

49. Frohling S., Sholl C., Gilliard D.G. et al. Genetics of myeloid malignancies: pathogenetic and clinical implications. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 6285–95.

50. Mrozek K., Marcucci G., Paschka P. et al. Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics: are we ready for prognostically prioritized molecular classification? *Blood* 2007; 109: 431–48.

51. Gulley M.L., Shea T.C., Fedoriv Yu. Genetic tests to evaluate prognosis and predict therapeutic response in acute myeloid leukemia. *J. Molec. Diagn.* 2010; 12: 3–16.

52. Rollig C., Thiede C., Gramatzki et al. A novel prognostic model in elderly patients with acute myeloid leukemia: results of 909 patients entered into the prospective AML96 trial. *Blood* 2010; 116: 971–8.

53. Luquet I., Lai J.L., Barin C. et al. Hyperdiploid karyotypes in acute myeloid leukemia define a novel entity: a study of 38 patients from the Groupe Francophone de Citogenetique Hematologique (GFCH). *Leukemia* 2008; 22: 132–7.

54. Kaspers G.J.L., Zwaan C.N. Pediatric acute myeloid leukemia: towards high quality cure of all patients. *Haematologica* 2007; 92: 1519–32.

55. Bullinger L., Rucker F.G., Kurz S. et al. Gene-expression profiling identifies distinct subclasses of core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood* 2007; 110: 1291–300.

56. Li Z., Jun Lu, Miao Sun et al. Distinct microRNA expression profiles in acute myeloid leukemia with common translocations. *PNAS* 2008; 105: 15535–40.

57. Raimondi S.C., Chang M.N., Ravindranath Y. et al. Chromosomal abnormalities in 478 children with acute myeloid leukemia: clinical characteristics and treatment outcome in cooperative Pediatric Oncology Group study-POG 8821. *Blood* 1999; 94: 3707–16.

58. Heim S., Mitelman F. *Cancer Cytogenetics*, 2nd ed. Wiley-Liss, 1995.

59. Forestier E., Heim S., Blennow E. et al. Cytogenetic abnormalities in childhood acute myeloid leukemia: A Nordic series comprising all children enrolled in the NOPHO-93-AML trial between 1993 and 2001. *Br. J. Haematol.* 2003; 121: 566–77.

60. Stark B., Jeison M., Glazer Gabay L. et al. Classical and molecular cytogenetic abnormalities and outcome of childhood acute myeloid leukemia: report from a referral center in Israel. *Br. J. Haematol.* 2004; 126: 320–37.

61. Bacher U., Kern W., Schnittger S. et al. Population-based age-specific incidences of cytogenetic subgroups of acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2005; 90: 1505–10.

62. Appelbaum F.R., Gundacker H., Head D.R. et al. Age and acute myeloid leukemia. *Blood* 2006; 107: 3481–5.

63. Betts D.R., Ammann R.A., Hirt A. et al. The prognostic significance of cytogenetic aberrations in childhood acute myeloid leukemia: A study of the Swiss Paediatric Oncology Group (SPOG). *Eur. J. Haematol.* 2007; 78: 468–76.

64. Флейшман Е.В., Сокова О.И., Попа А.В. и др. Возрастные особенности цитогенетических изменений при острых миелоидных лейкозах. *Онкогематология* 2007; 4: 12–6.

65. Pui C.-H., Raimondi S.C., Srivastava D.K. et al. Prognostic factors in infants with acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2000; 14: 684–7.

66. Webb D.K.H., Harrison G., Stevens R.F. et al. Relationships between age at diagnosis, clinical features, and outcome of therapy in children treated in the medical Research Council AML 10 and 12 trials for acute myeloid leukemia. *Blood* 2001; 98: 1714–20.

67. Weltermann A., Fonatsch C., Haas O.A. et al. Impact of cytogenetics on the prognosis of adults with de novo AML in first relapse. *Leukemia* 2004; 18: 293–302.

68. Breems D.A., van Putten W.L.J., Huijgens P.C. et al. Prognostic index for adult patients with acute myeloid leukemia in first relapse. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 1969–78.

69. Webb D.K., Wheatley K., Harrison G. et al. Outcome for children with relapsed acute myeloid leukemia following initial therapy in the Medical Research Council (MRC) AML 10 trial. *Leukemia* 1999; 13: 25–31.

70. Флейшман Е.В., Сокова О.И., Попа А.В. и др. Каритип клеток костного мозга при рецидивах острого миелоидного лейкоза детей. *Клин. онкогематол.* 2009; 3: 220–4.

71. Kern W., Haferlach T., Schnittger S. et al. Karyotype instability between diagnosis and relapse in patients with acute myeloid leukemia: implications for resistance against therapy. *Leukemia* 2002; 16: 2084–91.

72. Campana D. Determination of minimal residual disease in leukemia patients. *Br. J. Haematol.* 2003; 121: 823–38.

73. Vidrales M.B., San-Miguel J.F., Orfao A. et al. Minimal residual disease monitoring by flow cytometry. *Bailliere's Clin. Hematol.* 2003; 16: 559–612.

74. Fujimaki S., Funato T., Harigae H. et al. A quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction method for the detection of leukemic cells with t(8;21) in peripheral blood. *Eur. J. Haematol.* 2000; 64: 252–8.

75. Marcucci G., Caligiuri M.A., Bloomfield C.D. Core binding factor (CBF) acute myeloid leukemia: is molecular monitoring useful clinically? *Eur. J. Haematol.* 2003; 21: 143–54.

76. De Botton S., Leroy H., Gradel-Duflos N. et al. Real-time quantitative PCR is an early prognostic factor of the relapse risk in patients with t(8;21) AML. *Blood* 2003; 102: 11 (Abstract 2228).

77. Флейшман Е.В., Сокова О.И., Косорукова И.С. и др. Изменения экспрессии химерного гена AML1-ETO и прогноз острого миелоидного лейкоза с хромосомной транслокацией t(8;21). *Гематол. и трансфузиол.* 2004; 49(1): 3–10.

78. Buonamici S., Ottaviani E., Visani G. et al. Patterns of AML1-ETO transcript expression in patients with acute myeloid leukemia and t(8;21) in complete hematologic remission. *Haematologica* 2004; 89: 103–5.

79. Doubek M., Palasek I., Pospisil Z. et al. Detection and treatment of molecular relapse in acute myeloid leukemia with RUNX1(AML1), CBFβ, or MLL gene translocations: frequent quantitative monitoring of molecular markers in different compartments and correlation with WT1 gene expression. *Exper. Hematol.* 2009; 37: 659–72.

80. Takenokuchi M., Yasuda C., Takeuchi K. et al. Quantitative nested reverse transcriptase PCR vs real-time PCR for measuring AML1/ETO (MTG8) transcripts. *Clin. Lab. Haem.* 2004; 26: 107–14.

81. Candoni A., Toffoletti E., Gallina R. et al. Monitoring of minimal residual disease by quantitative WT1 gene expression following reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia. *Clin. Transplant.* 2010; DOI: 10.1111/j.1399-0012.201001251.

82. Ommen H.B., Schnittgwe S., Jovanovic J.V. et al. Strikingly different molecular relapse kinetics in NPM1c, PML-RARA, RUNX-1/RUNX1T1, and CBFβ-MYH11. *Blood* 2010; 115: 198–205.

83. Freireich E.J., Cork A., Stass S.A. et al. Cytogenetics for detection of minimal residual disease in acute myeloblastic leukemia. *Leukemia* 1992; 6: 500–6.

84. Konopleva M., Cheng Su.-Ch., Cortes J.E. et al. Independent prognostic significance on day 21 cytogenetic findings in newly-diagnosed acute myeloid leukemia or refractory anemia with excess blasts. *Haematologica* 2003; 88: 733–6.

85. Marcucci G., Mrozek K., Ruppert A.S. et al. Abnormal cytogenetics at date of morphologic complete remission predicts short overall and disease-free survival, and higher relapse rate in adult acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia group B Study 8461. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 2410–8.

86. Balleisen S., Kuendgen A., Hildebrandt B. et al. Prognostic relevance of achieving cytogenetic remission in patients with acute myelogenous leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome following induction chemotherapy. *Leuk. Res.* 2009; 33: 1189–93.

87. Cheson B.D., Bennet J.M., Kopeccky K.J. et al. Revised recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21(24): 4642–9.

88. Флейшман Е.В., Сокова О.И., Попа А.В. и др. Цитогенетический мониторинг острого миелоидного лейкоза детей. *Вестн. РАМН* 2009; 9: 28–32.

Длительное течение заболевания у больного хроническим миелолейкозом с мутацией Т315I гена BCR-ABL. Клиническое наблюдение и обзор литературы

Е.Г. Ломаиа¹, Е.Г. Романова¹, Е.Н. Горюнова¹, Н.Т. Сиордия¹, Е.Р. Мачюлайтене², А.Ю. Зарицкий^{1,2}

РЕФЕРАТ

Long-term outcome of CML patient with mutation T315I. Case report and literature review

E.G. Lomaia¹, E.G. Romanova¹, E.N. Goryunova¹, N.T. Sioridia¹, E.R. Machulaitene², A.Y. Zaritsky^{1,2}

SUMMARY

Chronic myeloid leukemia is treated successfully with tyrosine kinase inhibitors, providing patients long-term event-free survival and an adequate quality of life. However, mutations of the gene BCR/ABL leads to the formation of resistance to tyrosine kinase inhibitors therapy. Panresistance mutation T315I forms the impossibility of eradicating leukemic clone, at the same time it seems, that this mutation does not reduce the time to progression to acceleration phase and blast crisis. The article presents a review on biology of T315I mutation, and a describes a case of a patient with T315I mutation, and long-term progression-free survival (more than 2.5 years).

Keywords:

chronic myelogenous leukemia, mutation T315I.

¹ Federal Center of Heart, Blood and Endocrinology named after V.A. Almazov, St.-Petersburg

² St.-Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlov

Контакты: lomelza@rambler.ru

Принято в печать: 5 декабря 2010 г.

Хронический миелолейкоз в эру развития ингибиторов тирозинкиназ успешно поддается лечению у большинства пациентов, обеспечивая длительные сроки бессобытийной выживаемости и адекватное качество жизни. Однако в ряде случаев появление мутаций гена *BCR/ABL* ведет к формированию резистентности к проводимой терапии и необходимости поиска новых стратегий лечения. При этом мутация Т315I, хотя и обуславливает резистентность ко всем известным ингибиторам тирозинкиназ, однако, вероятно, не приводит к уменьшению времени до прогрессии болезни в фазы акселерации и бластного криза. В статье представлены литературные данные о биологии мутации Т315I, а также описание клинического случая пациента с документированной мутацией Т315I и длительным сроком беспрогрессивной выживаемости (более 2,5 года).

Ключевые слова

хронический миелолейкоз, мутация Т315I.

ВВЕДЕНИЕ

Хронический миелолейкоз (ХМЛ) — клональное онкогематологическое заболевание, развивающееся в результате реципрокной транслокации между хромосомами 9 и 22 в гемопоэтической стволовой клетке. Вследствие произошедшей транслокации в клетке образуется химерный ген *BCR/ABL*, кодирующий образование белка *BCR/ABL*, в котором *ABL*-тирозинкиназа вследствие произошедших при транслокации структурных изменений оказывается постоянно активированной. Это ведет к активации сигнальных путей, ответственных за пролиферацию клеток, к подавлению апоптоза и уменьшению фиксации клеток к строме.

Клинически эти молекулярные нарушения приводят к гиперлейкоцитозу, появлению в крови незрелых форм лейкоцитов (сдвигу лейкоцитарной формулы влево, иногда до бластных форм), закономерному прогрессиру-

ванию заболевания из хронической фазы (ХФ) в плохо контролируемые терапией фазы акселерации (ФА) и бластного криза (БК). Основная задача терапии заключается в максимальной редукции опухолевой массы. Это снижает риск прогрессии в ФА и БК и увеличивает общую выживаемость пациентов [1]. Степень данной редукции можно оценивать по скорости достижения гематологического ответа и уменьшения экспрессии клона, содержащего *Ph*-хромосому (цитогенетический ответ) или ген *BCR/ABL* (молекулярный ответ). На основании многочисленных исследований доказано, что степень эрадикации опухолевой массы служит прогностическим статистически значимым фактором для общей (ОВ) и выживаемости без прогрессирования (ВБП) пациентов [2–4].

Терапия ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) кардинально изменила прогноз больных ХМЛ. Уже результаты первых клинических исследова-

¹ Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург

² Санкт-петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова

ний иматиниба мезилата (ИМ) показали высокую частоту достижения не только полного гематологического (ПГО), но и полного цитогенетического (ПЦО) ответа [5].

По данным исследования IRIS (International Randomized Study of Interferon vs ST1571 — международное рандомизированное исследование эффективности интерферона в сравнении с ИМ), у пациентов в ХФ ХМЛ, получающих ИМ в качестве первой линии терапии, ОВ в течение 8 лет наблюдения составила 85 %, а при учете только случаев смерти от ХМЛ — 93 %. В группе пациентов, получавших ИМ в качестве первой линии терапии (304 пациента, 55 % от исходного числа пациентов, продолжающих терапию ИМ через 8 лет от начала исследования), вероятность прогрессии болезни в ФА или БК составила 8 %, а у больных, когда-либо достигших ПЦО и большой молекулярный ответ, — всего 3 и 0 % соответственно [1].

Несмотря на высокую эффективность ИМ, некоторые пациенты в ХФ и значительно большее количество пациентов в ФА и БК оказываются к нему резистентными [6–8]. В исследовании IRIS за время наблюдения 23 % пациентов прекратили терапию ИМ из-за развития резистентности [1]. Еще выше частота случаев резистентности, определенных как субоптимальный ответ или неудача терапии по критериям European LeukemiaNet (ELN) [9].

В настоящее время известно несколько механизмов, приводящих к формированию лекарственной резистентности к ИМ: 1) *BCR/ABL*-зависимые, включающие амплификацию гена *BCR/ABL* и появление мутаций *BCR/ABL*; 2) *BCR/ABL*-независимые (альтернативные сигнальные пути, эпигенетические модификации, механизмы, влияющие на накопление препарата в клетке и его концентрацию в плазме) [10].

МУТАЦИИ ГЕНА *BCR/ABL* И РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К ИНГИБИТОРАМ ТИРОЗИНКИНАЗ

Наиболее важный из обсуждаемых механизмов резистентности к ИМ — возникновение точечных мутаций в киназном домене ABL-тирозинкиназы, которые выявляются у 35–45 % больных с резистентностью к ИМ. При этом было показано, что мутации значимо чаще определяются у пациентов в поздней ХФ, до начала лечения ИМ длительно получавших терапию интерфероном, по сравнению с пациентами, получающими ИМ в качестве первой линии терапии: 31 и 14 % соответственно [11].

Мутации гена *BCR/ABL* и патогенез резистентности к ИТК

Функциональная активность ABL-тирозинкиназы определяется взаимным расположением входящих в ее состав доменов. Основными участками молекулы, оказывающими влияние на состояние киназного домена, служат домены SH2 и SH3. Для стабилизации киназы в неактивном состоянии, не способном обеспечивать фосфорилирование, действуют следующие механизмы: 1) взаимодействие домена SH3 с аминокислотной цепочкой (линкером) домена SH2; 2) определенное взаимодействие SH2 и киназного доменов, 3) участие N-концевого участка киназы в стабилизации молекулы [12].

Формирование при ХМЛ слитного белка *BCR/ABL* приводит к утрате ABL-киназой элементов, обеспечивающих ее полное нативное самоингибирование. Кроме того, присоединение к тирозинкиназе участка *BCR* ведет к постоянной нерегулируемой активации слитного белка за счет олигомеризации пептида с превращением его в тетрапептид.

Киназный домен структурно состоит из двух фрагментов: N-концевой и C-фрагмент, между которыми

располагается функциональная часть киназного домена ABL. В составе последнего выделяют следующие участки: активационная петля, обеспечивающая конформационное состояние (открытая, активная конформация и закрытая, неактивная), АТФ-связывающий участок, субстратсвязывающий участок и аминокислотная последовательность, обеспечивающая непосредственный перенос фосфата молекулы АТФ на субстрат. Конформационное состояние киназы обусловлено консервативной последовательностью аминокислот: аспарагин, фенилаланин, глутамин (DFG-мотиф). Определяющим в этой последовательности считается остаток аспарагина, который при ротации на 180° пространственно перекрывает сайт связывания АТФ, приводя к невозможности присоединения АТФ к киназе [13]. Активная и неактивная конформации находятся в состоянии динамического равновесия.

Для четкого понимания механизмов формирования резистентности *BCR/ABL*-тирозинкиназы к ИТК, в частности к ИМ, посредством мутаций различных участков киназы, необходимо представлять основные моменты пространственных физических взаимодействий киназного домена ABL и ИМ.

Структурной основой молекулы ИМ служит 2-фениламинопиримидин. ИМ способен присоединиться только к неактивной (закрытой) конформации ABL, стабилизируя ее в таком состоянии. Это присоединение осуществляется за счет формирования водородных и ван-дер-ваальсовых связей между атомами в составе пиримидинового и пуринового колец ингибитора с несколькими стратегическими аминокислотными остатками (Tyr253, Asn322, Met318, Thr315, Phe382, Met290, Ile313). Перечисленные аминокислоты не входят в состав активационной петли, и прямого взаимодействия между активационной петлей и ИМ не происходит [14, 15].

Роль мутации T315I в резистентности к ИТК

На сегодня T315I считается единственной мутацией, вызывающей резистентность лейкозных клеток ко всем известным ИТК I и II поколения. Частота ее встречаемости в зависимости от чувствительности применяемых методов детекции колеблется от 4 до 20 % у пациентов с резистентностью к терапии ИТК. При этом наиболее часто мутация T315I выявляется в ФА и БК ХМЛ, а также у больных Ph-позитивным острым лимфобластным лейкозом [9, 16, 17].

Клетки с мутацией T315I демонстрируют наибольшую устойчивость к терапии из всех известных мутаций *BCR/ABL* за счет комбинации нескольких механизмов, включающих формирование пространственной преграды для связывания с ИМ, потерю водородной связи с боковой гидроксильной группой треонина и увеличение внутренней киназной активности ABL. В работе R.E. Jakob и соавт. при исследовании конформационных изменений, возникающих в киназе при мутации T315I, было показано, что помимо непосредственного нарушения расположения аминокислотных остатков в пределах киназного домена происходят отдаленные изменения в пределах SH3-домена молекулы, что в эксперименте приводит к увеличению активности киназы за счет устранения самонгибирующих механизмов регуляции [18]. Кроме того, отмечается, что резистентность больных с T315I к ИМ в определенной степени обусловлена нарушением взаимодействия препарата с соседними аминокислотными остатками — E286 и M290 [17]. Эти аминокислоты входят в состав спирали за пределами киназного домена ABL и участвуют в формировании водородной связи — одной из точек фиксации ИМ. Замена треонина на изолейцин приводит к ослаблению

формирующейся водородной связи. Подобный механизм, вероятно, может быть также рассматриваться как один из возможных механизмов нечувствительности клеток с T315I к нилотинибу за счет необходимости взаимодействия нилотиниба с боковым радикалом глутамина E286 при формировании фиксирующей водородной связи [19, 20]. При применении дазатиниба не наблюдается непосредственного контакта с аминокислотным остатком E286, но как возможные механизмы резистентности рассматриваются позиционные изменения в непосредственном окружении T315I [19].

С учетом формирования абсолютной резистентности к ИТК при выявлении мутации T315I проводились неоднократные исследования с целью оценить влияние данной мутации на прогноз для жизни и вероятность прогрессии заболевания. Так, в многоцентровом исследовании французской группы было оценено течение болезни у 89 пациентов с резистентностью к терапии ИМ на фоне разнообразных мутаций *BCR/ABL*, при этом T315I была выявлена у 18 из 89 пациентов. Мутация T315I преимущественно определялась у пациентов в ФА и БК. При медиане наблюдения 39 мес. с начала терапии ИМ ОВ была статистически значимо ниже у пациентов с мутациями P-петли и T315I в сравнении с другими мутациями. В ХФ значительно хуже оказались показатели ВБП пациентов с T315I [21].

В то же время в исследовании на базе центра M.D. Anderson наблюдали 27 пациентов с мутацией T315I, при оценке выживаемости не было выявлено достоверных различий в популяции больных с мутацией T315I, другими мутациями киназного домена и при отсутствии мутаций. Так, по данным настоящего исследования, ОВ составила 41, 38 и 39 % среди пациентов с мутацией T315I, другими мутациями в киназном домене и при неизменной структуре *BCR/ABL* соответственно [22]. Причиной таких противоречивых наблюдений, скорее всего, служит малое количество оцениваемых случаев и, соответственно, статистическая незначимость данных применительно ко всей популяции больных с T315I.

В исследовании F.E. Nicolini и соавт., включившем 222 больных ХМЛ, было статистически значимо показано, что ОВ и ВБП зависят от фазы заболевания на момент верификации мутации [23].

Можно предположить, что появление мутации в гене *BCR/ABL* меняет биологические свойства лейкозной клетки. На сегодня известно, что мутация T315I не дает клетке пролиферативного преимущества по сравнению с лейкозной клеткой дикого типа. Подобная закономерность наблюдается как в исследованиях *in vitro*, так и на биологических моделях [19]. На основании этих исследований можно предположить, что риск прогрессии в продвинутой фазе ХМЛ у пациентов с мутацией T315I не выше по сравнению с больными также с резистентностью к ИМ, но без мутаций или с другими видами мутаций. При этом продолжение терапии ИТК в этой группе пациентов просто ведет к селекции клеток, экспрессирующих мутацию T315I, что было показано в исследованиях *in vitro* и *in vivo* [24]. Резистентность ко всем ИТК делает этих пациентов некурабельными путем современной консервативной терапии и закономерно ведет к прогрессии в ФА и БК. Хотя единственным способом эрадикации лейкозных клеток с мутацией T315I признана аллотрансплантация гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК), в литературе встречаются отдельные описания динамики величины клона с мутацией T315I на фоне терапии интерфероном и гомогаррингтонином. Так, отмечено уменьшение экспрес-

сии клона T315I на фоне проводимой терапии при сроке наблюдения 10 мес. у пациентов, ранее получавших терапию ИТК I и II поколения [25]. При этом проводимая терапия гомогаррингтонином и интерфероном позволила достичь ПГО и уменьшить уровень экспрессии Ph-позитивного клона, несмотря на присутствие мутации T315I. Таким образом, можно предположить, что при доказанном отсутствии пролиферативного преимущества у клеток с мутацией T315I по сравнению с клетками с диким фенотипом *BCR/ABL* со временем возможно вытеснение мутантного клона диким, независимо от отсутствия чувствительности клеток с T315I к проводимой терапии. Однако следует учитывать, что *BCR/ABL* способствует развитию в клетке геномной нестабильности, поэтому длительная персистенция лейкозных клеток при ХМЛ со временем может привести к накоплению в них других мутаций гена *BCR/ABL* или появлению новых хромосомных aberrаций, что может существенно усилить онкогенный потенциал клетки и ускорить прогрессию болезни в ФА и БК [26–30].

Приводим собственное наблюдение длительного течения ХМЛ с мутацией T315I.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Пациент В.А.П., 1949 г. р., впервые обратился к гематологу в 2003 г. в возрасте 54 лет в связи с изменениями в гемограмме. Диагноз ХФ ХМЛ был установлен в апреле 2003 г. на основании данных гемограммы (гиперлейкоцитоз до $150 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитоз до $608 \times 10^9/\text{л}$, базофильно-эозинофильная ассоциация: базофилы — 8 %, эозинофилы — 6,5 %; цитогенетического обследования (100 % Ph-позитивных клеток в гемограмме), картины миелограммы (сдвиг влево до бластных форм: бласты — 2,8 %, промиелоциты — 0,4 %, миелоциты — 40,2 %, метамиелоциты — 7,8 %, палочкоядерные и сегментоядерные гранулоциты — 37,2 %, базофильно-эозинофильная ассоциация: базофилы — 5 %, эозинофилы — 6,6 %). На момент постановки диагноза у пациента отмечалась выраженная спленомегалия (пальпаторно +10 см из-под реберной дуги), 3-я группа риска по критериям Sokal.

В течение 2 лет проводилась терапия гидроксимочевой (Гидреа) в дозе 500–2500 мг/сут с достижением частичного гематологического ответа. Сохранялась ХФ. Терапия ИМ в дозе 400 мг/сут была начата 20.05.2005 г. На момент начала терапии ИМ в гемограмме сохранялся тромбоцитоз до $744 \times 10^9/\text{л}$, в миелограмме: бласты — 1,2 %, промиелоциты — 0,6 %, миелоциты — 13 %, метамиелоциты — 5,2 %, палочкоядерные и сегментоядерные гранулоциты — 34,6 %, базофилия — до 15,4 %, эозинофилы — 4,8 %, лимфоциты — 13,8 %. При цитогенетическом исследовании в 100 % митозов обнаружился Ph-позитивный клон, впервые была зафиксирована дополнительная хромосомная аномалия — моносомия хромосомы 21. Ответ на терапию ИМ: при обследовании в динамике к 3 и 6 мес. лечения ПГО не был достигнут (сохранялся незначительный тромбоцитоз). При стандартном цитогенетическом исследовании 11.2005 г. (после 6 мес. лечения) какой-либо цитогенетический ответ не был получен, отмечено появление новых хромосомных aberrаций (табл. 1). У пациента сохранялись признаки ХФ, за исключением клональной эволюции (ФА — по критериям M.D. Anderson, ХФ — по критериям ELN). Доза ИМ была увеличена до 600 мг, однако отмечалась дальнейшая цитогенетическая прогрессия в виде появления новых клональных хромосомных изменений в Ph-позитивных клетках (см. табл. 1). ПГО также не был достигнут.

Таблица 1. Результаты цитогенетических исследований костного мозга у пациента В.А.П. за весь период наблюдения

Дата	Ph-клетки, %	Число метафаз	Кариотип
29.04.2003	100	20	46,XY, t(9;22)(q34;q11)
19.05.2005	100	30	46,XY, t(9;22)(q34;q11)
22.11.2005	100	14	45,XY, t(9;22)(q34;q11), -21
16.01.2006	100	20	45,XY, t(9;22)(q34;q11), -21
31.05.2006	100	30	45,XY, t(9;22)(q34;q11), -21 [20] / 48-49,XY, t(9;22)(q34;q11), +5, +8, +16 [7]
27.03.2007	100	20	45,X0, t(9;22)(q34;q11), -Y [15] / 42-44,X0, t(9;22)(q34;q11), -Y, -4, -21, -22 [5]
23.11.2007	100	19	45,X, t(9;22)(q34;q11), -Y [15] / 45,XY, t(9;22)(q34;q11), -21 [4]
12.02.2010	100	20	45,X0, t(9;22)(q34;q11), der22, +8, iso17q, -Y [20]

В связи с гематологической и цитогенетической резистентностью ИМ был отменен с 07.2006 г. Была возобновлена терапия гидроксимочевинной. Препараты ИТК нового поколения к тому времени не были зарегистрированы в России, и только в октябре 2006 г. появилась возможность включить пациента в клиническое исследование. Далее с 10.2006 г. по 08.2007 г. (в течение 11 мес.) проводилась терапия нилотинибом в дозе 800 мг/сут. Однако не было достигнуто не только какого-либо цитогенетического ответа, но и стабильного ПГО. Сохранялись дополнительные хромосомные aberrации (см. табл. 1).

С учетом зарегистрированной клинической резистентности к терапии ИТК I и II поколения был выполнен анализ мутационного статуса гена *BCR-ABL* методом прямого секвенирования, в ходе которого выявлена мутация Т315I (07.2007 г.). Более того, данная мутация ретроспективно определена и в пробе крови, взятой в июле 2006 г. на момент окончания терапии ИМ.

Учитывая наличие панрезистентной мутации гена *BCR-ABL*, обсуждалась возможность аллоТГСК как радикального метода терапии для данной категории больных. По шкале Grätwohl у него определялся высокий риск аллоТГСК (5 баллов). Эта шкала оценивает в баллах риск аллоТГСК при ХМЛ и включает в себя фенотип донора, фазу ХМЛ, возраст реципиента, пол донора и реципиента, длительность ХМЛ от диагноза до трансплантации. Тем не менее, учитывая наличие мутации Т315I, клональной эволюции и, следовательно, высокий риск клинической прогрессии болезни в ФА/БК, пациенту была предложена аллоТГСК. Пациент от начала поиска НЛА-совместимого донора стволовых клеток с целью выполнить аллоТГСК категорически отказался.

В дальнейшем, с 08.2007 г. по 11.2007 г., в рамках клинического исследования пациенту проводилась терапия ингибитором Аврора-киназ (3 курса), который в исследованиях *in vitro* показал активность в отношении линии клеток ХМЛ, экспрессирующих мутацию Т315I, что, вероятно, связано с блокированием препаратом *BCR-ABL*-независимых сигнальных путей пролиферации. Данная терапия была прекращена в связи с повторной гематологической токсичностью IV степени с развитием генерализованных инфекционных осложнений. Кроме того, гематологический и цитогенетический ответы не были достигнуты, а при молекулярно-генетическом исследовании сохранялась мутация Т315I.

С декабря 2007 г. пациенту проводилась терапия интерфероном по 5 млн единиц в сутки. ПГО не был достигнут, периодически к терапии добавляли гидроксимочевину в дозе 500–1000 мг/сут. При повторном молекулярном исследовании методом прямого секвенирования в 09.2009 г. и 02.2010 г. мутация Т315I не выявлена.

На фоне терапии интерфероном в феврале 2010 г. появились клинические признаки прогрессии болезни в

ФА (базофилия до 54 %, тромбоцитопения, не связанная с терапией интерфероном) с нарастающей слабостью, рецидивирующими носовыми кровотечениями. Постепенно нарастала анемия. При цитогенетическом исследовании выявлялись множественные дополнительные хромосомные поломки: дупликация хромосомы 22, трисомия 8, изосомия 17q-, моносомия Y (см. табл. 1). Продолжалась терапия гидроксимочевинной, интерферон был отменен.

При повторном обследовании в марте 2010 г. была зарегистрирована прогрессия заболевания в БК (31 % бластов по данным миелограммы). На фоне увеличения дозы циторедуктивной терапии гидроксимочевинной бластоз в костном мозге снизился, однако обращало на себя внимание сохранение в гемограмме практически тотальной базофилии. Наряду с тромбоцитопенией и анемией на фоне терапии гидроксимочевинной появилась глубокая нейтропения, осложнившаяся развитием сепсиса. Терапия гидроксимочевинной была прервана. При сохранении глубокой панцитопении повторно выполнили исследование костного мозга (пункция и трепанобиопсия) и выявили гипоплазию кроветворения и значительный ретикулинозный фиброз. В контрольной миелограмме (06.05.2010 г.) вновь зарегистрирован бластоз до 34 %, увеличилось количество лейкоцитов, сохранялась анемия и тромбоцитопения, требующие регулярных гемотрансфузий. С учетом отсутствия мутации Т315I в повторных анализах пациенту с 8.05.2010 г. была начата специфическая терапия дазатинибом в дозе 140 мг/сут, на фоне которой был получен положительный эффект в виде быстрого снижения лейкоцитоза, уменьшения количества бластных клеток и спленоомегалии. Однако сохранялась выраженная тромбоцитопения и анемия. Через несколько дней (11.05.2010 г.) при продолжающейся терапии дазатинибом был выявлен перикардиальный выпот с частичным коллапсированием правого желудочка сердца, но без значимых гемодинамических нарушений. С учетом тромбоцитопении IV степени, а также отсутствия гемодинамических осложнений пункцию перикарда не выполняли. Терапия дазатинибом была прекращена (11.05.2010 г.), проводилось сдерживающее лечение 6-меркаптопурином. На этом фоне отмечалось прогрессивное ухудшение состояния: нарастание интоксикации, полиорганной недостаточности, распространенного геморрагического синдрома, появление водно-электролитных, метаболических расстройств, общемозговой симптоматики (лабораторных признаков нейролейкоза не зарегистрировано). Несмотря на проведение интенсивной симптоматической терапии, 13.05.2010 г. пациент умер.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у пациента с первичной гематологической и цитогенетической резистентностью к ИТК I и II по-

коления, несмотря на наличие мутации Т315I, а также клональной эволюции, отмечалось длительное сохранение клинической ХФ заболевания. Через 22 мес. после отмены ИТК в повторных анализах мутация Т315I не определялась. За все время персистенции клеток, экспрессирующих данную мутацию, у пациента сохранялась клиническая ХФ ХМЛ, хотя клональная эволюция как признак биологической прогрессии болезни выявлялась длительное время. Более того, вскоре после исчезновения Т315I-содержащих клеток появились очевидные клинические признаки прогрессии заболевания. Интересно, что возобновление терапии ИТК привело к редукции опухолевых клеток (быстрое уменьшение лейкоцитоза и спленоомегалии). К сожалению, дазатиниб был вскоре отменен из-за развития выпота в полость перикарда, вероятно связанного с его приемом, поэтому оценить длительность эффекта применения препарата не удалось.

Данное клиническое наблюдение может быть подтверждено сообщениями, свидетельствующих, что онкогенный потенциал клеток с мутацией Т315I ниже или сравним с таковым родительских клеток ХМЛ без добавочных мутаций. В связи с низкой пролиферативной активностью *BCR-ABL* Т315-позитивных клеток после отмены ИТК, по-видимому, возможно восстановление исходного родительского клона ХМЛ. Хотя пациент длительное время получал терапию препаратами интерферона- α , преимущественное влияние препаратов данной группы на мутантные клетки по сравнению с немутантными представляется маловероятным. Требуются длительные наблюдения за большой группой пациентов при использовании высокочувствительных методов детекции мутации Т315I для изучения ее биологических характеристик (значимость в прогрессии ХМЛ, пролиферативная активность, эффективность препаратов интерферона и т. д.). Необходимы новые эффективные консервативные средства для эрадикации мутантных клеток Т315I, т. к. далеко не всем пациентам может быть проведена аллоТГСК, в т. ч. из-за отказа от данного вида лечения, как это, к сожалению, сделал наш пациент.

ЛИТЕРАТУРА

1. Deininger M., O'Brien S.G., Guilhot F. et al. ASH Annual Meeting and Exposition International Randomized Study of Interferon vs STI571 (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: 462.
2. Ломаи Е.Г., Моторин Д.В., Романова Е.Г. и др. Хронический миелолейкоз — до и после иматиниба (часть I). Онкогематология 2009; 2: 4–15.
3. Ломаи Е.Г., Лазорко Н.С., Саламатова Е. и др. Хронический миелолейкоз — до и после иматиниба (часть II). Онкогематология 2009; 3: 40–56.
4. Ломаи Е.Г., Коноплева М.Ю., Романова Е.Г. и др. Хронический миелолейкоз — до и после иматиниба (часть III). Онкогематология 2010; 1: 5–21.
5. Druker B.J., Talpaz M., Resta D.J. et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the *BCR-ABL* tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. N. Engl. J. Med. 2001; 344(14): 1031–7.

6. Hochhaus A. et al. Resistance to targeted therapy in chronic myelogenous leukemia. Semin. Haematol. 2007; 44: 15–24.
7. Litzow M.R. Imatinib resistance: obstacles and opportunities. Arch. Pathol. Lab. Med. 2006; 130: 669–79.
8. O'Hare T. et al. *BCR/ABL* kinase domain mutations, drug resistance and road to a cure of chronic myeloid leukemia. Blood 2007; 110: 2242–9.
9. Vaccarini M., Cortes J., Pane F. et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. JCO 2009; 27(35): 6041–51.
10. Bixby D., Talpaz M. Mechanisms of resistance to tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia and recent therapeutic strategies to overcome resistance. Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program 2009; 461–76.
11. 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.
12. Hantschel O., Superti-Furga G. Regulation of the *c-Abl* and *Bcr-Abl* tyrosine kinases. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2004; 5: 33–44.
13. Levinson N.M. et al. A Src-Like Inactive Conformation in the *Abl* Tyrosine Kinase Domain. PLoS Biol. 2006; 4: 5–144.
14. Nagar B., Bornmann W.G. et al. Crystal Structures of the Kinase Domain of *c-Abl* in Complex with the Small Molecule Inhibitors PD173955 and Imatinib (STI-571). Cancer Res. 2002; 62: 4236–43.
15. Schindler T. et al. Structural Mechanism for STI-571 Inhibition of *Abelson* Tyrosine Kinase. Science 2000; 289: 1938–42.
16. Jabbour E., Kantarjian H., Jones D. et al. Frequency and clinical significance of *BCR-ABL* mutations in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib mesylate. Leukemia 2006; 20: 1767–73.
17. Lee T.S., Potts S.J., Kantarjian H. et al. Molecular basis explanation for imatinib resistance of *BCR-ABL* due to T315I and P-loop mutations from molecular dynamics simulations. Cancer 2008; 112: 1744–53.
18. Jakob R.E., Dumitrescu T.P. et al. Conformational disturbance in *Abl* kinase upon mutation and deregulation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2009; 106(5): 1386–91.
19. Weisberg E., Manley P., Mestan J. et al. AMN107 (nilotinib): a novel and selective inhibitor of *BCR-ABL*. Br. J. Cancer 2006; 94: 1765–9.
20. Von Bubnoff N., Manley P.W., Mestan J. et al. *BCR-ABL* resistance screening predicts a limited spectrum of point mutations to be associated with clinical resistance to the *ABL* kinase inhibitor nilotinib (AMN107). Blood 2006; 108: 1328–33.
21. 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-LMC GROUP). Leukemia 2006; 20(6): 1061–6.
22. Jabbour E., Kantarjian H., Jones D. et al. Characteristics and outcomes of patients with chronic myeloid leukemia and T315I mutation following failure of imatinib mesylate therapy. Blood 2008; 112(1): 53–5.
23. Nicolini F.E., Mauro M.J. et al. Epidemiological study on survival of chronic myeloid leukemia (CML) and Ph+ acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients with *BCR-ABL* T315I mutation. Blood 2009; 114(26): 5271–8.
24. Miething C., Feihl S., Mugler C. et al. The *Bcr-Abl* mutations T315I and Y253H do not confer a growth advantage in the absence of imatinib. Leukemia 2006; 20: 650–7.
25. Lavallade H., Khorashad J.S., Davis H.P. et al. Interferon-alpha or homoharringtonine as salvage treatment for chronic myeloid leukemia patients who acquire the T315I *BCR-ABL* mutation. Blood 2007; 110: 7.
26. Ahn J.S., Kim Y.K., Lee S.R. et al. Coexisting with Clonal Evolution and *BCR-ABL* Mutant in CML Patients Treated with Second-generation Tyrosine Kinase Inhibitors Predict the Discrepancy of *in vitro* Drug Sensitivity. Cancer Res. Treat. 2010; 42(1): 37–41.
27. Kantarjian H., Giles F. et al. Nilotinib in Imatinib-Resistant CML and Philadelphia Chromosome-Positive ALL. N. Engl. J. Med. 2006; 354: 2542–51.
28. Talpaz M., Shah N.P., Kantarjian H. et al. Dasatinib in Imatinib-Resistant Philadelphia Chromosome-Positive Leukemias. N. Engl. J. Med. 2006; 354: 2531–41.
29. Cortes J., Jabbour E., Kantarjian H. et al. Dynamics of *BCR-ABL* kinase domain mutations in chronic myeloid leukemia after sequential treatment with multiple tyrosine kinase inhibitors. Blood 2007; 110: 4005–11.
30. Shah N.P., Scaggs B.J., Branford S. et al. Sequential *Abl* kinase inhibitors therapy selects for compound drug-resistant *BCR-ABL* mutations with altered oncogenic potency. J. Clin. Invest. 2007; 117: 2562–9.