

CHRONICKÁ MYELOCYTOVÁ LEUKÉMIA – OD MOLEKULOVEJ PATOGENÉZY K CIELENEJ LIEČBE

Peter Rohoň¹, Daniela Žáčková²

¹Hemato-onkologická klinika FN a LF UP v Olomouci

²Interní hematoonkologická klinika FN a LF MU v Brně

Chronická myelocytová leukémia (CML) je myeloproliferatívne ochorenie charakterizované prítomnosťou chromozómu Philadelphia (Ph) a/alebo fúzneho génu BCR/ABL. Imatinib mesylát (IM, Glivec®) predstavuje prvú molekulovú cieleňú liečbu, ktorá špecificky inhibuje Bcr/Abl tyrozínovú kinázu (TK). Vďaka svojej vynikajúcej účinnosti je v súčasnosti liekom 1. línie u pacientov s novo diagnostikovaným ochorením. Vznik rezistencie k tejto molekule je aktuálne považovaný za najväčší terapeutický problém pri jeho podávaní. V priebehu 5 rokov ohrozuje 20–30 % pacientov. Príčinou rezistencie sú najčastejšie bodové mutácie v oblasti Abl kinázovej domény. V menšej miere sa uplatňuje hyperexpresia BCR/ABL génu, de novo získané cytogenetické aberácie alebo mechanizmy ovplyvňujúce hladinu lieku v leukemických bunkách. Cieľom nových liečebných postupov v prípade zlyhania IM je prekonanie spomínaných mechanizmov novými inhibítormi tyrozínových kináz (TKI), ktoré pôsobia i proti väčšine IM-rezistentných klonov s mutáciami v Abl kinázovej doméne. V súčasnosti je kladený dôraz i na imunoterapiu CML, predovšetkým s prihliadnutím k prvým úspechom vakcín. Postavenie alogénnej transplantácie krvotvorných buniek (AT-KB) nie je v ére TKI jednoznačné – stáva sa z nej metóda, ktorej využitie je u dospelých pacientov obmedzené na prípady rezistencie k TKI. **Kľúčové slová:** CML, BCR/ABL fúzny gén, rezistencia k IM, TKI, imunoterapia.

CHRONIC MYELOID LEUKEMIA – FROM MOLECULAR PATHOGENESIS TO TARGETED THERAPY

Chronic myeloid leukemia (CML) is the myeloproliferative disorder characterized by the presence of Philadelphia chromosome (Ph) and/or BCR/ABL fusion gene. Imatinib mesylate (IM, Glivec®) was developed as the first molecularly targeted therapy that specifically inhibits the Bcr/Abl tyrosine kinase (TK). IM becomes first-line treatment for patients with newly diagnosed CML in chronic phase. Nevertheless, resistance to the drug has been frequently reported and it presents dominant problem in 20–30 % of CML patients after 5 years of treatment. Point mutations within Abl kinase domain are regarded as the major cause of resistance. In some patients the resistance is caused by overexpression of Bcr/Abl protein, novel acquired cytogenetic aberrations and by low drug level in leukemic cells. New treatment strategies in case of IM failure in CML patients are focused on overcoming of described mechanisms by new molecules which are more potent Bcr/Abl tyrosine kinase inhibitors (TKI) than imatinib and more effective against imatinib-resistant clones with mutations in Abl kinase domain. Presently, immunotherapy of CML has been studied with regard to first reports on successful use of vaccines. The role of allogeneic stem cell transplantation (ASCT) in the TKI era is not unambiguous, the main indication may be limited to TKI-resistant patients.

Key words: CML, BCR/ABL fusion gene, resistance to IM, TKI, immunotherapy.

Onkologie, 2008; 2(3): 150–155

Úvod

CML je v podstate klonálnou poruchou hematopoetickej kmeňovej bunky s diferenciáciou prevažne do myeloidného radu. Typickým cytogenetickým nálezom je tzv. chromozóm Philadelphia (Ph), ktorý je dôsledkom recipročnej translokácie t(9;22)(q34;q11). Pri nej vzniká fúzny gén BCR/ABL kódujúci chimérický proteín s konštitutívne zvýšenou TK aktivitou a kľúčovým podielom na leukemogénéze (1). Zásadný prielom v liečbe CML priniesol IM, ktorý účinkuje pomocou interakcie s inaktívne konformovaným proteínom Bcr/Abl (p210) v mieste väzby pre ATP. Pri väzbe IM dochádza k stabilizácii proteínu, pozastavuje sa autofosforylácia tyrozínových zvyškov, čo napokon vedie k zablokovaniu fosforylácie proteínov signálnych dráh podieľajúcich sa na leukemickom fenotype bunky (2). IM je selektívny, kompetitívny inhibitor Bcr/Abl TK, ktorý získal miesto lieku 1. línie v liečbe dospelých pacientov s Ph + CML. Po 6 rokoch liečby prežíva 88 % chorých, u ktorých bola liečba zahájená vo

včasnej chronickej fáze (CP), vlastné ochorenie bolo príčinou 5 % úmrtí (3, 4). Je zrejmé, že i pri kompletnej molekulovej odpovedi (CMR) pretrvávajú v organizme určitý počet leukemických buniek, ktoré však môžu byť kontrolované imunitnými mechanizmami (obrázok 1). Pri liečbe IM sa môže vytvoriť k tejto molekule rezistencia (5). Okrem IM existujú aj ďalšie TKI, tzv. malé „rozumné“ molekuly (smart drugs), ktoré inhibujú najmä oblasť ATP väzbového miesta – to však často podlieha mutáciám.

CML je výrazne imunogénne ochorenie. Darcovský imunitný systém umožňuje vyliečenie choroby mechanizmom reakcie štepu proti leukémii (graft versus leukemia, GvL). Časť pacientov liečených interferónom- α (IFN- α) dosahuje taktiež „vyliečenie“ (stabilizáciu CML), hoci je prítomná minimálna reziduálna choroba (MRD). Súčasné poznatky z imunoterapie pomocou Bcr/Abl peptidových vakcín poukazujú na možnosť navodenia imunologického dozoru pomocou Bcr/Abl špecifických cytotoxických T-lymfocytov, ktoré významne utlmujú nádorovú populáciu (6).

Molekulová podstata CML

Ph chromozóm bol u CML popísaný v roku 1960 Nowellom a Hungerfordom (7). Roku 1973 Rowleyová demonštrovala, že táto zmena vzniká dôsledkom recipročnej translokácie (výmeny častí nehomológnych chromozómov bez straty genetického materiálu) medzi chromozómami 9 a 22, t(9;22)(q34;q11) (8). Tá je identifikovateľná až u 90 % chorých. Asi 5 % pacientov má prítomný iba BCR/ABL fúzny gén, ktorý spôsobuje identické ochorenie. Sú popisované aj prípady s CML fenotypom bez nálezu Ph chromozómu či BCR/ABL fúzneho génu, doposiaľ nebola popísaná ich etiológia. Prirodzený priebeh CML je charakterizovaný fázami s variabilnou dĺžkou trvania; začínajúc iniciálnou chronickou fázou s prechodom do akcelerácie (AP) a napokon završením blastovou krízou (BC). Progresia CML je spojená s kumuláciou prídavných genetických zmien (+19; +Ph a i(17) a ďalších) v dôsledku konštitutívnej aktivity Bcr/Abl TK vedúcej k nestabilite genómu (9).

Podstata vzniku rezistencie k liečbe IM

Pri zohľadnení časového faktora je možné definovať dve základné kategórie rezistencie k imatinibu: pokiaľ nie je zaznamenaná odpoveď po iniciálnej liečbe, hovoríme o primárnej rezistencii; v prípade, keď momentu vzniku rezistencie predchádza hematologická a cytogenetická liečebná odpoveď, ide o rezistenciu sekundárnu. Súhrnné príčiny rezistencie sú zhrnuté v tabuľke 1. Súčasné poznatky o biologickej podstate CML a klinické skúsenosti s liečbou umožňujú vytvoriť jednoduché odporúčania pri terapii IM, ktoré ukazuje tabuľka 2 (10).

Primárna rezistencia

IM účinkuje iba v prípade, že dosiahne cieľový (intracelulárny) proteín. Je teda nutné, aby prestúpil cez bunkové membrány. V tomto procese zohrávajú dôležitú úlohu transmembránové proteíny (membránové pumpy). Expresia P-glykoproteínu

kódovaného MDR-1 génom (multidrug resistance génom) je všeobecne spájaná so vznikom rezistencie na najrôznejšie chemoterapeutiká. P-glykoproteín funguje ako výrazne nešpecifický transportér solubilných častíc z bunky (11). Iným farmakologickým mechanizmom pôsobí α 1- kyslý glykoproteín (AGP), ktorý pri zvýšenej koncentrácii viaže veľké množstvo IM a znižuje koncentráciu voľnej frakcie v plazme.

Sekundárna rezistencia

Bodové mutácie v Abl kinázovej doméne

Ide zrejme o najčastejší mechanizmus vzniku rezistencie vôbec. Bodové mutácie totiž priamo zasahujú časti proteínovej domény, ktoré sú nevyhnutné pre väzbu IM. Mutácie sa podľa niektorých autorov podieľajú na väčšine dosiaľ zaznamenaných rezistencií (12). Leukemické bunky sú rezistentné k účinkom IM, ba čo viac, jeho prolongované podávanie môže vyvolať selek-

ciu rezistentných klonov. Vznik mutácií je spravidla spojený s progresiou ochorenia (13). Úseky v rámci BCR/ABL proteínu je možné rozdeliť do 4 skupín. Oblasť p-sľučky (p-loop, first loop) predstavuje vysoko konzervatívny úsek so značným podielom aminokyseliny glycinu, viaže fosfátovú skupinu ATP. Mutácie v tomto úseku sú spojené s nepriaznivou prognózou. Druhým úsekom je IM väzbové miesto, kde sa vyskytuje práve mutácia T315I, ktorá je združená s polyrezistenciou k TKI (14). Katalytická doména je tretím úsekom, v ktorom sa typicky vyskytujú špecifické druhy mutácií (napr. M315T spojená s poklesom kinázovej aktivity). Posledný úsek predstavuje aktivačná sľučka (A-loop), úsek, ktorý prepoja N a C terminálnu časť kinázovej domény. Mutácie Abl kinázovej domény nemusia byť nevyhnutne príčinou rezistencie, v niektorých prípadoch môžu byť prítomné aj pri dostatočnej odpovedi na liečbu.

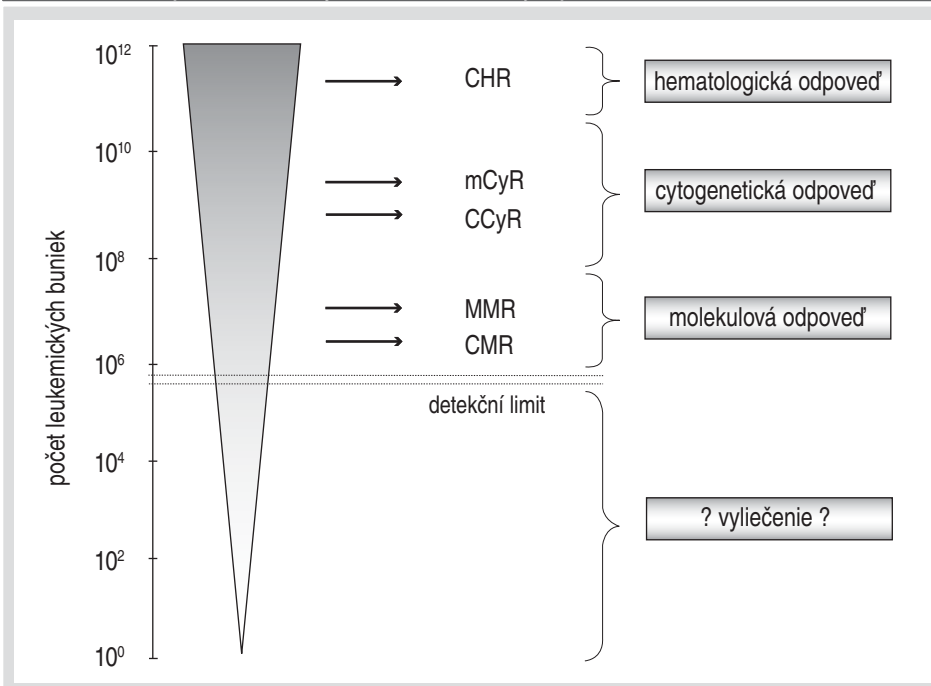
Amplifikácia BCR/ABL génu

Príčinou rezistencie môže byť aj hyperexpresia Bcr/Abl onkoproteínu v dôsledku BCR/ABL génovej amplifikácie. V protiklade k mutáciám, ktoré spôsobia úplnú rezistenciu, v prípade hyperexpresie BCR/ABL je možné inhibovať zvýšenú koncentráciu proteínu zvýšením dávkovania IM (15).

Nové možnosti cielej liečby CML rezistentnej na IM

Existuje niekoľko cieľových miest farmakologického „zásahu“ pri liečbe CML rezistentnej na IM. TKI

Obrázok 1. Vzťah počtu leukemických buniek a liečebnej odpovede u CML



Tabuľka 1. Mechanizmy rezistencie pri liečbe imatinibom

V leukemickej bunke	
BCR/ABL dependentné	
• mutácie v ABL kinázovej doméne	
• amplifikácia BCR/ABL proteínu	
BCR/ABL non-dependentné	
• konštitutívna aktivácia iných signálnych molekúl (Src kinázy)	
• multidrug resistance (MDR-1)	
• zmeny efluxných a influxných bunkových púmp	
Extracelulárne	
α 1 kyslý glykoproteín	

Tabuľka 2. Definícia zlyhania a suboptimálnej odpovede chorých v chronickej fáze CML liečených imatinibom v štandardnej dávke

čas	zlyhanie liečby	suboptimálna odpoveď	varovné znamenia
diagnóza			vysoké riziko del 9q+ PCA v Ph+ klone
po 3 mesiacoch	žiadna HR	<CHR	
po 6 mesiacoch	<CHR žiadna CyR (Ph+ >95 %)	<PCyR (Ph+ >35 %)	
po 12 mesiacoch	PCyR (Ph+ >35 %)	<CCyR	<MMR
po 18 mesiacoch	<CCyR	<MMR	
kedykoľvek	strata CHR, strata CCyR, mutácia	PCA v Ph+ klone, strata MMR, mutácia	nárast hladiny transkriptu, PCA v Ph- klone
↓		↓	↓
imatinib 600–800 mg/deň, alo TKD		imatinib 600–800 mg/deň	imatinib 400 mg/deň, intenzívny monitoring, zvažovať eskaláciu dávky

Skratky: HR – hematologická odpoveď, CHR – kompletná hematologická odpoveď, CyR – cytogenetická odpoveď, PCyR – parciálna cytogenetická odpoveď, CCyR – kompletná cytogenetická odpoveď, MMR – veľká molekulová odpoveď, PCA – prídavná cytogenetická abnormalita, aloTKD – alogénna transplantácia kostnej drene

pôsobia na Abl kinázu v aktívnej či inaktívnej (podobne ako IM) konformácii. Dasatinib a bosutinib sú nadôvažok i inhibítormi SRC kináz. Sú tiež referované i správy o inhibítoroch, ktoré účinkujú i pri bodovej mutácii T315I. Prehľad nových perspektív terapie CML ukazuje tabuľka 3.

Nilotinib

Nilotinib (Tasigna®) patrí do tzv. 2. generácie TKI. Chemicky je aminopyrimidínovým derivátom štruktúrne podobným IM. Tak ako IM aj nilotinib sa viaže k Abl kinázovej doméne v inaktívnej konformácii. Priestorové usporiadanie a interakcie nilotinibu s Abl kinázovou doménou umožňujú zvýšiť selektivitu jej inhibície a súčasne znížiť blokádu iných tyrozínových kináz (c-kit, PDGFR). Účinnosť nilotinibu v porovnaní s IM je asi 25-krát väčšia. Je účinný pri veľkom množstve bodových mutácií s výnimkou (Y253H, E255V, T315I) (16). V plazme dosahuje koncentrácia nilotinibu vrchol o 3 hodiny po podaní. Primárne je metabolizovaný v pečeni, pôvodný liek a neaktívne metabolity sú takmer úplne (> 90%) eliminované stolicou. V súčasnosti boli prezentované výsledky multicentrickej medzinárodnej štúdie (fáza II), v ktorej boli skúmané účinky nilotinibu u pacientov (n=279) v CP CML podávaného v dávke 2x400mg denne. Boli to pacienti s dlho trvajúcou CML (medián bol 57 mesiacov), najstarší pacient mal 85 rokov (medián 58 rokov), a intenzívne predliečení (66% INF- α , 25% Ara-C). Až 72% chorých dostávalo aspoň 3 mesiace IM v dávke $\geq$ 600 mg/deň. Súbor obsahoval skupinu pacientov, ktorí boli rezistentní (69%) alebo netolerovali (31%) vysokodávkový IM. Kompletnú hematologickú odpoveď (CHR) dosiahlo 74% pacientov, kompletnú cytogenetickú odpoveď (CCyR) 34% pacientov. Medián liečby nilotinibom bol 247 dní. K najčastejším nežiaducim účinkom patrila myelosupresia 3. až 4. stupňa (trombocytopénia, neutropénia, anémia). Ostatné nežiaduce účinky boli zriedkavé (nauzea, cefalea, pruritus). Z biochemických abnormalít sa vyskytli: elevácia lipázy, hypofosfatémia, hyperglykémia, hyperbilirubinémia. Účinky na myokard boli vyjadrené predovšetkým predĺžením QTc intervalu (17). Nilotinib má *in vitro* aj *in vivo* vyšší inhibičný potenciál ako IM. V marci 2008 sa nilotinib stal

aj súčasťou odporúčení NCCN a ELN pre liečbu CML (18, 19). Podľa nich je odporúčaná dávka 400 mg 2x denne a liečba by mala trvať tak dlho, pokiaľ je pre pacienta prínosná. Od júla 2008 je nilotinib v ČR hrađený z prostriedkov verejného zdravotného poistenia.

Dasatinib

Dasatinib (Sprycel®) patrí tiež do tzv. 2. generácie TKI. Chemicky je tiazolkarbox-amidovým derivátom. Ide o duálny inhibítor Bcr/Abl a súčasne i SRC kinázovej rodiny (Lck, Fyn, Hck, Src). SRC aktivácia zohráva zrejme významnú úlohu v rozvoji viacerých neoplázií, dochádza totiž k modulácii signálneho prenosu prostredníctvom viacerých onkogénnych dráh zahŕňajúcich (PDGFR, VEGFR...). Dasatinib má asi 300-krát vyššiu aktivitu v inhibícii Abl kinázy ako IM a je účinný pri väčšine známych mutácií v Abl kináze s výnimkou T315I. Súčasne sa ukazuje, že inhibícia SRC kináz je výraznejšia ako inhibícia Abl. Z kryštalografických štúdií vyplýva, že dasatinib sa viaže do ATP väzbového miesta podobne ako IM. Na rozdiel od IM a nilotinibu sa dasatinib môže viazať ako k aktívnej tak aj k inaktívnej konformácii Abl. Počet interakcií dasatinib-Abl kinázová doména je menší v porovnaní s inými TKI, čo umožňuje znížiť konformačné nároky na väzbu. Vysvetľuje to aj lepšie inhibičné účinky danej molekuly (20). V súčasnosti prebiehajú štúdie (fáza II) s cieľom testovať bezpečnosť a účinnosť liečby u imatinib rezistentných CML. Sú sem zahrnutí pacienti s Ph+ CML v CP s hematologickou progresiou alebo intoleranciou pri liečbe imatinibom a tiež pacienti s BCR/ABL pozitívnou ALL (štúdie START A, B, C) (21). Dasatinib sa po perorálnom podaní rýchlo vstrebáva a maximálnu plazmovú koncentráciu dosahuje do 1–3 hodín od aplikácie, pričom tento proces je významne ovplyvnený príjmom potravy a žalúdočným pH. Významná je väzba dasatinibu na proteíny plazmy (až 90%). Biotransformácia prebieha v pečeni – cytochrómový systém P-450 a tiež pomocou flavín-obsahujúcej monoxygenázy 3 (FMO-3) a uridín bisfosfát-glukuronozyl-transferázy (UGT). Polčas eliminácie je 1–5 hodín, preto bolo pre klinické štúdie fázy II odporúčané podávanie 2x denne (najčastejšie

šie 2x70 mg) (22). Dasatinib je všeobecne dobre tolerovaný a výskyt závažných nežiaducich účinkov 3. a 4. stupňa (s výnimkou hematologických) je nízky. Myelotoxicita je najzávažnejšia u chorých s pokročilou CML či akútnou leukémiou. Myelosupresia 3. až 4. stupňa postihla až 90% pacientov s akútnou leukémiou a BC CML, 60–70% pacientov v AP. Najoptimálnejšia znášanlivosť je popisovaná v skupine pacientov s CP CML – ale myelotoxicita je u nich až v 50% prípadov! Nehematologická toxicita zahŕňa predovšetkým retenciu tekutín (spoločný znak TKI), hnačku a nevoľnosť. Výrazným nežiaducim účinkom sú pleurálne efúzie. Väčšina nežiaducich účinkov je zvládnuteľná redukciovou dávkou a liečbou symptómov. Na základe výsledkov dvoch randomizovaných štúdií, ktoré porovnávali štyri dávkovacie schémy (100mg 1x denne, 140mg 1x denne, 50mg 2x denne a 70mg 2x denne), bolo pri porovnateľnej účinnosti určenej percentom dosiahnutých CCyR a prežitia bez príznakov zaznamenaný nižší výskyt toxicity hematologickej (trombocytopénia stupňa 4) i nehematologickej (pleurálne efúzie) odporúčené zmeniť dávkovanie dasatinibu u pacientov v CP na 100mg 1x denne (23). Súhrnne je možné konštatovať, že dasatinib inhibuje Bcr/Abl tyrozínovú kinázu pri nižších koncentráciách ako IM a má potenciál prekonávať niektoré formy IM rezistencie a to aj dôsledkom účinku na alternatívne bunkové ciele. Je tiež schopný prenikať hematoencefalickou bariérou a dosahovať účinné koncentrácie v likvore. Preparát je v súčasnosti registrovaný a schválený k liečbe CML a Ph+ ALL v 2. liečebnej línii v Českej i Slovenskej republike.

Bosutinib

Bosutinib (SKI-606) patrí spoločne s nilotinibom a dasatinibom do tzv. 2. generácie TKI. Chemicky je bosutinib syntetický chinolónový derivát, duálny inhibítor BCR/ABL a súčasne i SRC kinázy. Má širšie klinické aplikácie, podobne ako dasatinib sa testuje i v liečbe solídnych nádorov. Bosutinib nie je účinný pri mutácii T315I. V súčasnosti prebiehajú klinické štúdie fázy II s cieľom overiť jeho bezpečnosť a účinnosť liečby u IM-rezistentných CML pri hematologickou progresiou alebo intoleranciou IM. Liečebná dávka bosutinibu je 600mg denne. Štúdia, ktorá prebieha v USA, zahŕňa (n = 98) pacientov s mediánom trvania liečby 5 mesiacov. Z 23 pacientov rezistentných k IM, 17 (74%) dosiahlo CHR. Je zaujímavé, že z liečby bosutinibom profitovali aj pacienti, ktorí boli rezistentní na „klasickú“ 2. líniiu liečby pomocou doposiaľ dostupných TKI (dasatinib, nilotinib). Najčastejším nežiaducim účinkom liečby je nauzea, vomitus a hnačky, ktoré spontánne odznejú po 3–4 týždňoch. Retencia tekutín a pleurálne efúzie sa vyskytli u 12 pacientov. Anémia a trombocytopénia majú výrazne nižší výskyt

Tabuľka 3. Nové možnosti liečby CML

Nové inhibítory ABL kinázy namierené proti imatinib rezistentným formám

nilotinib (analog imatinibu, 2. generácia TKI)
dasatinib (duálny inhibítor ABL a SRC kináz, 2. generácia TKI)
bosutinib (duálny inhibítor ABL a SRC kináz, 2. generácia TKI)
VX-680 (inhibítor Aurora kinázy, 3. generácia TKI)

Inhibítory BCR/ABL závislých signálnych dráh

Ras signálna dráha (inhibítory farnesylovej transferázy, inhibítory MAP kináz)
inhibícia fosfatidylinozitol-3'-kinázy
prídavné dráhy

Inhibítory BCR/ABL expresie

BCR/ABL mRNA (anti-sense oligonukleotidy)
inhibítory chaperónov (anti-Hsp90)

v porovnaní s dasatinibom. Je to zrejme ovplyvnené vyššou špecifitou inhibície (inhibícia ABL a SRC kinázy s vynechaním PDGFR a c-kit) (24). Bosutinib nie je síce novou modalitou v liečbe CML, ale profil jeho nežiaducich účinkov je v porovnaní s inými TKI 2. generácie priateľnejší. Preparát je zatiaľ dostupný iba v rámci klinických štúdií.

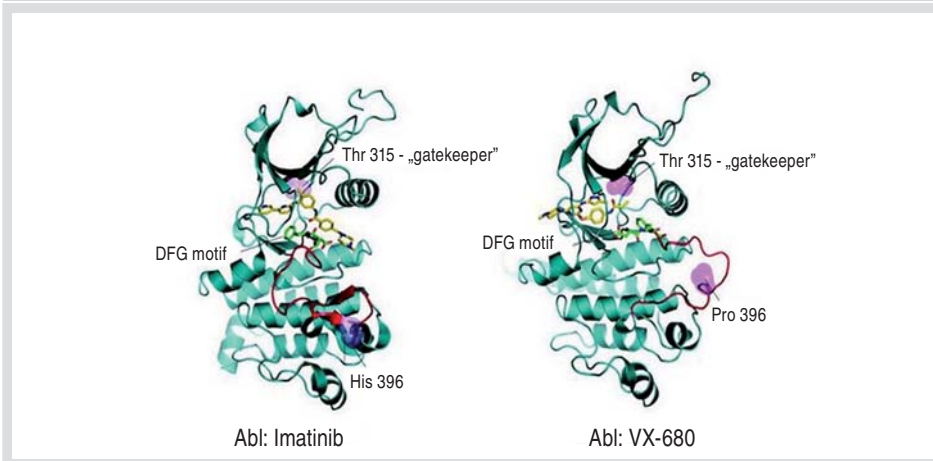
VX-680

VX-680 (MK-0457) bol navrhnutý Vertex Pharmaceuticals (Cambridge, Veľká Británia). Inhibuje tzv. Aurora a JAK2 kinázu, ktoré majú významnú úlohu pri mitotickom delení chromozómov a cytokinéze. Výsledkom je zablokovanie proliferácie a aktivácia apoptózy. VX-680 inhibuje aktivitu viacerých IM-rezistentných mutantných foriem Abl, predovšetkým T315I (*in vitro* inhibícia aktivity T315I mutovanej TK vo vzorkách odvodených od pacientov). Abl kinázová doména viažuca sa k VX-680 nie je fosforylovaná v oblasti aktivačnej sfučky a súčasne je v aktívnej konformácii – to nebolo popísané pri väzbe imatinibu v kryštalografických analýzach (25). Významným konformačným efektom VX-680 je preklenutie „priehlbne“ v Abl, ktorá vzniká v doméne dôsledkom T315I mutácie v oblasti tzv. „gatekeeper position“ (obrázok 2).

Ukončenie terapie TKI, imunoterapia CML

Napriek výborným klinickým výsledkom IM existuje možnosť vzniku rezistencie, liečba je ekonomicky náročná a v súčasnosti doživotná. Dlhodobé vedľajšie účinky nie sú zatiaľ známe (kardiotoxicity, účinky na kostný metabolizmus...). Je preto logické, že existujú snahy o ukončenie terapie pomocou TKI, v odvážnejších predstavách o eradikácii leukemickej kmeňovej bunky CML, čo doposiaľ umožňovala iba ATKB. Prosté ukončenie podávania IM u pacientov v CMR či MMR bolo však väčšinou spojené s relapsom choroby (26). Existuje skupina pacientov, ktorí boli iniciálne liečení IFN- α a následne bola zahájená liečba IM. U niektorých z nich bolo možné ukončiť liečbu a pri prísnom monitorovaní bola pozorovaná trvalá, minimálne 3 log redukcia BCR/ABL transkriptu. Tento mechanizmus anti-CML imunity nie je doposiaľ spoľahlivo vysvetlený, ale je pripisovaný imunomodulačným mechanizmom, ktoré indukujú (obnovujú) funkciu špecifických T lymfocytov a ich produkciu Th1 cytokínov. To zrejme spôsobí rekonštrukciu cytotoxického aktivity (27). Taktiež bolo dokázané, že CML špecifický antigén PR-1 u pacientov v CCyR počas liečby IFN- α indukuje tvorbu špecifických CD8 lymfocytov so silnou cytolytickou aktivitou *in vitro* (28). Na týchto pozorovaniach bola založená myšlienka prípravy anti-CML vakcín.

Obrázok 2. Interakcie imatinibu a VX 680 s oblasťou ABL kinázy obsahujúcej mutáciu T315I



Alogénna transplantácia krvotvorných buniek (ATKB)

ATKB je doposiaľ považovaná za jedinou metódu, ktorá dokáže CML vyliečiť. O jej výsledku rozhoduje celý rad faktorov. Grathwohl a spoluautori zabudovali najdôležitejšie z nich do skórovacieho systému umožňujúceho odhad prežitia choreho s CML po ATKB (tzv. EBMT skóre rizika). Patria sem parametre príjemcu: vek, stupeň zhody príjemca-darca (HLA zhoda, rozdiel pohlavia) a napokon i parametre choroby (interval od diagnózy, fáza CML). Pri dlhodobom sledovaní chorých po ATKB v CP CML s využitím HLA identických súrodencov je pravdepodobnosť prežitia po 15 rokoch odhadovaná na 53%, pričom pri dlhodobom sledovaní, predovšetkým u pacientov transplantovaných v režime s RIC (reduced intensity conditioning), nie je dosiahnuté plateau. Jedným z dôvodov sú relapsy CML (tzv. neskoré relapsy) i po 10 rokoch od ATKB. Je to teda metóda 2.–3. voľby pre chorých, u ktorých zlyhala liečba IM či TKI 2. generácie, majú dostupného vhodného darcu a pravdepodobnosť vzniku závažných komplikácií neprevyšuje riziko mortality z CML (29, 30).

Záver

Zavedenie IM znamenalo obrovský prielom v liečbe CML. Výrazne sa predĺžilo trvanie CP. U mlad-

ších pacientov sa zmenil prístup k indikácii ATKB. Najväčším problémom spojeným s aplikáciou IM je vysoká cena a vznik rezistencie, ktorej príčiny majú rozdielnu biologickú podstatu. Hoci 2. generácia TKI účinkuje proti veľkej palete častých bodových mutácií v Abl kinázovej doméne, nedokážu účinne zasiahnuť proti mutácii T315I. Experimentálne sa ale potvrdil (pri mutácii T315I) dobrý efekt ďalšej generácie TKI (napr. VX-680). Perspektívu v poslednom období získavajú i inhibitory histónovej deacetylácie (napr. LBH 589). K ďalším otázkam patrí možnosť kombinácie viacerých TKI (s cieľom zabrániť vzniku rezistencie), možnosť ukončenia liečby IM pri molekulovej odpovedi a stratégie umožňujúce eliminovať aj MRD (vakcinácia alebo IFN- α). Komplexné zohľadnenie všetkých mechanizmov je zložitá a bude zrejme vyžadovať detailnejšiu analýzu genómu a poznatkov z imunológie CML.

MDr. Peter Rohoň

Hemato-onkologická klinika FN Olomouc a LF UP
I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc
email: peter.rohon@centrum.cz

Literatúra

1. Deininger MWN, Goldman JM, Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia, *Blood* 2000; 96(10): 3343–3356.
2. Deininger MWN, Druker BJ. Specific Targeted Therapy of Chronic Myelogenous Leukemia with Imatinib, *Pharmacol Rev* 2003; (55): 401–423.
3. Simonsson B. On behalf of the IRIS (International Randomized IFN vs STI571) Study Group. Beneficial effects of cytogenetic and molecular response on long-term outcome in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) treated with imatinib (IM): update from the IRIS study. *Blood* 2005; (106): 166.
4. Hochhaus A et al. *Blood*. 2007; 110: 15a–16a. Abstract 25. ASH 2007 oral presentation.
5. Shah NP et al. Loss of response to imatinib: Mechanisms and management, *Hematology* 2005; (1): 183.
6. Bocchia M, Gentili S, Abruzzese E et al. Effector of a p210 multi-peptide vaccine associated with imatinib or interferon in patients with chronic myeloid leukemia and persistent residual disease: a multicentre observational trial. *Lancet* 2005; (365): 657–662.
7. Nowell PC, Hungerford DA. Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes. *J. Natl Cancer Inst* 1960; 25: 85–109.
8. Rowley JD. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature* 1973; (243): 290–293.
9. Sattler M, Griffin JD. Molecular mechanisms of transformation by the BCR/ABL oncogene. *Semin Hematol* 2003; 40: 4–10.
10. Baccarani M, Saglio G, Goldman JM et al. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2006; 108: 1809–1820.
11. Widmer N, Colombo S, Buclin T, et al. Functional consequence of MDR1 expression on imatinib intracellular concentrations. *Blood* 2003; 102: 1142.
12. Christophe BP, Reiffers VM, Mahon FX. Roots of Clinical Resistance to STI-571 *Cancer* 2001; (293): 2163.

13. Branford S, Rudzki Z, Walsh S et al. Detection of BCR/ABL mutations in patients with CML treated with imatinib is virtually always accompanied by clinical resistance, and mutation in the ATP-phosphate binding loop (P-loop) are associated with a poor prognosis. *Blood* 2003; (102): 276–83.
14. Hochhaus A, Kreil S, Corbin AS et al. Roots of clinical resistance to STI-571 cancer therapy. Molecular and chromosomal mechanisms of resistance to imatinib therapy, *Science* 2001; (293): 2163.
15. Tauchi T, Ohyashiki K. Molecular mechanism of resistance of leukemia to imatinib mesylate. *Leukemia Research* 2004; (28): 39–45.
16. Kantarjian H, Giles F, Quintas-Cardama A, Cortes J. Important therapeutic targets in chronic myelogenous leukemia. *Clin Cancer Res.* 2007; (4): 1089–1097.
17. O'Hare T, Walters DK, Stoffregen EP et al. In vitro activity of Bcr-Abl inhibitors AMN107 and BMS-354825 against clinically relevant imatinib-resistant Abl kinase domain mutants. *Cancer Res.* 2005; (65): 4500–4505.
18. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology – Chronic Myelogenous Leukemia V. 3. 2008; dostupné na www.nccn.org
19. Management of chronic myeloid leukemia (CML): recommendations from the European LeukemiaNet (ELN), generated 2007/10/30 last change 2008/06/19; dostupné na www.leukemia-net.org
20. Hochhaus A, Baccarani M, Sawyers C et al. Efficacy of dasatinib in patients with chronic phase of Philadelphia positive CML resistant or intolerant to imatinib: first results of the CA180013 START C phase II study *Blood* 2005; 106 (11): 17a.
21. Evans TR, Morgan JA, van den Abdee et al. Phase I dose escalation study of the SRC and multi-kinase inhibitor (BMS354825) in patients with GIST and solid tumors *J Clin Oncol* 2005; 23 (16S): Abstract 3034.
22. Cardama AQ, Kantarjian H, Cortes J et al. Flying under the radar: the new wave of BCR–ABL inhibitors. *Nature Reviews Drug Discovery* 2007; (6): 834–848.
23. Hochhaus A, Kim DW, Rousselot P et al. Dasatinib (SPRYCEL®) 50 mg or 70 mg BID versus 100 mg or 140 mg QD in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) resistant or intolerant to imatinib: results of the CA180-034 study. *Blood* 2006; 108: 53A.
24. Cardama AQ, Kantarjian H, Cortes J et al. Flying under the radar: the new wave of BCR–ABL inhibitors. *Nature Reviews Drug Discovery* 2007; (6): 834–848.
25. Matthew A. Young, Neil P. Shah, Luke H. Chao et al. Structure of the Kinase Domain of an Imatinib-Resistant Abl Mutant in Complex with the Aurora Kinase Inhibitor VX-680. *Cancer Research* 2006: 1007–1014.
26. Rousselot P, Huguet F, Rea D et al. Imatinib mesylate discontinuation in patients with chronic myelogenous leukemia in complete molecular remission for more than 2 years. *Blood* 2007; (109): 58–60.
27. Reuben JM, Lee BN, Johnson H, Fritsche H, Kantarjian HM, Talpaz M. Restoration of Th1 cytokine synthesis by T cells of patients with chronic myelogenous leukemia in cytogenetic and hematologic remission with interferon-alpha. *Clin Cancer Res.* 2000; (6): 1671–1677.
28. Molldrem JJ, Lee PP, Kant S, Wiedner E, Jiang W, Lu S, Wang C, Davis MM. Chronic myelogenous leukemia shapes host immunity by selective deletion of high-avidity leukemia-specific T cells. *J Clin Invest.* 2003; (111): 639–647.
29. Faber E, Koza V, Vitek A et al. Alogenní transplantace krvetvorných buněk u nemocných s chronickou myeloidní leukemií v České republice: retrospektivní hodnocení výsledků z let 1998–2005. *Vnitřní Lék.* 2006; (52): 1172–1180.
30. Grigg A, Hughes T. Role of allogeneic stem cell transplantation for adult chronic myeloid leukemia in the imatinib era. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006; (12): 795–807.