

DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-3-98-107



Полиморфизмы генов *TPMT*, *NUDT15* и профиль токсичности 6-меркаптопурина у взрослых больных Ph-негативными острыми лимфобластными лейкозами/лимфомами при лечении по протоколу ОЛЛ-2016

Е.С. Котова, О.А. Гаврилина, И.А. Якутик, А.Б. Судариков, Ю.А. Чабаяева, С.М. Куликов, С.Г. Бексаев, В.В. Троицкая, Г.А. Исинова, А.Н. Соколов, З.Т. Фидарова, И.А. Лукьянова, А.В. Абрамова, В.Н. Двирнык, И.В. Гальцева, Т.Н. Обухова, Е.Н. Паровичникова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский пр-д, 4

Контакты: Екатерина Сергеевна Котова 2017e.s.kotova@gmail.com

Введение. Препарат 6-меркаптопурин (6-МП) включен в протоколы лечения как детей, так и взрослых больных острыми лимфобластными лейкозами/лимфомами (ОЛЛ/ЛБЛ). Известно, что индивидуальные различия переносимости 6-МП могут быть объяснены наличием полиморфизмов генов *TPMT* и *NUDT15*.

Цель исследования – определить профиль токсичности 6-МП у взрослых больных Ph-негативными ОЛЛ/ЛБЛ при лечении по протоколу ОЛЛ-2016 в зависимости от наличия полиморфизмов генов *TPMT* и *NUDT15*.

Материалы и методы. В исследование были включены 54 взрослых больных Ph-негативными ОЛЛ/ЛБЛ (40 мужчин и 14 женщин). Медиана возраста составила 31 (18–51) год. Диагноз острого Т-лимфобластного лейкоза/лимфомы установлен у 29 больных, острого В-лимфобластного лейкоза/лимфомы – у 22, острого лейкоза со смешанным иммунофенотипом – у 3. Лечение проводили в рамках многоцентрового исследования ОЛЛ-2016 (ClinicalTrials.gov, NCT03462095). Всем больным методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции в реальном времени было выполнено исследование по определению полиморфизмов генов *NUDT15* (*2, *3) и *TPMT* (*2, *3A, *3B, *3C). В исследовании использовалась геномная ДНК, выделенная из образцов периферической крови больных. Для каждого больного на этапах индукции и консолидаций рассчитан процент полученной и должной дозы 6-МП. На основании клинико-лабораторных данных проведен анализ токсичности.

Результаты. У 11 (20 %) больных выявлены полиморфизмы генов *TPMT* и *NUDT15*, которые значимо чаще определялись при остром В-лимфобластном лейкозе – в 7 (32 %) из 22 случаев ($p < 0,05$). Меньшая доза 6-МП была получена больными с полиморфизмами генов *TPMT*, *NUDT15* только на этапе консолидации IV ($p = 0,01$). При анализе токсических осложнений на разных этапах терапии у больных как с полиморфизмами *TPMT*, *NUDT15*, так и с «диким» типом этих генов достоверных различий не отмечено ($p > 0,05$).

Заключение. Различий в полученной дозе 6-МП и частоте токсических осложнений у взрослых больных Ph-негативными ОЛЛ/ЛБЛ с полиморфизмами *TPMT* и *NUDT15* по сравнению с «диким» типом этих генов при лечении по протоколу ОЛЛ-2016 не выявлено ($p > 0,05$). Необходимо проведение дальнейшего исследования по определению концентрации метаболитов 6-МП для более полного понимания особенностей метаболизма этого препарата.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, лимфобластная лимфома, 6-меркаптопурин, *TPMT*, *NUDT15*, токсичность

Для цитирования: Котова Е.С., Гаврилина О.А., Якутик И.А. и др. Полиморфизмы генов *TPMT*, *NUDT15* и профиль токсичности 6-меркаптопурина у взрослых больных Ph-негативными острыми лимфобластными лейкозами/лимфомами при лечении по протоколу ОЛЛ-2016. Онкогематология 2022;17(3):98–107. DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-3-98-107

Polymorphisms of the *TPMT*, *NUDT15* genes and 6-mercaptopurine toxicity profile in adult patients with Ph-negative acute lymphoblastic leukemia/lymphomas on the ALL-2016 protocol

E.S. Kotova, O.A. Gavrilina, I.A. Yakutik, A.B. Sudarikov, Yu.A. Chabaeva, S.M. Kulikov, S.G. Beksaeв, V.V. Troitskaya, G.A. Isinova, A.N. Sokolov, Z.T. Fidarova, I.A. Lukyanova, A.V. Abramova, V.N. Dvirnyk, I.V. Galtseva, T.N. Obukhova, E.N. Parovichnikova

National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zykovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia

Contacts: Ekaterina Sergeevna Kotova 2017e.s.kotova@gmail.com

Background. 6-mercaptopurine (6-MP) is a drug that is included in the treatment protocols for children and adults with acute lymphoblastic leukemias/lymphomas (ALL/LBL). It is known that individual differences in 6-MP tolerance can be explained by the *TPMT* and *NUDT15* polymorphisms.

Aim. To determine 6-MP toxicity profile in adult patients with Ph-negative ALL/LBL treated by ALL-2016 protocol, depending on the *TPMT* and *NUDT15* polymorphisms.

Materials and methods. The study included 54 adult patients with Ph-negative ALL/LBL (40 male and 14 female). The median age was 31 (18–51) years. T-ALL/LBL was diagnosed in 29 patients, B-ALL/LBL – in 22, acute leukemia with a mixed immunophenotype – in 3. All patients received treatment according to the multicenter study ALL-2016 (ClinicalTrials.gov, NCT03462095). Polymorphisms in *NUDT15* (*2, *3) and *TPMT* (*2, *3A, *3B, *3C) genes were detected using the allele-specific real-time polymerase chain reaction. Genomic DNA was extracted from patients peripheral blood samples. On the induction and consolidation therapy by the protocol, the received and proper 6-MP doses were calculated for all the patients. Drug toxicity was evaluated based on clinical and laboratory data.

Results. *TPMT* and *NUDT15* polymorphisms were detected in 11 (20 %) patients, more often in B-ALL – 7 (32 %) of 22 ($p < 0.05$). A lower dose of 6-MP was received by patients with *TPMT*, *NUDT15* polymorphisms only at consolidation IV ($p = 0.01$). We didn't find a correlation between the 6-MP toxicity and the polymorphisms in our patients ($p > 0.05$).

Conclusion. There were no differences in the received dose of 6-MP and the incidence of toxicity in adult patients between Ph-negative ALL/LBL with or without *TPMT* and *NUDT15* polymorphisms treated according to ALL-2016 protocol ($p > 0.05$). Further studies including evaluation of 6-MP metabolites concentrations are required for a more complete understanding of the metabolism of this drug.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, lymphoblastic lymphoma, 6-mercaptopurine, *TPMT*, *NUDT15*, toxicity

For citation: Kotova E.S., Gavrulina O.A., Yakutik I.A. et al. Polymorphisms of the *TPMT*, *NUDT15* genes and 6-mercaptopurine toxicity profile in adult patients with Ph-negative acute lymphoblastic leukemia/lymphomas on the ALL-2016 protocol. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2022;17(3):98–107. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2022-17-3-98-107

Введение

Одним из основных препаратов, который включен в современные протоколы лечения как детей, так и взрослых больных Ph-негативными острыми лимфобластными лейкозами/лимфомами (ОЛЛ/ЛБЛ), является 6-меркаптопурин (6-МП) [1]. Это лекарственное средство из группы тиопуринов обладает узким терапевтическим окном. Именно этим обусловлена сложность достижения баланса между терапевтической эффективностью и токсичностью 6-МП. Наиболее значимыми нежелательными лекарственными реакциями считаются цитопении, следствием которых могут быть инфекционные и геморрагические события, а также гепатотоксичность [2, 3]. Известно, что степень выраженности этих осложнений у каждого больного определяется наличием полиморфизмов генов, кодирующих ключевые ферменты метаболизма 6-МП [1, 4].

Наиболее изучена роль полиморфизмов генов *TPMT* и *NUDT15*, которые кодируют ключевые ферменты метаболического каскада 6-МП – тиопуриин-S-метилтрансферазу (*TPMT*) и нуклеотид трифосфат дифосфатазу (*NUDT15*) соответственно [5]. Определено более 30 аллельных вариантов *TPMT* и 18 вариантов *NUDT15* [6, 7]. Наиболее распространенными являются *TPMT**2, *TPMT**3A, *TPMT**3B, *TPMT**3C и *NUDT15**3 [8, 9].

В 2018 г. Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) и Консор-

циумом по внедрению клинической фармакогенетики (Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium, CPIC) были разработаны клинические рекомендации о необходимости выполнения генотипирования *TPMT* и *NUDT15* до начала терапии 6-МП [10]. CPIC разработал протоколы расчета дозы 6-МП для больных с полиморфизмами генов *TPMT*, *NUDT15* [10]. Однако в литературе представлены единичные исследования по определению аллельных вариантов генов *TPMT*, *NUDT15* у детей и взрослых больных острыми лейкозами, получающих лечение на территории России по протоколам, которые имеют свои особенности химиотерапевтического воздействия [11, 12].

Цель исследования – определить профиль токсичности 6-МП у взрослых больных Ph-негативными ОЛЛ/ЛБЛ при лечении по протоколу ОЛЛ-2016 в зависимости от наличия полиморфизмов генов *TPMT* и *NUDT15*.

Материалы и методы

В период с 2018 по 2020 г. в исследование были включены 54 взрослых больных Ph-негативными ОЛЛ/ЛБЛ (40 мужчин и 14 женщин), которые получали терапию по протоколу ОЛЛ-2016 в НИИЦ гематологии [13]. Оценку эффективности терапии выполняли всем больным в контрольные сроки по протоколу ОЛЛ-2016. Полную ремиссию (ПР) заболевания определяли на основании данных миелограммы (в костном мозге менее 5 % бластных клеток) и/или компьютерной томографии, ультразвукового исследования (размеры

лимфатических узлов составляли не более 1,5 см, уменьшение размеров опухолевых образований не менее чем на 75 % по окончании I или II фазы индукции). Первично-рефрактерное течение заболевания диагностировали после окончания II фазы индукции (+70-й день) при наличии в миелограмме более 5 % бластных клеток и/или если размер опухолевого образования составлял более чем 75 % от исходного, а лимфатические узлы были более 1,5 см по данным компьютерной томографии и/или ультразвукового исследования. Этой группе больных дальнейшее лечение проводили по другим протоколам.

Всем больным выполнено исследование по определению полиморфизмов генов *TPMT* (*2, *3A, *3B, *3C) и *NUDT15* (*2, *3) методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции в реальном времени. В исследовании использовали геномную ДНК, выделенную из образцов периферической крови больных. Коррекцию дозы в зависимости от наличия полиморфизмов генов *TPMT*, *NUDT15* не выполняли.

Фактическая (полученная) и необходимая (должная) дозы 6-МП определены для каждого больного на разных этапах терапии. Должные дозы 6-МП и длительность приема препарата на разных этапах лечения были различны: II фаза индукции (25 мг/м², 28 дней), консолидация II (50 мг/м², 14 дней), консолидация III (25 мг/м², 28 дней), консолидация IV (50 мг/м², 25 дней), консолидация V (25 мг/м², 25 дней). Для каждого больного на всех этапах терапии рассчитан процент от должной дозы 6-МП по формуле:

$$\frac{\text{Полученная доза 6-МП, мг}}{\text{Должная доза 6-МП, мг}} \times 100 \text{ \%}$$

В зависимости от показателей гемограммы проводили коррекцию дозы 6-МП согласно протоколу ОЛЛ-2016: 100 % доза 6-МП была назначена при количестве лейкоцитов $>2 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов $>100 \times 10^9/\text{л}$; 50 % доза 6-МП – при количестве лейкоцитов $1\text{--}2 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов $50\text{--}100 \times 10^9/\text{л}$; 6-МП отменяли при количестве лейкоцитов $<1 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов $<50 \times 10^9/\text{л}$. Таким образом, полученная доза 6-МП у некоторых больных отличалась от должной. Кроме этого, у больных, которые не достигли ремиссии по окончании I фазы индукции (+36-й день по протоколу ОЛЛ-2016), согласно протоколу редуцировали дозу в зависимости от показателей периферической крови не выполняли, т. е. все больные получали должную дозу 6-МП. Поэтому эти больные из анализа II фазы индукции были исключены.

При оценке клинико-лабораторных маркеров токсичности у всех больных, включенных в исследование, использовали следующие определения: миелотоксический агранулоцитоз – наличие в гемограмме лейкоцитов менее $1 \times 10^9/\text{л}$ или абсолютного значения нейтрофилов менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$; гепатоток-

сичность – повышение показателей аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, гамма-глутамилтранспептидазы, щелочной фосфатазы в 2,5 раза и более от верхнего предела нормальных значений, общего билирубина более чем в 1,5 раза от верхнего предела нормы [14].

Статистический анализ. Для статистической обработки использовали стандартные методы описательной статистики, частотный, регрессионный анализ повторных наблюдений, событийный анализ. Для проверки гипотез о различиях распределений категориальных признаков в группах сравнения применяли анализ таблиц сопряженности. Для оценки значимости использовали двусторонний критерий Фишера (для таблиц 2×2) и критерий χ^2 для таблиц большей размерности, в качестве меры связи – отношение шансов с соответствующим 95 % доверительным интервалом. Для проверки гипотез о наличии различий в распределениях числовых показателей в группах сравнения использовали непараметрический ранговый критерий Манна–Уитни. В событийном анализе для оценки распределений применяли метод Каплана–Майера, для оценки статистической значимости различий в группах – *log-rank*-тест. Для оценки влияния факторов на распределение целевого признака применяли регрессионную модель пропорциональных рисков Кокса с указанием в качестве меры связи значения относительного риска с соответствующим 95 % доверительным интервалом. Статистический анализ проводили с помощью процедур пакета SAS 9.4.

Результаты

Медиана возраста больных составила 31 (18–51) год. На основании результатов иммунофенотипического и/или иммуногистохимического исследований костного мозга, опухолевого образования, лимфатического узла диагноз острого Т-лимфобластного лейкоза/лимфомы (Т-ОЛЛ/ЛБЛ) установлен у 29 больных, острого В-лимфобластного лейкоза/лимфомы (В-ОЛЛ/ЛБЛ) – у 22, острого лейкоза со смешанным иммунофенотипом (ОЛСФ) – у 3. ПР после I фазы индукции (+36-й день) была достигнута у 42 (78 %), после II фазы индукции (+70-й день) – у 47 (87 %) (табл. 1).

Полиморфизмы генов *TPMT* и *NUDT15* выявлены у 11 (20 %) из 54 больных Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ. Большинство больных (8 (73 %) из 11) – носители аллельных вариантов гена *TPMT*: *TPMT**3A – 6 (75 %), *TPMT**3C – 1 (12,5 %), *TPMT**2 – 1 (12,5 %). Только у 3 (27 %) из 11 больных обнаружен *NUDT15**3. Во всех случаях полиморфизмы представляли собой гетерозиготные варианты. Значимо чаще аллельные варианты генов *TPMT* и *NUDT15* выявлены у больных В-ОЛЛ (в 7 (32 %) из 22 случаев) по сравнению с пациентами Т-ОЛЛ (в 3 (10 %) из 29) и с ОЛСФ (в 1 (33 %) из 3) ($p < 0,05$). Показатели гемограммы (концентрация гемоглобина, количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов) в начале и по окончании II фазы

Таблица 1. Эффективность лечения больных, включенных в исследование ($n = 54$)Table 1. The treatment efficacy of patients included in the study ($n = 54$)

Показатель Parameter	Т-ОЛЛ/ЛБЛ ($n = 29$) T-ALL/LBL ($n = 29$)	В-ОЛЛ/ЛБЛ ($n = 22$) T-ALL/LBL ($n = 22$)	ОЛСФ ($n = 3$) MPAL ($n = 3$)	Всего Total
Пол, n : Gender, n :				
мужской male	22	15	3	40
женский female	7	7	0	14
Медиана возраста (диапазон), лет Median age (range), years	31 (18–49)	31 (18–51)	31 (24–31)	31 (18–51)
Полная ремиссия на +36-й день, n (%) Complete remission on day +36, n (%)	25 (86)	16 (73)	1 (33)	42 (78)
Полная ремиссия на +70-й день, n (%) Complete remission on day +70, n (%)	27 (93)	19 (86)	1 (33)	47 (87)

Примечание. Т-ОЛЛ/ЛБЛ – острый Т-лимфобластный лейкоз/лимфома; В-ОЛЛ/ЛБЛ – острый В-лимфобластный лейкоз/лимфома; ОЛСФ – острый лейкоз со смешанным иммунофенотипом.

Note. T-ALL/LBL – T-cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoma; B-ALL/LBL – B-cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoma; MPAL – mixed phenotype acute leukemia.

индукции, консолидаций II, III, IV, V у больных с полиморфизмами генов *TPMT*, *NUDT15* и без них не различались ($p > 0,05$). Доза 6-МП на II фазе индукции была рассчитана у 47 больных, достигших ПР. У 8 больных в ПР с полиморфизмами генов *TPMT*, *NUDT15* медиана процента от должной дозы 6-МП составила 80 (37–82), у 39 больных в ПР с «диким» типом этих аллельных вариантов – 77 (23–95). Больным, у которых не была достигнута ПР по окончании I фазы индукции, редукцию дозы 6-МП не выполняли, поэтому их не включили в анализ. Статистически достоверных различий в полученных дозах 6-МП у больных с аллельными вариантами генов *TPMT*, *NUDT15* и без них на этапе II фазы индукции не отмечено ($p = 0,47$) (рис. 1).

На этапе консолидации II ($n = 43$) медиана процента от должной дозы 6-МП у 7 больных с полиморфизмами *TPMT*, *NUDT15* составила 100 (65–100), у 36 больных с «диким» типом этих генов – 96 (22–100) ($p > 0,05$). Также не выявлено статистически достоверных различий в полученных дозах 6-МП между анализируемыми группами на этапе консолидации III ($n = 42$): у 7 больных с полиморфизмами *TPMT*, *NUDT15* – 61 (48–96) % и у 35 больных с «диким» типом этих генов – 70 (16–100) % ($p > 0,05$). На этапе консолидации IV ($n = 36$) больные с полиморфизмами генов *TPMT*, *NUDT15* ($n = 6$) получили меньшую дозу 6-МП по сравнению с больными с «диким» типом ($n = 30$) – 71 (45–100) % против 100 (58–100) % соответственно ($p = 0,01$). Процент от должной дозы 6-МП значимо не различался у больных на этапе консолидации V ($n = 35$): у 6 больных с полиморфизмами генов *TPMT*, *NUDT15* – 94 (68–98) %, у 29 больных с «диким» типом – 92 (45–100) % ($p > 0,05$) (рис. 2). Однако ни один больной

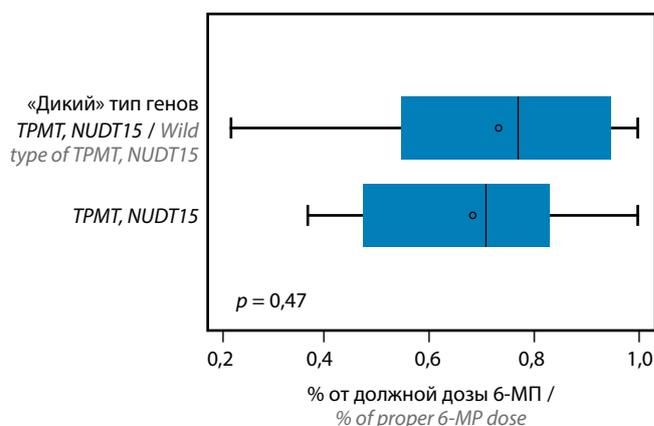


Рис. 1. Доза 6-меркаптопурина (6-МП) у больных на этапе II фазы индукции с полиморфизмами генов *TPMT* и *NUDT15* и «диким» типом этих генов

Fig. 1. Dose of 6-mercaptopurine (6-MP) in patients at II phase of induction with polymorphisms and the wild type of *TPMT* and *NUDT15* genes

с полиморфизмами генов *TPMT*, *NUDT15* на этапах консолидаций III и V не получил 100 % дозу 6-МП.

Достоверных различий в частоте редукции дозы 6-МП в зависимости от показателей лейкоцитов и/или тромбоцитов на разных этапах терапии у больных с полиморфизмами генов *TPMT*, *NUDT15* и без них не получено ($p > 0,05$).

При анализе показателей, связанных с токсическими осложнениями при терапии 6-МП, таких как длительность миелотоксического агранулоцитоза (дни), перерывы в лечении (дни), наличие инфекционных осложнений, необходимость в проведении заместительной гемокомпонентной терапии, гепатотоксичность на разных этапах лечения, достоверных различий между группами больных с полиморфизмами *TPMT*,

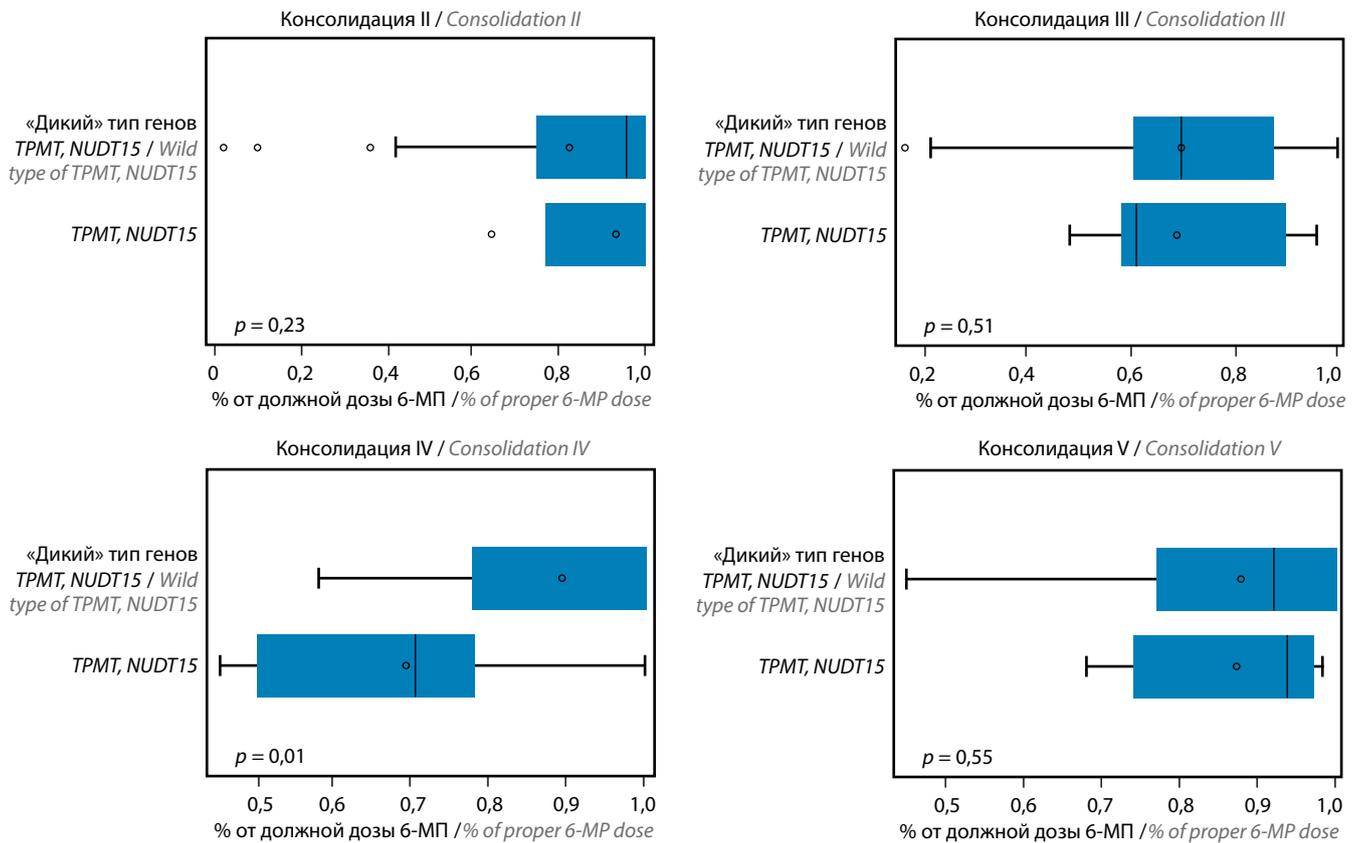


Рис. 2. Процент от должной дозы 6-меркаптопурина (6-МП) у больных с полиморфизмами генов TPMT и NUDT15 и с «диким» типом этих генов на разных этапах терапии

Fig. 2. Percentage of proper 6-mercaptopurine (6-MP) dose in patients with polymorphisms and the wild type of TPMT and NUDT15 genes at different therapy phases

NUDT15, так и с «диким» типом этих генов не получено ($p > 0,05$) (табл. 2). Однако отмечено, что у больных с аллельными вариантами генов TPMT, NUDT15, по сравнению с больными без полиморфизмов, на этапах консолидаций III и V была выше частота миелотоксического агранулоцитоза, инфекционных осложнений, перерывов в лечении, потребности в проведении заместительной гемокомпонентной терапии, гепатотоксичности.

Аллельный вариант TPMT*3A выявлен у 6 (75 %) из 8 больных с полиморфизмами гена TPMT (табл. 3). У всех носителей этого аллельного варианта установлен диагноз В-ОЛЛ: 4 (67 %) из 6 больных в ПР продолжают лечение по протоколу ОЛЛ-2016 при сроке наблюдения 3 года; у 1 (17 %) больного диагностирован рецидив заболевания на фоне поддерживающей терапии; 1 (17 %) больной умер от резистентного течения заболевания. Один больной ОЛСФ с TPMT*3C умер в результате рефрактерности к проводимой терапии. TPMT*2 выявлен у 1 больного Т-ОЛЛ, смерть которого в ПР наступила от тяжелых инфекционных осложнений, развившихся на фоне длительной гранулоцитопении, ассоциированной с приемом 6-МП. NUDT15*3 обнаружен у 2 пациентов с Т-ОЛЛ и у 1 — с В-ОЛЛ. Все больные Т-ОЛЛ в ПР продолжают терапию по протоколу ОЛЛ-2016. У больного В-ОЛЛ диагностирован рецидив заболевания на фоне проводимой терапии.

После достижения ПР ему была выполнена аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток крови, больной находится под наблюдением в течение 3 лет. Таким образом, 6 (55 %) из 11 больных, находящихся в ПР, с полиморфизмами генов TPMT и NUDT15 продолжили лечение по протоколу ОЛЛ-2016. У 2 (18 %) больных на фоне терапии развился рецидив заболевания. Четверо (36 %) из 11 больных умерли.

Не получено достоверных различий в показателях 3-летней общей и безрецидивной выживаемости у больных с полиморфизмами TPMT и NUDT15 и с «диким» типом этих генов — 82 % против 79 % и 60 % против 82 % соответственно ($p > 0,05$) (рис. 3).

Обсуждение

Современные протоколы лечения взрослых больных Rh-негативными ОЛЛ/ЛБЛ основаны на сочетании препаратов с разным механизмом действия. В клинической практике используется несколько подходов: интенсивный (импульсный, педиатрический, классический) и неинтенсивный (ОЛЛ-2016). Практически все химиотерапевтические протоколы, применяемые настоящее время для лечения больных ОЛЛ/ЛБЛ, включают 6-МП [13, 15]. Однако этот препарат используется и для лечения других заболеваний: острых миелоидных лейкозов, воспалительных заболеваний

Таблица 2. Клинико-лабораторные характеристики, частота развития гепатотоксичности, объем заместительной гемоконпонентной терапии у больных Ph-негативными острыми лимфобластными лейкозами/лимфомами с полиморфизмами генов TRMT и NUDT15 и «диким» типом этих генов на разных этапах терапии по протоколу QJLJ-2016

Table 2. Clinical and laboratory characteristics, incidence of hepatotoxicity, volume of replacement blood component therapy in adult patients with Ph-negative acute lymphoblastic leukemia/lymphomas with polymorphisms and the wild type of TRMT and NUDT15 genes at different therapy phases according to the ALL-2016 protocol

Этап Phase	Частота и длительность агранулоцитоза (количество лейкоцитов $< 1 \times 10^9 / \text{л}$) Frequency and duration of agranulocytosis ($\text{WBC} < 1 \times 10^9 / \text{L}$)		Частота инфекционных осложнений Frequency of infectious complications		Частота и длительность перерывов в лечении Frequency and duration of treatment interruptions		Частота гепатотоксичности Frequency of hepatotoxicity		Частота трансфузий компонентов крови Frequency of blood component transfusions	
	TRMT, NUDT15	«Дикий» тип TRMT, NUDT15 wild type	TRMT, NUDT15	«Дикий» тип TRMT, NUDT15 wild type	TRMT, NUDT15	«Дикий» тип TRMT, NUDT15 wild type	TRMT, NUDT15	«Дикий» тип TRMT, NUDT15 wild type	TRMT, NUDT15	«Дикий» тип TRMT, NUDT15 wild type
II фаза индукции (n = 54) II phase of induction (n = 54)	5/10 (50 %) 7 (3–22) дней 7 (3–22) days	27/44 (61 %) 7 (3–22) дней 7 (3–22) days	3/10 (30 %)	18/44 (41 %)	2/10 (20 %) 21 (12–30) день 21 (12–30) days	2/44 (5 %) 12 (12–35) дней 12 (12–35) days	5/10 (50 %)	16/44 (36 %)	6/10 (60 %)	23/44 (52 %)
<i>p</i>	>0,05									
Консолидация II (n = 43) Consolidation II (n = 43)	0/7	2/36 (6 %) 5,5 (4–7) дня 5.5 (4–7) days	1/7 (14 %)	5/36 (14 %)	0/7	2/36 (6 %) 22 (11–33) дня 22 (11–33) days	4/7 (57 %)	16/36 (44 %)	2/7 (28 %)	23/36 (64 %)
<i>p</i>	>0,05									
Консолидация III (n = 42) Consolidation III (n = 42)	5/7 (71 %) 7 (3–9) дней 7 (3–9) days	20/35 (57 %) 7 (7–21) дней 7 (7–21) days	2/7 (28 %)	1/35 (3 %)	1/7 (14 %) 9 дней 9 days	8/35 (23 %) 8 (2–19) дней 8 (2–19) days	4/7 (57 %)	14/35 (40 %)	3/7 (43 %)	9/35 (26 %)
<i>p</i>	>0,05									
Консолидация IV (n = 36) Consolidation IV (n = 36)	1/6 (17 %) 1 день 1 day	1/30 (3 %) 6 дней 6 days	1/6 (17 %)	2/30 (7 %)	1/6 (17 %) 33 дня 33 days	3/30 (10 %) 13 (3–19) дней 13 (3–19) days	4/6 (67 %)	10/30 (33 %)	2/6 (33 %)	3/30 (10 %)
<i>p</i>	>0,05									
Консолидация V (n = 35) Consolidation V (n = 35)	3/6 (50 %) 3 (3–7) дня 3 (3–7) days	3/29 (10 %) 3 (1–3) дня 3 (1–3) days	1/6 (17 %)	2/29 (7 %)	2/6 (33 %) 11 (7–15) дней 11 (7–15) days	1/29 (3 %) 2 дня 2 days	3/6 (50 %)	10/29 (34 %)	1/6 (17 %)	1/29 (3 %)
<i>p</i>	>0,05									

Таблица 3. Исходы заболевания пациентов с Ph-негативными острыми лимфобластными лейкозами с полиморфизмами генов TPMT, NUDT15
Table 3. Outcomes in patients with Ph-negative acute lymphoblastic leukemia and TPMT, NUDT15 genes polymorphisms

Характеристика Characteristic	TPMT*3A (n = 6)			TPMT*3C (n = 1)	TPMT*2 (n = 1)	NUDT15*3 (n = 3)	
	Полная ремиссия Complete remission	Первично-рефрактерное течение Refractory	Рецидив Relapse	Первично-рефрактерное течение Refractory	Полная ремиссия Complete remission	Полная ремиссия Complete remission	Полная ремиссия Complete remission
Диагноз Diagnosis	Острый В-лимфобластный лейкоз (n = 6) B-cell acute lymphoblastic leukemia (n = 6)			Острый лейкоз со смешанным иммунофенотипом (n = 1) Mixed phenotype acute leukemia (n = 1)	Острый Т-лимфобластный лейкоз (n = 1) T-cell acute lymphoblastic leukemia (n = 1)	Острый Т-лимфобластный лейкоз (n = 2) T-cell acute lymphoblastic leukemia (n = 2)	Острый В-лимфобластный лейкоз (n = 1) B-cell acute lymphoblastic leukemia (n = 1)
Результат терапии по протоколу ОЛЛ-2016 Therapy result on ALL-2016 protocol	Полная ремиссия Complete remission	Первично-рефрактерное течение Refractory	Рецидив Relapse	Первично-рефрактерное течение Refractory	Полная ремиссия Complete remission	Полная ремиссия Complete remission	Полная ремиссия Complete remission
n (%)	4 (67)	1 (17)	1 (17)	1 (100)	1 (100)	2 (67)	1 (33)
Медиана количества лейкоцитов (диапазон), × 10 ⁹ /л Median leukocyte count (range), × 10 ⁹ /L	3,49 (1,66–34,39)	25,63	4,01	10,4	18,56	77,4 (6,62–148)	204
Бластные клетки в костном мозге, медиана, % Blast cells in the bone marrow, median, %	78,8 (21,5–82)	82	42	36,4	48,4	90,8 (85,2–96,4)	63
Результат стандартного цитогенетического исследования Standard cytogenetic	Нет митозов – 3 Другие аномалии кариотипа – 1 No mitoses – 3 Other karyotype anomalies – 1	Комплексный кариотип Complex karyotype	Комплексный кариотип Complex karyotype	Другие аномалии кариотипа Other karyotype anomalies	Комплексный кариотип Complex karyotype	Нет митозов – 1 Другие аномалии кариотипа – 1 No mitoses – 1 Other karyotype anomalies – 1	Транслокация t(4;11) (q21;q23) Translocation t(4;11) (q21;q23)
Медиана концентрации лактатдегидрогеназы (диапазон), Ед/л Median lactate dehydrogenase level (range), U/L	862,5 (498–2463)	537,9	501	6838	1001	2381 (1447–3515)	2267
Нейролейкемия Neuroleukemia	Нет No	Нет No	Нет No	Да Yes	Нет No	Нет No	Нет No
Экстрамедуллярные очаги Extramedullary lesions	Нет – 3 Да – 1 No – 3 Yes – 1	Нет No	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes	Да Yes
Статус Status	Наблюдение Follow-up	Смерть Death	Смерть Death	Смерть Death	Смерть Death	Наблюдение Follow-up	Наблюдение после рецидива Follow-up after relapse

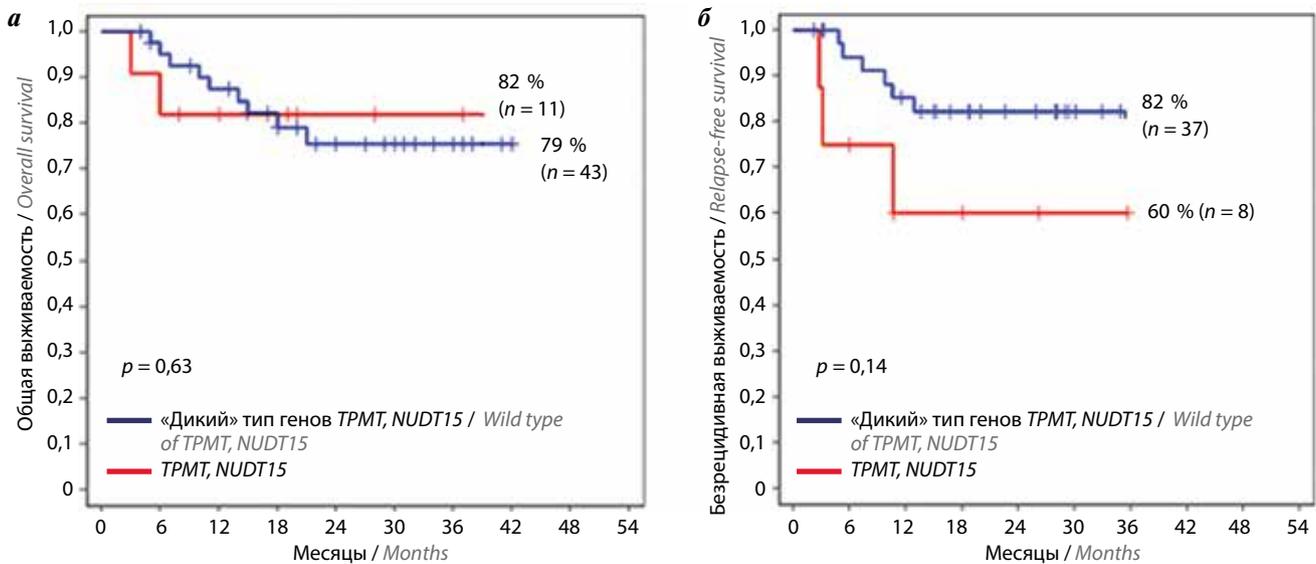


Рис. 3. Общая (а) и безрецидивная (б) выживаемость у больных Ph-негативными острыми лимфобластными лейкозами/лимфомами с полиморфизмами генов *TPMT* и *NUDT15* и «диким» типом этих генов
Fig. 3. Overall (a) and relapse-free (b) survival in adult patients with Ph-negative acute lymphoblastic leukemia/lymphomas with polymorphisms and wild type of *TPMT*, *NUDT15* gene

кишечника (болезни Крона, неспецифического язвенного колита и др.) и ревматологических заболеваний [16]. Различия степени проявлений нежелательных лекарственных реакций (цитопении, гепатотоксичности и др.) и связанных с ними осложнений (инфекционных, геморрагических) у больных определяют необходимость индивидуального терапевтического подхода при назначении 6-МП. Современные достижения в области фармакогенетики значимо расширяют возможности персонализированного подхода к терапии 6-МП. В настоящее время активно изучается метаболизм этого препарата: исследуются полиморфизмы генов, кодирующих энзимы, участвующие в ферментативных реакциях, а также клиническая значимость промежуточных и конечных метаболитов 6-МП (6-метилмеркаптопурин, 6-тиогуаниновые нуклеотиды). Известно о некоторых лекарственных взаимодействиях (комбинации 6-МП и триметоприма, аллопуринола, метотрексата и др.), полиморфизмах генов (например, метилентетрагидрофолатредуктазы), которые могут изменять активность ферментов метаболического каскада и, следовательно, концентрации метаболитов.

В настоящее время доступно определение полиморфизмов генов *TPMT* и *NUDT15*, которые кодируют одноименные ферменты, участвующие в ключевых реакциях метаболизма 6-МП. Частота встречаемости этих полиморфизмов в этнических группах различна [17]. Известно, что при наличии аллельных вариантов этих генов снижается ферментативная активность *TPMT* и *NUDT15* («промежуточные» или «медленные» метаболитаторы) и увеличиваются концентрации 6-тиогуаниновых нуклеотидов [18]. В исследованиях было показано, что у больных с полиморфизмами генов *TPMT* и *NUDT15* концентрации 6-тиогуаниновых нук-

леотидов в эритроцитах значимо выше, чем у больных с «диким» типом [19, 20]. Следовательно, у носителей аллельных вариантов генов *TPMT* и *NUDT15*, получающих стандартную дозу 6-МП, увеличивается вероятность развития цитопении. В литературе представлены неоднозначные данные о связи полиморфизмов генов *TPMT* и *NUDT15* с получением меньшей дозы 6-МП у этих больных. В исследование Х. Мао и соавт. были включены 149 детей с ОЛЛ, у которых определяли полиморфизмы генов *TPMT*, *NUDT15* и *ITPA*. Только у больных с наличием *NUDT15* полученная доза 6-МП была значимо меньше и лейкоцитопении развивались чаще, чем у больных с другими исследуемыми полиморфизмами или носителями «диких» типов ($p < 0,05$) [21]. В другом исследовании, в которое были включены 100 детей с ОЛЛ, достоверных различий в полученной дозе у больных с полиморфизмами гена *TPMT* и «диким» типом не выявлено [22].

При терапии по протоколу ОЛЛ-2016 только на этапе консолидации IV у больных с полиморфизмами генов *TPMT*, *NUDT15* полученная доза 6-МП была меньше, чем у носителей «дикого» типа этих генов ($p < 0,05$). Возможно, определение концентрации метаболитов 6-МП, с которыми связаны его терапевтические (6-тиогуаниновые нуклеотиды) и токсические (6-метилмеркаптопурин) свойства, позволит выделить особые группы риска больных с полиморфизмами генов *TPMT* и *NUDT15*.

Заключение

Представленные результаты исследования не показали значимых различий в полученной дозе 6-МП и частоте токсических осложнений у взрослых больных Ph-негативными ОЛЛ/ЛБЛ с полиморфизмами *TPMT* и *NUDT15* по сравнению с «диким» типом этих генов при

терапии по протоколу ОЛЛ-2016. Возможно, полученные результаты обусловлены небольшой выборкой больных ($n = 54$), невысокой частотой встречаемости полиморфизмов генов *TPMT* и *NUDT15* (20 %), а также тем, что выявленные полиморфизмы представляли собой гетерозиготные варианты. Однако у 1 больного Т-ОЛЛ с *TPMT*2* смерть в ПР наступила в результате тяжелых инфекционных осложнений, развившихся вследствие

длительного периода нейтропении, обусловленной терапией 6-МП. Более полное понимание особенностей метаболизма 6-МП в описанных случаях станет возможным благодаря сопоставлению данных молекулярно-генетического исследования с концентрациями метаболитов (6-тиогуаниновые нуклеотиды, 6-метилмеркаптопурин) у этих больных.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Kato M., Manabe A. Treatment and biology of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Int* 2018;60(1):4–12. DOI: 10.1111/ped.13457
- Moriyama T., Nishii R., Lin T.N. et al. The effects of inherited *NUDT15* polymorphisms on thiopurine active metabolites in Japanese children with acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenet Genomics* 2017;27(6):236–9. DOI: 10.1097/FPC.0000000000000282
- Elion G.B., Hitchings G.H., Vanderwerff H. Antagonists of nucleic acid derivatives. VI. Purines. *J Biol Chem* 1951;192(2):505–18.
- Zgheib N.K., Akika R., Mahfouz R. et al. *NUDT15* and *TPMT* genetic polymorphisms are related to 6-mercaptopurine intolerance in children treated for acute lymphoblastic leukemia at the Children's Cancer Center of Lebanon. *Pediatr Blood Cancer* 2017;64(1):146–50. DOI: 10.1002/pbc.26189
- Nielsen S.N., Grell K., Nersting J. et al. DNA-thioguanine nucleotide concentration and relapse-free survival during maintenance therapy of childhood acute lymphoblastic leukaemia (NOPHO ALL2008): a prospective substudy of a phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2017;18(4):515–24. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30154-7
- Garat A., Cauffiez C., Renault N. et al. Characterisation of novel defective thiopurine S-methyltransferase allelic variants. *Biochem Pharmacol* 2008;76(3):404–15. DOI: 10.1016/j.bcp.2008.05.009
- Yu C.H., Chang Y.H., Wang D.S. et al. Determination of *NUDT15* variants by targeted sequencing can identify compound heterozygosity in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients. *Sci Rep*. 2020;10(1):1–8. DOI: 10.1038/s41598-020-71468-y
- Chiangthong K., Ittiwut C., Muensri S. et al. *NUDT15* c.415C>T increases risk of 6-mercaptopurine induced myelosuppression during maintenance therapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2016;101(1):e24–6. DOI: 10.3324/haematol.2015.134775
- Wang L., Weinsilboum R. Thiopurine S-methyltransferase pharmacogenetics: Insights, challenges and future directions. *Oncogene* 2006;25(11):1629–38. DOI: 10.1038/sj.onc.1209372
- Relling M.V., Schwab M., Whirl-Carrillo M. et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline for thiopurine dosing based on *TPMT* and *NUDT15* genotypes: 2018 update. *Clin Pharmacol Ther* 2019;105(5):1095–105. DOI: 10.1002/cpt.1304
- Чупова Н.В. Генетический полиморфизм тиопуринметилтрансферазы (ТПМТ) у детей с острыми лейкозами, жителей Российской Федерации. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2004. [Chupova N.V. Genetic polymorphism of thiopurine methyltransferase (TPMT) in children with acute leukemia, residents of the Russian Federation. Abstract of dis. ... candidate of medical sciences. Moscow, 2004. (In Russ.)].
- Kotova E.S., Gavrilina O.A., Yakutik I.A. et al. The Role of genetic polymorphisms of *TPMT* and *NUDT15* genes in adult patients with Ph-negative acute lymphoblastic leukemia in Russia. *Blood* 2020;136(Suppl_1):21–2. DOI: 10.1182/blood-2020-141804
- Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. Т. 1. М.: Практика, 2018. С. 571–617, 887–959. [Algorithms for diagnosis and protocols for the treatment of the blood system diseases. Ed.: V.G. Savchenko. Vol. 1. Moscow: Praktika, 2018. Pp. 571–617, 887–959. (In Russ.)].
- Ткаченко П.Е., Ивашкин В.Т., Маевская М.В. Клинические рекомендации по коррекции гепатотоксичности, индуцированной противоопухолевой терапией. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO 2019;3s2(9):595–608. [Tkachenko P.E., Ivashkin V.T., Maevskaya M.V. Clinical guidelines for the correction of hepatotoxicity induced by anticancer therapy. *Zlokachestvennye opukholi: Prakticheskie rekomendatsii RUSSCO = Malignant Tumors: RUSSCO Practical Guidelines* 2019;3s2(9):595–608. (In Russ.)]. DOI: 10.18027 / 2224-5057-2019-9-3s2-595-608
- Gökbuğet N., Hoelzer D., Arnold R. et al. Treatment of adult ALL according to protocols of the German Multicenter Study Group for Adult ALL (GMALL). *Hematol Oncol Clin North Am* 2000;14(6):1307–25. DOI: 10.1016/S0889-8588(05)70188-x
- Mezzina N., Campbell Davies S.E., Ardizzone S. Nonbiological therapeutic management of ulcerative colitis. *Expert Opin Pharmacother* 2018;19(16):1747–57. DOI: 10.1080/14656566.2018.1525361
- Yang J.J., Landier W., Yang W. et al. Inherited *NUDT15* variant is a genetic determinant of mercaptopurine intolerance in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2015;33(11):1235–42. DOI: 10.1200/JCO.2014.59.4671
- Moriyama T., Nishii R., Perez-Andreu V. et al. *NUDT15* polymorphisms alter thiopurine metabolism and hematopoietic toxicity. *Nat Genet* 2016;48(4):367–73. DOI: 10.1038/ng.3508
- Zhou Y., Wang L., Zhai X.Y. et al. Precision therapy of 6-mercaptopurine in Chinese children with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Clin Pharmacol* 2020;86(8):1519–27. DOI: 10.1111/bcp.14258
- Choi R., Sohn I., Kim M.J. et al. Pathway genes and metabolites in thiopurine therapy in Korean children with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Clin Pharmacol* 2019;85(7):1585–97. DOI: 10.1111/bcp.13943
- Mao X., Yin R., Sun G. et al. Effects of *TPMT*, *NUDT15*, and *ITPA* genetic variants on 6-mercaptopurine toxicity for pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia in Yunnan of China. *Front Pediatr* 2021;9(October):1–8. DOI: 10.3389/fped.2021.719803
- Kim H., Kang H.J., Kim H.J. et al. Pharmacogenetic analysis of pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia: a possible association between survival rate and *ITPA* polymorphism. *PLoS One* 2012;7(9):e45558. DOI: 10.1371/journal.pone.0045558

Вклад авторов

Е.С. Котова, О.А. Гаврилина, И.А. Якутик, А.Б. Судариков, С.Г. Бексаев: разработка дизайна исследования, анализ данных, написание текста рукописи;

Ю.А. Чабаева, С.М. Куликов: статистическая обработка полученных данных;

В.В. Троицкая, Г.И. Исинова, А.Н. Соколов, З.Т. Фидарова, И.А. Лукьянова, А.В. Абрамова, В.Н. Двирнык, И.В. Гальцева, Т.Н. Обухова: получение данных для анализа;

Е.Н. Паровичникова: разработка дизайна исследования, написание текста рукописи, финальное одобрение текста рукописи.

Authors' contributions

E.S. Kotova, O.A. Gavrilina, I.A. Yakutik, A.B. Sudarikov, S.G. Beksaev: study design development, data analysis, article writing;

Yu.A. Chabaeva, S.M. Kulikov: statistical analysis;

V.V. Troitskaya, G.A. Isinova, A.N. Sokolov, Z.T. Fidarova, I.A. Lukyanova, A.V. Abramova, V.N. Dvirnyk, I.V. Galtseva, T.N. Obukhova: data collection for analysis;

E.N. Parovichnikova: study design development, article writing, final article approval.

ORCID авторов / ORCID of authors

Е.С. Котова / E.S. Kotova: <https://orcid.org/0000-0002-7968-1923>

О.А. Гаврилина / O.A. Gavrilina: <https://orcid.org/0000-0002-9969-8482>

И.А. Якутик / I.A. Yakutik: <https://orcid.org/0000-0002-5532-1122>

А.Б. Судариков / A.B. Sudarikov: <https://orcid.org/0000-0001-9463-9187>

Ю.А. Чабаева / Yu.A. Chabaeva: <https://orcid.org/0000-0001-8044-598X>

С.М. Куликов / S.M. Kulikov: <https://orcid.org/0000-0002-6288-7570>

С.Г. Бексаев / S.G. Beksaev: <https://orcid.org/0000-0002-5363-6753>

В.В. Троицкая / V.V. Troitskaya: <https://orcid.org/0000-0002-4827-8947>

Г.И. Исинова / G.A. Isinova: <https://orcid.org/0000-0003-2763-5391>

А.Н. Соколов / A.N. Sokolov: <https://orcid.org/0000-0003-1494-7978>

З.Т. Фидарова / Z.T. Fidarova: <https://orcid.org/0000-0003-0934-6094>

И.А. Лукьянова / I.A. Lukyanova: <https://orcid.org/0000-0002-8337-2242>

А.В. Абрамова / A.V. Abramova: <https://orcid.org/0000-0002-8113-6115>

В.Н. Двирнык / V.N. Dvirnyk: <https://orcid.org/0000-0002-9877-0796>

И.В. Гальцева / I.V. Galtseva: <https://orcid.org/0000-0002-8490-6066>

Т.Н. Обухова / T.N. Obukhova: <https://orcid.org/0000-0003-1613-652X>

Е.Н. Паровичникова / E.N. Parovichnikova: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России. Протокол № 121 от 24.04.2017.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia. Protocol No. 121 dated 24.04.2017.

All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 28.02.2022. **Принята к публикации:** 27.05.2022.

Article submitted: 28.02.2022. **Accepted for publication:** 27.05.2022.