

<https://doi.org/10.21682/2311-1267-2021-8-3-79-85>

## Обзор фармакогенетических аспектов токсичности метотрексата и 6-меркаптопурина при лечении острого лимфобластного лейкоза у детей

О.Д. Гурьева<sup>1,2</sup>, М.И. Савельева<sup>2</sup>, Т.Т. Валиев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23;

<sup>2</sup>ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; Россия, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

Контактные данные: Оксана Дмитриевна Гурьева [swimmer96ok@gmail.com](mailto:swimmer96ok@gmail.com)

Существенный прогресс в лечении острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у детей произошел в результате разработки эффективных протоколов химио- и сопроводительной терапии. Вектор дальнейших исследований направлен на снижение токсичности и отдаленных побочных эффектов. Изучение фармакогенетических (ФГ) аспектов токсичности одних из основных препаратов, используемых в лечении ОЛЛ, – метотрексата и 6-меркаптопурина – позволил выявить олигонуклеотидные полиморфизмы, коррелирующие с концентрацией препарата в крови, токсическими эффектами и риском рецидива ОЛЛ.

Клиническое применение ФГ-методов остается сложной задачей, требующей дополнительных исследований, в результате которых возможно будет индивидуализировать терапию ОЛЛ на основании результатов молекулярного профилирования.

**Ключевые слова:** острый лимфобластный лейкоз, метотрексат, 6-меркаптопурин, лечение, токсичность, фармакогенетика, дети

**Для цитирования:** Гурьева О.Д., Савельева М.И., Валиев Т.Т. Обзор фармакогенетических аспектов токсичности метотрексата и 6-меркаптопурина при лечении острого лимфобластного лейкоза у детей. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2021;8(3):79–85.

### A review of pharmacogenetic aspects of methotrexate and 6-mercaptopurine toxicity in pediatric acute lymphoblastic leukemia treatment

O.D. Gurieva<sup>1,2</sup>, M.I. Savelyeva<sup>2</sup>, T.T. Valiev<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Ministry of Health of Russia; 23 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115478, Russia;

<sup>2</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Ministry of Health of Russia; Bld. 1, 2/1 Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russia

Significant progress in the treatment of acute lymphoblastic leukemia (ALL) in children has resulted from the development of effective chemo- and supportive care therapy protocols. The vector of further research is aimed at reducing toxicity and long-term side effects. The study of pharmacogenetic aspects of toxicity of the main drugs used in the treatment of ALL – methotrexate and 6-mercaptopurine – allowed to identify oligonucleotide polymorphisms that correlate with the concentration of the drug in blood, toxic effects and the risk of relapse of ALL. The clinical administration of pharmacogenetic methods remains a challenging task, requiring additional research, which will make it possible to individualize the ALL therapy on the basis of the results of molecular profiling.

**Key words:** acute lymphoblastic leukemia, methotrexate, 6-mercaptopurine, treatment, toxicity, pharmacogenetics, children

**For citation:** Gurieva O.D., Savelyeva M.I., Valiev T.T. A review of pharmacogenetic aspects of methotrexate and 6-mercaptopurine toxicity in pediatric acute lymphoblastic leukemia treatment. Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology 2021;8(3):79–85.

#### Информация об авторах

О.Д. Гурьева: врач-детский онколог отделения детской онкологии и гематологии (химиотерапия гемобластозов) № 1 НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: [swimmer96ok@gmail.com](mailto:swimmer96ok@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0002-0050-0721>

М.И. Савельева: д.м.н., профессор кафедры клинической фармакологии и терапии им. акад. Б.Е. Вотчала РМАНПО, e-mail: [marinasavelyeva@mail.ru](mailto:marinasavelyeva@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0002-2373-2250>

Т.Т. Валиев: д.м.н., заведующий отделением детской онкологии и гематологии (химиотерапия гемобластозов) № 1 НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, профессор кафедры детской онкологии им. акад. Л.А. Дурнова РМАНПО, e-mail: [timurvaliev@mail.ru](mailto:timurvaliev@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0002-1469-2365>

#### Information about the authors

O.D. Gurieva: Pediatric Oncologist Department of Pediatric Oncology and Hematology (Chemotherapy of Hemoblastosis) No. 1 of the Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology at N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: [swimmer96ok@gmail.com](mailto:swimmer96ok@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0002-0050-0721>

M.I. Savelyeva: Dr. of Sci. (Med.), Professor at the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B.E. Votchal at Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Ministry of Health of Russia, e-mail: [marinasavelyeva@mail.ru](mailto:marinasavelyeva@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0002-2373-2250>

T. T. Valiev: Dr. of Sci. (Med.), Head of the Department of Pediatric Oncology and Hematology (Chemotherapy of Hemoblastosis) No. 1 of the Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology at N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Professor at the Department of Pediatric Oncology named after Academician L.A. Durnov at Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Ministry of Health of Russia, e-mail: timurvaliev@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1469-2365>

#### Вклад авторов

О.Д. Гурьева, М.И. Савельева, Т.Т. Валиев: разработка концепции и дизайна статьи, написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи, сбор и анализ данных, научное редактирование статьи, окончательное одобрение рукописи

#### Authors' contributions

O.D. Gurieva, M.I. Savelyeva, T.T. Valiev: article concept and design development, writing the text of the article, review of publications on the topic of the article, data collection and analysis, scientific edition of the article, final approval of the article

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. / **Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки. / **Funding.** The study was performed without external funding.

## Введение

Выздоровление при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) у детей — одно из наиболее впечатляющих достижений клинической онкологии XX века. Современные риск-адаптированные протоколы полихимиотерапии (ПХТ) позволяют получить выздоровление и многолетнюю общую выживаемость у 90,7 % больных [1]. Высокие показатели длительной выживаемости сопряжены с непосредственной и отдаленной токсичностью проводимой терапии. В случаях токсических эффектов со стороны сердечно-сосудистой, пищеварительной, нервной, мочевыделительной и других систем требуется назначение антидотов и препаратов, защищающих органы и системы организма от повреждающих эффектов цитостатиков. При неэффективности сопроводительной терапии и прогрессировании признаков органной недостаточности необходима редукция доз цитостатиков, что снижает общие результаты противоопухолевого лечения [2–4]. Но не только непосредственная, но и отдаленная, развивающаяся через годы после завершения терапии токсичность представляет собой важную терапевтическую проблему. Так, было показано, что у лиц, излеченных в детстве от ОЛЛ, достоверно выше риск смерти от сердечной недостаточности и вторичных опухолей, чем в популяции сверстников без отягощенного онкологического анамнеза.

Спектр возможных токсических эффектов антилейкемической терапии связан не только с препаратами, которые используются в лечении ОЛЛ, но и с соматическим и генетическим статусом организма больного. В случаях сопутствующей сердечной недостаточности, хронических воспалительных заболеваний мочевыделительной и пищеварительной систем, а также гипоксически-ишемических повреждений центральной нервной системы (особенно в перинатальном периоде) повышается вероятность развития органотоксичности при проведении ПХТ при ОЛЛ. Кроме того, исследователи отметили значительную межиндивидуальную вариабельность лекарственной токсичности и исходов заболеваний, обусловленную полиморфизмами генов-транспортеров лекарственных средств, и генов, ответственных за метаболизм цитостатиков, что делает фармакогенетические (ФГ) исследования весьма актуальными [5, 6].

В настоящее время в Российской Федерации применяются международные протоколы лечения ОЛЛ у детей: ALL IC-BFM 2002/2009 и ALL-MB-2015, похожие по спектру используемых препаратов и, следовательно, ожидаемому профилю токсичности. Данный факт определяет ОЛЛ у детей как идеальную платформу для ФГ-анализа.

Современные протоколы лечения ОЛЛ в детском возрасте состоят из 3 основных этапов и длятся 2–3 года. Лечение начинается с фазы индукции, которая включает даунорубин (DAU), препараты ферментного происхождения — L-аспарагиназу (LASPA), глюкокортикоиды, такие как дексаметазон (DEXA) или преднизолон (PRDL), алкалоиды барвинка розового — винкристин (VINC), алкилирующие агенты — циклофосфамид (CPM), антиметаболиты — цитарабин (ARA-C), 6-меркаптопурин (6-MP), для скорейшей редукции популяции бластных клеток и предупреждения развития лекарственной резистентности. Затем следует фаза консолидации, которая состоит из высоких доз метотрексата (MTX) в протоколах ALL IC-BFM 2002/2009 (2000 мг/м<sup>2</sup> или 5000 мг/м<sup>2</sup> в зависимости от прогностической группы риска и иммунофенотипа ОЛЛ) или низких доз MTX (30 мг/м<sup>2</sup>, протокол ALL-MB-2015). Доза 6-MP также разная на этапах консолидации в зависимости от протокола лечения — 25 мг/м<sup>2</sup> в протоколе ALL IC-BFM 2002/2009 и 50 мг/м<sup>2</sup> — в ALL-MB-2015. В программах лечения ОЛЛ в большинстве стран континентальной Европы доза 6-MP составляет 50 мг/м<sup>2</sup>/сут, в то время как в Великобритании, скандинавских странах и США — 75 мг/м<sup>2</sup>/сут. Для максимального снижения вероятности рецидива следующим этапом терапии ОЛЛ является цикл реиндукции, включающий препараты, используемые в фазу индукции. И, наконец, длительная поддерживающая терапия ремиссии низкими дозами MTX (20 мг/м<sup>2</sup> или 30 мг/м<sup>2</sup> в зависимости от протокола) и 6-MP [3, 4].

ФГ-исследования позволяют определить генетические полиморфизмы, ответственные за транспорт и метаболизм цитостатиков, а значит, и за возможность реализации противоопухолевого эффекта. Недостатком ФГ-исследований при ОЛЛ является то, что на каждом этапе протокола лечения пациенты получают комбинации различных препаратов с многократно

перекрывающейся токсичностью, такой как гепатотоксичность и миелосупрессия. Кроме того, иногда взаимодействия «лекарство—ген» усугубляются межлекарственными взаимодействиями, как, например, в случае с 6-МР и МТХ. Примером взаимодействия «лекарство—ген» являются включение метаболита 6-МР (дезоксиформа тиогуанина) в ДНК (ДНК-ТГ) и активация пострепликационных систем репарации ошибок репликации, которые приводят к разрывам нитей ДНК и апоптозу. Межлекарственные взаимодействия 6-МР и МТХ проявляются повышением биодоступности 6-МР за счет МТХ-обусловленного подавления ксантиноксидазы. В связи с этим сложно определить конкретный препарат, с которым связаны токсичность или эффективность, чтобы скорректировать дозу.

Важно интерпретировать ФГ-данные в сочетании с основными видами токсичности (гематологической, гастроинтестинальной, гепато-, нефро- и нейротоксичностью), регистрируемыми у детей, получающими программную терапию, с акцентом на наиболее вероятные варианты генов. Так, на этапе консолидации ремиссии при ОЛЛ чаще регистрируются гастроинтестинальная и гепатотоксичность, обусловленные применением МТХ в дозах 2000 мг/м<sup>2</sup> или 5000 мг/м<sup>2</sup> (в протоколе ALL IC-BFM 2002/2009), в то время как на этапе поддерживающей терапии отмечаются гематологическая и гепатотоксичность. Выраженные проявления токсичности заставляют проводить сопроводительное лечение, направленное на коррекцию развившихся осложнений и откладывать начало очередного этапа противоопухолевого лечения, что снижает эффективность терапии ОЛЛ [6].

В настоящее время выявлены и активно изучаются аллельные варианты различных генов, определяющих индивидуальные особенности фармакокинетики (ФК) МТХ и 6-МР, носительство которых предрасполагает к развитию нежелательных лекарственных реакций.

В связи с этим актуальным является выявление подобных ассоциаций у детей с ОЛЛ, что позволит установить связь эффективности и безопасности МТХ с его ФГ-особенностями и выявить факторы риска, позволяющие прогнозировать ответ на терапию и тяжесть токсических явлений при лечении МТХ и 6-МР.

### Метотрексат

МТХ относится к группе антиметаболитов, является антагонистом фолиевой кислоты и был введен в клиническую практику в 1950-е годы. И в настоящее время МТХ остается одним из основных препаратов в терапии ОЛЛ. МТХ подавляет синтез ДНК, конкурентно ингибируя фермент дигидрофолатредуктазу (DHFR), тем самым прерывая биосинтез тимидина [7, 8]. Множество транспортеров и ферментов участвуют в метаболизме фолиевой кислоты, а другие обеспечивают всасывание и транспорт МТХ, что влияет на ФК МТХ. Активность белков-транспортеров оказы-

вает влияние на концентрации препаратов в плазме крови и тканях, тем самым определяя лекарственную токсичность [5, 9, 10]. Выявление наличия полиморфизмов генов, кодирующих белки-переносчики МТХ и ферменты его биотрансформации, позволяет прогнозировать риск МТХ-индуцированной токсичности со стороны кожи и слизистых, печени, почек, нервной системы [2, 6].

МТХ проникает в клетки посредством транспортера, называемого восстановленным переносчиком фолиевой кислоты 1 (*RFC-1*) или членом 1 семейства 19 переносчиков растворенных веществ (*SLC19A1*) [2, 9]. Нарушение функции этого транспортера является основным механизмом резистентности к терапии МТХ. Распространенный вариант *RFC-1 G80A* связан со снижением транспортировки МТХ внутрь клетки [7]. С. Laverdière et al. показали, что у детей с ОЛЛ, получавших лечение по протоколам Dana-Farber Cancer Institute (доза МТХ 4000 мг/м<sup>2</sup>), с вариантом *RFC-1 G80A* прогноз хуже, чем у пациентов с генотипом *GG*, что проявляется увеличением частоты рецидивов и снижением бессобытийной выживаемости (БСВ) [11]. Однако другие исследования не смогли выявить взаимосвязи между исходом заболевания и полиморфизмами гена *RFC-1* [12]. В более высоких дозах (5000 мг/м<sup>2</sup>) МТХ может проникать в клетки посредством пассивной диффузии, тогда полиморфизмы генов, приводящие к снижению опосредованного переносчиками притока, могут быть менее значимыми [13].

Современные исследования позволили сделать вывод о том, что одной из важнейших причин индивидуальных различий в фармакологическом ответе на лечение МТХ являются генетические особенности пациентов, определяющие до 50 % всех атипичных реакций. Согласно полученным данным, среди факторов, влияющих на терапевтический эффект и безопасность МТХ, большая роль отводится однонуклеотидным полиморфизмам в генах, определяющим индивидуальные особенности ФК МТХ [14–16].

Переносчик органических анионов растворенного вещества 1В1 (*SLCO1B1*) – транспортер МТХ, расположен в основном на гепатоцитах человека. Два однонуклеотидных полиморфизма (SNP, single nucleotide polymorphism) *SLCO1B1*, rs11045879 и rs4149081, были связаны с клиренсом МТХ и с тяжелой гастроинтестинальной токсичностью во время проведения фазы консолидации [13, 17]. Исследования других рабочих групп также подтвердили, что SNP коррелируют с клиническим результатом [12, 18, 19]. S. Radtke et al. показали, что вариант *SLCO1B1* rs4149056 в значительной степени связан с ФК МТХ. Площадь МТХ под кривой зависимости концентрации от времени (AUC) 0–48 ч увеличивалась на 26 % в присутствии rs4149056 [13]. По результатам высокопроизводительного секвенирования экзонов *SLCO1B1* у 106 детей 4 общих гаплотипа *SLCO1B1* были связаны с самым низким клиренсом МТХ. Различные полиморфизмы в этом гене могут объяснить изменения клиренса

высокодозного MTX у 10,7 % больных [19]. Следовательно, SNP в гене *SLCO1B1* являются важными детерминантами токсичности MTX, особенно стоматита и мукозита [20].

В желудочно-кишечном тракте MTX абсорбируется путем активного транспорта при помощи переносчика фолиевой кислоты и протонсопряженного переносчика (расположены на апикальной базолатеральной мембране энтероцитов), кодируемых генами *SLC19A1* и *SLC46A1*. Биодоступность MTX также зависит от переносчиков семейства ABC, которые транспортируют молекулы MTX из энтероцитов в просвет желудочно-кишечного тракта (кодируются генами *ABCC2*, *ABCB1*, *ABCG2*) и в кровь (кодируются генами *ABCC1* и *ABCC3*). Системное выведение MTX обеспечивается за счет клубочковой фильтрации и активной секреции из клеток почечных канальцев. В этом процессе участвуют белки, кодируемые генами *SLC22A6*, *SLC22A8*, *SLC19A1*, *ABCG2*, *ABCC2* и *ABCC4*. Соответственно, при полиморфизмах данных генов можно прогнозировать нарушения элиминации MTX [21, 22].

Метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR) является наиболее изученным ферментом метаболизма MTX. Данный фермент катализирует превращение 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метил-тетрагидрофолат, который служит донором метильной группы для превращения гомоцистеина в метионин. Два SNP, C677T (rs1901133), приводящий к замене аланина на валин в кодоне 222 (Ala222Val), и A1298C (rs1801131), приводящий к замене аланина на глутаминовую кислоту в кодоне 429 (Glu429Ala), связаны с уменьшением активности MTHFR и повышением уровня MTX в плазме [23]. Некоторые работы продемонстрировали связь C677T (rs1901133) с нейро- и гепатотоксичностью при терапии MTX. Исследование, включавшее 520 детей с ОЛЛ, показало, что аллель C677T в значительной степени ассоциирована с рецидивом без повышения риска токсичности или инфекционных осложнений [24]. В работах группы Berlin–Frankfurt–Münster (BFM) в 2000 г. было показано, что полиморфизм MTHFR A1298C (rs1801131) связан с минимальной остаточной болезнью и более короткой БСВ [13]. Однако P. Chiusolo et al. отметили, что аллели C677T (rs1901133) и A1298C (rs1801131) не были значимыми предикторами безрецидивной выживаемости у детей с ОЛЛ, но были связаны с повышенной миело- и гепатотоксичностью при использовании MTX в дозах от 15 до 30 мг/м<sup>2</sup> [25]. Следовательно, имеющиеся в литературе данные достаточно противоречивы и не позволяют сделать убедительных выводов о роли SNP MTHFR в прогнозировании токсичности и ответа на терапию MTX. Вариабельность результатов может быть связана с различиями доз MTX в протоколах лечения, небольшой выборкой пациентов, исследованиями разных SNP или этнической неоднородностью между популяциями пациентов из Азии и Северной Европы.

Однако нет никаких сомнений в том, что уровень MTX в крови достоверно коррелирует с исходом заболевания [11]. Накопление активных метаболитов MTX, таких как полиглутаматы MTX (MTXPG), связано с противолейкемической активностью [26, 27]. MTX и MTXPG ингибируют ген тимидилатсинтазы (*TYMS*) и, следовательно, подавляют синтез ДНК. Двойные или тройные тандемные повторы *TYMS* участвуют в повышении экспрессии и активности *TYMS*, а также постулируются как приводящие к устойчивости терапии MTX. В исследовании M. Krajcinovic et al., включавшем 205 детей с ОЛЛ, показано, что пациенты, гомозиготные по тройным повторам (3R), имели худшие результаты выживаемости по сравнению с другими генотипами [28]. Напротив, результаты M. Lauten et al. не продемонстрировали связь между полиморфизмом *TYMS* 3R и рецидивом ОЛЛ, что делает данный вывод неоднозначным [29]. На сегодняшний день ассоциация между полиморфизмами гена *TYMS* и исходами ОЛЛ остается неопределенной, но подтверждена взаимосвязь между вариантом *TYMS* 6bp и гастроинтестинальной токсичностью [30].

Большинство мировых исследований, посвященных фармакогенетике, сосредоточено исключительно на кодирующих генах, которые составляют лишь 1,5 % всего генома. В этой связи перспективным является анализ микроРНК (miRNA), небольших некодирующих РНК, которые обеспечивают экспрессию генов в посттранскрипционной фазе при ОЛЛ. miRNA могут регулировать гены, участвующие в транспорте, метаболизме и таргетном действии лекарств. Исследования вариантов miRNAs у пациентов помогут выявить новые аспекты лекарственной резистентности. Например, SNP 829C > T рядом с сайтом связывания miR-24 DHFR вызывает повышение экспрессии DHFR, тем самым снижая эффективность терапии MTX [31].

Подсемейство С аденозинтрифосфат-связывающих транспортных белков семейства ABC (ABCC) обеспечивает выведение MTX из клетки. Активность ABCC подавляется при участии SNP микроРНК, что приводит к увеличению уровня MTX в крови. Сходным образом гиперрегуляция miR-453 снижает активность генов *ABCC1*, *ABCB1*, *ABCC2* и *ABCC4*, что приводит к повышению концентрации MTX в крови и, соответственно, токсичности [20].

Ген *DROSHA* кодирует фермент РНКазу III, участвующую в процессинге miRNA. Наличие SNP rs639174 в гене *DROSHA* связано с гастроинтестинальной токсичностью, индуцированной MTX у детей с В-линейным ОЛЛ. Это исследование впервые продемонстрировало потенциальную роль полиморфизмов в генах процессинга miRNA для прогнозирования токсичности при лечении ОЛЛ [16, 20]. Дальнейшие исследования miRNA, эпигенетики и полногеномного секвенирования смогут прояснить индивидуальную вариабельность эффективности и токсичности MTX.

**6-меркаптопурин**

6-МР является S-фазоспецифичным препаратом, антиметаболитом и относится к группе аналогов пурина. 6-МР входит в протоколы терапии ОЛЛ уже более 40 лет. В сочетании с еженедельным МТХ, ежедневный 6-МР является основой поддерживающей терапии ОЛЛ, с/без пульс-введений винкристина и дексаметазона.

Активность 6-МР обусловлена активацией препарата в тканях и связана с ингибированием синтеза ДНК при менее выраженном действии на синтез РНК. Препарат конкурирует с гипоксантином и гуанином за гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазу (HGPRT), превращающую 6-МР в 6-тиогуаниновый нуклеотид (6-ТГ), который ингибирует синтез пурина путем подавления реакций с участием тиоинозиновой кислоты (ТИК). В ходе метилирования ТИК образуется 6-метилтиоинозинат, блокирующий наряду с самой ТИК глутамин, – 5-фосфорибозилпирофосфатамидотрансферазу – первый фермент в синтезе пуриновых рибонуклеотидов; в результате нарушается митотический цикл (S-фаза), преимущественно в пролиферирующих клетках костного мозга, тормозится рост злокачественных новообразований и проявляется цитотоксический эффект.

S. Bhatia et al. сообщили, что абсолютные уровни 6-МР или 6-ТГ не влияют на риск рецидива ОЛЛ в случае достижения клинико-гематологической ремиссии. Тогда как в других работах авторы установили высокую индивидуальную вариабельность уровней 6-ТГ и выявили корреляцию с рецидивом. Следовательно, необходимо минимизировать колебания дозировки 6-МР на этапе поддерживающей терапии в целях снижения риска рецидива заболевания [16, 32, 33].

Еще один фермент, активность которого обсуждается в рамках прогнозирования рецидива и/или рефрактерного течения ОЛЛ, – тиопуринометилтрансфераза (ТРМТ). Данный фермент катализирует S-метилирование тиопурина до неактивного метаболита S-метилмеркаптопурина. Гены этих протеинов наследуются совместно, содержат несинонимичные SNP, что приводит к значительным различиям в активности фермента и риску прогрессирования ОЛЛ [34]. Пациенты с SNPs ТРМТ, связанными с более низкой ферментативной активностью, гетерозиготные или гомозиготные, отмечают умеренную или тяжелую миелосупрессию при лечении стандартными (50 мг/м<sup>2</sup>) дозами 6-МР [35]. Аналогично гомозиготность по SNP с дефицитом ТРМТ может сопровождаться более низкой частотой рецидивов ОЛЛ, но повышенным риском развития вторичных опухолей, индуцированных химиолучевой терапией [36]. Поскольку у 3–14 % пациентов отмечена гетерозиготность по ТРМТ, то активность фермента понижена, в связи с чем рекомендовано инициальное исследование ТРМТ перед началом лечения. При выявлении таких полиморфизмов терапию следует начинать со снижения дозы 6-МР на 30–70 % в связи с высоким риском развития

тяжелой гематологической токсичности [35]. Определение активности ТРМТ до лечения позволяет выявить пациентов с «дефицитом» ТРМТ и, наоборот, с гиперактивностью фермента. Первые подвержены повышенному риску острой токсичности и потенциально фатальной недостаточности костного мозга, а вторые – неэффективному лечению. Примечательно, что Управление по надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) рекомендует тестирование на наиболее часто выявляемый неактивный SNP гена *TPMT*, который может быть предиктором повышенного риска развития 6-МР-индуцированной гематологической токсичности [34, 36]. Данный факт особенно клинически значим в протоколах терапии ОЛЛ, содержащих высокие дозы 6-МР (> 50 мг/м<sup>2</sup>/сут) [26]. Было показано, что в протоколах с использованием 6-МР в дозе 75 мг/м<sup>2</sup>/сут, коррекция дозы в зависимости от статуса *TPMT* позволила провести лечение, сопоставимое по эффективности и токсичности с таковой в группе больных с диким типом *TPMT* [34, 37].

В метаболизме 6-МР принимает участие фермент инозинтрифосфатпирофосфатаза (ИТРА), который катализирует гидролиз инозинтрифосфата (ИТР) до инозинмонофосфата (ИМП). Исследования G. Stocco et al. показали, что нефункциональный ИТРА коррелирует с более высокими концентрациями метилатных нуклеотидных метаболитов 6-МР в лейкозных клетках пациентов с перестройками в гене *TPMT* [35]. Концентрация метилированного 6-МР выше у пациентов с диким типом *TPMT*/вариантом *ИТРА*. Два SNP, связанные с дефектной функцией гена *ИТРА*, rs1127354 (Pro32Thr) и IVS2 + 21A > C, были идентифицированы приблизительно у 10 % европейцев, что приводит к повышенному риску миелотоксичности 6-МР [38]. Идентификация вариантных SNPs *ИТРА* может стать следующим ФГ-тестом, адаптированным к клинической практике.

**Заключение**

Индивидуализация программ терапии ОЛЛ у детей за счет выделения клинико-иммунологических, цитогенетических и молекулярно-биологических факторов риска позволяет излечивать более 90 % пациентов. Дальнейшее совершенствование терапевтических подходов направлено на снижение токсичности проводимого противоопухолевого лечения. Определение полиморфизмов генов, обеспечивающих транспорт и метаболизм цитостатиков, т. е. ФГ-аспектов токсичности, является многообещающим и динамично развивающимся направлением клинической онкологии.

Дополнение существующих критериев групп риска ОЛЛ ФГ-показателями позволит провести дальнейшую индивидуализацию терапии. Модификация дозы химиопрепаратов (МТХ и 6-МР) с учетом понимания клиренса и прогнозирования токсичности должна проводиться согласно генотипам SNP и результатам ФГ-тестирования. В настоящее время FDA рекомен-

дует проводить генетическое тестирование *TPMT* всем пациентам, которые будут получать лечение высокими дозами МТХ и 6-МР, чтобы предотвратить выраженную гематологическую токсичность. Научная группа из Детского исследовательского госпиталя Святого Иуды (St. Jude Children's Research Hospital) разработала системный подход к терапии ОЛЛ и включила ФГ-тестирование, в том числе *TPMT*, *CYP2D6*, *SLCO1B1* и *CYP2C19*, в последнюю модификацию протокола терапии ОЛЛ (PG4KDS), продемонстрировав возможность и необходимость применения ФГ-аспектов в клинической практике [39]. Среди препят-

ствий, которые мешают внедрению ФГ-тестирования в России, – недостаточное признание клинической эффективности, высокая стоимость молекулярно-генетических исследований, опасения по поводу этических последствий, а также технические трудности/доступность тестов. Безусловно, одной лишь фармакогеномики недостаточно для объяснения всей вариабельности эффектов химиотерапии, однако нет сомнений в необходимости инновационных подходов для дальнейшего повышения выживаемости при одновременном снижении неблагоприятных последствий противоопухолевого лечения.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Demidowicz E., Pogorzala M., Lęcka M., Żolnowska H., Marjańska A., Kubicka M., Kuryło-Rafińska B., Czyżewski K., Dębski R., Kołtan A., Richert-Przygońska M., Styczyński J. Outcome of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia: Sixty Years of Progress. *Anticancer Res* 2019;39(9):5203–7. doi: 10.21873/anticancer.13717
- Maamari D., El-Khoury H., Saifi O., Muwakkit S.A., Zgheib N.K. Implementation of Pharmacogenetics to Individualize Treatment Regimens for Children with Acute Lymphoblastic Leukemia. *Pharmacogenomics Pers Med* 2020;13:295–317. doi: 10.2147/PGPM.S239602.
- Шервашидзе М.А., Валиев Т.Т. Совершенствование программ терапии острого лимфобластного лейкоза у детей: акцент на минимальную остаточную болезнь. *Онкогематология* 2020;15(3):12–26. doi: 10.17650/1818-8346-2020-15-3-12-26. [Shervashidze M.A., Valiev T.T. Pediatric acute lymphoblastic leukemia treatment protocols improvement: emphasis on minimal residual disease. *Onkohematologiya = Oncohematology* 2020;15(3):12–26. (In Russ.)].
- Пшонкин А.В., Румянцева Ю.В., Литвинов Д.В., Карелин А.Ф., Бойченко Э.Г., Лагойко С.Н., Быданов О.И., Жарикова Л.И., Алейникова О.В., Тютюкова Е.С., Дигоева М.А., Аракаев О.Р., Стрелева О.В., Шамардина А.В., Шарапова Г.Р., Мякова Н.В., Пономарева Н.И., Хачатрян Л.А., Кондратчик К.Л., Мансурова Е.Г., Минкина Л.М., Ольшанская Ю.В., Юдина Н.Б., Гербек И.Э., Шапочник А.П., Карачунский А.И. Лечение острого лимфобластного лейкоза у подростков и молодых взрослых: опыт Москва–Берлин. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2016;3(1):35–43. doi: 10.17650/2311-1267-2016-3-1-35-43. [Pshonkin A.V., Romyantseva Yu.V., Litvinov D.V., Karelin A.F., Boychenko E.G., Lagoyko S.N., Bydanov O.I., Zharikova L.I., Aleynikova O.V., Tyutikova Y.S., Digoeva M.A., Arakaev O.R., Strelina O.V., Shamardina A.V., Sharapova G.R., Myakova N.V., Ponomareva N.I., Khachatryan I.A., Kondratichik K.L., Mansurova Y.G., Minkina L.M., Olshanskaya Yu.V., Yudina N.B., Gerbek I.E., Shapochnik A.P., Karachunskiy A.I. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in adolescents and young adults: the experience of the Moscow–Berlin. *Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i onkologii = Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 2016;3(1):35–43. (In Russ.)].
- Mei L., Ontiveros E.P., Griffiths E.A., Thompson J.E., Wang E.S., Wetzler M. Pharmacogenetics predictive of response and toxicity in acute lymphoblastic leukemia therapy. *Blood Rev* 2015;29(4):243–9. doi: 10.1016/j.blre.2015.01.001.
- Rudin S., Marable M., Huang R.S. The Promise of Pharmacogenomics in Reducing Toxicity During Acute Lymphoblastic Leukemia Maintenance Treatment. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2017;15(2):82–93. doi: 10.1016/j.gpb.2016.11.003.
- Gorlick R., Goker E., Trippett T., Waltham M., Banerjee D., Bertino J.R. Intrinsic and acquired resistance to methotrexate in acute leukemia. *N Engl J Med* 1996;335(14):1041–8. doi: 10.1056/NEJM199610033351408.
- Kotur N., Lazic J., Ristivojevic B., Stankovic B., Gasic V., Dokmanovic L., Krstovski N., Milosevic G., Janic D., Zukic B., Pavlovic S. Pharmacogenomic Markers of Methotrexate Response in the Consolidation Phase of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Treatment. *Genes (Basel)* 2020;11(4):468. doi: 10.3390/genes11040468.
- Schulte R.R., Choi L., Utreja N., Van Driest S.L., Stein C.M., Ho R.H. Polymorphisms on High-Dose Methotrexate Clearance in Children and Young Adults With Leukemia and Lymphoblastic Lymphoma. *Clin Transl Sci* 2021;14(1):343–53. doi: 10.1111/cts.12879.
- Сингин А.С. Популяционная фармакокинетика препарата метотрексат. Клинический мониторинг при лечении острого лимфобластного лейкоза и лимфом у детей. *Клиническая фармакокинетика* 2004;(1):40–2. [Singin A. S. Population pharmacokinetics of the drug methotrexate. Clinical monitoring in the treatment of acute lymphoblastic leukemia and lymphoma in children. *Klinicheskaya farmakokinetika = Clinical Pharmacokinetics* 2004;(1):40–2. (In Russ.)].
- Laverdière C., Chiasson S., Costea I., Moghrabi A., Krajcinovic M. Polymorphism G80A in the reduced folate carrier gene and its relationship to methotrexate plasma levels and outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002;100(10):3832–4. doi: 10.1182/blood.V100.10.3832.
- Lopez-Lopez E., Ballesteros J., Piñan M.A., de Toledo J.S., de Andoin N.G., Garcia-Miguel P., Navajas A., Garcia-Orad A. Polymorphisms in the methotrexate transport pathway: a new tool for MTX plasma level prediction in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenet Genomics* 2013;23(2):53–61. doi: 10.1097/FPC.0b013e32835c3b24.
- Radtke S., Zolk O., Renner B., Paulides M., Zimmermann M., Möricke A., Stanulla M., Schrappe M., Langer T. Germline genetic variations in methotrexate candidate genes are associated with pharmacokinetics, toxicity, and outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2013;121(26):5145–53. doi: 10.1182/blood-2013-01-480335.
- Hu Y.H., Zhou L., Wang S.S., Jing X., Guo H.L., Sun F., Zhang, Y., Chen F., Xu J., Ji X. Methotrexate Disposition in Pediatric Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia: What Have We Learnt From the Genetic Variants of Drug Transporters. *Curr Pharm Des* 2019;25(6):627–34. doi: 10.2174/1381612825666190329141003.
- Gervasini G., de Murillo S.G., Jiménez M., de la Maya M.D., Vagace J.M. Effect of polymorphisms in transporter genes on dosing, efficacy and toxicity of maintenance therapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Gene* 2017;628:72–7. doi: 10.1016/j.gene.2017.07.025.
- Gervasini G., Mota-Zamorano S. Clinical Implications of Methotrexate Pharmacogenetics in Childhood Acute Lymphoblastic Leukaemia. *Curr Drug Metab* 2019;20(4):313–30. doi: 10.2174/1389200220666190130161758.
- Zgheib N.K., Akra-Ismail M., Aridi C., Mahfouz R., Abboud M.R., Solh H., Muwakkit S.A. Genetic polymorphisms in candidate genes predict increased toxicity with methotrexate therapy in Lebanese children with acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenet Genomics* 2014;24(8):387–96. doi: 10.1097/FPC.0000000000000069.

18. Treviño L.R., Shimasaki N., Yang W., Panetta J.C., Cheng C., Pei D., Chan D., Sparreboom A., Giacomini K.M., Pui C.H., Evans W.E., Relling M.V. Germline genetic variation in an organic anion transporter polypeptide associated with methotrexate pharmacokinetics and clinical effects. *J Clin Oncol* 2009;27(35):5972–8. doi: 10.1200/JCO.2008.20.4156.
19. Schulte R.R., Choi L., Utreja N., Van Driest S.L., Stein C.M., Ho R.H. Effect of SLC01B1 Polymorphisms on High-Dose Methotrexate Clearance in Children and Young Adults With Leukemia and Lymphoblastic Lymphoma. *Clin Transl Sci* 2021;14(1):343–53. doi: 10.1111/cts.12879.
20. Lopez-Lopez E., Martin-Guerrero I., Ballesteros J., Piñan M.A., Garcia-Miguel P., Navajas A., Garcia-Orad A. Polymorphisms of the SLC01B1 gene predict methotrexate-related toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2011;57(4):612–9. doi: 10.1002/pbc.23074.
21. Razali R.H., Noorizhab M.N.F., Jamari H., James R.J., Teh K.H., Ibrahim H.M., Teh L.K., Salleh M.Z. Association of ABC2 with levels and toxicity of methotrexate in Malaysian Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). *Pediatr Hematol Oncol* 2020;37(3):185–97. doi: 10.1080/08880018.2019.1705949.
22. Gregers J., Gréen H., Christensen I.J., Dalhoff K., Schroeder H., Carlsen N., Rosthøj S., Lausen B., Schmiegelow K., Peterson C. Polymorphisms in the *ABCB1* gene and effect on outcome and toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics J* 2015;15(4):372–9. doi: 10.1038/tpj.2014.81.
23. Cwiklinska M., Czogala M., Kwiecinska K., Madetko-Talowska A., Szafarz M., Pawinska K., Wieczorek A., Klekawka T., Rej M., Stepień K., Halubiec P., Lazarczyk A., Miklusiak K., Bik-Multanowski M., Balwiercz W., Skoczen S. Polymorphisms of SLC19A1 80 G>A, MTHFR 677 C>T, and Tandem TS Repeats Influence Pharmacokinetics, Acute Liver Toxicity, and Vomiting in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia Treated With High Doses of Methotrexate. *Front Pediatr* 2020;8:307. doi: 10.3389/fped.2020.00307.
24. Aplenc R., Thompson J., Han P., La M., Zhao H., Lange B., Rebbeck T. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and therapy response in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res* 2005;65(6):2482–7. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-2606.
25. Chiusolo P., Reddicono G., Farina G., Mannocci A., Fiorini A., Palladino M., La Torre G., Fianchi L., Sorà F., Laurenti L., Leone G., Sica S. MTHFR polymorphisms' influence on outcome and toxicity in acute lymphoblastic leukemia patients. *Leuk Res* 2007;31(12):1669–74. doi: 10.1016/j.leukres.2007.03.028.
26. Inaba H., Greaves M., Mullighan C.G. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 2013;381(9881):1943–55. doi: 10.1016/S0140-6736(12)62187-4.
27. Liu S.G., Gao C., Zhang R.D., Zhao X.X., Cui L., Li W.J., Chen Z.P., Yue Z.X., Zhang Y.Y., Wu M.Y., Wang J.X., Li Z.G., Zheng H.Y. Polymorphisms in methotrexate transporters and their relationship to plasma methotrexate levels, toxicity of high-dose methotrexate, and outcome of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Oncotarget* 2017;8(23):37761–72. doi: 10.18632/oncotarget.17781.
28. Krajcinovic M., Costea I., Chiasson S. Polymorphism of the thymidylate synthase gene and outcome of acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 2002;359(9311):1033–4. doi: 10.1016/S0140-6736(02)08065-0.
29. Lauten M., Asgedom G., Welte K., Schrappe M., Stanulla M. Thymidylate synthase gene polymorphism and its association with relapse in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2003;88(3):353–4. PMID: 12651279.
30. Iparraguirre L., Gutierrez-Camino A., Umerez M., Martin-Guerrero I., Astigarraga I., Navajas A., Sastre A., de Andoin N.G., Garcia-Orad A. MiR-pharmacogenetics of methotrexate in childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenet Genomics* 2016;26(11):517–25. doi: 10.1097/FPC.0000000000000245.
31. Mishra P.J., Humeniuk R., Mishra P.J., Longo-Sorbello G.S., Banerjee D., Bertino J.R. A miR-24 microRNA binding-site polymorphism in dihydrofolate reductase gene leads to methotrexate resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104(33):13513–8. doi: 10.1073/pnas.0706217104.
32. Bhatia S., Landier W., Hageman L., Chen Y., Kim H., Sun C.L., Kornegay N., Evans W.E., Angiolillo A.L., Bostrom B., Casillas J., Lew G., Maloney K.W., Mascarenhas L., Ritchey A.K., Termuhlen A.M., Carroll W.L., Wong F.L., Relling M.V. Systemic Exposure to Thiopurines and Risk of Relapse in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia: A Children's Oncology Group Study. *JAMA Oncol* 2015;1(3):287–95. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.0245.
33. Bhatia S., Landier W., Hageman L., Sun C-L., Kim H., Kornegay N., Evans W., Bostrom B., Casillas J., Angiolillo A., Lew G., Maloney K., Mascarenhas L., Meza J., Ritchey A., Termuhlen A., Carroll W., Wong F., Relling M. High intra-individual variability in systemic exposure to 6 mercaptopurine (6MP) in children with Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) contributes to ALL relapse: results from a Children's Oncology Group (COG) Study (AALL03N1). *Blood* 2013;122:59. doi: 10.1182/blood.V122.21.59.59.
34. Paugh S.W., Stocco G., McCorkle J.R., Diouf B., Crews K.R., Evans W.E. Cancer pharmacogenomics. *Clin Pharmacol Ther* 2011;90(3):461–6. doi: 10.1038/clpt.2011.126.
35. Stocco G., Franca R., Verzeznassi F., Londero M., Rabusin M., Decorti G. Multilocus genotypes of relevance for drug metabolizing enzymes and therapy with thiopurines in patients with acute lymphoblastic leukemia. *Front Genet* 2013;3:309. doi: 10.3389/fgene.2012.00309.
36. Relling M.V., Schwab M., Whirl-Carrillo M., Suarez-Kurtz G., Pui C.H., Stein C.M., Moyer A.M., Evans W.E., Klein T.E., Antillon-Klussmann F.G., Caudle K.E., Kato M., Yeoh A.E.J., Schmiegelow K., Yang J.J. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for Thiopurine Dosing Based on TPMT and NUDT15 Genotypes: 2018 Update. *Clin Pharmacol Ther* 2019;105(5):1095–105. doi: 10.1002/cpt.1304.
37. Pui C.H., Sandlund J.T., Pei D., Campana D., Rivera G.K., Ribeiro R.C., Rubnitz J.E., Razzouk B.I., Howard S.C., Hudson M.M., Cheng C., Kun L.E., Raimondi S.C., Behm F.G., Downing J.R., Relling M.V., Evans W.E. Total Therapy Study XIIIB at St Jude Children's Research Hospital. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Total Therapy Study XIIIB at St Jude Children's Research Hospital. *Blood* 2004;104(9):2690–6. doi: 10.1182/blood-2004-04-1616.
38. Adam de Beaumais T., Dervieux T., Fakhoury M., Medard Y., Azougagh S., Zhang D., Yakouben K., Jacqz-Aigrain E. The impact of high-dose methotrexate on intracellular 6-mercaptopurine disposition during interval therapy of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010;66(4):653–8. doi: 10.1007/s00280-009-1205-4.
39. Hoffman J.M., Haidar C.E., Wilkinson M.R., Crews K.R., Baker D.K., Kornegay N.M., Yang W., Pui C.H., Reiss U.M., Gaur A.H., Howard S.C., Evans W.E., Broeckel U., Relling M.V. PG4KDS: a model for the clinical implementation of pre-emptive pharmacogenetics. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2014;166C(1):45–55. doi: 10.1002/ajmg.c.31391.

Статья поступила в редакцию: 07.07.2021. Принята в печать: 12.08.2021.

Article was received by the editorial staff: 07.07.2021. Accepted for publication: 12.08.2021.