



Куцев С.И.<sup>1</sup>, Морданов С.В.<sup>1</sup>, Зельцер А.Н.<sup>1</sup>, Оксенюк О.С.<sup>1</sup>, Устаева О.А.<sup>1</sup>,  
Кунгурова Т.И.<sup>1</sup>, Бурнашева Е.В.<sup>2</sup>, Гранкина Е.<sup>2</sup>, Шатохин Ю.В.<sup>2</sup>

## МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОЛЕЙКОЗА ИНГИБИТОРОМ ТИРОЗИНКИНАЗ ИМАТИНИБОМ

*Ростовский государственный медицинский университет,*

*<sup>1</sup>Лаборатория медицинской генетики,*

*<sup>2</sup>кафедра гематологии и трансфузиологии ФПК и ППС*

*Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский 29, E-mail: kutsev@mail.ru*

Новым стандартом терапии Ph-позитивного хронического миелолейкоза (ХМЛ) является лечение иматинибом – селективным ингибитором Bcr-Abl тирозинкиназы. Лечение иматинибом пациентов в хронической фазе ХМЛ приводит к достижению гематологической и цитогенетической ремиссии с большой частотой. Однако, у некоторых пациентов с ХМЛ наблюдается первичная или приобретенная резистентность к иматинибу. В обзоре обсуждаются различные механизмы развития резистентности к терапии иматинибом и их клиническое значение.

*Ключевые слова:* хронический миелоидный лейкоз, ингибиторы тирозинкиназ, механизмы резистентности

Kutsev S.I.<sup>1</sup>, Mordanov S.V.<sup>1</sup>, Zeltser A.N.<sup>1</sup>, Oxenjuk O.S.<sup>1</sup>, Ustaeva O.A.<sup>1</sup>, Kungurova  
T.I.<sup>1</sup>, Burnasheva E.V.<sup>2</sup>, Grankina E.<sup>2</sup>, Shatokhin Yu.V.<sup>2</sup>

## THE MECHANISMS OF RESISTANCE TO TYROSINE KINASE INHIBITOR IMATINIB THERAPY OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

*Rostov State Medical University*

*<sup>1</sup>Laboratory of Medical Genetics*

*<sup>2</sup>Department of Hematology and Transfusiology*

*29 Nakhichevansky st., Rostov-on-Don, 344022, Russia. Email: kutsev@mail.ru*

Imatinib mesylate is a potent and high selective inhibitor of Bcr-Abl tyrosine kinase, which is established now as the standard of Philadelphia chromosome positive (Ph) chronic myeloid leukemia (CML) treatment. The treatment of patients with chronic phase of CML with imatinib has resulted in high rates of hematologic and cytogenetic responses. Nevertheless, primary and acquired resistance have been observed in few CML patients. The mechanisms of resistance to imatinib and its clinical significance were discussed in this review.

*Keywords:* Chronic myeloid leukemia, tyrosine kinase inhibitors, mechanisms of resistance

Эффективность терапии хронического миелолейкоза (ХМЛ) иматинибом – первым препаратом класса ингибиторов тирозинкиназ, доказана в “ключевом” рандомизированном сравнительном исследовании IRIS и других клинических исследованиях. Данные 7-летнего наблюдения за пациентами, получавшими лечение иматинибом в качестве терапии первой линии, показали, что общая выживаемость пациентов с ХМЛ составила 86%, что значительно выше таковой у пациентов, получавших интерферон-альфа или интерферон в сочетании с цитарабином [1]. Также было показано, что у пациентов, достигших цитогенетического и молекулярного ответов на терапию иматинибом в течение первых трех лет лечения, исключительно низкая вероятность рецидива, прогрессии заболевания и появления побочных эффектов.

Тем не менее, к 7 годам наблюдения в исследовании IRIS оказалось очевидным, что из всей группы пациентов, рандомизированных на терапию иматинибом, только 57% сохраняют полный цитогенетический ответ на терапию, проводимую в соответствии с первоначальным протоколом [1]. В недавно опубликованных de Lavallade с соавторами [2] результатах небольшого, одноцентрового исследования также показано, что среди пациентов, получающих иматиниб 5 лет после установления диагноза ХМЛ, полный цитогенетический ответ достигли и удерживают только 63% пациентов.

Таким образом, клиническая резистентность к терапии иматинибом развивается у меньшинства пациентов с ХМЛ, однако в достаточно высоком проценте случаев. Исследователи довольно быстро выявили ряд механиз-



мов, приводящих к “неудаче” терапии иматинибом или к рецидиву ХМЛ.

Наиболее изученными являются так называемые “BCR-ABL связанные” механизмы развития первичной и вторичной резистентности к терапии иматинибом. К ним относятся дупликация или амплификация гена BCR-ABL, выявляемые цитогенетически в виде дупликации Ph-хромосомы или молекулярно-цитогенетически (FISH-анализ) в виде амплификации гена BCR-ABL [3] и мутации гена BCR-ABL [3; 4; 5].

Амплификация гена BCR-ABL как одного из клинически значимых механизмов резистентности к иматинибу у пациентов с ХМЛ является общепризнанной. Однако работы по исследованию амплификации гена BCR-ABL в основном были проведены на клеточных культурах, а описания амплификации гена BCR-ABL *in vivo* у пациентов с ХМЛ единичны. М.Е. Gorre с соавт. [3] методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) показали геномную амплификацию гена BCR-ABL у трех из девя-

ти пациентов с резистентной к иматинибу формой ХМЛ. По данным А. Hochhaus [6], множественные копии гена BCR-ABL методом FISH обнаружены у 2-х из 7-и обследованных пациентов с ХМЛ с первичной резистентностью и не обнаружены ни у одного из 25 пациентов с ХМЛ на фоне рецидива. В нашем недавнем исследовании [7], выполненном на довольно обширной когорте рефрактерных к иматинибу пациентов с ХМЛ (n=100), амплификация гена BCR-ABL выявлена в 18% случаев (рис.1). Оценивая влияние амплификации гена BCR-ABL на достижение цитогенетического ответа при терапии иматинибом, было показано, что у некоторых рефрактерных пациентов с дополнительными копиями гена BCR-ABL сохраняется возможность достижения полного цитогенетического ответа. Однако в нашем исследовании у пациентов с амплификацией гена BCR-ABL вероятность достижения полного цитогенетического ответа после 36 месяцев терапии иматинибом не превышала 20%, тогда как у пациентов без амплификации гена BCR-ABL достигала 70% (рис. 1).

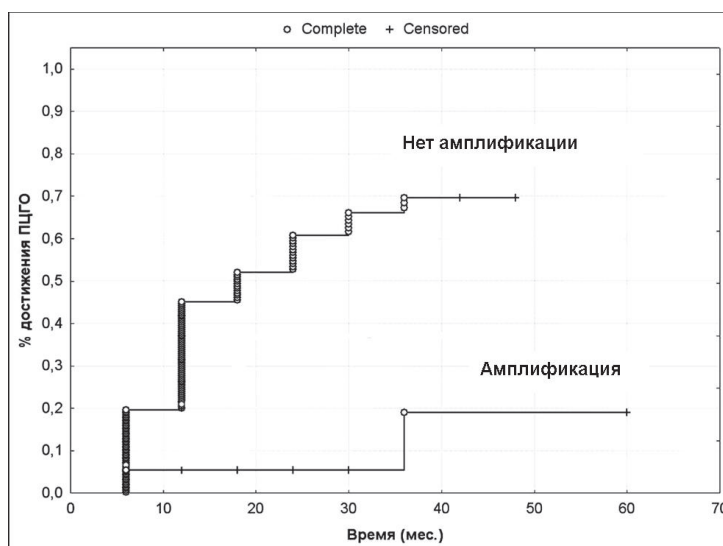


Рис. 1. Вероятность достижения полного цитогенетического ответа (ПЦГО) на терапию иматинибом у больных ХМЛ в зависимости от наличия амплификации гена BCR-ABL (черная линия) ( $p=0,00034$ ).

**Мутации киназного домена гена BCR-ABL.** Хотя к настоящему времени описано много “точечных” мутаций киназного домена гена BCR-ABL и их количество продолжает увеличиваться, клиническое значение каждой из них в индивидуальном прогнозе эффективности терапии иматинибом и другими ингибиторами тирозинкиназ может различаться. Branford S. с соавт. [8] и, особенно, Nicolini с соавт. [9] показали снижение выживаемости без прогрессии и общей выживаемости только у тех пациентов с ХМЛ, которые имели мутацию T315I или различные мутации в участке гена BCR-ABL, кодирующего Р-петлю киназного домена ABL-тирозинкиназы. Использование теста *in vitro* для определения IC50 (50% inhibitor concentration) позволило охарактеризовать чувствительность различных мутантных форм ABL-тирозинкиназы к иматинибу и другим ингибиторам тирозинкиназ. Так, например, такие мутации, как Q252H, V299L, M351T, L384M в тестах *in vitro* приводят лишь к незначительному снижению чувствительности ABL-тирозинкиназы к иматинибу [10] и, вероятно, играют роль в развитии кли-

нической резистентности только в сочетании с другими механизмами. Напротив, мутации G250E, E255K/V, T315I и другие могут приводить к высокому уровню резистентности к иматинибу. Различия в чувствительности ABL-тирозинкиназы к различным ингибиторам тирозинкиназ (иматинибу, дазатинибу, нилотинибу, босутинибу) в зависимости от вида мутации гена BCR-ABL могут использоваться для выбора второй линии терапии у резистентных к иматинибу пациентов [11].

Для проведения мутационного анализа в наше исследование включены 64 пациента с ХМЛ, рефрактерных к терапии иматинибом. В качестве критериев рефрактерности в нашем исследовании рассматривались отсутствие цитогенетического ответа после шести месяцев терапии иматинибом в дозе 400 мг/сутки, частичного цитогенетического ответа – после 12 месяцев терапии, полного цитогенетического ответа – после 18 месяцев терапии. Вторую группу составили пациенты с ХМЛ (n=30), достигшие цитогенетического ответа на терапию иматинибом (400 мг/сутки) в течение 6 – 18 месяцев лечения в соответствии с критериями ELN.



В результате проведенного исследования в группе рефрактерных к иматинибу пациентов (n=64) были обнаружены миссенс-мутации у 16 (25,0%) пациентов (таблица 1).

Среди этих пациентов 1 мутация выявлена у 10 (62,5%) пациентов и компаунд мутации (2 или 3) выявлены у 6 (37,5%) больных ХМЛ. Всего выявлено 23 мутации.

Таблица 1.

Мутации гена *BCR-ABL*, выявленные у рефрактерных к иматинибу пациентов с ХМЛ

№	Пациент	Мутация	Соотношение клонов %N/%M
1	А.С.	L248V	80 /20
2	К.М.	L248V	0 /100
3	И.А.	M244V + M351T	0/100/10
4	К.М.	L248V + F359C	0-20/70/80
5	И.З.	T315I	0/100
6	Б.А.	Q252E	40/60
7	Ш.В.	M244I	80/20
8	М.Л.	F311L	0/100
9	О.Т.	M244I	50/50
10	В.Н.	M244I + G255E	0-80/20/20
11	С.Х.	H396R	0/100
12	Х.С.	L248V + T315S + Q346H	0/100/50/50
13	Д.Е.	F401L	75/25
14	К.М.	L248V + Y253H	0-20/80/15
15	О.Т.	M 244I	70/30
16	С.А.	Y253H + Y435C	0-50/50/50

Анализ локализации выявленных мутаций показал, что 15 (65,3%) из 23 выявленных мутаций локализованы в участке гена *BCR-ABL*, кодирующем Р-петлю (рис. 2). Мутации Р-петли критичны, поскольку именно в ней расположен АТФ-связывающий карман, являющийся мишенью для иматиниба. Основным последствием мута-

ций, затрагивающих Р-петлю, являются нарушение связывания иматиниба с белком *BCR-ABL* тирозинкиназой. Выявленные мутации Р-петли по литературным данным приводят к значительному снижению чувствительности *BCR-ABL* позитивных клеток к иматинибу в тестах *in vitro*.

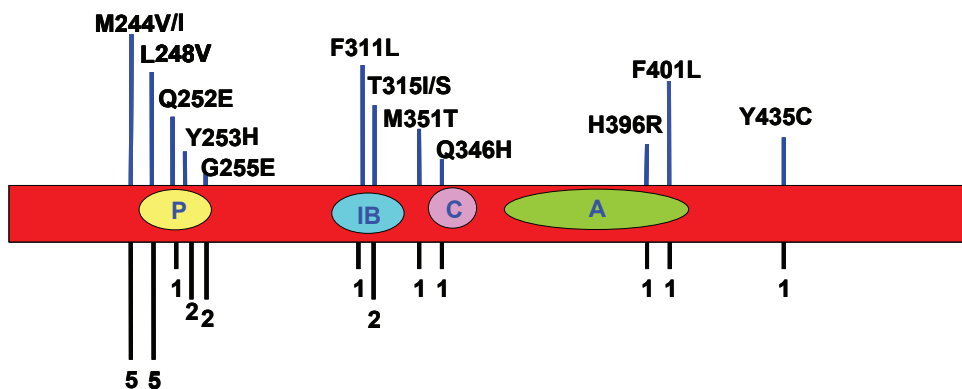


Рис. 2. Схематическое изображение локализации и количества выявленных мутаций в областях гена *BCR-ABL*, кодирующих Р-петлю (P), IB-домен (IB), каталитический домен (C) и активационную петлю (A) киназного домена *BCR-ABL* тирозинкиназы

Проведенное исследование влияние мутаций гена *BCR-ABL* на вероятность достижения большого и полного цитогенетического ответа (БЦГО и ПЦГО), большого молекулярного ответа (БМО) показало, что достижение цитогенетического и молекулярного ответов зависит

от наличия мутаций в гене *BCR-ABL*: вероятность достижения БЦГО, ПЦГО и БМО статистически достоверно ниже у пациентов с мутациями гена *BCR-ABL* (БЦГО – p=0,00028, ПЦГО – p=0,00699 и БМО – p=0,04572) (рис. 3).

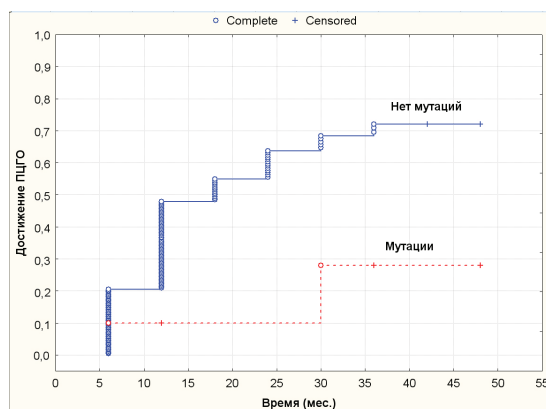


Рис. 3. Вероятность достижения полного цитогенетического ответа (ПЦГО) у больных ХМЛ в зависимости от появления мутаций в гене *BCR-ABL* ( $p=0,00699$ ).

Не связанные с *BCR-ABL* тирозинкиназой механизмы включают появление дополнительных хромосомных aberrаций, которые выявляются с помощью цитогенетического мониторинга, а также группу механизмов формирования резистентности, для которой характерны изменения фармакокинетики ингибиторов тирозинкиназы: низкий уровень иматиниба в плазме крови, обусловленный различными причинами (избыточное связывание иматиниба с сывороточным альфа-1-кислым гликопротеином, избыточная метаболизация лекарственного препарата ферментами цитохрома P450, снижение комплаентности пациентов с ХМЛ к терапии иматинибом), а также низкая внутриклеточная концентрация иматиниба, обусловленная низким уровнем экспрессии белка-транспортера OCT1, обеспечивающего транспорт иматиниба из межклеточного пространства в клетку.

**Клональная цитогенетическая эволюция.** Одним из основных “*BCR-ABL* несвязанных” механизмов резистентности и, одновременно, прогрессии ХМЛ является “клональная эволюция” – появление дополнительных хромосомных aberrаций в Ph-позитивных лейкозных клетках. Клональная эволюция в полном объеме может быть выявлена только при исследовании костного мозга

стандартным цитогенетическим исследованием, позволяющим оценить весь хромосомный набор опухолевой клетки.

По мнению Markt S. с соавт. [12], O’Dwyer M.E. с соавт. [13], Домрачевой Е.В. с соавт. [14], Мартынкевич И.С. с соавт. [15] пациенты в хронической фазе ХМЛ, имеющие дополнительные хромосомные aberrации в Ph-позитивных клетках, характеризуются худшим прогнозом по сравнению с пациентами, не имеющими признаков клональной эволюции. Cortes J.E. с соавт. [16] подчеркнули, что признак клональной эволюции является независимым неблагоприятным прогностическим фактором выживаемости пациентов с ХМЛ как в хронической фазе, так и в фазе акселерации. В одном из наших исследований также было показано, что появление дополнительных хромосомных aberrаций обладает неблагоприятным прогностическим влиянием на исход терапии ХМЛ иматинибом, поскольку появление этих аномалий статистически достоверно ассоциировано со снижением вероятности достижения большого и полного цитогенетических ответов почти в 3 раза (рис. 4) и уменьшением 5-летней общей выживаемости по Каплан-Майеру до 74% по сравнению с 97% [17].

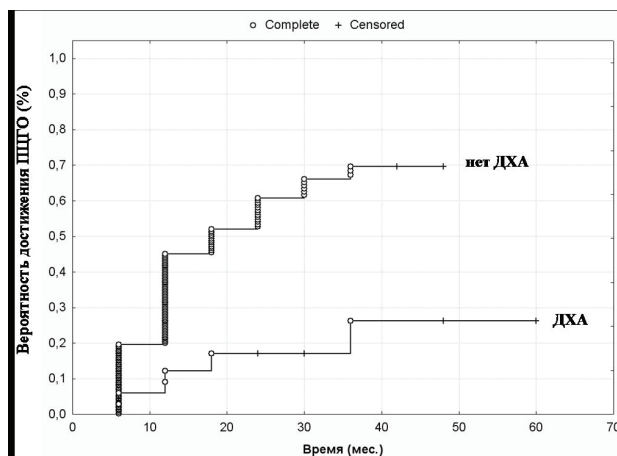


Рис. 4. Вероятность достижения большого цитогенетического ответа (БЦГО) у больных хроническим миелолейкозом с дополнительными хромосомными аномалиями (ДХА) в Ph-позитивных клетках ( $p=0,00001$ ).



**Снижение концентрации иматиниба в плазме.** По данным различных авторов концентрация иматиниба в плазме крови является достаточно вариабельным показателем [18; 19], имеющим мультифакториальную основу. Вне зависимости от механизмов изменения концентрации иматиниба в плазме крови, в настоящее время имеются сведения о том, что низкая концентрация иматиниба в плазме крови может являться причиной субоптимального ответа или отсутствия ответа на терапию иматинибом, а минимально необходимой для достижения ответа на терапию иматинибом признана концентрация не менее 1000 нг/мл [19; 20; 21].

Причиной снижения концентрации иматиниба в плазме может быть генетический полиморфизм ферментов, участвующих в метаболизме лекарственных препаратов. Эксперименты *in vitro* показали, что наибольшее значение для метаболизма иматиниба имеет активность ферментной системы цитохрома P450, а именно – изоферментов CYP3A4 и CYP3A5 [18], [23]. Между тем, существует значительная вариабельность активности этих ферментов у разных людей [22], обуславливающая наблюдаемые различия в концентрации иматиниба.

Одной из объективных причин снижения концентрации иматиниба в плазме крови являются межлекарственные взаимодействия. Прием препаратов, относящихся к индукторам ферментов CYP3A4/5 цитохрома P450, одновременно с иматинибом очевидно вызовет снижение концентрации последнего, поскольку высокая активность этих ферментов приведет к быстрой метаболизации иматиниба [23]. Конечно, речь может идти только о терапии хронических сопутствующих заболеваний в течение длительного периода времени, например – терапия туберкулеза рифампицином [24].

В нашем исследовании влияния концентрации иматиниба в плазме на достижение БМО были включены 49 пациентов [25]. Все пациенты находились в хронической фазе заболевания и получали терапию иматинибом в дозе 400 мг/сутки в течение 18–36 месяцев.

Среди 49 пациентов, получавших терапию иматинибом ( $C_{\min}$ ) в дозе 400 мг/сутки в течение 18–36 месяцев и включенных в наше исследование, 18 больных ХМЛ (36,7%) достигли большого молекулярного ответа ( $\Delta \lg BCR-ABL > 3$ ) и 31 пациент с ХМЛ (63,3%) не достиг большого молекулярного ответа ( $\Delta \lg BCR-ABL < 3$ ).

В группе пациентов с ХМЛ ( $n=18$ ), достигших большого молекулярного ответа, средний возраст составил 54 года, соотношение мужчин и женщин 8/10, средняя длительность терапии иматинибом – 29 месяцев. Среднее значение  $C_{\min}$  иматиниба в плазме крови в этой группе пациентов составило  $1729,2 \pm 215,0$  нг/мл, медиана – 1558,5 нг/мл, минимальное значение – 447,0 нг/мл, максимальное значение – 3394,0 нг/мл. В группе пациентов с ХМЛ ( $n=31$ ), не достигших большого молекулярного ответа, средний возраст составил 51 год, соотношение мужчин и женщин – 16/15, средняя длительность терапии иматинибом – 24 месяца. Среднее значение  $C_{\min}$  в плазме крови в этой группе пациентов составило  $962,1 \pm 77,2$  нг/мл, медиана – 922,0 нг/мл, минимальное значение – 263,0 нг/мл, максимальное значение – 2472,0 нг/мл. Проведенный статистический анализ с использованием критерия Манна-Уитни (U – тест) показал, что между группами пациентов с ХМЛ, достигших большого молекулярного ответа и не достигших его, средние значения  $C_{\min}$  иматиниба в плазме различаются статистически достоверно ( $p=0,0007$ ). Распределение этих же групп пациентов по квартилям в зависимости от  $C_{\text{trough}}$  иматиниба показало, что 75% больных ХМЛ с молекулярной ремиссией имели концентрацию иматиниба выше 992 нг/мл (рис. 5).

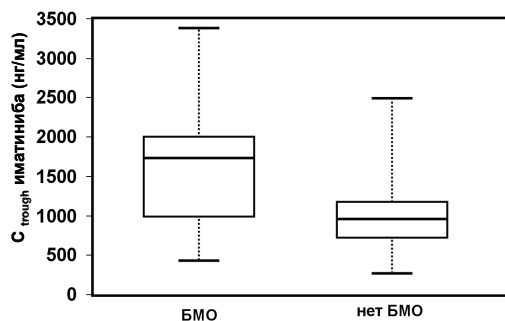


Рис. 5. Дисперсия медианы значения  $C_{\text{trough}}$  иматиниба у больных ХМЛ с большим молекулярным ответом (БМО) и без большого молекулярного ответа (нет БМО).

#### **Приверженность (комплаентность) больных ХМЛ к терапии иматинибом.**

История масштабного клинического применения иматиниба у больных ХМЛ насчитывает уже 10 лет. Однако проблема комплаентности пациентов к проводимому лечению особенно остро осознана гематологами только в последние годы. Действительно, оценка эффективности препарата, особенно в рутинной практике, а не в рамках контролируемого клинического исследования, невозможна без учета приверженности пациентов к назначенному лечению. Впервые субоптимальная комплаентность па-

циентов с ХМЛ и гастроинтестинальными стромальными опухолями к терапии иматинибом была выявлена в работе J. Tsang с соавт. [26]. В ней проанализировали динамику изменения комплаентности к иматинибу у 4043 пациентов с ХМЛ и гастроинтестинальными стромальными опухолями в течение 24 месяцев терапии иматинибом. Общая комплаентность, определяемая как отношение принятой дозы к дозе, назначенной врачом, составила 75%. Только 50% пациентов имели 100% комплаентность.

В работе StCharles M.St. [27] приверженность пациентов с ХМЛ к терапии иматинибом оценивалась в группе



из 340 пациентов как процентное отношение количества дней, в которые пациент принимал препарат, к количеству дней наблюдения. Авторы также выявили субоптимальную комплаентность, поскольку только 64% пациентов были признанными приверженными к терапии иматинибом.

Снижение приверженности больных к терапии приводит к снижению концентрации препарата по сравнению с терапевтически необходимой и, как следствие, снижению эффективности терапии. В нашем исследовании было выявлено, что перерывы терапии иматинибом более 30 дней в течение первого года лечения приводят к снижению в 2 раза вероятности достижения полного цитогенетического ответа после 12 месяцев терапии [28].

В последние годы активно обсуждается использование лекарственного терапевтического мониторинга для оценки комплаентности пациентов к терапии иматинибом. Однако каких-либо публикаций, кроме описания отдельных случаев, посвященных использованию этого теста в целях оценки комплаентности, нами не обнаружено [29]. При всей очевидности пользы такого исследования, оценка приверженности к терапии иматинибом таким способом имеет ряд ограничений. Во-первых, в случае выявления крайне низкой концентрации иматиниба в плазме можно говорить об отсутствии приема препарата в течение одних или нескольких суток и не более. Во-вторых, забор крови для исследования концентрации иматиниба должен быть “сюрпризом” для пациента, что не вполне корректно с этической точки зрения. Однако это этическое ограничение легко преодолевается, если пациенту при визите к врачу предлагается подписать информированное согласие. Пациент в этом случае сам волен решать – дать ему согласие на оценку его комплаентности или отказаться от подобного исследования.

Целью нашего исследования явилось изучение возможностей терапевтического лекарственного мониторинга для оценки приверженности пациентов с ХМЛ к терапии иматинибом [30]. В исследование включены 442 больных ХМЛ, получающих терапию иматинибом в дозе 300 мг/сутки (n=8), 400 мг/сутки (n=337), 600 мг/сутки (n=337), 800 мг/сутки (n=51). В хронической фазе находились 395 пациентов, в фазе акселерации – 48. Средний возраст составил 48 лет (18–80), соотношение мужчин и женщин – 201/241, средняя длительность терапии иматинибом – 27 месяцев (6–84). Исследование концентрации иматиниба в плазме проводили пациентам с ХМЛ по следующим показаниям: отсутствие ответа, субоптимальный ответ, потеря ответа на терапию иматинибом; подозрение на взаимодействие иматиниба с другими лекарственными средствами; непереносимость терапии иматинибом; подозрение на несоблюдение пациентом режима приема препарата. С целью определения остаточной концентрации  $C_{\text{trough}}$  иматиниба забор крови проводили через  $24 \pm 3$  часа после последнего приема иматиниба у пациентов, получавших препарат однократно в дозе 300, 400 или 600 мг/сутки, или через  $12 \pm 3$  часа после последнего приема препарата у пациентов, получавших иматиниб 2 раза по 400 мг/сутки (800 мг/сутки). Перед забором образцов крови все пациенты дали письменное информированное согласие на проведение исследования. Определение концентрации иматиниба проводили валидированным методом ВЭЖХ/МС/МС. Всего для 442 больных было выполнено 551 исследование. В качестве критерия комплаентности пациентов выбраны наименьшие значения concentra-

ции иматиниба, которые были выявлены в I, II и III фазах клинических исследований иматиниба. Для суточных доз 400, 600 и 800 мг иматиниба наименьшая его концентрация была 180, 350 и 1020 нг/мл соответственно.

В результате проведенного исследования в группе пациентов с ХМЛ не достигших ответа, с субоптимальным ответом или потерявших ответ на терапию иматинибом (n=406) в дозе 400 мг/сутки (n=242) медиана  $C_{\text{trough}}$  иматиниба составила 963 [0–5140] нг/мл (у 8 (3,3%) пациентов концентрация была менее 180 нг/мл), 600 мг/сутки (n=124) – 1369 [2,5–3813] нг/мл (у 7 (5,6%) пациентов концентрация была менее 350 нг/мл), 800 мг/сутки – 1845 [5–5089] нг/мл (у 9 (22,5%) пациентов концентрация была менее 1020 нг/мл).

В группе пациентов с подозрением на нарушение режима приема препарата (n=66) медиана  $C_{\text{trough}}$  иматиниба составила у больных, получающих 400 мг/сутки (n=46) – 861 [0–3394] нг/мл (у 4 (8,5%) пациентов концентрация была менее 180 нг/мл), 600 мг/сутки (n=14) – 1287 [400–3813] (пациенты с концентрацией менее 350 нг/мл не обнаружены), 800 мг/сутки (n=6) – 1287 [215–3813] нг/мл (у 2 (33%) пациентов концентрация была менее 1020 нг/мл).

В группе больных с подозрением на межлекарственные взаимодействия (n=13) медиана  $C_{\text{trough}}$  иматиниба составила у больных, получающих 400 мг/сутки (n=10) – 861 [0–3394] нг/мл и у 2 пациентов концентрация была менее 180 нг/мл. У двух пациентов, получавших терапию иматинибом в дозе 600 мг/сутки, и 1 пациента – 800 мг/сутки концентрация  $C_{\text{trough}}$  иматиниба была достаточно высокой – 2940, 3635 и 1580 нг/мл.

В группе больных с выраженными побочными эффектами терапии иматинибом медиана его остаточной концентрации  $C_{\text{trough}}$  у пациентов, получавших иматиниб в дозе 300 мг/сутки (n=8) – 699 [274–1550] нг/мл, 400 мг/сутки (n=39) – 967 [269–3827], 600 мг/сутки (n=15) – 1223 [544–3460] нг/мл, 800 мг/сутки (n=4) – 921 [381–2470] нг/мл. Только у 2 пациентов, получавших иматиниб в дозе 800 мг/сутки, обнаружены значения  $C_{\text{trough}}$  иматиниба ниже референтных.

Таким образом в нашем исследовании у 32 (5,8%) пациентов с ХМЛ обнаружены значения  $C_{\text{trough}}$  иматиниба ниже минимальных референтных значений, что свидетельствует о нарушении режима приема препарата. Также отмечено, что с повышением дозы препарата количество некомплаентных пациентов увеличивается с 4,2% у больных, получающих иматиниб в дозе 400 мг/сутки, до 25,5% у больных, получающих иматиниб в дозе 800 мг/сутки.

**Сниженная экспрессия белка hOCT1.** В последние годы активно обсуждается роль транспортных белков клеточной мембраны, обеспечивающих поступление лекарственных препаратов из межклеточного пространства в цитоплазму клеток, в развитии фармакокинетической резистентности к терапии иматинибом, например – органического катионного транспортного белка hOCT1, транспортирующего иматиниб внутрь клетки. Thomas J. с соавт. [31] в культуре клеток показали, что уровень экспрессии белка hOCT1 коррелирует с уровнем опосредованного этим белком поступления иматиниба внутрь клетки. White D.L. с соавт. [32] обнаружили различную чувствительность к иматинибу культивируемых клеток крови, полученных от 25 нелеченых пациентов с ХМЛ, в зависимости от уровня экспрессии белка hOCT1. Ограниченность клинического значения этих данных обусловлена слишком маленькой выборкой пациентов и отсутствием каких-либо корреляций с клиническими данными.



Более интересны наблюдения Crossmann с соавт. [33], выявивших, что высокий уровень экспрессии белка hOCT1 в клетках костного мозга коррелирует с достижением полного цитогенетического ответа у пациентов, получавших терапию иматинибом более 10 месяцев. Напротив, пациенты с низким уровнем экспрессии этого транспортного белка достигали менее чем минимального цитогенетического ответа. Тем не менее, в этой работе также была обследована небольшая группа пациентов и не анализировались возможные другие механизмы резистентности к иматинибу.

В недавно опубликованном исследовании Wang L. с соавт. [34] в более представительной группе пациентов с ХМЛ (n=70) показали статистически достоверные различия в достижении полного цитогенетического ответа после 6 месяцев терапии, а также в выживаемости без прогрессии и общей выживаемости у пациентов с ХМЛ в зависимости от уровня экспрессии hOCT1.

Таким образом, анализ механизмов резистентности показал, что несомненное клиническое значение имеют исследования BCR-ABL зависимых механизмов резистентности к терапии иматинибом – амплификация гена *BCR-ABL*, выявляемая FISH анализом или цитогенетическим методом в виде дупликации Ph-хромосомы, и мутации гена *BCR-ABL*. Из BCR-ABL независимых механизмов наибольшее значение для практики имеет выявление цитогенетической клональной эволюции – появление дополнительных хромосомных aberrаций в Ph-позитивных клетках. Лекарственный мониторинг терапии ХМЛ не обозначен как необходимый в рекомендациях по лечению ХМЛ, разработанных European LeukemiaNet (ELN) [35]. Однако к настоящему времени накоплены многочисленные данные об использовании теста измерения концентрации иматиниба для оценки резистентности в рутинной практике терапии ХМЛ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. O'Brien S.G., Guilhot F., Goldman J.M. et al. International randomized study of interferon versus STI571 (IRIS) 7-year follow-up: sustained survival, low rate of transformation and increased rate of major molecular response (MMR) in patients (pts) with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CMLCP) treated with imatinib (IM) // *Blood*. – 2008. – V. 112, № 11. – P.186.
2. de Lavallade H., Apperley J.F., Khorashad J.S. et al. Imatinib for newly diagnosed patients with chronic myeloid leukemia: incidence of sustained responses in an intention-to-treat analysis // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – V.26, № 20. – P.3358-3363.
3. Gorre M.E., Mohammed M., Ellwood K. et al. Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification // *Science*. – 2001. – V.293, №5531. – P.876-880.
4. Roche-Lestienne C., Soenen-Cornu V., Gardel-Duflos N. et al. Several types of mutations of the Abl gene can be found in chronic myeloid leukemia patients resistant to STI571, and they can pre-exist to the onset of treatment // *Blood*. – 2002. – V.100, № 3. – P.1014-1018.
5. Shah N.P., Nicoll J.M., Nagar B. et al. Multiple BCR-ABL kinase domain mutations confer polyclonal resistance to the tyrosine kinase inhibitor imatinib (STI571) in chronic phase and blast crisis chronic myeloid leukemia // *Cancer Cell*. – 2002. – V.2, № 2. – P.117-125.
6. Hochhaus A. Cytogenetic and molecular mechanisms of resistance to imatinib // *Semin. Hematol.* – 2003. – V.40, № 2, Suppl 2. – P.69-79.
7. Куцев С.И., Морданов С.В. Амплификация гена BCR-ABL у пациентов с хроническим миелоидным лейкозом, рефрактерных к иматинибу // *Онкогематология*. – 2009, №3. – С. 57-61.
8. Branford S., Rudzki Z., Walsh S. et al. Detection of BCR-ABL mutations in patients with CML treated with imatinib is virtually always accompanied by clinical resistance, and mutations in the ATP phosphate-binding loop (P-loop) are associated with a poor prognosis // *Blood*. – 2003. – V.102, №1. – P.276-283.
9. Nicolini F.E., Corm S., Le Q.H. et al. Mutation status and clinical outcome of 89 imatinib mesylate-resistant chronic myelogenous leukemia patients: a retrospective analysis from the French intergroup of CML (Fi(phi)-LMC GROUP) // *Leukemia*. – 2006. – V.20, №6. – P.1061-1066.
10. Redaelli S., Piazza R., Rostagno R. et al. Activity of bosutinib, dasatinib, and nilotinib against 18 imatinib-resistant BCR/ABL mutants // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – V.20, № 27(3). – P.469-471.
11. Куцев С.И., Вельченко М.В. Значение анализа мутаций гена BCR-ABL в оптимизации таргетной терапии хронического миелолейкоза // *Клиническая онкогематология*. – 2008. – Т. 1, №3. – С. 190-199.
12. Marktel S., Marin D., Foot N. et al. Chronic myeloid leukemia in chronic phase responding to imatinib: the occurrence of additional cytogenetic abnormalities predicts disease progression // *Haematologica*. – 2003. – Vol.88, №3. – P.260-267.
13. O'Dwyer M.E., Mauro M.J., Blasdel C. et al. Clonal evolution and lack of cytogenetic response are adverse prognostic factors for hematologic relapse of chronic phase CML patients treated with imatinib mesylate // *Blood*. – 2004. – Vol.103, №2. – P.451-455.
14. Домрачева Е.В., Захарова А.Е., Асеева Е.А. Прогностическое значение дополнительных цитогенетических аномалий при хроническом миелолейкозе // *Гематол. и трансфузиол.* – 2005. – Т. 50, №4. – С. 37-41
15. Мартынкевич И.С., Мартыненко Л.С., Иванова М.П. и др. Дополнительные хромосомные aberrации у больных хроническим миелолейкозом // *Гематол. и трансфузиол.* – 2007. – Т. №2. – С. 28-35.
16. Cortes J.E., Talpaz M., Giles F. et al. Prognostic significance of cytogenetic clonal evolution in patients with chronic myelogenous leukemia on imatinib mesylate therapy // *Blood*. – 2003. – Vol.101, №10. – P. 3794-3800.
17. Куцев С.И., Морданов С.В., Зельцер А.Н. Прогностическое значение дополнительных хромосомных аномалий в Ph-позитивных клетках в терапии иматинибом хронического миелолейкоза // *Медицинская генетика*. – 2009. – № 10. – С. 27-33.
18. Peng B., Hayes M., Resta D. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of imatinib in a phase I trial with chronic myeloid leukemia patients // *J. Clin. Oncol.* – 2004. – V.22, № 5. – P. 935-942.
19. Larson R.A., Druker B.J., Guilhot F. et al. Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: a subanalysis of the IRIS study // *Blood*. – 2008. – V.111, №8. – P. 4022-4028.
20. Picard S., Titier K., Etienne G. et al. Trough imatinib plasma levels are associated with both cytogenetic and molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia // *Blood*. – 2007. – V.109, № 8. – P. 3496-3499.
21. Singh N., Kumar L., R. Meena, T. Velpandian. Drug monitoring of imatinib levels in patients undergoing therapy for chronic myeloid leukaemia: comparing plasma levels of responders and non-responders // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2009. – V.65, № 6. – P.545-549
22. Wilkinson G.R. Cytochrome P4503A (CYP3A) metabolism: prediction of in vivo activity in humans // *J. Pharmacokinet. Biopharm.* – 1996. – V. 24, № 5. – P.475-490.
23. Peng B., Lloyd P., Schran H. Clinical pharmacokinetics of imatinib // *Clin Pharmacokinet.* – 2005. – V.44, № 9. – P. 879-894.
24. Bolton A.E., Peng B., Hubert M. et al. Effect of rifampicin on the pharmacokinetics of imatinib mesylate (Gleevec, STI571) in



- healthy subjects // *Cancer Chemother. Pharmacol.* – 2004. – V.53, № 2. – P.102-106
25. Куцев С.И., Оксенюк О.С. Лекарственный мониторинг в терапии хронического миелолейкоза иматинибом // *Клиническая онкогематология.* – 2009. – Т. 2, № 3. – С. 256-261.
26. Tsang J., Rudychev L., Pescatore S.L. Prescription compliance and persistency in chronic myelogenous leukemia (CML) and gastrointestinal stromal tumor (GIST) patients (pts) on imatinib (IM) // *J.Clin. Oncol.* – 2006. – V. 24, №18S – P. 6119.
27. StCharles M.St., Bollu V., Hornyak E. et al. Predictors of treatment non-adherence in patients treated with Imatinib mesylate for chronic myeloid leukemia // *Blood.* – V.114, №22. – P. 870.
28. Куцев С.И., Шатохин Ю.В. Влияние перерывов терапии иматинибом на достижение цитогенетического и молекулярного ответов у больных хроническим миелолейкозом // *Казан. мед. журн.* – 2009. – Т. 90, №6. – С. 827-831.
29. Mahon F.-X., Picard S., Marit G., Robinson P., Molimard M. Use of therapeutic drug monitoring in CML patients on imatinib // *Blood.* – 2007. – V.110, № 5. – P. 1701.
30. Куцев С.И., Оксенюк О.С., Кравченко Е.Г. и др. Лекарственный мониторинг терапии хронического миелолейкоза иматинибом // *Клиническая онкогематология.* – 2010. – Т. 3, № 1. – С. 1-9.
31. Thomas J., Wang L., Clark R.E., Pirmohamed M. Active transport of imatinib into and out of cells: implications for drug resistance // *Blood.* – 2004. – V.104, №12. – P. 3739-3745.
32. White D.L., Saunders V.A., Dang P. et al. OCT-1-mediated influx is a key determinant of the intracellular uptake of imatinib but not nilotinib (AMN107): reduced OCT-1 activity is the cause of low in vitro sensitivity to Imatinib // *Blood.* – 2006. – V.108, №2. – P.697-704.
33. Crossman L.C., Druker B.J., Deininger M.W. et al. hOCT 1 and resistance to imatinib // *Blood.* – 2005. – V.106, №3. – P. 1133-1134.
34. Wang L., Giannoudis A., Lane S. et al. Expression of the uptake drug transporter hOCT1 is an important clinical determinant of the response to imatinib in chronic myeloid leukemia // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 2008. – V.83, №2. – P.258-264.
35. Baccarani M., Cortes J., Pane F. et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – V.27, №35. – P. 6041-6051.

ПОСТУПИЛА: 11.10.2010