

Najważniejsze doniesienia dotyczące przewlekłej białaczki szpikowej z konferencji ASCO i EHA z 2011 roku

The highlights of ASCO and EHA conferences on chronic myeloid leukemia in 2011

Joanna Góra-Tybor

Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Streszczenie

W artykule dokonano przeglądu najważniejszych doniesień z konferencji ASCO i EHA z 2011 roku dotyczących przewlekłej białaczki szpikowej (CML). Szczególną uwagę zwrócono na zastosowanie inhibitorów kinazy tyrozynowej (TKI) II generacji jako leków pierwszej linii u pacjentów z CML, problem oporności na standardowe leczenie z uwzględnieniem terapii chorych z mutacją T315I oraz następstwa oporności białaczkowych komórek pnia na TKI.

Słowa kluczowe: przewlekła białaczka szpikowa, imatynib, nilotynib, dazatynib, mutacja T315I, białaczkowe komórki pnia

Hematologia 2011; 2, 3: 276–283

Abstract

This article provides an overview of the most important abstracts from ASCO and EHA conferences in 2011, with special emphasis on 2nd generation tyrosine kinase inhibitors (TKI) as first-line treatment of newly diagnosed chronic myeloid leukemia (CML) patients, problem of resistance to imatinib including patients with T315I mutation, and consequences of resistance of CML stem cell to TKI.

Key words: chronic myeloid leukemia, imatinib, nilotinib, dasatinib, T315I mutation, leukemic stem cells

Hematologia 2011; 2, 3: 276–283

Wprowadzenie

Wprowadzenie do terapii przewlekłej białaczki szpikowej (CML, *chronic myeloid leukemia*) inhibitora kinazy tyrozynowej (TKI, *tyrosine kinase inhibitor*) BCR-ABL1 — imatynibu (IM) (Glivec[®], Novartis) zmieniło przebieg choroby. U większości pacjentów leczenie IM pozwala na uzyskanie odpo-

wiedzi cytogenetycznej i molekularnej, wydłużenie przeżycia wolnego od progresji (PFS, *progression free survival*) i przeżycia całkowitego (OS, *overall survival*) [1–3]. Jednak około 30% pacjentów leczonych IM w czasie 5 lat wymaga przerwania terapii ze względu na nietolerancję leku lub pojawienie się oporności [1]. W tej grupie chorych standardowym leczeniem są TKI II generacji — dazatynib

Adres do korespondencji: Joanna Góra-Tybor, Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny, ul. Ciołkowskiego 2, 93–510 Łódź, tel.: 42 689 51 91, faks: 42 689 51 92, e-mail: joannagora@op.pl

(Sprycel®, *Bristol-Myers Squibb*) i nilotynib (Tasigna®, *Novartis*) [4, 5]. Niestety, u części pacjentów terapia jest nieskuteczna — zwłaszcza u chorych, u których stwierdza się obecność mutacji *T315I* odpornej na wszystkie trzy TKI.

Innym problemem w terapii CML jest niewrażliwość białaczkowych komórek pnia (LSC, *leukemia stem cells*) na dotychczas stosowane TKI [6]. Uważa się, że komórki te są odpowiedzialne za wznowę białaczki w przypadku przerwaniu leczenia TKI u chorych pozostających w długotrwałej całkowitej remisji molekularnej (CMoLR, *complete molecular response*). Niezwykle istotne jest zidentyfikowanie szlaków sygnałowych specyficznych dla tej puli komórek i próba ich zahamowania.

Na podstawie wieloletniej obserwacji pacjentów z CML leczonych IM stwierdzono, że osiągnięcie całkowitej odpowiedzi cytogenetycznej (CCyR, *complete cytogenetic response*) i większej odpowiedzi molekularnej (MMoLR, *major molecular response*), a tym bardziej CMoLR zabezpiecza chorych przed progresją do bardziej zaawansowanych faz białaczki — akceleracji (AP, *acceleration phase*) i blastycznej (BP, *blast phase*) [3, 7]. Zatem bardzo ważnym celem terapeutycznym jest jak najszybsze osiągnięcie tych odpowiedzi. Z tego powodu podjęto próby stosowania TKI II generacji jako leków pierwszej linii u chorych z nowo rozpoznaną CML. Wyniki badań II fazy wykazały ich wysoką skuteczność pod względem odsetka i szybkości uzyskiwanych odpowiedzi cytogenetycznych i molekularnych [8, 9]. Badania III fazy potwierdziły te obserwacje i stały się podstawą zarejestrowania przez FDA (*Food and Drug Administration*) i EMEA (*European Medicines Evaluation Agency*) dazatynibu i nilotynibu jako leków pierwszej linii w leczeniu chorych z CML [10, 11].

W niniejszym artykule dokonano przeglądu najważniejszych doniesień z konferencji ASCO (*American Society of Clinical Oncology*) i EHA (*European Hematology Association*), które odbyły się w 2011 roku, dotyczących CML. Szczególną uwagę zwrócono na zastosowanie TKI II generacji jako leków pierwszej linii, problem oporności na standardowe leczenie z uwzględnieniem terapii chorych z mutacją *T315I* oraz następstwa oporności LSC na TKI.

TKI II generacji u chorych z nowo rozpoznaną CML

W czasie wieloletniej obserwacji pacjentów leczonych IM od momentu rozpoznania CML stało się jasne, że osiągnięcie CCyR i MMoLR chroni chorych przed progresją do bardziej zaawansowanych faz

białaczki — AP i BP [3, 7]. Dlatego istotnym celem terapii CML jest jak najszybsze osiągnięcie obu rodzajów odpowiedzi. Dazatynib i nilotynib należą do TKI II generacji o udowodnionej skuteczności u chorych opornych lub nietolerujących IM [4, 5]. W badaniach II fazy, prowadzonych w celu oceny działania TKI II generacji u chorych z nowo rozpoznaną CML, dowiedziono ich wysokiej skuteczności w tej grupie pacjentów [8, 9]. Obserwacje te potwierdzono w randomizowanych badaniach klinicznych III fazy, w których porównywano nilotynib z IM (ENESTnd, *Evaluating Nilotinib Efficacy and Safety in Clinical Trials of Newly Diagnosed Ph + CML patients*) oraz dazatynib z IM (DASISION, *Dasatinib versus Imatinib Study in Treatment-Naive CML Patients*) u pacjentów z nowo rozpoznaną CML w fazie przewlekłej. Wyniki obu badań po 12-miesięcznej obserwacji zostały opublikowane w „*New England Journal of Medicine*” w 2010 roku [10, 11]. Natomiast na konferencjach ASCO i EHA w 2011 roku przedstawiono aktualizację wyników po 24 miesiącach obserwacji [12–17].

W badaniu ENESTnd 846 pacjentów z nowo rozpoznaną CML w fazie przewlekłej włączono do trzech grup: leczonej nilotynibem w dawce 300 mg podawanej 2 × dziennie (BID), leczonej nilotynibem w dawce 400 mg BID oraz leczonej IM w dawce 400 mg podawanej raz dziennie (QD). Stwierdzono, że odsetek MMoLR po 24 miesiącach obserwacji był istotnie większy w obu grupach leczonych nilotynibem (71% i 67%) w porównaniu z IM (44%) ($p < 0,0001$). Również odsetki CMoLR, definiowanych jako *BCR-ABL1* poniżej 0,01% i *BCR-ABL1* mniej niż 0,0032%, były istotnie większe w grupach chorych leczonych nilotynibem ($p < 0,0001$). Po 24 miesiącach obserwacji nadal stwierdzano większy odsetek CCyR wśród pacjentów leczonych nilotynibem (87% dla nilotynibu 300 mg BID *v.* 77% dla IM; $p = 0,0018$ oraz 85% dla nilotynibu 400 mg BID *v.* dla IM; $p = 0,016$).

W grupie chorych leczonych IM w przypadku odpowiedzi suboptymalnej lub niepowodzenia leczenia istniała możliwość zwiększenia dawki leku do 800 mg. Spośród 82 chorych, u których tego dokonano, u 57% nie obserwowano poprawy odpowiedzi, natomiast u 43% uzyskano CCyR, w tym u 26% MMoLR.

Z klinicznego punktu widzenia najistotniejszą obserwacją w badaniu ENESTnd był mniejszy odsetek progresji do AP i BP wśród pacjentów leczonych nilotynibem. W grupach chorych otrzymujących nilotynib w dawce 300 mg BID, w dawce 400 mg BID oraz IM do progresji doszło odpowiednio u 2 (0,7%), 3 (1,1%) i 12 (4,2%) chorych. Po 24 miesiącach

obserwacji OS było podobne we wszystkich trzech badanych grupach, ale wśród pacjentów leczonych nilotynibem obserwowano mniej zgonów związanych z CML (5 zgonów w grupie przyjmującej nilotynib w dawce 300 mg BID, 3 w grupie przyjmującej nilotynib w dawce 400 mg BID i 10 w grupie leczonej IM). Liczba zgonów niezwiązanych z CML wyniosła odpowiednio 4 w grupie leczonej nilotynibem w dawce 300 mg BID (niedrożność jelit, zawał serca, samobójstwo, zapalenie płuc 19 miesięcy po odstawieniu leku), 3 w grupie otrzymującej nilotynib w dawce 400 mg BID (rak żołądka, wstrząs septyczny 9 miesięcy po odstawieniu leku), 1 w grupie przyjmującej IM (niewydolność nerek). Oba leki były dobrze tolerowane; profil bezpieczeństwa nie uległ zmianie w porównaniu z pierwszym rokiem obserwacji.

Działania niepożądane 3. i 4. stopnia według WHO (*World Health Organization*) obserwowano wyjątkowo we wszystkich badanych grupach. Nudności, wymioty, biegunka, skurcze mięśniowe i obrzęki zdarzały się istotnie częściej u pacjentów leczonych IM, natomiast wysypka, świąd, bóle głowy i łysienie były częstsze u chorych leczonych nilotynibem. Spośród hematologicznych objawów niepożądanych neutropenię i niedokrwistość 3. i 4. stopnia częściej obserwowano u chorych leczonych IM, natomiast małopłytkowość — u pacjentów otrzymujących nilotynib. Działania niepożądane były przyczyną odstawienia leku przez 9% chorych leczonych nilotynibem w dawce 300 mg BID, 13% przyjmujących nilotynib w dawce 400 mg BID i 10% leczonych IM.

W badaniu ENESTnd wykonywano badanie mutacji u wszystkich chorych przed włączeniem terapii oraz u pacjentów, którzy nie osiągnęli MMoIR w 12. miesiącu lub ją utracili, a także u wszystkich chorych po zakończeniu leczenia. W grupie pacjentów leczonych IM zidentyfikowano 2-krotnie więcej mutacji niż u chorych leczonych nilotynibem. Większość pacjentów, u których stwierdzono obecność mutacji, była obciążona pośrednim i wysokim ryzykiem według Sokala. Częstość mutacji *T315I* była podobna w grupach chorych leczonych IM i nilotynibem. Podsumowując dotychczasowe obserwacje z badania ENESTnd, można stwierdzić, że nilotynib jest lekiem skutecznym i dobrze tolerowanym przez pacjentów z nowo rozpoznaną CML w fazie przewlekłej.

W badaniu DASISION, którym objęto 519 pacjentów z nowo rozpoznaną CML, chorych tych włączono do grupy otrzymującej dazatynib (259 chorych) w dawce 100 mg QD lub IM (260 chorych) w dawce 400 mg QD. Po 18 miesiącach obserwacji

stwierdzono istotnie większy odsetek MMoIR w grupie leczonej dazatynibem (56%) w porównaniu z pacjentami otrzymującymi IM (37%; $p < 0,0001$). W grupie leczonej dazatynibem obserwowano również istotnie większy odsetek CMoIR (*BCR-ABL1* $< 0,0032\%$) — 13% niż w grupie otrzymującej IM — 7% ($p = 0,0119$). Mediana czasu do osiągnięcia CCyR i MMoIR była istotnie krótsza w grupie leczonej dazatynibem. Podobnie jak w badaniu ENESTnd transformację do AP/BP rzadziej obserwowano w grupie leczonej TKI II generacji (6 chorych — 2,3%) w porównaniu z grupą otrzymującą IM (9 chorych — 3,5%). Po 24 miesiącach obserwacji OS było podobne w obu badanych grupach. W grupie leczonej dazatynibem zmarło 16 chorych (6%), a wśród leczonych IM — 14 chorych (5%). Liczba zgonów niezwiązanych z CML wyniosła 8 w grupie leczonej dazatynibem (w tym 5 zgonów z powodu infekcji, spośród których 2 wystąpiły co najmniej 30 dni po odstawieniu leku) i 4 w grupie leczonej IM.

Badanie mutacji wykonywano u pacjentów, którzy przerwali leczenie. W obu badanych grupach stwierdzono po 10 mutacji, w tym 7 mutacji *T315I* w grupie pacjentów leczonych dazatynibem.

Oba badane leki były dobrze tolerowane; większość obserwowanych objawów niepożądanych miała 1.–2. stopień nasilenia według WHO. Większość niehematologicznych objawów niepożądanych, takich jak: nudności, wymioty, zapalenie mięśni, wysypka, obrzęki, częściej obserwowano u chorych leczonych IM. Powikłanie pod postacią płynu w jamie opłucnej obserwowano tylko u chorych leczonych dazatynibem (2% — stopień 1., 9% — stopień 2. i $< 1\%$ — stopień 3.). Spośród objawów hematologicznych neutropenia pojawiała się z podobną częstością w obu badanych grupach, natomiast małopłytkowość obserwowano częściej w grupie leczonej dazatynibem. Po 24 miesiącach obserwacji działania niepożądane były przyczyną odstawienia leku przez 6% pacjentów leczonych dazatynibem i 4% chorych otrzymujących IM. Dotychczasowe obserwacje w badaniu DASISION wskazują na zasadność stosowania dazatynibu jako leku pierwszej linii u chorych na CML.

Trzecim TKI II generacji, którego aktywność zbadano w leczeniu pierwszej linii u pacjentów z nowo rozpoznaną CML, jest bosutynib (SKI-606, *Wyeth*). Randomizowanym badaniem III fazy (*BELA, Bosutinib Efficacy and Safety in Chronic Myeloid Leukemia*) objęto 502 chorych włączonych do grupy leczonej bosutynibem w dawce 500 mg QD lub leczonej IM w dawce 400 mg QD. Na konferencji EHA przedstawiono wyniki trwającej 18 miesięcy obserwacji pacjentów w badaniu BELA [18].

Stwierdzono, że w grupie pacjentów leczonych bosutynibem uzyskano istotnie większy odsetek MMolR niż u chorych otrzymujących IM (39% *v.* 26%; $p = 0,002$), a czas do uzyskania CCyR i MMolR był istotnie krótszy ($p = 0,001$). Transformację do AC i BP obserwowano u 4 chorych (2%) w grupie otrzymującej bosutynib i u 10 chorych leczonych IM (4%) ($p = 0,053$). Bosutynib był lekiem dość dobrze tolerowanym; najczęstszym obserwowanym objawem niepożądanym była biegunka (68% *v.* 22% w grupie leczonej IM). Działania niepożądane były przyczyną odstawienia leku u 22% pacjentów leczonych bosutynibem i 6% chorych otrzymujących IM.

W odniesieniu do wszystkich trzech badań III fazy należy podkreślić istotność dalszej, dłuższej obserwacji chorych pod względem długości trwania odpowiedzi, rozwoju potencjalnej oporności na leczenie i występowania objawów niepożądanych.

Leczenie chorych z CML nietolerujących lub opornych na IM

Standardem leczenia chorych z CML opornych na terapię IM lub nietolerujących tego leku jest stosowanie TKI II generacji (dazatynibu lub nilotynibu), które pozwalają na osiągnięcie CCyR u blisko połowy z nich [4, 5]. Najdłuższe, 5-letnie obserwacje dotyczą dazatynibu (badanie CA-034) i zostały przedstawione na konferencji ASCO i EHA w 2011 roku [19]. Badanie CA-034 objęło 670 chorych na CML opornych na IM lub nietolerujących tego leku. Pacjentów zakwalifikowano do czterech grup, w których stosowano następujące dawkowanie dazatynibu: 100 mg QD, 50 mg BID, 140 mg QD i 70 mg BID. Dawką optymalną i obecnie rekomendowaną (porównywalna skuteczność przy najmniejszej toksyczności) okazało się 100 mg QD. Po 5 latach obserwacji w badaniu pozostało 205 pacjentów (30,5%) — najwięcej w grupie leczonej dazatynibem w dawce 100 mg QD (35%). Skumulowana częstość MMolR w tej grupie chorych po 5 latach wyniosła 44%, PFS — 57% i OS — 78%. Podobne wartości obserwowano w pozostałych badanych grupach. Stwierdzono, że stopień odpowiedzi na leczenie oceniany w 6. i 12. miesiącu po rozpoczęciu terapii wpływa na 5-letni PFS i OS. Pięcioletni PFS u pacjentów, którzy osiągnęli MMolR i CCyR w 6. miesiącu terapii, wynosił odpowiednio 85% i 83%, natomiast PFS chorych z częściową odpowiedzią cytogenetyczną (PCyR, *partial cytogenetic response*) — 65% ($p = 0,0005$). Również w przypadku odpowiedzi ocenianych w 12. miesiącu 5-letni PFS u pacjentów, którzy osiągnęli MMolR i CCyR, był istotnie

dłuższy ($p = 0,0031$). Dazatynib cechuje akceptowalną toksyczność; większość niehematologicznych objawów niepożądanych miała 1. i 2. stopień nasilenia według WHO i pojawiła się w trakcie pierwszych 24 miesięcy terapii. Hematologiczne objawy niepożądane 3. i 4. stopnia obserwowano u większości chorych w trakcie pierwszego roku terapii. Podsumowując, dazatynib jest skutecznym lekiem dla pacjentów z CML opornych lub nietolerujących IM. Na podkreślenie zasługuje trwałość uzyskiwanych odpowiedzi.

Na konferencji ASCO w 2011 roku przedstawiono doniesienie dotyczące tolerancji nilotynibu w dawce 300 mg BID u pacjentów, u których podczas terapii IM w dawce 400 mg QD obserwowano niehematologiczne objawy niepożądane 1. i 2. stopnia, takie jak: zmęczenie, obrzęki, nudności, bóle stawów, bóle mięśni, skurcze mięśniowe, bóle głowy, brak apetytu [20]. U ponad 60% chorych stwierdzono poprawę w zakresie tolerancji leczenia. Czterdzieści spośród 75 objawów całkowicie się wycofało, 5 uległo zmniejszeniu do 1. stopnia według WHO, 27 pozostało bez zmian, a 3 nasiliły się do 3. stopnia. Obserwacje te potwierdzają brak krzyżowej nietolerancji między IM i nilotynibem oraz wskazują na lepszą tolerancję nilotynibu.

Lekiem skutecznym w II linii terapii chorych z CML jest również bosutynib. Na konferencji EHA w 2011 roku prezentowano wyniki stosowania tego leku u pacjentów nietolerujących IM ($n = 88$) lub opornych na IM ($n = 200$) [21]. W grupie pacjentów opornych na IM obserwowano 86% całkowitych odpowiedzi hematologicznych (CHR, *complete hematologic response*) i 42% CCyR, a w grupie chorych nietolerujących IM odsetki te wynosiły odpowiednio 85% i 43%. Uzyskiwane odpowiedzi były trwałe; po medianie obserwacji wynoszącej 2,5 roku blisko 70% pacjentów w grupie odpornej na IM i 80% w grupie nietolerującej IM zachowało CHR, a większą odpowiedź cytogenetyczną (MCyR, *major cytogenetic response*) — odpowiednio 68% i 90%.

Bosutynib był skuteczny w przypadku 25 różnych mutacji *BCR-ABL1*, z wyjątkiem *T315I*. Tolerancja bosutynibu była akceptowalna, z typowym dla tego leku profilem toksyczności. Najczęstsze niehematologiczne objawy niepożądane — biegunka, nudności i wymioty — miały na ogół nasilenie 1.–2. stopnia według WHO i zmniejszały się stopniowo po miesiącu terapii. Małopłytkowość, neutropenię i niedokrwistość 3.–4. stopnia obserwowano odpowiednio u 24%, 17% i 13% pacjentów. Krzyżowa nietolerancja z IM wystąpiła jedynie u 8 chorych. Wyniki badania wskazują na istotny potencjał bosutynibu jako leku drugiej linii w CML.

Bosutynib stosowano również w trzeciej linii leczenia u pacjentów wykazujących oporność na IM oraz nilotynib (27 chorych) lub dazatynib (37 chorych), a także opornych na IM i nietolerujących dazatynibu (50 chorych) [22]. W grupie chorych opornych na nilotynib obserwowano 77% CHR, 21% CCyR i 5% MMolR. Wśród pacjentów opornych na dazatynib stwierdzono 62% CHR, 11% CCyR i 9% MMolR, natomiast u chorych nietolerujących dazatynibu odpowiednio wyższe odsetki: 80% CHR, 32% CCyR i 37% MMolR. Odpowiedzi na bosutynib były trwałe — po 26 miesiącach obserwacji 41% chorych zachowało CHR, a 39% CCyR. Tolerancja bosutynibu była akceptowalna, z typowym dla tego leku profilem toksyczności. U 2 pacjentów, u których terapia dazatynibem była powikłana obecnością płynu w jamie opłucnej, ten objaw niepożądany pojawił się również w trakcie stosowania bosutynibu. Należy podkreślić, że bosutynib może być skuteczną opcją terapeutyczną dla chorych z CML opornych na standardowo stosowane TKI.

Istotnym problemem w terapii pacjentów z CML jest wystąpienie mutacji *T315I*, odpornej na wszystkie zarejestrowane dotychczas TKI. Mutacja ta dotyczy regionu bezpośrednio odpowiedzialnego za wiązanie IM, a podstawienie treoniny w pozycji 315 izoleucyną uniemożliwia powstanie stabilizującego wiązania wodorowego z grupą aminową inhibitora [23]. Jednym z bardziej obiecujących leków w terapii pacjentów z mutacją *T315I* jest TKI III generacji — ponatynib (AP24534, *Ariad Pharmaceuticals*). Analiza krystalograficzna kompleksu AP24534 z domeną mysiej kinazy ABLT315I wykazała, że lek ten, podobnie jak IM, wiąże się z nieaktywną formą kinazy, ale jednocześnie skutecznie wiąże się z izoleucyną w pozycji 315 dzięki tworzeniu wiązań van der Waalsa [24].

Na konferencji ASH (*American Society of Hematology*) w 2010 roku przedstawiono wyniki badania I fazy, w którym oceniano bezpieczeństwo i skuteczność ponatynibu u pacjentów z opornymi na terapię nowotworami układu krwiotwórczego [25]. Spośród 11 chorych w fazie przewlekłej CML i z obecnością mutacji *T315I* u wszystkich obserwowano CHR, u 9 (82%) — MCyR, u 8 (73%) — CCyR, a u 6 (55%) — MMolR. Lek ten jest w II fazie badań klinicznych.

Innym lekiem wykazującym skuteczność u części chorych z mutacją *T315I* jest omacetaksyna (*ChemGenex Pharmaceuticals*) — półsyntetyczna pochodna alkaloidu homoharringtoniny. Omacetaksyna jest inhibitorem syntezy białek, między innymi antyapoptotycznego białka MCL-1 (*myeloid cell leukemia 1*). Na konferencji EHA w 2011 roku przedstawiono wyniki badania skuteczności omace-

taksyny stosowanej podskórnie u 62 pacjentów z CML w fazie przewlekłej, z obecnością mutacji *T315I* [26]. Wszyscy pacjenci byli oporni na IM, a 75% spośród nich wykazywało oporność na co najmniej dwa TKI. U 76% leczonych omacetaksyną chorych obserwowano CHR, a u 24% — MCyR. Mediana czasu trwania odpowiedzi hematologicznej wynosiła 8,9 miesiąca, a odpowiedzi cytogenetycznej — 6,6 miesiąca. Przewidywany OS po 24 miesiącach wynosił 65,2% i był istotnie dłuższy niż w historycznej grupie kontrolnej. U większości pacjentów obserwowano hematologiczne objawy niepożądane 3. i 4. stopnia: małopłytkowość (72%), niedokrwistość (44%) i neutropenię (36%). Występujące niehematologiczne objawy niepożądane na ogół miały 1. i 2 stopień nasilenia według WHO.

Białczkowe komórki pnia

Badania przeprowadzone w ostatnich latach wskazują, że u chorych na CML, LSC nie są wrażliwe na hamujące działanie dotychczas stosowanych TKI — IM, dazatynibu, nilotynibu i bosutynibu. Co więcej, wydaje się, że przeżycie LSC nie zależy od sygnałów przekazywanych za pośrednictwem BCR-ABL1 [6, 27].

Przerwanie terapii IM u pacjentów pozostających w CMolR od co najmniej 2 lat skutkuje nawrotem białczki u ponad połowy z nich [28]. Rea i wsp. [29] wykazali, że również u 30% pacjentów, którzy uzyskali CMolR pod wpływem terapii TKI II generacji — dazatynibu lub nilotynibu, obserwuje się utratę remisji molekularnej po odstawieniu leku. Uważa się, że to właśnie przetrwałe LSC mogą być przyczyną wznowy CML u pacjentów pozostających w długotrwałej remisji molekularnej, u których podjęto próbę odstawienia TKI. Dlatego w przyszłych strategiach terapii CML powinny być uwzględnione leki wykazujące zdolność eliminacji tej puli komórek.

Trwają intensywne badania szlaków sygnałowych i mechanizmów istotnych dla przeżycia LSC. Jeden z wykładów w sesji edukacyjnej poświęconej CML na konferencji EHA w 2011 roku dotyczył właśnie problemu mechanizmów oporności LSC [6]. Również liczne doniesienia konferencyjne dotyczyły tego tematu.

Jednym z mechanizmów istotnych dla przeżycia LSC w CML jest autofagia/autofagocytoza (gr. *autós* 'sam', *phágos* 'pożeracz') — proces sekwestracji i degradacji uszkodzonych białek i innych substancji w lizosomach. Wykorzystanie tych wewnątrzkomórkowych składników może być dla komórki dodatkowym źródłem energii w warunkach stresu metabolicznego. Autofagia jest też procesem

chroniącym stabilność genetyczną komórki dzięki usuwaniu uszkodzonych mitochondriów, będących potencjalnym źródłem karcynogennych reaktywnych form tlenu. Rola procesu autofagii dla przeżycia komórek nowotworowych nie jest jasna. Zależy ona prawdopodobnie od typu nowotworu, stopnia zaawansowania i rodzaju stosowanego leczenia. Uważa się, że autofagia zapobiega procesom nowotworzenia w zdrowych komórkach, natomiast w komórkach guza może działać ochronnie w przypadku zastosowania chemio- i/lub radioterapii [30, 31].

Wykazano, że zahamowanie BCR-ABL1 za pomocą TKI prowadzi do nasilenia procesów apoptozy i autofagii w komórkach, podobnie jak w przypadku braku czynników wzrostowych. Losy komórki zależą od równowagi między nasileniem procesów apoptozy, martwicy i autofagii. Można przypuszczać, że pod wpływem działania TKI w komórkach prekursorowych przeważają procesy apoptozy, a w LSC — procesy autofagii. Doświadczenia na modelach mysich przekonująco wykazały, że nasilenie procesów autofagii ułatwia przeżycie komórek nowotworowych, natomiast ich zahamowanie nasila procesy apoptozy. Również w badaniach na liniach komórkowych *BCR-ABL1*-dodatnich i komórkach pochodzących od pacjentów z CML wykazano, że zastosowanie inhibitorów autofagii nasila proapoptotyczne działanie TKI [32]. Opisane obserwacje skłoniły badaczy do rozpoczęcia próby klinicznej II fazy — badania CHOICES (*CHIOroquine and Imatinib Combination to Eliminate Stem cells*), w którym pacjenci z CML otrzymują imatynib lub imatynib z hydroksychlorochiną, która jest silnym, niespecyficznym inhibitorem procesu autofagii.

Innym ważnym dla LSC szlakiem sygnałowym jest szlak zależny od genu *Hedgehog* (Hh). Szlak zależny od Hh odgrywa bardzo ważną rolę w procesach samoodnawiania, proliferacji i różnicowania prawidłowych komórek pnia, a jego nieprawidłową aktywację stwierdzono w wielu nowotworach, również w CML. W aktywacji szlaku Hh istotną rolę odgrywa białko receptorowe *Smoothed* (SMO). W badaniach przedklinicznych wykazano, że cząsteczki o właściwościach inhibitorów SMO hamują wzrost LSC *in vitro* i zmniejszają ich właściwości leukemogenne *in vivo* [33]. Planowane są badania kliniczne z zastosowaniem TKI i inhibitora SMO, na przykład LDE225 (*Novartis*), BMS-833923 (*Bristol Myers Squibb*), PF-04449913 (*Pfizer*).

Fosfatasa białkowa 2A (PP2A, *protein phosphatase 2A*) należy do fosfatyz serynowo-treoninowych i jest jedną z głównych fosfatyz komórkowych, zaangażowaną w bardzo liczne szlaki sygnałowe. Między innymi hamuje aktywację szlaków RAS/MAPK

oraz PI3K/Akt, kluczowych dla aktywacji kinazy BCR-ABL1. W ostatnich latach PP2A zaliczono do supresorów wzrostu guza (*tumor suppressor*). Mutacje prowadzące do obniżenia aktywności PP2A opisano w wielu ludzkich nowotworach, a jej funkcjonalna inaktywacja ma miejsce między innymi w CML w okresie BP. Udowodniono, że kinaza BCR-ABL1 powoduje inaktywację PP2A. Stwierdzono, że zastosowanie aktywatora fosfatazy — FTY720 (fingolimodu) nasilało apoptozę, hamowało zdolności klonogenne i leukemogenne komórek *BCR-ABL1*-dodatnich [34].

Lucas i wsp. [35] badali wpływ stężenia inhibitora PPA2 — CIP2A (*cancerous inhibitor of PP2A*) w momencie rozpoznania CML na prawdopodobieństwo rozwoju BP. Stwierdzili oni, że u pacjentów z wyższym stężeniem inhibitora prawdopodobieństwo progresji do BP jest istotnie większe, co przypuszczalnie wiąże się z inaktywacją PP2A i nasileniem fosforylacji onkogenu *c-myc*. Wyłączenie CIP2A skutkuje zwiększoną aktywnością PP2A, obniżeniem poziomu ekspresji *c-myc* oraz zmniejszeniem aktywności kinazy tyrozynowej BCR-ABL1. Biorąc pod uwagę powyższe wyniki, wydaje się, że stężenie CIP2A może się okazać czynnikiem pomagającym w identyfikacji pacjentów z CML, którzy są obciążeni wysokim ryzykiem progresji do BP. Białko to wydaje się również potencjalnym celem terapeutycznym u chorych z CML.

Innym białkiem, odgrywającym istotną rolę w funkcjonowaniu komórek pnia, jest PML (*promyelocytic leukemia protein*). Ito i wsp. [36] wykazali, że LSC w CML pozbawione genu *PML* tracą swoje leukemogenne właściwości i nie są zdolne do wywołania białaczki u myszy [36]. Trójtlenek arsenu (As_2O_3), znany jako bardzo skuteczny lek w ostrej białaczce promielocytowej, wykazuje zdolność degradacji PML. W badaniach *in vitro* dowiedziono, że As_2O_3 zmniejsza ekspresję PML w LSC i w konsekwencji powoduje zmniejszenie zdolności tworzenia kolonii przez te komórki oraz uwrażliwia LSC na bodźce proapoptotyczne. Trwa badanie kliniczne I fazy z zastosowaniem IM i As_2O_3 .

Kolejnym białkiem regulującym funkcje LSC w CML jest 5-lipooksygenaza arachidonowa kodowana przez gen *Alox5*. Chen i wsp. [37] stwierdzili, że brak *Alox5* upośledza zdolność podziałową LSC i ich zdolność wywoływania białaczki u transgenicznych myszy. Natomiast Lucas i wsp. [38] wykazali zmniejszoną ekspresję *Alox 5* w LSC pochodzących od pacjentów z nowo zdiagnozowaną CML. Ekspresja genu zwiększała się w trakcie skutecznego leczenia IM. Trwa badanie kliniczne I fazy z zastosowaniem IM i zileuton — inhibitora lipooksygenazy.

Problem oporności LSC wzbudza obecnie bardzo duże zainteresowanie. W ostatnich latach zidentyfikowano wiele szlaków sygnałowych istotnych dla ich przeżycia, które wydają się dobrym celem terapeutycznym. Już się rozpoczęło lub wkrótce rozpocznie wiele badań klinicznych służących ocenie skuteczności połączenia TKI z cząsteczką wpływającą na przeżycie LSC, na przykład: chlorochiną — hamującą autofagię, inhibitorami SMO — hamującymi szlak Hh, zileutonem — hamującym szlak Alox5 czy As₂O₃ — powodującym degradację białka PML.

Piśmiennictwo

1. Druker B.J., Guilhot F., O'Brien S.G. i wsp. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2006; 35: 2408–2417.
2. de Lavallade H., Apperley J.F., Khorashad J.S. i wsp. Imatinib for newly diagnosed patients with chronic myeloid leukemia: incidence of sustained responses in an intention-to-treat analysis. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 3358–3363.
3. Deininger M., O'Brien S.G., Guilhot F. i wsp. International Randomized Study of Interferon vs STI571 (IRIS) 8-year follow-up: sustained survival and low risk for progression or events in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) treated with imatinib. *Blood* 2009; 114: abstrakt 462.
4. Kantarjian H.M., Giles F.J., Bhalla K.N. i wsp. Nilotinib is effective in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase after imatinib resistance or intolerance: 24-month follow-up results. *Blood* 2011; 117: 1141–1145.
5. Hochhaus A., Baccarani M., Deininger M. i wsp. Dasatinib induces durable cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase with resistance or intolerance to imatinib. *Leukemia* 2008; 22: 1200–1206.
6. Scott M.T., McCaig A.M., Holyoake T.L. Mechanism of resistance in chronic myeloid leukemia stem cells. Education program for the 16th Congress of the European Hematology Association, London, UK, June 9–12. 2011: 112–119.
7. Quintás-Cardama A., Kantarjian H., Jones D. i wsp. Delayed achievement of cytogenetic and molecular response is associated with increased risk of progression among patients with chronic myeloid leukemia in early chronic phase receiving high-dose or standard-dose imatinib therapy. *Blood* 2009; 113: 6315–6321.
8. Cortes J.E., Jones D., O'Brien S. i wsp. Nilotinib as front-line treatment for patients with chronic myeloid leukemia in early chronic phase. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28: 392–397.
9. Cortes J.E., Jones D., O'Brien S. i wsp. Results of dasatinib therapy in patients with early chronic-phase chronic myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28: 398–404.
10. Saglio G., Kim D.W., Issaragrisil S. i wsp. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2010; 362: 2251–2259.
11. Kantarjian H., Shah N.P., Hochhaus A. i wsp. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2010; 362: 2260–2270.
12. Larson R.A., Kim D.-W., Rosti G. i wsp. Comparison of nilotinib and imatinib in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): ENESTnd 24-month follow-up. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: abstrakt 6511.
13. Hochhaus A., Saglio G., le Coutre P. i wsp. Superior efficacy of nilotinib compared with imatinib in newly diagnosed patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): ENESTnd minimum 24-month follow-up. *Haematologica* 2011; 96: abstrakt 0484.
14. Saglio G., Hochhaus A., Guilhot F. i wsp. Nilotinib is associated with fewer treatment failures and suboptimal responses vs imatinib in patients with newly diagnosed Ph+ chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): results from ENESTnd. *Haematologica* 2011; 96: abstrakt 0145.
15. Saglio G., Kantarjian H.M., Reiffers J. i wsp. The Incidence of BCR-ABL mutations in patients (pts) with newly diagnosed chronic myeloid leukemia (CML) in chronic phase (cp) treated with nilotinib or imatinib in ENESTnd: 24-month follow-up. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: abstrakt 6502.
16. Hochhaus A., Shah N., Cortes J. i wsp. Efficacy and safety of dasatinib compared with imatinib in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): minimum 24-month follow-up from the DASISION trial. *Haematologica* 2011; 96: abstrakt 1011.
17. Kantarjian H., Shah N.P., Cortes J. i wsp. Dasatinib or imatinib (IM) in newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): two year follow-up from DASISION. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: abstrakt 6510.
18. Brummendorf T., Gambacorti-Passerini C., Cortes J. i wsp. The BELA trial: bosutinib versus imatinib in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia; 18-month follow-up. *Haematologica* 2011; 96: abstrakt 0485.
19. Shah N.P., Cortes J.E., Schiffer C.A. i wsp. Five-year follow-up of patients with imatinib-resistant or -intolerant chronic-phase chronic myeloid leukemia (CML-CP) receiving dasatinib. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: abstrakt 6512.
20. Cortes J., Miller C., Lipton J.H. i wsp. Open-label study evaluating change in chronic low-grade (LG) non-hematologic (HEME) adverse events (AEs) in Philadelphia positive (Ph+) CML-CP patients (pts) switched from imatinib (IM) to nilotinib (NI). *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: abstrakt 6615.
21. Gambacorti-Passerini C., Kim D.W., Turkina A. i wsp. Bosutinib (SKI-6-6) as second-line therapy for chronic phase chronic myeloid leukemia (CP CML) following imatinib failure: analyses of cross-intolerance and response by prior response to imatinib. *Haematologica* 2011; 96: abstrakt 0146.
22. Gambacorti-Passerini C., Brummendorf T., Cortes J. i wsp. Bosutinib as third-line therapy for chronic phase chronic myeloid leukemia following failure with imatinib and dasatinib or nilotinib. *Haematologica* 2011; 96: abstrakt 0143.
23. Apperley J.F. Part I: Mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncol.* 2007; 8: 1018–1029.
24. Zhou T., Commodore L., Huang W.S. i wsp. Structural mechanism of the pan-BCR-ABL inhibitor ponatinib (AP24534): lessons for overcoming kinase inhibitor resistance. *Chem. Biol. Drug Des.* 2011; 77: 1–11.
25. Cortes J., Talpaz M., Bixby D. i wsp. A phase 1 trial of oral ponatinib (AP24534) in patients with refractory chronic myelogenous leukemia (CML) and other hematologic malignancies: emerging safety and clinical response findings. *Blood* 2010; 116: abstrakt 210.
26. Nanda N., Cortes C., Lipton J. i wsp. Treatment of chronic phase (CP) chronic myeloid leukemia (CML) patients who harbor the

- BCR-ABL mutation T315I with subcutaneous omecetaxine results in improved survival compared to historical data. *Haematologica* 2011; 96: abstrakt 1012.
27. Corbin A.S., Agarwal A., Loriaux M., Cortes J., Deininger M.W., Druker B.J. Human chronic myeloid leukemia stem cells are insensitive to imatinib despite inhibition of BCR-ABL activity. *J. Clin. Invest.* 2011; 121: 396–409.
 28. Mahon F.X., Réa D., Guilhot J. i wsp. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol.* 2010; 11: 1029–1035.
 29. Rea D., Rousselot P., Nicolini F. i wsp. Cessation of dasatinib or nilotinib therapy in chronic-phase chronic myeloid leukemia patients with sustained complete molecular responses. *Haematologica* 2011; 96: abstrakt 1014.
 30. Mizushima N. Autophagy: process and function. *Genes Dev.* 2007; 21: 2861–2873.
 31. Helgason G.V., Karvela M., Holyoake T.L. Kill one bird with two stones: potential efficacy of BCR-ABL and autophagy inhibition in CML. *Blood* 2011; 118: 2035–2043.
 32. Bellodi C., Lidonnici M.R., Hamilton A. i wsp. Targeting autophagy potentiates tyrosine kinase inhibitor-induced cell death in Philadelphia chromosome-positive cells, including primary CML stem cells. *J. Clin. Invest.* 2009; 119: 1109–1123.
 33. Irvine D., Zhang B., Buonamici S. i wsp. Combination of the Hedgehog pathway inhibitor LDE225 and nilotinib targets the leukemic stem cell population in chronic myeloid leukemia. *Haematologica* 2011; 96: abstrakt 0521.
 34. Neviani P., Santhanam R., Trotta R. i wsp. The tumor suppressor PP2A is functionally inactivated in blast crisis CML through the inhibitory activity of the BCR/ABL regulated SET protein. *Cancer Cell.* 2005; 8: 355–368.
 35. Lucas M., Harris R.J., Giannoudis A., Copland M., Slupsky R., Clark R.E. Cancerous inhibitor of PP2A (CIP2A) at diagnosis of chronic myeloid leukaemia is a critical determinant of disease progression. *Haematologica* 2011; 96: abstrakt 0488.
 36. Ito K., Bernardi R., Morotti A. i wsp. PML targeting eradicates quiescent leukaemia initiating cells. *Nature* 2008; 19: 1072–1078.
 37. Chen Y., Hu Y., Zhang H., Peng C., Li S. Loss of the Alox5 gene impairs leukemia stem cells and prevents chronic myeloid leukemia. *Nature Gen.* 2009; 41: 783–792.
 38. Lucas M., Harris J.R., McDonald E. i wsp. Reduced expression of the ltb4 membrane receptor blt1 explains alox5 down-regulation in newly diagnosed CML patients. *Haematologica* 2011; 96: abstrakt 0121.