

О.С. Самойлова¹, И.Н. Самарина², Н.Е. Кашеева¹,
Н.Н. Еременко³, М.И. Савельева³, С.Б. Болевич³

Проявление гематологической и негематологической токсичности иматиниба у пациентов с хроническим миелолейкозом в Нижегородской области

¹Нижегородская областная клиническая больница им. Семашко, Нижний Новгород

²Больница скорой медицинской помощи, Дзержинск

³1-й Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва

Резюме. Показано, что у пациентов с установленным диагнозом хронического миелоидного лейкоза, получающих терапию иматинибом в стандартной дозе, с целью оценки гематологической и негематологической токсичности и своевременной коррекции нежелательных явлений необходимо проводить мониторинг соматического состояния. Всем пациентам, участвующим в исследовании, наряду с оценкой гематологической и негематологической токсичности, проводилась оценка ответа на терапию иматинибом и цитогенетический анализ костного мозга, а пациентам, достигшим полного цитогенетического ответа, – молекулярно-биологические исследования (в соответствии с критериями ELN 2006/2009). Рекомендованное 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), а также выявление кожных реакций и быстрое начало симптоматической терапии (антигистаминные препараты), проведение регулярного контроля функции печени (трансаминазы, билирубин, щелочная фосфатаза).

Ключевые слова: хронический миелоидный лейкоз, Bcr-Abl-тирозинкиназа, молекулярный ответ, цитогенетический ответ, лабораторный и клинический мониторинг, гематологическая и негематологическая токсичность, иматиниб.

Введение. Лечение хронического миелоидного лейкоза (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, подавляющую конкретную причину ХМЛ, а именно, Bcr-Abl-тирозинкиназу. Первым таргетным препаратом против Bcr-Abl, одобренным для лечения ХМЛ, стал иматиниб мезилат (гливек®).

Показано, что иматиниб (гливек®) обладает хорошей переносимостью, приемлемым соотношением ожидаемой пользы к потенциальному риску 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. S.G. O'Brien, F. Guilhot, R.A. Larson et al. [8] показали, что 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, прогрессирования болезни и других причин.

J. Hasford [6], A. Hochhaus [7], S.G. O'Brien [8] et al. в исследовании START установили, что переносимость иматиниба определялась у больных с хрониче-

ской фазой ХМЛ как: негематологическая токсичность ≥ 3 -й степени, или гематологическая токсичность 4 степени продолжительностью более 7 дней, или же любая негематологическая токсичность 2 степени, продолжительностью более 39 дней. У больных при фазе акселерации или бластного криза ХМЛ в том же исследовании START переносимость иматиниба определялась как состояние, требующее снижения дозы иматиниба, менее 400 мг/день, или прекращения применения иматиниба в связи с его токсичностью [3]. Побочные эффекты, связанные с приемом иматиниба в основном легкие или умеренные (1 и 2 степень) и включают задержку жидкости в организме, миелосупрессию, тошноту, рвоту, чувство усталости, судороги, головные боли, боли в суставах, сыпь и повышение ферментов трансаминаз [4, 5, 8]. При этом кумулятивная негематологическая токсичность 3–4 степени отмечалась у 41% больных в хронической фазе заболевания. Миелосупрессия 3-й и 4-й степеней отмечается чаще у больных ХМЛ на более поздних стадиях [4]. 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.

Цель исследования. Повысить безопасность лечения пациентов с ХМЛ ингибитором тирозинкиназы – иматинибом.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе Нижегородской областной клинической больницы им. Семашко и больницы скорой медицинской помощи (г. Дзержинск) в период с 2006 по 2010 гг. Настоящее исследование одобрено локальными этическими комитетами, все пациенты были информированы о проведении исследования и выразили свое согласие в письменной форме.

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

Всем пациентам проводили цитогенетический анализ костного мозга, а пациентам, достигнувшему полного цитогенетического ответа (ПЦО) – молекулярно-биологические исследования (в соответствии с критериями ELN 2006). Исследования проводили в Нижегородской областной клинической больнице им. Н.А. Семашко.

В работе использовался модифицированный метод культивирования клеток костного мозга в течение 20–24 ч [1]. Костный мозг (1–2 мл), полученный у больных при стерильной пункции, помещали в стерильную центрифужную пробирку, содержащую 4 мл среды RPMI1640 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 RPMI1640 и производили подсчет числа ядерных клеток в 1 мл суспензии (в камере Горяева). В стерильные флаконы для культивирования вносили материал из расчета (1–2) 10^6 клеток на 1 мл среды RPMI1640, дополненной 20% эмбриональной телячьей сывороткой и 800 мкл L-глутамин (при

общем объеме культуральной смеси 10 мл). Колонии вносили во время постановки культуры в конечной концентрации 0,03 мг 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 сутки 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, разведенном 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 оценивали по содержанию Ph-положительных клеток в пунктате костного мозга согласно действующим критериям [9]. При этом выделяли: полный ЦО (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 M-bcr-FRT» (предприятие-изготовитель – Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, прибор «iQ5» («Bio-Rad», США)) для выявления и количественного определения мРНК химерного гена *bcr-abl* (вариант M-bcr) и мРНК гена *abl* в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Статистическая обработка данных проводилась с использованием персонального компьютера 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 их обсуждение. На момент проведения настоящего исследования (2011 г.) ПЦО без БМО имели 13 (18,57%) человек, БМО – 42 (60%) человека, не имеющие ПЦО – 15 (21,42%) человек. Согласно рекомендациям ELN 2006, 2009, цитогенетический мониторинг проводился через 6 месяцев терапии, далее 1 раз в 6 месяцев до достижения ПЦО, далее 1 раз в 12 месяцев и молекулярно-биологический мониторинг проводился 1 раз в 3 месяца 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 месяцам 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. У 68 (73%) пациентов состояние расценивалось как удовлетворительное, 80 (86%) человек активно жалоб не предъявляли.

Гематологическая токсичность оценивалась в соответствии со следующими показателями (табл. 1).

Отсутствие гематологической токсичности выявлено у 56 (60,2%) человек, количество пациентов с различными степенями гематологической токсичности представлены в таблице 2.

Гематологическая токсичность 3-й и 4-й степеней 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. Проявления гематологической токсичности уменьшались на фоне пролонгации терапии. Негематологическая токсичность оценивалась в соответствии со следующими показателями (табл. 3).

Таблица 1

Показатели гематологической токсичности при лечении пациентов с ХМЛ иматинибом в терапевтических дозах

Показатель	Степень			
	1	2	3	4
Уровень лейкоцитов периферической крови, клеток × 10 ⁹ /л	3,0–3,9	2,0–2,9	1,0–1,9	1,0
Уровень гемоглобина периферической крови, г/л	100–120	80–99	65–79	менее 65
Уровень тромбоцитов периферической крови, клеток × 10 ⁹ /л	75,0–150	50,0–74,9	10,0–49,9	10,0
Уровень гранулоцитов периферической крови, клеток × 10 ⁹ /л	1,5–1,9	1,0–1,4	0,5–0,9	0,5

Таблица 2

Степень гематологической токсичности при лечении пациентов с ХМЛ иматинибом в терапевтических дозах

Степень токсичности	Абс. число	%
0	56	60,2
1	22	23,7
2	8	8,6
3	5	5,4
4	2	2,2

В таблице 4 приведены данные по различным видам негематологической токсичности у пациентов, получающих иматиниб. Отмечено, что у 49 (52,7%) пациентов отсутствовали признаки токсичности, при ее наличии, 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.

Заключение. Полученные нами данные сопоставимы с литературными. Все нежелательные лекарственные реакции, отмеченные у пациентов с ХМЛ, отражены в инструкции по применению гливека, новых побочных эффектов, не отраженных в инструкции отмечено не было.

При выявлении нежелательных лекарственных реакций рекомендуется проводить мониторинг состояния пациентов, особенно на ранних этапах лечения. Регулярное клиническое мониторинг должно включать тщательный клинический осмотр пациента, развернутый анализ периферической крови, контроль массы тела и клинического оценку сердечной и легочной симптоматики (помогают своевременно выявлять задержку жидкости), а также выявление кожных реакций и быстрое начало симптоматической терапии (антигистаминные препараты), проведение регулярного контроля функции печени (трансаминазы, билирубин, щелочная фосфатаза).

Литература

1. Мартынкевич, И.С. Дополнительные хромосомные аберрации у больных хроническим миелолейкозом / И.С. Мартынкевич [и др.] // Гематол. и трансфузиол. – 2007. – Т. 52, № 2. – С. 2835.
2. Branford, S. 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 (STI571) resistance / S. Branford [et al.] // Blood. – 2002. – Vol. 99. – P. 3472–3475.
3. Cortes, J. Dasatinib induces complete hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or intolerant chronic myeloid leukemia in blast crisis / J. Cortes [et al.] // Blood. – 2007. – Vol. 109, № 8. – P. 3207–3213.
4. Deininger, M. Practical management of patients with chronic myeloid leukemia receiving imatinib / M. Deininger [et al.] // J. clin. oncol. – 2003. – Vol. 21. – P. 1637–1647.
5. Guilhot, F. Indications for imatinib mesylate therapy and clinical management / F. Guilhot // Oncologist. – 2004. – Vol. 9. – P. 271–281.

Таблица 3

Показатели негематологической токсичности при лечении пациентов с ХМЛ иматинибом в терапевтических дозах

Показатель	Степень			
	1	2	3	4
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	Экссфолиативный или язвенный дерматит
Кардиоваскулярная токсичность	Аритмии, гипотония или гипертония. Не требующие применения специального лечения	Постоянная аритмия, гипо- или гипертония, требующие периодического применения препаратов	Аритмии, гипо- и гипертония, требующие постоянной терапии	Жизнеугрожающие аритмии, гипертензионные кризы, ортостатические коллапсы

Таблица 4

Степени негематологической токсичности при лечении пациентов с ХМЛ иматинибом в терапевтических дозах, абс. число (%)

Показатель	Степень		
	1	2	3
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

- Hasford J. 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 / Hasford J. [et al.], Pfirrmann M., Shepherd P, et al.// Hematologica. 2005. - V.90, №3. P.335-340.
- Hochhaus, A. Dasatinib induces notable hematologic and cytogenetic responses in chronic-phase chronic myeloid leukemia after failure of imatinib therapy / A. Hochhaus [et al.] // Blood. – 2007. – Vol. 109, № 6. – P. 2303–2309.
- O'Brien, S.G. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia / S.G. O'Brien [et al.] // N. Engl. j. med. – 2003. – Vol. 348, № 11. – P. 994–1004.
- Kantarjian, H.M. Imatinib mesylate for Philadelphia chromosome-positive, chronic-phase myeloid leukemia after failure of interferon-alpha: follow-up results / H.M. Kantarjian [et al.] // Clin. cancer res. – 2002. –Vol. 8, № 7. – P. 2177–2187.

O.S. Samoylova, I.N. Samarina, N.E. Kascheeva, N.N. Eremenko, M.I. Savelyeva, S.B. Bolevich

Appearance of hematological and nonhematological imatinib toxicity from patients with chronic myeloid leukemia of nijegorogsky region

Abstract. We examined 93 patients from 23 to 80 years old with established diagnosis of Chronic Myeloid Leukemia. It was shown that monitoring of somatic status of CML patients with standard dose of imatinib treatment is needed to estimate aim of hematological and nonhematological toxicity to provide adverse events correction on time. Also there was estimated patient's cytogenetic and molecular response on the imatinib therapy in accordance with criteria of ELN 2006/2009. Regular clinical monitoring should include clinical examination, spread blood analyses, body weight control and cardio-& pulmonary symptoms control (for edema identification), estimation of skin reactions and hepatic functions (transaminases, bilirubine, phosphatase).

Key words: chronic myeloid leukemia, Bcr-Abl-kinase, molecular response, cytogenetic response, laboratory and clinical monitoring, hematological and nonhematological toxicity, imatinib.

Контактный телефон: 8-916-086-19-50; e-mail: marinasavelyeva@mail.ru