

Công trình được hoàn thành tại  
**TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**

Người Hướng dẫn khoa học:

- 1. GS.TS. Nguyễn Tấn Bình**
- 2. GS.TS. Phạm Quang Vinh**

Phản biện 1: PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hà

Phản biện 2: TS.BS. Bạch Quốc Khánh

Phản biện 3: PGS.TS. Vũ Minh Phương

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm Luận án cấp Trường  
Tại: Trường Đại học Y Hà Nội

Vào hồi: ..... giờ .... ngày .... tháng ..... năm 2020

Có thể tìm thấy Luận án tại các thư viện:

- Thư viện Quốc gia
- Thư viện thông tin Y học Trung ương
- Thư viện Trường Đại học Y Hà Nội

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh bạch cầu mạn dòng tủy là một bệnh lý khá phổ biến trong huyết học, đặc trưng bởi sự tăng sinh mất kiểm soát và trưởng thành bất thường dòng bạch cầu hạt. Đến nay, cơ chế chính gây bệnh đã được khám phá là do đột biến chuyển đoạn tương hỗ giữa nhiễm sắc thể 9 và 22, hình thành nhiễm sắc thể Philadelphia và tổ hợp gen BCR-ABL. Imatinib đã tạo ra cuộc cách mạng lớn trong điều trị bệnh bạch cầu mạn dòng tủy. Tuy nhiên, khoảng 27% người bệnh đã xuất hiện đề kháng với imatinib sau một thời gian sử dụng. Tỷ lệ người bệnh không dung nạp imatinib phải ngưng thuốc mặc dù có thấp hơn nhưng cũng gây một khó khăn không nhỏ trong quá trình điều trị. Những người bệnh đề kháng hay không dung nạp này có rất nhiều nguy cơ tiến triển sang những giai đoạn sau nặng nề và khó kiểm soát hơn. Chính vì những điều này, kiểm soát người bệnh bạch cầu mạn dòng tủy kháng hay không dung nạp imatinib là một thử thách vô cùng lớn trong điều kiện hiện tại ở Việt Nam.

Từ năm 2015, bệnh viện Truyền Máu Huyết Học TP.HCM bắt đầu đưa nilotinib vào điều trị chính thức cho nhóm người bệnh bạch cầu mạn dòng tủy kháng hay không dung nạp imatinib. Nghiên cứu bước đầu cho thấy nhiều kết quả khả quan với tỷ lệ đạt đáp ứng huyết học và đáp ứng di truyền tế bào (DTTB) lần lượt là 95% và 74%. Ngoài ra, đến nay tại Việt Nam vẫn chưa có một nghiên cứu hệ thống với thời gian dài nào về việc sử dụng nilotinib trên nhóm người bệnh đặc biệt này. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu “**Đánh giá hiệu quả của nilotinib trên người bệnh bạch cầu mạn dòng tủy giai đoạn mạn kháng hay không dung nạp với imatinib**” với 3 mục tiêu:

- 1. Mô tả đặc điểm lâm sàng và sinh học của người bệnh kháng hay không dung nạp imatinib.*
- 2. Đánh giá đáp ứng về: Huyết học, di truyền tế bào, sinh học phân tử và thời gian sống còn sau khi điều trị với nilotinib.*

### ***3. Xác định tỷ lệ các độc tính sau khi điều trị với nilotinib.***

#### **\* Tính cấp thiết của đề tài**

Bệnh BCMDT là một bệnh lý huyết học ác tính khá phổ biến ở Việt Nam. Hiện nay, bệnh viện Truyền Máu Huyết Học TP.HCM đang quản lý trên 1000 người bệnh BCMDT. Số lượng người bệnh thất bại với imatinib bước đầu ngày càng tăng. Nếu không có phương pháp kiểm soát hiệu quả thì những người bệnh này dễ tiến triển bệnh và tử vong. Nilotinib là một điều trị mới tại Việt Nam và nghiên cứu của chúng tôi giúp đánh giá hiệu quả và tính an toàn của nilotinib trên nhóm người bệnh BCMDT kháng hay không dung nạp imatinib. Từ đó các bác sĩ lâm sàng sẽ có nhiều bằng chứng và kinh nghiệm hơn để áp dụng nilotinib vào đối tượng người bệnh Việt Nam.

#### **\* Những đóng góp mới của luận án**

Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam thực hiện trên cỡ mẫu lớn (112 người bệnh BCMDT giai đoạn mạn kháng hoặc không dung nạp imatinib) nhằm đánh giá hiệu quả và tính an toàn của nilotinib trong thời gian dài (2 năm). Công trình này đã chứng minh được nilotinib có hiệu quả khả quan với tỷ lệ đạt đáp ứng huyết học hoàn toàn, đáp ứng di truyền tế bào hoàn toàn và đáp ứng sinh học phân tử (SHPT) phần lớn tốt. Thời gian sống toàn bộ và thời gian sống không tiến triển bệnh cải thiện với điều trị nilotinib. Nghiên cứu cũng xác định được các yếu tố quan trọng có ảnh hưởng đến đáp ứng với điều trị với nilotinib, giúp các bác sĩ lâm sàng có thể tiên lượng người bệnh tốt hơn.

#### **\* Cấu trúc luận án**

Luận án có 108 trang, bao gồm: đặt vấn đề 2 trang, tổng quan tài liệu 26 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu 18 trang, kết quả nghiên cứu 31 trang, bàn luận 28 trang, kết luận 2 trang, kiến nghị 1 trang. Luận văn có 24 bảng, 11 hình, 20 biểu đồ, 159 tài liệu tham khảo (13 tài liệu tiếng Việt, 146 tài liệu tiếng Anh).

## **Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU**

### **1.1. Tổng quát về bệnh bạch cầu mạn dòng tủy**

Bệnh bạch cầu mạn dòng tủy (BCMDT) là một bệnh thuộc nhóm rối loạn tăng sinh tủy xương, vốn ảnh hưởng trực tiếp lên các tế bào gốc tạo máu. Về mặt diễn tiến tự nhiên, bệnh BCMDT được đặc trưng bởi 3 giai đoạn: mạn, tiến triển và chuyển cấp. Hầu hết các người bệnh sẽ được chẩn đoán trong giai đoạn mạn, với thời gian sống có thể kéo dài từ 5-7 năm. Tuy nhiên nếu không điều trị thích hợp, bệnh sẽ chuyển sang giai đoạn tiến triển với sự tích tụ dần những tế bào ung thư có mức độ ác tính cao. Giai đoạn chuyển cấp là giai đoạn cuối cùng, có tiên lượng khá dè dặt khiến cho việc điều trị trở nên khó khăn hơn, thời gian sống cũng rút ngắn đáng kể.

#### ***1.1.1. Dịch tễ học của bệnh bạch cầu mạn dòng tủy***

Bệnh BCMDT có tần suất mới mắc tương đối thấp, chỉ khoảng 1 – 1,5 trường hợp mới trên 100.000 người mỗi năm. Tuy nhiên, tần suất mắc bệnh cộng dồn lại khá cao, do những tiến bộ về điều trị trong 10 năm gần đây. Ở các nước Châu Á, Châu Phi, Tây Âu, Đông Âu và Mỹ Latin, tuổi trung vị chẩn đoán thấp hơn đáng kể, dao động từ 38-41 tuổi.

#### ***1.1.2. Cơ chế sinh bệnh***

Nhiễm sắc thể đột biến Philadelphia (NST Ph) là nguyên nhân chính yếu gây phát sinh bệnh BCMDT. NST Ph là sự chuyển đoạn tương hỗ giữa nhiễm sắc thể 9 và 22, với ký hiệu tương ứng t(9;22)(q34;q11). Protein BCR-ABL hình thành từ đột biến NST này có khả năng hoạt hóa tyrosin kinase rất mạnh, ảnh hưởng hàng loạt con đường dẫn truyền tín hiệu bên trong tế bào. Điều này đưa đến sự tăng sinh tế bào mạnh mẽ, giảm khả năng kết dính với chất nền tủy xương, mất khả năng đáp ứng với hiện tượng chết theo chương trình và gia tăng nguy cơ bất ổn định hệ di truyền nội tại.

#### ***1.1.3. Chẩn đoán bệnh bạch cầu mạn dòng tủy***

Theo hướng dẫn của Tổ chức y tế thế giới (WHO), việc chẩn đoán bệnh BCMĐT thường được tiến hành từng bước, bao gồm huyết đồ, tủy đồ và xét nghiệm di truyền. Số lượng bạch cầu trong máu tăng cao với ưu thế là bạch cầu hạt, cùng hình ảnh phết máu ngoại biên có đầy đủ các giai đoạn bạch cầu. Tủy đồ có hình ảnh tủy tăng sinh mạnh, không có khoảng trống tế bào. Tuy nhiên, việc chẩn đoán xác định thường được dựa vào sự biểu hiện của nhiễm sắc thể đột biến Philadelphia trên nhiễm sắc thể đồ hay kỹ thuật FISH hoặc tổ hợp BCR-ABL trên kỹ thuật PCR ở mẫu tủy xương.

## 1.2. Vai trò của imatinib trong điều trị bệnh bạch cầu mạn dòng tủy

### 1.2.1. Cơ chế tác dụng của imatinib

Cơ chế tác động của imatinib là sự gắn kết cạnh tranh với ATP trên vùng tyrosin kinase, từ đó chấm dứt hiện tượng phosphoryl hóa những protein tương ứng trên con đường tín hiệu.

### 1.2.2. Đánh giá đáp ứng khi điều trị

*Bảng 1.1: Tiêu chuẩn đáp ứng với điều trị thuốc ức chế tyrosin kinase theo ELN*

Đáp ứng	Tiêu chuẩn
Đáp ứng huyết học hoàn toàn (Complete hematologic response –CHR)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Huyết đồ bình thường:               <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Tiểu cầu &lt; <math>450 \times 10^9/L</math></li> <li>✓ Bạch cầu &lt; <math>10 \times 10^9/L</math></li> <li>✓ Phết máu ngoại biên : không hiện diện tế bào non</li> </ul> </li> </ul>
Đáp ứng di truyền tế bào (Cytogenetic response-CyR)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hoàn toàn (CCyR): nhiễm sắc thể Ph âm tính</li> <li>• Một phần (PCyR): Nhiễm sắc thể Ph từ 1-35%</li> <li>• Phần lớn (MCyR): bao gồm CCyR và PCyR (Nhiễm sắc thể Ph từ 0-35%)</li> </ul>

Đáp ứng	Tiêu chuẩn
Đáp ứng sinh học phân tử (Molecular response – MR)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hoàn toàn (CMR): không phát hiện bản mã nào của gen BCR-ABL trên 2 lần xét nghiệm RT-PCR định lượng hay nested PCR (độ nhạy ít nhất <math>10^{-4}</math>).</li> <li>• Phần lớn (MMR): Tỷ lệ BCR-ABL/ABL <math>\leq 0,1\%</math> theo thang chuẩn quốc tế, thực hiện bằng phương pháp PCR định lượng.</li> </ul>

### 1.3. Sự đề kháng và không dung nạp imatinib

#### 1.3.1. Hiện tượng đề kháng imatinib

“Kháng nguyên phát” là không đạt được đáp ứng tối ưu tại từng mốc thời gian quy định theo ELN. “Kháng thứ phát” được sử dụng để mô tả những trường hợp mất đáp ứng đã đạt được khởi đầu.

Có 2 nhóm cơ chế kháng thuốc: (1) cơ chế phụ thuộc BCR-ABL như xuất hiện đột biến vùng kinase và sự khuếch đại BCR-ABL (2) cơ chế không phụ thuộc BCR-ABL như bơm đẩy thuốc, kém tuân thủ điều trị

...

#### 1.3.2. Sự không dung nạp imatinib

Không dung nạp đối với điều trị được đưa ra khi một người bệnh xuất hiện những tác dụng phụ không thể kiểm soát được bằng cách giảm liều hay điều trị nâng đỡ. Độc tính độ 3 hay 4 phổ biến nhất của imatinib là giảm bạch cầu hạt (17%), giảm tiểu cầu (9%) và thiếu máu (4%), tăng enzym gan (5%).

### 1.4. Sử dụng nilotinib trong kiểm soát hiện tượng đề kháng hay không dung nạp imatinib

#### 1.4.1. Cơ chế tác động của nilotinib

Nilotinib là thuốc ức chế tyrosin kinase thế hệ hai. Tuy nhiên, sự thay đổi cấu trúc phân tử của nilotinib khiến thuốc này gắn kết mạnh mẽ hơn với protein BCR-ABL gấp 10-50 lần so với imatinib. Ngoài ra, nilotinib còn thể giảm hiện tượng tự phosphoryl hóa của BCR-ABL từ 10 đến 20 lần so với imatinib.

### ***1.4.2. Liều dùng và cách sử dụng nilotinib***

Theo khuyến cáo của Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA), nilotinib sẽ được khởi đầu với liều 400mg uống 2 lần mỗi ngày đối với những trường hợp sử dụng nilotinib như là điều trị bước hai. Việc sử dụng đồng thời nilotinib với thuốc ức chế bơm proton sẽ có thể dẫn đến giảm nồng độ nilotinib trong cơ thể và tránh sử dụng thức ăn trong khoảng thời gian từ 2 giờ trước và 1 giờ sau khi uống nilotinib.

### ***1.4.3. Độc tính của nilotinib***

Nilotinib được dung nạp khá tốt ở liều 800mg mỗi ngày. Độc tính huyết học như giảm bạch cầu hạt, giảm tiểu cầu cũng thường gặp ở những trường hợp sử dụng nilotinib bước 2. Ngoài ra, đỏ da, buồn nôn, ngứa, đau đầu và mệt là những tác dụng phụ không phải huyết học phổ biến nhất.

### ***1.4.4. Hiệu quả của nilotinib trong điều trị người bệnh bạch cầu mạn dòng tủy để kháng hay không dung nạp với imatinib***

Trong nghiên cứu của Kantarjian, nilotinib được nghiên cứu trên 321 người bệnh BCMDT giai đoạn mạn kháng hay không dung nạp imatinib. Sau 24 tháng theo dõi, tỷ lệ đạt đáp ứng sinh học phân tử phần lớn (MMR) với nilotinib là 28% và đáp ứng DTTB hoàn toàn (CCyR) là 46%. Tỷ lệ đạt đáp ứng DTTB phần lớn (MCyR) gần như tương đương giữa nhóm kháng hay không dung nạp imatinib (48% so với 47%), với thời gian trung vị là 2,8 tháng. Một nghiên cứu của Hughes đã cho thấy mặc dù có đến 55% người bệnh mang đột biến kháng imatinib, nhưng đáp ứng với nilotinib vẫn được duy trì.

## **1.5. Các nghiên cứu ở Việt Nam**

Nghiên cứu của Cò Nguyễn Phương Dung và cộng sự đánh giá 21 người bệnh BCMDT kháng hay không dung nạp imatinib, được chuyển sang điều trị với nilotinib liều 400 mg 2 lần/ngày. Có 48% người bệnh mang đột biến kháng thuốc. Sau 6 tháng theo dõi, 5/21 người bệnh (24%) đạt đáp ứng DTTB hoàn toàn.

Nghiên cứu của tác giả Lưu Thị Thu Hương và cộng sự trên 69 người bệnh BCMDT thất bại với imatinib, được chuyển đổi sang nilotinib liều 300 mg 2 lần/ngày. Tỷ lệ đáp ứng DTTB hoàn toàn sau 6 tháng và 12 tháng điều trị lần lượt là 40,82% và 41%.

## **Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Đối tượng nghiên cứu**

Đối tượng nghiên cứu gồm 112 người bệnh trên 18 tuổi được chẩn đoán bạch cầu mạn dòng tủy giai đoạn mạn kháng hoặc không dung nạp imatinib tại bệnh viện Truyền Máu Huyết Học thành phố Hồ Chí Minh từ tháng 1/2015 đến tháng 12/2017 đáp ứng với các tiêu chuẩn như: không mang đột biến kháng thuốc hoặc có đột biến còn nhạy với nilotinib, chức năng gan thận bình thường, không đang mang thai hoặc cho con bú, không có tiền căn bệnh lý nội ngoại khoa nặng nề trước điều trị nilotinib.

#### ▪ Phân bố đối tượng nghiên cứu:

Trong 112 người bệnh, có 93 trường hợp kháng imatinib và 19 trường hợp không dung nạp thuốc. Trong nhóm kháng imatinib, có 41 người bệnh trước đó từng sử dụng liều cao imatinib trước khi bắt đầu nilotinib. Các người bệnh ngưng điều trị do bất kỳ nguyên nhân gì cũng được theo dõi đến khi kết thúc nghiên cứu.

### **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

#### **2.2.1. Thiết kế nghiên cứu**

Thiết kế nghiên cứu mô tả hàng loạt ca, tiến cứu.

#### **2.2.2. Các kỹ thuật xét nghiệm sử dụng trong nghiên cứu**

##### **2.2.2.1. Xét nghiệm huyết tủy đồ**

Theo quy chuẩn của khoa Huyết Sinh Học – Bệnh viện Truyền Máu Huyết Học TP.HCM.

Các chỉ số máu được xác định bằng máy đếm tế bào tự động.

Phết máu ngoại biên + nhuộm Giemsa nhằm xác định: công thức bạch cầu; hình thái hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu; độ tập trung tiểu cầu; tỷ lệ tế bào non; những bất thường khác trên lam.



Tạo các tiêu bản từ dịch hút tủy xương, nhuộm Giemsa, nhuộm Wright hoặc nhuộm hóa tế bào (nếu ở giai đoạn tiến triển hoặc chuyển cấp). Phân tích lam tủy nhằm xác định: mật độ tủy; đặc điểm hình thái và số lượng của từng dòng tế bào; sự phân bố của các dòng tế bào; tỷ lệ tế bào dòng tủy và dòng hồng cầu; sự trưởng thành của nhân và nguyên sinh chất; sự xâm nhập của các tế bào bất thường; tỷ lệ tế bào non trong tủy xương...

#### 2.2.2.2. *Kỹ thuật lai huỳnh quang tại chỗ (FISH)*

Được áp dụng để chẩn đoán và theo dõi đáp ứng di truyền tế bào trong bệnh BCMĐT.

#### 2.2.2.3. *Kỹ thuật định lượng gen bằng PCR (RQ-PCR)*

Được áp dụng để theo dõi đáp ứng sinh học phân tử trong bệnh BCMĐT.

#### 2.2.2.4. *Kỹ thuật giải trình tự gen trực tiếp*

Được áp dụng để tầm soát đột biến vùng kinase của BCR-ABL ở những người bệnh kháng hay không dung nạp imatinib.

#### 2.2.2.5. *Kỹ thuật sinh hóa và chẩn đoán hình ảnh.*

Được thực hiện theo quy trình chuẩn của khoa Huyết Sinh Học và khoa Chẩn Đoán Hình Ảnh – Bệnh viện Truyền Máu Huyết Học TP.HCM.

### 2.2.3. *Quy trình nghiên cứu*

#### 2.2.3.1. *Lập hồ sơ chi tiết*

Tiếp xúc, giải thích quá trình nghiên cứu với người bệnh.

Tiến hành khai thác các tiền sử bệnh thông qua hỏi người bệnh và tra cứu hồ sơ.

Tiến hành thăm khám toàn diện người bệnh, xác định các triệu chứng người bệnh đang có.

#### 2.2.3.2. *Khảo sát các đặc điểm lâm sàng, sinh học của người bệnh trước khi bắt đầu điều trị nilotinib*

❖ Khảo sát lâm sàng

Tiến hành khám tổng quát người bệnh, đánh giá kích thước gan, lách, hạch, sự hiện diện của bệnh xâm lấn các cơ quan.

Đánh giá tổng trạng người bệnh theo thang điểm ECOG.

❖ Khảo sát các xét nghiệm sinh học

- Huyết tủy đồ.
- Tầm soát đột biến kháng thuốc bằng kỹ thuật giải trình tự gen.
- Kỹ thuật lai huỳnh quang tại chỗ (FISH).
- Sinh hóa.
- Xét nghiệm thai ở người bệnh nữ trong độ tuổi sinh nở.
- Siêu âm tim, đo điện tim 12 chuyển đạo.

**2.2.3.3. Tiến hành điều trị với nilotinib**

Phác đồ điều trị: Sử dụng nilotinib liều 400 mg x 2 lần/ngày. Hai lần uống thuốc cần cách nhau chính xác 12 giờ. Không được ăn trước uống nilotinib 2 giờ và sau uống thuốc 1 giờ. Không được nghiền nhỏ hoặc ngâm thuốc trong nước khi sử dụng.

**2.2.3.4. Theo dõi trong quá trình điều trị với nilotinib**

Người bệnh được theo dõi và đánh giá lâm sàng và các xét nghiệm sinh học cho đến khi kết thúc nghiên cứu hoặc khi người bệnh ngưng điều trị. Về sinh học, có 2 nhóm xét nghiệm người bệnh được theo dõi định kỳ:

- Nhóm xét nghiệm đánh giá đáp ứng với điều trị, gồm huyết đồ, FISH và PCR
- Nhóm xét nghiệm theo dõi độc tính liên quan đến điều trị, gồm sinh hóa, điện tâm đồ, siêu âm tim.

**2.2.3.5. Thu thập và xử lý số liệu, viết báo cáo.**

Số liệu được thu thập từ các hồ sơ bệnh án của các người bệnh thỏa tiêu chuẩn chọn mẫu. Sau đó số liệu được xử lý, tổng kết và viết báo cáo.

**2.2.4. Các tiêu chuẩn đánh giá quan trọng**

**2.2.4.1. Tiêu chuẩn xác định kháng imatinib**

Dựa theo khuyến cáo của ELN 2013, có hai dạng đề kháng với imatinib:

- ❖ *Kháng nguyên phát*: khi không đạt đáp ứng tại những mốc thời gian tương ứng:
  - Không đạt đáp ứng huyết học hoàn toàn trong 3 tháng
  - Không đạt đáp ứng DTTB một phần trong 6 tháng
  - Không đạt đáp ứng DTTB hoàn toàn trong 12 tháng
  - Không đạt đáp ứng SHPT phần lớn sau thời gian 12 tháng.
- ❖ *Kháng thứ phát*: Khi người bệnh đã đạt được đáp ứng bước đầu với imatinib (theo tiêu chuẩn tối ưu của ELN 2013), và trở nên mất các đáp ứng này sau một thời gian điều trị.

#### 2.2.4.2. Tiêu chuẩn xác định không dung nạp imatinib

Chẩn đoán không dung nạp imatinib khi xuất hiện (1) bất kỳ độc tính không phải huyết học nào từ độ 3 trở lên hay (2) độc tính từ độ 2 trở lên nhưng kéo dài trên 1 tháng hoặc tái đi tái lại trên 3 lần bất kể giảm liều hay điều trị hỗ trợ tối đa, hoặc (3) độc tính huyết học độ 4 kéo dài trên 7 ngày.

#### 2.2.4.3. Tiêu chuẩn xác định giai đoạn mạn của bệnh BCMDT

Theo tiêu chuẩn của tổ chức y tế thế giới WHO, người bệnh trong nghiên cứu phải thỏa tất cả tiêu chuẩn quan trọng sau:

- Tỷ lệ tế bào non trong tủy và trong máu ngoại biên < 10 %
- Basophil ở máu ngoại biên < 20%
- Không có xâm lấn ngoài tủy
- Không có tiêu chuẩn xếp vào giai đoạn tiến triển hay chuyển cấp.

#### 2.2.4.4. Tiêu chuẩn đánh giá đáp ứng huyết học

Theo ELN 2013, đáp ứng huyết học hoàn toàn khi:

- Tiểu cầu:  $150 - 450 \times 10^9/L$ .
- Bạch cầu:  $4 - 10 \times 10^9/L$ .
- Phết máu ngoại biên: không hiện diện tế bào non.
- Lách không to.

#### 2.2.4.5. Tiêu chuẩn đánh giá đáp ứng di truyền tế bào

Theo ELN 2013, đáp ứng di truyền tế bào, chia thành 4 mức chính sau đây:

- Đáp ứng DTTB một phần (PCyR) là khi tỷ lệ NST Ph 1 - 35%.
- Đáp ứng DTTB hoàn toàn (CCyR) là khi tỷ lệ NST Ph bằng 0%.
- Đáp ứng DTTB phần lớn (MCyR) là khi tỷ lệ NST Ph <35% (bao gồm PCyR và CCyR).
- Không đạt đáp ứng DTTB tốt khi tỷ lệ NST Ph  $\geq 35\%$ .

#### 2.2.4.6. Tiêu chuẩn đánh giá đáp ứng sinh học phân tử

Theo ELN 2013, đáp ứng sinh học phân tử, chia thành 2 mức nhỏ sau đây:

- Đáp ứng SHPT phần lớn (MMR) là khi tỷ lệ bản sao của tổ hợp gen BCR-ABL  $\leq 0,01\%$ .
- Đáp ứng SHPT hoàn toàn (CMR) là khi bản sao của tổ hợp gen BCR-ABL âm tính 2 lần liên tiếp bằng kỹ thuật RQ-PCR.

#### 2.2.4.7. Tiêu chuẩn xác định độc tính liên quan đến điều trị

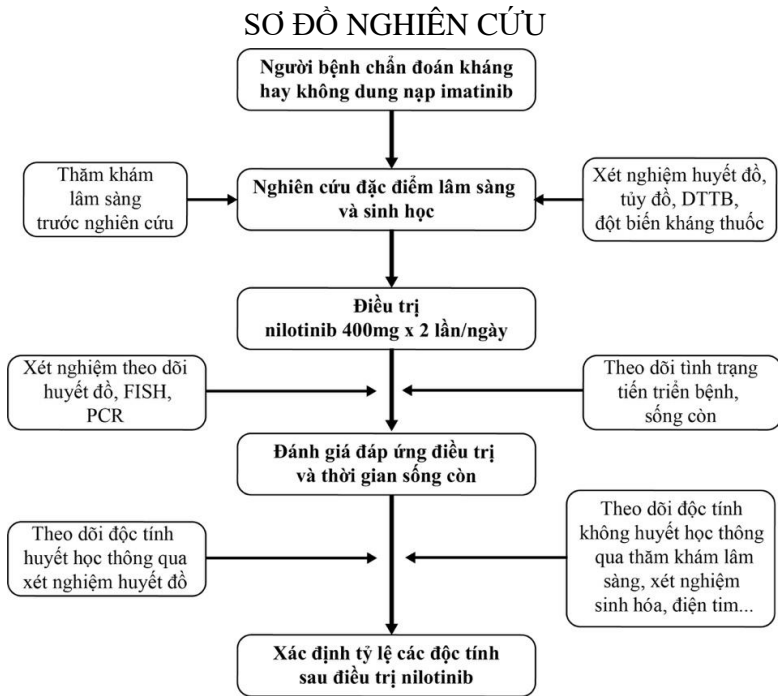
Độc tính về huyết học và không huyết học được đánh giá và phân độ dựa theo tiêu chuẩn của Viện Ung Thư Quốc Gia Hoa Kỳ NCI, phiên bản 4.0.

### 2.2.5. Xử lý số liệu

Phân tích số liệu bằng chương trình SPSS 20.

Sử dụng phương pháp Kaplan Meier để ước lượng tỷ lệ sống sót và so sánh bằng phương pháp log-rank test 2 chiều. Giá trị  $p < 0,05$  được xem là có ý nghĩa thống kê:

- *Thời gian sống toàn bộ (OS)*: là thời gian từ lúc người bệnh bắt đầu điều trị với nilotinib cho đến lúc tử vong hoặc chấm dứt nghiên cứu.
- *Thời gian sống không tiến triển bệnh (PFS)*: là thời gian từ lúc bắt đầu điều trị nilotinib đến lần theo dõi cuối cùng hoặc đến khi có dấu hiệu tiến triển bệnh (chuyển sang giai đoạn tiến triển hoặc chuyển cấp) hay tử vong.



### Chương 3: KẾT QUẢ

#### 3.1. Đặc điểm chung của mẫu nghiên cứu

Tuổi trung vị lúc bắt đầu điều trị nilotinib là 45,5 tuổi (giới hạn từ 19-77 tuổi). Trong 112 người bệnh, nam có 74 người bệnh chiếm 66,1% và nữ có 38 người bệnh chiếm 33,9%. Thời gian trung vị từ lúc chẩn đoán bệnh đến lúc bắt đầu nilotinib là 50 tháng (giới hạn 2-182 tháng).

Lúc chẩn đoán ban đầu, đa số bệnh nhân thuộc nhóm nguy cơ cao theo phân nhóm Sokal (chiếm 63,4%) và theo EUTOS (chiếm 72,3%). Thời gian trung vị người bệnh điều trị với imatinib liều chuẩn (400mg/ngày) là 24,1 tháng. Tuy nhiên, 50,9% người bệnh chỉ đạt tối đa đến đáp ứng huyết học hoàn toàn. Tỷ lệ không cao đạt đáp ứng DTTB hoàn toàn (12,5%) và đáp ứng SHPT phần lớn (13,4%) với imatinib liều chuẩn.

Trong 93 người bệnh kháng imatinib, có 68 trường hợp kháng nguyên phát (chiếm 60,7%) và 25 trường hợp kháng thụ phát (chiếm 22,3%). Kháng về mặt DTTB chiếm ưu thế (chiếm 64,5%).

Có 41/93 người bệnh được tăng liều imatinib sau khi chẩn đoán kháng thuốc liều chuẩn (22 trường hợp tăng lên 600mg/ngày và 19 trường hợp tăng lên 800mg/ngày. Tuy nhiên, chỉ có 19,5% người bệnh đạt được đáp ứng DTTB hoàn toàn với liệu pháp tăng liều này.

### **3.2. Đặc điểm lâm sàng và sinh học của người bệnh trước khi bắt đầu điều trị nilotinib**

#### **3.2.1. Đặc điểm lâm sàng trước khi bắt đầu điều trị nilotinib**

Trước khi bắt đầu điều trị nilotinib, có 12/112 người bệnh có triệu chứng thiếu máu và 8/112 người bệnh có gan lách to.

#### **3.2.2. Đặc điểm sinh học trước khi bắt đầu điều trị nilotinib**

Đa số người bệnh có chỉ số sinh học trong giới hạn bình thường trước khi bắt đầu điều trị, thể hiện ở:

- 94/112 người bệnh (chiếm 83,9%) có nồng độ hemoglobin  $\geq 10$  g/dl.
- 96/112 người bệnh (chiếm 85,7%) có số lượng bạch cầu  $\leq 5 \times 10^9/L$ .
- 75/112 người bệnh (chiếm 67%) có số lượng tiểu cầu nằm trong khoảng từ  $150-400 \times 10^9/L$ .
- 111/112 người bệnh (chiếm 99,1%) có tỷ lệ tế bào non trong tủy  $\leq 6\%$ .
- Tuy nhiên, ở mức di truyền tế bào, có 59/112 người bệnh (chiếm 52,6%) có tỷ lệ NST Ph+  $\geq 30\%$ .

Trong 112 người bệnh, có 36 trường hợp (chiếm 32,1%) mang đột biến kháng imatinib. Những đột biến thường gặp nhất trong nghiên cứu là E355A/G, E453V/K/Q và đột biến chèn đoạn.

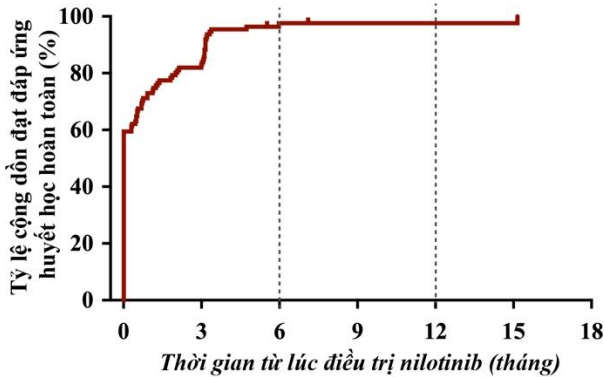
Thời gian trung vị từ lúc chẩn đoán kháng/không dung nạp imatinib đến lúc điều trị nilotinib là 18,1 tháng (dao động 0-98 tháng).

Trước khi bắt đầu nilotinib, tỷ lệ người bệnh còn giữ đáp ứng huyết học hoàn toàn, đáp ứng DTTB phần lớn và đáp ứng DTTB hoàn toàn lần lượt là 73,2%, 50,9% và 21,4%.

### 3.3. Đánh giá đáp ứng và thời gian sống còn sau điều trị nilotinib

#### 3.3.1. Đánh giá đáp ứng huyết học hoàn toàn sau điều trị nilotinib

Tỷ lệ người bệnh đạt đáp ứng huyết học hoàn toàn cộng dồn tại thời điểm 6 tháng là 97,6% (95% khoảng tin cậy: 94,7-100%) (Biểu đồ 3.1).



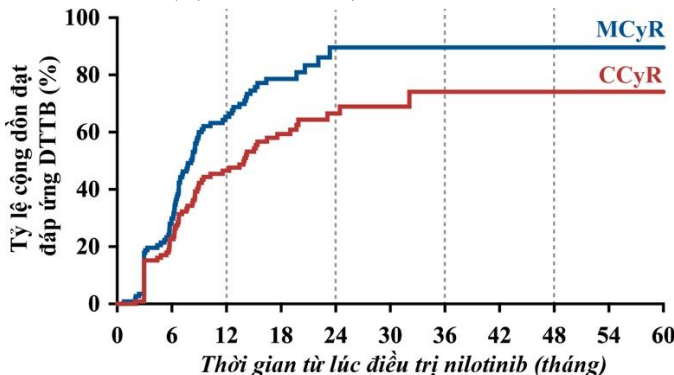
Biểu đồ 3.1: Biểu đồ Kaplan-Meier biểu diễn tỷ lệ người bệnh cộng dồn đạt đáp ứng huyết học hoàn toàn (CHR) theo thời gian

Khi phân tích đơn biến, chúng tôi nhận thấy giới tính ( $p=0,008$ ) và dạng kháng thuốc ( $p=0,045$ ) có liên quan đến tỷ lệ đạt đáp ứng huyết học hoàn toàn sau 3 tháng. Tuy nhiên, mối liên quan này không có ý nghĩa thống kê trong phân tích đa biến với giá trị  $p$  lần lượt là 0,13 và 0,46.

#### 3.3.2. Đánh giá đáp ứng di truyền tế bào sau điều trị nilotinib

Tỷ lệ đạt đáp ứng DTTB phần lớn tại thời điểm 12 tháng và 24 tháng lần lượt là 65,4% (95% KTC: 56,2-74,6%) và 89,6% (95% KTC:

80,8-98,4%). Tỷ lệ đạt đáp ứng DTTB hoàn toàn tại thời điểm 12 tháng và 24 tháng lần lượt là 46,5% (95% KTC: 36,9-56,1%) và 66,7% (95%KTC: 56,2-77,0%) (Biểu đồ 3.2)



Biểu đồ 3.2: Biểu đồ Kaplan-Meier biểu diễn tỷ lệ người bệnh cộng dồn đạt đáp ứng DTTB phần lớn (MCyR) và hoàn toàn (CCyR) theo thời gian.

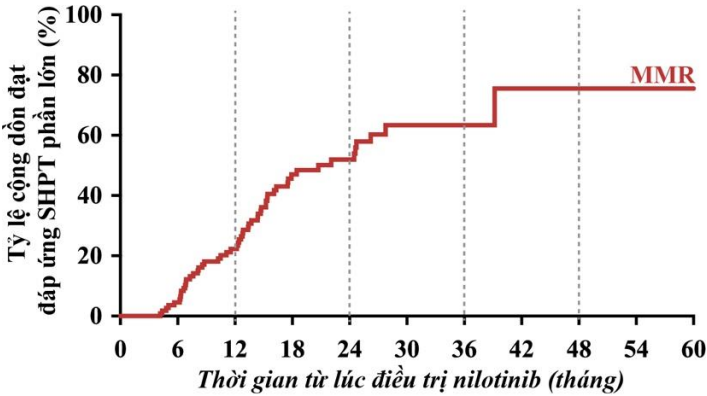
Khi phân tích đơn biến, chúng tôi nhận thấy tuổi ( $p=0,03$ ), dạng kháng thuốc ( $p=0,00$ ), việc duy trì CHR và MCyR trước điều trị nilotinib ( $p=0,00$ ), cũng như thời gian từ lúc chẩn đoán kháng hay không dung nạp imatinib đến khi bắt đầu nilotinib ( $p=0,01$ ) có tương quan đến tỷ lệ đạt CCyR sau 24 tháng.

Tuy nhiên, khi phân tích đa biến, chúng tôi chỉ ghi nhận nhóm duy trì MCyR trước điều trị ( $p=0,00$ ) và nhóm có thời gian từ lúc chẩn đoán kháng hay không dung nạp imatinib đến khi bắt đầu nilotinib  $\leq 1$  năm ( $p=0,00$ ) thực sự có nhiều khả năng đạt đáp ứng CCyR tốt hơn.

### 3.3.3. Đánh giá đáp ứng sinh học phân tử sau điều trị nilotinib

Tỷ lệ đạt đáp ứng SHPT phần lớn tại thời điểm 12 tháng và 24 tháng lần lượt là 22,3% (95% KTC: 14,3 – 30,3%) và 51,9% (95% KTC: 41,1 – 62,7%). Có 17/112 người bệnh (chiếm 15,2%) trong nghiên cứu đạt được đáp ứng SHPT hoàn toàn sau nilotinib (Biểu đồ 3.3).





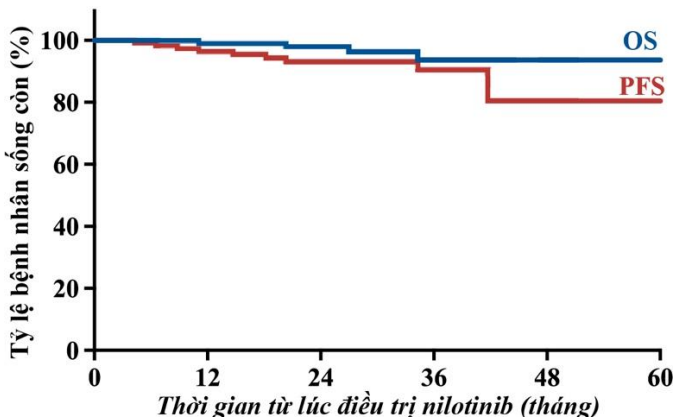
*Biểu đồ 3.3: Biểu đồ Kaplan-Meier biểu diễn tỷ lệ người bệnh cộng dồn đạt đáp ứng SHPT phần lớn theo thời gian*

Khi phân tích đơn biến, chúng tôi nhận thấy dạng kháng ( $p=0,00$ ), sự xuất hiện đột biến kháng thuốc ( $p=0,02$ ), việc duy trì CHR và MCyR trước điều trị nilotinib ( $p=0,00$ ), thời gian từ lúc chẩn đoán kháng hay không dung nạp imatinib đến khi bắt đầu nilotinib ( $p=0,01$ ), cũng như việc đạt CCyR trong 12 tháng đầu sau điều trị nilotinib ( $p=0,00$ ) có tương quan đến tỷ lệ đạt MMR sau nilotinib.

Tuy nhiên, khi phân tích đa biến, chúng tôi chỉ ghi nhận nhóm duy trì MCyR trước điều trị ( $p=0,03$ ), nhóm có thời gian từ lúc chẩn đoán kháng hay không dung nạp imatinib đến khi bắt đầu nilotinib  $\leq 1$  năm ( $p=0,05$ ) và nhóm đạt CCyR trong 12 đầu sau điều trị nilotinib ( $p=0,00$ ) thực sự có nhiều khả năng đạt MMR tốt hơn.

### **3.3.4. Đánh giá thời gian sống sau điều trị nilotinib**

Tỷ lệ sống toàn bộ (OS) chung sau 2 năm điều trị nilotinib là 97,9% (95% KTC: 95 – 100%). Tỷ lệ sống không tiến triển bệnh (PFS) chung sau 2 năm điều trị nilotinib là 93,1% (95% KTC: 88,2 – 98%) (Biểu đồ 3.4).



*Biểu đồ 3.4: Biểu đồ Kaplan-Meier biểu diễn thời gian sống toàn bộ (OS) và thời gian sống không tiến triển bệnh (PFS) chung trong nghiên cứu.*

Khi xét yếu tố có ảnh hưởng đến thời gian sống toàn bộ (OS) và thời gian sống không tiến triển bệnh (PFS) sau điều trị nilotinib, chúng tôi nhận thấy:

- Nhóm không tăng liều imatinib có OS sau 2 năm tốt hơn nhóm có tăng liều (100% so với 94,8%,  $p=0,03$ ).
- Nhóm đạt được CCyR sau nilotinib có PFS sau 2 năm tốt hơn không đạt đáp ứng này (100% so với 83,4%,  $p=0,002$ ).
- Nhóm đạt được MMR sau nilotinib có PFS sau 2 năm tốt hơn không đạt đáp ứng này (100% so với 86,7%,  $p=0,01$ ).

### **3.4. Độc tính liên quan đến nilotinib trong nghiên cứu**

#### *3.4.1.1. Độc tính liên quan đến huyết học*

Tỷ lệ người bệnh xuất hiện biến chứng giảm tiểu cầu, thiếu máu và giảm bạch cầu độ 3-4 lần lượt là 15,2%, 0,9% và 3,6%.

#### *3.4.1.2. Độc tính không liên quan đến huyết học*

Độc tính không liên quan huyết học phổ biến nhất là các độc tính về tim mạch (như 41% kéo dài đoạn QTc; 12,5% chậm nhịp xoang) và độc tính về chuyển hóa (như 35,7% tăng đường huyết, 31,3% tăng

cholesterol). Một số độc tính về mạch máu mặc dù chiếm tỷ lệ ít nhưng ở mức độ 3-4 (như 1,8% đau thắt ngực và 0,9% tắc động mạch)

## **Chương 4: BÀN LUẬN**

### **4.1. Đặc điểm chung của mẫu nghiên cứu**

Tuổi trung vị của các người bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi là 45,5 tuổi, thấp hơn các nghiên cứu khác. Thực tế, một số nghiên cứu dịch tễ học đã nhận thấy quần thể người Châu Á, trong đó có Việt Nam, có tỷ lệ mắc BCMDT thấp hơn, nhưng lại xuất hiện ở tuổi trẻ hơn nhiều so với các nước Phương Tây.

Đa số người bệnh trong nghiên cứu thuộc nhóm nguy cơ cao theo Sokal và EUTOS. Đặc điểm này tương đồng với nhiều nghiên cứu khác vì nhóm người bệnh nguy cơ cao theo Sokal hay EUTOS là nhóm đáp ứng kém với các thuốc ức chế tyrosin kinase.

Hầu hết các người bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi thuộc nhóm kháng imatinib, còn nhóm không dung nạp chỉ chiếm 17%. Sự chênh lệch này cũng tương tự một số nghiên cứu của Tiribelli, Koren-Michowitz, Nicolini... Trong 93 người bệnh kháng imatinib, nhóm kháng về mặt DTTB chiếm ưu thế (hơn 2/3 các trường hợp). Đặc điểm này cũng tương tự trong nghiên cứu của Jabbour và Chaitanya.

Có 36,6% người bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi được điều trị với tăng liều thuốc lên 600mg hoặc 800mg/ngày. Tỷ lệ người bệnh tăng liều imatinib trước nilotinib của chúng tôi cao hơn nghiên cứu của Tiribelli, nhưng lại thấp hơn nghiên cứu của tác giả Kantarjian. Sự khác biệt này có thể xuất phát từ những hướng dẫn điều trị khác nhau ở mỗi trung tâm. Trước đây, khi chưa thể tiếp cận được với các thuốc ức chế tyrosin kinase thế hệ 2, tăng liều imatinib là một liệu pháp được lựa chọn hàng đầu tại nước ta. Tuy nhiên nhiều nghiên cứu đã chứng minh việc tăng liều không thực sự hiệu quả ở nhóm đã kháng với imatinib.

### **4.2. Đặc điểm lâm sàng và sinh học trước khi bắt đầu điều trị nilotinib**

Vì nilotinib trong nghiên cứu của chúng tôi là điều trị bước hai, nên một số người bệnh vẫn còn duy trì mức đáp ứng nào đó với imatinib trước khi bắt đầu nilotinib, nhất là đáp ứng về mặt huyết học. Điều này thể hiện bằng tỷ lệ thấp các người bệnh có biểu hiện lâm sàng rõ ràng của bệnh lúc bắt đầu nilotinib. Nghiên cứu của Giles và Ailawadhi cũng ghi nhận trước khi bắt đầu điều trị bước hai với nilotinib, đa số người bệnh có điểm tổng trạng tốt theo WHO và ECOG.

Tương tự như Kantarjian, các người bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi có chỉ số huyết học nằm trong giới hạn bình thường trước khi điều trị nilotinib như nồng độ hemoglobin, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu, tỷ lệ tế bào non trong tủy.

Tỷ lệ người bệnh mang đột biến của chúng tôi gần tương đương với nghiên cứu của Koren-Mitchowitz, nhưng cao hơn nghiên cứu của Miyamura và thấp hơn của Kantarjian và Manuprasad. Chúng tôi cũng ghi nhận đột biến M244V là một trong số những đột biến phổ biến, tương tự như các nghiên cứu khác. Tuy nhiên chúng tôi chỉ lựa chọn vào nghiên cứu các người bệnh không có đột biến hoặc đột biến còn nhạy với nilotinib, phù hợp với hướng dẫn điều trị thực tế tại bệnh viện Truyền Máu Huyết Học TP.HCM.

### **4.3. Đánh giá đáp ứng và thời gian sống còn sau điều trị nilotinib**

#### **4.3.1. Đáp ứng huyết học hoàn toàn sau nilotinib**

Khoảng 80% người bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi đạt được đáp ứng huyết học hoàn toàn sau 3 tháng. Hơn 10% người bệnh đạt đáp ứng này ở thời điểm tương đối muộn hơn. So với các nghiên cứu ở nhiều quần thể khác nhau trên thế giới, tỷ lệ đạt huyết học hoàn toàn sau 3 tháng và 6 tháng tương đương, thậm chí cao hơn. Điều này có thể bắt nguồn từ sự khác biệt về đặc tính mẫu trong nghiên cứu. Một số nghiên cứu như của Koren-Michowitz, Kuo C-Y, Hussain có chọn cả những người bệnh ở giai đoạn tiến triển, mặc dù số lượng người bệnh giai đoạn muộn vẫn chiếm ưu thế và những trường hợp mang đột biến kháng với nilotinib vẫn được chọn vào những nghiên cứu này.

### ***4.3.2. Đáp ứng di truyền tế bào sau nilotinib***

Tỷ lệ đạt đáp ứng DTTB hoàn toàn và một phần trong nghiên cứu của chúng tôi tương đương với tác giả Kuo . Tuy nhiên, khi so sánh với các nghiên cứu Koren-Michowitz và Kantarjian, tỷ lệ này của chúng tôi cao hơn. Có đến 26% người bệnh trong nghiên cứu của Koren-Michowitz và 42% trong nghiên cứu của Kantarjian có đột biến vùng kinase, khá nhiều trong đó không còn nhạy với nilotinib. Đây có thể là nguyên nhân khiến tỷ lệ đạt đáp ứng DTTB hoàn toàn không cao bằng chúng tôi. Ngược lại, chỉ có 7/85 trường hợp trong nghiên cứu của Kuo mang đột biến kháng thuốc, phù hợp với kết quả tốt mà tác giả đã thu được.

Phần lớn người bệnh sẽ nhanh chóng đạt đáp ứng DTTB trong khoảng thời gian 12-24 tháng đầu từ khi khởi động nilotinib. Sau thời gian đó, tỷ lệ người bệnh đạt đáp ứng DTTB tăng thêm không đáng kể. Điều này cũng được thấy tương tự trong nghiên cứu của Kuo và cộng sự.

### ***4.3.3. Đáp ứng sinh học phân tử sau nilotinib***

Trong nghiên cứu của chúng tôi, trên một nửa người bệnh đạt được đáp ứng SHPT phần lớn. So sánh với các nghiên cứu khác trên thế giới, nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ đạt đáp ứng SHPT tương đương hoặc cao hơn các tác giả khác như Koren-Michowitz, Kuo và Kantarjian. Tương tự như đáp ứng DTTB, nguyên nhân khiến kết quả nghiên cứu của chúng tôi vượt trội hơn là do việc chọn lựa người bệnh không hoặc chỉ có đột biến nhạy với nilotinib.

### ***4.3.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến đáp ứng của người bệnh với nilotinib***

Khi phân tích đơn biến, chúng tôi nhận thấy giới tính có ảnh hưởng đến đáp ứng huyết học hoàn toàn. Mặt khác, tuổi lại ảnh hưởng lên đáp ứng DTTB và đáp ứng SHPT. Tuy nhiên, ở phân tích đa biến, các yếu tố này không thực sự tương quan đến khả năng đạt đáp ứng sau nilotinib. Tác giả Larson đã khảo sát và nhận thấy: Nam có độ sinh khả

dụng và nồng độ thuốc nilotinib trong cơ thể thấp hơn nữ khoảng 10%. Tuy nhiên sự khác biệt này là vô cùng nhỏ và thực sự không gây đáng kể về mặt lâm sàng. Bên cạnh đó, tác giả Lipton ghi nhận tỷ lệ đạt đáp ứng DTTB của người bệnh trên 65 tuổi thấp hơn so với nhóm dưới 65 tuổi.

Chúng tôi nhận thấy tỷ lệ các đáp ứng tương tự nhau giữa nhóm kháng hay không dung nạp imatinib. Ngược lại, kết quả khá khác nhau giữa 2 nhóm này đã được chứng minh trong một số nghiên cứu khác trên thế giới, như nghiên cứu của Kantarjian, Tiribelli và Cortes.

Người bệnh mang đột biến còn nhạy với nilotinib có kết quả đáp ứng DTTB và SHPT tốt hơn so với nhóm không đột biến mặc dù mối tương quan chưa thực sự rõ ràng khi tiến hành phân tích đa biến. Mặc dù không rõ nguyên nhân, nhưng tác giả Jabbour cũng ghi nhận đặc điểm tương tự với chúng tôi khi tỷ lệ đạt đáp ứng DTTB phần lớn và hoàn toàn với nilotinib và dasatinib cao hơn trong nhóm đột biến còn nhạy so với nhóm không mang đột biến.

Nhóm người bệnh còn duy trì được ít nhất đáp ứng DTTB phần lớn trước điều trị sẽ có nhiều khả năng đạt được đáp ứng DTTB hoàn toàn và đáp ứng SHPT phần lớn với nilotinib sau đó. Sự tương quan này còn mạnh hơn khi vẫn còn ý nghĩa sau phân tích đa biến. Đặc điểm này cũng được ghi nhận trong các nghiên cứu của Milojkovic, Jabbour và Hussain. Việc duy trì đáp ứng DTTB trước khi bắt đầu nilotinib chứng tỏ khả năng còn nhạy cảm của tế bào ung thư với thuốc ức chế tyrosin kinase, cũng như gián tiếp phản ánh tổng lượng tế bào ung thư không cao.

Chúng tôi nhận thấy nhóm có thời gian từ lúc chẩn đoán kháng hay không dung nạp đến lúc bắt đầu nilotinib kéo dài trên 1 năm có tỷ lệ đạt đáp ứng DTTB hoàn toàn và đáp ứng SHPT phần lớn thấp hơn so với nhóm dưới 1 năm. Điều này cũng được chứng minh trong nghiên cứu của Viboonjuntra tại Thái Lan hay của Milojkovic tại Châu Âu. Do đó,

việc trì hoãn thay đổi điều trị ở nhóm kháng hay không dung nạp imatinib sẽ ảnh hưởng không tốt đến kết quả cuối cùng.

#### **4.3.5. Thời gian sống sau điều trị nilotinib**

Tỷ lệ sống toàn bộ (OS-2 năm 97,9%) và tỷ lệ sống không tiến triển bệnh (PFS-2 năm 93,1%) trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với nghiên cứu của Kantarjian, Koren-Michowitz, Nicolini. Điều này có thể giải thích được là do chúng tôi chỉ chọn những người bệnh không có đột biến hoặc có đột biến còn nhạy với nilotinib vào nghiên cứu. Sự ảnh hưởng của đột biến lên thời gian sống đã được chứng minh trong nhiều nghiên cứu trước đây.

Chúng tôi nhận thấy nhóm người bệnh có tăng liều imatinib trước khi chuyển đổi sang nilotinib có tỷ lệ sống toàn bộ kém hơn nhóm không tăng liều ( $p = 0,03$ ). Mặc dù sự khác biệt này cũng tương tự khi phân tích thời gian sống không tiến triển bệnh, nhưng sự khác biệt chưa đạt đến mức có ý nghĩa thống kê. Jabbour và cộng sự đã chứng minh nhóm từng sử dụng imatinib  $\geq 600\text{mg}$  có tỷ lệ sống không tiến triển bệnh kém hơn. Tuy nhiên ông không đánh giá chỉ số thời gian sống toàn bộ. Ngược lại, nghiên cứu của Milojkovic lại không ghi nhận sự khác biệt nào. Sự không đồng nhất này có lẽ liên quan đến đặc điểm của mẫu người bệnh trong nghiên cứu.

Chúng tôi cũng ghi nhận được việc đạt đáp ứng DTTB hoàn toàn hay đáp ứng SHPT phần lớn với nilotinib sẽ giảm đáng kể nguy cơ tiến triển bệnh. Điều này phản ánh được vai trò quan trọng của mức độ đáp ứng sâu liên quan đến sự cải thiện dự hậu của bệnh. Nhiều nghiên cứu cũng đã chứng minh được mối tương quan này tương tự như kết quả của chúng tôi, như nghiên cứu của Jabbour, Milojkovic và Branford.

#### **4.4. Các độc tính liên quan đến nilotinib**

Độc tính liên quan huyết học là biến chứng xảy ra thường xuyên nhất sau điều trị nilotinib. Trong đó giảm tiểu cầu là phổ biến nhất. Trong nghiên cứu của chúng tôi khoảng 15,2% người bệnh có giảm tiểu cầu độ 3-4 và cần ngưng điều trị nilotinib một khoảng thời gian. Tương

tự với kết quả của chúng tôi, giảm tiểu cầu cũng là tác dụng phụ gặp nhiều trong nghiên cứu của Nicolini, Kantarjian, Kuo, Hussain.

Độc tính không liên quan huyết học của nilotinib khá đa dạng, phổ biến nhất là biến chứng kéo dài đoạn QTc và các rối loạn chuyển hóa như tăng đường huyết, tăng cholesterol máu. Khi so sánh với các nghiên cứu khác, chúng tôi nhận thấy sự phân bố các độc tính không liên quan huyết học có khác đáng kể. Ở những nghiên cứu tại các nước phương tây, độc tính nhiều nhất lại là đỏ da, tăng enzym gan hay tăng bilirubin. Ngược lại, đỏ da và tăng enzym gan đứng vị trí thứ 4 và 5 trong nghiên cứu của chúng tôi. Tương tự nhiều nghiên cứu khác, đa số độc tính đều ở mức độ nhẹ (độ 1-2) và cải thiện nhanh chóng với điều trị hỗ trợ.

### KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 112 người bệnh BCDMT kháng hay không dung nạp với imatinib được chuyển sang điều trị với nilotinib từ tháng 1/2015 đến tháng 12/2017 tại Bệnh viện Truyền máu Huyết học TP.HCM, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

#### **Đặc điểm lâm sàng và sinh học của các người bệnh kháng hay không dung nạp imatinib.**

- Lâm sàng: Triệu chứng phổ biến nhất là thiếu máu.
- Sinh học: Đa số người bệnh có chỉ số huyết học bình thường. Có 32,1% người bệnh có đột biến kháng imatinib (phổ biến nhất là đột biến E355A/G, E453V/K/Q và đột biến chèn đoạn)

#### **Đánh giá đáp ứng và thời gian sống còn sau điều trị nilotinib**

- Tỷ lệ người bệnh đạt đáp ứng huyết học hoàn toàn cộng dồn tại thời điểm sau 6 tháng điều trị nilotinib là 97,6%.
- Tỷ lệ đạt đáp ứng DTTB phần lớn tại thời điểm 12 và 24 tháng lần lượt là 65,4% và 89,6%.
- Tỷ lệ đạt đáp ứng DTTB hoàn toàn tại thời điểm 12 và 24 tháng lần lượt là 46,5% và 66,7%.
- Tỷ lệ đạt đáp ứng SHPT phần lớn tại thời điểm 12 và 24 tháng lần lượt là 22,3% và 51,9%. Tỷ lệ đáp ứng cao hơn ở những người bệnh



được điều trị sớm nilotinib tính từ khi kháng hay không dung nạp imatinib.

- Tỷ lệ sống toàn bộ (OS) sau 2 năm điều trị nilotinib là 97,9%.
- Tỷ lệ sống không tiến triển bệnh (PFS) sau 2 năm điều trị nilotinib là 93,1%.

### **Độc tính liên quan đến nilotinib trong nghiên cứu:**

- Giảm tiểu cầu là độc tính liên quan huyết học phổ biến nhất, với 15,2% người bệnh ở mức độ 3-4
- Kéo dài đoạn QTc, tăng đường huyết, tăng cholesterol và tăng enzym gan là những độc tính không liên quan huyết học phổ biến nhất trong nghiên cứu.
- Có 5/112 người bệnh ngưng điều trị do độc tính của thuốc.

### **KIẾN NGHỊ**

- Nilotinib có thể được áp dụng rộng rãi trong điều trị bệnh bạch cầu mạn dòng tủy kháng hoặc không dung nạp imatinib với hiệu quả và tính an toàn cao.
- Người bệnh kháng hay không dung nạp imatinib phần lớn có nhiều đặc điểm lâm sàng và chỉ số huyết học ổn định khó được phát hiện. Do đó cần thực hiện các xét nghiệm di truyền tế bào và sinh học phân tử để xác định sự kháng thuốc ở mức độ sâu hơn.
- Nên chuyển đổi sớm sang nilotinib khi đã chẩn đoán kháng hay không dung nạp imatinib, tốt nhất là dưới 1 năm và người bệnh còn duy trì được đáp ứng di truyền tế bào phần lớn

## DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Phù Chí Dũng, Châu Thúy Hà, Phan Thị Xinh (2018)**, Đáp ứng sinh học phân tử ở bệnh nhân Bạch cầu mạn dòng tủy giai đoạn mạn kháng hoặc bất dung nạp Imatinib được điều trị với Nilotinib. *Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh* 2 (6), 146-152.
2. **Phu Chi Dung, Nguyen Tan Binh, Pham Quang Vinh (2019)**. Efficacy of nilotinib in chronic myeloid leukemia patients resistant to or intolerant of imatinib: results after 2 years. *JMR* 119 E4 (3) 2019, pp 1-9.
3. **Phù Chí Dũng, Cò Nguyễn Phương Dung và Nguyễn Thị Mỹ Hòa (2015)**. Đánh giá hiệu quả bước đầu của Nilotinib trong điều trị bệnh bạch cầu mạn dòng tủy giai đoạn mạn kháng hoặc không dung nạp Imatinib. *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, 19, 204-210.

The Work has been successfully completed at:  
**HANOI MEDICAL UNIVERSITY**

Science Instructors:

1. Prof. Nguyen Tan Binh
2. Prof. Pham Quang Vinh

Opponent 1: aProf. Nguyen Thi Thu Ha PhD, MD.

Opponent 2: Bach Quoc Khanh PhD, MD.

Opponent 3: aProf. Vu Minh Phuong PhD, MD.

The thesis has been defended at University-level Thesis  
Evaluation Council held in Hanoi Medical University

At, ..... (hour), ...../...../2020 (date)

**This thesis may be found at:**

- National Library.
- Central Medicine Information Library.
- Library of Hanoi Medical University.

## **BACKGROUND**

Chronic myeloid leukemia (CML) is a common malignant hematologic disease which is characterized by uncontrolled proliferation and abnormal maturation of myeloid cells. The main pathogenesis is the reciprocal translocation between chromosome 9 and 22 which produces Philadelphia chromosome and BCR-ABL fusion gene. Imatinib has demonstrated remarkable success in the treatment of CML. However, approximately 27% of patients were resistant to imatinib after a long period of therapy. The incidence of imatinib intolerance was not high but it came with some difficulties. The patients who were resistant to or intolerant of imatinib increased risks of advanced and unmanageable phases of disease. Therefore, management of these patients still has been a challenge in Vietnam's conditions.

Since 2015, Blood Transfusion Hematology Hospital in Hochiminh city (BTH) has used nilotinib for imatinib resistant or intolerant CML patients. An initial study showed encouraging results with high rates of complete hematologic response (95%) and cytogenetic response (74%) On the other hand, there has been no studies in Vietnam with long follow-up time relating to the treatment of these resistant or intolerant CML patients. Thus, we conducted the study "Evaluation of efficiency of nilotinib in chronic myeloid leukemia patients resistant to or intolerant of imatinib" to address the three following objectives:

- 1. To study clinical and biological characteristics of CML patients who were resistant to or intolerant of imatinib.*
- 2. To evaluate hematologic, cytogenetic, molecular responses and survival after nilotinib treatment.*
- 3. To assess the incidence of adverse events after nilotinib treatment.*

**\* Necessity of the research**

BTH is now managing more than 1,000 patients of CML. The number of patients in whom first-line imatinib failed has been increasing. Without an effective therapeutic strategy, these patients will be more likely to progress to advanced phases and the death. Nilotinib is a novel therapy in Vietnam and our study contributes to evaluating efficiency and safety of nilotinib in this special group of CML patients. This study consequently provides physicians with further clinical evidence to use nilotinib on Vietnamese patients.

**\* Contributions of the thesis:**

This is the first study in Vietnam relating to nilotinib on a large number of patients (112 CML chronic-phase patients resistant to or intolerant of imatinib). We evaluated efficiency and safety of nilotinib in a long period (2 years). This study demonstrated that nilotinib is effective with impressive rates of complete hematologic response (CHR), complete cytogenetic response (CCyR) and major molecular response (MMR). Overall survival and progression-free survival improved. Our research identified some important factors which may affect responses to nilotinib. This study will therefore provide clinical physicians with have useful information for more effective prediction of patient outcomes.

**\* Thesis structure:**

The thesis consists of 108 pages including: Background (2 pages), Literature review (26 pages), Subjects and Methodology (18 pages), Results (31 pages), Discussion (28 pages), Conclusion (2 pages), and Recommendation (1 page). There are 24 tables, 20 charts, 11 pictures, and 159 references (13 in Vietnamese, 146 in English).

## **Chương 5: OVERVIEW**

### **5.1. Introduction to chronic myeloid leukemia**

Chronic myeloid leukemia (CML) belongs to the group of myeloproliferative neoplasms which directly affect hematopoietic stem cells. In terms of nature course, CML is divided into 3 phases: chronic phase, accelerated phase, and blast crisis. Most of CML patients are able to live 5 – 7 years after diagnosis. Without proper treatment, the disease will progress to advanced phases with gradual accumulation of aggressive blast cells. Blast crisis is indicated as the end-stage of disease with very poor prognosis which requires a lot of effort to control leukemia cells. Survival of blast crisis patients will diminish dramatically.

#### ***5.1.1. Epidemiology of chronic myeloid leukemia***

The annual incidence of newly diagnosed cases of CML is not high, approximately 1 – 1.5 cases per 100,000. However, prevalence is much higher due to improvement of treatment during recent 10 years. In Asia, Africa, Europe and Latin America, median age at diagnosis is younger, around 38 – 41 years old.

#### ***5.1.2. Pathogenesis of chronic myeloid leukemia***

Philadelphia chromosome (Ph<sup>+</sup>), which is produced by reciprocal translocation of chromosome 9 and 22, constitutes the main cause of disease. BCR-ABL oncoprotein from this chromosome mutation is capable of activating tyrosine kinase, which may trigger intracellular signaling cascades. This will lead to strong proliferation, decreased cell adhesion to bone marrow stroma, suppressed apoptosis, and genetic instability.

#### ***5.1.3. Diagnosis of chronic myeloid leukemia***

According to WHO, diagnosis of CML involves several steps, including full blood count, peripheral blood smear, bone marrow

aspiration, and cytogenetic testing. Leukocytosis is a characterized feature with a predominant involvement of the granulocytic series, which shows all stages of maturation on peripheral blood smear. Bone marrow assessment reveals hyperproliferation and diffuse infiltration by myeloid cells in all stages of differentiation. However, diagnosis is confirmed by presence of Philadelphia chromosome in karyotyping, FISH or by presence of BCR-ABL fusion gene in RT-PCR.

## 5.2. Role of imatinib in chronic myeloid leukemia

### 5.2.1. Mechanism of action of imatinib

Imatinib competes with ATP for binding to a site on BCR-ABL. It prevents phosphorylation of the substrate which leads to inhibition of intracellular signaling pathway.

### 5.2.2. Assessment of the response to imatinib

*Table 5.1: European LeukemiaNet criteria for response to tyrosine kinase inhibitors.*

Type of response	Definition
Complete hematologic response (CHR)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Normal full blood count:</li> <li>✓ Platelet count <math>&lt; 450 \times 10^9/L</math></li> <li>✓ White blood cell count <math>&lt; 10 \times 10^9/L</math></li> <li>✓ Normal differential</li> </ul>
Cytogenetic response (CyR)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Complete cytogenetic response (CCyR): 0% Ph+ marrow metaphases.</li> <li>• Partial cytogenetic response (PCyR): 1-35% Ph+ marrow metaphases.</li> <li>• Major cytogenetic response (MCyR): 0-35% Ph+ marrow metaphases.</li> </ul>
Molecular response (MR)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Complete molecular response (CMR): Undetectable BCR-ABL</li> <li>• Major molecular response (MMR): BCR-ABL <math>\leq 0,1\%</math> (international scale).</li> </ul>

### **5.3. Resistance to or intolerance of imatinib**

#### ***5.3.1. Resistance to imatinib***

“Primary resistance” occurs when patients are not able to achieve optimal responses at defined particular times according to ELN recommendation. “Secondary resistance” is defined as the loss of responses which patients have achieved.

Some mechanisms of resistance can be classified into two categories: (1) BCR-ABL dependent mechanisms such as mutations in the kinase domain and amplification of BCR-ABL and (2) BCR-ABL independent mechanisms including drug influx/efflux pumps and poor compliance.

#### ***5.3.2. Intolerance of imatinib***

Intolerance of imatinib occurs when patients have severe side effects which are unable to be managed by dose reduction or supportive care. The most common grade 3-4 toxicities of imatinib include neutropenia (17%), thrombocytopenia (9%), anemia (4%), and increased liver enzymes (5%).

### **5.4. Nilotinib for the treatment of chronic myeloid leukemia with resistance to or intolerance of imatinib.**

#### ***5.4.1. Mechanism of action of nilotinib.***

Nilotinib is one of second-generation tyrosine kinase inhibitors. Nevertheless, the modification of molecular structure in nilotinib contributes to more powerful binding to BCR-ABL (10 to 50 times more potent than imatinib). In addition, nilotinib can reduce BCR-ABL phosphorylation much more than imatinib.

#### ***5.4.2. Dosage and administration of nilotinib***

As FDA’s recommendation, nilotinib is initiated with a dose of 400mg twice daily orally for second-line treatment in imatinib-resistant or -intolerant CML. Coadministration with proton pump inhibitors (PPI)



is not recommended due to decreased intracellular concentration of nilotinib. Food should be avoided 2 hours before and 1 hour after taking nilotinib.

#### ***5.4.3. Toxicities of nilotinib***

Nilotinib is well-tolerated at the dose of 800 mg daily. Hematologic side effects such as neutropenia and thrombocytopenia are commonly seen after second-line nilotinib treatment. In addition, rash, nausea, pruritus, headache, and fatigue are the most frequent non-hematologic toxicities.

#### ***5.4.4. Effectiveness of nilotinib as second-line treatment for CML with resistance to or intolerance of imatinib.***

In a study investigating nilotinib in 321 chronic-phase CML patients who were resistant to or intolerant of imatinib, Kantarjian found that the rates of MMR and CCyR after 24 months were 28% and 46% respectively. MCyR rate of resistant patients was comparable to that of intolerant patients (48% vs 47%). Another study of Hughes demonstrated that responses to nilotinib was stable although 55% of the patients carried BCR-ABL mutations.

### **5.5. Prior studies in Vietnam**

In a study of 21 patients, Co Nguyen Phuong Dung initially evaluated responses to nilotinib (400mg twice daily) in imatinib-resistant or intolerant CML. BCR-ABL kinase mutations were detected in 48% of patients. After a 6-month follow-up, 5/21 patients (24%) achieved CCyR.

Luu Thi Thu Huong and colleagues studied 69 patients who had imatinib therapy failure. These patients were switched to nilotinib at the dose of 300mg twice daily. The 6-month and 12-month CCyR rates were 40.82% and 41% respectively.

## **Chương 6: STUDY SUBJECTS AND METHODS**

### **6.1. Study subjects**

112 chronic-phase CML adult patients who were resistant to or intolerant of imatinib were recruited for this study at BTH between January 2015 and December 2017. The criteria for selecting the subjects comprised: no BCR-ABL mutations or nilotinib-mutations, normal organ functions, no pregnancy, no breastfeeding, and no history of severe internal medicine or surgical diseases.

- Patient disposition:

Of 112 patients, 93 were resistant to imatinib and 19 were intolerant to imatinib. In the group of resistant patients, there were 41 cases who had the history of using high-dose imatinib before nilotinib therapy. The patients who terminated study treatment due to any causes were followed until the end of study.

## **6.2. Study methods**

### ***6.2.1. Study design***

Prospective case series study.

### ***6.2.2. Laboratory applied in the study***

#### ***6.2.2.1. Full blood count, peripheral blood smear and bone marrow aspiration.***

According to the standards of HCMC Blood Transfusion Hematology Hospital.

Full blood counts were conducted by automated analyzer.

Peripheral blood smear + Giemsa staining to determine: WBC differential; morphology of RBC, WBC and platelet; platelet aggregation; percentage of blasts; and other abnormalities.

Prepare bone marrow smear with Giemsa or Wright staining. In the case of advanced disease, cytochemistry staining was added. Bone marrow smears were analyzed to confirm: cellularity; morphology and quantity of cell lineages; distribution of each cell lineages; ratio of myeloid and erythroid cells; maturation of nucleus and cytoplasm; infiltration of abnormal cells; percentage of blast cells, etc.

#### 6.2.2.2. *Fluorescence in situ hybridization (FISH)*

Applied to diagnose and assess cytogenetic responses in CML

#### 6.2.2.3. *Real-Time Quantitative PCR (RQ-PCR)*

Applied to assess molecular responses in CML

#### 6.2.2.4. *Direct sequencing*

Applied to screen BCR-ABL kinase domain mutation in patients who were resistant to or intolerant of imatinib.

#### 6.2.2.5. *Biochemistry and diagnostic imaging*

According to the standards of HCMC Blood Transfusion Hematology Hospital.

### 6.2.3. *Study process*

#### 6.2.3.1. *Prepare detailed documents of study subjects:*

To discuss and explain the whole process of study to patients.

To obtain the history of disease through questionnaire or investigating patients' documents.

To conduct physical examination and identify signs and symptoms.

#### 6.2.3.2. *To study clinical and biologic characteristics of patients before nilotinib treatment*

##### ❖ Investigation of clinical characteristics.

Physical examination to evaluate the sizes of liver and spleen, as well as the presence of organ infiltration.

To assess performance status according to ECOG score.

##### ❖ Investigation of biologic characteristics.

- Full blood count, peripheral blood smear and bone marrow aspiration.
- Screening for BCR-ABL kinase domain mutations by direct sequencing.

- Fluorescence in situ hybridization (FISH)
- Biochemistry.
- Pregnancy test in sexually active woman.
- Cardiac ultrasound, ECG.

#### 6.2.3.3. *Treatment of nilotinib*

Study treatment: nilotinib at the dose of 400mg twice daily, approximately 12h apart on an empty stomach. Food should be avoided 2 hours before or 1 hour after taking nilotinib. Patients should not crush or dissolve the tablets.

#### 6.2.3.4. *Follow up after treatment*

Patients were monitored and assessed for clinical status and laboratory tests until the end of this study or until patients terminated study treatment. Regarding to biological evaluation, there were 2 categories of tests which were conducted regularly.

- Tests for assessing responses to treatment, including full blood count, FISH, and RQ-PCR.
- Tests for monitoring adverse events relating to treatment, including biochemistry, ECG, and cardiac ultrasound.

#### 6.2.3.5. *Collecting and analyzing data, writing report.*

Data was collected from medical documents of eligible patients. Afterward, data was analyzed, summarized and used for the final report.

### 6.2.4. *Essential assessment criteria*

#### 6.2.4.1. *Criteria of imatinib resistance.*

According to recommendation of ELN 2013, there were 2 types of imatinib resistance:

- ❖ *Primary resistance*: was defined when the patient did not achieve optimal responses at particular times:
  - Not achieving CHR after 3 months.
  - Not achieving PCyR after 6 months.

- Not achieving CCyR after 12 months.
- Not achieving MMR after 12 months.
- ❖ *Secondary resistance*: was defined when the patient achieved initial optimal responses (according to ELN 2013) and then lost these responses after a period of treatment.

#### 6.2.4.2. *Criteria of imatinib intolerance*

Imatinib intolerance was diagnosed when the patient presented (1) any severe nonhematological adverse events (more than grade 3), or (2) adverse events (grade 2 and above) occurring persistently more than 1 month or reoccurring  $\geq 3$  times despite dose reduction, or best supportive care, or (3) grade 4 hematological adverse events occurring  $\geq 7$  days.

#### 6.2.4.3. *Criteria of chronic phase of CML*

According to WHO criteria, chronic-phase CML patients had to satisfy all the following important criteria:

- <10% of blasts in bone marrow and peripheral blood.
- <20% of basophil in peripheral blood.
- No extramedullary infiltration.
- Not having any sign of accelerated phase or blast crisis.

#### 6.2.4.4. *Criteria of complete hematologic response*:

According to ELN 2013, complete hematologic response was defined as:

- Platelet count  $< 450 \times 10^9/L$
- White blood cell count  $< 10 \times 10^9/L$
- Normal differential
- No splenomegaly.

#### 6.2.4.5. *Criteria of cytogenetic responses*.

According to ELN 2013, cytogenetic responses were divided into several levels:

- Partial cytogenetic response (PCyR): 1-35% Ph+ marrow metaphases.
- Complete cytogenetic response (CCyR): 0% Ph+ marrow metaphases.
- Major cytogenetic response (MCyR): 0-35%% Ph+ marrow metaphases.
- Not achieving good cytogenetic response:  $\geq 35\%$  Ph+ marrow metaphases.

#### 6.2.4.6. *Criteria of molecular response*

According to ELN 2013, molecular responses were divided into two levels:

- Major molecular response (MMR): BCR-ABL  $\leq 0,1\%$  (international scale).
- Complete molecular response (CMR): Undetectable BCR-ABL.

#### 6.2.4.7. *Criteria to evaluate treatment toxicities.*

Hematological and nonhematological adverse events were assessed and classified according to criteria of National Cancer Institute, version 4.0.

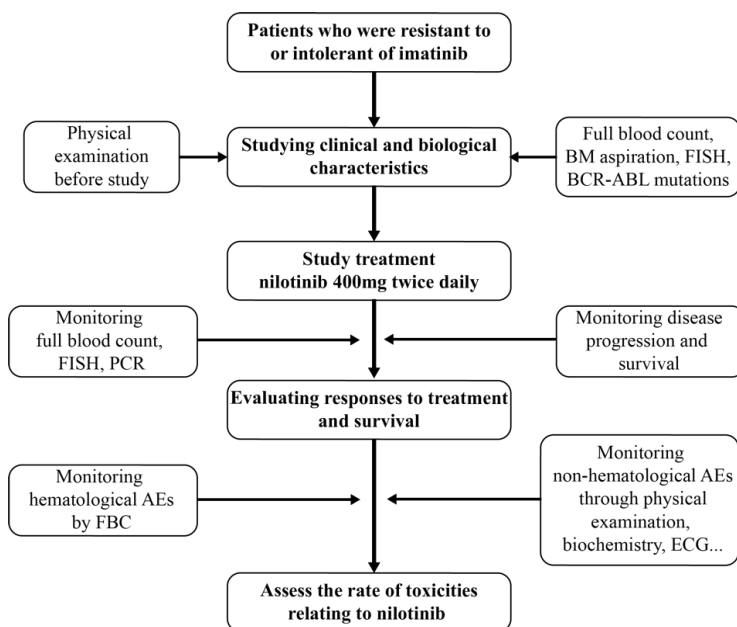
#### 6.2.5. *Data analysis*

Data was analyzed using SPSS program version 20.0

Kaplan-Meier method was used to estimate survival and compare using 2-sided log-rank test. A p-value less than 0.05 is statistically significant.

- *Overall survival (OS)*: was defined as the time from the first dose of nilotinib until death or until the end of study.
- *Progression-free survival (PFS)*: was defined as the time from the first dose of nilotinib until disease progression or death.

## STUDY FLOWCHART



## Chương 7: RESULTS

### 7.1. General characteristics of study subjects

Median age at the time of nilotinib treatment was 45.5 years (range: 19-77 years). Of 112 patients, 74 was male (66.1%) and 38 was female (33.9%). Median time from CML diagnosis until starting nilotinib was 50 months (range: 2-182 months).

At initial diagnosis, most of the study patients were classified as high risk group by Sokal score (63.4%) and by EUTOS (72.3%). Median time on imatinib at standard dose was 24.1 months. However, 50% of the patients achieved CHR as the best response. The CCyR rate (12.5%) and MMR rate (13.4%) was low with standard-dose imatinib.

Of 93 imatinib-resistant patients, 68 cases were primary resistant patients (60.7%) and 25 cases were secondary resistant patients (22.3%). Cytogenetic resistance was dominant (64.5%).

There were 41/93 patients receiving high-dose imatinib after failure with standard dose (22 patients of 600mg/day and 19 patients with 800 mg/day). Nevertheless, only 19,5% of the patients achieved CCyR after dose escalation.

## **7.2. Clinical and biological characteristics before nilotinib treatment**

### ***7.2.1. Clinical characteristics before nilotinib treatment***

Before nilotinib treatment, 12/112 patients suffered from anemia and 8/112 patients had hepatomegaly or splenomegaly.

### ***7.2.2. Biological characteristics before nilotinib treatment***

Most of patients had normal biological features before nilotinib, including:

- 94/112 patients (83,9%) had hemoglobin concentration  $\geq 10$  g/dl.
- 96/112 patients (85.7%) had white blood cell  $\leq 5 \times 10^9/L$ .
- 75/112 patients (67%) had platelet count in the range of  $150-400 \times 10^9/L$ .
- 111/112 patients (99.1%) had percentage of blast  $\leq 6\%$ .
- However, at cytogenetic level, there were 59/112 patients (52.6%) who had  $\geq 30\%$  Ph+ metaphases.

Of 112 patients, 35 carried BCR-ABL kinase domain mutations. The most common mutations in our study were E355A/G, E453V/K/Q, and insertion.

Median time from diagnosis of imatinib-resistance or -intolerance until starting nilotinib was 18.1 months (range 0-98 months).

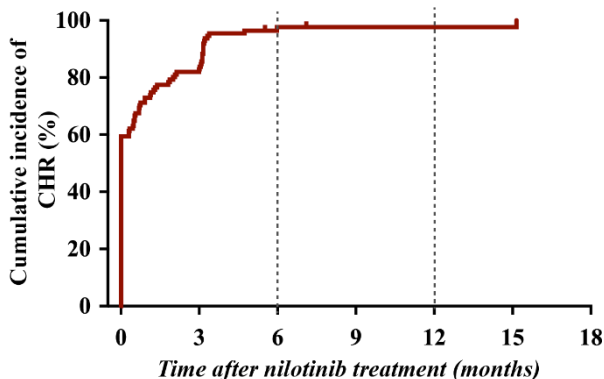
Before nilotinib, the rates of patients who maintained CHR, MCyR and CCyR were 73.2%, 50.9% and 21.4% respectively.

## **7.3. Evaluation of responses and survival after nilotinib treatment**

### ***7.3.1. Complete hematologic response after nilotinib treatment***



Cumulative incidence of CHR after 6 months of nilotinib was 97.6% (95%CI: 94.7% – 100%).



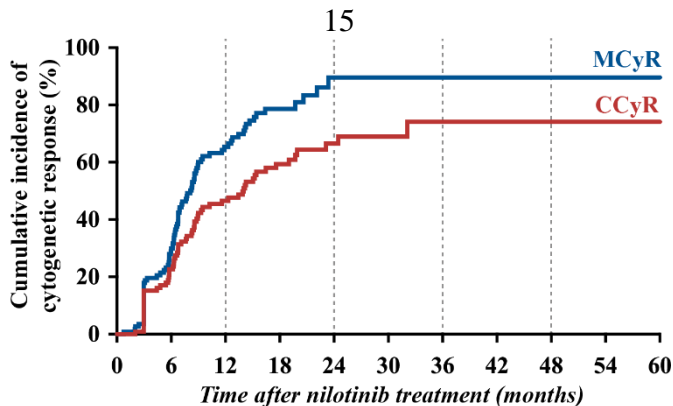
*Chart 7.1: Kaplan-Meier curve estimates the cumulative incidence of complete hematologic response (CHR) after nilotinib treatment.*

In univariate analysis, we found that sex ( $p=0.008$ ) and type of imatinib resistance ( $p=0.045$ ) were associated with CHR rate after 3 months. However, these relationships were not statistically significant when using multivariate analysis with the  $p$  values of 0.13 and 0.46 respectively.

### ***7.3.2. Cytogenetic responses after nilotinib treatment***

The 12-month and 24-month cumulative incidences of MCyR were 65.4% (95%CI: 56.2-74.6%) and 89.6% (95%CI: 80.8-98.4%) respectively.

The 12-month and 24-month cumulative incidences of CCyR were 46.5% (95% CI: 36.9-56.1%) and 66.7% (95%CI: 56.2-77.0%) respectively.



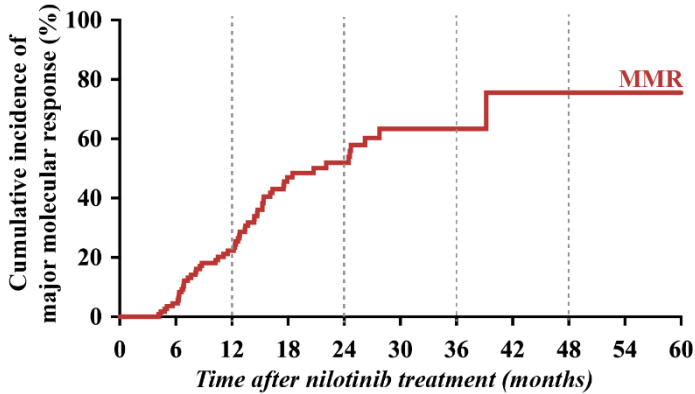
*Chart 7.2: Kaplan-Meier curve estimates the cumulative incidence of major cytogenetic response (MCyR) and complete cytogenetic response (CCyR) after nilotinib treatment*

In univariate analysis, we found that age ( $p=0.03$ ) and type of imatinib resistance ( $p=0.00$ ), maintenance of CHR and MCyR before nilotinib ( $p=0.00$ ), and time from diagnosis of resistance/intolerance to nilotinib treatment ( $p=0.01$ ) were associated with 24-month CCyR rate.

However, in multivariate analysis, we only demonstrated that maintenance of MCyR before nilotinib ( $p=0.00$ ) and time from diagnosis of resistance/intolerance to nilotinib treatment less than 1 year ( $p=0.00$ ) were related to higher 24-month CCyR rate.

### ***7.3.3. Molecular responses after nilotinib treatment***

The 12-month and 24-month cumulative incidences of MMR were 22.3% (95%CI: 14.3-30.3%) and 51.9% (95%CI: 41.1-62.7%) respectively. There were 17/112 patients achieving complete molecular response (CMR).



*Chart 7.3: Kaplan-Meier curve estimates the cumulative incidence of major molecular response after nilotinib treatment*

In univariate analysis, we found that type of imatinib resistance ( $p=0.00$ ), presence of BCR-ABL mutation ( $p=0.02$ ), maintenance of CHR and MCyR before nilotinib ( $p=0.00$ ), time from diagnosis of resistance/intolerance to nilotinib treatment ( $p=0.01$ ), and achievement of CCyR after 12 months of nilotinib were associated with 24-month MMR rate.

However, in multivariate analysis, we only demonstrated that maintenance of MCyR before nilotinib ( $p=0.03$ ), time from diagnosis of resistance/intolerance to nilotinib treatment less than 1 year ( $p=0.05$ ), and achievement of CCyR after 12 months of nilotinib were significantly related to higher 24-month MMR rate.

#### **7.3.4. Survival after nilotinib treatment**

The 2-year overall survival (OS) after nilotinib treatment was 97.9% (95%CI: 95 - 100%). The 2-year progression-free survival (PFS) was 93.1% (95%CI: 88.2 – 98%).

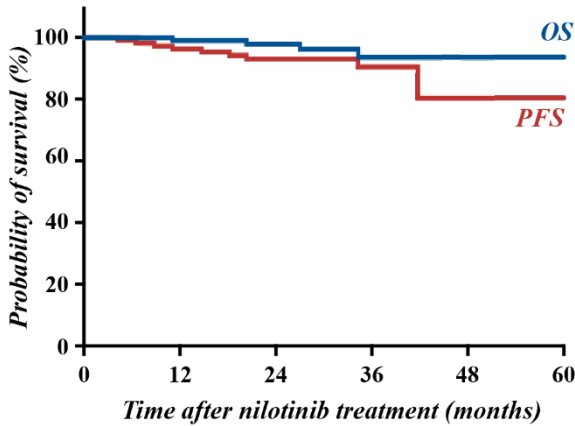


Chart 7.4: Kaplan-Meier curve estimates overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) after nilotinib treatment.

When analyzing the factors affecting overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) after nilotinib treatment, we considered that:

The patients who did not receive high-dose imatinib had better 2-year OS than those receiving high-dose imatinib (100% vs 94.8%,  $p=0.03$ ).

The patients who achieved CCyR after nilotinib treatment had better 2-year PFS than those not achieving this response (100% vs 83.4%,  $p=0.002$ ).

The patients who achieved MMR after nilotinib treatment had better 2-year PFS than those not achieving this response (100% vs 83.7%,  $p=0.01$ ).

## 7.4. Toxicities relating to nilotinib in the study

### 7.4.1.1. Hematological adverse events

Incidences of grade 3-4 thrombocytopenia, anemia and neutropenia were 15.2%, 0.9%, and 3.6% respectively.

### 7.4.1.2. Nonhematological adverse events.

The most common nonhematological adverse events were cardiac toxicities (such as 41% QTc prolongation; 12.5% sinus bradycardia) and metabolic disorders (such as 35.7% hyperglycemia, 31.3% hypercholesterolemia). Some toxicities relating to arteries were rare but very severe (1.8% angina and 0.9% arterial occlusion).

## **Chương 8: DISCUSSION**

### **8.1. General characteristics of study subjects**

Median age of patients in our study was 45.5 years which is lower than other studies. In reality, several epidemiological research revealed that Asian population, including Vietnam, has lower incidence of CML but age at diagnosis is younger than Western population.

The majority of patients in our study were classified as high risk by Sokal and EUTOS score. This finding is similar to other studies because high risk group had increased rate of TKI treatment failure.

Most of patients in our study were resistant to imatinib and only 17% of them were intolerant of medication. This difference is consistent with those in the studies such as by Tiribelli, Koren-Michowitz, and Nicolini. Of 93 CML resistant patients, cytogenetic resistance was dominant (2/3 of cases). This feature was also seen in the research of Jabbour and Chaitanya.

There were 36.6% of patients in our study received high-dose imatinib before study treatment. The proportion of patient with dose escalation is higher than Tiribelli's study, but lower than Kantarjian's study. The most likely cause of this distinction may be due to practical guidelines of each center. In the past, when it was difficult to approach second generation TKIs, high-dose imatinib could be a proper choice in Vietnam. However, many studies demonstrated dose escalation was not really effective in CML patients who were resistant to imatinib.

### **8.2. Clinical and biological characteristics before nilotinib treatment**

Because nilotinib in our study was used as a second-line therapy, the patients may maintain previous responses to imatinib

before study treatment. This is obvious that low incidence of patients had significant signs or symptoms before nilotinib treatment. The studies of Giles and Ailawadhi found that most of patients had good performance scores according to WHO and ECOG before second-line treatment with nilotinib.

In accordance with Kantarjian's study, hematologic indices of our patients were in the normal range before nilotinib treatment, such as hemoglobin concentration, white blood cell count, platelet count, and percentage of blast cells.

The rate of patients who carried BCR-ABL kinase domain mutations was similar to the study of Koren-Mitchowitz, but higher than the rate in the study of Miyamura and lower than those in the studies of Kantarjian and Manuprasad. We revealed that M244V is the most common type of mutation which is consistent with other studies. However, only patients without mutation or with nilotinib-sensitive mutations were included in our studies as the present guideline accepted by HCMC Blood Transfusion Hematology Hospital.

### **8.3. Evaluation of responses and survival after nilotinib treatment**

#### ***8.3.1. Complete hematologic response after nilotinib treatment***

The CHR rate was approximately 80% at 3 months in our study. More than 10% of patients achieved this response later. Compared with studies in various population in the world, our 3-month and 6-month CHR rate were the similar and even better. Some studies of Koren-Michowitz, Kuo C-Y, Hussain included patients with advanced diseases although chronic-phase cases were still predominant. Several patients in these studies had nilotinib-insensitive mutations.

#### ***8.3.2. Cytogenetic responses after nilotinib treatment***

The CCyR and PCyR rates in our study were similar to those of Kuo's study. Compared to the studies of Koren-Michowitz and Kantarjian, our CCyR rate was higher. This can be explained by the fact that 26% patients of Koren-Michowitz and 42% patients of Kantarjian carried BCR-ABL kinase domain mutations in which many mutations were not sensitive to nilotinib. In contrast, there were only 7/85 patients

in Kuo's study had mutations, which is consistent with better outcome of this research.

The majority of patients rapidly achieved cytogenetic responses in the first 12-24 months of nilotinib. After this period of time, the rate of cytogenetic response improved modestly. This finding was also shown in the studies of Kuo and colleagues.

### ***8.3.3. Molecular responses after nilotinib treatment***

In our study, more than half of the patients achieved major molecular response. Compared to other studies of Koren-Michowitz, Kuo and Kantarjian, our result is similar and even better. As discussed in cytogenetic responses, it is possible that the selection of patients without mutations or with nilotinib-sensitive mutations contributed to our better results.

### ***8.3.4. Factors affecting responses to nilotinib***

In univariate analysis, we considered that gender was associated with complete hematologic response. In the other hand, age was related to cytogenetic and molecular response. However, in multivariate analysis, these factors did not actually affect the likelihood of achieving these responses after nilotinib treatment. Larson investigated that male had better bioavailability than female approximately 10% but this difference was modest and not clinically significant. In addition, Lipton identified that cytogenetic response rate in patients over 65 years old was lower than those under 65 years old.

We considered that response rates were identical between resistant and intolerant patients. In contrast, the outcomes were different between two groups in some studies of Kantarjian, Tiribelli and Cortes.

Patients with BCR-ABL kinase domain mutations which were sensitive to nilotinib had better cytogenetic and molecular responses than those without mutation despite no significant difference in multivariate analysis. In accordance to our finding, Jabbour found that MCyR rates after nilotinib and dasatinib treatment were higher in the group of sensitive mutations.

Patients who maintained at least MCyR before nilotinib treatment were more likely to achieve CCyR and MMR after study treatment. This association was firmly confirmed through multivariate analysis. This feature was also demonstrated in many studies of Milojkovic, Jabbour and Hussain. Maintenance of cytogenetic response before starting nilotinib showed sensitivity of leukemia cells to nilotinib and low burden of cancer cells.

We identified that patients who had time from diagnosis of resistance/intolerance to nilotinib more than 1 year achieved worse CCyR and MMR. Viboonjuntra in Thailand and Milojkovic in Europe demonstrated the similar finding. Therefore, delayed switching to nilotinib may negatively affect long term outcome in imatinib-resistant or – intolerant CML.

### ***8.3.5. Survival after nilotinib***

Overall survival (2-year OS 97,9%) and progression-free survival (2-year PFS 93.1%) in our study were better than the studies of Kantarjian, Koren-Michowitz and Nicolini. It is probable due to the fact that we included only patients without mutations or with nilotinib-sensitive mutations. The impact of BCR-ABL mutations on survival was supported in many previous studies.

We considered that patients with history of high-dose imatinib treatment before study had inferior overall survival than those without dose escalation ( $p=0.03$ ). This difference can also be seen in progression-free survival but it is not statistically significant. Jabbour and colleagues demonstrated that the group using imatinib at the dose  $\geq 600\text{mg}$  had worse PFS but this study did not evaluate OS. In contrast, the study of Milojkovic did not find any significant difference. This discrepancy may be due to the characteristics of study subjects.

Achievement of CCyR or MMR with nilotinib reduced risk of progression dramatically. It can thus be suggested that achieving deeper responses plays an important role in improving the outcome of treatment. Many studies of Jabbour, Milojkovic and Branford demonstrated the similar relationship to our study.



#### **8.4. Toxicities relating to nilotinib**

Hematological adverse events were the most common side effects during nilotinib treatment. Thrombocytopenia occurred frequently. In our study, about 15.2% of the patients had grade 3-4 thrombocytopenia which required discontinuation of medication for a short period of time. Similar to our study, Nicolini, Kantarjian, Kuo and Hussain found that thrombocytopenia was predominant.

Nonhematological adverse events of nilotinib were diverse. QTc prolongation and metabolic disorders, such as hyperglycemia or hypercholesterolemia, were common. Compared to other studies, we found that distribution of nonhematological side effects was so broad. In Western countries, the most frequent toxicities were rash, increased liver enzymes, and hyperbilirubinemia. In contrast, rash and increased liver enzymes were placed to 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> rank in our study. Most of toxicities were mild (Grade 1-2) and resolved quickly with best supportive care.

### **CONCLUSION**

Through the study of 112 chronic-phase CML patients with imatinib-resistance or intolerance who used nilotinib as second-line from January 2015 to December 2017 at BTH, we draw some important conclusions:

- \* **Clinical and biological characteristics of chronic myeloid leukemia patients who are resistant to or intolerant of imatinib**
  - Clinical features: anemia was the most common symptom
  - Biological features: Most of patients had hematologic indices in normal range. BCR-ABL kinase domain mutations were detected in 32.1% of the patients (E355A/G, E453V/K/Q and insertions were dominant mutations).
- \* **Evaluation of response and survival after second-line nilotinib treatment**

- The 6-month cumulative incidence of complete hematologic response (CHR) was 97.6%.
- The 12-month and 24-month cumulative incidences of major cytogenetic response (MCyR) were 65.4% and 89.6% respectively.
- The 12-month and 24-month cumulative incidences of complete cytogenetic response (CCyR) were 46.5% and 66.7% respectively.
- The 12-month and 24-month cumulative incidences of major molecular response (MMR) were 22.3% and 51.9% respectively.
- Response rate was higher in the patients who were switched to nilotinib sooner.
- The 2-year OS and PFS after nilotinib were 97.9% and 93.1% respectively.

\* **Adverse effects of nilotinib:**

- Thrombocytopenia was the most common hematologic adverse effect.
- The most frequent nonhematologic toxicities were QT prolongation, hyperglycemia, hypercholesterolemia and elevated liver enzymes.
- There were 5/112 patients who discontinued nilotinib due to severe toxicities.

## **RECOMMENDATION**

- Nilotinib can be effectively and safely applied in management of chronic-phase CML with imatinib-resistance or intolerance.
- The majority of imatinib-resistant or intolerant patients had stable clinical status and hematologic indices which were difficult to identify. Therefore, cytogenetic and molecular testing will help physicians diagnose resistance at the deeper level.
- Switching to nilotinib in less than 1 year after diagnosis of imatinib resistance or intolerance is necessary, specially when patients maintain major cytogenetic responses.

## THE LIST OF PUBLICATIONS RELATED TO THE THESIS

1. **Phu Chi Dung, Chau Thuy Ha, Phan Thi Xinh (2018)**. Molecular response to nilotinib in CML patients who are resistant to or intolerant of imatinib . *HCMC journal of medicine* 2 (6), 146-152.
2. **Phu Chi Dung, Nguyen Tan Binh, Pham Quang Vinh (2019)**. Efficacy of nilotinib in chronic myeloid leukemia patients resistant to or intolerant of imatinib: results after 2 years. *JMR* 119 E4 (3) 2019, pp 1-9.
3. **Phu Chi Dung, Co Nguyen Phuong Dung and Nguyen Thi My Hoa (2015)**. Initial evaluation of efficacy of nilotinib in chronic phase CML with imatinib resistance or intolerance. *HCMC journal of medicine*, 19, 204-210.