

Dlhodobá molekulová remisia ako predpoklad úspešného tehotenstva u pacientok s chronickou myelocytovou leukémiou

RNDr. Miroslava Eckertová, PhD.¹, MUDr. Lucia Setteyová^{2,3}, MUDr. Katarína Slezáková, PhD.²

¹Medirex, a. s., Bratislava

²Klinika hematológie a transfúziológie LF UK, SZU a UNB, Bratislava

³Oddelenie klinickej patofyziológie, Ústav patologickej fyziológie LF UK, Bratislava

Úvod: Liečba pacientok s chronickou myelocytovou leukémiou (CML) počas tehotenstva predstavuje aj v ére inhibítorov tyrozínkináz (TKI) dôležitú výzvu nielen z pohľadu klinického lekára hematológa, ale aj genetika, ktorý zabezpečuje laboratórne vyšetovanie týchto pacientok. Zavedenie TKI do klinickej praxe zlepšilo prognózu pacientov s CML natoľko, že sú schopní viesť plnohodnotný život a u pacientok s CML nie je zriedkavé ani plánovanie gravidity. Podľa aktuálnych klinických odporúčaní sa vzhľadom na ich možné teratogénne účinky odporúča plánované tehotenstvo, tzn. prerušenie liečby TKI ešte pred tehotenstvom.

Kazuistiky: Prinášame kazuistiky 2 pacientok s CML s rôznym intervalom trvania veľkej molekulovej odpovede (MMR) pred graviditou, u ktorých bola prerušená liečba s TKI.

Výsledky: Výsledky nami prezentovaných kazuistík poukazujú na významnosť stabilnej MMR pred pozastavením liečby s TKI pred plánovaným tehotenstvom.

Záver: Plánovanie tehotenstva u pacientok s CML je vhodné až po dosiahnutí veľkej molekulovej remisie a jej pretrvávania minimálne 2 roky. Počas tehotenstva sa odporúčajú pravidelné kontroly krvného obrazu s diferenciálnym rozpočtom leukocytov a nevyhnutné sú aj molekulárne vyšetrenia *BCR-ABL* génu.

Kľúčové slová: chronická myelocytová leukémia, inhibítory tyrozínkináz, molekulová odpoveď, tehotenstvo

Long-lasting molecular remission as a precondition for successful pregnancy in female patients with chronic myeloid leukemia

Introduction: In the era of tyrosine kinase inhibitors (TKI), treatment of patients with chronic myeloid leukemia (CML) during pregnancy represents an important clinical challenge not only from the perspective of a hematologist, but also from the perspective of a clinical geneticist who performs a laboratory analysis. The introduction of TKI into clinical practice ameliorated the prognosis of patients with CML to such an extent that they are able to conduct full-valued life, not excluding pregnancy in female patients with CML. According to current clinical recommendations, in view of potential teratogenic effects of TKI, planned pregnancy with discontinuation of treatment before pregnancy is recommended.

Cases: The following are examples of 2 female CML patients with a different duration of stable MMR before pregnancy, in which was TKI treatment interrupted.

Results: Reported cases point to importance of stable MMR before planned pregnancy with discontinuation of TKI treatment.

Conclusion: Pregnancy planning in female patients with CML is possible after the achievement of major molecular response and its persistence for at least 2 years. During pregnancy, regular measurement of the complete blood count with the leukocyte differential count is recommended, essential is periodic molecular detection of *BCR-ABL* gene.

Key words: chronic myeloid leukemia, tyrosine kinase inhibitors, molecular response, pregnancy

NewsLab, 2016; roč. 7(2): 109–112

Úvod

Chronická myelocytová leukémia (CML) je klonálne myeloproliferatívne ochorenie vychádzajúce z transformovanej kmeňovej pluripotentnej hematopoetickej bunky, pri ktorom dominuje proliferácia granulopoézy. Typickou pre túto diagnózu je recipročná translokácia dlhých ramien chromozómov 9 a 22, t(9;22)(q34;q11), pričom s danou cytogenetickou odchýlkou, tzv. chromozómom Philadelphia (Ph), je spojená prítomnosť

fúzneho génu *BCR-ABL* (1). Tento abnormálny fúzny gén produkuje onkoproteín BCR-ABL, ktorý predstavuje konštitutívne aktívnu tyrozínkinázu. Hlavnú skupinu liekov predstavujú inhibítory tyrozínovej kinázy (TKI), ktorých zavedenie do praxe znamenalo revolúciu v liečbe CML.

Imatinib bol prvým z inhibítorov tyrozínkináz, ktorý bol použitý na liečbu pacientov s CML už v roku 1998. Je považovaný za liek prvej línie u chorých s novodiagnostikovanou CML v chronickej fáze ochorenia (2, 3), predovšet-

kým u pacientov s nízkym rizikom podľa Sokala. Pre pacientov s rezistenciou alebo intoleranciou na imatinib boli vyvinuté tzv. inhibítory tyrozínkináz (dasatinib a nilotinib) druhej generácie. Keďže boli schopné navodiť rýchlejšie a dlhodobejšie liečebné odpovede v porovnaní s imatinibom, v súčasnosti sú dostupné aj ako lieky 1. línie pre pacientov s CML. Dasatinib je dostupný ako liečba 1. línie vo svete, na Slovensku len ako liečba 2. línie. Nilotinib je možné použiť ako liečbu 1. línie aj na Slovensku u pacientov so stredným a vysokým rizikom podľa Sokala a u pacientov v akcelerovanej fáze (4, 5). Podľa ELN odporúčaní je možné u novodiagnostikovaných pacientov v chronickej fáze začať liečbu imatinibom 400 mg alebo nilotinibom 600 mg, alebo dasatinibom 100 mg, bez ohľadu na rizikové skóre podľa Sokala.

V manažmente pacientov s CML sa použitím TKI dosahuje optimálna liečebná odpoveď (6). Väčšina pacientov je schopná pod ich vplyvom udržať ochorenie CML pod kontrolou, a tým zlepšiť kvalitu života. Najnovšie klinické štúdie založené na dlhodobých skúšaníach zameriavajú svoje ciele na možnosť ukončenia liečby s TKI u tých pacientov s CML, u ktorých sa dosahuje dlhodobá a zároveň hlboká molekulová odpoveď. Tento zámer je nesporne veľmi dôležitý v prípade CML pacientok, ktoré plánujú tehotenstvo. Napriek tomu, že CML je diagnostikovaná u pacientov vo vyššom veku (55 – 60 rokov), podľa registra GIMEMA je až 50 % pacientov s touto diagnózou v reprodukčnom veku. Hoci v súčasnosti používaná cielená terapia umožňuje pacientom viesť plnohodnotný život, podľa dostupných informácií sa odporúča počas užívania TKI vhodná metóda antikoncepcie. Teratogénne účinky TKI v skorom štádiu tehotenstva sa podpisujú na množstve fetálnych abnormalít. Bol opísaný ich vplyv na spontánne potraty a na skeletálne malformácie (predčasné uzavretie lebečných štrbín, kraniosynostóza, anomálie ramien, skolióza), renálne (zdvojená oblička, agenéza obličky), respiračné (hypoplázia pľúc) a gastrointestinálne (omfalokéla) abnormality (6, 7).

Zastavenie liečby s TKI u pacientov v chronickej fáze CML

Predpokladom zastavenia liečby s TKI je dosiahnutie optimálnej liečebnej odpovede u pacientov v chronickej fáze CML, ktorá je definovaná podľa odporúčaní European LeukemiaNet (3, 8). Hodnotenie odpovede na liečbu u pacientov s CML liečených TKI je monitorované v presne stanovených časových intervaloch (3, 6 a 12 mesiacov), pričom sa posudzuje odpoveď na úrovni cytogenetiky, fluorescenčnej *in situ* hybridizácie (FISH) a kvantitatívnej polymerázovej reťazovej reakcie v reálnom čase (qRT-PCR). Molekulová remisia sa vyšetruje v 3 – 6-mesačných intervaloch pri optimálnej odpovedi. Za optimálnu odpoveď sa posudzuje hladina transkriptov *BCR-ABL* $\leq 10\%$ a/alebo prítomnosť Ph+ $\leq 35\%$ po 3 mesiacoch od začatia liečby; $\leq 1\%$ a/alebo Ph+ = 0 po 6 mesiacoch; a $\leq 0,1\%$ po 12 mesiacoch liečby. Väčšina pacientov v chronickej fáze CML je schopná dosiahnuť dlhodobú cytogenetickú a molekulovú odpoveď, pričom hlavným cieľom liečby je dospieť k veľkej molekulovej odpovedi (MMR), ktorej dosiahnutie do 1 roka od začatia liečby sa považuje za významný prediktor hlbokého molekulového odpovede.

Stabilná MMR sa spája s dlhodobou absenciou progresie ochorenia do akcelerovanej a blastovej fázy (9, 10) a vedie k možnosti zastavenia liečby s TKI u časti pacientov. Francúzska klinická štúdia STIM (Stop Imatinib) ukázala, že imatinib môže byť vyradený z liečebného procesu u tých pacientov, ktorí dosahujú stabilnú kompletnú molekulovú remisiu (CMR)

(nedetekovanie transkriptu *BCR-ABL* metódou qRT-PCR) po období minimálne dvoch rokov. Vo vzorke 100 pacientov 61 % z nich zrelabovalo na molekulovej úrovni v priebehu 6 – 7 mesiacov. Hoci u väčšiny pacientov v relapse bola pozorovaná odpoveď na opakovanú liečbu, nie všetci z nich boli schopní spätne dosiahnuť CMR. Naďalej ostáva nejasný dopad prechodnej straty optimálnej odpovede, a preto sa v súčasnosti, s výnimkou klinických štúdií, neodporúča prerušenie liečby TKI (11).

Manažment tehotenstva u pacientok s CML

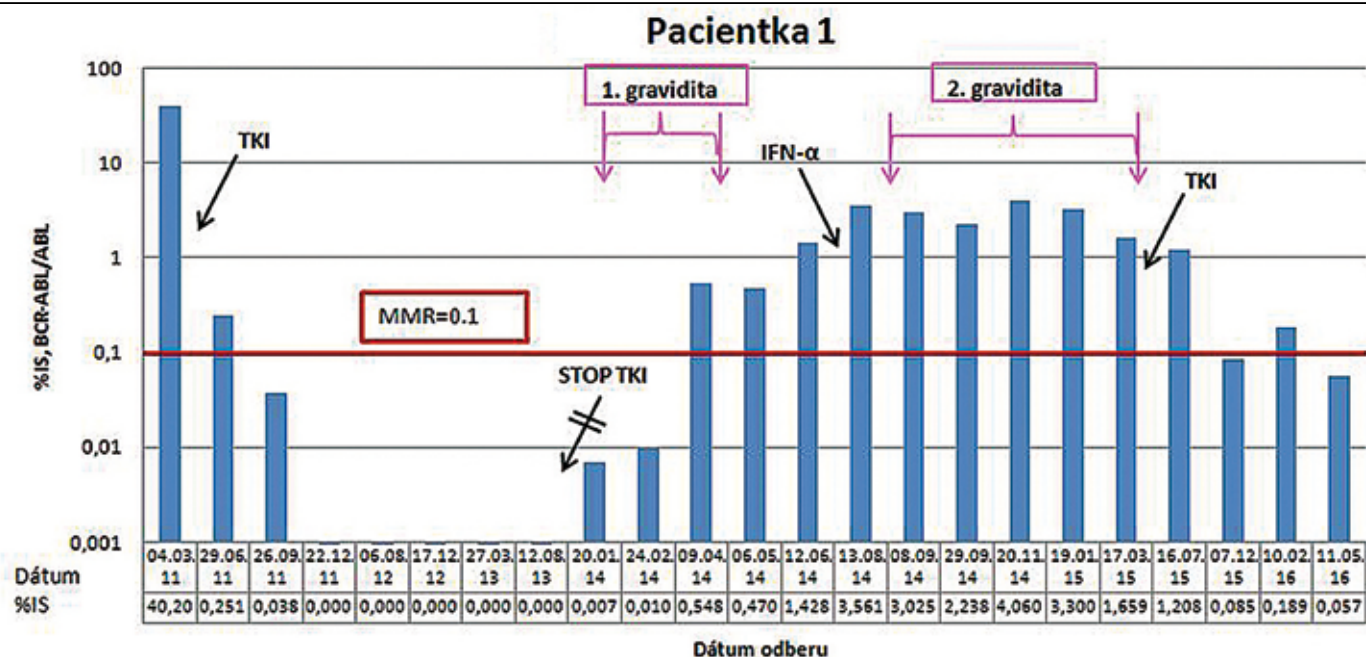
Odporúčania na liečbu pacientok s CML počas tehotenstva sú výzvou pre hematológov a gynekológov, keďže vzhľadom na vzácnosť tohto ochorenia v gravidite nie je dostatok informácií ani klinických štúdií. Doposiaľ sa preukázalo, že medián prežívania pacientov s neliečenou CML je približne 30 mesiacov, t. j. nástup progresie ochorenia nie je príliš rýchly (12). Na základe tejto skutočnosti je málo pravdepodobné, že sa rezistencia alebo progresia CML objaví v relatívne krátkom čase počas tehotenstva. Napriek tomu reziduálne CML bunky môžu spôsobiť progresiu ochorenia, a vtedy musia byť pacientky liečené aj v gravidite. Dostupnou liečebnou alternatívou v gravidite je interferón- α , ktorý síce prechádza placentárnou bariérou a môže zvýšiť riziko reprodukčných strát, no napriek tomu má len mierne nepriaznivé účinky na vývoj plodu (13).

Súbor pacientov a metódy

Keďže našim cieľom bolo poukázať na nutnosť dosiahnutia dlhotrvajúcej veľkej molekulovej remisie u pacientok s CML pri plánovaní gravidity ako predpokladu úspešného zvládnutia tehotenstva, prinášame 2 kazuistiky pacientok v reprodukčnom veku. MMR po období minimálne dvoch rokov sa považuje za indikátor úspešnej obnovy liečby TKI po pôrode, ktorý sa odzrkadľuje v opätovnom dosiahnutí MMR v krátkom časovom horizonte.

Vzorky periférnej krvi (PK) a kostnej drene (KD) na molekulové vyšetrenie boli odoberané do skúmaviek s EDTA a zároveň do TEMPUS skúmaviek, ktoré obsahujú stabilizačný roztok zamedzujúci degradáciu RNA. Do transportu a počas neho boli uchovávané pri teplote 4 – 10 °C.

Na stanovenie transkriptov fúzných génov *BCR-ABL* sa využíva metóda molekulovej analýzy, kvantitatívna polymerázová reťazová reakcia v reálnom čase (qRT-PCR). DNA (cDNA) fúzných génov je použitím hydrolyzačných TaqMan sond špecificky amplifikovaná po predchádzajúcej reverznej transkripcii z izolovanej RNA. qRT-PCR umožňuje presnú kvantifikáciu PCR produktu v exponenciálnej fáze amplifikačného procesu detekciou vzrastu fluorescenčného signálu hydrolyzačnej sondy. Intenzita fluorescencie je priamo úmerná množstvu vznikajúceho produktu. Na presné určenie množstva produktu slúžia štandardy so známym počtom kópií cDNA. Pomocou nich je možné zostrojiť kalibračnú krivku a presne určiť množstvo sledovaných transkriptov v testovanej vzorke. Počet kópií cDNA sledovaného génu je normalizovaný k počtu kópií kontrolného génu (housekeeping gén), v našom prípade gén *ABL* (Abelson). Pomer počtu kópií fúzneho génu *BCR-ABL* k počtu kópií kontrolného génu *ABL* nám poskytne hodnotu NCN (normalizovaný počet kópií fúzneho génu). Molekulovú odpoveď stanovujeme v % podľa medzinárodnej stupnice IS (International Scale) vynásobením hodnoty NCN konverzným faktorom špecifickým pre každé laboratórium.

Graf 1. Molekulová odpoveď pod vplyvom liečby TKI – pacientka 1

Výsledky

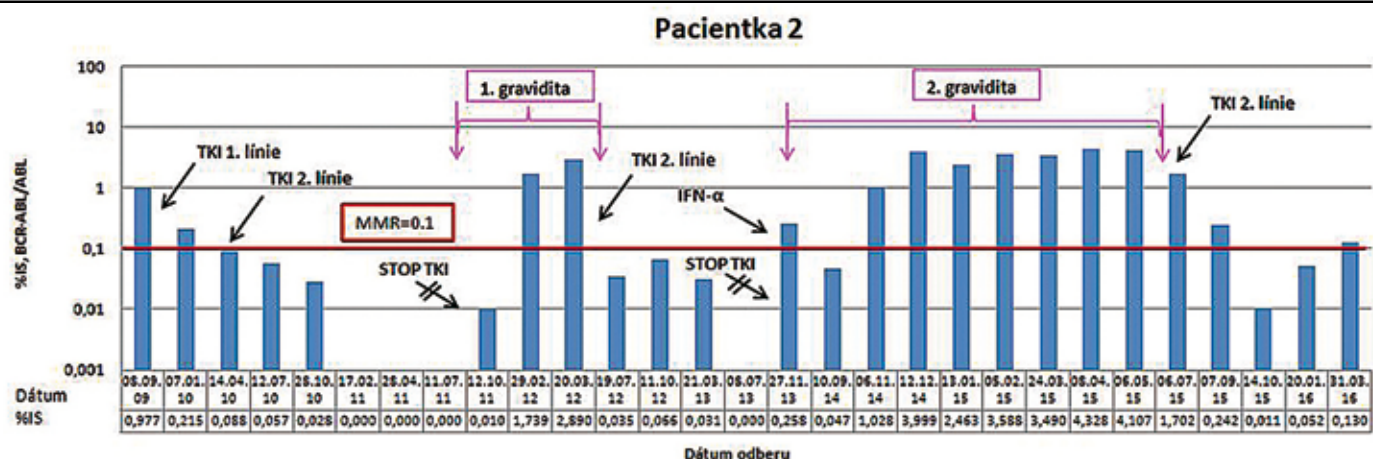
Kazuistika – pacientka 1

Pacientke narodené v roku 1984 bola diagnostikovaná CML v chronickej fáze v roku 2011. Po stanovení diagnózy CML bola začatá liečba inhibitorom tyrozínkinázy 1. línie – imatinibom (Glivec®). Pacientka bola monitorovaná v trojmesačných intervaloch podľa odporúčaní ELN, pričom po 6 mesiacoch od začatia liečby dosiahla MMR ($BCR-ABL \leq 0,1\%$) a pri následnej kontrole sme už fúzny transkript $BCR-ABL$ na molekulovej úrovni nedetegovali. Po 32 mesiacoch liečby bolo prerušené užívanie TKI pre plánovanú graviditu. Pri ďalšej kontrole v 8. gestačnom týždni gravidity sme zaznamenali zvýšenú hladinu $BCR-ABL$ ako následok prerušenia liečby imatinibom. Gravidita sa vyvíjala bez problémov, až kým v 18. gestačnom týždni nedošlo k zmlknutému potratu. Keďže u pacientky došlo počas obdobia vysadenia liečby k strate molekulovej remisie ($BCR-ABL \geq 0,1\%$), bola u nej začatá liečba s inter-

ferónom- α . Pacientke sa podarilo v priebehu pár mesiacov znovu otehotnieť, priebeh gravidity bol bez komplikácií a aj napriek liečbe interferónom- α došlo k strate cytogenetickej aj hematologickej remisie. V 39. gestačnom týždni sa pacientke narodilo zdravé dieťa a ihneď po pôrode bola znovu začatá liečba imatinibom, čo viedlo opäť k dosiahnutiu MMR (graf 1).

Kazuistika – pacientka 2

Pacientka narodená v roku 1982 mala v roku 2008 diagnostikovanú chronickú fázu CML a následne sa u nej začala liečba imatinibom. Po krátkom čase sa u nej prejavila rezistencia na liečbu prvej línie, čo viedlo k prechodu na TKI 2. generácie – dasatinib (Sprycel®). Liečba viedla najskôr k MMR a neskôr aj k nedetekovateľnosti $BCR-ABL$ na molekulovej úrovni. Po roku pacientka otehotnela a bola jej pozastavená liečba s TKI. Keďže tehotenstvo prebiehalo bez komplikácií, neužívala žiadnu liečbu. Po pôrode jej bol opäť nasadený dasatinib, na ktorý reagovala rýchlou

Graf 2. Molekulová odpoveď pod vplyvom liečby TKI – pacientka 2

obnovou MMR. O rok pacientka znovu otehotnela, dasatinib bol vysadený, začala sa liečba s interferónom- α . Po úspešnom priebehu gravidity, avšak so stratou molekulovej, cytogenetickej aj hematologickej remisie sa pacientke narodilo druhé zdravé dieťa. Po pôrode bol nasadený dasatinib, a hoci došlo v krátkom čase k obnove MMR, u pacientky nastúpil po 3 mesiacoch molekulový relaps ochorenia (graf 2).

Diskusia

Aktívnou oblasťou súčasných výskumov ostáva zodpovedať otázku možnosti pozastavenia liečby TKI pacientov s CML, u ktorých pretrvávajú veľká, prípadne až kompletná molekulová remisia (MR4,5 a MR5, t. j. pri MR4,5 hladina transkriptov *BCR-ABL* $\leq 0,0032\%$ a pri MR5 hladina transkriptov *BCR-ABL* $\leq 0,001\%$) aspoň 2 roky. Riešenie tohto problému je zvlášť dôležité u pacientok s CML, ktorých túžbou je mať zdravé dieťa.

Z našich doterajších pozorovaní je zrejmé, že stabilná MMR (> 2 roky) nie je vždy zárukou bezpečného zastavenia liečby s TKI. U oboch pacientok došlo v pomerne krátkom čase k strate molekulovej a následne i cytogenetickej a hematologickej odpovede, ktorú sa nepodarilo obnoviť ani užívaním interferónu- α . Po opätovnom nasadení TKI u pacientky 1 a 2 došlo v krátkom čase k obnove MMR, avšak u pacientky 2 nastala jej strata. Tento výsledok môže súvisieť s tým, že interval trvania MMR pred graviditou bol menej ako 2 roky, ale aj s tým, že pozastavenie liečby s TKI bolo príliš dlhé. Podľa dostupných klinických pozorovaní totiž nie je v súčasnosti možné jednoznačne povedať, aká je únosná dĺžka prerušenia liečby s TKI bez toho, aby u pacientov došlo k progresii ochorenia.

Záver

Manažment liečby CML počas tehotenstva je stredobodom záujmu viacerých pracovných vedeckých skupín a je veľkou výzvou nielen pre hematológov a gynekológov, ale aj pre samotnú pacientku, keďže v súčasnosti nie je dostatok informácií o vplyve pozastavenia liečby s TKI počas gravidity na udržanie dostatočne hlbkej molekulovej remisie. Molekulové sledovanie tehotných pacientok s CML, poskytujúce údaje o hladine transkriptov fúzných génov *BCR-ABL* by malo byť samozrejmosťou v častejších intervaloch než 3 mesiace (napríklad 1-krát/mesiac).

Literatúra

1. Rowley JD. Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature*. 1973;243:290–293.
2. Druker BJ, Sawyers CL, Capdeville R, et al. Chronic myelogenous leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2001;87–112.
3. Baccarani M, Cortes J, Pane F, et al. European LeukemiaNet. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendation of European LeukemiaNet. *J Clin Oncol*. 2009;27(35):6041–6051.
4. Kantarjian H, Shah NP, Hochhaus A, et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2010;362:2260–2270.
5. Saglio G, Kim DW, Issaragrisil S, et al. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2010;362:2251–2259.
6. Pye SM, Cortes J, Ault P, et al. The effects of imatinib on pregnancy outcome. *Blood*. 2008;111:5505–5508.
7. Apperley J. CML in pregnancy and childhood. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2009;22:455–474.
8. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2013;122:872–884.
9. Cortes J, Talpaz M, O'Brien S, et al. Molecular responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase treated with imatinib mesylate. *Clin Cancer Res*. 2005;11:3425–3432.
10. Palandri F, Lacobucci I, Soverini S, et al. Treatment of philadelphia-positive chronic myeloid leukemia with imatinib: importance of a stable molecular response. *Clin Cancer Res*. 2009;15:1059–1063.
11. Mahon FX, Rea D, Guilhot J, et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol*. 2010;11:1029–1035.
12. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, et al. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 1999;341(3):164–172.
13. Koh LP, Kanagalingam D. Pregnancies in patient with chronic myeloid leukemia in the era of imatinib. *Int J Hematol*. 2006;84:459–462.



RNDr. Miroslava Eckertová, PhD.

Medirex, a. s.
Galvaniho 17/C, 820 16 Bratislava
miroslava.eckertova@medirex.sk