

**Aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt für Hämatologie und Onkologie am  
Campus Virchow-Klinikum der Medizinischen Fakultät Charité –  
Universitätsmedizin Berlin**

**DISSERTATION**

**Klinische und molekularbiologische Begleituntersuchungen zum Ansprechen,  
zur Pharmakokinetik und Toxizität von Imatinib in der Therapie der  
chronischen myeloischen Leukämie.**

**Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)**

**Vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité –  
Universitätsmedizin Berlin**

**von**

**Gökben Koca**

**aus Oldenburg**

Gutachter: 1. Priv. - Doz. Dr. med. Ph. le Coutre

2. Prof. Dr. med. G. Dölken

3. Priv. - Doz. Dr. med. Th. Held

Datum der Promotion: 03.09.2010

## Inhaltsverzeichnis

### 1. Abstract

### 2. Einleitung:

2.1 Die chronische myeloische Leukämie

2.2 „*Targeted Therapy*“ der CML durch den selektiven Tyrosinkinase-Inhibitor Imatinib

2.3 Imatinib Resistenz bei CML

### 3. Paper-Vorstellung:

3.1 „*Imatinib in Philadelphia Chromosome Positive Chronic Phase CML Patients:*

*Molecular and Cytogenetic Response Rates and Prediction of Clinical Outcome*“

le Coutre P, Kreuzer KA, Na IK, Schwarz M, Lupberger J, Holdhoff M, Baskaynak G, Geschaidmeier H, Platzbecker U, Ehninger G, Prejzner W, Huhn D, Schmidt CA.

Am J Hematol, 73:249-255, 2003

3.2 „*Pharmacokinetics and cellular uptake of imatinib and its main metabolite CGP74588*“

Le Coutre P, Kreuzer KA, Pursche S, Bonin M, Leopold T, Baskaynak G,

Dörken B, Ehninger G, Ottmann O, Jenke A, Bornhauser M, Schleyer E

Cancer Chemother Pharmacol 53(4):313-23, 2004

3.3 „*Squamous cutaneous epithelial cell carcinoma in two CML patients with progressive disease under imatinib treatment*“

Baskaynak G, Kreuzer KA, Schwarz M, Zuber J, Audring H, Riess H, Dörken B, le Coutre P, Eur J Hematol 70: 231-234, 2003

„*Imatinib-induced acute generalized exanthematous pustulosis (AGEP) in two patients with chronic myeloid leukemia*“

Schwarz M, Kreuzer KA, Baskaynak G, Dörken B, le Coutre P

Eur J Hematol 69(4): 254-256, 2002

### 4. Zusammenfassung

### 5. Referenzen

#### Appendix

Anteilsklärung

Ausgewählte Publikationen

Lebenslauf

Komplette Publikationsliste

Selbständigkeitserklärung

Danksagung

## 1. Abstract

Die Verfügbarkeit einer gezielten molekularen Therapie hat das Management der chronischen myeloischen Leukämie (CML) grundlegend geändert und sie zu einer Modellkrankheit für andere Tumorerkrankungen werden lassen. Ursache der CML ist die konstitutiv aktivierte BCR-ABL Tyrosinkinase, die durch die reziproke chromosomale Translokation (t(9;22)(q34;q11), dem sogenannten Philadelphia Chromosom, entstanden ist.

Umfangreiche zellbiologische und tierexperimentelle Studien bewiesen die kausale Bedeutung des BCR-ABL Fusionstranskriptes bzw. der P210<sup>Bcr-Abl</sup> Tyrosinkinase für die Leukämogenese der CML. Die konstitutiv gesteigerte Tyrosinkinaseaktivität mit der Eigenschaft der Autophosphoryllierung ist ein entscheidendes Charakteristikum von P210<sup>Bcr-Abl</sup>.

Das Verständnis der molekularen Grundlagen der Erkrankung mit der ausschließlichen Expression von P210<sup>Bcr-Abl</sup>, führte zur Entwicklung spezifischer zielgerichteter Therapieansätze, die unter dem Begriff „*targeted therapy*“ bekannt geworden sind. Der Tyrosinkinaseinhibitor Imatinib (STI571, Glivec®), ein sogenannter „*small molecule inhibitor*“, hemmt selektiv und kompetitiv die BCR-ABL Tyrosinkinase an der ATP-Bindungsstelle. Die Effektivität dieser Substanz konnte sowohl in-vitro als auch in-vivo im Mausmodell gezeigt werden. In den infolge durchgeführten klinischen Studien zeigte sich im Vergleich zu der bisherigen Interferonhaltigen Standardtherapie, ein hochsignifikanter Vorteil bezüglich des Gesamtüberlebens, des progressionsfreien Überlebens, der Rate an zytogenetischen Remissionen sowie der Toxizität bei Patienten mit erstdiagnostizierter CML in der chronischen Phase. Weiterhin konnte bei Imatinib behandelten Patienten in chronischer Phase ein molekulares Ansprechen mittels quantitativer RT-PCR-Diagnostik registriert werden, wobei es in einem signifikanten Anteil der Patienten zu einer kompletten molekularen Remission kommt.

Aufgrund dieser unvorhergesehen erfolgreichen Behandlungsergebnisse wurde Imatinib daher bereits nach kurzer Zeit als *first-line* Therapie der CML in erster chronischer Phase zugelassen.

Bei fortgeschrittener CML in akzelerierter Phase oder Blastenkrise sind Remissionen unter Imatinib nur von kurzer Dauer und gehen mit Rezidiven in nahezu allen Patienten einher. Zu den in diesem Kontext beschriebenen Resistenzmechanismen zählen unter anderem identifizierte Punktmutationen im Bereich der Imatinib-Bindungsstelle der BCR-ABL-Kinasedomäne, eine Amplifikation des BCR-ABL-Fusionsgens, die klonale Evolutionen oder erhöhte Plasmaeiweißbindung von Imatinib mit konsekutiver Herabsetzung der freien und aktiven Imatinib-Konzentration. Hierbei wurde bereits auf präklinischer Ebene vermutet, dass insbesondere eine Bindung an alpha-1 saures Glykoprotein von Bedeutung sein könnte.

Das Auftreten von Rezidiven aufgrund unterschiedlicher Resistenzmechanismen oder ein suboptimales Ansprechen auf die Imatinib-Therapie belegen die Notwendigkeit der Therapieoptimierung und Evaluierung alternativer Therapieoptionen. Die Rolle von Hochdosis-Imatinib, neuen Tyrosinkinaseinhibitoren, der allogenen Stammzelltransplantation und immunologische Ansätze wie eine BCR-ABL-Vakzine machen das Management der CML unerwartet komplex und sind der Fokus gegenwärtiger und zukünftiger Forschungsaktivitäten.

Im Rahmen dieser Arbeit werden vier exemplarische Publikationen unserer Forschungsaktivitäten vorgestellt, die sich mit der Untersuchung des klinischen Ansprechens von Imatinib bei CML Patienten befassen und dabei auch das molekulare Ansprechen als prädiktiven Marker und die Bedeutung der Plasmaeiweißbindung in der Entstehung von Resistenzmechanismen zum Inhalt haben. Weiterhin beschreiben wir in unserem Patientenkollektiv beobachtete seltene Toxizitäten unter der Therapie und gehen auf die Pharmakokinetik und die biologische Bedeutung des aktiven Hauptmetaboliten der Substanz ein.

## 2. Einleitung

### 2.1 Die chronische myeloische Leukämie

Die chronische myeloische Leukämie (CML) wurde erstmals im Jahre 1845 von *Virchow* und *Benett* getrennt voneinander beschrieben (*Bennett 1845, Virchow 1845*). Es handelt sich bei der CML um eine klonale, hämatopoetische Stammzellerkrankung. Sie gehört zu den chronischen myeloproliferativen Erkrankungen und betrifft 10-20% der Leukämien. Die jährliche Inzidenz beträgt 1-2 auf 100.000 Einwohner mit einem medianen Erkrankungsalter im fünften und sechsten Dezennium. Das Vorkommen ist in der westlichen Welt ohne wesentliche regionale oder ethnische Unterschiede. Das Verhältnis zwischen männlichen und weiblichen Patienten liegt bei 1,4:1. Als Risikofaktor wird die

Exposition gegenüber ionisierender Strahlung diskutiert (*Heyssel et al. 1960, Ichimaru et al. 1978, Corso et al. 1995*).

Die Diagnose CML wird bei mehr als der Hälfte der Patienten zufällig im Rahmen einer Routineuntersuchung gestellt. Gewöhnliche klinische Befunde bei Erstdiagnose im Frühstadium der Erkrankung sind Müdigkeit, Gewichtsverlust, Appetitlosigkeit, Fieber und Nachtschweiß. In über 70% der Patienten findet sich eine Splenomegalie. Anämiezeichen wie Blässe, Dyspnoe und Tachykardie kommen bei mehr als der Hälfte der CML-Erkrankten vor. In fortgeschrittenen Krankheitsstadien kommt es weiterhin zu hämorrhagischer Diathese, Infektionsneigung, Wundheilungsstörungen oder auch selten zum Priapismus.

Kennzeichnende Veränderung im peripheren Blut ist häufig eine exzessive Leukozytose mit Werten bis über  $5 \times 10^5/\mu\text{l}$ , verbunden mit einer pathologischen Linksverschiebung der Granulopoese bis hin zu den Myeloblasten. Weitere Befunde sind eine Basophilie bzw. Eosinophilie, sowie eine Mitbeteiligung der Megakaryopoese, so dass es ebenfalls zu gelegentlich massiver Thrombozythämie mit Werten über  $10^6/\mu\text{l}$  kommen kann.

Im Knochenmark zeigt sich meistens eine Hyperzellularität mit erhöhtem Anteil an Myeloblasten und Promyelozyten. Der G/E-Index ist zugunsten der Granulopoese verschoben. Im späteren Verlauf kann sich eine Myelofibrose mit konsekutiver Panzytopenie entwickeln.

Der klinische Verlauf der Erkrankung ist triphasisch und besteht aus einer therapeutisch gut behandelbaren chronischen Phase (CP), einer akzelerierten Phase (AP) mit zunehmender Resistenz gegenüber der Primärtherapie und der Blastenkrise (BC), deren klinisches Bild einer akuten Leukämie ähnelt. In 85% der Fälle wird die CML in der chronischen Phase diagnostiziert. Die chronische Phase ist durch eine massive Erhöhung der Leukozyten im Blut mit der typischen Linksverschiebung, einer Basophilie, Eosinophilie und gelegentlich einer Mitbeteiligung der Megakaryopoese gekennzeichnet. Nach einer mittleren Dauer von ca. 4,5 Jahren kommt es zum Fortschreiten der Erkrankung in die Akzelerationsphase. Dieses Intermediärstadium mit einer Dauer von wenigen Wochen bis zu zwölf Monaten geht dann in die terminale Phase der CML, der Blastenkrise, über. Etwa 25% der Patienten entwickeln keine akzelerierte Phase.

Gemäß der WHO-Klassifikation liegen bei einer akzelerierten Phase folgende Kriterien vor, 10-19% Blasten im peripheren Blut oder Knochenmark oder mindestens 20% Basophile im peripheren Blut oder Nachweis einer persistierenden Thrombozytopenie oder progredienten, therapieresistenten Splenomegalie oder Nachweis klonaler Evolutionen, also dem Auftreten zusätzlicher chromosomaler Aberrationen (*Baccarani et al. 2006*).

Eine Blastenkrise besteht entsprechend dieser Klassifikation bei Präsenz von 30% Blasten im peripheren Blut oder Knochenmark oder bei extramedullärem blastärem Befall. Die BC kann sowohl als lymphatische oder auch als myeloische Leukämie auftreten (*Cervantes et al. 1998, Jacobs et al. 1984*). Die chronische Phase definiert sich durch Ausschluss einer akzelerierten Phase bzw. einer Blastenkrise.

Als ursächlicher Pathomechanismus der Erkrankung wird auf molekularer Ebene die konstitutive Aktivität der BCR-ABL Tyrosinkinase gesehen, die als Fusionstranskript aus dem Philadelphia Chromosom hervorgeht.

Das Philadelphia Chromosom ist eine spezifische Chromosomenanomalie, die charakteristisch ist für die CML. Erstmals wurde sie im Jahre 1960 von *Nowell* und *Hungerford* beschrieben. Es handelt sich dabei um ein verkürztes Chromosom 22, das durch reziproke Translokation der langen Arme der Chromosomen 9 und 22 entsteht und mit der Kurzform  $t(9;22)(q34;q11)$  umschrieben wird (*Rowley et al. 1973*). Bei ungefähr 95% der Patienten lässt sich das Philadelphia Chromosom zytogenetisch nachweisen. Mit Hilfe molekulargenetischer Methoden kann in weiteren 3% der Patienten ohne zytogenetischen Nachweis der  $t(9;22)(q34;q11)$  Translokation das BCR-ABL Fusionsgen nachgewiesen werden.

Bei den verbleibenden Patienten zeigt sich eine so genannte „atypische“ CML, die BCR-ABL negativ ist. Patienten mit atypischer CML haben klinisch eine ungünstigere Prognose.

Die Bruchpunkte der Philadelphia-Translokation  $t(9;22)$  liegen auf Chromosom 9 im Bereich des ABL (*Abelson murine leukemia viral oncogene*)-Protoonkogens, auf Chromosom 22 im Bereich des BCR („breakpoint cluster region“), benannt aufgrund der häufigen Brüche in diesem Gen. Bei der Translokation wird der 5'-Anteil von BCR mit dem 3'-Anteil des ABL-Gens verknüpft. Dabei gibt es drei mögliche Bruchpunkte im BCR-Gen, aber nur einen Bruchpunkt im ABL-Gen, so dass verschiedene große Fusionsgene entstehen, bei denen der ABL-Anteil größenkonstant bleibt und die Größe des BCR-Anteils variiert. Daraus resultieren drei unterschiedlich schwere Onkoproteine mit differierendem Molekulargewicht.

Das 210 kD schwere Fusionsprotein P210<sup>BCr-Abl</sup> entsteht nach Fusion mit der Major-bcr-Region (MBCR) des BCR-Gens. Das onkogene Fusionsprotein P210<sup>BCr-Abl</sup> tritt bei 95% der Patienten mit CML auf. Das 190 kD schwere BCR-ABL Protein P190<sup>BCr-Abl</sup> entsteht nach Bruch in der minor-BCR-Region (mBCR)

und wird bei der CML nur selten gefunden, tritt aber in 10% der Fälle bei einer Philadelphia Chromosom positiven akuten lymphatischen Leukämie (Ph+ALL) auf (Maurer et al. 1991). Darüber hinaus kann es in seltenen Fällen, unter Beteiligung des  $\mu$ -bcr-Bruchpunktes, zur Expression eines P230<sup>Bcr-Ab</sup> Proteins kommen, welches mit der seltenen Philadelphia positiven neutrophilen CML assoziiert ist (Advani et al. 2002). Die spezifischen Bruchstellen im ABL-Gen und den variablen BCR-Sequenzen sind in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

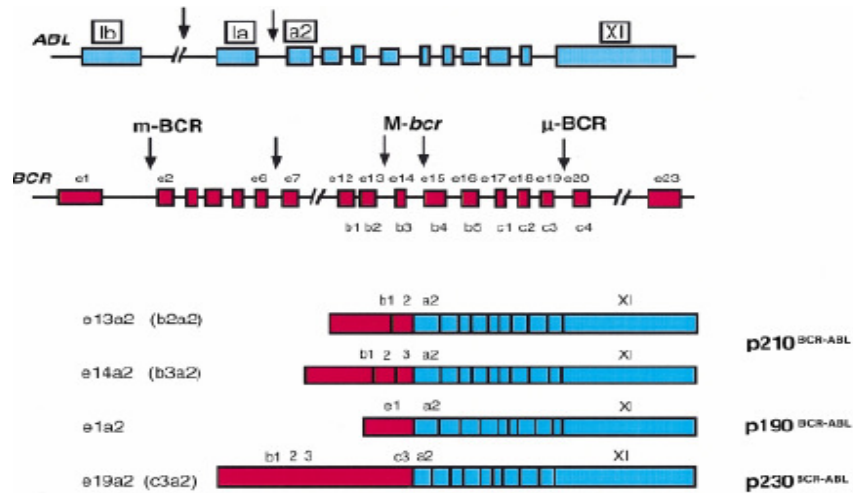


Abb.1: Spezifische Bruchpunkte der Gene ABL und BCR bei der Philadelphia Translokation und Fusionsproteine Philadelphia positiver Leukämien (Mughal et al. Eur J Cancer 2001)

Das BCR-ABL Fusionsprotein kodiert für eine Tyrosinkinase, die physiologischerweise in menschlichen Zellen nicht vorkommt und für die Pathogenese der CML von entscheidender Bedeutung ist. Tyrosinkinasen gehören zur Familie der Proteinkinasen. Sie sind Enzyme, die den Transfer einer Phosphatgruppe von einem Donor (meist ATP) auf die Seitenketten-Hydroxyl- (OH)-Gruppe der Aminosäure Tyrosin katalysieren.

Die BCR-ABL Tyrosinkinase ist konstitutiv aktiv und stimuliert eine Reihe von intrazellulären Signaltransduktionswegen, die über eine verstärkte Zellproliferation, eine Hemmung der Apoptose und veränderte Adhäsionseigenschaften zu dem malignen Phänotyp führen (Clarkson et al. 2003). Die wichtigsten bekannten Signaltransduktionswege, die hierbei involviert sind, sind die Ras-Signalkaskade, der JAK-STAT Signalweg, der Phosphatidylinositol-3-Kinaseweg und der Myc-Signalweg (Sawyers et al. 1995, Shuai et al. 1996, Sanchez-Garcia et al. 1997).

Für die Diagnosestellung stehen neben dem Differentialblutbild die Gewinnung eines Knochenmark-Aspirates und einer Knochenmark-Histologie im Vordergrund. Zum Nachweis des Philadelphia Chromosoms oder des BCR-ABL Fusionstranskriptes werden die Karyotypisierung mittels zytogenetischer Analyse, die Fluoreszenz-in situ-Hybridisationsanalysen (FISH) und die Polymerase-Kettenreaktionen (PCR) eingesetzt.

Die sensitivste Methode für die Diagnose der CML ist die Polymerase Kettenreaktion. Hierbei ermöglicht insbesondere die *Real-time* PCR die quantitative Abschätzung der Menge an RNS- oder DNS-Molekülen in einer Probe und eignet sich hervorragend zur Verlaufskontrolle der so genannten minimalen Resterkrankung (*minimal residual disease*, „MRD“). Der Begriff minimale Resterkrankung bezeichnet die residuelle Leukämiezellmenge im untersuchten Material unterhalb der Nachweisgrenze morphologischer und zytogenetischer Untersuchungsmethoden und ist ein wichtiger Parameter für die Erkennung eines Frührezidives.

In der Behandlung der CML verfolgt man drei therapeutische Ziele. Diese sind die hämatologische, die zytogenetische und die molekulare Remission, die wie folgt definiert sind:

#### Hämatologische Remission:

- Vollständiges hämatologisches Ansprechen (*complete hematological response*, CHR):  
Blutbildnormalisierung  
Leukozyten  $< 10 \times 10^9/L$   
Thrombozyten  $< 450 \times 10^9/L$   
Differentialblutbild ohne unreife granulozytäre Vorstufen  
Rückbildung aller klinischen Symptome einschließlich einer vergrößerten Milz

### Zytogenetische Remission:

- Komplette oder vollständige zytogenetische Remission (*complete cytogenetic response*, CCyR): Ph+ 0
- Partielle zytogenetische Remission (*partial cytogenetic response*, PCyR): Ph+ 1-35% (Die Summe aus kompletter und partieller Remission wird als major zytogenetische Remission bezeichnet.)
- Geringe zytogenetische Remission (*minor cytogenetic response*, MiCyR): Ph+ 36-65%
- Minimales zytogenetisches Ansprechen (*minimal cytogenetic response*): Ph+ 66-95%
- Kein zytogenetisches Ansprechen (*no cytogenetic response*): Ph+ > 95%

### Molekulare Remission:

- Vollständige molekulare Remission (*complete molecular response*, CMR): BCR-ABL nicht detektierbar mittels technischer Methoden
- Gute oder major molekulare Remission (*major molecular response*, MMoIR): BCR-ABL Reduktion um wenigstens drei Logstufen

## 2.2 „Targeted Therapy“ der CML durch den selektiven Tyrosinkinase-Inhibitor Imatinib

Bereits im frühen 20. Jahrhundert wurden Therapieansätze wie die Splenektomie, Arsenbehandlung oder eine Milzbestrahlung in der Behandlung der CML versucht. Die ersten zytostatischen Therapieoptionen bestanden in der Gabe von Busulfan und später Hydroxyurea. Mit diesen Therapieformen erzielte man allenfalls eine hämatologische Remission. Erst in den 80er Jahren konnten mit Kombinationstherapien bestehend aus Interferon- $\alpha$  und entweder Hydroxyurea oder Arabinosyl-Cytosin (Ara-C), zytogenetische Remissionen und Lebenszeitverlängerungen erreicht werden (Hehlmann et al. 1994, Guilhot et al. 1997, Hehlmann et al. 2003, Kluin-Nelemans et al. 2004).

Die einzige bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt erwiesene kurative Therapieoption der CML stellt die allogene Stammzelltransplantation (alloSZT) dar. Aufgrund der limitierten Spenderverfügbarkeit kommen nur 15 - 20% der CML-Patienten für eine allogene SZT von HLA-identen, verwandten Spendern in Frage. Zieht man zusätzlich HLA-identische, nicht-verwandte Spender heran, erhöht sich die Zahl der mit allogener SZT behandelbaren Patienten auf ca. 30%. Die Durchführung kann außerdem durch ein zu hohes Alter des Patienten limitiert sein. Grundsätzliche Probleme der allogenen Stammzelltransplantation liegen in der therapieassoziierten Frühmortalität bzw. in der Entstehung der akuten oder chronischen Graft-versus-Host-Krankheit (GvHD).

Das Verständnis der Pathogenese der CML und die Aufklärung der molekularen Grundlagen, erfüllen die theoretischen Voraussetzungen zur Entwicklung einer zielgerichteten Therapie, der so genannten „targeted therapy“. Der selektive Tyrosinkinaseinhibitor Imatinib, ein „small molecule inhibitor“, wurde im Rahmen einer als *rational drug design* bezeichneten Strategie entwickelt (Buchdunger et al. 1996, Drucker et al. 1996).

Imatinib ( $C_{29}H_{31}N_7O.CH_4SO_3$ ) ist ein Phenylaminopyrimidinderivat mit einem Molekulargewicht von 589,7. Chemisch handelt es sich um 4-[(4-Methyl-1-piperazinyl)methyl]-N-[4-methyl-3-[[4-[3-pyridinyl]-2-pyrimidinyl]amino]phenyl]benzamid-methansulfonat. Der Wirkmechanismus von Imatinib beruht in einer kompetitiven Hemmung der BCR-ABL Tyrosinkinase an der ATP-Bindungsstelle. Die Hemmung der ATP-vermittelten Aktivierung von P210<sup>BCr-Abl</sup> führt konsekutiv zur Hemmung der Proliferation, Rekonstitution der Apoptose und Unterbrechung CML-spezifischer nachgeschalteter Signaltransduktionswege.

In präklinischen Untersuchungen wurde gezeigt, dass Imatinib in submikromolaren Konzentrationen Aktivität gegen Abl und seinen Derivat v-Abl, BCR-ABL und Tel-Abl sowie gegenüber dem c-kit-Rezeptor und dem PDGF-Rezeptor (platelet-derived growth factor receptor) zeigt (Drucker et al. 1996). In Experimenten auf Zellkulturebene konnte die Effektivität von Imatinib in Bezug auf Hemmung der Proliferation und Rekonstitution der Apoptose gezeigt werden (Drucker et al. 1996, Gambacorti-Passerini et al. 1997, Deininger et al. 1997). Auch die im weiteren Verlauf durchgeführten tierexperimentellen Versuche bestätigten die in-vivo Aktivität von Imatinib im Mausmodell (Drucker et al. 1996, le Coutre et al. 1999).

Die klinische Wirksamkeit von Imatinib war von Anfang an überzeugend und hat die Therapie der CML grundlegend verändert. Im Jahre 1998 wurde nach Erfolg versprechenden präklinischen Ergebnissen mit der Durchführung klinischer Studien begonnen. Die erhobenen Phase I Daten zeigten ab einer

Dosierung von 300 mg oral einmal täglich sowohl hämatologische als auch zytogenetische Remissionen. In diese Dosiseskalationsstudien wurden sowohl Patienten in fortgeschrittenen Krankheitsstadien als auch Interferon- $\alpha$  refraktäre Patienten eingeschlossen (*Druker et al. 2001*). Im Vergleich zu den bisherigen Interferonhaltigen Standardregimen kam es nur zu einem geringen Nebenwirkungsprofil. Hauptsächliche Toxizitäten von Imatinib im Rahmen der Phase I Studie waren Übelkeit, Diarrhoe, periorbitale Ödeme, Muskelkrämpfe, Gewichtszunahme und Hautekzeme, die nach WHO-Kriterien als Grad-I-Toxizitäten eingestuft wurden. Bei Dosierungen ab 300 mg sah man bei ca. 25% der Patienten eine höhergradige Myelotoxizität (Grad II-IV).

In anschließenden Phase II Multicenter Studien wurden Dosierungen zwischen 400 bis 800mg eingesetzt. Bei den insgesamt 454 Patienten mit Interferon- $\alpha$  refraktärer CML in chronischer Phase kam es bei 95% zu einer kompletten hämatologischen Remission und bei 60% der Patienten zu einem major-zytogenetischen Ansprechen (*Kantarjian et al. 2002*). Bei den 181 rekrutierten Patienten in akzelerierter Phase zeigte sich bei 37% eine komplette hämatologische Remission und bei 26% der Patienten eine zytogenetische Remission (*Talpaz et al. 2002*). Bei Patienten in Blastenkrise (n=229) lag die hämatologische Ansprechrate bei 31%. Nur 16% erreichten ein zytogenetisches Ansprechen und es kam in über 80% der Patienten zu einer Progression.

Im Jahre 2000 wurde die Internationale Randomisierte IFN versus STI571 Studie (**IRIS**), eine offene, prospektive, multizentrische Phase III Studie, begonnen, in die insgesamt 1106 Patienten rekrutiert wurden. Eingeschlossen wurden Patienten mit ausschließlich neu diagnostizierter CML in erster chronischer Phase. Im randomisierten Vergleich erhielten die Patienten entweder 400 mg Imatinib täglich oral oder subkutan INF- $\alpha$  und lowdose Cytarabin (*O'Brien et al. 2003*). Im Vergleich der Monotherapie mit Imatinib mit der bisherigen Interferonhaltigen Standardtherapie zeigte sich nach einer medianen Beobachtungsdauer von 19 Monaten ein hochsignifikanter Wirksamkeitsvorteil für die mit Imatinib behandelten Patienten mit einem zytogenetischen Ansprechen im Sinne eines major response von 87,1%. In der Gruppe, der mit der Standardtherapie behandelten Patienten konnte ein zytogenetisches Ansprechen in nur 34,7% der Fälle beobachtet werden. Der Anteil einer kompletten zytogenetischen Remission lag im Imatinib-Arm bei 76,2%, wo hingegen im Standardtherapie-Arm ein komplettes zytogenetisches Ansprechen in nur 14,5% vorlag. Insgesamt zeigte sich ein hochsignifikanter Unterschied hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens zugunsten einer Therapie mit Imatinib. Auch das molekulare Ansprechen unter Imatinib wurde untersucht mittels quantitativer Ermittlung der BCR-ABL-Transkripte durch RT-PCR-Bestimmungen. Hughes et al konnten an in 370 Studienpatienten in kompletter zytogenetischer Remission zeigen, dass ein Abfall des BCR-ABI-Transkriptes um mindestens drei logarithmische Stufen innerhalb der ersten zwölf Behandlungsmonate mit einem progressionsfreien Überleben von 100% nach 24 Monaten einhergeht (*Hughes et al. 2003*).

Die Ziele der Imatinib-Therapie sind laut aktueller Leitlinien des European LeukemiaNet eine komplette hämatologische Remission (CHR) nach drei Monaten, ein partielles zytogenetisches Ansprechen (PCyR) nach sechs Monaten, eine komplette zytogenetische Remission (CCyR) nach spätestens 12 Monaten nach Diagnose und nach 18 Monaten sollte mindestens ein major molekulares Ansprechen (MMoIR) erreicht werden (*Baccarani et al. 2006*).

Das Gesamtüberleben nach 7 Jahren betrug bei den mit Imatinib behandelten Patienten 86%. Die 7-Jahres-Ergebnisse der IRIS-Studie bestätigen Imatinib als Goldstandard für die *first-line* Therapie der CML (*Hochhaus et al. 2009*).

## 2.3 Imatinib Resistenz bei CML

Trotz des Vorliegens sehr guter klinischer Ergebnisse, gibt es immer wieder Patienten, die auf eine Therapie mit Imatinib nicht ansprechen oder unter der Behandlung wieder progredient sind. Beim aktuellen Stand der IRIS Studie handelt es sich hierbei um ca. 15% der Patienten. Daher sind unter einer Therapie mit Imatinib regelmäßige zytogenetische und molekulargenetische Untersuchungen erforderlich. Als Ursache eines Therapieversagens wurden mehrere Resistenzmechanismen identifiziert. Grundsätzlich wird zwischen einer primären Resistenz, d.h. der Unwirksamkeit einer Therapie bereits zu Beginn der Behandlung und einer sekundär erworbenen Resistenz, also dem Auftreten einer Therapieunwirksamkeit nach initialem Ansprechen, unterschieden. Das Auftreten einer klinischen Resistenz gegenüber Imatinib bei CML oder Ph+ ALL ist häufig zurückzuführen auf spezifische molekulare Veränderungen in einem Krankheitsklon, der unter Therapie mit Imatinib selektioniert wird. Mutationen in der BCR-ABL Kinasedomäne stellen hierbei den wesentlichen Mechanismus dar und finden sich in 42% bis 90% der Fälle bei AP/BC mit Resistenz gegenüber Imatinib. Mehr als 100 dieser Mutationen in BCR-ABL wurden bislang beschrieben. Grundsätzlich können diese Mutationen



zur Reaktivierung der BCR-ABL Aktivität führen und gehen in etwa 89% der Fälle einem hämatologischen Rezidiv voraus (Gorre et al.2001, Hochhaus et al. 2002, Shah et al. 2002). Ebenfalls häufig (in ca. 30% bis 50%) findet sich bei Auftreten einer Imatinib-Resistenz eine klonale Evolution, d.h. die Selektion eines Klons, der zusätzliche zytogenetische Aberrationen akquiriert hat und zur Entstehung einer BCR-ABL unabhängigen Blastenpopulation führt (Hochhaus et al. 2002). Ein weiterer Mechanismus der Imatinib-Resistenz ist die Amplifikation des BCR-ABL-Gens bzw. Überexpression des BCR-ABL-Proteins. Dies führt zu einem relativen Überschuss an BCR-ABL-Protein in der Zelle, so dass auch in Anwesenheit von Imatinib eine residuelle BCR-ABL-Kinaseaktivität das Überleben des Krankheitsklons ermöglicht. Dieser Mechanismus ist in ca. 10% bis 15% der Patienten mit Imatinib-resistenter CML nachweisbar (Gorre et al.2001). Verschiedene Resistenzmechanismen können in einem individuellen Patienten koexistieren und damit im Hinblick auf die Entwicklung einer Resistenz zusammenwirken. Neben den genannten Resistenzmechanismen gibt es Hinweise für die Bedeutung zusätzlicher Mechanismen, die zu einer Resistenz gegenüber Imatinib beitragen könnten, darunter die erhöhte Bindung von Imatinib an Plasmaproteine. Insbesondere die Bindung von Imatinib an das Serumprotein alpha-1 saures Glykoprotein (AGP) wurde von Gambacorti-Passerini et al. auf Zellkulturebene und tierexperimentell als nichtzellulärer Mechanismus der Resistenz diskutiert (Gambacorti-Passerini et al.2000). Die klinische Relevanz dieses Mechanismus ist nicht eindeutig geklärt (Gambacorti-Passerini et al. 2002, Laghero et al. 2003).Dennoch konnten wir in einer unserer Arbeiten zeigen, dass ein stadienabhängiger Anstieg von AGP bei Patienten in chronischer Phase, akzelerierter Phase oder Blastenkrise nachzuweisen ist, der sich im Verlauf einer Imatinib-Therapie normalisierte (le Coutre et al. 2002). Eine häufig unbeachtete Ursache zur Entstehung einer Resistenz gegenüber Imatinib ist mangelnde Compliance seitens des Patienten. In der Praxis kann beobachtet werden, dass Patienten Imatinib z.B. während der Urlaubszeit absetzen. Es ist wichtig, Patienten darüber aufzuklären, dass auch bei gutem zytogenetischen und molekularem Ansprechen das Absetzen des Medikaments zur Selektion eines resistenten Krankheitsklons, und damit zu Rezidiven und zur Entwicklung einer Resistenz führen kann.

### 3. Paper-Vorstellung:

#### 3.1 „*Imatinib in Philadelphia Chromosome Positive Chronic Phase CML Patients: Molecular and Cytogenetic Response Rates and Prediction of Clinical Outcome*“

le Coutre P, Kreuzer KA, Na IK, Schwarz M, Lupberger J, Holdhoff M, Baskaynak G, Geschaidmeier H, Platzbecker U, Ehninger G, Prejzner W, Huhn D, Schmidt CA.  
Am J Hematol, 73:249-255, 2003

Die in dieser Arbeit beschriebenen 39 CML Patienten in chronischer Phase wurden in unserer Klinik im Rahmen eines *expanded-access*-Programms (CSTI571 0113) analog der international durchgeführten Phase II Studie behandelt und erhielten täglich eine Imatinib-Dosis von 400 mg oral. Nach einer medianen Beobachtungsdauer von 30,1 Wochen konnten wir vergleichbare klinische Ergebnisse dokumentieren, wie in den vorpublizierten Phase-II-Studienergebnissen (bei 454 Patienten mit Interferon- $\alpha$  refraktärer CML in chronischer Phase: in 95% komplette hämatologische Remission und in 60% major-zytogenetisches Ansprechen). Bei unserem Patientenkollektiv zeigten 92,3% der Patienten ein komplettes hämatologisches Ansprechen und 61,5% ein major-zytogenetisches Ansprechen. Bei drei Patienten wurde im *follow-up* ein Rezidiv mit raschem Übergang in eine akzelerierte Phase oder Blastenkrise festgestellt.

Imatinib wurde auch in unserer Patientengruppe insgesamt gut vertragen. Die häufigsten Nebenwirkungen waren Flüssigkeitsretention (46,2%), Muskelkrämpfe (25,6%), Ekzeme (12,8%) und Gewichtszunahme (12,8%), die als Grad-I- oder Grad-II-Toxizitäten zu werten waren. Allerdings zeigten zwei der Patienten eine Adipositas III. Grades und ein Patient zeigte einen Hautausschlag vom Ausmaß einer Grad-IV-Toxizität. An hämatologischen Toxizitäten sahen wir in 8% der Fälle eine Neutropenie und 41% zeigten eine Thrombozytopenie ohne Folgen sekundärer Komplikationen.

Ein in Vorarbeiten vermuteter Mechanismus zur Resistenzentstehung gegenüber Imatinib, ist die Bindung von Imatinib an das Serumprotein alpha-1-saures Glykoprotein (AGP).

Es wird angenommen, dass die Plasmaproteinbindung zur Herabsetzung der freien und aktiven Imatinib-Konzentration führt, was wiederum eine optimale Voraussetzung für die Selektion resistenter

Klone darstellt. In unserer Patientengruppe konnten AGP Proteinlevel von 21 Patienten turbidimetrisch bestimmt werden. Es konnte gezeigt werden, dass bei Patienten, die unter einer Imatinib-Therapie ein Rezidiv aufwiesen, erhöhte AGP-Werte vor Therapiebeginn vorlagen. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass initial erhöhte AGP-Plasmaspiegel mit einem schlechteren klinischen *outcome* einer Imatinib-Therapie einhergehen. Dieser Parameter konnte dennoch keine Anwendung in der gegenwärtigen Praxis finden. Hierbei spielt die überlegene Bestimmung des BCR-ABL Transkriptes eine wesentliche Rolle.

Mit dem Ziel einer geeigneten Therapieüberwachung, führten wir quantitative Bestimmungen der BCR-ABL Fusionstranskripte mittels Real-time PCR durch. Die quantitative Echtzeitfluoreszenz-PCR für das Fusionstranskript des Major-bcr-abl wurde in unserer Arbeitsgruppe durchgeführt und ist auch bereits publiziert worden (*Kreuzer et al. Int J Cancer 2000*). Als quantitative Referenz benutzen wir das  $\beta$ -Actin Transkript. Das molekulare Monitoring wurde an insgesamt 25 Patienten durchgeführt und zeigte einen signifikanten Abfall der BCR-ABL Fusionstranskripte bereits nach dreimonatiger Therapie mit Imatinib. Aufgrund der kurzen Beobachtungsdauer, konnte nur in 14 Fällen eine Analyse nach neun Monaten durchgeführt werden. Nach dieser Beobachtungsdauer zeigte sich bei diesen 14 Patienten ein Abfall der BCR-ABL Transkripte um zwei logarithmische Stufen. Bei einem Patienten konnte eine komplette molekulare Remission dokumentiert werden. Als Marker für das progressionsfreie Überleben scheint das molekulare Ansprechen nach neuester Datenlage des 7-Jahres-Update der IRIS Studie zunehmend an Bedeutung zu gewinnen. In einer Substudie der IRIS Study Group wurde der prognostische Wert des molekularen Ansprechens zu bestimmten Zeitpunkten evaluiert. Es zeigte sich, dass das Niveau des molekularen Ansprechens nach 6, 12 und 18 Monaten prädiktiv für das Langzeitergebnis der Therapie ist (*Huges et al. ASH 2008, Abstract 334*).

### **3.2 „Pharmacokinetics and cellular uptake of imatinib and its main metabolite CGP74588“**

le Coutre P, Kreuzer KA, Pursche S, Bonin M, Leopold T, Baskaynak G, Dörken B, Ehninger G, Ottmann O, Jenke A, Bornhauser M, Schleyer E  
*Cancer Chemother Pharmacol.* 53(4):313-23, 2004

Trotz einer Vielzahl publizierter Daten zur Effektivität von Imatinib gab es zum Zeitpunkt dieses Projektes nur unzureichende Daten zur Pharmakokinetik von Imatinib. Pharmakokinetische Daten sind jedoch für das Verständnis der Resistenzentstehung und des interindividuell unterschiedlichen Ansprechens von großer Notwendigkeit. Insbesondere die Frage des transmembranösen Transportes von Imatinib in die Zelle aber auch in Körperkompartimente wie z.B. in den Liquorraum bei Patienten mit Meningeosis leukaemica, sind bisher wenig geklärt worden. Darüber hinaus war zum Zeitpunkt der Durchführung dieses Projektes die biologische und klinische Relevanz von N-desmethyl-Imatinib (CGP74588), dem Hauptmetaboliten von Imatinib, kaum untersucht worden. Schließlich lassen sich Fragestellungen hinsichtlich der Interaktion von Imatinib mit Serumproteinen wie z.B. alpha-1-saures Glykoprotein (AGP) oder auch anderen Medikamenten nicht ohne entsprechende pharmakokinetische Untersuchungen beantworten.

Imatinib wird vorwiegend hepatisch von dem Cytochrom P450-Isoenzym CYP3A4 verstoffwechselt, wobei N-Desmethyl-Imatinib als Hauptmetabolit mit Restaktivität entsteht. Wie Imatinib besitzt auch N-Desmethyl-Imatinib eine inhibitorische Wirkung auf die Tyrosinkinaseaktivität von BCR-ABL, c-kit, PDGF-R und c-abl. Bei weiteren Metaboliten von Imatinib, wie dem Piperazin-N-Oxid-Imatinib, dem Hydroxymethyl-Phenyl-Imatinib und dem Pyridin-N-Oxid-Imatinib konnten bis dato keine biologische Aktivität festgestellt werden, so dass wir im Rahmen dieser Arbeit uns nur auf die Untersuchung von N-Desmethyl-Imatinib konzentriert haben. Mittels einer etablierten HPLC-Methode (high performance liquid chromatography) konnte an Proben von 97 Patienten mit chronisch myeloischer Leukämie (CML) oder akuter lymphatischer Leukämie (ALL), zu Imatinib und seinem Hauptmetaboliten CGP74588, pharmakokinetische Daten erhoben werden.

Für Imatinib konnte die AUC ( $39,5 \mu \times \text{h/ml}$  bei einer Dosierung von 400mg), die  $t_{1/2}$  (18,2h) und die maximale Plasmakonzentration ( $1,92 \mu\text{g/ml}$  bei einer Dosierung von 400 mg) ermittelt werden. In einer Untergruppe von Patienten wurden dieselben Parameter für N-Desmethyl-Imatinib gemessen. In einem arithmetischen Ansatz, unter Berücksichtigung der renalen und hepatischen Elimination, konnte daraufhin eine Abschätzung der grundlegenden pharmakokinetischen Parameter für Imatinib und dessen Hauptmetaboliten N-Desmethyl Imatinib errechnet werden.

Die Untersuchungen zeigten weiterhin eine etwa vierfach höhere HWZ für N-Desmethyl-Imatinib und eine verlängerte Auswaschzeit des Metaboliten im Gegensatz zu Imatinib (200h für N-Desmethyl-Imatinib versus 100h für Imatinib). Diese Beobachtungen führen zur Annahme, dass beispielsweise vor allogener Stammzelltransplantation, trotz des Absetzens von Imatinib, aufgrund der langen HWZ

des biologisch aktiven Metaboliten, eine Resttoxizität während myeloablativer Konditionierung auftreten kann.

Zur Klärung der Frage, ob die orale Imatinib-Therapie für die Behandlung von Leukämiepatienten mit meningealem Befall geeignet ist, wurden zusätzlich die intrathekale Imatinib-Konzentration bei 14 ALL-Patienten ohne Zeichen einer Meningeosis leukaemica und 3 ALL-Patienten mit nachgewiesenem meningealem Befall untersucht. Alle untersuchten Patienten zeigten sehr niedrige Imatinib-Konzentrationen im Liquor, so dass wir davon ausgehen, dass Imatinib die Blut-Hirn-Schranke kaum passieren kann und somit ungeeignet ist in der Behandlung eines leukämischen ZNS-Befalles. Inzwischen konnte durch Auswertungen der IRIS *Study Group* gezeigt werden, dass eine Korrelation zwischen Imatinib-Plasmaspiegeln und klinischem Ansprechen besteht. Patienten zeigten unter hoher dosierter Imatinib-Applikation und adäquaten Imatinibplasma-Konzentrationen ein besseres klinisches Ansprechen mit höheren Raten an kompletter zytogenetischer Remission, an molekulare Remission (MMR = *major molecular response*) und *Event free survival* (Larson et al. 2008).

### **3.3 „Squamous cutaneous epithelial cell carcinoma in two CML patients with progressive disease under imatinib treatment“**

Baskaynak G, Kreuzer KA, Schwarz M, Zuber J, Audring H, Riess H, Dörken B, le Coutre P  
Eur J Hematol 70: 231-234, 2003

### **3.4 „Imatinib-induced acute generalized exanthematous pustulosis (AGEP) in two patients with chronic myeloid leukemia“**

Schwarz M, Kreuzer KA, Baskaynak G, Dörken B, le Coutre P  
Eur J Hematol 69(4): 254-256, 2002

In klinischen Studien hat sich Imatinib als gut verträglich mit mildem Toxizitätsprofil erwiesen. Die häufigsten, meist gering ausgeprägten Nebenwirkungen (Grad-I- bis Grad-II-Toxizitäten), bestehen in Übelkeit, Diarrhoe, Flüssigkeitsretention, Muskelkrämpfen und Hautrötungen bis zur Dermatitis. Als hämatologische Haupttoxizität tritt in circa 10% aller Patienten eine höhergradige Neutropenie auf. Neben der Hepatotoxizität gehört zu den eher seltenen Nebenwirkungen die Kardiotoxizität, die mit der Entwicklung einer kongestiven Herzinsuffizienz einhergehen kann (Kerkelä et al. 2006). Hauttoxizitäten unter Imatinib treten gehäuft auf, insgesamt zeigten 22% aller Patienten eine Dermatitis, in 1% der Fälle werden Grad-III bis Grad-IV Dermatitis beobachtet. Weiterhin wird unter einer Imatinib-Therapie die Verwendung von Sonnenschutz empfohlen, da es zu einer Hypopigmentierung der Haut kommen kann. In einer unserer Veröffentlichungen berichteten wir über eine seltene schwere Grad-IV-Hauttoxizität unter Imatinib-Therapie, im Sinne einer akuten generalisierten exanthematischen Pustulose (AGEP), die wir bei zwei unserer CML Patienten beobachten konnten. Die Pathogenese der AGEP ist bisher unbekannt, jedoch scheinen Medikamente in über 90% der Fälle als Auslöser eine Rolle zu spielen. Beide Patienten erhielten aufgrund eines fortgeschrittenen Erkrankungsstadiums eine Therapieinitiierung mit höher dosiertem Imatinib, 600 mg täglich oral. Nach einer kurzen zeitlichen Latenz von 3 Monaten entwickelte sich eine akute generalisierte Pustulose, einhergehend mit allgemeinen klinischen Symptomen wie Fieber und Erhöhung der Entzündungsparameter und dem disseminierten Auftreten multipler konfluierender Pusteln an sonnenexponierten Hautarealen. Zahlreiche mikrobiologische Untersuchungen konnten ein infektiöses Geschehen als Ursache der Hautläsionen ausschließen. Für das Vorliegen einer AGEP sprechen vor allem die charakteristischen histopathologischen Befunde und die restitutio ad integrum nach Absetzen. Bei Patienten, die Imatinib-Dosierungen unter 600 mg erhielten, wurden bislang in der Literatur keine Fälle einer AGEP beschrieben, so dass anzunehmen ist, dass möglicherweise ein dosisabhängiges Phänomen vorliegt.

In einer weiteren Arbeit beschrieben wir zwei weitere CML Patienten mit unterschiedlich langer Krankheitsvorgeschichte, die unter einer Imatinib-Therapie ein Plattenepithelkarzinom der Haut entwickelten. Das Plattenepithelkarzinom (PEK) ist nach dem Basalzellkarzinom der zweithäufigste Hauttumor und in der weißen Bevölkerung ist eine Zunahme des Neuauftretens zu verzeichnen. Der wichtigste ursächliche Faktor ist die chronische Ultraviolettlichtbelastung, insbesondere bei sonnenlichtempfindlichen Personen. Neben der UV-Strahlung können auch Arsenexposition und Röntgenstrahlung eine maligne Transformation der Haut auslösen.

Risikofaktoren für das Entstehen von Plattenepithelkarzinomen sind aktinische Keratosen, höheres Alter, die summierte Sonnenbelastung und helle Pigmentierung. Bei immun-geschwächten Patienten ist das Risiko dieser Tumoren stark erhöht und die Krankheitsverläufe sind ungünstiger. Neben einer Behandlung mit Hydroxyurea spielen auch humane Papillomaviren (HPV) eine Rolle in der Genese des PEK der Haut. Bei beiden Patienten lagen multiple Risikofaktoren für die Entstehung eines Plattenepithelkarzinoms der Haut vor. Die Patienten wiesen bei Diagnosestellung des PEK ein hohes Alter > 70 Jahren auf, beide waren über einen längeren Zeitraum mit Hydroxyurea vorbehandelt worden und einer der Patienten zeigte zusätzlich im Vorfeld multiple aktinische Keratosen an sonnenexponierten Stellen. Leider konnten wir im Rahmen unserer Untersuchungen eine HPV Genese nicht ausschließen, so dass auch eine mögliche Infektion mit HPV im Raum steht, zumal die Patienten bedingt durch CML-Erkrankung immunsupprimiert und signifikant empfänglicher für virale Erkrankungen sind. Zusammenfassend lässt sich aus diesen beiden Fällen schließen, dass das Plattenepithelkarzinom am Ehesten auf dem Boden eines multifaktoriellen Geschehens entstanden ist. Jedoch sollte aufgrund des häufigen Auftretens von Hauttoxizitäten unter einer Imatinib-Therapie ein vorsichtiges *monitoring* von malignen Neoplasien der Haut erfolgen, da noch keine ausreichenden Langzeitergebnisse zu dieser Substanz vorliegen. In der Tat sind in der Zwischenzeit ähnliche Fälle mit der Entwicklung von Zweitumoren nach und während einer Imatinib-Therapie beschrieben worden. Eine französische Arbeitsgruppe um Francois Guilhot konnte zeigen, dass die Inzidenz von Urogenitatumoren bei Imatinib behandelten Patienten erhöht ist (Roy et al. 2005). Die Untersuchung der Langzeittoxizität wird gegenwärtig bei über 800 CML Patienten im Rahmen der ILTE – Studie (Imatinib long term effects study) als multizentrische Verlaufsbeobachtung durchgeführt.

#### 4. Zusammenfassung

Seit den späten 80er Jahren ist bekannt, dass dysregulierte bzw. onkogene Tyrosinkinase häufig eine Schlüsselrolle in der Entstehung maligner Erkrankungen spielen. So wurde das Konzept verfolgt, gezielte Therapieansätze zu entwickeln, die diese Tyrosinkinase inhibieren und somit Tumorerkrankungen effektiv eradizieren könnten. Bei der chronischen myeloischen Leukämie ist die dauerhaft aktivierte und dysregulierte BCR-ABL Tyrosinkinase Ursache der Erkrankung. Durch den Einsatz des selektiven Tyrosinkinase-Inhibitors Imatinib konnten herausragende Behandlungsergebnisse erzielt werden, so dass Imatinib zur Standardtherapie der CML wurde. Die neuesten Daten der IRIS Studie zeigen nach einer Beobachtungszeit von 7 Jahren zytogenetische Ansprechraten von 89% im Sinne eines MCR und ein komplettes zytogenetisches Ansprechen (CCR) von 82%.

Die vorliegende Promotionsarbeit beschäftigt sich mit den klinischen Ansprechraten einer Imatinib-Therapie bei chronische Phase Patienten, der Pharmakokinetik dieser Substanz und seines Hauptmetaboliten und mit der Dokumentation seltener dermatologischer Toxizitäten und der Entwicklung von Zweitumoren unter Therapie. Im Hinblick auf das molekulare Ansprechen konnte in unserer Arbeitsgruppe frühzeitig ein molekulares Ansprechen auf Imatinib im Sinne eines Abfalls der BCR-ABL positiven Leukämiezelllast beschrieben werden. Erst in den Folgejahren konnten ähnliche Daten aus den großen Studiengruppen publiziert werden. Gleichzeitig konnten die pharmakokinetischen Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe und unserer Kooperationspartner die Bedeutung der Plasmaspiegelbestimmung zeigen. In diesem Sinne sind die gegenwärtigen Arbeiten zur Pharmakokinetik an großen Patientengruppen zu beurteilen. Trotz seines günstigen Nebenwirkungsprofils, konnten die Fallberichte zu unter Imatinib auftretenden Hauttoxizitäten zum weiteren Verständnis der Toxizität beitragen. Dennoch sind die genauen Mechanismen, die hierbei eine Rolle spielen könnten nach wie vor unklar. Für Patienten mit Resistenz, die nicht auf eine Dosiserhöhung von Imatinib ansprechen, und Patienten mit Imatinib-Intoleranz sind neue Therapien bzw. Strategien notwendig. Konsequenterweise richtete sich der Fokus in den letzten Jahren daher auf die Entwicklung der nächsten Generation von Tyrosinkinase-Inhibitoren. In diesem Sinne sind in den letzten Jahren die beiden Substanzen Nilotinib und Dasatinib entwickelt worden (Kantarjian et al. 2007, Hochhaus et al. 2008). Nilotinib wirkt als sehr selektiver (hochaffiner), potenter Hemmstoff der Tyrosinkinase BCR-ABL und ist gegen 32 von 33 getesteten BCR-ABL Mutationen aktiv. Dasatinib hat eine vergleichsweise noch höhere Aktivität gegenüber BCR-ABL, ist jedoch durch eine größere Anzahl an potentiellen Targetstrukturen gekennzeichnet. Nilotinib und Dasatinib sind für die CML nach Imatinib-Versagen und Imatinib-Intoleranz und die Ph-positive ALL zugelassen. Der Einsatz der neuen Inhibitoren erfolgt auf der Basis hämatologischer, zytogenetischer und molekularer Parameter, die unter Federführung des European LeukemiaNet erarbeitet und publiziert wurden. Ein sorgfältiges und regelmäßiges Monitoring aller CML-Patienten ermöglicht die rechtzeitige Therapieoptimierung.

## 5. Literaturverzeichnis

- [1] Virchow, R. (1845): Weisses Blut, *Fropiens Notizen* 36, Seite 151-156.
- [2] Bennett, J.H. Case of hypertrophy of the spleen and liver, in which death took place from suppuration of the blood, *Edinburgh Med Surg J* 1845; 64:413-423.
- [4] Heyssel R, Brill B, Woodbury L. Leukemia in Hiroshima bomb survivors. *Blood*, 5, 313, 1960.
- [5] Ichimaru, M.; Ishimaru, T. und Belsky, J. L. Incidence of leukemia in atomic bomb survivors belonging to a fixed cohort in Hiroshima and Nagasaki, 1950–71. Radiation dose, years after exposure, age at exposure, and type of leukemia, *J Radiat Res (Tokyo)*; 19,3:262-82, 1978.
- [6] Corso A, Lazzarino M, Morra E, Merante S, Astori C, Bernasconi P, Boni M, Bernasconi C. Chronic myelogenous leukemia and exposure to ionizing radiation – a retrospective study of 433 patients. *Ann Hematol*, 70, 79-82, 1995.
- [7] Baccarani, M.; Saglio, G.; Goldman, J., et al. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet, *Blood*; 108,6:1809-20, 2006.
- [8] Cervantes, F.; Villamor, N.; Esteve, J., et al. 'Lymphoid' blast crisis of chronic myeloid leukaemia is associated with distinct clinicohaematological features, *Br J Haematol*; 100,1:123-8, 1998.
- [9] Jacobs, P. und Greaves, M. Ph1-positive T lymphoblastic transformation, *Leuk Res*; 8,4:737-9, 1984.
- [10] Rowley, J. D. Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining, *Nature*;243,5405:290-3, 1973 .
- [11] Advani, A. S. und Pendergast, A. M. Bcr-Abl variants: biological and clinical aspects, *Leuk Res* 2002; 26,8:713-20.
- [12] Maurer, J.; Janssen, J. W.; Thiel, E., et al. Detection of chimeric BCR-ABL genes in acute lymphoblastic leukaemia by the polymerase chain reaction, *Lancet* 1991; 337,8749:1055-8.
- [13] Clarkson, B.; Strife, A.; Wisniewski, D.; Lambek, C. L. und Liu, C. Chronic myelogenous leukemia as a paradigm of early cancer and possible curative strategies, *Leukemia* 2003; 17,7:1211-62.
- [14] Sawyers CL, McLaughlin J, Witte ON. Genetic requirement for Ras in the transformation of fibroblasts and hematopoietic cells by the Bcr-Abl oncogene. *J Exp Med*, 181, 307-313, 1995.
- [15] Shuai K, Halpern J, ten Hoeve J, Rao X, Sawyers CL. Constitutive activation of STAT5 by the Bcr-Abl oncogene in chronic myelogenous leukemia. *Oncogene*, 13, 247- 254, 1996.
- [16] Sanchez-Garcia I, Martin-Zanca D. Regulation of Bcl-2 gene expression by Bcr-Abl is mediated by Ras. *J Mol Biol*, 267, 225-228, 1997
- [17] Hehlmann, R.; Heimpel, H.; Hasford, J., et al. Randomized comparison of interferon-alpha with busulfan and hydroxyurea in chronic myelogenous leukemia. The German CML Study Group, *Blood* 1994; 84,12:4064-77.
- [18] Guilhot, F.; Chastang, C.; Michallet, M., et al. Interferon alfa-2b combined with cytarabine versus interferon alone in chronic myelogenous leukemia. French Chronic Myeloid Leukemia Study Group, *N Engl J Med* 1997; 337,4:223-9.
- [19] Hehlmann R, Berger U, Pfirrmann M, Hochhaus A, Metzgeroth G, Maywald O, Hasford J, Reiter A, Hossfeld DK, Kolb HJ, Löffler H, Pralle H, Queisser W, Griesshammer M, Nerl C, Kuse R, Tobler A, Eimermacher H, Tichelli A, Aul C, Wilhelm M, Fischer JT, Perker M, Scheid C, Schenk M, Weiss J, Meier CR, Kremers S, Labedzki L, Schmeiser T, Lohrmann HP, Heimpel H; German CML-Study Group. Randomized comparison of interferon alpha and hydroxyurea with hydroxyurea monotherapy in chronic myeloid leukemia (CML-study II): prolongation of survival by the combination of interferon alpha and hydroxyurea. *Leukemia*. 2003 Aug;17(8):1529-37.
- [20] Kluin-Nelemans HC, Buck G, le Cessie S, Richards S, Beverloo HB, Falkenburg JH, Littlewood T, Muus P, Bareford D, van der Lelie H, Green AR, Roozendaal KJ, Milne AE, Chapman CS, Shepherd P; MRC and HOVON groups. Randomized comparison of low-dose versus high-dose interferon-alfa in chronic myeloid leukemia:

prospective collaboration of 3 joint trials by the MRC and HOVON groups. *Blood*. 2004 Jun 15;103(12):4408-15. Epub 2004 Mar 9.

[21] Buchdunger E, Zimmermann J, Mett H, Meyer T, Müller M, Druker BJ, Lydon NB. Inhibition of the Abl protein-tyrosin kinase in vitro and in vivo by 2-phenylaminopyrimidine derivative. *Cancer Res.*, 56, 100-104, 1996.

[22] Druker, B. J.; Tamura, S.; Buchdunger, E., et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells, *Nat Med* 1996; 2,5:561-6.

[23] Gambacorti-Passerini C, le Coutre P, Mologni L, Fanelli M, Bertazzoli C, Marchesi E, Di Nicola M, Biondi A, Corneo GM, Belotti D, Pogliani E, Lydon NB. Inhibition of the ABL kinase activity blocks the proliferation of BCR/ABL+ leukemic cells and induces apoptosis. *Blood Cells Mol Dis*. 1997 Dec; 23(3):380-94.

[24] Deininger MW, Goldman JM, Lydon N, Melo JV. The tyrosine kinase inhibitor CGP57148B selectively inhibits the growth of BCR-ABL-positive cells. *Blood*. 1997 Nov 1; 90(9):3691-8.

[25] le Coutre P, Mologni L, Cleris L, Marchesi E, Buchdunger E, Giardini R, Formelli F, Gambacorti-Passerini C. In vivo eradication of human BCR/ABL-positive leukemia cells with an ABL kinase inhibitor. *J Natl Cancer Inst*. 1999 Jan 20;91(2):163-8.

[26] Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Peng B, Buchdunger E, Ford JM, Lydon NB, Kantarjian H, Capdeville R, Ohno-Jones S, Sawyers CL. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2001 Apr 5; 344(14):1031-7.

[27] Kantarjian H, Sawyers C, Hochhaus A, Guilhot F, Schiffer C, Gambacorti-Passerini C, Niederwieser D, Resta D, Capdeville R, Zoellner U, Talpaz M, Druker B, Goldman J, O'Brien SG, Russell N, Fischer T, Ottmann O, Cony-Makhoul P, Facon T, Stone R, Miller C, Tallman M, Brown R, Schuster M, Loughran T, Gratwohl A, Mandelli F, Saglio G, Lazzarino M, Russo D, Baccarani M, Morra E; International STI571 CML Study Group. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med*. 2002 Feb 28;346(9):645-52. Erratum in: *N Engl J Med* 2002 Jun 13; 346(24):1923.

[28] Sawyers CL, Hochhaus A, Feldman E, Goldman JM, Miller CB, Ottmann OG, Schiffer CA, Talpaz M, Guilhot F, Deininger MW, Fischer T, O'Brien SG, Stone RM, Gambacorti-Passerini CB, Russell NH, Reiffers JJ, Shea TC, Chapuis B, Coutre S, Tura S, Morra E, Larson RA, Saven A, Peschel C, Gratwohl A, Mandelli F, Ben-Am M, Gathmann I, Capdeville R, Paquette RL, Druker BJ. Imatinib induces hematologic and cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in myeloid blast crisis: results of a phase II study. *Blood*. 2002 May 15; 99(10):3530-9.

[29] O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F, Cornelissen JJ, Fischer T, Hochhaus A, Hughes T, Lechner K, Nielsen JL, Rousselot P, Reiffers J, Saglio G, Shepherd J, Simonsson B, Gratwohl A, Goldman JM, Kantarjian H, Taylor K, Verhoef G, Bolton AE, Capdeville R, Druker BJ; IRIS Investigators. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2003 Mar 13;348(11):994-1004.

[30] Hughes TP, Kaeda J, Branford S, Ruzski Z, Hochhaus A, Hensley ML, Gathmann I, Bolton AE, van Hoomissen IC, Goldman JM, Radich JP; International Randomised Study of Interferon versus STI571 (IRIS) Study Group. Frequency of major molecular responses to imatinib or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2003 Oct 9;349(15):1423-32.

[31] Six-year follow-up of patients receiving imatinib for the first-line treatment of chronic myeloid leukemia. Hochhaus A, O'Brien SG, Guilhot F, Druker BJ, Branford S, Foroni L, Goldman JM, Müller MC, Radich JP, Rudoltz M, Mone M, Gathmann I, Hughes TP, Larson RA. *Leukemia*. 2009 Mar 12. [Epub ahead of print]

[32] Gorre ME, Mohammed M, Ellwood K, Hsu N, Paquette R, Rao PN, Sawyers CL. Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification. *Science*, 293, 976-880, 2001

- [33] Hochhaus A, Kreil S, Corbin AS, La Rosee P, Müller MC, Lahaye T, Hanfstein B, Schoch C, Cross NC, Berger U, Gschaidmeier H, Druker BJ, Hehlmann R. Molecular and chromosomal mechanisms of resistance to imatinib (STI571) therapy. *Leukemia* 16, 2190-2196, 2002
- [34] Shah NP, Nicoll JM, Nagar B, Gorre ME, Paquette RL, Kuriyan J, Sawyers CL. Multiple BCR-ABL kinase domain mutations confer polyclonal resistance to the tyrosine kinase inhibitor imatinib (STI571) in chronic phase and blast crisis chronic myeloid leukemia. *Cancer Cell*, 2, 117-125, 2002
- [35] Gambacorti-Passerini C, Barni R, le Coutre P, Zuchetti M, Cabrita G, Cleris L, Rossi F, Gianazza E, Brueggen J, Cozens R, Pioltelli P, Pogliani E, Corneo G, Formelli F, D'Inalci M. Role of alpha1 acid glycoprotein in the in vivo resistance of human BCR-ABL(+) leukemic cells to the abl inhibitor STI571. *J Natl Cancer Inst*, 92(20):1641-50, 2000
- [36] Gambacorti-Passerini C, le Coutre P, Zucchetti M, D'Inalci M. Binding of imatinib by alpha(1)-acid glycoprotein. *Blood*,100(1), 367-8, 2002
- [37] Larghero J, Leguay T, Mourah S, Madelaine-Chambrin I, Taksin AL, Raffoux E, Bastie JN, Degos L, Berthaud P, Maroll JP, Calvo F, Chomienne C, Mahon FX, Rousselot P. Relationship between elevated levels of the alpha 1 acid glycoprotein in chronic myelogenous leukemia in blast crisis and pharmacological resistance to imatinib (Gleevec) in vitro and in vivo. *Biochem Pharmacol*, 66(10), 1907-1913, 2003
- [38] le Coutre P, Kreuzer KA, Na IK, Lupberger J, Holdhoff M, Appelt C, Schwarz M, Müller C, Gambacorti-Passerini C, Platzbecker U, Bonnet R, Ehninger G, Schmidt CA. Determination of alpha 1 acid glycoprotein in patients with Ph+ chronic myeloid leukemia during the first 13 weeks of therapy with STI571. *Blood Cells Mol Dis*. 2002 Jan-Feb;28(1):75-85.
- [39] Kreuzer KA, Lass U, Nagel S, Ellerbrok H, Pauli G, Pawlaczyk-Peter B, Siegert W, Huhn D, Schmidt CA. Applicability of an absolute quantitative procedure to monitor intra-individual bcr/abl transcript kinetics in clinical samples from chronic myelogenous leukemia patients. *Int J Cancer*. 2000 Jun 1;86(5):741-6.
- [39] Larson RA, Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, Riviere GJ, Krahnke T, Gathmann I, Wang Y; IRIS (International Randomized Interferon vs STI571) Study Group (Lechner K). Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: a subanalysis of the IRIS study. *Blood*. 2008; 111:4022-8.
- [40] Kerkelä R, Grazette L, Yacobi R, Iliescu C, Patten R, Beahm C, Walters B, Shevtsov S, Pesant S, Clubb FJ, Rosenzweig A, Salomon RN, Van Etten RA, Alroy J, Durand JB, Force T. Cardiotoxicity of the cancer therapeutic agent imatinib mesylate. *Nat Med*. 2006 Aug;12(8):908-16. Epub 2006 Jul 23.
- [41] Roy L, Guilhot J, Martineau G, Larcheè R, Guilhot F. Unexpected occurrence of second malignancies in patients treated with interferon followed by imatinib mesylate for chronic myelogenous leukemia. *Leukemia*, 19,1689-1692, 2005.
- [42] Kantarjian HM, Giles F, Gattermann N, Bhalla K, Alimena G, Palandri F, Ossenkoppele GJ, Nicolini FE, O'Brien SG, Litzow M, Bhatia R, Cervantes F, Haque A, Shou Y, Resta DJ, Weitzman A, Hochhaus A, le Coutre P. Nilotinib (formerly AMN107), a highly selective BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor, is effective in patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in chronic phase following imatinib resistance and intolerance. *Blood*. 2007 Nov 15;110(10):3540-6. Epub 2007 Aug 22.
- [43] Hochhaus A, Baccarani M, Deininger M, Apperley JF, Lipton JH, Goldberg SL, Corm S, Shah NP, Cervantes F, Silver RT, Niederwieser D, Stone RM, Dombret H, Larson RA, Roy L, Hughes T, Müller MC, Ezzeddine R, Countouriotis AM, Kantarjian HM. Dasatinib induces durable cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase with resistance or intolerance to imatinib. *Leukemia*. 2008 Jun;22(6):1200-6. Epub 2008 Apr 10.

**An den Vorsitzenden des Promotionsausschusses  
der Charité – Universitätsklinikum Berlin**

**Antrag auf Zulassung zur Durchführung einer Publikationspromotion zur Promotion  
zum Dr. med. an der Charité – Universitätsmedizin Berlin**

**Erklärung über den Anteil an den Publikationen**

**Zur Publikation 1:**

American Journal of Hematology 73:249-255, 2003

Titel:

**Imatinib in Philadelphia Chromosome Positive Chronic Phase CML Patients: Molecular and Cytogenetic Response Rates and Prediction of Clinical Outcome.**

Autoren:

le Coutre P, Kreuzer KA, Na IK, Schwarz M, Lupberger J, Holdhoff M, Baskaynak G, Geschaidmeier H, Platzbecker U, Ehninger G, Prejzner W, Huhn D, Schmidt CA.

**Eigener Anteil:**

Im Rahmen dieser Arbeit war ich neben der 100%igen Betreuung der CML-Patienten in der Hochschulambulanz unserer Klinik und der Dokumentation der klinischen Ergebnisse hauptsächlich und maßgeblich für die Durchführung und Auswertung der molekularbiologischen Daten verantwortlich. Bereits seit dem Jahr 1998 war ich als Doktorandin in der Arbeitsgruppe für Molekularbiologie der Klinik beschäftigt gewesen und wurde früh in die gängigen Methoden wie Nukleinsäureextraktion, reverse Transkription, Klonierung und PCR-basierende Techniken, insbesondere in die Durchführung der quantitativen Echtzeit-Fluoreszenz-PCR nach dem TaqMan®- und LightCycler®-Prinzip, eingewiesen.

Die Quantifizierung der BCR-ABL mRNA wurde von mir selbständig durchgeführt, an der Auswertung der klinischen Befunde, wie dem hämatologischen, zytogenetischen und molekularen Ansprechen und der Diskussion war ich zu einem großen Teil beteiligt. Die Bestimmung der AGP-Proteinlevel wurde durch die Mitautoren des Institutes für klinische Chemie durchgeführt.

**Zur Publikation 2:**

Cancer Chemotherapy Pharmacology 53(4):313-23, 2004

Titel:

**Pharmacokinetics and cellular uptake of imatinib and its main metabolite CGP74588.**

Autoren:

le Coutre P, Kreuzer KA, Pursche S, Bonin M, Leopold T, Baskaynak G, Dörken B, Ehninger G, Ottmann O, Jenke A, Bornhauser M, Schleyer E

**Eigener Anteil:**

Der auf meine Person zurückgehende Anteil an den in dieser Arbeit publizierten Daten besteht zunächst in der klinischen Betreuung der untersuchten Patienten. Darüber hinaus war ich für die definierte Entnahme des Probenmaterials sowie deren Aufbereitung zuständig. Schließlich wurde die Korrelation der erhobenen Plasmaspiegel mit den jeweiligen Imatinibdosierungen von mir durchgeführt. Die Plasmaspiegelbestimmungen mittels HPLC wurden durch unsere Kooperationspartner in der Arbeitsgruppe von Eberhard Schleyer an der Universität Dresden durchgeführt.

Im Rahmen von bislang unveröffentlichten Untersuchungen analysierte ich weiterhin die Aktivität des Hauptmetaboliten in Zellproliferations-Assays bzw. im Westernblot. Hierbei zeigte sich analog zu der Inhibierung der Tyrosinkinaseaktivität von bcr-abl durch Imatinib eine vergleichbare Hemmung durch den Hauptmetaboliten CGP74588.



**Zur Publikation 3:**

European Journal of Hematology 70: 231-234, 2003

Titel :

**Squamous cutaneous epithelial cell carcinoma in two CML patients with progressive disease under imatinib treatment.**

Autoren:

Baskaynak G, Kreuzer KA, Schwarz M, Zuber J, Audring H, Riess H, Dörken B, le Coutre P

**Eigener Anteil:**

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Patienten mit Zweittumoren der Haut beschrieben. Nach Identifizierung dieser Toxizitäten lag die weitere Diagnostik und Therapie dieser Patienten ausschließlich in meiner Verantwortung. Hierzu gehörten die spezifische hämatologische Kontrolle sowie die interdisziplinäre Betreuung.

Das Zusammentragen der relevanten klinischen Daten sowie deren Publikation wurde ausschließlich von mir alleine durchgeführt.

Inzwischen sind ähnliche Fälle mit der Entwicklung von Zweittumoren nach und während Imatinibtherapie wiederholt beschrieben worden. Insbesondere im Rahmen der ILTE – Studie (Imatinib long term effects study) werden gegenwärtig über 800 CML Patienten hinsichtlich der Langzeitnebenwirkungen von Imatinib untersucht.

**Zur Publikation 4:**

European Journal of Hematology 69(4): 254-256, 2002

Titel:

**Imatinib-induced acute generalized exanthematous pustulosis (AGEP) in two patients with chronic myeloid leukemia.**

Autoren:

Schwarz M, Kreuzer KA, Baskaynak G, Dörken B, le Coutre P

**Eigener Anteil:**

In dieser Publikation wurden seltene dermatologische Toxizitäten bei Imatinib-behandelten Patienten beschrieben. Ähnlich wie bei der oben genannten Arbeit sind auch diese Toxizitäten inzwischen wiederholt beschrieben worden. Mein persönlicher Anteil an dieser Arbeit bestand in der studienprotokollanalogen Behandlung dieser Patienten. Weiterhin war ich an der Konzeption des Manuskriptes in entscheidender Form beteiligt.

Datum, Unterschrift:

10.08.2009, PD Dr. med. Philipp le Coutre  
Betreuer des Promotionsvorhabens

Datum, Unterschrift:

10.08.2009, Gökben Koca  
Antragstellerin

## **Publikationsübersicht und Autoren**

Die folgenden in dieser Übersicht aufgeführten Publikationen wurden dieser Zusammenfassung für eine Publikationspromotion zugrunde gelegt.

### **Publikation 1:**

**„Imatinib in Philadelphia Chromosome Positive Chronic Phase CML Patients: Molecular and Cytogenetic Response Rates and Prediction of Clinical Outcome.“**

le Coutre P, Kreuzer KA, Na IK, Schwarz M, Lupberger J, Holdhoff M, Baskaynak G, Geschaidmeier H, Platzbecker U, Ehninger G, Prejzner W, Huhn D, Schmidt CA.  
Am J Hematol, 73:249-255, 2003

### **Publikation 2:**

**„Pharmacokinetics and cellular uptake of imatinib and its main metabolite CGP74588“**

le Coutre P, Kreuzer KA, Pursche S, Bonin M, Leopold T, Baskaynak G, Dörken B, Ehninger G, Ottmann O, Jenke A, Bornhauser M, Schleyer E  
Cancer Chemother Pharmacol 53(4):313-23, 2004

### **Publikation 3:**

**„Squamous cutaneous epithelial cell carcinoma in two CML patients with progressive disease under imatinib treatment“**

Baskaynak G, Kreuzer KA, Schwarz M, Zuber J, Audring H, Riess H, Dörken B, le Coutre P  
Eur J Hematol 70: 231-234, 2003

### **Publikation 4:**

**„Imatinib-induced acute generalized exanthematous pustulosis (AGEP) in two patients with chronic myeloid leukemia“**

Schwarz M, Kreuzer KA, Baskaynak G, Dörken B, le Coutre P  
Eur J Hematol 69(4): 254-256, 2002

## **Tabellarischer Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus Gründen des Datenschutzes in der elektronischen Fassung meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## Publikationsliste

**[1] Vaccination with autologous non-irradiated dendritic cells in patients with bcr/abl+ chronic myeloid leukaemia.**

Westermann J, Kopp J, van Lessen A, Hecker AC, Baskaynak G, le Coutre P, Döhner K, Döhner H, Dörken B, Pezzutto A.

Br J Haematol. 2007 May;137(4):297-306. Epub 2007 Apr 4.

**Impact Factor: 4,49**

**[2] Simultaneous cytokine analysis by cytometric bead array for the detection of leukaemia-reactive T cells in patients with chronic myeloid leukaemia.**

Westermann J, Lessen A, Schlimper C, Baskaynak G, le Coutre P, Dörken B, Pezzutto A.

Br J Haematol. 2006 Jan;132(1):32-5.

**Impact Factor: 4,49**

**[3] Filgrastim-induced stem cell mobilization in chronic myeloid leukaemia patients during imatinib therapy: safety, feasibility and evidence for an efficient in vivo purging.**

Kreuzer KA, Klühs C, Baskaynak G, Movassaghi K, Dörken B, le Coutre P.

Br J Haematol. 2004 Jan;124(2):195-9.

**Impact Factor: 4,49**

**[4] Pharmacokinetics and cellular uptake of imatinib and its main metabolite CGP74588.**

le Coutre P, Kreuzer KA, Pursche S, Bonin M, Leopold T, Baskaynak G, Dörken B, Ehninger G, Ottmann O, Jenke A, Bornhäuser M, Schleyer E.

Cancer Chemother Pharmacol. 2004 Apr;53(4):313-23. Epub 2003 Dec 5.

**Impact Factor: 2,568**

**[5] Autologous peripheral blood stem cell transplantation of stem cells harvested in imatinib-induced complete cytogenetic remission: an example of in vivo purging in CML.**

le Coutre P, Kreuzer KA, Massenkeil G, Baskaynak G, Zscheschang P, Genvresse I, Lupberger J, Mapara M, Dörken B, Arnold R.

Leukemia. 2003 Dec;17(12):2525-6.

**Impact Factor: 6,924**

**[6] Imatinib in Philadelphia chromosome-positive chronic phase CML patients: molecular and cytogenetic response rates and prediction of clinical outcome.**

le Coutre P, Kreuzer KA, Na IK, Schwarz M, Lupberger J, Holdhoff M, Baskaynak G, Gschaidmeier H, Platzbecker U, Ehninger G, Prejzner W, Huhn D, Schmidt CA.

Am J Hematol. 2003 Aug;73(4):249-55.

**Impact Factor: 1,949**

**[7] Squamous cutaneous epithelial cell carcinoma in two CML patients with progressive disease under imatinib treatment.**

Baskaynak G, Kreuzer KA, Schwarz M, Zuber J, Audring H, Riess H, Dörken B, le Coutre P.

Eur J Haematol. 2003 Apr;70(4):231-4.

**Impact Factor: 2,163**

**[8] Imatinib-induced acute generalized exanthematous pustulosis (AGEP) in two patients with chronic myeloid leukemia.**

Schwarz M, Kreuzer KA, Baskaynak G, Dörken B, le Coutre P.

Eur J Haematol. 2002 Oct;69(4):254-6.

**Impact Factor: 2,163**

**[9] Quantitative analysis of beta-actin, beta-2-microglobulin and porphobilinogen deaminase mRNA and their comparison as control transcripts for RT-PCR.**

Lupberger J, Kreuzer KA, Baskaynak G, Peters UR, le Coutre P, Schmidt CA.

Mol Cell Probes. 2002 Feb;16(1):25-30.

**Impact Factor: 2,364**

**[10] Overexpression of the p73 gene is a novel finding in high-risk B-cell chronic lymphocytic leukemia.**

Novak U, Grob TJ, Baskaynak G, Peters UR, Aebi S, Zwahlen D, Tschan MP, Kreuzer KA, Leibundgut EO, Cajot JF, Tobler A, Fey MF.

Ann Oncol. 2001 Jul;12(7):981-6.

**Impact Factor: 4,875**

**[11] Distinct expression patterns of the p53-homologue p73 in malignant and normal hematopoiesis assessed by a novel real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay and protein analysis.**

Peters UR, Tschan MP, Kreuzer KA, Baskaynak G, Lass U, Tobler A, Fey MF, Schmidt CA.

Cancer Res. 1999 Sep 1;59(17):4233-6.

**Impact Factor: 7,672**

**[12] Impact of additional chromosomal aberrations and BCR-ABL kinase domain mutations on the response to nilotinib in Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia.**

Theo D Kim, Seval Türkmen, Michaela Schwarz, Gökben Koca, Hendrik Nogai, Christiane Bommer, Peter Daniel, Bernd Dörken, Philipp le Coutre

Haematologica, 2010 April; 95(4): 582-588

**Impact Factor: 5,978**

## Erklärung

„Ich, Gökben Koca, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

***Klinische und molekularbiologische Begleituntersuchungen zum Ansprechen, zur Pharmakokinetik und Toxizität von Imatinib in der Therapie der chronischen myeloischen Leukämie,***

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

10.08.2009

Gökben Koca

## **Danksagung**

Herrn Professor Dr. med. Bernd Dörken danke ich für die Möglichkeit an der Universitätsklinik für Hämatologie und Onkologie wissenschaftlich arbeiten und meine Promotion durchführen zu können.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn PD Dr. med. Philipp le Coutre, für die Vergabe dieses interessanten Themas und für die freundliche Unterstützung in jeder Phase meiner wissenschaftlichen und klinischen Tätigkeit.

Dieser Dank gilt schließlich auch allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe von Herrn PD Dr. med. Philipp le Coutre, insbesondere Frau Dipl. Biol. Christine Appelt und Frau Dipl. Biotechn. Zehra El-Mousleh.

Herrn Professor Dr. med. Christian-Andreas Schmidt, Universität Greifswald, und Herrn PD Dr. med. Karl-Anton Kreuzer, Universität Köln, möchte ich für die initiale Mitbetreuung danken.

Frau Jutta Laser, Frau Dipl. Biol. Bärbel Pawlaczyk-Peter und Herrn Dipl. Biotechn. Uli Lass möchte ich für die außerordentlich gute Einarbeitung in die molekularbiologischen Laborgrundlagen danken.

Weiterhin danke ich meinen Eltern Inci und Hüseyin Baskaynak für ihre Unterstützung.

Abschließend möchte ich meinem Mann, Herrn Dr. med. Ali Koca, von ganzem Herzen für sein großes Verständnis, die unermüdliche Unterstützung und stetige Motivation, danken.

Diese Arbeit widme ich Ali und meiner Tochter Ela Sirin.