Вплив терміну попереднього лікування на ефективність терапії нілотинібом у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію

І.В. ДМИТРЕНКО, І.С. ДЯГІЛЬ, Ж.М. МІНЧЕНКО, З.В. МАРТИНА,
 В.Г. ФЕДОРЕНКО, Т.Ю. ШЛЯХТИЧЕНКО, В.В. ШОЛОЙКО, О.О. ДМИТРЕНКО

Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини
 Національної академії медичних наук України», Київ, Україна

E-mail: iryna.v.dmytrenko@gmail.com

Еволюція терапії хронічної мієлоїдної лейкемії (ХМЛ) пройшла шлях від використання цитостатиків загальної дії (бусульфан, гідроксисечовина), лікування альфа-інтерфероном (INF- α), використання аlogenної трансплантації кісткового мозку до застосування інгібіторів протеїнкіназ (ІТК) [1,2]. Впровадження таргетної терапії суттєво змінило результат лікування хворих на ХМЛ. За даними міжнародного рандомізованого дослідження IRIS через 60 місяців монотерапії імаїнібом безподійна виживаність пацієнтів з ХМЛ (виживаність без ознак захворювання) становила 83 % [3], а загальна виживаність через 10 років такої терапії дорівнювала 83,3 % [4].

Наявність пацієнтів, які не відповідають на лікування імаїнібом, створила підґрунтя для розробки ІТК наступних поколінь. Різна інгібуюча активність нових ІТК зумовлена різною хімічною структурою, яка визначає відмінності у точках з'єднання інгібітора і тирозинкінази. Нілотиніб є інгібітором *BCR/ABL*-тирозинкінази з більшою ефективністю і селективністю, ніж імаїніб [5]. Нілотиніб був затверджений в Україні в 2008 р. як терапія 2-ї лінії для пацієнтів, резистентних до імаїнібу, а з 2012 р. – як препарат 1-ї лінії терапії.

Результати багатоцентрового рандомізованого дослідження ENESTnd довели кращу ефективність нілотинібу порівняно з імаїнібом [6,7]. У такі дослідження залучалися тільки пацієнти, які відповідали критеріям включення–виключення. Особливо це стосується наявності та тривалості лікування до призначення ІТК. Проте в щоденній клінічній практиці більшість пацієнтів має попередню історію лікування. Як показано у наших дослідженнях, термін попереднього лікування значуще впливає на ефективність терапії ІТК 1-го покоління імаїнібом [8]. Отже, на сьогодні обмежені дані про ефективність нілотинібу у пацієнтів з ХМЛ поза клінічними дослідженнями.

Мета дослідження – оцінити ефективність першої лінії терапії нілотинібом та прогностичне значення тривалості лікування до призначення нілотинібу в українській когорті пацієнтів з ХМЛ.

Матеріали й методи дослідження. Було обстежено 64 пацієнти з ХМЛ у хронічній фазі, які перебували під наглядом або на консультативному прийомі у відділенні радіаційної онкогематології і трансплантації стовбурових клітин Інституту клінічної радіології Національного наукового

центру радіаційної медицини за період з 2012 по 2019 рр. У всіх пацієнтів отримано інформовану згоду на використання їх біоматеріалу для дослідження. У групі обстежених пацієнтів було 30 (46,9 %) чоловіків та 34 (53,1 %) жінки. Медіана віку пацієнтів на час встановлення діагнозу становила 45 років (від 21 до 82 років). Більшість пацієнтів (78 %) до призначення нілотинобіу отримувала попереднє лікування різними препаратами (гідроксисечовина, бусульфан, інтерферон) тривалістю від 1 до 177 місяців (медіана 7,5 міс.). Добова доза нілотинобіу була 600 мг. Медіана спостереження становили 47 міс. (6–84 міс.).

Молекулярний моніторинг терапії нілотинобіом проводили методом зворотнотранскриптно-полімеразної ланцюгової реакції (ЗТ-ПЛР) з детекцією у реальному часі через 3, 6 та 12 міс. терапії, далі кожні 6 міс. згідно з рекомендаціями ELNet [9]. Для оцінки ефективності терапії аналізували сурогатні маркери (повну цитогенетичну відповідь (ПЦВ) та велику молекулярну відповідь (ВМВ) через 12 міс. терапії, а також глибоку молекулярну відповідь (МВ4) через 24 міс. терапії) та довгострокові показники ефективності (безподійну виживаність (EFS), виживаність без прогресії (PFS) та загальну виживаність (OS)). Глибина редукції пухлинного клону оцінювалась за рівнем експресії гена *BCR/ABL1*: *BCR/ABL1* від 0,1 до 1% вважали еквівалентом повної цитогенетичної відповіді, *BCR/ABL1* від 0,01 до 0,1% – великої молекулярної відповіді та *BCR/ABL1* $\leq$ 0,01 – глибокої молекулярної відповіді. Як контрольний ген використовували ген *ABL1* [9].

Кумулятивну вірогідність ПЦВ, ВМВ та МВ4, а також PFS, EFS та OS розраховували за методом Kaplan-Meier та порівнювали за допомогою log-rank тесту [10]. PFS визначали як виживаність без ознак прогресії (трансформації в фазу акселерації або бластного кризу). Подією при розрахунку ймовірності EFS вважали смерть від будь-яких причин, прогресію і втрату досягнутої ПЦВ або ВМВ. OS розраховували від дати встановлення діагнозу до дати смерті або останнього візиту. Статистичний аналіз проводили з використанням пакету статистичних програм SPSS for Windows (версія 20.0). Розбіжності між параметрами, що порівнювалися, вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Через 12 міс. терапії ІТК зменшення пухлинного клону до рівня великої молекулярної відповіді (*BCR/ABL1* $< 0,1\%$) визначалося у 63,7% пацієнтів, що означало оптимальну відповідь згідно з критеріями ELNet 2013 [9] (рис. 1). За той же період часу відсутність редукції пухлинного клону до рівня повної цитогенетичної відповіді (*BCR/ABL1* $> 1\%$) реєстрували у 22,8% з групи обстеження. Ці пацієнти були віднесені до групи первинно резистентних до терапії нілотинобіом [9]. У 13,5% пацієнтів, які отримували нілотинобі, до 12 міс. терапії реєструвалася тільки ПЦВ. Згідно з рекомендаціями ELNet 2013 вони входили до групи «застереження» [9]. Редукція пухлинного клону через 24 міс. терапії ІТК до рівня МВ4 (*BCR/ABL1* $\leq 0,01\%$) становила 39,2%.

Рис. 1. Редукція пухлинного клону у пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ через 12 міс. терапії нілотинобіом

Усього за весь період терапії нілотинібом ПЦВ досягли 81,2% пацієнтів, ВМВ – 73,4% пацієнтів, а МВ4 – 51,6% пацієнтів. Редукція пухлинного клону тільки до рівня ПЦВ за весь період лікування була зареєстрована у 7,9% пацієнтів. Не досягли відповіді протягом усього періоду спостереження 18,8% пацієнтів. За весь період спостереження з 52 пацієнтів (81,2%), у яких спостерігалась редукція пухлинного клону до рівня ПЦВ та глибше, ніхто не втратив досягнуту молекулярну або цитогенетичну відповідь.

Прогресія до ФА та БК, яка призвела до летального наслідку, була зафіксована у 2 з 64 пацієнтів (3,1%). Ще в одного пацієнта смерть не була пов'язана з ХМЛ. Розраховані 5-річні *EFS* та *PFS* були однакові та становили 96,3% (95% ДІ: 91,2% – 100%). Розрахована 5-річна загальна виживаність дорівнювала 94,2% (95% ДІ: 87,7% – 100%).

Для оцінки впливу терміну попереднього лікування на ефективність терапії нілотинібом порівнювали відповідь на терапію шляхом аналізу ступеню редукції пухлинного клону на 12 міс. та 24 міс. терапії нілотинібом, аналізу динаміки досягнення ПЦВ, ВМВ та МВ4, а також аналізу розрахованих показників 5-річних *EFS*, *PFS* та *OS* в трьох групах пацієнтів відповідно до терміну передлікованості (табл. 1). Через 12 міс. терапії нілотинібом було виявлено статистично значуще зменшення частоти досягнення ВМВ ($BCR/ABL1 \leq 0,1\%$) ($p = 0,028$) та збільшення частоти розвитку первинної резистентності (редукція пухлинного клону тільки до рівня $BCR/ABL1 > 1\%$) ($p = 0,003$) у групах пацієнтів з періодом передлікованості понад 12 міс. порівняно з пацієнтами, які отримували попередню терапію менш ніж 12 міс. Також виявлено тенденцію до зниження частоти досягнення МВ4 у пацієнтів, у яких термін попереднього лікування перевищував 12 міс., проте відмінності не були статистично значущі ($p = 0,186$) (табл. 1).

Таблиця 1

Відповідь на терапію нілотинібом у пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ залежно від терміну попереднього лікування ($n = 64$)

Показник	Тривалість лікування до призначення нілотинібу			Рівень значущості, p
	< 12 міс.	12–36 міс.	> 36 міс.	
Кількість пацієнтів, n	36	22	6	
Редукція пухлинного клону через 12 міс. терапії нілотинібом:				
Велика молекулярна відповідь ($BCR/ABL1 \leq 0,1\%$), %	79,3	50,0	33,3	0,028*
Первинна резистентність ($BCR/ABL1 > 1\%$), %	6,9	31,8	66,7	0,003*
Редукція пухлинного клону через 24 міс. терапії нілотинібом:				
Глибока молекулярна відповідь ($BCR/ABL1 \leq 0,01\%$), %	45,2	22,7	20,0	0,186

Примітка: * – статистично значуща відмінність.

Встановлено позитивний кореляційний зв'язок між тривалістю лікування до призначення нілотинібу та розвитком первинної резистентності через 12 міс. терапії (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = 0,434$, $p = 0,001$), а також негативний кореляційний зв'язок між тривалістю лікування до призначення нілотинібу та досягненням оптимальної відповіді через 12 міс. терапії (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,385$, $p = 0,003$). Аналіз динаміки досягнення ПЦВ, ВМВ та МВ4 методом Kaplan-Meier показав статистично значуще зменшення швидкості редукції пухлинного клону до рівня ПЦВ, ВМВ та МВ4 у пацієнтів, у яких тривалість лікування до призначення нілотинібу перевищувала 12 міс. (рис. 2, 3, 4)

Рис. 2. Вірогідність досягнення повної цитогенетичної відповіді залежно від тривалості лікування до призначення терапії нілотинібом у пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ

Рис. 3. Вірогідність досягнення великої молекулярної відповіді залежно від тривалості лікування до призначення нілотинібом у пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ

Рис. 4. Вірогідність досягнення глибокої молекулярної відповіді залежно від тривалості лікування до призначення терапії нілотинібом у пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ

У групах порівняння не було визначено статистично значущих відмінностей в показниках 5-річної виживаності без прогресії та загальної виживаності (табл. 2).

Таблиця 2

**Довгострокові показники відповіді на терапію
нілотинібом у пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ
залежно від терміну попереднього лікування ($n = 64$)**

Показник	Тривалість лікування до призначення нілотинібом			Рівень значущості, p
	< 12 міс.	12–36 міс.	> 36 міс.	
Кількість пацієнтів, n	36	22	6	
Розрахована 5-річна виживаність без прогресії (PFS), % (95% ДІ)	97,2 (91,9–100)	94,4 (83,8–100)	100	0,876
Розрахована 5-річна загальна виживаність (OS), % (95% ДІ)	93,8 (85,6–100)	94,1 (83,0–100)	100	0,880

У нашому дослідженні систематизовані дані щодо ефективності застосування нілотинібом в першій лінії терапії ХМЛ у хронічній фазі в щоденній клінічній практиці. Проаналізовано також вплив терміну лікування до призначення нілотинібом на ефективність такої терапії. Показано, що терапія нілотинібом в дозі 300 мг двічі на добу дала змогу отримати ВМВ через 12 міс. у 63,7% пацієнтів, а МВ4 – через 24 міс. терапії у 39,2%, що суттєво перевищувало показники ефективності іматинібом, наведені у рандомізованих клінічних дослідженнях (22–27% та 18% для ВМВ та МВ4 відповідно) [6, 11]. Це зумовлено більшою потужністю та селективністю нілотинібом до *BCR/ABL1*. У дослідженнях *in vitro* показано, що концентрація нілотинібом, необхідна для інгібування росту Ph^+ клітин, у багато разів нижча, ніж іматинібом [12]. Нілотинібом також виявився активним у 32 і 33 на даний момент стійких до іматинібом клітинних ліній з мутантними формами *BCR/ABL1* [13]. Однак, незважаючи на доведену ефективність нілотинібом щодо швидкості та глибини редукції пухлинного клону, загальна виживаність пацієнтів, які отримували нілотинібом у нашому дослідженні та іматинібом в рамках клінічних досліджень, не відрізнялась [4, 7, 11].

У роботі показано, що затримка з призначенням нілотинібом більш ніж на 12 міс. статистично значуще знижує ефективність редукції пухлинного клону до рівня ВМВ та збільшує вірогідність розвитку первинної резистентності. Можна припустити, що в умовах патологічної активності *BCR/ABL1* тирозинкінази лейкемічні клітини набувають властивостей, які зумовлюють розвиток резистентності до терапії нілотинібом. Згідно з N. Muvarak зі співат. *BCR/ABL1*, кіназа діє як “мутатор”, ініціюючи геномну нестабільність. Припускають, що причиною може бути підвищене ендогенне утворення активних форм кисню, що призводить до порушення ДНК. Водночас експресія *BCR/ABL1* призводить до пошкодження системи репарації ДНК, що полегшує появу нових аберацій [14].

Висновки. Застосування нілотинібом у пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ є надзвичайно ефективним та дає змогу отримати ВМВ (через 12 міс. терапії у 63,7% пацієнтів, а МВ4 через 24 міс. терапії у 39,2%). Своєчасне призначення нілотинібом як першої лінії терапії ІТК суттєво зменшує ризик розвитку первинної резистентності.

Подяка. Автори висловлюють подяку всім лікарям-гематологам, організаторам охорони здоров'я та благодійному фонду пацієнтів «Крапля крові» за допомогу в організації діагностики і моніторингу пацієнтів з хронічною мієлоїдною лейкемією.

ПОСИЛАННЯ

1. Хельманн Р, Заусселе С. Современные возможности терапии первой линии хронического миелолейкоза в хронической фазе Клиническая онкогематология. 2014;7(1):9–15 (Hehlmann R, Sauße S. Current best options for first line treatment of chronic phase chronic myeloid leukemia. *Clinical oncohematology*. 2014;7(1):9–15).
2. Kantarjian H, O'Brien S, Jabbour E, Garcia-Manero G, Quintas-Cardama A, Shan J et al. Improved survival in chronic myeloid leukemia since the introduction of imatinib therapy: a single-institution historical experience. *Blood*. 2012;119(9):1981–87. doi: 10.1182/blood-2011-08-358135.
3. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, Gathmann I, Kantarjian H, Gattermann N et al. Five year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *The New England journal of medicine*. 2006;355:2408–17. doi: 10.1056/NEJMoa062867.
4. Hochhaus A, Larson RA, Guilhot F, Radich JP, Branford S, Hughes TP et al. Long-term outcomes of imatinib treatment for chronic myeloid leukemia. *The New England journal of medicine*. 2017;376(10):917–27. doi: 10.1056/NEJMoa1609324.
5. O'Hare T, Walters DK, Deininger WN, Druker BJ. AMN107: Tightening the grip of imatinib. *Cancer Cell*. 2005;7(2):117–9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.01.020>.
6. Hochhaus A, Saglio G, Hughes TP, Larson RA, Kim DW, Issaragrisil S et al. Long-term benefits and risks of frontline nilotinib vs imatinib for chronic myeloid leukemia in chronic phase: 5-year update of the randomized ENESTnd trial. *Leukemia*. 2016;30(5):1044–54. doi: 10.1038/leu.2016.5.
7. Nakamae H, Fukuda T, Nakaseko C, Kanda Y, Ohmine K, Ono T et al. Nilotinib vs. imatinib in Japanese patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase: long-term follow-up of the Japanese subgroup of the randomized ENESTnd trial. *International journal of hematology*. 2018;107(3):327–36. doi: 10.1007/s12185-017-2353-7.
8. Дмитренко ІВ, Дягіль ІС, Мінченко ЖМ, Мартіна ЗВ, Федоренко ВГ, Шляхтиченко ТЮ та ін. Прогностичні фактори відповіді на терапію інгібіторами тирозинкіназ в українській когорті пацієнтів з хронічною мієлоїдною лейкемією. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2018;24:17–24 (Dmytrenko I, Diahil I, Minchenko Zh, Martina Z, Fedorenko V, Shliaktichenko T et al. Prohnostychni faktory vidpovidy na terapiu inhibitoramy tyrozynkinaz v ukrainskii kohorti patsiientiv z khronichnoiu mieloidnoiu leukemiieiu. *Visnyk Kyivskoho natsionalnoho universytetu imeni Tarasa Shevchenko. Serii: Problemy rehuliatcii fiziologichnykh funktsii*. 2018;24: 17–24).
9. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2013;122(6):872–884. doi:10.1182/blood-2013-05-501569.
10. Шарашова ЕЕ, Холматова КК, Горбатова МА, Гржибовский АМ. Применение анализа выживаемости в здравоохранении с использованием пакета статистических программ SPSS. Наука и Здравоохранение. 2017;5:5–28 (Sharashova EE, Holmatova KK, Gorbatova MA, Grzhibovskij AM. Survival analysis in health sciences using SPSS software. *Science & Healthcare*. 2017;5: 5–28).
11. Saglio G, Kim D-W, Issaragrisil S, le Coutre P, Etienne G, Lobo C et al. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *The New England journal of medicine*. 2010;362:2251–9. doi: 10.1056/NEJMoa0912614.
12. Puttini M, Coluccia AM, Boschelli F, Cleris L, Marchesi E, Donella-Deana A et al. In vitro and in vivo activity of SKI-606, a novel Src-Abl inhibitor, against imatinib-resistant Bcr-Abl+ neoplastic cells. *Cancer Research*. 2006;66(23):11314–22. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1199.
13. Mughal TI, Radich JP, Deininger MW, Apperley JF, Hughes TP, Harrison CJ et al. Chronic myeloid leukemia: reminiscences and dreams. *Haematologica*. 2016;101(5):541–58. doi: 10.3324/haematol.2015.139337.
14. Muvarak N, Nagaria P, Rassool FV. Genomic instability in chronic myeloid leukemia: targets for therapy? *Current hematologic malignancy reports*. 2012;7(2):94–102. doi: 10.1007/s11899-012-0119-0.

RESEARCH ARTICLE

**The Previous Treatment Value
for the Nilotinib Therapy Efficiency in Patients
with Chronic Myeloid Leukemia**

*I.V. DMYTRENKO, I.S. DYAGIL, Zh.M. MINCHENKO,
Z.V. MARTINA, V.G. FEDORENKO, T.Y. SHLYAKHTYCHENKO,
V.V. SHOLOYKO, O.O. DMYTRENKO*

*State Institution “National Research Center for Radiation Medicine
of National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv, Ukraine*

E-mail: iryna.v.dmytrenko@gmail.com

Introduction. Nilotinib efficiency as the first line therapy was assessed in randomized company-sponsored and academic trials. However, there is currently limited data on the nilotinib efficacy in patients with chronic myeloid leukemia (CML) beyond clinical trials. We aimed to investigate in a real-life setting the response and the outcome on first-line nilotinib therapy and to evaluate prognostic value of pretreatment time before nilotinib administration in Ukrainian CML patient's cohort.

Materials and methods. We analysed 64 CML patients followed up in the National Research Center for Radiation Medicine (Kyiv, Ukraine) during the period 2012–2019. All patients were in chronic phase and received nilotinib 600 mg/day. Among examined patients there were 30 (46.9%) men and 34 (53.1%) women. The median age was 45 years (21–82 years). The majority of patients (78%) received prior treatment lasting from 1 to 177 months (Me = 7.5 months). Median of follow-up was 47 months (6–84) months. Molecular monitoring of nilotinib therapy was performed by real-time RT-PCR at 3, 6, and 12 months of therapy and every 6 months thereafter. Cumulative incidence of complete cytogenetic response (CCR), major molecular response (MMR), deep molecular response (MR4) and long-term overall survival (OS), event-free survival (EFS), and progression-free survival (PFS) were evaluated.

Results. The tumor clone reduction to the level of MMR at 12 months of nilotinib therapy (optimal response) was detected in 63.7% of patients. Therapy failure at 12 months was registered in 22.8 % patients. In 13.5% of patients at 12 months of therapy was recorded only CCR. They formed a “warning” group. The MR4 rate at 24 months was 39.2%. In the entire follow-up period, of the 52 patients (81.2%) who had a tumor clone reduction to CCR and beyond, none lost achieved molecular or cytogenetic response. Two patients progressed to accelerated phase followed with blastic crisis. Five-year EFS, PFS and OS rates for all patients were 96.3%, 96.3% and 94.2%, respectively. We revealed significant reduction in the incidence of MMR ($p = 0.028$) at 12 months and an increase in the primary resistance rate ($p = 0.003$) in patients with a pre-treatment period of more than 12 months compared with patients receiving prior therapy for less than 12 months.

There was a positive correlation between the duration of treatment before nilotinib administration and the development of primary resistance after 12 months of nilotinib therapy (Spearman correlation coefficient $\rho = 0.434$, $p = 0.001$), as well as a negative correlation between the duration of treatment before nilotinib administration and optimal response at 12 months of nilotinib therapy (Spearman correlation coefficient $\rho = -0.385$, $p = 0.003$). Kaplan-Meier analysis showed significant reduction in the rate of CCR, MMR and MR4 in patients with duration of nilotinib treatment more 12 months. No statistically significant differences were found in the 5-year PFS and OS rates in patients with different pretreatment term.

Conclusion: The use of nilotinib in patients with chronic phase CML is extremely effective. Timely nilotinib administration as the first line of TKI therapy significantly reduces the risk of primary resistance development.

Key words: chronic myeloid leukemia, tyrosine kinase inhibitors, therapeutic efficacy, molecular response, cytogenetic response.