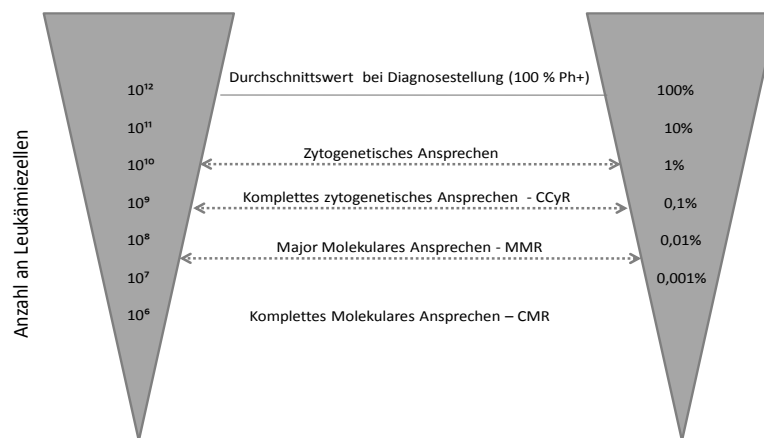


Abb. 2 Relation von Anzahl leukämischer Zellen zur Einstufung des Ansprechens (Baccarani 2008)

In den folgenden Jahren kam die Frage auf, ob das Erreichen eines MMR/CMR wirklich entscheidende Vorteile gegenüber einem stabil erreichten CCyR bringe, da unter der Therapie mit Imatinib mehr als 80 Prozent der Patienten ein stabiles CCyR erreichten. (Cortes 2011) Die Ergebnisse aus der IRIS-Studie zeigten, dass ein stabiles major molekulares Ansprechen eine wichtige prognostische Bedeutung hat im Hinblick auf ein langfristig progressionsfreies Überleben. (Hughes 2010) Vor allem wenn das erreichte MMR anschließend bestätigt und stabil bleibt. (Palandri 2009) Nach Empfehlungen des ELN für Imatinib Firstline-Patienten in CP soll das Ansprechen zu bestimmten Zeitpunkten definiert werden als optimal, suboptimal oder als Versagen.

Als optimales Ansprechen wird bezeichnet, wenn keine Indikationen zum Therapiewechsel vorliegen und eine Überlebensrate von nahezu 100% für die nächsten 6 Jahre zu erwarten ist. Ein suboptimales Ansprechen bedeutet, dass der Patient einen langfristigen Nutzen aus der Therapiefortführung ziehen kann, aber die Chancen auf ein optimales Ergebnis geringer sind, sodass bei Patienten mit suboptimalem Ansprechen ein Therapiewechsel zu einer alternativen Therapie in Erwägung gezogen werden sollte. Als Therapieversagen wird verstanden, wenn das

Erreichen eines positiven Therapieergebnisses unwahrscheinlich ist. In diesem Fall sollte der Patient wenn möglich eine alternative Behandlung erhalten. Für ein optimales Ansprechen sollte der Patient nach 18 Monaten Imatinibtherapie ein MMR erreicht haben. Bei Nichterreichen eines MMR nach 18 Monaten Therapie, wird von einem suboptimalen Ansprechen ausgegangen. Dies gilt auch für den Fall eines MMR Verlustes. (Baccarani 2009)

Einige noch andauernde Studien deuten daraufhin, dass bei Patienten mit einem stabilen kompletten molekularen Ansprechen über einen Zeitraum von mehr als 2 Jahren die Möglichkeit besteht, die Therapie mit Imatinib zu pausieren ohne einen anschließenden Rückfall zu erleiden. Allerdings konnten mehr als 50% dieser Patienten ihr CMR nicht aufrechterhalten. Somit wird eine Unterbrechung der Imatinibtherapie außerhalb von Studien derzeit nicht empfohlen. (Mahon 2010) Es wird derzeit das Erreichen eines stabilen MMR und CMR als wichtige Zielsetzung in der Therapie der CML angesehen. (Hughes 2010) Die derzeitigen Empfehlungen beziehen sich nur auf Patienten, die nach Diagnosestellung direkt auf Imatinib eingestellt wurden.

1.5 IRIS – International Randomized Study of Interferon versus STI571

Diese Studie ist eine randomisierte, klinische Phase 3 Studie. Sie vergleicht 400 mg/d Imatinib versus Interferon alpha (täglich 5 Millionen Einheiten/m² Körperoberfläche) plus Cytarabin (als 10 Tage Zyklus jeden Monat, mit täglicher Dosis von 20 mg pro m² Körperoberfläche) bei Patienten mit einer neudiagnostizierten CML in chronischer Phase (n = 553 ursprünglich in jeder Gruppe). Aufgenommen wurden Patienten im Alter von 18 bis 70 Jahren, Studienbeginn war Juni 2000.

Folgende Kriterien mussten erfüllt sein: im peripheren Blut und Knochenmark weniger als 15% Blasten, Blasten und Promyelozyten zusammen im PB und KM weniger als 30%, Basophile im PB weniger als 20%, mindestens 100.000/mm³ Thrombozyten und keine extramedulläre leukämische Beteiligung außer Milz oder Leber. (O'Brien 2003) Die Patienten durften vor Studieneintritt keine anerkannte CML-Therapie erhalten haben. Erlaubt war aber eine Therapie mit Hydroxyurea oder Anagrelide. (Druker 2006) Auch wurden jene Patienten von vornherein aus der

Studie ausgeschlossen, für die ein Geschwister als Stammzellspender zur Verfügung stand. Ausschlusskriterien waren: Bilirubin > 1,5-fach erhöht (ULN), SGPT und SGOT > 1,5-fach erhöht (ULN), INR und PTT > 1,5-fach erhöht, Kreatinin > 1,5-fach erhöht, NYHA III oder IV, unbehandelte Erkrankungen wie Diabetes mellitus, Schilddrüsenfunktionsstörungen, Neuropsychiatrische Erkrankungen, Schwangerschaft oder Stillen. Desweiteren durften keine weiteren malignen Erkrankungen innerhalb der letzten 5 Jahre aufgetreten sein, außer Basalzell-Karzinom oder ein Carcinoma in situ der Zervix. (Group 1997)

Patienten aus dem INF α -Arm konnten jederzeit in den Imatinib-Arm wechseln, wenn sie nach 6 Monaten Therapie keine komplette hämatologische Remission (CHR) erreicht hatten oder nach 12 Monaten kein MCyR. Weitere Gründe für einen Wechsel in den Imatinib-Arm waren ein Krankheitsrückfall, eine Erhöhung der weißen Blutkörperchen oder eine Unverträglichkeit der Therapie. Die am häufigsten genannten Gründe für ein Ausscheiden aus dem INF α /Cytarabin-Arm waren ein Widerruf der Einwilligung und unerwünschte Ereignisse. (Druker 2006) Im Verlauf der Studie wechselten 65% der Patienten (318) aus dem INF α / Ara-C-Arm in den Imatinib-Arm (Secondline-Imatinibtherapie). Somit war ein zuverlässiger Vergleich bezüglich des Überlebens zwischen den beiden Therapiearmen nicht möglich. Bei Patienten, die Imatinib als First- oder Secondline erhielten und darunter eine CCyR erreichten, wurde die BCR/ABL-Transkriptmenge serienmäßig mittels RTq-PCR gemessen.

Die Ergebnisse wurden als log Reduktion in BCR-ABL/BCR angegeben, in IS. Die nachfolgenden Ergebnisse stammen aus einer Publikation aus dem Jahr 2006. Ein major molekulares Ansprechen wurde definiert als eine Reduktion der Transkriptmenge um mehr als 3 log Stufen. (Breccia 2012) Die Firstline-Imatinib Patienten(n=382) sprachen zu 81% und die Secondline-Imatinib Patienten (n=239) zu 73% mit einem MMR an. Das Ansprechen lag nach 12 Monaten in der Firstline-IM-Gruppe bei 36%, nach 24 Monaten bei 59%, nach 48 Monaten bei 67% und nach 60 Monaten bei 85%. In der Secondline-IM-Gruppe lagen die Ansprechraten nach 12 Monaten bei 24%, nach 24 Monaten bei 38%, nach 48 Monaten bei 67% und nach 60 Monaten bei 82%. (Hochhaus 2006)

1.6 CML/002/STI571-Studie der GIMEMA-Arbeitsgruppe

Das Protokoll und die Behandlungspläne dieser Phase 2-Studie wurden von der italienischen CML-Studiengruppe (Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Adulto [GIMEMA]) entworfen und in der Durchführung unterstützt. Novartis stellte Imatinib hierfür kostenlos zur Verfügung. In diese prospektive Studie wurden Patienten mit einer Ph+ CML in CP eingeschlossen, die zuvor keine Imatinibtherapie erhalten und an keiner ähnlichen Studie teilgenommen hatten.

Als in Chronischer Phase wurden Patienten eingestuft mit weniger als 15 Prozent Blasten, weniger als 20 Prozent basophiler Granulozyten und weniger als 30 Prozent Blasten inklusive Promyelozyten im peripheren Blut oder Knochenmark und einer Thrombozytenanzahl von mindestens 100.000 pro Kubikmillimeter. Da als weitere Bedingung für einen Einschluss in die Studie eine Vortherapie mit Interferon α galt, befanden sich die Patienten zum Zeitpunkt des Studienbeginns in einer späten chronischen Phase (LCP). Für den Studieneinschluss war es nötig, eine INF α -Resistenz (entweder hämatologisch oder zytogenetisch) oder Intoleranz nachzuweisen.

Als weiteres Kriterium für den Einschluss in die Studie galt ein Mindestalter von 18 Jahren. Im Mittel lag das Alter der Studienteilnehmer bei 53 Jahren (18 bis 82 Jahre). Die Dauer der Erkrankung vor Therapiebeginn mit Imatinib lag bei 1 bis 202 Monaten (im Mittel 38 Monate). (Palandri 2008) Als laborchemische Ausschlusskriterien galten eine Erhöhung der Aminotransferasen, des Bilirubins und des Serum-Kreatinins um mehr als das Doppelte der oberen Grenze des Normwertes. Frauen im gebärfähigen Alter mussten einen negativen Schwangerschaftstest vor Imatinib-Therapiebeginn nachweisen und eine sichere Empfängnisverhütung anwenden.

Ausgeschlossen wurden Patienten mit einer Herzinsuffizienz, die als NYHA III oder IV eingestuft wurden. (Kantarjian 2002)

Die tägliche Therapiedosis lag bei 400 mg Imatinib, mit wenigen Ausnahmen, bei denen eine Dosissteigerung auf 600 oder 800 mg nötig wurde. Insgesamt wurden 295 Patienten im Zeitraum von Juli 2000 bis Juni 2001 in die Studie eingeschlossen. 18 Patienten wurden nicht in die Auswertung mit einbezogen, da wichtige Daten für die Auswertung fehlten. Somit beziehen sich die Ergebnisse der Studie auf die Daten von 277 Patienten. Diese Studie wurde in Übereinstimmung mit der Deklaration von

Helsinki durchgeführt. Die nachfolgenden Ergebnisse stammen aus einer Publikation aus dem Jahr 2008. Zytogenetische Untersuchungen des Knochenmarks fanden vor der Therapie statt und anschließend nach 3, 6 und 12 Monaten, nachfolgend dann alle 6 bis 12 Monate. Bei Patienten, die unter der Therapie ein CCyR erreichten, wurde anschließend alle 3 bis 6 Monate die Resterkrankung mittels RQ-PCR aus peripheren Blutzellen kontrolliert. Ein major molekulares Ansprechen wurde definiert als eine Reduktion der Transkriptmenge unter 0,1% IS. Wohingegen nicht nachweisbare BCR/ABL-Transkriptmengen als BCR-ABL/ABL- Verhältnis kleiner 0,001% IS gewertet wurden. Ein CMR war definiert als nicht nachweisbare BCR/ABL-Transkriptmenge mit einer RQ-PCR Sensitivität von 10^{-6} . Die Patienten sprachen unter einer Secondline-IM-Therapie (n = 277) zu 29% mit einem MMR nach 3 Monaten an, zu 70% nach 36 Monaten und das Ansprechen blieb bei 68% während der folgenden 48-60 Monaten. (Palandri 2008)

1.7 Fragestellung

Ausgehend von den Ergebnissen der großen randomisierten Studien (IRIS Studie/ GIMEMA Studie) stellte sich die Frage nach deren Vergleichbarkeit zur durchschnittlichen CML-Patientenpopulation eines Universitätsklinikums mit großem ländlichen Einzugsgebiet. Hier soll es vor allem um den Vergleich der Ergebnisse von Studien mit stark selektioniertem Patientengut zu einer unselektionierten Patientenpopulation aus hämatologischen Arztpraxen und Klinikambulanzen (Universitäten und nicht-universitäre Häuser) gehen. Unser Labor führte für ca. 80% der an CML Erkrankten in Mecklenburg-Vorpommern die molekulare Diagnostik und das Therapiemonitoring mittels qRT-PCR durch. Von diesen Ergebnissen ausgehend, sollte die Frage geklärt werden, inwieweit das molekulare Ansprechen in dieser unselektionierten Patientenkohorte vergleichbar ist zu den Ergebnissen in IRIS. Vorrangig soll im Rahmen dieser Doktorarbeit untersucht werden, ob es Unterschiede gibt im molekularen Ansprechen auf die Therapie mit Imatinib zwischen Patienten in Firstline-Imatinib-Therapie gegenüber Patienten, die mit Interferon alpha vorbehandelt sind.

2 Material und Methoden

Eingeschlossen in die Beobachtung wurden Patienten mit der gesicherten Diagnose Ph+ CML, welche sich zum einen in der Klinik für Innere Medizin C der Universitätsklinik Greifswald oder deren Ambulanz in Behandlung befanden. Zum anderen wurden Patienten in die Auswertung mit eingeschlossen, die von niedergelassenen Onkologen, Internisten oder in anderen Kliniken in Mecklenburg-Vorpommern betreut wurden und die zum regelmäßigen Monitoring der Erkrankung Blutproben an das Labor der Hämatookologie der Universitätsklinik Greifswald schickten. Insgesamt wurden 88 Patienten in die Studie eingeschlossen, davon 33 Patienten mit einer Secondline-Imatinibtherapie und 55 Patienten mit einer Imatinib-Erstlinientherapie. Somit handelt es sich um eine retrospektive Studie.

Ursprünglich umfasste die Gruppe, die Imatinib als Zweitlinientherapie erhielt, 72 Patienten. Jedoch mussten 39 Patienten aus der Beobachtung ausgeschlossen werden. Bei 17 Patienten wurden weniger als 3 Proben während des Beobachtungszeitraums eingesendet. Weitere 19 Patienten erhielten kurz nach der Therapieumstellung auf Imatinib eine allogene Stammzelltransplantation. Bei drei Patienten fehlten Angaben zum Therapieverlauf.

2.1 Patientenkollektiv – Secondline-Imatinibtherapie

Das Patientenkollektiv umfasste 33 Patienten, welche zwischen 1988 und 2005 an einer chronisch myeloischen Leukämie in chronischer Phase erkrankten. Die Diagnosesicherung erfolgte anhand des Nachweises des BCR/ABL-Fusionsgenes mittels RT-PCR aus Blut und/ oder Knochenmark. Bedingung für den Einschluss in die Untersuchung war eine Ersttherapie mit Hydroxyurea (HU) und/ oder Interferon alpha (INF α) und ein späterer Therapiewechsel zu Imatinib. Zusätzliche Therapie mit Cytarabin, Busulfan oder Idarubicin zur Erstlinientherapie waren ebenfalls erlaubt. Als Ersttherapie wurde vor allem eine Kombination aus HU und INF α (18 Patienten) genutzt. Weitere Therapiekombinationen kamen zur Anwendung: HU/ INF α / Cytarabin (8 Pat.), HU/ INF α / Busulfan (1 Pat.), nur HU (5 Pat.), nur INF (1 Pat.), und bei 3 Patienten kam noch eine Therapie mit Idarubicin hinzu.

Eine allogene Stammzelltransplantation, Ersttherapie mit Imatinib, Dasatinib oder Nilotinib galten als Ausschlusskriterium. Die Beobachtung umfasste einen Zeitraum von der Diagnosestellung (06/1988 – 10/2005) bis zum 30.06.2010.

2.2 Patientenkollektiv – Firstline-Imatinibtherapie

In die Gruppe Firstline-Imatinibtherapie wurden alle Patienten eingeschlossen, die nach Diagnosestellung einer Ph+ CML eine Erstlinientherapie mit Imatinib begannen. Eine zuvor kurzfristige Vorbehandlung (maximal 3 Monate) mit Hydroxyurea war zulässig. Als Ausschlusskriterien galten eine allogene Stammzelltransplantation, diskontinuierliche Imatinib Einnahme oder eine Therapie mit Interferon α vor Therapiebeginn mit Imatinib. Im Beobachtungszeitraum, der die Zeitspanne ab der Zulassung von Imatinib in Deutschland im Jahr 2002 bis März 2010 umfasst, wurden 55 Patienten nach Diagnosestellung einer CML in CP direkt auf Imatinib eingestellt. Prinzipiell wurden in beiden Gruppen jene Patienten aus der Betrachtung ausgeschlossen, von denen nicht regelmäßig Blutproben (alle 3-6 Monate) zur PCR eingesandt wurden oder solche mit Therapieunterbrechungen von mehr als 3 Monaten.

2.3 Datenerfassung und Datenauswertung

Im Rahmen der Routineversorgung von Patienten mit CML entnahmen die betreuenden niedergelassenen Onkologen regelmäßig (alle 3-6 Monate) peripheres Blut. Diese Blutprobe wurde gemeinsam mit einem Begleitschein in das hämatoonkologische Labor der Klinik Innere C des Universitätsklinikums Greifswald gesendet. In diesem Vordruck wurden Daten zum Patienten, zum Erstdiagnosezeitpunkt, zum Krankheitsverlauf der CML und seiner bisherigen Therapie erbeten (siehe Anhang).

2.4 Methoden

2.4.1 quantitative RT-PCR

Die Polymerasekettenreaktion (Polymerase Chain Reaktion, PCR) ist eine Methode zur Vervielfältigung spezifischer DNA-Sequenzen mittels in vitro durchgeführter DNA-Replikation. Sie ahmt dabei das natürliche Prinzip der DNA-Replikation nach. Mit dieser Methode lassen sich kleinste Mengen von DNA vermehren und so eindeutig nachweisen. Die quantitative Real-Time-PCR beruht nun auf dem Prinzip der herkömmlichen PCR-Methode, jedoch kann hierbei die gewonnene DNA quantifiziert werden. Mittels Fluoreszenz-Messungen wird die Quantifizierung gleich während eines PCR-Zyklus durchgeführt. Hierfür wird ein Referenzgen (c-ABL) mit gemessen. Die Quantifizierung erfolgt jeweils am Ende eines jeden Zyklus über eine Fluoreszenzmessung. Die Fluoreszenz nimmt mit der Menge der PCR-Produkte proportional zu. (Holzapfel 2007)

2.4.2 Statistik und Einsatz statistischer Verfahren

Für die Datenerfassung und statistische Auswertung wurde das Programm Microsoft Office Excel 2007 verwendet. Die Ergebnisse werden entweder als Median oder in prozentualen Anteilen von der Gesamtmenge der zum jeweiligen Parameter erfassten Daten angegeben. Eine weitere Auswertung erfolgte mit dem Programm IBM SPSS Statistics 20. Hierbei wurde für die meisten Parameter der sogenannte Rangsummentest nach Wilcoxon durchgeführt, desweiteren wurden Chi-Quadrat-Test nach Pearson, Exakter Test von Fisher, Kaplan-Meier-Schätzer und Log-Rank-Test angewendet. Als signifikant werteten wir Ergebnisse mit $p < 0,05$.

3 Ergebnisse

3.1 Demographische Daten

Die insgesamt 88 beobachteten Patienten teilen sich in 33 Patienten mit einer Imatinibtherapie nach einer Vortherapie mit INF α (Secondline-IM Therapie) und in 55 Patienten, die nach Diagnosestellung als Erstlinientherapie Imatinib (Firstline-IM Therapie) erhielten.

3.2 Patientenkollektiv – Secondline-Imatinibtherapie

Wie in Tabelle 2 sichtbar, setzte sich das Patientenkollektiv aus 20 Männern und 13 Frauen zusammen. Der Altersmedian bei Diagnosestellung betrug bei den Männern 56 Jahre und bei den Frauen 55 Jahre. Im Mittel betrug die Dauer der Therapie vor Umstellung auf Imatinib 49 Monate. Getrennt betrachtet ergab dies bei den Männern 40,5 Monate und bei den Frauen 80 Monate.

	männlich [20]	weiblich [13]
Alter zu Diagnosestellung (Jahre)	56 [Range: 30,73]	55 [Range: 36,64]
Alter zu Beginn der Therapie mit Imatinib (Jahre)	60,5 [Range: 31,74]	64 [Range: 37,70]
Dauer der Therapie vor Imatinibbeginn (Monate)	40,5 [Range: 5, 153]	80 [Range: 9,225]

Tab. 2 Patientenalter bei Diagnosestellung und Imatinibtherapiebeginn und die Dauer der Vortherapie

Die Umstellung der betrachteten Patienten erfolgte von April 2001 an bis Juli 2009, dies zeigt Abb. 3.

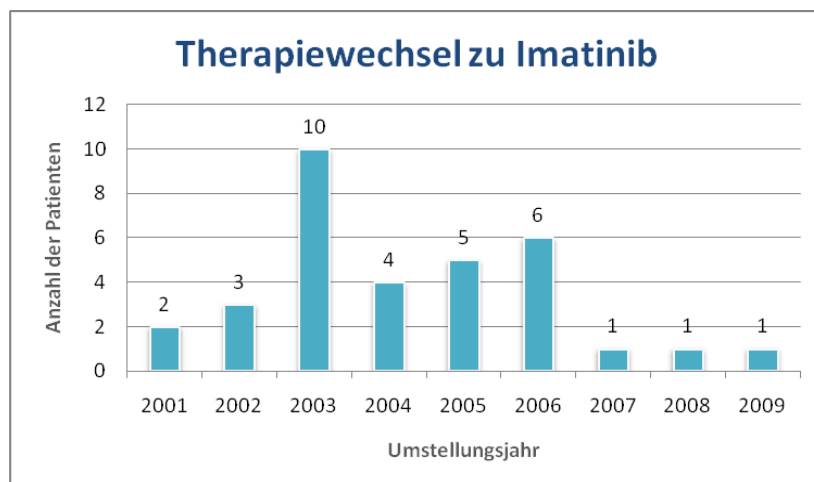


Abb. 3 Anzahl der Patienten pro Jahr die von der INF α Therapie zu Imatinib wechselten

Die Patienten wurden nach Therapieumstellung auf Imatinib im Mittel 62 Monate beobachtet [Range: 2; 110]. Von den insgesamt 33 Patienten konnten 4 Patienten weniger als 18 Monate betrachtet werden [2; 6; 11; 14]. Wird die Therapiedauer mit Imatinib hinsichtlich des Ansprechens betrachtet, so nahmen die 17 Patienten, die mit einem MMR angesprochen haben, im Mittel 65 Monate [Imatinib Start bis MMR; Range: 11; 110] und die 16 Nichtangesprochenen 47 Monate [Imatinib Start bis Beobachtungsende 30.06.2010; Range: 2; 109] lang Imatinib ein.

Vor Erreichen des Beobachtungsendes am 30.06.2010 beendeten 11 Patienten vorzeitig ihre Therapie mit Imatinib. Gründe dafür waren bei 4 Patienten eine allogene Stammzelltransplantation. Weitere 2 Patienten wechselten zu einer Therapie mit einem Zweitgenerations-TKI (Nilotinib, Dasatinib) wegen fehlendem Ansprechen unter Imatinibtherapie. Eine Patientin unterbrach für unbestimmte Zeit die Therapie, da sie ein stabiles MMR erreicht hatte. Wegen einer Zweittumorerkrankung und deren Therapie beendete ebenfalls ein Patient die Einnahme von Imatinib. Ein weiterer Patient ist verstorben, die Ursache dafür war retrospektiv nicht zu klären. Zwei weitere Patienten beendeten Ihre Therapie vorzeitig, als Grund wurde einmal „kein Interesse mehr“ angegeben, bei dem anderen Patienten ist die Ursache unklar.

3.3 Patientenkollektiv – Firstline-Imatinibtherapie

Das Kollektiv teilt sich in 33 Männer und 22 Frauen mit einem medianen Erkrankungsalter von 50 Jahren [Range: 19; 78] bei den Männern und 57,5 Jahren [Range: 36; 78] bei den Frauen. Der Beobachtungszeitraum nach Beginn mit Imatinib betrug im Mittel 33 Monate [Range: 12; 89], davon wurden 9 Patienten weniger als 18 Monate nachbetrachtet. Bei 11 Patienten führten verschiedene Gründe zu einem vorzeitigen Therapieende mit Imatinib. Ursache dafür war bei 5 Patienten eine allogene Stammzelltransplantation, davon bei 4 Patienten mit stabilem MMR zur Sicherung eines Progressionsfreien Überlebens und bei einem Patienten wegen fehlendem Ansprechen. Weitere 2 Patienten wechselten zu einer Therapie mit Nilotinib (TKI der 2. Generation) wegen mangelnden Ansprechens unter Imatinib. Wegen zu starker Nebenwirkungen beendeten weitere 2 Patienten die Therapie. Des Weiteren verstarben 2 Patienten an einem nicht CML-assozierten Tod.

3.4 Demographische Daten im Vergleich

Tab. 3 zeigt die Altersverteilung zu Beginn der Imatinibtherapie in Bezug auf die einzelnen Therapiegruppen, das Geschlecht und für das gesamte Patientenkollektiv. Wird die Altersverteilung der beiden beobachteten Therapiegruppen insgesamt betrachtet, so ergibt sich ein medianes Alter von 56 Jahren. Des Weiteren wurde das mediane Alter, getrennt auf beide Geschlechter, betrachtet. Dabei ergab sich bei den Frauen insgesamt ein Altersmedian von 61 Jahren und bei den Männern von 54 Jahren. Dies ergab eine Verteilung von 35 Frauen und 53 Männern. Die Gruppe der Secondline-IM-Patienten umfasste 13 Frauen (39%) und 20 Männer (61%). Bei den Firstline-IM-Patienten ergab sich eine Verteilung von 22 Frauen (40%) und 33 Männern (60%).

	Firstline- Imatinib-Therapie (Median)	Secondline- Imatinib-Therapie (Median)	Gesamt (Median)
Alter bei Imatinibbeginn insg. (Jahre)	51 [Range: 19; 78]	63 [Range: 31; 74]	56 [Range: 19; 78]
Alter bei Diagnosestellung (Jahre)	51 [Range: 19; 78]	55 [Range: 30; 73]	52,5 [Range:19; 78]
Alter zu Imatinibbeginn Frauen (Jahre)	57,5 [Range: 36; 78]	64 [Range: 37; 70]	61 [Range: 36; 78]
Alter zu Imatinibbeginn Männer (Jahre)	50 [Range: 19; 78]	60,5 [Range: 31; 74]	54 [Range: 19; 78]
Frauen	22	13	35
Männer	33	20	53

Tab. 3 Verteilung von Alter und Geschlecht in den Therapiegruppen

3.5 Vergleich molekulares Ansprechen First- vs. Secondline-Imatinib-therapie

Im Anschluss zeigt die folgende Tab. 4 das molekulare Ansprechen der beiden Patientengruppen auf die Therapie mit Imatinib. Als molekulares Ansprechen haben wir in unserer Studie das Erreichen einer stabilen MMR definiert. Eine stabile MMR liegt vor, wenn in Proben mit 10000 c-ABL-Kopien die BCR/ABL/c-ABL-Ratio $\leq 0,1\%$

ist und wenn gleichzeitig in mehr als 50 Prozent der nachfolgenden Proben eine MMR vorlag.

stabiles MMR erreicht nach Monaten	Firstline-Imatinib- Therapie (Ansprechen in % (n))	Secondline-Imatinib- Therapie (Ansprechen in % (n))
12	38 (55)	6 (32)
24	60 (35)	15 (29)
48	76 (21)	45 (22)
60	78 (16)	52 (17)

Tab. 4 Ansprechen mit MMR auf eine Imatinibtherapie nach 12, 24, 48 und 60 Monaten

Das Ansprechen der Secondline-IM-Patienten betrug nach 12 Monaten 6% (24 Mon. 15%, 48 Mon. 45%) und 52% nach 60 Monaten.

Von den 55 Patienten die eine Imatinibtherapie direkt nach Diagnosestellung (Firstline-IM-Patienten) begonnen haben, hatten 38% nach 12 Monaten mit einem stabilen MMR angesprochen (24 Mon. 60%, 48 Mon. 76%, 60 Mon. 78%).

Damit ist das molekulare Ansprechen in der Gruppe der IM-Firstline-Patienten signifikant höher als bei den Patienten die Imatinib erst als Zweitlinientherapie erhielten ($p < 0,009$, Exakter Test von Fisher).

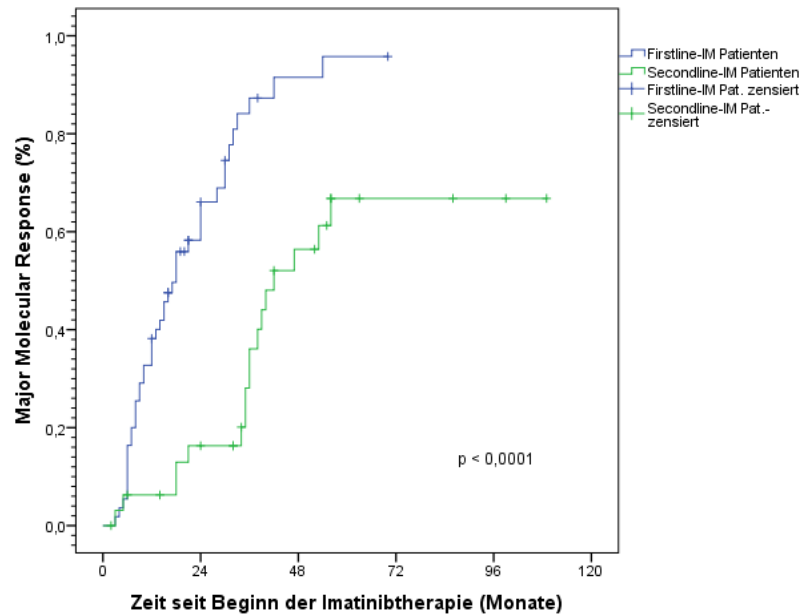


Abb. 4 Kaplan Meier Schätzer für ein Major Molekulares Ansprechen

Die Abb. 4 zeigt das Ansprechen mit einem MMR auf die Imatinibtherapie in beiden Therapiegruppen in Abhängigkeit von der Zeit. Mit dem anschließend durchgeführten Log-Rank-Test wurde das Ansprechen der Secondline-Imatinib-Patienten nochmals zu dem der Firstline-Imatinib-Patienten verglichen. Auch hier ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,0001$, Log-Rank Test).

Jedoch zeigt sich hier nicht nur, dass die Firstline-IM-Patienten wesentlich häufiger auf die Imatinibtherapie mit einem MMR ansprechen (78% vs. 52% nach 5 Jahren, $p < 0,0001$, Log-Rank Test), sondern auch früher (Median: 13 vs. 36 Monate, $p < 0,0001$, Log-Rank Test).

In Abb. 5 stellt sich das Ansprechen mit einem MR4 dar, einzeln betrachtet für beide Beobachtungsgruppen.

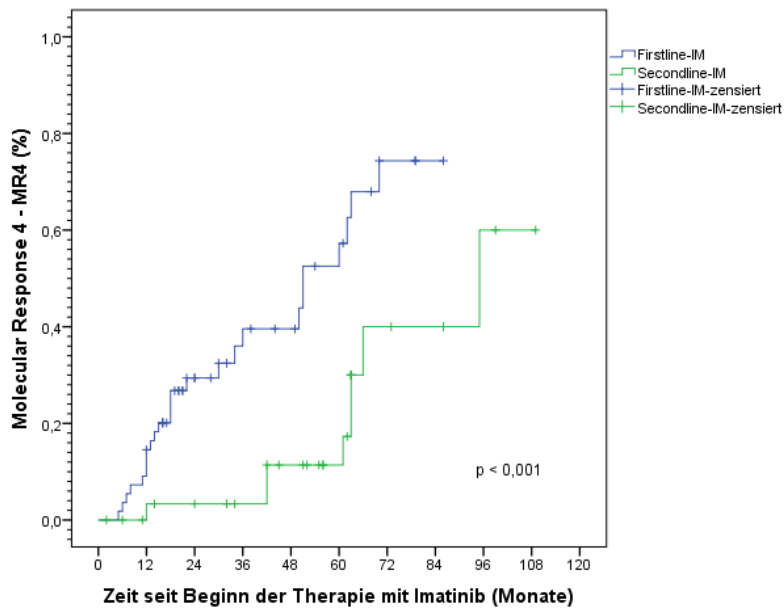


Abb. 5 Kaplan Meier Schätzer für ein MR4

Als MR4 wird definiert, wenn $< 0,01$ BCR-ABL/c-ABL [IS] in der Probe detektierbar sind bei einer Probenqualität von mindestens 10 000 Kopien. So sprachen in der Secondline-IM-Gruppe nach 12 Monaten 3%, nach 48 Monaten 6,1% und nach 95 Monaten 24% der Patienten mit einem MR4 an.

Demgegenüber waren es in der Firstline-IM-Gruppe nach 12 Monaten 12,7%, nach 24 Monaten 15%, nach 48 Monaten 34,5%, nach 60 Monaten 41,8% und nach 95 Monaten 47,3%. Im Mittel wurde das MR4 nach 62 Monaten von den Patienten der Secondline-IM-Gruppe und nach 18 Monaten von den Firstline-IM-Patienten erreicht. In der Gruppe der Firstline-IM-Patienten wurde eine MR4 signifikant häufiger (42% vs. 6% nach 5 Jahren, $p < 0,001$) und signifikant früher (Median: 18 vs. 62 Monate, $p < 0,001$, Log-Rank-Test) erreicht, als in der Gruppe der Secondline-IM-Patienten.

Im Folgenden zeigt sich in Tabelle 5 das Ansprechen mit einem CMR auf die Therapie mit Imatinib. Ein CMR definiert sich als Fehlen von nachweisbaren BCR/ABL-Transkripten in mindestens 2 aufeinanderfolgenden Proben (ca. 3 monatiger Abstand) mit einer Probensensitivität von mindestens 20000 enthaltenen c-ABL-Kopien.

Erreicht wurde ein CMR in der Gruppe der Secondline-IM-Patienten bis zum Beobachtungszeitpunkt nach 60 Monaten nicht. Im weiteren Beobachtungsverlauf erreichte ein Patient (3%) nach 75 Monaten aus der Secondline-IM-Gruppe ein CMR. Aus der Gruppe der Firstline-IM-Patienten erreichten nach 12 Monaten 1,8%, nach 24 Monaten 9,1%, nach 48 Monaten 12,7% und nach 60 Monaten 14,5% der Patienten ein CMR.

Somit wurde in der Firstline-IM-Gruppe ein CMR signifikant häufiger (15% vs. 0% nach 5 Jahren) und signifikant früher (Median 26 vs. 75 Monate, $p < 0,006$, Log-Rank-Test) erreicht als in der Gruppe der Secondline-IM-Patienten.

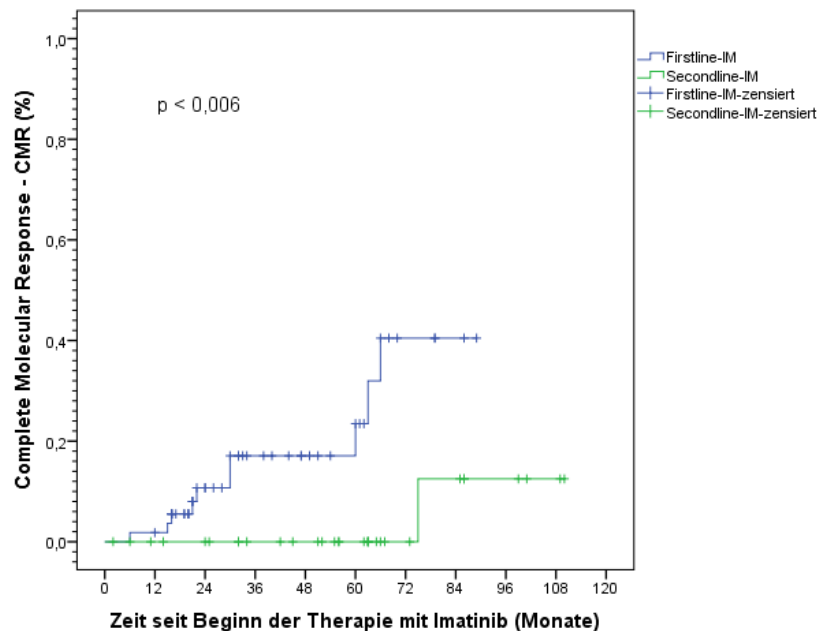


Abb. 6 Kaplan Meier Schätzer für das Erreichen eines CMR

In Tab. 5 wurde das Ansprechen mit einem MMR, MR4 und CMR nebeneinander dargestellt.

	Secondline Imatinib Patienten (n=33)	Firstline Imatinib Patienten (n=55)	p
MMR (Anzahl und Prozent)	17 (52%)	43 (78%)	< 0,0001
Eintreten des MMR Median (in Monaten)	36 [Range: 3; 56]	13 [Range: 3; 54]	< 0,0001
MR4 (Anzahl und Prozent)	8 (24%)	26 (47%)	< 0,001
Eintreten des MR4 Median (in Monaten)	62 [Range: 12; 95]	18 [Range: 5; 70]	< 0,001
CMR (Anzahl und Prozent)	1 (3%)	10 (18%)	< 0,006
Eintreten des CMR Median (in Monaten)	75	26 [Range: 6; 66]	< 0,006

Tab. 5 Ansprechen mit MMR, MR4 und CMR

Betrachtet wurde das molekulare Ansprechen auf die Therapie innerhalb der beiden Gruppen in Bezug auf das Alter bei Imatinibtherapiebeginn. So zeigt sich bei den Firstline-IM-Patienten ein Altersmedian von 51 Jahren [Range: 19, 78]. Bei den bis zu 51-jährigen zeigt sich ein Ansprechen mit einem MMR zu 75,9% und zu 80,8% bei den über 51-jährigen nach 5 Jahren ($p = 0,203$).

In der Gruppe der Secondline-IM-Patienten lag der Altersmedian bei 63 Jahren zu Beginn der Imatinibtherapie. So zeigt sich im Verlauf der Therapie ein molekulares

Ansprechen von 64,7% bei den bis zu 63-jährigen und bei den über 63-jährigen zu 37,5% nach einer Beobachtungszeit von 5 Jahren ($p = 0,254$).

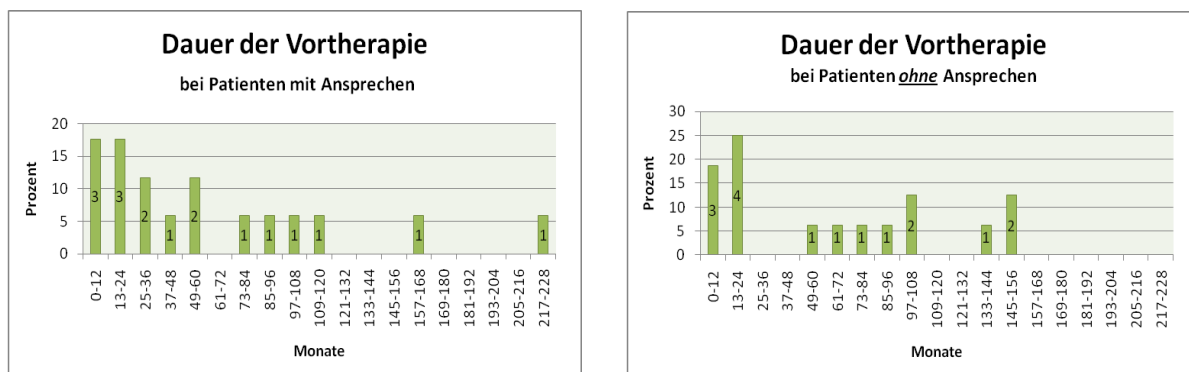


Abb. 7 Vortherapielänge in Abhängigkeit zum späteren Major Mol. Ansprechen auf Imatinib

Untersucht wurde auch die Länge der Vortherapie (HU, INF α , Cytarabin, Idarubicin, Busulfan) bei den Secondline-IM-Patienten in Bezug auf das molekulare Ansprechen. Dies zeigt Abb. 7.

So ergab sich eine Vortherapiedauer von im Mittel 45 Monaten [Range: 5; 225] bei den Patienten, die auf eine Imatinibtherapie nach 5 Jahren mit einem MMR angesprochen haben und bei den Patienten ohne MMR von 61,5 Monaten [Range: 6; 153].

Trotz der stark unterschiedlichen Vortherapiezeiten, gibt es keinen signifikanten Unterschied in der Dauer der Vortherapie zwischen der Gruppe der mit einem MMR angesprochenen Patienten und der nicht angesprochenen Patienten ($p = 0,796$; Mann-Whitney U-Test).

Das Event-freie Überleben (EFS) stellt sich in beiden Therapiegruppen, Secondline-IM-Therapie und Firstline-IM-Therapie, ähnlich dar. (Abb. 8; $p = 0,355$; Log-Rank Test) Als Event galten ein Krankheitsfortschritt in die Akzelerierte Phase, Blastenkrise, ein molekulares Rezidiv oder der Tod.

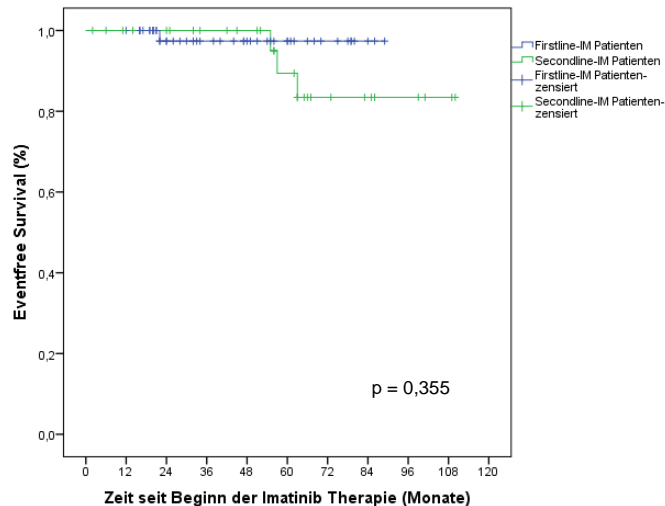


Abb. 8 Kaplan Meier Schätzer für Event freies Überleben – Als Event galt ein Krankheitsfortschritt in die AP, BC, ein Rezidiv und der Tod.

Es traten in der Secondline-IM-Gruppe 3 Events auf (2 Rezidive und ein nicht CML-assoziiertes Tod) und ein Event (nicht CML - assoziiertes Tod) in der Firstline-IM-Gruppe. Dabei ergibt sich ein EFS nach 5 Jahren Imatinib Einnahme von 89% und nach 6 Jahren von 83% bei den Secondline-IM-Patienten. Dagegen liegt bei den Firstline-IM-Patienten das EFS bei von 97% nach 6 Jahren Imatinib Einnahme.

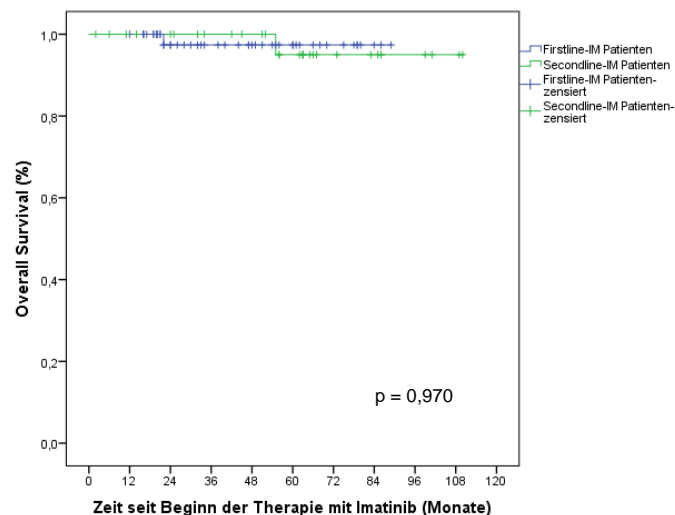


Abb. 9 Kaplan Meier Schätzer der Überlebensrate (Overall Survival) – Als Event galt der Tod.

Die vorausgehende Abb. 9 zeigt das Overall survival (OS) unter Imatinibtherapie. Hierbei galt als einziges Eventkriterium der Tod. Das OS zeigt einen ähnlichen Verlauf in beiden Patientengruppen ($p = 0,970$; Log-Rank Test). Es war jeweils ein

nicht-CML assoziierter Tod in jeder Therapiegruppe beobachtet worden. Daher ergibt sich ein OS von 94% in der Secondline-IM-Gruppe und zu 97% in der Firstline-IM-Gruppe nach 6 Jahren.

3.6 Vergleich molekulares Ansprechen der bis zu 50-Jährigen vs. der über 50-Jährigen

Nachfolgende Abbildung 10 zeigt das molekulare Ansprechen in Abhängigkeit zum Alter bei Imatinibtherapiebeginn in der Secondline-IM-Gruppe. Es wurde das molekulare Ansprechen der bis zu 50-Jährigen mit den über 50-Jährigen verglichen. Dabei stellte sich im durchgeführten Log Rank Test kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen dar. ($p = 0,267$; Log-Rank Test) Die bis zu 50-jährigen sprachen nach 12 Monaten noch nicht mit einem MMR an (24 Mon. 25%, 36 Mon. 50%). Hingegen sprachen die über 50-jährigen nach 12 Monaten zu 9% mit einem MMR an (24 Mon. 12%, 36 Mon. 30%).

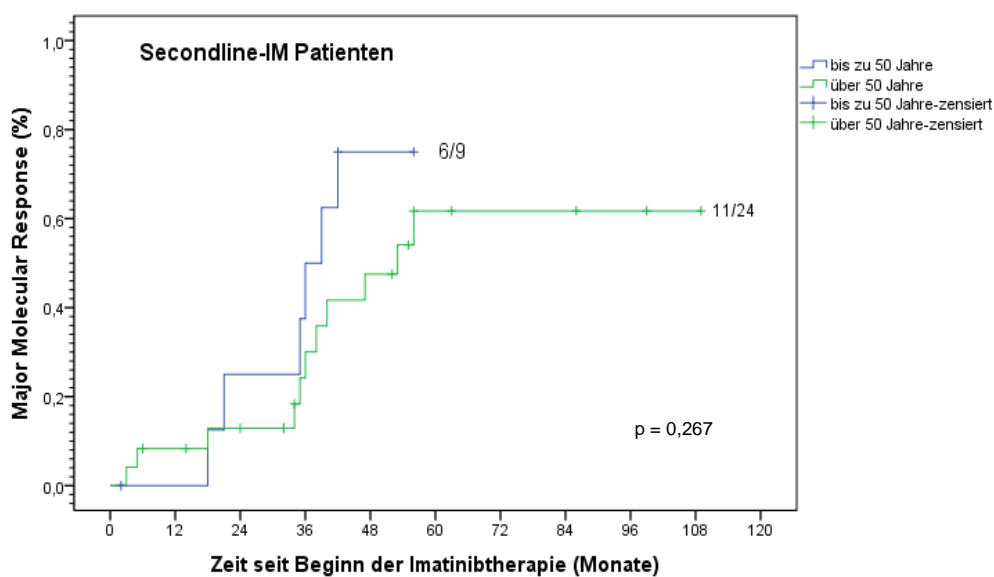


Abb. 10 Kaplan Meier Schätzer – kumulatives Major Molekulares Ansprechen unter Imatinibtherapie bei Secondline-IM-Patienten (n=33) in Abhängigkeit vom Alter

In Abb. 11 stellt sich ebenfalls das Ansprechen in Abhängigkeit zum Alter bei Imatinibtherapiebeginn dar, jedoch für die Firstline-IM-Patienten. Auch hier wurde das Ansprechen der bis zu 50-Jährigen mit den über 50-Jährigen verglichen.

Dabei ergab sich ein signifikant frühzeitigeres Ansprechen bei den bis zu 50-Jährigen gegenüber den älteren Patienten ($p < 0,032$; Log-Rank Test). Jedoch ist die Ansprechhäufigkeit in beiden Altersgruppen gleich ($p = 0,943$; Chi-Quadrat Test).

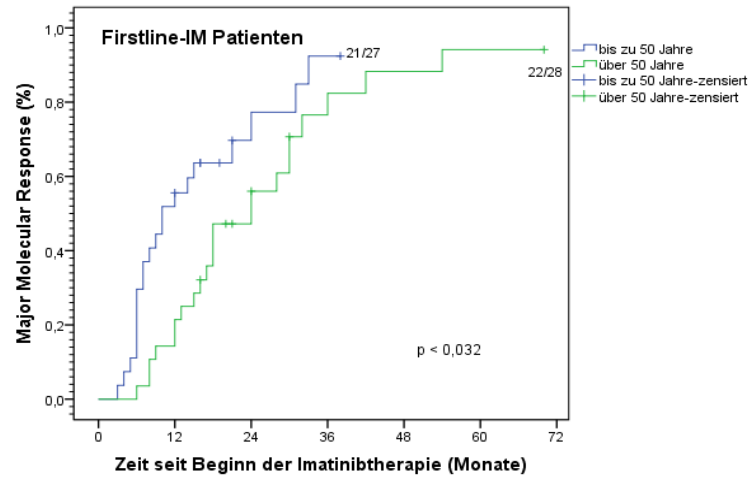


Abb. 11 Kaplan Meier Schätzer – kumulatives Major Molekulares Ansprechen unter Imatinibtherapie bei Firstline-IM-Patienten (n=55) in Abhängigkeit zum Alter

Bei den bis zu 50-Jährigen hatten nach 12 Monaten Imatinibtherapie schon 55% der Patienten angesprochen (24 Mon. 78%, 36 Mon. 93%), im Gegensatz dazu bei den über 50-Jährigen nach 12 Monaten 21% (24 Mon. 57%, 36 Mon. 83%).

4 Diskussion

Die Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren veränderte maßgeblich die Lebenserwartung von Patienten mit der Diagnose CML. Ursprünglich wurde Imatinib eingeführt für Patienten, die unter Interferon alpha ein Therapieversagen erlitten. Inzwischen gilt Imatinib als Therapie der 1. Wahl bei Patienten mit einer neudiagnostizierten CML (Goldman 2007) aufgrund der sehr überzeugenden Ergebnisse im Ansprechen und Überleben. (Druker 2006) (Hochhaus 2006)

Offen bleibt aber die Frage, wie CML Patienten auf Imatinib ansprechen, wenn sie über einen längeren Zeitraum mit Hydroxyurea und/oder INF α vortherapiert wurden. Hierfür wurden zum einen CML-Patienten, die eine Vortherapie vor Umstellung auf Imatinib erhielten, betrachtet und zum anderen CML-Patienten, die als Erstlinientherapie auf Imatinib eingestellt wurden. Des Weiteren stellt sich die Frage, ausgehend von den Ergebnissen der großen randomisierten Studien (IRIS-Studie/ Studie der GIMEMA-Arbeitsgruppe), nach deren Vergleichbarkeit zur durchschnittlichen CML-Patientenpopulation eines Universitätsklinikums mit großem ländlichem Einzugsgebiet. Hier soll es vor allem um den Vergleich der Ergebnisse von Studien mit stark selektioniertem Patientengut zu einer unselektionierten Patientenpopulation aus hämatologischen Arztpraxen und Klinikambulanzen (Universitäten und nicht-universitäre Häuser) gehen. Von diesen Ergebnissen ausgehend soll die Frage geklärt werden, inwieweit das molekulare Ansprechen in dieser unselektionierten Patientenkohorte vergleichbar ist zu den Ergebnissen großer Studien wie IRIS.

4.1 Diskussion der demographischen Daten

Beide Beobachtungsgruppen sind homogen in Bezug auf das Geschlecht. So befinden sich in der Gruppe der Secondline-IM-Patienten zu 39% Frauen und 61% Männer. Eine fast identische Verteilung zeigt sich bei den Firstline-IM-Patienten mit einem Frauenanteil von 40% und 60% Männern. (IRIS Firstline: 62% Männer, 38% Frauen (Hughes 2010) GIMEMA Secondline: 51% Männer, 49% Frauen (Palandri 2008)) Männer erkranken häufiger an einer CML als Frauen, die Männer-Frauen-

Rate beträgt 1,3 bis 1,8. (Rohrbacher 2009) Somit handelt es sich hinsichtlich der Geschlechterverteilung um eine repräsentative Patientengruppe.

In Bezug auf das Patientenalter bei Imatinibtherapiebeginn verhalten sich beide Gruppen verschieden. Der Altersmedian der gesamten Gruppe lag zu Beginn der Imatinibtherapie bei 56 Jahren. (IRIS: 50 Jahre, (Druker 2006) (Rohrbacher 2009)) In den einzelnen Gruppen betrachtet, lag er bei 51 Jahren [19,78] in der Firstline-IM-Gruppe (IRIS: Firstline-IM-Patienten: 48 Jahre (Kantarjian 2011)) und bei 63 Jahren [31,74] in der Secondline-IM-Gruppe (GIMEMA: 52Jahre [18,82] (Palandri 2008)) Bei unseren Patienten fiel zusätzlich auf, dass der Altersmedian bei den Frauen höher war. So waren in der Firstline-IM-Gruppe die Frauen im Mittel 7,5 Jahre älter und 3,5 Jahre in der Secondline-IM-Gruppe. Dies lag vor allem daran, dass in unserer doch recht kleinen Beobachtungspopulation mehrere jung erkrankte Männer in der Firstline-IM-Gruppe vertreten waren. Dennoch besteht eine Vergleichbarkeit der Alters- und Geschlechterverteilung unserer Firstline-IM-Gruppe zu den IRIS-Firstline-IM-Patienten sowie unserer Secondline-IM-Patienten zu denen der GIMEMA-Studie.

4.2 Diskussion des molekularen Ansprechens bei First- vs. Secondline-Imatinibtherapie

Im molekularen Ansprechen auf die Therapie mit Imatinib ergibt sich ein deutlicher Unterschied zwischen Firstline-IM- und Sekondline-IM-Therapie ($p < 0,0001$). In den European Leukemia Net – Empfehlungen aus dem Jahr 2009 wird als Therapieziel ein stabiles MMR gefordert. (Baccarani 2009) In unserer Firstline-IM-Gruppe erreichten mehr Patienten ein solch stabiles MMR als in der Sekondline-IM-Gruppe. Vor allem aber wird dieses wichtige Therapieziel deutlich früher erreicht (Median: Firstline-IM-Therapie nach 13 Monaten vs. 36 Monaten bei Secondline-IM-Therapie). So erreichten in der Secondline-IM-Gruppe nur 52% nach insgesamt 5 Jahren ein stabiles MMR. Im Gegensatz dazu lag in der Firstline-IM-Gruppe das Major Molekulare Ansprechen bei 78% nach gleicher Zeit. Im Vergleich dazu zeigen die Daten aus der IRIS-Studie ein sehr ähnlich gutes Ansprechen für die Firstline-IM-Patienten nach 5 Jahren (IRIS: 81%, (Kaeda 2006). Jedoch sprachen die Secondline-IM-Patienten der italienischen Studie etwas besser auf Imatinib an

(GIMEMA: 68%, (Palandri 2008)), als in unserer Secondline-IM-Vergleichsgruppe. Auch zeigt sich in den verschiedenen veröffentlichten Studien ein prinzipiell etwas schlechteres Ansprechen der Secondline-IM-Patienten im Vergleich zu den Firstline-IM-Patienten. (Kaeda 2006) (Saussele 2009)

Von den Patienten die ein MMR erreichten, sprachen einige sogar mit einer weiteren Reduzierung des BCR-ABL/c-ABL-Quotienten auf die Therapie mit Imatinib an und erreichten damit ein MR4. Dies waren in der Secondline-IM-Gruppe 24% (8/33) und 47% (26/55) (IRIS: 54%) in der Firstline-IM-Gruppe. (Kaeda 2006) (Hochhaus 2006) Bei einem Patienten (3%; 1/33) in der Secondline-IM-Gruppe konnten nach 75 Monaten Imatinibtherapie keine BCR-ABL-Transkripte mehr nachgewiesen werden (GIMEMA: 1/277 (Palandri 2008)). Ein solches CMR erreichten in der Firstline-IM-Gruppe 10 Patienten (Gesamt: 18%, 10/55; nach 24 Monaten: 9%, 5/55). (IRIS: Firstline 10% nach 24 Monaten (Cortes 2011))

Unsere Firstline-IM-Patienten zeigten im Vergleich zu den Firstline-IM-Patienten der IRIS-Studie ein gleich gutes Ansprechen auf die Therapie mit einem MMR, MR4 und CMR. Jedoch zeigt sich bei unseren Secondline-IM-Patienten ein geringeres Ansprechen auf die Imatinibtherapie, als bei den Secondline-IM-Patienten der GIMEMA-Studie. Daraus ergibt sich die Frage, wodurch das schlechtere Ansprechen der hiesigen Patienten gegenüber den Patienten in der GIMEMA-Studie zustande kommt. Dazu schrieben Trask und Mitra 2012, dass unter „real-world“ Bedingungen die Ansprechraten generell niedriger ausfielen, als sie zuvor in klinischen Studien beobachtet worden sind. In solchen retrospektiven bevölkerungsbezogenen Studien wird die Population der Erkrankten nicht selektiert in Bezug auf Alter oder zusätzlichen Vorerkrankungen (siehe Studiendesign der GIMEMA-Studie S.16). Durch die strengeren Aufnahmekriterien in Studien befindet sich eine gesündere Gruppe von Patienten in ihnen. Differenzen können ebenfalls zustande kommen durch die strengere Einhaltung der Therapiemaßnahmen bei Studienpatienten durch stärkere Motivation. (Trask 2012) Ebenso unterscheidet sich das mittlere Patientenalter um 10-20 Jahre zwischen klinischen Studien und Auswertungen aus Krebsregistern. (Rohrbacher 2009) Dazu wurde in beiden Beobachtungsgruppen das Ansprechen in Bezug auf das Alter betrachtet. Pletsch beschrieb 2009, dass Ansprechraten bei älteren Patienten niedriger ausfielen und unerwünschte Nebenwirkungen häufiger auftreten. Dies deckt sich prinzipiell mit unseren Beobachtungen. So zeigte sich, dass die Patienten in der Secondline-IM-Gruppe im

Durchschnitt älter als die Firstline-IM-Patienten zu Therapiebeginn mit Imatinib waren. Das persönliche Alter des einzelnen Patienten ließ jedoch keine sichere Prognose auf sein eigenes Ansprechverhalten zu. Die Auswirkungen der Therapienebenwirkungen waren nicht Gegenstand dieser Arbeit, jedoch lagen uns die Daten vor.

Innerhalb der Gruppe der Secondline-IM-Patienten untersuchten wir das molekulare Ansprechen in Abhängigkeit von der Dauer der Vortherapie. Hier zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Jedoch hatten die Secondline-IM-Patienten in der GIMEMA-Studie (GIMEMA: Median: 38 Monate [1, 202] (Palandri 2008)) im Mittel eine kürzere Vortherapiedauer als die hiesigen Patienten mit im Mittel 49 Monaten. Dies könnte ein Grund für das schlechtere Ansprechen sein im Vergleich zu den Ergebnissen der Studie. Jedoch sprachen sehr vereinzelt auch Patienten mit einer sehr langen Vortherapie mit INF α (225 Monate) auf Imatinib mit einem stabilen MMR an. Weiter fiel auf, dass unsere Secondline-IM-Patienten großteils erst verzögert mit einer major molekularen Remission ansprachen, sich dies jedoch im weiteren Verlauf kontinuierlich verbesserte. So hatten nach 24 Monaten Therapie erst 15% der Patienten eine MMR erreicht (GIMEMA: 29% nach 3 Mon.; 70% nach 36 Mon.).

Im Gegensatz dazu sprachen die Firstline-IM-Patienten zügig auf die Imatinibtherapie an. Nach 24 Monaten hatten bereits 60% eine MMR. Das ELN schlägt bei Firstline-IM-Patienten in CP vor, bei einem fehlenden MMR nach 18 Monaten von einem suboptimalen Ansprechen auszugehen, eine Mutationsanalyse durchzuführen und eine alternative Therapie zu erwägen. (Hughes 2009)

Eine solche Empfehlung lässt sich nicht auf die hiesigen Secondline-IM-Patienten übertragen. Deshalb sollte die Indikation zu einer Therapieumstellung aufgrund eines verzögerten molekularen Ansprechens bei Patienten unter IM-Secondlinetherapie sehr kritisch überprüft werden. Während bekannt ist, wie wichtig ein frühzeitiger Wechsel auf einen anderen TKI (Dasatinib, Nilotinib) bei Versagen einer Imatinib-Firstlinetherapie ist, so bleibt es weiterhin umstritten, wie eine korrekte weitere Therapie bei suboptimalem Ansprechen für die Patientenpopulation unter Imatinib-Secondlinetherapie aussehen sollte. (Breccia 2012) Der Vorteil eines frühzeitigen Ansprechens liegt bei einem niedrigeren Risiko für einen Krankheitsprogress. (Cortes 2011) Es wäre zu überlegen, ob die CML Patienten, die vor der Imatinibtherapie eine Therapie mit INF α erhielten, differenzierter betrachtet werden sollten hinsichtlich einer Einstufung ihres Ansprechens nach 18 Monaten und deren Konsequenzen.

Bei unseren Secondline-IM-Patienten sprachen erst nach 48 Monaten Imatinibtherapie 45% der Patienten mit einer stabilen MMR an. Bei den Firstline-IM-Patienten hatten nach 24 Monaten Imatinibtherapie bereits 60% der Patienten angesprochen. Somit wäre zu überlegen, ob die Entscheidung hinsichtlich eines Therapiewechsels bei suboptimalem Ansprechen nach 18 Monaten bei Secondline-IM-Patienten erst zu einem späteren Zeitpunkt getroffen werden sollte.

Im weiteren Verlauf zeichnet sich bei beiden Therapiegruppen (First-/Secondline-IM) ein ähnliches Event-freies Überleben (EFS) ab ($p = 0,355$). Ein EFS von 89% zeigte sich nach 5 Jahren und 83% nach 6 Jahren bei den Secondline-IM-Patienten. Dagegen fand sich bei den Firstline-IM-Patienten ein EFS von 97% nach 6 Jahren. (IRIS: 83% nach 5 Jahren (Druker 2006)) Die Kriterien für Ereignisse (Events: Krankheitsfortschritt in AP oder BC, Tod jeglicher Ursache, Rezidiv) wurden analog der Definition in den IRIS–Studien Auswertungen verwendet, gleiches gilt für das OS. (Hughes 2009)

Im Gegensatz dazu zeigt sich ein wesentlich besseres EFS bei unseren Firstline-IM-Patienten als in der IRIS-Studie gezeigt. Der Grund für diesen Unterschied dürfte am ehesten die sehr geringe Anzahl an Events (1) in unserer kleinen Beobachtungspopulation (55) sein.

Das Overall Survival stellt sich in beiden Beobachtungsgruppen ebenfalls sehr ähnlich dar ($p = 0,970$). In der Secondline-IM-Gruppe zeigt sich ein Überleben von 94% und in der Firstline-IM-Gruppe von 97% nach 6 Jahren. (GIMEMA: Secondline-IM-Pat. 91% nach 6 Jahren (Palandri 2008) und IRIS: Firstline-IM-Pat. 89% nach 5 Jahren (Druker 2006)) Hier zeigen unsere Ergebnisse, wie auch die aus der IRIS-Studie und der GIMEMA-Studie ein sehr gutes Langzeitüberleben.

Somit ist eine kontinuierliche Therapie mit Imatinib eine sichere und effektive Wahl für CML-Patienten in CP als Erstlinientherapie und nach Versagen von Interferon alpha. (Hochhaus 2008) (Guilhot 2009)

Insgesamt ließen sich nur wenige Veröffentlichungen über das molekulare Ansprechen von Secondline-Imatinib Patienten finden, im Gegensatz zur guten Studienlage bei Patienten mit einer Firstline-Imatinibtherapie. Daraus ergeben sich die Fragestellung dieser Arbeit und ihre Bedeutung.

4.3 Diskussion des molekularen Ansprechens der bis zu 50-Jährigen vs. der über 50-Jährigen

Pletsch beschrieb, dass in seinen Beobachtungen die über 65-Jährigen ein MMR später erreichten, als die unter 65-Jährigen. (Pletsch 2009) Dies zeigte sich bei unseren Patienten nicht. Jedoch fiel bei unseren Firstline-IM-Patienten auf, dass die bis zu 50-Jährigen im Durchschnitt deutlich eher mit einem MMR auf die Therapie mit Imatinib ansprachen ($p < 0,032$), aber nicht häufiger ($p = 0,943$). Somit kam es bei den über 50-Jährigen zu einem zeitlich verzögerten Ansprechen. In der Gruppe der Secondline-IM-Patienten konnte dies nicht beobachtet werden ($p = 0,267$). Das verzögerte molekulare Ansprechen der älteren CML-Patienten scheint aber keinen wesentlichen Einfluss auf das Gesamtüberleben zu haben, dies zeigen auch andere Studien. (Pletsch 2009) Oft wird das zunehmende Alter der Patienten als ein wichtiges Entscheidungskriterium für die Wahl der Therapie in der täglichen Praxis genutzt. Eine epidemiologische Umfrage im Jahr 2006 im Süden Deutschlands (Bayern) ergab, dass 25,8% der älteren CML-Patienten nur Hydroxyurea erhielten, 7,6% nur $INF\alpha$, 59% Imatinib und 10,2% Imatinib in Kombination mit HU oder $INF\alpha$. Das mittlere Alter der Befragten betrug 64 Jahre, und sie nahmen an keiner Studie teil. Seit Einführung von Imatinib zeigen die Ergebnisse der Studien, dass das Alter nicht mehr als Risikofaktor für ein schlechteres Ansprechen gewertet werden kann. Inzwischen deutet alles daraufhin, dass die schlechtere Prognose von älteren Patienten vor Einführung der Imatinibtherapie auf die Nebenwirkungen zurückzuführen ist und nicht auf das biologische Ansprechverhalten älterer an CML erkrankter Menschen. Somit gibt es keinen Grund, ältere Patienten nicht mit TKIs zu behandeln, da die langfristigen Ergebnisse ähnlich sind wie bei jüngeren Patienten. (Rohrbacher 2009)

4.4 Diskussion der Fehlermöglichkeiten

Die oben genannten Ergebnisse aus unseren retrospektiv erhobenen Daten müssen unter dem Gesichtspunkt betrachtet werden, dass es sich um die Daten einer sehr kleinen Patientenpopulation (88 Patienten) handelt. Im Gegensatz dazu ist die IRIS-Studie, in der pro Behandlungsarm ursprünglich 553 Patienten randomisiert wurden

(GIMEMA-Studie 277 Patienten), sehr viel größer. Dies kommt durch die geringe Bevölkerungsdichte des Umlandes unserer Klinik zustande und durch ein teilweise fehlendes oder sehr unregelmäßiges molekulares Monitoring durch den niedergelassenen behandelnden Arzt. Zusätzlich können die Ergebnisse verzerrt sein, da einige Patienten aus der Beobachtung ausgeschlossen werden mussten, wegen fehlenden Angaben zur Therapie. Große randomisierte Studien wie IRIS oder die GIMEMA CML-Studie haben den Vorteil, dass ihre Ergebnisse objektivierbar sind, da die Therapiekontrollen nach festgelegten Schemata mit festen Zeitintervallen ablaufen und die Probanden keine gravierenden Zweiterkrankungen haben. Im Gegensatz dazu erhielten wir unsere Blutproben zur Therapiekontrolle in unregelmäßigeren Abständen von den niedergelassenen Ärzten und schlossen keine Patienten aufgrund von weiteren Erkrankungen aus unserer Beobachtung aus. Daher ist die Vergleichbarkeit unserer Ergebnisse mit denen aus großen Studien schwierig. (Trask 2012) Jedoch sind unsere Ergebnisse interessant, da sie sich eher auf eine allgemeine Erkrankungspopulation übertragen lassen, als Ergebnisse aus randomisierten Studien. Zusätzlich muss bei dem Vergleich unserer Ergebnisse mit denen aus IRIS bedacht werden, dass sich die Population der Studienpatienten aus verschiedenen Ursprungsländern (USA, Deutschland, Australien, Neuseeland) zusammensetzt, im Gegensatz zu unseren Patienten. (Hughes 2010) (Trask 2012) Auch besteht die Möglichkeit, dass unsere Ergebnisse zum Overall Survival verzerrt sein könnten, da wir nicht immer sicher sein können, dass ein Patient, bei dem kein molekulares Monitoring mehr stattfindet, verstorben ist.

Trotz der oben genannten Einschränkungen ist es bemerkenswert, dass das molekulare Ansprechen insbesondere bei der IM-Firstlinetherapiegruppe unserer Studie durchaus vergleichbar mit den Ergebnissen der IRIS-Studie ist. (Kaeda 2006) Ebenso wie in der Studie der GIMEMA Arbeitsgruppe zeigen unsere Ergebnisse der Secondline-IM-Therapiegruppe ein schlechteres Ansprechen gegenüber Firstline-IM-Therapie-Studien, jedoch zeigen sich diese Unterschiede nicht mehr bei der Betrachtung des Langzeitüberlebens (OS). (Palandri 2008)

Damit konnten wir zeigen, dass die Einführung von Imatinib zur Behandlung von Patienten mit CML auch in der Routineversorgung eines Flächenlandes wie Mecklenburg-Vorpommern zu einer erheblichen Verbesserung von Therapieansprechen und ereignisfreiem Überleben geführt hat.

5 Zusammenfassung

Bis vor einigen Jahren galt die chronisch myeloische Leukämie (CML) als eine Erkrankung mit schlechter Prognose. Nach Einführung des Tyrosinkinaseinhibitors Imatinib stieg jedoch die 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 50-70% unter früher üblicher Interferon alpha basierter Standardtherapie auf etwa 90%. (Saussele 2012) So zeigt sich klar die therapeutische Überlegenheit von Imatinib – zumindest bei Studienpatienten mit einer neudiagnostizierten CML in chronischer Phase. Jedoch bleibt offen, wie vergleichbar diese Studienergebnisse gegenüber neuerkrankten CML-Patienten außerhalb von Studienbedingungen sind. Ebenso stellt sich die Frage nach dem Ansprechen auf die Imatinibtherapie bei CML-Patienten, die über einen längeren Zeitraum mit Interferon alpha/ und Hydroxyurea vorbehandelt wurden. Zur Klärung dieser Fragestellungen betrachtete ich das molekulare Ansprechen auf die Therapie mit Imatinib bei Patienten mit einer Imatinibtherapie als Erstlinientherapie und bei Patienten, die Imatinib nach einer Vortherapie mit INF α / und Hydroxyurea erhielten. Dabei zeigte sich, dass das major molekulare Ansprechen (MMR) bei den Patienten im Firstline-Imatinibtherapiearm unserer Studie genauso gut ist wie in der International Randomized Study of Interferon Versus STI571 (IRIS). Im Gegensatz dazu zeigt sich bei unseren Patienten des Secondline-Imatinibtherapiearms ein deutlich schlechteres molekulares Ansprechen als in der Gruppe der Firstline-IM-Therapie. Aber auch im Vergleich zu Secondline-IM-Patienten aus Studien schneiden unsere Secondline-IM-Patienten schlechter ab. Hierfür kommen als Ursache einige Unterschiede zwischen unseren Patienten zu denen aus der GIMEMA-Studie/ IRIS-Studie in Frage. So waren unsere Patienten im Secondline-Imatinibtherapiearm älter und hatten eine längere Vortherapie erfahren als die Vergleichsgruppe in der GIMEMA-Studie. Zumal es in unserer Patientenpopulation keine Ausschlusskriterien hinsichtlich Nebenerkrankungen und Lebensalter über 70 Jahre gab. Der Vergleich des Langzeitüberlebens zeigte keine Unterschiede zwischen unseren Patienten und denen aus IRIS und der GIMEMA-Studie, dies gilt für den Firstline- und Secondline-Imatinibtherapiearm. Hierbei muss aber beachtet werden, dass unsere Imatinibtherapiearme wesentlich kleinere Patientenzahlen aufweisen als in den Vergleichsstudien und uns nur eingeschränkte Informationen über das

hämatologische und zytogenetische Ansprechen vorliegen. Insgesamt besteht ein deutlich niedrigeres und verspätetes major molekulares Ansprechen bei unseren Patienten im Secondline-Imatinibtherapiearm gegenüber dem Firstline-Imatinibtherapiearm unserer Studie. Wir konnten in den vorliegenden Untersuchungen keine klare Ursache identifizieren. Als Möglichkeiten kommt eine längere Therapie vor Imatinibbeginn, vermehrt Begleiterkrankungen die eine effektive Therapie erschweren und eine größere Zurückhaltung der behandelnden Ärzte in Frage. Bei der Bewertung dieser Ergebnisse muss berücksichtigt werden, dass unsere Daten außerhalb von Studienbedingungen erhoben wurden. Daher erfolgten die molekularen Kontrollen nicht in eng gefassten Zeitintervallen und der Einschluss der Patienten in unsere Untersuchung unterlag keiner Selektion. Somit sind unsere Ergebnisse vor allem für die tägliche Praxis interessant, da sie die Reaktion auf die Imatinibtherapie in einer allgemeinen Erkrankungspopulation widerspiegeln.

Referenzen

- Baccarani, M., Cortes, J., et al.** (2009). "Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet." J Clin Oncol **27**(35): 6041-6051.
- Baccarani, M., Pane, F., et al.** (2008). "Monitoring treatment of chronic myeloid leukemia." Haematologica **93**(2): 161-169.
- Baccarani, M., Saglio, G., et al.** (2006). "Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet." Blood **108**(6): 1809-1820.
- Ballestrero, A., Cirmena, G., et al.** (2010). "Peripheral blood vs. bone marrow for molecular monitoring of BCR-ABL1 levels in chronic myelogenous leukemia, a retrospective analysis in allogeneic bone marrow recipients." Int J Lab Hematol **32**(4): 387-391.
- Branford, S., Fletcher, L., et al.** (2008). "Desirable performance characteristics for BCR-ABL measurement on an international reporting scale to allow consistent interpretation of individual patient response and comparison of response rates between clinical trials." Blood **112**(8): 3330-3338.
- Breccia, M., Alimena, G.** (2012). "How to treat CML patients in the tyrosine kinase inhibitors era? From imatinib standard dose to second generation drugs front-line: Unmet needs, pitfalls and advantages." Cancer Lett.
- Cortes, J., Hochhaus, A., et al.** (2011). "Front-line and salvage therapies with tyrosine kinase inhibitors and other treatments in chronic myeloid leukemia." J Clin Oncol **29**(5): 524-531.
- Deininger, M. W.** (2008). "Milestones and monitoring in patients with CML treated with imatinib." Hematology Am Soc Hematol Educ Program: 419-426.
- Druker, B. J., Guilhot, F., et al.** (2006). "Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia." N Engl J Med **355**(23): 2408-2417.
- emeA, E. M. A.** (2009). "Europäischer öffentlicher Beurteilungsbericht (EPAR) - Glivec Zusammenfassung des EPAR für die Öffentlichkeit." Retrieved 14:23, 12.07.2012, from http://www.emea.europa.eu/docs/de_DE/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000406/WC500022201.pdf.
- Ernst, T., Hochhaus, A.** (2012). "Chronic myeloid leukemia: clinical impact of BCR-ABL1 mutations and other lesions associated with disease progression." Semin Oncol **39**(1): 58-66.

- Fefer, A., Cheever, M.A., et al.** (1979). "Disappearance of Ph1-positive cells in four patients with chronic granulocytic leukemia after chemotherapy, irradiation and marrow transplantation from an identical twin." N Engl J Med **300**(7): 333-337.
- Geary, C. G.** (2000). "The story of chronic myeloid leukaemia." Br J Haematol **110**(1): 2-11.
- Goldman, J. M.** (2007). "How I treat chronic myeloid leukemia in the imatinib era." Blood **110**(8): 2828-2837.
- Goldman, J. M.** (2009). "Treatment strategies for CML." Best Pract Res Clin Haematol **22**(3): 303-313.
- Goldman, J. M., Melo, J.V.** (2003). "Chronic myeloid leukemia - advances in biology and new approaches to treatment." N Engl J Med **349**(15): 1451-1464.
- Group, C. T. C.** (1997). "Interferon alfa versus chemotherapy for chronic myeloid leukemia: a meta-analysis of seven randomized trials: Chronic Myeloid Leukemia Trialists' Collaborative Group." J Natl Cancer Inst **89**(21): 1616-1620.
- Guilhot, F., Chastang, C., et al.** (1997). "Interferon alfa-2b combined with cytarabine versus interferon alone in chronic myelogenous leukemia. French Chronic Myeloid Leukemia Study Group." N Engl J Med **349**(4): 223-229.
- Guilhot, F., Druker, B., et al.** (2009). "High rates of durable response are achieved with imatinib after treatment with interferon alpha plus cytarabine: results from the International Randomized Study of Interferon and STI571 (IRIS) trial." Haematologica **94**(12): 1669-1675.
- Hehlmann, R., Hochhaus, A., Baccarani, M.** (2007). "Chronic myeloid leukaemia." Lancet **370**(9584): 342-350.
- Hochhaus, A.** (2006). "Chronic myelogenous leukemia (CML): resistance to tyrosine kinase inhibitors." Ann Oncol **17 Suppl 10**: x274-279.
- Hochhaus, A., Baccarani, M. et al.** (2008). "Dasatinib induces durable cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase with resistance or intolerance to imatinib." Leukemia **22**(6): 1200-1206.
- Hochhaus, A., Beelen, D.-W., Fischer, T.** (2008). "Chronisch myeloische Leukämie (CML) DKG-Krebsgesellschaft 2008." Retrieved 15.55, 04.10.2012, from http://www.krebsgesellschaft.de/download/II_j_02.pdf.
- Hochhaus, A., Brümmendorf, T., Le Coutre, P.** (2009). "DGHO - Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie; Onkopedia Leitlinien - Chronisch Myeloische Leukämie (CML)." Retrieved 14:06, 12.07.2012, from http://www.dgho-onkopedia.de/onkopedia/leitlinien/cml/index_html#.

- Hochhaus, A., Druker, B., et al.** (2008). "Favorable long-term follow-up results over 6 years for response, survival, and safety with imatinib mesylate therapy in chronic-phase chronic myeloid leukemia after failure of interferon-alpha treatment." Blood **111**(3): 1039-1043.
- Hochhaus, J. K. A.** (2006). "Patients with Chronic Phase CML in the IRIS Study Who Receive Imatinib Mesylate (IM) 2nd Line after Prior IFN/Ara-C Have Sustained Complete Cytogenetic and Major Molecular Response Rates Similar to 1st Line IM Patients." Blood **108**.
- Holzapfel, B., Wickert, L.,** (2007). "Die quantitative real-Time-PCR (qRT-PCR) aus Biologie unserer Zeit." 37(2): 120-126.
- Hughes, T., Deininger, M., et al.** (2006). "Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results." Blood **108**(1): 28-37.
- Hughes, T. P., Branford, S.** (2009). "Monitoring disease response to tyrosine kinase inhibitor therapy in CML." Hematology Am Soc Hematol Educ Program: 477-487.
- Hughes, T. P., Hochhaus, A., et al.** (2010). "Long-term prognostic significance of early molecular response to imatinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia: an analysis from the International Randomized Study of Interferon and STI571 (IRIS)." Blood **116**(19): 3758-3765.
- Kaeda, J., Hochhaus, A.** (2006). "Patients with Chronic Phase CML in the IRIS Study who receive Imatinib Mesylate (IM) 2nd line after prior INF/Ara-C have sustained Complete Cytogenetic and Major Molecular Response Rates similar to 1st line IM patients." Blood Abstract **108**.
- Kantarjian, H., O'Brien, S., et al.** (2011). "Impact of treatment end point definitions on perceived differences in long-term outcome with tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukemia." J Clin Oncol **29**(23): 3173-3178.
- Kantarjian, H., Shah, N. P., et al.** (2010). "Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia." N Engl J Med **362**(24): 2260-2270.
- Kantarjian, H. e. a.** (2002). "Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia." N Engl J Med **346**(9): 645-652.
- Kantarjian, H. M., Giles, F., et al.** (2007). "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 **110**(10): 3540-3546.

- Kantarjian, H. M., O'Brien, S., et al.** (2003). "Complete cytogenetic and molecular responses to interferon-alpha-based therapy for chronic myelogenous leukemia are associated with excellent long-term prognosis." Cancer **97**(4): 1033-1041.
- Kurzrock, R., Estrov, Z., et al.** (1998). "Conversion of interferon-induced, long-term cytogenetic remissions in chronic myelogenous leukemia to polymerase chain reaction negativity." J Clin Oncol **16**(4): 1526-1531.
- Lahaye, T., Riehm, B., et al.** (2005). "Response and resistance in 300 patients with BCR-ABL-positive leukemias treated with imatinib in a single center: a 4.5-year follow-up." Cancer **103**(8): 1659-1669.
- Lu, X., Song, X., et al.** (2010). "Quantitative detection of BCR-ABL fusion gene and its application in monitoring chronic myeloid leukemia treatment." Mol Biol Rep.
- Lugo, T. G., Pendergast, A. M., et al.** (1990). "Tyrosine kinase activity and transformation potency of bcr-abl oncogene products." Science **247**(4946): 1079-1082.
- Mahon, F. X., Rea, D., et al.** (2010). "Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial." Lancet Oncol **11**(11): 1029-1035.
- Müller, M. C.** (2010). "Leukämie 15. Rundbrief", Kompetenznetz - Akute und chronische Leukämien (Hrsg.) S.11 (ISSN: 1863-1002).
- O'Brien, S. G., Guilhot, F., et al.** (2003). "Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia." N Engl J Med **348**(11): 994-1004.
- Palandri, F., Iacobucci, I., et al.** (2009). "Treatment of Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia with imatinib: importance of a stable molecular response." Clin Cancer Res **15**(3): 1059-1063.
- Palandri, F. e. a.** (2008). "Long-term outcome of complete cytogenetic responders after imatinib 400 mg in late chronic phase, philadelphia-positive chronic myeloid leukemia: the GIMEMA Working Party on CML." J Clin Oncol **26**(1): 106-111.
- Pletsch, N., Lauseker, M., Saussele, S. et al.** (2009). ""Elderly patients with CML (> 65 years) tolerate imatinib well, but cytogenetic and molecular remissions are achieved later", DGHO 02.-06.10.2009, Mannheim, Abstract in Onkologie 2009, 32 (S.4): 42."
- Renz-Polster, H., Krautzig, S** (2008). Basislehrbuch Innere Medizin, Elsevier (Hrsg.) S. 268; ISBN: 978-3-437-41055-0.

-
- Rohrbacher, M., Hasford, J.** (2009). "Epidemiology of chronic myeloid leukaemia (CML)." Best Pract Res Clin Haematol **22**(3): 295-302.
- Saglio, G., Kim, D. W., et al.** (2010). "Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia." N Engl J Med **362**(24): 2251-2259.
- Saussele, S.** (2009). "Zwischenauswertung - Protokoll des CML-Studientreffens vom 26. Juni 2009, Alte Brauerei Mannheim." Retrieved 12:19, 04.09.2012, from http://www.kompetenznetz-leukaemie.de/content/aerzte/studiengruppen/cml/studientreffen/e24594/infoboxContent24645/ProtokollCML_Studientreffen_2009.pdf
- Saussele, S., Pfirrmann, M.** (2012). "Clinical trials in chronic myeloid leukemia." Curr Hematol Malig Rep **7**(2): 109-115.
- Sawyers, C. L.** (1999). "Chronic myeloid leukemia." N Engl J Med **340**(17): 1330-1340.
- Silver, R. T., Woolf, S. H., et al.** (1999). "An evidence-based analysis of the effect of busulfan, hydroxyurea, interferon, and allogeneic bone marrow transplantation in treating the chronic phase of chronic myeloid leukemia: developed for the American Society of Hematology." Blood **94**(5): 1517-1536.
- Trask, P. C., Mitra, D., et al.** (2012). "Patterns and prognostic indicators of response to CML treatment in a multi-country medical record review study." Int J Hematol.
- von Bubnoff, N., Duyster, J.** (2010). "Chronic myelogenous leukemia: treatment and monitoring." Dtsch Arztebl Int **107**(7): 114-121.
- Wang, Y. L., Lee, J. W., et al.** (2006). "Molecular monitoring of chronic myelogenous leukemia: identification of the most suitable internal control gene for real-time quantification of BCR-ABL transcripts." J Mol Diagn **8**(2): 231-239.
- Zhu, H. Q., Liu, X. L., et al.** (2010). "Minimal residual disease monitoring in chronic myeloid leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using interphase fluorescence in situ hybridization and real-time quantitative reverse transcription PCR." Chin J Cancer **29**(2): 194-199.
- Ziegler, H., Stabenow, R., Holleczek, B. et al.** (2008). "Krebs im Saarland - Atlas der Inzidenz und Mortalität 1997 - 2006" Ministerium für Justiz, Arbeit, Gesundheit und Soziales (Hrsg.) (ISBN: 978-3-980880-5-9) S.182.

Anhang

Klinik und Poliklinik für Innere Medizin C
Hämatologie und Onkologie, Transplantationszentrum
Hämatologisches Speziallabor Dr. Hirt
Universitätsklinikum Greifswald
Univ.-Prof. Dr. med. Gottfried Döbken
F.-Sauerbruchstraße, 17487 Greifswald
Telefon 03834 869998
Telefon 03834 866713



Telefon Labor: 03834-8622041
Telefax Labor: 03834-8622050
E-mail Dr. Hirt: hirtenko@uni-greifswald.de

**Standardisierte quantitative PCR Diagnostik zum Nachweis der minimalen
Resterkrankung (MRD)
bei Patienten mit CML und AML**

Patient: _____ Geburtsdatum _____
Diagnose: AML CML
Material: PB (blaues-Spezialröhrchen) KM (blaues-Spezialröhrchen)
 WBC (Gp01 im pB) _____ (fehlende oder falsche Angabe kann zum Verlust der Probe führen)

1. Quantitative DNA PCR

- Q-PCR für JAK 2
 NPM Mutation
 FLT3-ITD Mutation

2. Quantitative RT-PCR

- Q-RT-PCR für t(9;22)
 Q-RT-PCR für inv16
 Q-RT-PCR für t(8;21)
 Q-RT-PCR für t(15;17)

3. Spezialuntersuchung

- BCR-ABL-Mutationsanalyse

4. Angaben zur Therapie und zum Verlauf

Erstdiagnose (MMJJ): _____

Remissionsstatus: _____

- von _____ bis _____
 von _____ bis _____
 Gleevec 400 mg 800 mg
 KMT : wann _____ allogem/ autolog

Bemerkungen: _____

Einsender / Datum: _____

Bitte Überweisungsschein belegen, wenn Patient in ambulanter Behandlung.

UNIVERSITÄTSKLINIKUM GREIFSWALD DER ERNST-MORITZ-ARNDT-UNIVERSITÄT GREIFSWALD · ANSTALT ÖFFENTLICHEN RECHTS
Fleischmannstraße 8 · 17475 Greifswald · Tel.: +49 (0) 3834 86 0 · www.klinikum.uni-greifswald.de

Abb. 12 Anforderungsschein zur PCR – Analyse für t (9;22)

Abkürzungen

A	ABL	Abelson Kinase (Chromosom 9)
	Abb.	Abbildung
	ALL	akute lymphatische Leukämie
	allo-SCT	allogene Stammzelltransplantation
	AML	akute myeloische Leukämie
	AP	Akzelerierte Phase
	Ara-C	Cytarabin
	ARG	Tyrosinkinase
	ATP	Adenosintriphosphat
B	BC	Blasten Krise
	BCR - Gen	Breakpoint Cluster Region - Gen
	BCR/ABL	Fusionsgen aus BCR-Gen und ABL-Gen
	bzw.	beziehungsweise
C	C 91-95	aus ICD 10, C81 –C96 kodiert bösartige Neubildungen des lymphatischen, blutbildenden und verwandten Gewebes, als primär festgestellt oder vermutet C91 Lymphatische Leukämie C92 Myeloische Leukämie (C92.10 CML) C93 Monozytenleukämie C94 sonstige Leukämien C95 Leukämien nicht näher bezeichneten Zelltyps
	CCyR	Complete Cytogenetic Response
	cABL	Referenzgen
	cDNA	komplementäre DNA
	c-KIT	ein Zytokinrezeptor
	CHR	Complete Hematologic Response
	CLL	chronische lymphatische Leukämie
	CML	chronische myeloische Leukämie

CML/002/STI571	IRIS (International Randomized Study of Interferon Versus STI571)
CMR	Complete Molecular Response
CP	chronische Phase
CYP 3A4	Cytochrom P450 3A4
D DNA	Desoxyribonukleinsäure
E EFS	Event Free Survival
EGFR	Epidermal Growth Factor Rezeptor
ELN	European Leukemia Net
F FISH	fluorescence in situ hybridization
FLT 3	FMS like tyrosine kinase
FMS	ein Zytokinrezeptor
G GIMEMA	Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Adulto
GVHD	Graft versus Host Disease
H HLA	Human Leukocyte Antigen
HU	Hydroxyurea
I ICD 10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems = Diagnoseklassifikationssystem Version 2011
IM	Imatinib
INF α	Interferon alpha
INR	International Normalized Ratio
IRIS	International Randomized Study of Interferon Versus STI571
IS	International Scale

K	KM	Knochenmark
L	LCP	späte chronische Phase
	log	Logarithmus
M	MDS	Myelodysplastisches Syndrom
	m ²	Quadratmeter
	MCyR	Minor Cytogenetic Response
	mg	Milligramm
	MHC	Major Histocompatibility Complex
	mm ³	Kubikmillimeter
	MMR	Major Molecular Response, BCR/ABL/ c-ABL ≤ 0,1%
	Mol.	Molekular
	Mon.	Monat
	MR	Molecular Response
	MR4	Molecular Response – Reduzierung um 4log Stufen, BCR/ABL/ c-ABL ≤ 0,01%
	MRD	Minimal Residual Disease
	μl	Mikroliter
N	NYHA	New York Heart Association = Klassifikation zur Einteilung der Herzinsuffizienz
	n	Anzahl an Patienten
O	OS	Overall Survival
	os (per)	orale Verabreichung
P	PB	Peripheral Blood
	PCR	Polymerase Chain Reaction
	PDGF Rα und β	Platelet Derived Growth Factor Receptor α und β = Tyrosinkinase

	Ph+	Philadelphia-Chromosom positiv
	PTT	Partielle Thromboplastinzeit
R	RKI	Robert-Koch Institut
	RTq-PCR	real-time quantitative Polymerase Chain Reaction
	RNA	Ribonukleinsäure
S	SGPT	Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase
	SGOT	Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
	SRC	eine Tyrosinkinase
	STI571	Imatinib Mesylat, Glivec®, Gleevec™ 2-Phenylaminopyridiminderivat (früher Signaltransduktionsinhibitor: STI571
	sui generis	lat. „eigener Art“
T	T315I	Mutation, durch Austausch des Threonins an der ABL-Aminosäureposition 315 durch Isoleucin verursacht
	Tab.	Tabelle
	TK	Tyrosinkinase
	TKI	Tyrosinkinasehemmer
U	ULN	Upper Limit of Normal
V	VEGFR	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor = Tyrosinkinase
	in vitro	“im Glas”, organische Vorgänge die in künstlicher Umgebung vorgehen
W	WHO	World Health Organization

Danksagung

Ein herzliches Dankeschön richte ich an dieser Stelle an alle, die mir die Anfertigung der Dissertation ermöglicht oder mich dabei unterstützt haben.

Ich danke insbesondere:

Herrn Prof. Dr. med. G. Dölken für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit durch diese Arbeit einen kleinen Einblick in die Komplexität wissenschaftlichen Arbeitens erhalten zu haben.

Ebenso danke ich Priv.-Doz. Dr. med. Thomas Kiefer-Trendelenburg und Dr. med. Carsten Hirt für die hervorragende Betreuung, die viele Geduld die mir entgegengebracht wurde und für die konstruktive und ehrliche Kritik, sowie den Ratschlägen die mich auf den richtigen Weg gebracht haben.

Frau Dipl.-Chem. I. Röser, Tumorzentrum Greifswald e.V., gilt mein Dank für die Hilfe bei der Erfassung der Patientendaten aus dem Tumorregister Vorpommern.

Zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie und Freunden für die Unterstützung bedanken, die alle auf ihre ganz eigene besondere Weise zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

Vor allem danke ich meiner Tochter, die mich oft entbehren und viel Geduld mit mir haben musste, während der vielen Stunden die ich an dieser Arbeit saß.

Ebenso danke ich meiner Freundin Dr. rer. nat. Anne Strohbach für Ihre Unterstützung bei der Einarbeitung in das Statistikprogramm SPSS und Markus Bien für die gewissenhafte Durchsicht meiner Arbeit.

