

## Оценка нежелательных лекарственных реакций таргетной терапии у пациентов с хроническим миелолейкозом

М.И. Савельева<sup>1,4</sup>, О.С. Самойлова<sup>2</sup>, И.Н. Самарина<sup>3</sup>, Н.Е. Кашеева<sup>2</sup>, Н.Н. Еременко<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Поликлиника № 3» УД Президента РФ, <sup>2</sup>НОКБ им. Семашко, Нижний Новгород,

<sup>3</sup>МУЗ «БСМП», Дзержинск, <sup>4</sup>ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

На основании обследования 93 пациентов обоего пола в возрасте от 23 до 80 лет с установленным диагнозом хронического миелоидного лейкоза сделан вывод о необходимости проведения мониторинга соматического состояния пациентов, получающих терапию иматинибом в стандартной дозе, с целью оценки гематологической и негематологической токсичности для своевременной коррекции нежелательных явлений. Наряду с оценкой гематологической и негематологической токсичности проводилась оценка ответа на терапию иматинибом у всех пациентов, участвующих в исследовании, а именно цитогенетический анализ костного мозга, а у пациентов, достигших полного цитогенетического ответа, молекулярно-биологические исследования (в соответствии с критериями ELN 2006\2009). Рекомендуемое регулярное клиническое мониторирование должно включать тщательный клинический осмотр пациента, развернутый анализ периферической крови, контроль массы тела и клиническую оценку сердечной и легочной симптоматики (для своевременного выявления задержки жидкости), выявление кожных реакций и быстрое начало симптоматической терапии (антигистаминные препараты), проведение регулярного контроля функции печени (трансаминазы, билирубин, щелочная фосфатаза).

**Ключевые слова:** хронический миелоидный лейкоз, мониторинг, гематологическая и негематологическая токсичность, иматиниб.

As it is clear from the article the monitoring of somatic status of CML patients with standard dose of imatinib treatment is essential to estimate hematological and nonhematological toxicity to provide well timed adverse events correction.

**Key words:** CML, monitoring, hematological and nonhematological toxicity, imatinib.

Лечение хронического миелолейкоза (ХМЛ) направлено на контроль избыточной пролиферации миелоидных клеток, приводящий к замедлению или предупреждению прогрессии ХМЛ и «излечению» заболевания. Направленная лекарственная терапия представляет собой новую и наиболее эффективную форму лечения, направленную конкретно на подавление причины ХМЛ, а именно BCR-ABL-тирозинкиназы. Первым таргетным препаратом против VcrAbl, одобренным для лечения ХМЛ, стал иматиниба мезилат (Гливек®).

Клинические исследования показали, что иматиниб (Гливек®) обладает хорошей переносимостью, приемлемым соотношением ожидаемой пользы и потенциально-го риска у пациентов во всех стадиях ХМЛ, а также низким риском серьезных нежелательных явлений. Частота и тяжесть нежелательных явлений зависят от дозы препарата и фазы ХМЛ.

В пятилетнем исследовании IRIS переносимость иматиниба была продемонстрирована у ряда больных, прекративших лечение иматинибом в качестве терапии первой линии за счет побочных эффектов, отсутствия эффективности, прогрессировании болезни и других причин [8].

В исследовании START переносимость иматиниба определялась у больных с хронической фазой ХМЛ как: негематологическая токсичность 3-й степени и более выраженная, или гематологическая токсичность 4-й степени продолжительностью более 7 дней, или же любая негематологическая токсичность 2-й степени продолжительностью более 39 дней [6-8]. У больных при ФА/БК/ЛБ-ХМЛ в том же исследовании START

непереносимость иматиниба определялась как состояние, требующее снижения дозы иматиниба менее 400 мг/день или прекращения применения иматиниба в связи с его токсичностью [1, 2]. Побочные эффекты, связанные с иматинибом, являются в основном легкими или умеренными (1-я и 2-я степень) [3, 4, 8]. Обычные побочные эффекты включают задержку жидкости в организме, миелосупрессию, тошноту, рвоту, чувство усталости, судороги, головные боли, боли в суставах, сыпь и повышение активности ферментов аланин- и аспартаттрансаминазы [3, 4, 8], причем кумулятивная негематологическая токсичность 3–4-й степени отмечалась у 41% больных в хронической фазе заболевания [3]. Миелосупрессия 3–4-й степени отмечается чаще у больных ХМЛ на более поздних стадиях [3]. Нежелательные явления были причиной отмены препарата у 1–2% пациентов с впервые диагностированным ХМЛ и в большинстве случаев были предсказуемы. Своевременная сопутствующая терапия позволяет купировать нежелательные явления, связанные с терапией Гливеком.

Целью исследования было повышение безопасности лечения ингибитором тирозинкиназы — иматинибом пациентов с ХМЛ в хронической фазе.

### Материалы и методы

Исследование было проведено на базе НОКБ им. Семашко (Нижний Новгород) и на базе МУЗ «БСМП» (Дзержинск) с 2006 по 2010 г. Проведение настоящего исследования одобрено Локальными этическими комитетами, все пациенты были информированы о проведении

исследования и выразили свое согласие в письменной форме.

Под наблюдением находились 93 пациента, из них 38 (40,86%) мужчин и 55 (59,14%) женщин в возрасте от 23 до 80 лет (медиана возраста – 52,43 года) с установленным диагнозом ХМЛ (С 92,1 по МКБ-10), проживающие в Нижегородской области. Диагноз ХМЛ верифицирован цитогенетическим исследованием костного мозга (обнаружением Ph-хромосомы как минимум в 20 метафазах) у 100% пациентов и у ряда пациентов подтвержден выявлением при молекулярно-биологическом исследовании крови патологического транскрипта bcr-abl. Длительность заболевания ХМЛ у исследуемых пациентов составляла от 12 до 189 мес (15 лет). Средняя длительность заболевания на момент исследования составляла 63,93 мес. От момента установления диагноза до назначения иматиниба прошло у разных пациентов от 0 мес (препарат назначен сразу же после верификации диагноза) до 121 мес. Медиана времени от установления диагноза до начала терапии иматинибом – 15,35 мес. 78 пациентов (83,87%) до начала терапии иматинибом получали другие химиопрепараты – миелосан, гидроксикарбамид, интерфероны, химиотерапию (малые дозы цитозара, протокол «7+3»: цитозар + рубомицин). 15 человек (16,13%) не получали никакого химиотерапевтического лечения до терапии иматинибом.

Всем пациентам, участвующим в исследовании, проводили цитогенетический анализ костного мозга, а пациентам, достигшим полного цитогенетического ответа (ПЦО), молекулярно-биологические исследования (в соответствии с критериями ELN 2006). Исследования проводили в ГБУЗ НО «НОКБ им. Н. А. Семашко» (Нижний Новгород).

В работе использовался модифицированный метод культивирования клеток костного мозга в течение 20–24 ч. Костный мозг (1–2 мл), полученный у больных при стерильной пункции, помещали в стерильную центрифужную пробирку, содержащую 4 мл среды RPMI-1640 с глутамином, дополненной 20% эмбриональной телячьей сыворотки и гепарином из расчета 10 ЕД/мл. После центрифугирования в течение 10 мин при 1000 об/мин удаляли супернатант, осадок ресуспендировали в 5 мл среды RPMI-1640 и производили подсчет числа ядерных клеток в 1 мл суспензии (в камере Горяева). В стерильные флаконы для культивирования вносили материал из расчета 1–2·10<sup>6</sup> клеток на 1 мл среды RPMI-1640, дополненной 20% эмбриональной телячьей сыворотки и 800 мкл L-глутамин (при общем объеме культуральной смеси 10 мл). Колхицин вносили во время постановки культуры в конечной концентрации 0,03 мкг на 1 мл полной культуральной среды. Клетки костного мозга культивировали в течение 20–24 ч в термостате при 37°C. Полученный материал переносили в центрифужные пробирки и центрифугировали в течение 10 мин при 1000 об/мин. После удаления надосадочной жидкости клеточную суспензию обрабатывали гипотоническим раствором хлорида калия (0,55%) в течение 35 мин при 37°C. Остановка воздействия гипотонического раствора производилась внесением 200 мкл 5% уксусной кислоты. После центрифугирования в течение 10 мин при 1000 об/мин материал подвергали 4-кратной фиксации охлажденным фиксатором при температуре 4°C (первая фиксация – 30 мин, далее – по 10 мин). В качестве фиксатора использовали смесь этилового спирта 96° и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1. Полученную

суспензию клеток наносили на холодные влажные обезжиренные предметные стекла, которые затем выдерживали 5 мин над кипящей водяной баней и 1 сут в термостате при 65°C. Дифференциальное окрашивание проводили по методу GTG (дифференциальная G-окраска). Для этого стекла обрабатывали 0,25% раствором трипсина. Затем препараты в течение 5 мин окрашивали красителем Гимзы, разведенным на фосфатном буфере (pH 6,8). Препараты анализировали с учетом рекомендаций Международной классификации хромосом (ISCN, 2005). В каждом наблюдении исследовали по возможности 20 метафаз и более. Цитогенетический ответ (ЦО) оценивали по содержанию Ph-положительных клеток в пунктате костного мозга согласно действующим критериям. При этом выделяли: ПЦО – 0% Ph-положительных клеток, частичный ЦО (ЧЦО) – 1–35% Ph-положительных клеток, минимальный ЦО (МЦО) – 36–95% Ph-положительных клеток; отсутствие ЦО – больше 95% Ph-положительных клеток.

Молекулярные исследования проводили с использованием набора реагентов «АмплиСенс® Лейкоз Квант М-bcr-FRT» для выявления и количественного определения мРНК химерного гена bcr-abl (вариант М-bcr) и мРНК гена abl в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флюоресцентной детекцией в режиме реального времени [предприятие-изготовитель ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, прибор «iQ5» (Bio-Rad, США)].

Статистическую обработку данных проводили с использованием ПК Pentium IV (операционная система Microsoft Windows XP) и пакета прикладных программ Statistica). Сравнение проводилось с использованием метода определения средних значений, сравнение результатов – с применением критерия Стьюдента. Критическое значение уровня значимости принималось равным 5% ( $p < 0,05$ ).

### Результаты и обсуждение

На момент проведения настоящего исследования (2011 г.) ПЦО без БМО получен у 13 (18,57%) человек, БМО имелся у 42 (60%), не достигли ПЦО 15 (21,42%) человек. Согласно рекомендациям ELN 2006, 2009 цитогенетический мониторинг проводился через 6 мес терапии, далее 1 раз в 6 мес до достижения ПЦО, далее – 1 раз в 12 мес и молекулярно-биологический мониторинг проводился – 1 раз в 3 мес после достижения ПЦО от начала терапии исследуемым препаратом. Изначально всем пациентам иматиниб был назначен в дозе 400 мг (в соответствии с утвержденной инструкцией на препарат). Далее из-за отсутствия должных значений ЦГО к 6, 12, 18 мес терапии дозы препарата были эскалированы до 600 или 800 мг (с 2006 г. в соответствии с критериями ELN2006 и с 2010 г. в соответствии с критериями ELN2009). На момент проведения исследования (2010 г.) доза принимаемого препарата составляла: 300 мг – 3 (3,22%) человека, 400 мг – 50 (53,77%) человек, 600 мг – 30 (32,25%) человек, 800 мг – 10 (10,75%) человек. Состояние расценивалось как удовлетворительное у 68 (73%) пациентов, жалоб активно не предъявляли 80 человек, или 86% от общего количества пациентов, включенных в исследование.

Для определения тактики ведения больных необходима оценка токсичности, поэтому нами была проведена оценка гематологической и негематологической токсич-

**Критерии гематологической токсичности у исследуемых пациентов с ХМЛ при терапии иматинибом в терапевтических дозах**

| Критерии                                      | 1-я степень                 | 2-я степень                  | 3-я степень                  | 4-я степень             |
|---|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------|
| Уровень лейкоцитов периферической крови       | 3,0–3,9·10 <sup>9</sup> /л  | 2,0–2,9·10 <sup>9</sup> /л   | 1,0 – 1,9·10 <sup>9</sup> /л | 1,0·10 <sup>9</sup> /л  |
| Уровень гемоглобина периферической крови, г/л | 100–120                     | 80–99                        | 65–79                        | ниже 65                 |
| Уровень тромбоцитов периферической крови      | 75,0–150·10 <sup>9</sup> /л | 50,0–74,9·10 <sup>9</sup> /л | 10,0–49,9·10 <sup>9</sup> /л | 10,0·10 <sup>9</sup> /л |
| Уровень гранулоцитов периферической крови     | 1,5–1,9·10 <sup>9</sup> /л  | 1,0 – 1,4·10 <sup>9</sup> /л | 0,5–0,9·10 <sup>9</sup> /л   | 0,5·10 <sup>9</sup> /л  |

ности у исследуемой группы пациентов. Гематологическую токсичность оценивали в соответствии с критериями, приведенными в табл. 1.

Отсутствие гематологической токсичности установлено у 56 (60,2%) человек, количество пациентов с раз-

**Таблица 2**

**Степени гематологической токсичности у исследуемых пациентов с ХМЛ при терапии иматинибом в терапевтических дозах**

| Токсичность | Количество больных |      |
|-------------|--------------------|------|
|             | абс.               | %    |
| Отсутствие  | 56                 | 60,2 |
| 1-я степень | 22                 | 23,7 |
| 2-я степень | 8                  | 8,6  |
| 3-я степень | 5                  | 5,4  |
| 4-я степень | 2                  | 2,2  |

**Критерии негематологической токсичности у исследуемых пациентов с ХМЛ при терапии иматинибом в терапевтических дозах**

| Критерии                         | 1-я степень  | 2-я степень  | 3-я степень   | 4-я степень  |
|----------------------------------|--|--|---|--|
| Отеки                            | Локальные отеки (лицо, периорбитальная область, голени)  | Распространенные отеки, требующие периодического назначения диуретиков                           | Генерализованные отеки, требующие систематического назначения диуретиков                      | Угрожающая анасарка  |
| Гастроинтестинальная токсичность | Диарея 2–3 раза в сутки, тошнота, но пациент может принимать обычное количество пищи, рвота менее 1 раза в сутки | Диарея 4–6 раз в сутки, рвота 2–5 раз в сутки, количество принимаемой пищи снижено из-за тошноты | Диарея 7–9 раз в сутки, рвота 6–10 раз в сутки, пациент не может принимать пищу из-за тошноты | Дегидратация, рвота более 10 раз в сутки                                 |
| Неврологическая токсичность      | Слабая головная боль, минимальная тревога или депрессия, минимальная бессонница                                  | Умеренная головная боль, умеренная тревога или депрессия, умеренная бессонница                   | Выраженная головная боль, выраженная тревога или депрессия, выраженная бессонница             | Мания самоубийства   |
| Кожная токсичность               | Рассеянные макулярные или папулезные высыпания без зуда или бессимптомная эритема                                | Рассеянная макулярная или папулезная сыпь с зудом  | Генерализованная макулярная или папулезная сыпь, везикулы                                     | Экфолиативный или язвенный дерматит                                      |
| Кардиоваскулярная токсичность    | Аритмии, гипотония или гипертензия, не требующие применения специального лечения                                 | Постоянная аритмия, гипо- или гипертензия, требующие периодического применения препаратов        | Аритмии, гипо- и гипертензия, требующие постоянной терапии                                    | Жизнеугрожающие аритмии, гипертензионные кризы, ортостатические коллапсы |

**Таблица 1**

личными степенями гематологической токсичности представлено в табл. 2. Гематологическая токсичность 3-й и 4-й степени требовала временной отмены препарата сроком не более чем на 14 дней, с последующим возобновлением терапии в прежней дозе. У нескольких пациентов на фоне гранулоцитопении 3-й степени наблюдалась фебрильная лихорадка (фебрильная нейтропения), купированная назначением антибактериальных препаратов. Следует отметить, что проявления гематологической токсичности уменьшались на фоне пролонгации терапии.

Негематологическую токсичность оценивали в соответствии с критериями, представленными в табл. 3.

В табл. 4 приведены данные о различных видах негематологической токсичности у пациентов, получающих иматиниб. Отмечено, что у 49 (52,7%) пациентов отсутствовали признаки токсичности, имевшая место негематологическая токсичность была легкой степени (1-я степень), не требовала дополнительной терапии и/или отмены препарата и в большинстве случаев отмеченные явления уменьшались при пролонгации терапии.

Таким образом, полученные нами результаты сопоставимы с данными литературы. Все нежелательные лекарственные реакции, отмеченные нами в исследуемой группе пациентов с ХМЛ, отражены в инструкции по применению Гливека, новых побочных эффектов, не отраженных в инструкции, не было.

При выявлении нежелательных лекарственных реакций рекомендуется проводить мониторинг состояния пациентов, особенно на ранних этапах лечения.

**Таблица 3**

Таблица 4

Степени негематологической токсичности у исследуемых пациентов с ХМЛ при терапии иматинибом в терапевтических дозах

| Критерии                         | 1-я степень | 2-я степень | 3-я степень |
|----------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Отеки                            | 22 (23,7%)  | 11 (11,8%)  | 4 (4,3%)    |
| Гастроинтестинальная токсичность | 11 (11,8%)  | 8 (8,6%)    | 4 (4,3%)    |
| Неврологическая токсичность      | 5 (5,4%)    | 1 (1,08%)   | 0           |
| Кожная токсичность               | 10 (10,8%)  | 1 (1,08%)   | 1 (1,08%)   |
| Кардиоваскулярная токсичность    | 5 (5,4%)    | 0           | 0           |

Регулярное клиническое мониторирование должно включать тщательный клинический осмотр пациента, развернутый анализ периферической крови, контроль массы тела и клиническую оценку сердечной и легочной симптоматики (помогают своевременно выявлять задержку жидкости), выявление кожных реакций и быстрое начало симптоматической терапии (антигистаминные препараты), проведение регулярного контроля функции печени (трансаминазы, билирубин, щелочная фосфатаза).

#### Литература

1. Branford S., Rudzki Z., Walsh S. et al. High frequency of point mutations clustered within the adenosine triphosphate-binding region of BCR/ABL in patients with chronic myeloid leukemia or Ph-positive acute lymphoblastic leukemia who develop imatinib (ST1571) resistance. *Blood* 2002; 99: 3472–3475.

2. Cortes J., Rousselot P., Kim D. et al. Dasatinib induces complete hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib resistant or -intolerant chronic myeloid leukemia in blast crisis. *Blood* 2006. [E-Pub].

3. Deininger M., O'Brien S., Ford J., Druker B. et al. Practical management of patients with chronic myeloid leukemia receiving imatinib. *J Clin Oncol* 2003; 21: 1637–1647.

4. Guilhot F. Indications for imatinib mesylate therapy and clinical management. *Oncologist*. 2004; 9: 271–281.

5. Guilhot F. Sustained Durability of Responses Plus High Rates of Cytogenetic Responses Result in Long-Term Benefit for Newly Diagnosed Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia (CML-CP) Treated with Imatinib (IM) Therapy: Update from the IRIS Study [abstract 21; online]. *Blood* 2004; 104 [online]. [Accessed at [www.bloodjournal.org/misc/ASH\\_Meeting\\_Abstracts\\_Info.shtml](http://www.bloodjournal.org/misc/ASH_Meeting_Abstracts_Info.shtml); cited January 26, 2007].

6. Hasford J., Pfirrmann M., Shepherd P. et al. The impact of the combination of baseline risk group and cytogenetic response on the survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alpha. *Haematologica* 2005; 90(3): 335–340.

7. Hochhaus A., Kantarjian H., Baccarani M. et al. Dasatinib induces notable hematologic and cytogenetic responses in chronic phase chronic myeloid leukemia after failure of imatinib therapy. *Blood* 2006. [E-Pub].

8. O'Brien S., Guilhot F., Larson R. et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2003; 348(11): 994–1004.