

## Мутационный статус резистентных к иматинибу больных хроническим миелолейкозом

Е.Г. Овсянникова<sup>1</sup>, К.Д. Капланов<sup>2</sup>, Т.Ю. Клиточенко<sup>2</sup>, А.В. Мисюрин<sup>3</sup>, И.Л. Давыдкин<sup>4</sup>,  
Л.В. Заклякова<sup>1</sup>, Е.А. Попов<sup>1</sup>, Б.Н. Левитан<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер № 1»;

<sup>3</sup>ООО «ГеноТехнология», Москва;

<sup>4</sup>НИИ гематологии, трансфузиологии и интенсивной терапии ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

**Контакты:** Елена Георгиевна Овсянникова [elenaagta@mail.ru](mailto:elenaagta@mail.ru)

В исследовании проводится анализ мутационного статуса у 36 больных Ph<sup>+</sup> хроническим миелолейкозом (ХМЛ) в хронической стадии с первичной и вторичной резистентностью к терапии иматинибом. Мутации гена BCR-ABL определены методом прямого секвенирования ДНК. В результате исследования мутации киназного домена BCR-ABL были обнаружены у 30,5 % (у 11 из 36) этих больных. Большинство выявленных мутаций относились к миссенс-мутациям: Q252H, M244V, G250E, Y253F/H, E255K/V, T315I, M351T, F359V, F359C, F486S. Показана значительно более низкая бессобытийная 4-летняя выживаемость больных ХМЛ с обнаруженными мутациями гена BCR-ABL по сравнению с больными ХМЛ без мутаций (18 % vs 53 %;  $p = 0,003$ ). Результаты исследования могут быть использованы в качестве справочного материала при принятии решений о тактике лечения резистентных к иматинибу больных ХМЛ с клинически значимыми мутациями гена BCR-ABL.

**Ключевые слова:** хронический миелолейкоз, мутации гена BCR-ABL, резистентность, иматиниб

### Mutation status of refractory to imatinib patients with chronic myeloid leukemia

E.G. Ovsyannikova<sup>1</sup>, K.D. Kaplanov<sup>2</sup>, T.Yu. Klitochenko<sup>2</sup>, A.V. Misyurin<sup>3</sup>, I.L. Davydkin<sup>4</sup>,  
L.V. Zaklyakova<sup>1</sup>, E.A. Popov<sup>1</sup>, B.N. Levitan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Astrakhan State Medical Academy;

<sup>2</sup>Volgograd Regional Clinical Oncological Dispensary № 1;

<sup>3</sup>LLC «GenoTehnologiya», Moscow;

<sup>4</sup>Research Institute of Hematology, Transfusiology and Intensive Care, Samara State Medical University, Ministry of Health of Russia

Mutation status of 36 chronic myeloid leukemia (CML) patients in chronic phase with primary and secondary imatinib resistance was analyzed. BCR-ABL mutations identified by direct DNA sequencing. BCR-ABL kinase domain mutations were detected in 30.5 % (11 of 36) of those patients. Most of identified mutations were missense mutations: Q252H, M244V, G250E, Y253F/H, E255K/V, T315I, M351T, F359V, F359C, F486S. Patients with BCR-ABL mutations have significantly lower 4-year event-free survival compared with CML patients without mutations (18 % vs. 53 %;  $p = 0.003$ ).

The results can be used as reference information in deciding on therapy in imatinib resistant CML patients with clinically relevant BCR-ABL mutations.

**Key words:** chronic myeloid leukemia, BCR-ABL mutations, resistance, imatinib

Таргетная терапия хронического миелолейкоза (ХМЛ) не только значительно улучшила качество жизни, но и позволила увеличить выживаемость больных ХМЛ [1]. В то же время у части больных развивается резистентность к лечению ингибиторами тирозинкиназы (ИТК) BCR-ABL как первого, так и последующих поколений.

В настоящее время широко обсуждается один из аспектов BCR-ABL-зависимого механизма резистентности к иматинибу — мутации гена BCR-ABL [2, 3]. Однако не все из более чем 90 [4, 5] описанных *in vitro* мутаций киназного домена BCR-ABL являются клинически значимыми. Неоднозначной считается и интерпретация данных по степени чувствительности *in vitro* разных мутантных клонов к воздействию иматиниба,

разработанных на основе половинной максимальной ингибирующей концентрации IC<sub>50</sub> (inhibitory concentration 50 %) [6–8]. В связи с этим большое значение имеют данные клинических исследований. Так, результаты исследования GIMEMA показали, что на увеличение частоты возникновения мутаций гена BCR-ABL влияет не только предлеченность больных ХМЛ и стадия заболевания, но и степень резистентности к иматинибу [2, 9].

Определение мутационного статуса у резистентных к терапии иматинибом больных ХМЛ в настоящее время входит в необходимый перечень исследований согласно критериям European Leukemia Net (ELN), опубликованным в 2009 г. [10]. В 2011 г. ELN были разработаны рекомендации по мониторингу мутаций ге-

на *BCR-ABL* [11]. В 2012 г. рабочая группа ESMO (Европейское общество медицинской онкологии) представила новые рекомендации по диагностике, лечению и мониторингу ХМЛ, где также освещены аспекты мутационного мониторинга [12].

В нашей работе анализируются результаты лечения резистентных к иматинибу больных ХМЛ в хронической фазе с выявленными мутациями гена *BCR-ABL*.

### Материалы и методы

В анализ был включен 141 пациент из популяции больных ХМЛ в хронической фазе (Астраханская и Волгоградская области). Исследование мутаций в локусе гена *BCR-ABL* было проведено у 36 резистентных к иматинибу пациентов. Мутации гена *BCR-ABL* определены методом прямого секвенирования ДНК (ООО «ГеноТехнология», Москва).

При сравнении 2 групп больных с мутациями гена *BCR-ABL* и без мутаций по полу, возрасту на момент диагностики ХМЛ, сроку предлеченности, длительности терапии иматинибом статистически значимых различий не обнаружено. Преобладали больные с первичной резистентностью к лечению, как в группе больных ХМЛ с обнаруженными мутациями, так и в группе больных без мутаций (табл. 1).

**Таблица 1.** Сравнительный анализ резистентных к иматинибу больных ХМЛ с мутациями и без мутаций гена *BCR-ABL*

Показатель	Мутации обнаружены, n = 11	Мутаций нет, n = 25	Статистическая значимость
Число мужчин (%)	8 (73)	10 (40)	$\chi^2 = 2,09$ ; $p = 0,15$
Число женщин (%)	3 (23) $\chi^2 = 2,91$ ; $p = 0,08$	15 (60) $\chi^2 = 1,28$ ; $p = 0,25$	
Возраст на момент диагноза, Ме (годы)	47 (39; 61)	55 (45; 62)	$p = 0,6^*$
Предлеченность, Ме (мес)	6,4 (1,7; 46)	2,9 (1,7; 23)	$p = 0,3^{**}$
Длительность терапии иматинибом, Ме (мес)	40 (27; 48)	39 (30; 61)	$p = 0,7^*$
Первичная резистентность, %	73 (8 из 11)	88 (22 из 25)	$\chi^2 = 0,42$ ; $p = 0,5$
Вторичная резистентность, %	23 (3 из 11) $\chi^2 = 2,91$ ; $p = 0,08$	12 (3 из 25) $\chi^2 = 8,73$ ; $p = 0,003$	

**Примечание.** \* – критерий Стьюдента;

\*\* – критерий Манна–Уитни.

В группе из 11 больных ХМЛ, резистентных к лечению иматинибом с обнаруженными мутациями гена *BCR-ABL*, было 8 мужчин и 3 женщины. Медиана возраста составила 47 (39; 61) лет. На момент начала терапии иматинибом все больные находились в хро-

нической фазе ХМЛ. Медиана длительности заболевания от момента установления диагноза до момента проведения мутационного анализа в группе больных ХМЛ с обнаруженными мутациями составила 64 (23; 93) мес – минимум 18 мес, максимум более 8,5 лет. Большинство больных были предлечены, 1 пациент сразу начал лечение иматинибом. По длительности предлеченности больные разделились на 2 равные группы: 1-я группа – пациенты предлечены менее 6 мес, 2-я группа – более 29 мес (до 72 мес – 6 лет). Медиана времени предлеченности (гидроксикарбамид, бусульфид, интерферон (ИФ), химиотерапия (ХТ) с включением цитарабина) ХМЛ до начала терапии иматинибом составила 6,4 (1,7; 46) мес, что сопоставимо с медианой предлеченности общей группы обследованных больных ХМЛ – 4 мес. Медиана длительности терапии иматинибом составила 40 (28; 48) мес. Первичная резистентность к иматинибу констатирована у 73 % (у 8 из 11), вторичная резистентность – у 23 % (у 3 из 11) пациентов.

Статистическая обработка полученных нами данных проводилась с использованием компьютерного пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 и SPSS [13]. При сравнении групп пациентов по категориальным признакам применяли критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса. Для оценки статистической значимости различий в 2 несвязанных группах применялся t-критерий Стьюдента или непараметрический критерий Манна–Уитни. Расчет кумулятивной общей (ОВ), беспрогрессивной (БПВ) и бессобытийной (БСВ) выживаемости проведен по методу Каплана–Майера. Выживаемость рассчитывалась от даты начала терапии иматинибом до даты наступления неблагоприятного события или последнего контакта с пациентом. При оценке ОВ событием являлась смерть больного от любой причины. При оценке БПВ событием являлась прогрессия заболевания (факт трансформации хронической фазы ХМЛ в фазу акселерации или в бластный криз, смерть больного). При расчете БСВ событиями считались: потеря полного гематологического ответа (ПГО), потеря полного цитогенетического ответа (ПЦО), потеря большого молекулярного ответа (БМО), смерть больного. Одномерный анализ на предмет выявления прогностических факторов для ОВ, БПВ, БСВ проводился с использованием логарифмического рангового критерия. Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

В результате исследования мутации киназного домена *BCR-ABL* были обнаружены у 30,5 % (у 11 из 36) больных ХМЛ, резистентных к иматинибу. Большинство выявленных мутаций относились к миссенс-мутациям, приводящим к замене аминокислотных остатков, – Q252H, M244V, G250E, Y253F/H, E255K/V, T315I, M351T, F359V, F359C, F486S. Всего выявлено 12 мутаций (табл. 2).

Таблица 2. Мутации гена *BCR-ABL* у больных ХМЛ, резистентных к лечению иматинибом

№	Код больного	Расположение	Мутация
1.	М.	промежуточная последовательность	T315I
2.	В.	Р-петля	M244V, G250E
3.	Б.		Q252H
4.	О.		M244V
5.	П.		E255K/V
6.	С.		Y253H
7.	Т.		G250E
8.	Св.	каталитический домен	F359V
9.	И.		F359C
10.	Ка.	А-петля	F486S
11.	К.		del 1086-1157 (делеция 72 нуклеотидов 7-го экзона ABL гена <i>BCR/ABL</i> в положении 1086-1157, соответствующей мРНК)

Как представлено в табл. 2, 58 % (7 из 12) мутаций, выявленных в нашем исследовании, расположены на участке гена *BCR-ABL*, кодирующем Р-петлю. По данным S. Branford et al. мутации в локусе гена *BCR-ABL*, ответственном за кодировку Р-петли, являются причиной высокой степени резистентности к иматинибу у пациентов с ХМЛ [14]. Основанием для этого является то, что в Р-петле располагается «цель» иматиниба – АТФ-связывающий карман. Как следствие данных мутаций, происходит нарушение связывания иматиниба с белком – *BCR-ABL* тирозинкиназой. У 2 (17 %) больных выявлены мутации в зоне каталитического домена. Мутации в данной зоне приводят к чрезмерно высокой тирозинкиназной активности, так как каталитический домен участвует во взаимодействии с белками-регуляторами и передаче внутриклеточных сигналов. Мутации гена *BCR-ABL* на участке, кодирующем А-петлю, выявлены у 17 % (у 2 из 12) больных. Регион А-петли (активационный домен) – участок тирозинкиназы, который закрывает каталитический центр при сохранении неактивной конформации *BCR-ABL* [15]. Мутации в регионе А-петли, так же как и Р-петли, могут изменить конфигурацию петлевой структуры и перевести белок в активную конформацию. Это приводит к снижению эффективности иматиниба, так как иматиниб взаимодействует только с неактивной формой *BCR-ABL*-киназы.

Благодаря исследованиям *in vitro* доказана различная степень чувствительности измененного под влия-

нием мутаций гена *BCR-ABL* к воздействию иматиниба и других ИТК. Однако «прямой» перенос данных из исследований, проведенных *in vitro*, в клиническую практику не всегда возможен. Мутацией, неопровержимо подтвердившей в клинической практике данные о чрезвычайно высокой резистентности к воздействию ИТК, полученные *in vitro*, остается мутация T315I [16, 17]. Выявление мутации T315I является абсолютным противопоказанием к терапии иматинибом и ИТК 2-го поколения. В нашем исследовании мутация T315I зарегистрирована у 1 больного из 12 (8 %).

Обнаруженные нами мутации относятся к семи наиболее часто встречающимся мутациям гена *BCR-ABL*: M244V, G250E, Y253F/H, E255K/V, T315I, M351T, F359V. В работе S. Soverini et al. показано, что именно эти мутации составляют 85 % всех ассоциированных с резистентностью к иматинибу мутаций [2]. Из 12 выявленных нами мутаций к данной группе относятся 9, что составляет 75 %.

Был проведен анализ ОВ, БПВ и БСВ больных с обнаруженными мутациями гена *BCR-ABL* и без мутаций. Общая 5-летняя выживаемость больных ХМЛ с обнаруженными мутациями гена *BCR-ABL* (1-я группа) равна 67 %. Умерло 27 % (3 из 11) больных. В группе больных ХМЛ без мутаций гена *BCR-ABL* (2-я группа) общая 5-летняя выживаемость составила 94 %. Умерло 4 % (1 из 25) больных. Различия между группами статистически значимы,  $p = 0,05$  (рис. 1).

Анализ кривых БПВ показал, что 5-летняя БПВ больных ХМЛ с обнаруженными мутациями гена *BCR-ABL* (1-я группа) составляет 45 %. Прогрессия заболевания констатирована у 36 % (у 4 из 11) больных. В группе больных ХМЛ без мутаций гена *BCR-ABL* (2-я группа) заболевание прогрессировало у 1 из 25 больных (4 %). Пятилетняя выживаемость равна 94 %.

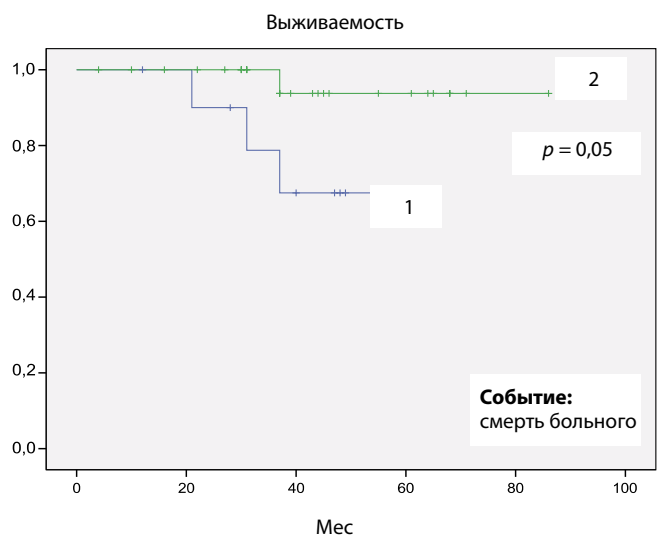


Рис. 1. ОВ в зависимости от мутационного статуса (1 – мутации обнаружены, 2 – нет мутаций)

Различия между группами статистически значимы,  $p = 0,02$  (рис. 2).

Четырехлетняя БСВ больных ХМЛ с обнаруженными мутациями гена *BCR-ABL* (1-я группа) равна 18 %. Событие зарегистрировано у 9 из 11 больных (82 %). Медиана выживаемости – 15 (4; 26) мес. В группе больных ХМЛ без мутаций гена *BCR-ABL* (2-я группа) 4-летняя БСВ составила 53 %. События зафиксированы у 9 из 25 больных (36 %). Медиана выживаемости – 58 (28; 88) мес. Различия между группами статистически значимы,  $p = 0,003$  (рис. 3).

Анализ выживаемости в зависимости от мутационного статуса показал, что 5-летние ОВ и БПВ, 4-летняя БСВ достоверно ниже у больных ХМЛ с наличием мутаций гена *BCR-ABL*. Таким образом, в нашем исследовании наличие мутаций гена *BCR-ABL* является прогностически неблагоприятным фактором отдаленной выживаемости при ХМЛ.

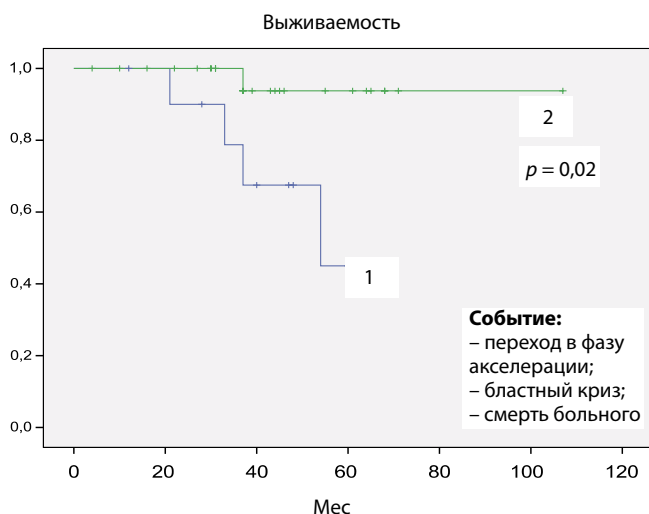


Рис. 2. БПВ в зависимости от мутационного статуса (1 – мутации обнаружены, 2 – нет мутаций)

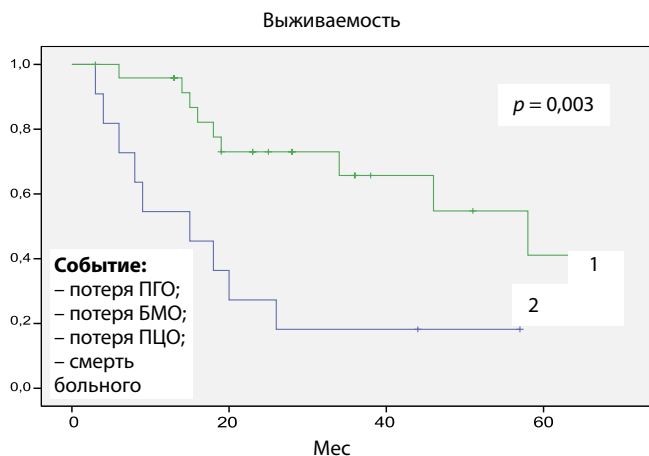


Рис. 3. БСВ в зависимости от мутационного статуса (1 – мутации обнаружены, 2 – нет мутаций)

Наши данные созвучны с результатами исследования A. Quintas-Cardama et al., в котором показано, что 4-летняя БСВ пациентов в хронической фазе ХМЛ, не имеющих мутаций, с одной мутацией гена *BCR-ABL* или более составила 56 %, 49 % и 0 % соответственно ( $p = 0,02$ ); ОВ – 91 %, 69 % и 75 % соответственно ( $p = 0,13$ ) [18].

В табл. 3 представлены сводные данные о течении заболевания у больных ХМЛ с выявленными мутациями на фоне коррекции терапии.

Таблица составлена таким образом, что первыми представлены больные, имеющие мутации гена *BCR-ABL*, которые, по данным исследования *in vitro*, способствуют высокой резистентности к терапии иматинибом, т. е. мутантный клон не чувствителен к лечению. Графы, содержащие данные о таких больных, окрашены в красный цвет (по аналогии с таблицами половинной максимальной ингибирующей концентрации  $IC_{50}$  ИТК). Графы пациентов с мутациями, умеренно снижающими чувствительность к иматинибу в тестах *in vitro*, окрашены в желтый цвет. Мутаций, характеризующих высокую чувствительность к иматинибу, в нашем исследовании не было. Под обозначением мутаций указано значение  $IC_{50}$  иматиниба [6, 7].

Как представлено в табл. 3, мутация Т315I обнаружена у 1 больного ХМЛ (код пациента – М.). Больной был предлечен гидреа, цитарабином в течение 31 мес, иматиниб получал в нарастающей дозе до 800 мг. Зарегистрирована первичная резистентность к лечению иматинибом. В связи с отсутствием ЦО в течение 47 мес лечения, проведено исследование мутационного статуса и назначен нилотиниб. Учитывая имеющиеся на сегодняшний день данные о том, что присутствие мутации Т315I влечет за собой полное отсутствие чувствительности как к иматинибу, так и к ИТК 2-го поколения, по получении результата мутационного анализа нилотиниб был отменен, больной переведен на терапию гидроксикарбамидом. На терапии гидроксикарбамидом получен малЦО. Больному рекомендовано проведение трансплантации костного мозга. Определение мутационного статуса для данного пациента было крайне важным, так как продолжение назначенной терапии нилотинибом (после неэффективности иматиниба) в присутствии мутации Т315I могло бы привести к появлению дополнительных мутаций, быстрой прогрессии заболевания.

Мутация Y253H выявлена у 1 больного (код пациента – С.). Данная мутация относится к мутациям, способствующим развитию полного отсутствия чувствительности к лечению иматинибом. По результатам исследований *in vitro* мутация Y253H приводит к увеличению  $IC_{50}$  в пролиферативном тесте (более чем в 30 раз) и в биохимическом тесте на фосфорилирующую активность (в 18 раз) [6, 19].

Иматиниб данному больному был назначен через 1 мес от даты диагноза (предлеченность – ИФ, гидреа).

Таблица 3. Клинический анализ группы больных ХМЛ с мутациями гена *BCR-ABL*

Код больного	Мутация, IC <sub>50</sub> , нМ	Срок предлеченности, мес	Предлеченность	Срок лечения иматинибом до даты анализа, мес	Иматиниб		ЦО	БМО	Резистентность	Смена терапии после мутационного анализа, срок (мес)	Исход
					доза	срок, мес					
<b>М.</b>	T315I > 6400	31	гидреа, ХТ	47	400 600 800 нилотиниб	32 6 9 1	нет	нет	первичная	гидреа, 23	малЦО
<b>С.</b>	Y253H > 6400	1	ИФ, гидреа	28	400 600 800	14 8 9	мин-ЦО, потеря ГО	нет	первичная	гидреа, 2	умер
<b>П.</b>	E255K 5200/V > 6400	6	ИФ, гидреа, ХТ	37	400 600 800	9 6 22	нет	нет	первичная	ИФ, 16 ХТ, 16 гидреа, 16	умер
<b>Б.</b>	Q252H 1325	29	гидреа, ХТ ИФ	16	400 600 800	7 29 11	нет	нет	первичная	нилотиниб, 2 ХТ, 1	умер
<b>О.</b>	M244V 2000	72	гидреа, ИФ, миелосан	33	400 600 800	23 10 6	нет малЦО	нет	первичная	нилотиниб, 5	минЦО потеря ГО
										иматиниб, 6	нет ЦО, бластный криз
										гидреа, 16	нет ЦО
<b>Т.</b>	G250E 1350	2	гидреа	12	400 600	9 3	малЦО	нет	первичная	нилотиниб, 3	потеря ЦО
										дазатиниб, 11	ЧЦО ПГО
<b>В.</b>	M244V 2000 G250E 1350	70	гидреа, ХТ, миелосан	31	400 600 800	22 26 25	нет минЦО	нет	первичная	—	минЦО
<b>Св.</b>	F359V 1825	2	гидреа	23	400 600	13 19	ПЦО, потеря ПЦО	нет	вторичная	—	ЧЦО
<b>И.</b>	F359C 1825	46	гидреа	47	400 600 800	13 16 25	ЧЦО	нет	первичная	—	ЧЦО
<b>Ка.</b>	F486S 8, 10	5	гидреа	61	400 600 800	26 24 11	ПЦО ЧЦО	ПМО, потеря ПМО	вторичная	дазатиниб, 6	ПЦО БМО
<b>К.</b>	del 1086-1157	4	гидреа	18	400 600	18 29	потеря ПЦО, ПЦО	потеря ПМО, БМО	вторичная	—	ПЦО БМО

**Примечание.** ЦО – цитогенетический ответ; ГО – гематологический ответ; ПМО – полный молекулярный ответ; ЧЦО – частичный цитогенетический ответ; малЦО – малый цитогенетический ответ; минЦО – минимальный цитогенетический ответ.

В процессе лечения констатирована первичная резистентность к иматинибу. На дозе 600 мг к 22 месяцам терапии иматинибом достигнут минЦО, доза иматиниба увеличена до 800 мг. Однако заболевание быстро прогрессировало, был потерян ГО. После выявления мутации Y253H терапия иматинибом прекращена, назначено лечение гидроксикарбамидом. С учетом данных исследований о снижении чувствительности к лечению nilотинибом у больных с мутацией Y253H [8, 11, 12] больному планировалось лечение дазатини-

бом. Через 2 мес лечения гидреа развился бластный криз, больной умер.

У 1 больного (код пациента – П.) выявлена мутация E255K/V. Пациент в течение 6 мес был предлечен гидреа, ИФ, ХТ (цитарабин). Иматиниб в нарастающей дозировке до 800 мг получал в течение 37 мес. ЦО не достигнут, констатирована первичная резистентность к иматинибу. Определение мутационного статуса выявило наличие мутации E255K/V, которая вызывает высокую степень резистентности к иматинибу.

Иматиниб отменен, больной получал ИФ-терапию – 16 мес, ХТ – 16 мес, гидроксикарбамид – 16 мес без эффекта. Развилась прогрессия ХМЛ, больной умер.

По результатам исследований клетки с мутацией E255K/V имеют чувствительность к дазатинибу [12].

У 1 пациента была выявлена мутация Q252H (код больного – Б.). Предлеженность гидреа, ИФ, ХТ (цитарабин) составила 29 мес. У больного была зарегистрирована первичная резистентность к ХТ. Мутационный анализ указал на присутствие мутации Q252H. Так как эта мутация относится к мутациям с промежуточной или умеренной чувствительностью к иматинибу [6, 7], была проведена эскалация дозы иматиниба до 800 мг. Повышение дозы иматиниба не привело к улучшению результатов лечения. Исходя из исследования IC<sub>50</sub> нилотиниба и дазатиниба, оба препарата обладают умеренным воздействием на клон *BCR-ABL*, измененный под влиянием мутации Q252H. Менее чувствителен к данной мутации дазатиниб [8]. Больному был назначен нилотиниб, однако заболевание прогрессировало, пациент умер.

Пациент с обнаруженной мутацией M244V (код больного – О.) имел длительный срок предлеженности – 72 мес (6 лет) гидреа, ИФ, миелосаном. У больного была констатирована первичная резистентность к терапии иматинибом. Через 33 мес лечения иматинибом при проведении мутационного анализа была выявлена мутация M244V.

Мутация M244V обладает промежуточной чувствительностью к иматинибу. Мнения исследователей в отношении данной мутации несколько разнятся. Увеличение дозы иматиниба может привести к улучшению результатов лечения – указывают A. Corbin et al. [20], T. O'Hare et al. [6] рекомендуют раннее использование ИТК 2-го поколения. В данном клиническом случае было проведено увеличение дозы иматиниба до 800 мг. Корректировка терапии привела к достижению только малЦО. Так как клетки с мутацией M244V имеют равную чувствительность к нилотинибу и дазатинибу, больному был назначен нилотиниб. На фоне терапии нилотинибом в течение 5 мес пациент потерял ЦО и ГО. В связи с отсутствием возможности назначить другой ИТК возобновлено лечение иматинибом, однако заболевание прогрессировало до бластного криза. Иматиниб был отменен, больной переведен на терапию гидроксикарбамидом, получает ее в течение 16 мес, прогрессия заболевания приостановлена, однако ЦО более не достигнут.

У 1 пациента обнаружена мутация G250E (код больного – Т.). Срок предлеженности у данного больного 2 мес с использованием гидреа. Через 12 мес терапии иматинибом в увеличенной дозе 600 мг у больного констатирована первичная резистентность к иматинибу, был достигнут малЦО.

Клетки, измененные под воздействием мутации G250E, характеризуются, по данным различных исследований, от промежуточного до высокого уровня

снижения чувствительности к иматинибу [6, 20] и в равной степени чувствительны к ИТК 2-го поколения. Больному был назначен нилотиниб. Через 3 мес терапии нилотинибом констатирована потеря ЦО и больной переведен на дазатиниб. На терапии дазатинибом получен кратковременный ЧЦО, в то же время произошло снижение уровня транскрипта *BCR-ABL* почти в 2 раза, с 15 до 8 %, сохраняется ПГО.

**Сочетание мутаций M244V и G250E** было обнаружено у 1 больного (код пациента – В.). Пациент имел большой срок предлеженности – 70 мес (более 5 лет) миелосаном, гидреа, ХТ. Получал иматиниб в дозе 400 мг, а затем 600 мг. Констатирована первичная резистентность к иматинибу. До момента проведения мутационного анализа срок терапии составил 31 мес. Учитывая возраст больного на момент определения мутационного статуса (73 года), выраженную сопутствующую патологию и имеющиеся литературные данные о чувствительности клеток, измененных под влиянием мутации M244V и G250E, коррекция терапии проведена путем эскалации дозы иматиниба до 800 мг. На этом фоне был достигнут минЦО.

**Мутация F359V** обнаружена у 1 больного (код пациента – Св.). Лечение иматинибом начато после 2 мес терапией гидреа. Достигнутый в срок 9 мес терапии ПЦО был утрачен. Констатирована вторичная резистентность к иматинибу, доза увеличена до 600 мг. При проведении мутационного исследования выявлена мутация F359V. При продолжении терапии иматинибом в той же дозе 600 мг у пациента был достигнут ЧЦО. По данным исследований, в том числе клинических, при выявлении мутации F359V предпочтительнее назначение дазатиниба [8, 11, 12].

В 1 случае выявлена мутация F359C (код больного – И.). Предлеженность гидреа у данного пациента составляла 46 мес. Зарегистрирована вторичная резистентность к терапии иматинибом. На дозе 600 мг более чем через 18 мес от начала лечения был достигнут ЧЦО. Повышение дозы иматиниба до 800 мг не привело к улучшению ЦО. Исследование мутационного статуса проведено через 47 мес от начала терапии иматинибом, выявлена мутация F359C. Данная мутация из группы F359V/C/I относится к числу клинически подтвержденных мутаций, снижающих чувствительность к нилотинибу. Больной продолжает получать иматиниб в дозе 800 мг, сохраняется ЧЦО. В данном случае показано назначение дазатиниба [8, 11, 12].

У 1 больного обнаружена мутация F486S (код пациента – Ка.). Больной был предлежен гидреа в течение 5 мес. На дозе 600 мг иматиниба произошла потеря ПМО, затем ПЦО, у больного констатирована вторичная резистентность к иматинибу. Доза иматиниба увеличена до 800 мг. При проведении мутационного анализа обнаружена мутация F486S, обладающая способностью умеренно снижать чувствительность измененного клона *BCR-ABL* к терапии иматинибом. Чувствительность данной мутации *in vitro* к ИТК 2-го

поколения почти равноценна [6, 7]. По данным отдельных исследований *in vitro*, более эффективен при данной мутации нилотиниб [21]. Больному был назначен дазатиниб, достигнуты ПЦО и БМО.

У 1 больного обнаружена мутация в А-петле, **del 1086-1157** — делеция 72 нуклеотидов 7-го экзона ABL гена *BCR/ABL* в положении 1086-1157, соответствующей мРНК (код пациента — К.). Больной был предлежен гидреа в течение 4 мес. Достигнутые на дозе 400 мг иматиниба ПЦО и ПМО были утрачены, констатирована вторичная резистентность. Доза иматиниба увеличена до 600 мг. Оценка мутационного статуса проведена через 18 мес от начала терапии иматинибом, обнаружена **del 1086-1157**. Больной продолжил лечение иматинибом в дозе 600 мг, достигнуты ПЦО и БМО. В литературе клинических случаев с описанием этой мутации нами не обнаружено.

### Заключение

Резюмируя анализ ответа на терапию иматинибом у резистентных больных ХМЛ в хронической фазе заболевания, имеющих мутации гена *BCR-ABL*, и результаты коррекции терапии в нашем исследовании, а также используя литературные данные и исследования *in vitro*, можно сделать следующие выводы:

1. Наличие мутаций гена *BCR-ABL* является прогностически неблагоприятным фактором отдаленной выживаемости при ХМЛ.

2. Исследование мутационного статуса показано всем больным ХМЛ в хронической фазе заболевания с наличием первичной и вторичной резистентности к лечению иматинибом. Коррекция лечения без учета мутационного статуса может привести к возникновению новых мутаций, назначению неэффективной терапии и прогрессии заболевания.

3. Обнаружение мутации **T315I** является прямым противопоказанием к назначению ИТК и показанием к трансплантации костного мозга, альтернативным методам лечения.

4. Обнаружение мутации **Y253H** требует прекращения терапии иматинибом и назначения дазатиниба.

5. При обнаружении мутации **E255K/V** терапию иматинибом прекратить, необходимо назначение ИТК 2-го поколения, по данным исследований, предпочтительнее дазатиниба.

6. При наличии мутаций **F359V/C** рекомендован перевод больных на ИТК 2-го поколения, с учетом исследований, предпочтительнее на дазатиниб.

7. При выявлении мутации **Q252H** лечение иматинибом необходимо прекратить, показано назначение ИТК 2-го поколения, по данным отдельных исследований, предпочтительнее нилотиниба (в нашем наблюдении нилотиниб был неэффективен).

8. При наличии мутации **M244V** иматиниб рекомендуется отменить, назначить ИТК 2-го поколения, с учетом исследований *in vitro*, предпочтительнее дазатиниб.

9. Выявление мутации **G250E** требует отмены иматиниба и назначения ИТК 2-го поколения, по данным исследований, предпочтительнее дазатиниба.

10. При обнаружении мутации **F486S** требуется отмена иматиниба и перевод больного на ИТК 2-го поколения, по данным отдельных исследований *in vitro*, большая чувствительность к нилотинибу (в нашем исследовании наблюдался положительный эффект от дазатиниба).

11. В исследовании мы наблюдали пациента с вторичной резистентностью к иматинибу с **del 1086-1157**. Эффективным было увеличение дозы иматиниба до 600 мг.

12. При обнаружении мутаций у больных старше 70 лет смену терапии необходимо проводить после оценки степени тяжести сопутствующей патологии. В нашем исследовании при наличии сочетания мутаций **M244V** и **G250E** у пациентки 73-летнего возраста эффект достигнут эскалацией дозы иматиниба.

Результаты исследования могут быть использованы в качестве сравнительного материала при принятии решений о дальнейшей тактике лечения резистентных к иматинибу больных ХМЛ с клинически значимыми мутациями гена *BCR-ABL*.

*Статья подготовлена при информационной поддержке компании «Бристол-Майерс Сквибб»*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Deininger M., O'Brien S.G., Guilhot F. et al. International randomized study of interferon vs ST1571 (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;114:1126 (abstr.).  
2. Soverini S., Colarossi S., Gnani A. et al. Contribution of ABL kinase domain mutations to imatinib resistance in different subsets of Philadelphia-positive patients:

by the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res* 2006;12(24):7374–9.  
3. 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;20(6):1061–6.  
4. Branford S. Chronic myeloid leukemia: molecular monitoring in clinical practice.

*Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2007:376–83.  
5. Apperley J.F. Part I: Mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncol* 2007;8:1018–29.  
6. O'Hare T., Eide C.A., Deininger M.W. BCR-ABL kinase domain mutations, drug resistance, and the road to a cure for chronic myeloid leukemia. *Blood* 2007;110:2242–9.  
7. 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; 27:469–71.
8. Soverini S., Rosti G., Iacobucci I. et al. Choosing the best second-line tyrosine kinase inhibitor in imatinib-resistant chronic myeloid leukemia patients harboring Bcr-Abl kinase domain mutations: how reliable is the IC<sub>50</sub>? *The Oncologist* 2011; 16:868–76.
9. Soverini S., Vitale A., Poerio A. et al. Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia patients already harbor BCR-ABL kinase domain mutations at low levels at the time of diagnosis. *Haematologica* 2011 Apr;96(4):552–7.
10. 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;27(35):6041–51.
11. Soverini S., Hochhaus A., Nicolini F.E. et al. *BCR-ABL* kinase domain mutation analysis in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: recommendations from an expert panel on behalf of European LeukemiaNet. *Blood* 2011;18(5):1208–15.
12. Baccarani M., Pileri S., Steegmann J.-L. et al. Chronic myeloid leukemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 23 (Supplement 7):vii72–vii77, 2012.
13. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2002. 312 с.
14. 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;102:276–83.
15. Чельшева Е.Ю., Шухов О.А., Лазарева О.В. др. Мутации киназного домена *BCR-ABL* при хроническом миелолейкозе. [www.genetechnology.ru](http://www.genetechnology.ru)
16. Миннихметов И.Р., Исламгулов Д.В., Рябчикова Н.Р. и др. Анализ мутации Т315I в гене *BCR-ABL1* у больных хроническим миелолейкозом из Республики Башкортостан. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*, 2011. Т. 13, № 5(3). С. 263–267.
17. Ломаиа Е.Г., Романова Е.Г., Горюнова Е.Н. и др. Длительное течение заболевания у больного хроническим миелолейкозом с мутацией Т315I гена *BCR-ABL*. Клиническое наблюдение и обзор литературы. *Клин онкогематол* 2010;3(4):375–9.
18. Quintas-Cardama A., Ravandi F., Verstovsek S. et al. Outcome of patients with chronic myeloid leukemia with multiple ABL1 kinase domain mutations receiving tyrosine kinase inhibitor therapy. *Haematologica* 2011;96(6):918–24.
19. Куцев С.И., Вельченко М.В. Значение анализа мутаций гена *BCR-ABL* в оптимизации таргетной терапии хронического миелолейкоза. *Клин онкогематол* 2008;1(3):190–9.
20. Corbin A., La Rose P., Stoffregen E. et al. Several *BCR-ABL* kinase domain mutants associated with imatinib mesylate resistance remain sensitive to imatinib. *Blood* 2003;101(11):4611–4.
21. Redaelli S., Mologni L., Rostagno R. et al. Three novel patient-derived *BCR-ABL* mutants show different sensitivity to second and third generation tyrosine kinase inhibitors. *Am J Hematol* 2012;87(11):E125–8.