

Úvod do problematiky léčby CML pro nemocné s chronickou myeloidní leukemií

Prezentace spoluautorů CML Advocates Network – Sandy Crainové a Giory Sharfa
pod odborným vedením Dr. Timothy Hughese (Univerzita v Adelaide, Austrálie)

na 7. mezinárodní konferenci pro zástupce pacientů s onemocněním CML, červen 2009

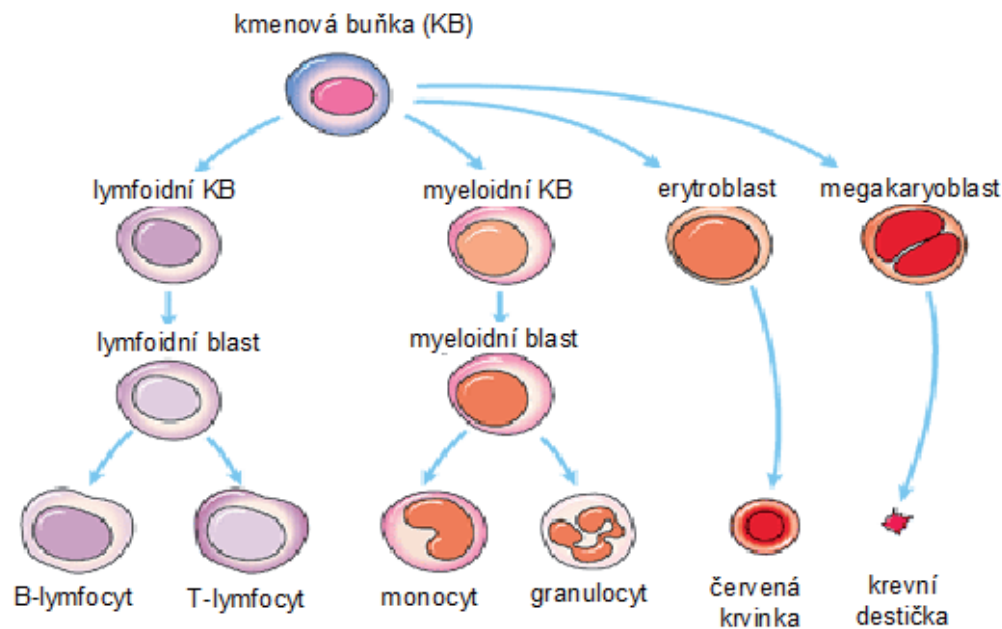
PŘEKLAD A REDAKCE:

MUDr. Peter Rohoň
Doc.MUDr. Edgar Faber, CSc.
Fakultní nemocnice Olomouc

Ph+CML – stručná historie

- 1960 – Peter Nowell a David Hungerford objevili chromosom Philadelphia (Ph)
- 1973 – Janet D. Rowleyová zjistila, že chromosom Ph je odvozený od chromosomu 22, pojmenovala jej translokovaný chromosom
- 1983/4 – popis fúzního leukemického genu BCR-ABL, který je příčinou vzniku CML
- 1990 – CGSTI-571 (imatinib) je novou molekulou, která začala být studována ve vztahu k inhibici Bcr-Abl proteinu
- 1998 – zahájení klinických studií s imatinibem, které inicioval Dr. Brian J Druker ve spolupráci s Dr. Charlesem Sawyersem a Dr. Moshem Talpazem

Vývoj krevních buněk



- Všechny krevní buňky jsou vytvářeny v kostní dřeni z kmenových buněk
- Počáteční vývojová stadia kmenových buněk se dále diferencují do myeloidních nebo lymfoidních kmenových buněk
- Myeloidní kmenové buňky umožňují vznik bílých krvinek

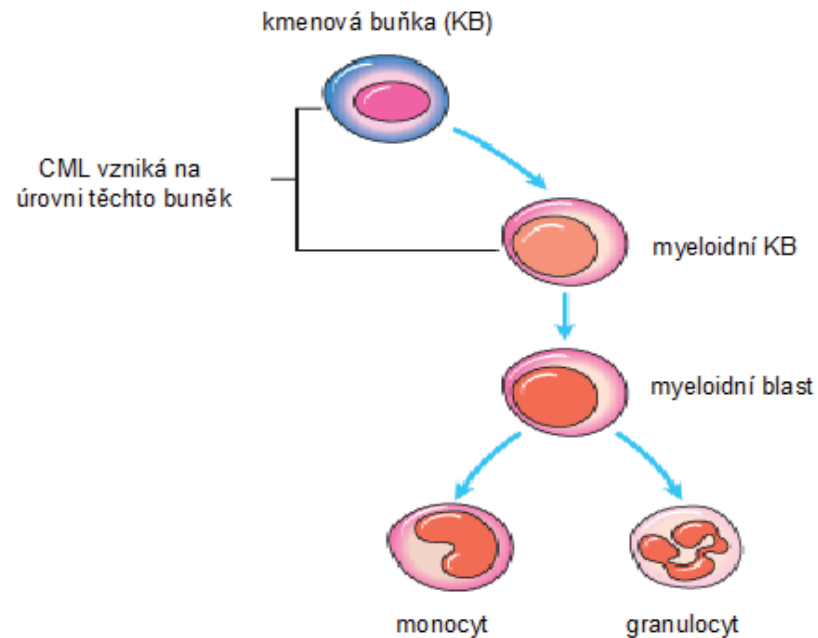
Funkce červených krvinek a krevních destiček

- **Červené krvinky**
přenášejí kyslík krevní cirkulací do tkání. Nízké hodnoty červeného krevního barviva (hemoglobinu) způsobují anemii.
- Normální hodnoty hemoglobinu jsou: 130–180 g/l (rozdílné hodnoty pro muže a ženy)
- **Krevní destičky**
jsou drobné fragmenty větších buněk kostní dřeně (megakaryocytů), při krvácení vytvářejí shluky a podílejí se na srážení krve
- Normální hodnoty destiček jsou: 150–400×10⁹/l

Funkce bílých krvinek

- **Bílé krvinky**
Tyto buňky jsou vytvářeny v kostní dřeni rychle a obecně mají krátkou dobu přežívání. Některé jsou funkční několik hodin, jiné několik dnů.
- **Neutrofily** ~ $4-10 \times 10^9/l$ - bojují proti bakteriálním infekcím
- **Lymfocyty** ~ $1,4-3,4 \times 10^9/l$ - vytváří protilátky, které jsou součástí imunitní odpovědi
- Ostatní bílé krvinky se vyskytují v menších počtech např: **eosinofily, basofily, monocyty**

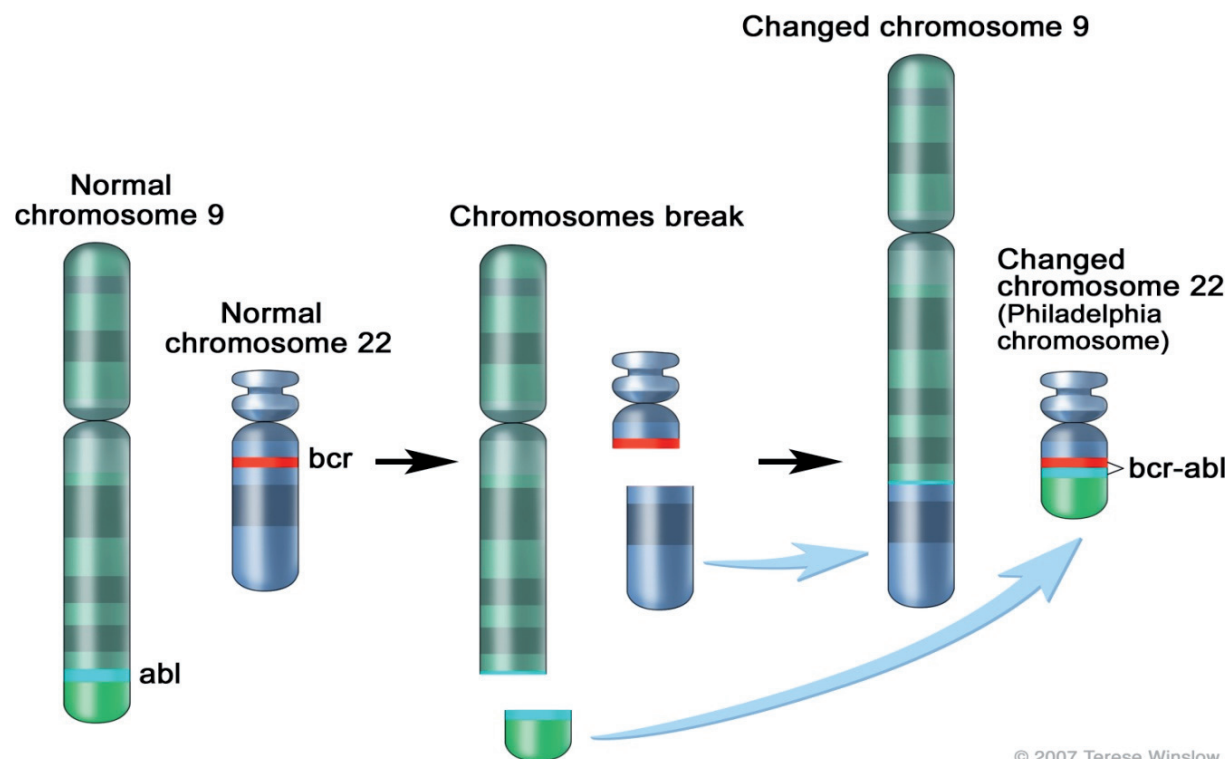
Jak vzniká CML?



- Počáteční vývojová stádia krvinek se nazývají **blasty**
- Normální blasty vyžívají ve zralé krvinky
- Ph+ bílé krvinky jsou abnormální, jejich původ je odvozen od leukemických blastů

Chromosom Philadelphia

- **Gen BCR-ABL vzniká spojením (fúzí) dvou genů. Toto spojení způsobuje leukemogenezi (v tomto případě vznik CML).**

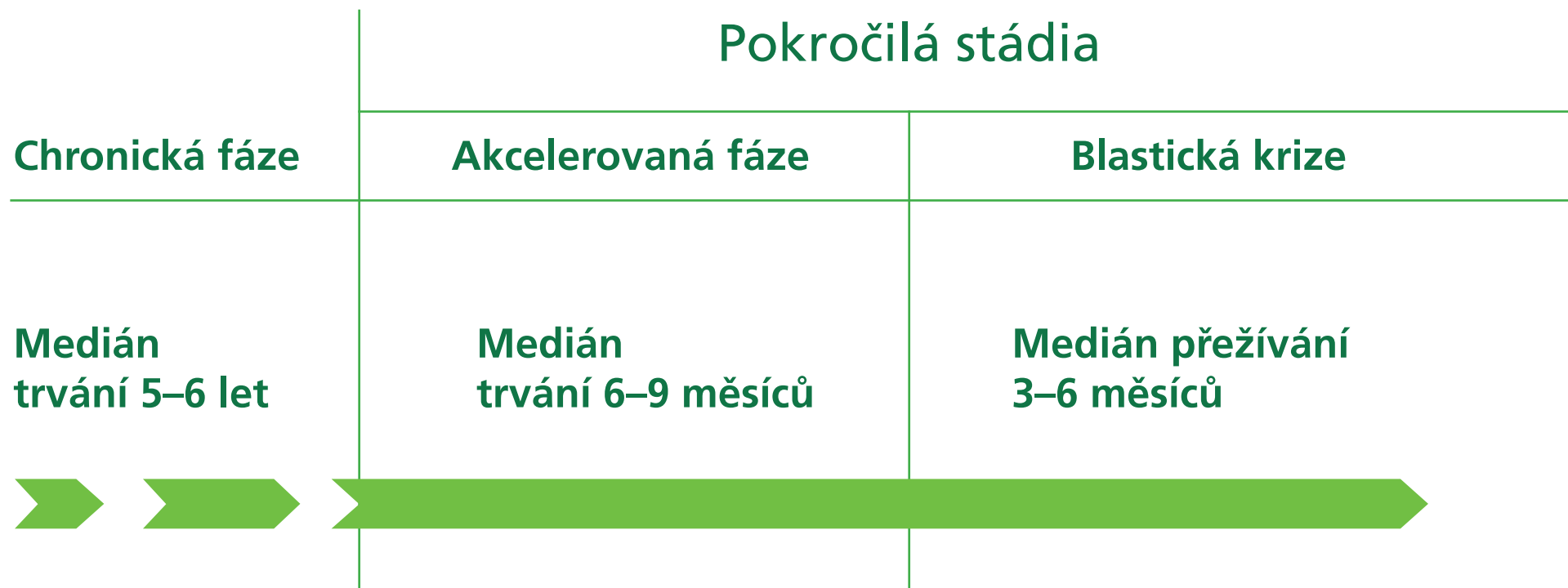


Tyrozínové kinázy: např. Bcr-Abl

Tyrozínové kinázy jsou bílkoviny, které dávají buňce řídicí signály. Buňka se po obdržení tohoto signálu začne dělit a reprodukovat.

- Fúzní gen **BCR-ABL** vede ke vzniku abnormální tyrozínové kinázy, která nepodléhá kontrole jako v normální buňce (kde je aktivní pouze na určité době), ale **je aktivní stále**.
- Abnormální tyrozínová kináza ovládá buňku, ta se stále dělí a způsobuje tak zmnožení Ph⁺ (leukemických) bílých krvinek
- Ph⁺ buňky nemají normální buněčný cyklus: **nevyzrávají ~ neplní své přirozené funkce ~ nezanikají**
- Ph⁺ kmenové buňky jsou nesmrtelné

Klinický průběh Ph+ CML léčené klasickou chemoterapií



Faderl S, et al. Ann Intern Med. 1999;131:207-219. Pasternak G, et al. J Cancer Res Clin Oncol. 1998;124:643-660.

Ph+CML Chronická fáze

- trvá 3–6 let, rozvíjí se pomalu a plíživě
- **85–90%** pacientů je diagnostikovaných v chronické fázi
- příznaky jsou často minimální nebo žádné
- **počet bílých krvinek přesahuje normální rozmezí**
- za normálních okolností **< 5%** všech bílých krvinek v kostní dřeni tvoří nezralé blasty

Léčba CML v chronické fázi

V chronické fázi se zahajuje léčba **imatinibem (Glivec)**
v dávce **400 mg/den**

CÍLE:

- zajistit normalizaci počtu krvinek
- snížit/eliminovat buňky s obsahem **BCR-ABL** fúzního genu
- pacienti dosahují většinou **trvalé remise** nemoci (aktuálně **> 8 let**)
- imatinib je **dobře snášený většinou** CML pacientů
- v některých případech se rozvine **nesnášenlivost**, nebo:
 - **rezistence (odolnost)** k imatinibu
 - **primární rezistence**
 - **získaná rezistence**

Imatinib mesylát: Glivec

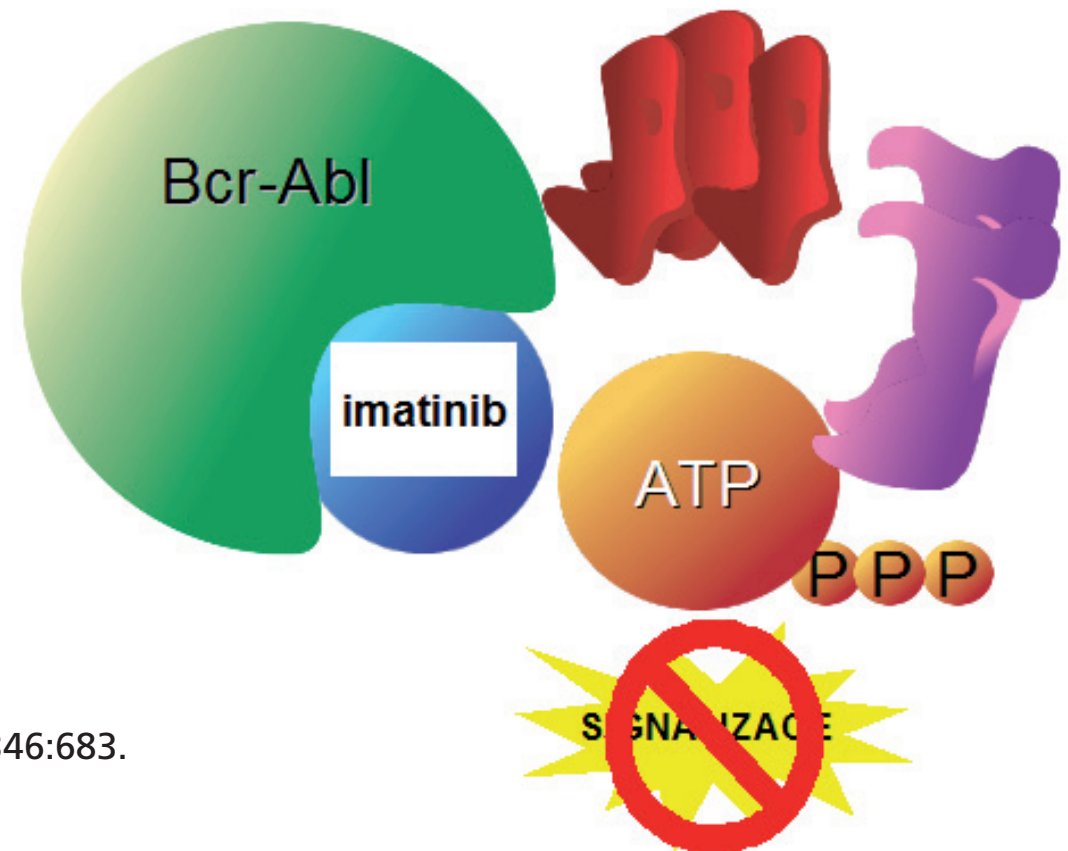
- **Imatinib (Glivec)** je sloučenina, která se užívá k léčbě několika typů nádorových onemocnění
- Užívá se při léčbě **Ph+ CML** ale i gastrointestinálních stromálních tumorů a některých dalších nádorů
- Jde o první z nové skupiny léků, tzv. **inhibitorů tyrozinových kináz**

Imatinib mesylát: mechanismus účinku*

- Imatinib obsazuje vazebné místo pro **ATP (adenosintrifosfát = energetický zdroj)** Abl kinázové domény
- To způsobuje zablokování **fosforylace bílkovin a leukemické signalizace**
- Ztráta signalizace znemožní růst a přežívání leukemických buněk

Normální krvinky nejsou významně ovlivněny.

Savage and Antman. N Engl J Med. 2002;346:683.



Rezistentní nemoc:

- **10-20%** of pacientů nesnáší (netoleruje) léčbu imatinibem, nebo rozvine k léku rezistenci (odolnost)

2. generace inhibitorů tyrozinových kináz

- **Dasatinib** je inhibitor 2. generace a blokuje **Bcr-Abl** s vysokou účinností
- **Nilotinib** je také inhibitor 2. generace a blokuje abnormální bílkovinu **Bcr-Abl** s vyšší účinností jako imatinib

3. a vyšší generace inhibitorů tyrozinových kináz

- V současnosti jsou dostupné **nové léky**, které se zatím zkouší v rámci klinického testování na vybraných pracovištích **Bosutinib, XL-228, AP-24534, DCC-2036** a jiné

Rezistentní nemoc:

Při nesnášenlivosti nebo odolnosti leukemických buněk k imatinibu se v léčbě CML využívají v současnosti **dasatinib (Sprycel) nebo nilotinib (Tasigna)**.

Všechny tyto léky (včetně imatinibu) patří do lékové skupiny tzv. **inhibitorů tyrozinových kináz**. Inhibitory tyrozinových kináz zřejmě nedokáží CML **vyléčit, protože po jejich vysazení se leukemie znovu objevuje (tzv. relaps)**.

PCR (polymerázová řetězová reakce=citlivá metoda k určení přítomnosti BCR-ABL fúzního genu) ukazuje, že většina pacientů má **zbytkovou (reziduální) nemoc**.

Příčinou zbytkové nemoci jsou tzv. **spící (neaktivní) leukemické kmenové buňky**. **Remise** nemoci jsou ale trvalé u naprosté většiny pacientů.

Akcelerovaná fáze:

Může v průměru trvat 6 až 12 měsíců – **příznaky jsou výraznější než v chronické fázi**

Vyšetření mohou potvrdit přítomnost:

- **anemie (hemoglobin < 100 g/l)**
- **zvětšené sleziny**
- **zvýšeného počtu bílých krvinek**
- **zvýšeného počtu krevních destiček (> 450×10³/l)**
- **10–19% bílých krvinek v kostní dřeni mohou tvořit nezralé blasty, které pronikají také do obvodové (periferní) krve**

Blastická fáze:

- jiný název: akutní fáze, **blastická krize**, **blastický zvrát**
- obvykle trvá **3 měsíce**
- její průběh lze obtížně předpovídat, má **agresivní rysy** a je
- **obtížně léčitelná**
- **> 20%** nezralých blastů v kostní dřeni, nebo periferní krvi
slezina se může výrazně zvětšit (splenomegálie)
- leukemické buňky vykazují často další **přídavné chromosomální abnormality**

Léčba pokročilé nemoci:

- Cílem je eradikace (zničení) všech BCR-ABL+ buněk
- V případě, že zmiňovaný cíl není dosažitelný, pokoušíme se nastolit alespoň chronickou fází nemoci
- Vysoce dávkovaný imatinib (pokud předtím nevznikla na něj rezistence) a provedení alogenní transplantace krvetvorných buněk (alogenní TKB) jsou spolu s chemoterapií základem léčby blastické krize
- **Dasatinib a nilotinib** jsou léky volby po dosažení 2. chronické fáze
- I když je možné provést alogenní TKB, je vhodné předtím nastolit 2. chronickou fází pomocí inhibitorů tyrozinových kináz

Léčebné možnosti

Alogenní TKB je jedinou možností pro vyléčení CML, ale...

- je nezbytné nalézt **HLA** shodného dárce
- **je riziko** úmrtí a komplikací v souvislosti s transplantací
- **je riziko GVHD** - graft versus host disease - reakce štěpu proti hostiteli - způsobuje vážné komplikace, které ovlivňují dlouhodobě kvalitu života

Pokroky v transplantační medicíně

Infuze dárcovských lymfocytů po alogenní TKB

- užívá se k prevenci a léčba relapsu
- vede k posílení reakce štěpu proti leukemii
- nese s sebou zvýšené riziko vzniku GVHD

Transplantace po přípravném režimu s redukovanou intenzitou

- přípravný režim s menší toxicitou
- zabezpečí útlum imunitního systému a přihojení dárcovských buněk se zachováním reakce štěpu vůči leukemii
- umožní provedení transplantace i u starších osob

Monitorování CML:

Cíle monitorování:

- odhad úspěšnosti terapie
- časně zachycení **relapsu (návratu nemoci), nebo rezistence (odolnosti k léku)**
- analýza příčin selhání terapie (což umožňuje rozhodnout o další terapii - 2. generace inhibitorů tyrozinových kináz, alogenní TKB, ...)

Vyšetření u CML pacienta (doporučené postupy)

Krevní testy umožňují vyšetřit množství Ph+ buněk v periferní krvi a současně informují o hladině hemoglobinu, krevních destiček ap.

- **Cytogenetické vyšetření z periferní krve a kostní dřeně.**
- **PCR - citlivý molekulární test, který měří zbytkovou nemoc:**
- **vyjádřuje se poměrem BCR-ABL k normálnímu genu (ABL),**
- **nejčastěji z periferní krve**

Vyšetřovací metody

3 základní postupy s různou citlivostí

- **Karyotypování** - (vyšetření chromosomů, konvenční cytogenetika)
- **FISH** - fluorescenční in situ hybridizace
- **RT-Q-PCR** – Kvantitativní polymerázová řetězcová reakce s využitím reversní transkriptázy

- **FISH a RT-QPCR** mohou být prováděny z periferní krve, rychlá dostupnost výsledku, vyšší citlivost, menší zátěž pacienta
- **Klonální vývoj (vznik přídatných cytogenetických změn)** může být určen pouze pomocí **karyotypování**
- **Všechny 3 metody** vykazují **souhlasné výsledky ve velkém množství případů**

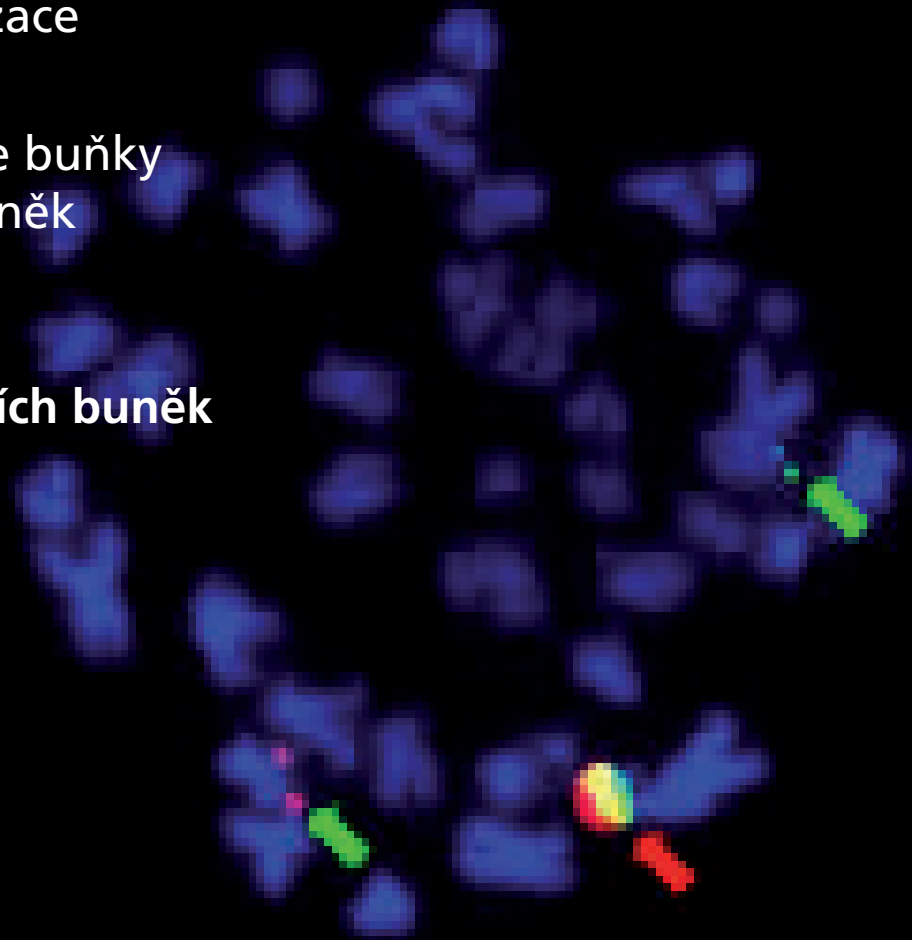
Vyšetřovací metody: cytogenetika

Karyotypování/Cytogenetická analýza

- Zlatý standard v monitorování CML
- **Cytogenetická odpověď** je určena vyšetřením chromosomů ve 20 buněčných jádrech ze vzorku kostní dřeně

FISH - fluorescenční in situ hybridizace

- **FISH** - fluorescenční in situ hybridizace
- **Interfázní FISH** nevyžaduje dělící se buňky
 - umožní analýzu většího počtu buněk
 - je využívána nejčastěji
- analyzuje se alespoň **200 interfázních buněk**

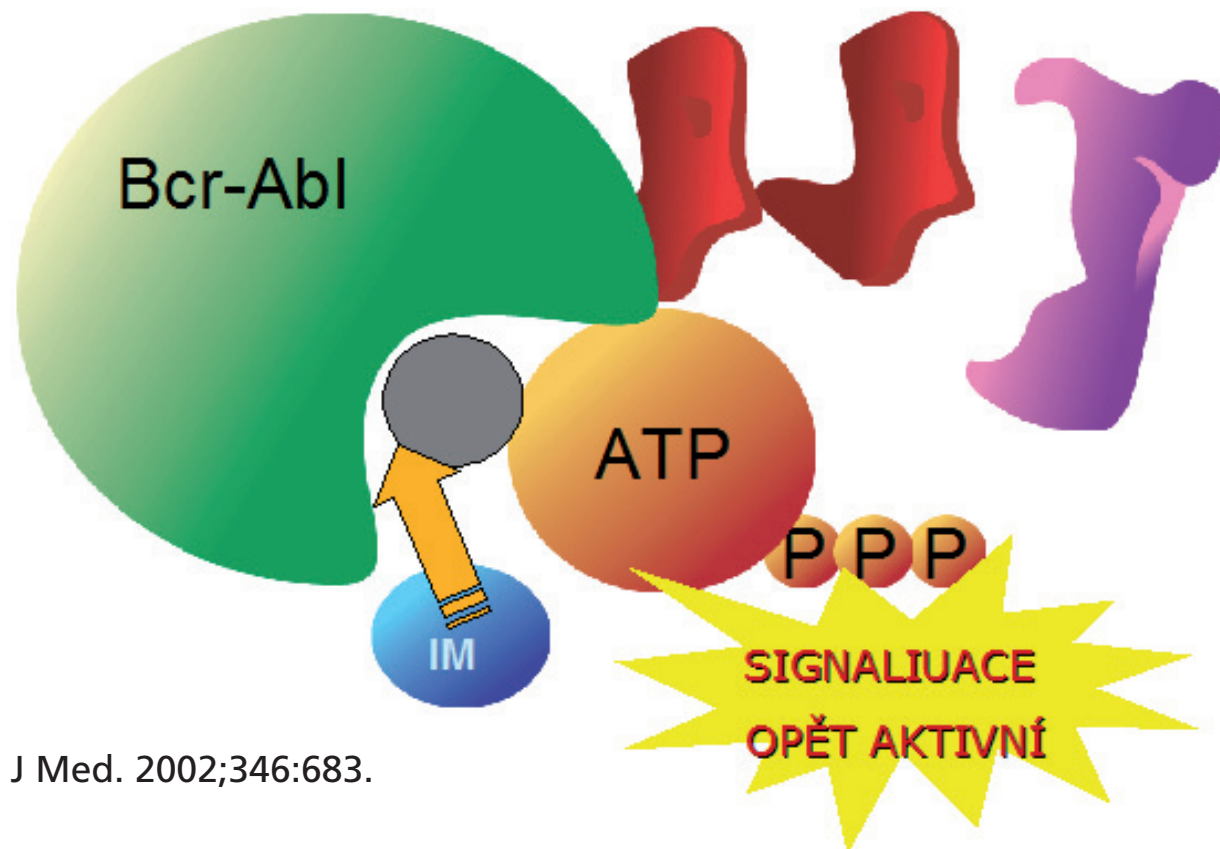


RT-Q- PCR

- **RT-QPCR - Quantitative Polymerase Chain Reaction**
tato reakce zmnoží malé množství **RNA nebo DNA**
Vyjadřuje podíl nemocných buněk **v poměru k buňkám zdravým**
Je to citlivější metoda ve srovnání s FISH (nalezne až **1 Bcr-Abl+**
buňku mezi **1,000,000** normálních buněk)
- **RT-Q-PCR** se užívá k vyjádření množství BCR-ABL v periferní krvi
- To umožňuje monitorovat reziduální (zbytkovou) nemoc

Indikace k analýze mutací BCR-ABL

- U některých pacientů se v průběhu léčby imatinibem vytvoří **mutace** (změna) v genu tyrozinové kinázy v místě vazby ATP, což znemožní správnou vazbu imatinibu



Savage and Antman. N Engl J Med. 2002;346:683.

Mutace - pokračování:

- **V pozdní chronické fázi CML** mohou existovat mutace v nízkém procentu ještě před začátkem podávání imatinibu
- Tento jev se nevyskytuje ve včasné chronické fázi
- Asi **1-20%** pacientů v chronické fázi, kteří reagují na léčbu imatinibem, vykazuje přítomnost mutací, ale tyto mutace nejsou trvalé a nezpůsobují progresi nemoci
- V případě **klinicky rezistentní** nemoci, **30-50%** pacientů vykazuje mutace ABL kinázy.

Ovlivnění účinku imatinibu dalšími léky nebo potravinami

Některé léky mohou **zvyšovat** hladinu imatinibu v plasmě, např.:

- klarithromycin
- erythromycin
- itrakonazol
- ketokonazol
- grapefruitový džus

Jiné léky mohou **snižovat** hladinu imatinibu v plasmě, např.:

- karbamazepin
- dexamethazon
- fenobarbital
- fenytoin
- rifampicin

Při kombinaci s imatinibem se zvyšuje koncentrace v plasmě některých léků, např.:

- acetaminofen
- cyklosporin
- dihydropyridinové blokátory Ca⁺⁺ kanálu
- HMG-CoA reduktázové inhibitory (např. simvastatin)
- pimozid
- triazolo-benzodiazepiny
- warfarin*

*plasmatické hladiny se mohou i snižovat

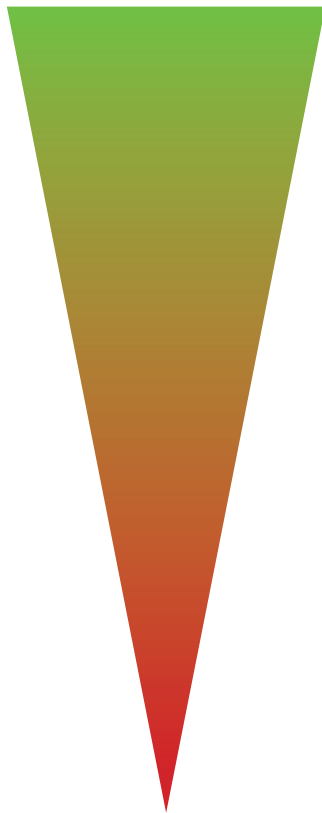
Doporučení European Leukaemia Net pro léčbu CML



UPDATE ON CML-MANAGEMENT RECOMENDATIONS

Giuseppe Saglio
University of Turin

Ztráta optimální odpovědi?



- **Sub-optimální odpověď**
snížená pravděpodobnost dosažení optimální odpovědi, nicméně nelze s určitostí její dosažení vyloučit (tzv. pozdní odpověď)
- **Selhání**
- Téměř nulová pravděpodobnost dosažení optimální odpovědi
- Ztráta dosažené odpovědi

Baccarani et al., Blood 2006

Definice selhání a suboptimální odpovědi při léčbě imatinibem (zkratky vysvětleny na následujícím obrázku)

Čas	Selhání	Suboptimální odpověď	Varování
Diagnóza	-	-	vysoké riziko del(9q) PCA v Ph+ buňkách
3 měs.	bez HO	< KHO	
6 měs.	< KHO bez CO	< PCO	
12 měs.	< PCO	< KCO	< VMO
18 měs.	< KCO	< VMO	
Kdykoli	Ztráta KHO a KCO Mutace - imatinib-insenzitivní	PCA v Ph+ buňkách Ztráta VMO Mutace - imatinib-senzitivní	kdykoliv > Bcr-Abl PCA v Ph- buňkách

Baccarani et al., Blood 2006

Vysvětlení zkratk z tabulky obr. 32

- **Del 9q+** - specifická změna chromosomu 9
- **PCA** - přídatné chromosomální abnormality v buňkách s Ph chromosomem
- **HO** - hematologická odpověď (úprava v krevním obraze, zmenšení velikosti sleziny, atd)
- **KHO** - kompletní hematologická odpověď (úplná úprava v krevním obraze, normalizace velikosti sleziny, atd)
- **CO** - cytogenetická odpověď – zjišťuje se cytogenetickým vyšetřením (vyšetřením karyotypu)
- **PCO** - částečná (parciální) cytogenetická odpověď – méně než ve 35% vyšetřených buněk je Ph chromosom
- **KCO** - kompletní cytogenetická odpověď – při vyšetření karyotypu nalezeny jen zdravé buňky bez Ph chromosomu
- **VMO** - velká molekulární odpověď – pokles zastoupení leukemických BCR-ABL pozitivních buněk na méně než 0,1% při vyšetření kvantitativní PCR

Varovné příznaky *

- **potvrzené**
 - rizikové faktory - SOKAL 1984, HASFORD 1998
 - přídatné cytogenetické abnormality
- **nepotvrzené**
 - Del 9q+ (specifická změna chromosomu 9)
- **diskutované**
 - změny jiných chromosomů
 - variantní Ph chromosom
 - OCT1 exprese (nosič který přenáší imatinib z krevní plasmy do buněk)
 - exprese MDR genů (vede k tvorbě bílkovin, jež vypuzují imatinib z buněk)
- **pracovní hypotézy**
 - profil genové exprese (stupeň aktivity genů)
 - genetické polymorfizmy (varianty genů)
 - preexistující mutace BCR-ABL kinázy

* ELNet-PROVISIONAL, 30.01.2009

Optimální odpověď – časový harmonogram

Hematologická odpověď (HO)

3 měsíce* → kompletní odpověď – KHO

Cytogenetická odpověď (CO)

12 měsíců* → kompletní cytogenetická odpověď – KCR

Molekulární odpověď (MO)

18 měsíců * → velká molekulární odpověď MMR

*čas od zahájení léčby

Léčba CML v chronické fázi – 2009*

1. linie léčby: **imatinib** 400mg

2. linie léčby:

- **Intolerance imatinibu: dasatinib nebo nilotinib**
- **Suboptimální odpověď:**
pokračování léčby imatinibem ve zvýšené dávce,
nebo **dasatinib anebo nilotinib**
- **Selhání imatinibu: dasatinib nebo nilotinib**
alogenní TKB je volbou pro pacienty, u nichž selhala léčba
2. generací inhibitorů tyrozinových kináz (v závislosti od EBMT skóre,
které je odhadem pravděpodobnosti přežití po transplantaci)

* Provizorní návrh

Alogenní TKB: u koho a kdy?

- **V DOBĚ DIAGNÓZY** - u pacientů v akceleraci nebo blastické krizi (doporučuje se předléčení pomocí inhibitorů tyrozinových kináz)
- **selhání imatinibu** - u pacientů s progresí do akcelerace a blastické krize (doporučuje se předléčení 2. generací inhibitorů)
- u pacientů s **T315I mutací**
- **u selhání/suboptimální odpovědi**
- u všech pacientů v závislosti na odpovědi a hodnotě EBMT skóre
- **selhání odpovědi na 2. generaci inhibitorů tyrozinových kináz**
- (3. generace?)

*STANDARDEM je provedení alogenní TKB s pomocí myeloablativního režimu a s využitím HLA-shodného příbuzenského/nepříbuzenského dárce (dobrovolný dárce z registru)

ELN panel, provisional, 30.01.2009

DALŠÍ CÍLE LÉČBY CML, 2009

- Normální kvalita života
- Možnost bezpečného početí dětí
- Možnost vyléčení a bezpečného ukončení léčby

U kolika pacientů?

PROČ NE U 100%?