

**федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
имени Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

МАХАЧЕВА ФАТИМА АЛИМПАШАЕВНА

**ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ РЕЦИДИВОВ И РЕФРАКТЕРНЫХ
ФОРМ ОТДЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО
ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Доктор медицинских наук
Валиев Тимур Теймуразович

Москва 2024 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
ГЛАВА II. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ, МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ	41
2.1. Прогностические группы риска.....	45
2.2. Методы лечения	46
2.3. Оценка ответа на лечение	50
2.4. Оценка эффективности терапии	58
2.5. Статистическая обработка данных.....	58
ГЛАВА III. ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОФЕНОТИПА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТОК ПРИ РЕЦИДИВЕ ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ	59
ГЛАВА IV. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ РЕЦИДИВОВ И РЕФРАКТЕРНЫХ ФОРМ ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ	66
4.1. Частота повторных ремиссий	66
4.2. Результаты выживаемости	78
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	100
ВЫВОДЫ	105
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	106
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	107

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы и степень её разработанности

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) – гетерогенное злокачественное заболевание системы крови, характеризующееся клональной экспансией миелобластов в костном мозге, периферической крови, селезенке, а так же в других органах и тканях. Результаты лечения детей с впервые диагностированными ОМЛ зависят как от иммуно-биологических особенностей опухолевых клеток (морфологического варианта по FAB-классификации, иммунофенотипических характеристик, данных цитогенетического и молекулярного анализа), так и от сроков ответа на индукционную терапию (Creutzig et al., 1999, Langerbrake et al., 2006). Проведение современных программ лечения позволяет получить пятилетнюю общую выживаемость (ОВ) не более чем у 75% больных с впервые диагностированным ОМЛ [1]. В случаях развития рецидива ОМЛ, опухолевый клон клеток характеризуется рефрактерностью к стандартной полихимиотерапии второй линии, в связи с чем вероятность долгосрочной ОВ после рецидива не превышает 40 % [2; 3]. Низкую эффективность лечения обуславливает отсутствие принципиальных прогностических маркеров, которые могли бы определить факторы риска и использоваться для определения интенсивности терапии пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ (р/р ОМЛ). Остается неизвестным насколько влияет на эффективность лечения рецидивов интенсивность предшествующей терапии, длительность первой ремиссии, результаты инициального иммунофенотипирования опухолевых клеток и эволюция иммунофенотипа бластов при рецидиве ОМЛ. Также не до конца понятно влияние эволюции генетических изменений бластных клеток для ответа на лечение и прогноз.

Ранее считалось, что у больных ОМЛ есть только один шанс на излечение: интенсивная химиотерапия с аутологичной (ауто-) или аллогенной (алло-) трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), но с появлением

новых знаний о биологии бластных клеток при ОМЛ и введения риск-адаптированной терапии в практику лечения детей, больных ОМЛ, применение ауто- или алло-ТГСК во время первой ремиссии претерпело ограничения и стало обязательным этапом терапии у детей с рецидивами ОМЛ.

Таким образом, проведение сравнительного анализа биологической характеристики бластных клеток (иммунофенотип и данные цитогенетического исследования) больных с впервые диагностированным ОМЛ и с рецидивами ОМЛ, оценка частоты полных ремиссий и выживаемости больных в зависимости от биологических параметров опухолевых клеток, интенсивности первичной терапии и программы противорецидивного лечения, изучение влияния продолжительности первой ремиссии и времени достижения повторной ремиссии на результаты долгосрочной выживаемости позволит оптимизировать стратегию лечения детей с р/р ОМЛ.

Цель исследования

Разработать оптимальные подходы к терапии рецидивов и рефрактерных форм острого миелоидного лейкоза у детей на основании анализа клиническо-биологических характеристик опухоли.

Задачи исследования

1. Охарактеризовать и проанализировать эволюцию иммунофенотипа бластных клеток при остром миелоидном лейкозе у детей.
2. Выявить клинико-биологические факторы прогноза при рецидивах и рефрактерных формах острого миелоидного лейкоза.
3. Проанализировать эффективность флударабин- и цитарабин-содержащих схем химиотерапии второй линии при рецидивах и рефрактерных формах острого миелоидного лейкоза.

4. Определить значение эпигенетической терапии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при лечении рецидивов и рефрактерных форм острого миелоидного лейкоза.

Научная новизна

Впервые в России проведен анализ клинико-морфологических и иммунологических характеристик бластных клеток у детей с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ. Определена частота достижения ремиссий и выживаемости в зависимости от клинических и биологических данных. Проведен сравнительный анализ наиболее современных противорецидивных программ терапии с включением флударабина и цитарабина. Оценена эффективность аутологичной и аллогенной ТГСК. На основании полученных результатов разработана стратегия лечения р/р ОМЛ у детей.

Теоретическая и практическая значимость работы

На основании проведенного исследования, выделены дополнительные неблагоприятные параметры, которые наряду с традиционными факторами риска могут составить основу новой прогностической модели, позволяющей на ранних этапах определить крайне неблагоприятную группу больных, что в свою очередь может способствовать повышению эффективности лечения пациентов с р/р ОМЛ.

В соответствии с выполненным сравнительным анализом между основными флударабин- и цитарабинсодержащими (2FLA; HAM + флударабин + вепезид; HAM + FLA; FLA + азацитидин) противорецидивными программами терапии ОМЛ определены наиболее эффективные.

Оценка эффективности использования противорецидивной полихимиотерапии (ПХТ) в комбинации с эпигенетическими агентами (5-азацитидин, децитабин, вальпроевая кислота, полностью транс-ретиноевая

кислота) позволила сформулировать рекомендации по обязательному включению препаратов с эпигенетическим действием в лечение детей с р/р ОМЛ.

Отражена значимость алло-ТГСК в лечении пациентов с р/р ОМЛ и определены оптимальные сроки ее проведения - не позднее 14 недель от начала программного лечения.

Методология и методы исследования

Для решения поставленных в диссертационном исследовании задач в анализ было включено 54 пациента в возрасте $9,2 \pm 4,6$ лет с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ. Всем пациентам диагностика и лечение рецидива и рефрактерной формы ОМЛ проводились с января 1997 года по 2021 год в отделении химиотерапии гемобластозов НИИ детской онкологии и гематологии имени академика РАМН Л.А. Дурнова ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России. Анализ выживаемости проведен на 21.08.2022г.

Терапия всем больным с целью получения второй ремиссии была проведена по различным программам: два курса FLA (2FLA); HAM с флударабином и вепезидом; HAM и FLA; FLA с азацитидином, азацитидин в монорежиме, цитарабин в сочетании с L-аспарагиназой и азацитидином, FLA с бортезомибом, цитарабином и даунорубицином.

Методы цитологической и иммунологической диагностики были стандартными. Иммунофенотипирование бластных клеток костного мозга при диагностике и в рецидиве ОМЛ производилось методом 3–8 цветной проточной цитометрии на приборах BD FACS Canto II и FACScan (Becton, Dickinson США). Диагностические критерии базировались на 8-цветной концепции Euroflow.

Для статистической обработки все данные о пациентах и результатах их лечения были формализованы с помощью специально разработанной клинико-лабораторной базы данных. Статистический анализ проводился с использованием пакета компьютерных программ SPSS 21.0 for Windows.

Положения, выносимые на защиту

1. Опухолевый клон при рецидиве ОМЛ по иммунофенотипическим характеристикам нестабилен по сравнению с впервые диагностированным ОМЛ, что косвенно отражает его эволюцию и формирование резистентности к стандартной противоопухолевой терапии.

2. Благоприятными прогностическими факторами при рецидивах ОМЛ являются обнаружение в бластных клетках цитогенетических аберраций [$t(8;21)(q22;q22)$, $inv(16)(p13.1q22)$, $t(16;16)(p13.1;q22)$], изолированный костномозговой рецидив и достижение ремиссии на 15-й день терапии.

3. Наиболее эффективными программами лечения рецидивов и рефрактерных форм ОМЛ являются схемы FLA+FLA и HAM+FLA в сочетании с эпигенетическими препаратами и последующим проведением трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия направлению исследований: п.2. Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.); п.6. Изучение на молекулярном, клеточном и органном уровнях особенностей возникновения и развития онкологических заболеваний в детском и подростковом возрасте. Разработка и совершенствование методов диагностики, лечения и профилактики в области педиатрической онкологии; п.10. Оценка эффективности противоопухолевого лечения на основе анализа отдаленных результатов.

Степень достоверности и апробация результатов

Исследование проведено на базе отделения химиотерапии гемобластозов НИИ детской онкологии и гематологии имени академика РАМН Л.А. Дурнова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Достаточная для анализа результатов выборка больных, адекватные поставленным задачам лабораторные методы исследования, достаточный для анализа онкологических результатов период наблюдения за больными, детальный анализ исходов лечения, наряду с применением адекватных современных методов статистической обработки данных, свидетельствуют о достоверности полученных результатов.

Апробация диссертации состоялась на совместном заседании подразделений НИИ детской онкологии и гематологии им. академика РАМН Л.А. Дурнова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России: отделении детской онкологии и гематологии (химиотерапия гемобластозов) №1, отделении детской онкологии и гематологии (химиотерапия гемобластозов) №2, детском онкологическом отделении хирургических методов лечения с проведением химиотерапии №1 (опухолей головы и шеи), детском онкологическом отделении хирургических методов лечения с проведением химиотерапии №3 (опухолей опорно-двигательного аппарата), детском онкологическом отделении хирургических методов лечения с проведением химиотерапии №4 (детей раннего возраста), детском онкологическом отделении №1 (химиотерапии опухолей торакоабдоминальной локализации), детском онкологическом отделении №2 (химиотерапии опухолей опорно-двигательного аппарата), отделении детской трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток, отделении анестезиологии – реанимации, научно-консультативном отделении, отдела лучевых методов диагностики и терапии опухолей, клинко-диагностической лаборатории, состоявшемся 28 февраля 2023 года.

Основные положения диссертации доложены на всероссийских конференциях: VI Съезд детских онкологов России с международным участием

1–3 октября 2015 года, г. Москва; Третий Всероссийский педиатрический форум студентов и молодых ученых с международным участием, г. Москва, 18-20 мая 2022г; II Мультицентровая встреча «Российской группы ВФМ», 11–12 ноября 2022 года, г. Москва.

Публикации по теме диссертации

Основные результаты диссертационного исследования представлены в 6 печатных работах, в том числе в 2 статьях в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных результатов диссертационных исследований.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращения и указателя литературы. Объем работы составляет 122 страницы машинописного текста. Работа иллюстрирована 19 таблицами и 27 рисунками. Указатель литературы содержит 117 источников.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Острые миелоидные лейкозы представляют собой весьма гетерогенную группу гемобластозов, субстратом которых является пролиферирующие клональные клетки-предшественники миелопоэза.

Клинические проявления ОМЛ у детей весьма схожи с таковыми у взрослых больных [4, 5]. В педиатрической когорте пациентов ОМЛ чаще диагностируется в первые годы жизни среди лиц мужского пола. ОМЛ встречается с частотой 0,6–0,8 случаев на 100 тыс. детского и подросткового населения в год. В 2018 г. в России было зарегистрировано 1068 новых случаев ОМЛ, без убедительного роста данного показателя в последующие годы. Эти сведения подтверждают, насколько ОМЛ является относительно редким заболеванием в педиатрической и подростковой когорте пациентов [6, 7].

Современные представления о лейкозогенезе базируются на цитогенетических и молекулярно-биологических событиях, происходящих в клетке-предшественнице миелопоэза. Кнудсон выдвинул гипотезу, в соответствии с которой опухолевая трансформация клетки возникает в результате появления и взаимодействия в ней не менее 2 типов мутаций [8]. При ОМЛ мутации 1го типа затрагивают гены, кодирующие белки с тирозинкиназной активностью, что способствует их гиперактивации и неконтролируемой пролиферации лейкозных клеток. Как правило, мутации 1го типа затрагивают гены, участвующие в трансдукции сигнальных путей: *FLT3*, *KIT*, *N-RAS*, *K-RAS* и *PTPN11*. Мутации 2го типа происходят с вовлечением генов транскрипционных факторов, что влечет за собой нарушения на уровне транскрипта клетки и блок процессов дифференцировки. Подтверждают гипотезу Кнудсона *t(8;21)(q22;q22)/AML1-ETO (RUNX1-RUNX1T1)* и перестройки *11q23/MLL*, вероятно, возникающие в результате мутаций генов *NPM1*, *CEBPA* и определяемые при ОМЛ [9]. Наиболее часто встречаемые цитогенетические аномалии 2го типа при ОМЛ включают *t(8;21)(q22;q22)*, *t(15;17)(q22;q21)*; *inv(16)(p13.1q22)*; *CBF-AML*; и *11q23/ MLL*-перестройки [9–11]. Представленные цитогенетические альтерации составляют

примерно половину всех хромосомных aberrаций, выявляемых при ОМЛ в детском возрасте, что гораздо чаще, чем у взрослых. Ряд транслокаций [t(1;22)(p13;q13), t(7;12)(q36;p13) и t(11;12)(p15;p13)], являются весьма специфичными для педиатрических ОМЛ [9,12]. Возникновение в одной клетке мутаций 1го и 2го типов происходит не случайно. Обнаружены сочетания цитогенетических перестроек при ОМЛ, которые являются весьма распространенными. Например, мутации в гене *RAS*, часто удается обнаружить в комбинации с *MLL*- и *KIT*-перестройками у больных СВФ-ОМЛ. Понимание ключевых молекулярно-генетических событий при ОМЛ позволяет рассматривать процесс лейкозогенеза не только на уровне генома и транскриптома клетки, выявлять потенциальные мишени для таргетной терапии, но и клинически определять прогностическое значение генетических альтераций, с последующим уточнением критериев групп риска ОМЛ. Доказано, что СВФ-ОМЛ и варианты ОМЛ с перестройками гена *MLL* являются прогностически благоприятными [9, 13], тогда как негативное влияние на прогноз оказывают обнаруживаемые при ОМЛ с t(6;11)(q27;q23), t(10;11)(p12;q23), моносомия 7 хромосомы [9, 14].

Несмотря на ряд идентичных цитогенетических альтераций, выявляемых у взрослых и детей с ОМЛ, прогностическое значение одной и той же альтерации может различаться в зависимости от возраста больного. Так, делеция 7q у взрослых пациентов является критерием группы промежуточного риска, тогда как у больных детского возраста прогноз определяется теми мутациями, с которыми сочетается del7q [9, 15]. Например, у детей с ОМЛ одновременное обнаружение del7q с прогностически благоприятными цитогенетическими aberrациями [транслокации t(8;21)(q22;q22), t(15;17)(q22;q21), t(9;11)(p22;q23), инверсия inv(16)(p13;q22),] сопровождается более высокими показателями 5-летней общей выживаемости по сравнению с вариантами заболевания, при которых определялась изолированная del7q (75 % и 46 % соответственно, $p = 0,03$) [16]. Неблагоприятное влияние на прогноз при ОМЛ оказывают мутации 1го типа: *WT1* и *FLT3ITD*, которые обнаруживаются как у больных с впервые диагностированным ОМЛ, так и при развитии рецидива/рефрактерного течения

(р/р) заболевания. В случаях отсутствия данных мутаций при первичном ОМЛ и выявлении их при р/р ОМЛ, данное состояние можно расценивать, как проявление клональной эволюции опухолевого пула клеток [17]. Биаллельная мутация *CEBPA* и перестройки *NPM1* относятся к группе прогностически благоприятных, в то время как *NUP98/NSD1* являются предиктором плохого ответа на терапию и высокого риска развития рецидива [9, 18].

Мутации в гене *FLT3* присутствуют в 1/3 случаев при ОМЛ, что является фактором неблагоприятного прогноза и более низких показателей безрецидивной выживаемости больных (рецидивы регистрируются, как правило, в течение 2 лет от начала терапии индукции ремиссии) [18, 19]. Перестройка *FLT3ITD* определяется у 25 % пациентов с впервые диагностированным ОМЛ, и является наиболее частым (60%) вариантом альтераций гена *FLT3*. Сопоставление мутационного спектра бластных клеток при первичном ОМЛ и в случаях рецидива заболевания позволило сделать вывод, что клон лейкозных клеток приобретает новые мутации, лежащие в основе клональной эволюции опухоли. По функциональным свойствам новые мутации обеспечивают резистентность ОМЛ к проводимой терапии. Другим механизмом клональной эволюции может быть не приобретение новых мутаций, а формирование доминирующего опухолевого клона из инициально минорного субклона, который присутствовал на этапе первичной диагностики ОМЛ [9].

Совершенствование и активное внедрение в научно-клиническую практику технологии полногеномного секвенирования позволили обнаружить и изучить новые молекулярно-генетические события, ответственные за развитие устойчивости бластных клеток к противоопухолевому лекарственному лечению и клональной эволюции ОМЛ [19-20]. Молекулярно-генетическая гетерогенность ОМЛ дополнила морфо-иммунологические характеристики ОМЛ и нашла отражение в классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей Всемирной организации здравоохранения в 2017 г. Данная классификационная система основана на морфо-иммунологических и молекулярно-биологических особенностях ОМЛ, но не предназначена для определения групп риска и не

позволяет объединить ОМЛ в однородные группы, что еще раз подчеркивает высокую гетерогенность ОМЛ [12]. Современные протоколы терапии ОМЛ, разрабатываемые ведущими профессиональными медицинскими сообществами, в качестве факторов риска, определяющих выбор программы лечения, учитывают клинико-морфологические, цитогенетические и молекулярно-биологические особенности опухолевого клона. Тем не менее, результаты кариотипирования и ПЦР позволили выделить ряд прогностических молекулярно-генетических факторов, значение которых признано большинством исследовательских групп. Именно данные критерии стали основополагающими для стратификации больных на группы риска (Таблица 1.1). Так, в случаях ОМЛ с транслокациями $t(8;21)$, $t(16;16)$, инверсией $inv(16)$, пациентов следует относить к группе стандартного риска, а при обнаружении моносомии 5, 7, делеции 5q или уровне бластных клеток в костном мозге $>15\%$ после 1го курса химиотерапии - к группе высокого риска развития рецидива заболевания.

Несмотря на значимый прогресс в понимании патофизиологических и биологических особенностей процессов лейкозогенеза при ОМЛ, интенсификацию современных режимов химиотерапии, попытки внедрения таргетных препаратов в протоколы лечения и активное применение ТГСК, 5-летняя ОВ детей, больных ОМЛ, составляет около 70 %. Основными неблагоприятными факторами, снижающими ОВ и бессобытийную выживаемость (БСВ), являются рефрактерность опухолевых клеток (отмеченная в 3–19 % случаев) к проводимой химиотерапии и рецидивы заболевания (30–40 %) [9, 21, 22]. В работах AIEOP LAM (Italian Association Against Leukemia trial – итальянская ассоциация по борьбе с лейкемией), AML BFM (немецкая группа Berlin–Frankfurt–Munster), COG AAML (Children's Oncology Group), MRC/DCOG AAML (Children's Oncology Group + Medical Research Council), NOPHO AML (скандинавская группа Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology), JPLSG AML, St Jude AML и НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им.Н.Н.Блохина» Минздрава России пациенты были стратифицированы по группам риска на основании варианта ОМЛ

по FAB-классификации, молекулярно-генетических аномалий, уровня минимальной остаточной болезни (МОБ) после терапии индукции и статуса ремиссии после 1го курса ХТ [22–25].

Таблица 1.1 – Критерии групп риска в соответствии с современными протоколами терапии ОМЛ у детей

Исследовательская группа	Период	Стандартная группа риска	Средняя группа риска	Высокая группа риска
AML BFM	2004 – 2009	FAB-варианты ОМЛ M1 / M2 с палочками Ауэра, M4Eo ⁺ , t(8;21), inv(16) / t(16;16), количеством бластов на 15 день после первого курса ХТ <5% при отсутствии мутаций <i>FLT3ITD</i>	Не выделяли	Мутация <i>FLT3ITD</i>
COG AAML 0531	2006 – 2010	t(8;21), inv(16), t(16;16)	Все остальные	-7, -5, -5q; ответ в КМ, M-3 (>15% бластов) после 1го курса индукции, исключая цитогенетические критерии группы стандартного риска.
MRC/DC OG AAML	2005 – 2010	t(8;21) и inv(16) / t(16;16), независимо от состояния КМ после 1го курса или наличия других генетических aberrаций	Все остальные	бласты >15% в КМ после 1 курса ХТ, - ОМЛ с наличием неблагоприятного кариотипа (-5, -7, del(5q), abn(3q), t(9;22), комплексный кариотип)

Продолжение таблицы 1.1

NORHO-AML	2004 – 2014	бласты в КМ <15% после 1го курса индукции и ПО после 2го курса ХТ, - при обнаружении t(8;21), inv(16), t(16;16), t(9;11) и при достижении ПО после 2го курса ХТ	Не выделяли	- 11q23 аномалия; - > 15% бластов на 15-й день ХТ. - отсутствие ответа после 2х курсов ХТ
JPLSG AML	2006 – 2013	t(8; 21); inv(16); t(16;16).	Все остальные	-7, -5q, t (9; 22), t (16;21), FLT3ITD, плохой ответ (>5% бластов в КМ) после 1го курса ХТ
St. Jude AML	2008 – 2013	t(8;21), inv(16), t(16;16), t(9;11) + МОБ « - » после 1го курса индукции.	Все остальные	t(6;9), t(8;16), t(16; 21), -7, -5 или 5q-, FLT3ITD, если МОБ «+» после 1го курса индукции, FAB M0 или M6, FAB M7 без t(1;22), обусловленный лечением ОМЛ, RAEB-2 или вторичный ОМЛ после МДС, 5% на 22й день и / или МОБ> 0,1%
				- отсутствие ответа на лечение (МОБ> после 2го курса индукции)
ALEOP LAM	2002 – 2009	t(8;21), inv(16), t(16;16), и достижением ПО после 1го курса индукции	Не выделяли	Все остальные

Продолжение таблицы 1.1

ELAM	2005 – 2012	t(8;21)	Все остальные	-7, -5q, t(9;22), t(6;9)
ОМЛ НИИ ДОГ	2006 – 2007	t(8;21), inv(16), t(16;16), без экспрессии В- клеточных антигенов	FAV - M1, M2, M4 с нормальным кариотипом или с утратой половой хромосомы, или с вовлечением 11q23 исключая t(10;11), +8, или с аномалией длинного плеча хромосомы 3; экспрессия В- клеточных или эритроидных маркеров.	FAV- M0, M5, M6, M7, ОМЛ с мультилинейной дисплазией; M1, M2, M4 в сочетании с t(6;9), t(9;11), t(9;22), del (7q-), del (5q-), -7, -5, -3, кольцевидной хромосомой, сочетанием более 3 хромосомных аномалий; >25% бластов в КМ на 15й день от начала индукции

Примечание: ПО – полный ответ; КМ – костный мозг; МОБ – минимальная остаточная болезнь; ХТ – химиотерапия; МДС – миелодиспластический синдром.

В протоколах лечения ОМЛ, разработанных итальянской исследовательской группой AIEOP LAM, к группе стандартного риска отнесли пациентов с транслокациями t(8;21), t(16;16), инверсией inv(16), и достижением полного ответа (ПО) (бластные клетки в костном мозге менее 5%) после 1го курса терапии индукции. Среднюю группу риска не выделяли, а к группе высокого риска были отнесены все остальные пациенты.

В исследованиях немецкой группы AML-BFM, как и в работах AIEOP LAM, не выделяли группу среднего риска, а критерии группы стандартного риска были

дополнены FAB-вариантами ОМЛ (M1/M2 с палочками Ауэра, M4) и обязательным отсутствием мутаций *FLT3ITD* [23]. В группу высокого риска стратифицировались пациенты с мутацией *FLT3ITD* и другими цитогенетическими событиями, исключая таковые группы стандартного риска.

В протоколах скандинавской группы NOPHO-AML также было выделено 2 группы риска: стандартная (больные ОМЛ с количеством бластов в костном мозге менее 15% после 1го курса индукции и достижение полной ремиссией после 2го курса химиотерапии или пациенты с транслокациями t(8;21), t(9;11), t(16;16), инверсией inv(16) и при достижении ПО после 2го курса химиотерапии) и высокая (иные цитогенетические аберрации, например, 11q23 и количество бластов в костном мозге более 15 % после 1го курса терапии индукции ремиссии, а также при достижении частичной ремиссии после 2го курса химиотерапии) [23, 24].

Терапевтические протоколы американской клиники St Jude предполагают стратификацию пациентов с ОМЛ на 3 группы риска:

- стандартную (транслокации t(8;21), t(16;16), t(9;11), инверсия inv(16); негативный МОБ-статус после 1го курса терапии индукции);
- высокую (транслокации t(6;9), t(8;16), t(16;21), -7, -5 или -5q, перестройка *FLT3ITD*; позитивный МОБ-статус после 1го курса терапии индукции; FAB-варианты ОМЛ M0/M6, M7 без транслокации t(1;22); вторичный ОМЛ с предшествовавшим миелодиспластическим синдромом (МДС), пациенты с неудовлетворительным ответом на терапию (уровень МОБ >5 % на 22й день и/или МОБ >0,1 % после 2го курса индукции);
- среднюю (пациенты, которые не соответствовали критериям групп высокого и стандартного риска) [23, 26].

Исследовательская группа COG (Children's Oncology Group) в рамках протокола AAML0531 обозначила обнаружение транслокаций t(8;21), t(16;16), инверсии inv(16) критериями группы стандартного риска. К группе высокого риска были отнесены больные ОМЛ с моносомиями 7, 5, а также -5q (при

отсутствии цитогенетических альтераций группы стандартного риска), ответом по костному мозгу М-3 (>15 % бластов) после 1го курса индукции. В группу среднего риска были отнесены все остальные пациенты [23, 27].

В протоколе лечения ОМЛ, разработанном объединенной группой MRC/DCOG основным риск-стратифицирующим фактором были цитогенетические характеристики бластных клеток, без учета ответа на 1й индукционный курс терапии. Как и во многих других протоколах, прогностически благоприятными (определяющими стандартную группу риска) при ОМЛ были транслокации t(8;21), t(16;16) и инверсия inv(16). Группу высокого риска составили пациенты с количеством бластных клеток >15 % в костном мозге после 1го курса химиотерапии или с наличием неблагоприятных генетических аномалий (-5, -7, del (5q), abn(3q), t(9;22), а также обнаружение комплексного кариотипа). Все остальные пациенты были включены в группу среднего риска [23].

Протоколы JPLSG AML включали следующие риск-стратифицирующие критерии ОМЛ группы стандартного риска: транслокации t(8;21), inv(16), t(16;16), тогда как к группе высокого риска относили случаи ОМЛ с -7, -5q, транслокациями t(9;22), t(16;21), перестройками *FLT3/ITD* и плохим ответом (>5 % бластных клеток в костном мозге) после 1го курса химиотерапии. Все остальные пациенты были стратифицированы в группу среднего риска [23].

Терапевтический протокол для лечения ОМЛ, разработанный в НИИ детской онкологии и гематологии им. академика Л.А.Дурнова ФГБУ «НМИЦ онкологии им.Н.Н.Блохина» Минздрава России предполагал три группы риска ОМЛ, с учетом не только цитогенетических, морфологических, но и иммунологических характеристик заболевания. Так, в группу стандартного риска были отнесены пациенты с транслокациями t(8;21), inv(16), t(16;16) без обнаружения В-линейных маркеров на бластных клетках. Критерии среднего риска: FAB-варианты ОМЛ М1, М2, М4 с нормальным кариотипом или с утратой половой хромосомы, или с вовлечением 11q23, исключая транслокацию t(10;11), +8, или с аномалией длинного плеча хромосомы 3; экспрессия В-линейных или эритроидных антигенов на бластных клетках. В группу высокого риска были

отнесены пациенты с ОМЛ FAB-вариантами M0, M5, M6, M7, ОМЛ с мультилинейной дисплазией, а также FAB-варианты M1, M2, M4 в сочетании с транслокациями t(6;9), t(9;11), t(9;22), del(7q-), del(5q-), -7, -5, -3, кольцевидной хромосомой, сочетанием >3 хромосомных аномалий; обнаружение >25 % бластных клеток в костном мозге на 15й день от начала терапии индукции ремиссии (Таблица 1.1) [22].

Представленные данные свидетельствуют о большом разнообразии стратифицирующих критериев и отсутствии общепринятого стандарта разделения пациентов с ОМЛ по группам риска, но в целом, прогноз при ОМЛ определяют вариант ОМЛ по FAB-классификации, цитогенетические перестройки и ответ на терапию.

В течение последних трех десятилетий происходило постепенное улучшение результатов лечения больных с впервые диагностированным ОМЛ. Были разработаны и внедрены протоколы, позволяющие достичь 5-летнюю БСВ у 50–60 % пациентов и повышения ОВ до 70% [19, 20]. Подобные успехи стали возможны благодаря стратификации пациентов на группы риска, с учетом всего известного спектра характеристик ОМЛ; разработке риск-адаптированных подходов; оптимизации терапии на индукционном этапе и после достижения ремиссии, в том числе с применением повторных курсов высоких доз цитозина арабинозида (HD-Ara-C); модификации поддерживающей терапии; появлению больших возможностей применения ТГСК для пациентов группы высокого риска; практическому использованию препаратов таргетного и эпигенетического действия; появлению режимов терапии, заменяющих аллогенную ТГСК в 1й ремиссии [9, 28].

Повышение интенсивности химиотерапевтических режимов с целью дальнейшего улучшения результатов лечения ОМЛ достигло порога допустимой эскалации и находится на пределе переносимости. Дальнейшие возможные пути совершенствования протоколов терапии ОМЛ включают введение таргетных препаратов (анти-CD33 моноклональных антител, ингибиторов BCL-2 и тирозинкиназ), новых химиотерапевтических агентов, а также добавление

деметилирующих ДНК-препаратов к стандартному лечению. Не менее важным аспектом комплексной задачи по повышению эффективности терапии ОМЛ являются совершенствование сопроводительной терапии и снижение частоты побочных эффектов, а также отдаленных последствий проводимого лечения. Одним из главных факторов прогноза для ОМЛ остается продолжительность первой ремиссии. При ранних рецидивах (возникающих в течение первых 1,5 лет от начала терапии индукции) отмечено последующее рефрактерное течение более чем 70 % случаев, а при позднем рецидиве (диагностированном через 1,5 года от начала терапии индукции), – в 44 % [29]. Несмотря на то, что в ряде случаев возможно достижение повторной ремиссии, оптимальной схемы терапии второй линии при ОМЛ нет. Программы терапии рецидивов и рефрактерных ОМЛ должны учитывать кумулятивную дозу антрациклинов, полученную пациентом, спектр инфекционных и токсических осложнений, сопутствовавших проведению терапии 1й линии, а также предполагаемый метод консолидации повторной ремиссии.

Большинство исследовательских групп рекомендуют ТГСК как наиболее оптимальный и эффективный метод дополнительной интенсификации терапии для пациентов с ОМЛ группы высокого риска. Но на результаты ТГСК большое влияние оказывают сроки достижения ремиссии. Выводы опубликованных исследований свидетельствуют, что статус заболевания перед ТГСК – значимый предиктор выживаемости больных. Так, 5-летняя ОВ при рецидиве ОМЛ составляет 45, 20 и 12 % для пациентов, которым ТГСК проводилась во 2й полной ремиссии, вне ремиссии и в случае первично неудовлетворительного ответа на индукцию соответственно [30]. Показания к ТГСК при ОМЛ активно обсуждаются и дополняются в связи с широким спектром осложнений, связанных с процедурой и объективными сложностями при попытке добиться повторной ремиссии.

В большинстве европейских трансплантационных центров придерживаются положения о том, что ТГСК в рамках терапии первой линии ОМЛ показана только для пациентов группы высокого риска, тогда как в клиниках Северной

Америки показания к ТГСК расширены [9, 23]. Единственным консенсусом, к которому пришли детские онкологи/гематологи на всех континентах, является тот факт, что проведение алло-ТГСК не показано в первой полной ремиссии детям с острым промиелоцитарным лейкозом, ОМЛ, ассоциированным с синдромом Дауна (ML-DS), а также при наличии транслокации t(8;21) или inv(16)/t(16;16). Но если при первичном ОМЛ трансплантационная опция продолжает оставаться предметом дискуссий, то в случаях рецидивов и рефрактерного течения острого миелоидного лейкоза ТГСК является единственным куративным методом, позволяющим достичь повторной длительной ремиссии [31].

В настоящее время к факторам, определяющим прогноз при рецидивах и рефрактерном течении ОМЛ можно отнести продолжительность 1й ремиссии, возможность достижения 2й ремиссии, а также проведение аллогенной ТГСК в рамках комплексной терапии впервые диагностированного ОМЛ (частота повторных ремиссий ниже после ТГСК, чем в группе больных, которые получили только лекарственное лечение на этапе индукции первой ремиссии - 34 % против 57 %) [2]. Пациенты с рецидивом заболевания, как правило, рефрактерны к стандартным протоколам, поэтому вероятность долгосрочной ОВ после рецидива составляет от 21 до 33 % [2, 3]. Частота повторных полных ремиссии в некоторых исследованиях достигает 54–56 %, а 4-летняя ОВ - 38 % [2, 3, 31-33] (Таблица 1.2).

Таблица 1.2 – Результаты лечения рецидивов и рефрактерных форм острого миелоидного лейкоза у детей по современным протоколам терапии

Схема терапии	Число больных	ПО n (%)	Проведение ТГСК n (%)	Рефрактерность / Прогрессия n (%)	Общая выживаемость	Период наблюдения, лет
COG AAML07P1 + идарубицин 2008-2011	14	8 (57)	НД	4 (28)	39%	2

COG AAML07P1 + этопозид 2008-2011	23	11 (48)	НД	11 (47)	39%	2
FLAG – IDA 2002-2007	14	12 (85)	8 (57)	9 (64)	5 (36%)	3
FLAG – IDA 2007-2015	8	4 (50)	4 (50)	4 (50)	4 (50%) 1 (12%)	2 6
FLAG–L-DNR 2001-2009	197	135 (69)	Все пациенты с ПО получили ТГСК	54 (27)	40%	4
FLAG 2001-2009	197	117 (59)	Все пациенты с ПО получили ТГСК	71 (36)	36%	4
Low-dose- decitabine 2009-2010	8	3 (37)	5 (62)	2 (25)	2 (25%)	4
COG AAML07P1 2009-2012	48	23 (48)	21 (44)	11 (23)	21 (46%)	3
ГО 2003	15	8 (53)	6 (40)	5 (33)	НД	НД

Продолжение таблицы 1.2

ГО BFM 2014						
ГО	36					
ГО + цитарабин	36					
ГО + другое	4					
Всего	76	25 (33)	49 (64)	19 (25)	18±5%	4
AML-BFM- REZ-91	14	8 (57)	НД	2 (14)	4 (29)	5
AML-BFM- REZ-93	37	21 (57)	НД	13 (35)	10 (27)	5
AML-BFM- REZ-97	63	37 (59)	НД	22 (35)	14 (23)	5
AML-BFM- REZ 2001/01	107	83 (78)	НД	20 (19)	43 (40%)	5

Примечание: ПО – полный ответ, ОВ – общая выживаемость, НД – нет данных, ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, ГО – гемтузумаб озогамидин, COG AAML07P1 + идарубицин - Children's Oncology Group (бортезомиб в сочетании с идарубицином (12 мг/м² 1-3 дни) и цитарабином в низких дозах (100 мг/м² 1-7 дни), COG AAML07P1 + этопозид - Children's Oncology Group (бортезомиб с этопозидом (100 мг/м² 1-5 дни), высокие дозы цитарабина (1 г/м² каждые 12 часов, 10 доз).

Характеристика препаратов и терапевтических схем, применяемых для лечения острого миелоидного лейкоза

Цитостатические агенты

Цитозинарабинозид (цитарабин) относится к группе антиметаболитов и широко используется в качестве одного из наиболее активных агентов в протоколах лечения ОМЛ как у взрослых, так и у пациентов детского возраста. В результате внутриклеточного превращения цитарабина в Ага-С 50трифосфат (Ага-СТР) происходит повреждение ДНК с последующей остановкой клеточного

цикла. Противоопухолевый эффект цитарабина является дозозависимым. С целью повышения активности цитарабина за счет повышения внутриклеточной концентрации Ara-C 50трифосфата *in vitro* был создан синтетический аналог – **флударабин** монофосфат [34]. Проведены клинические исследования по оценке сочетанной эффективности флударабина и цитарабина у взрослых больных первичным ОМЛ, а также в группе пациентов с рецидивами и рефрактерным течением ОМЛ. В этих исследованиях применялись 2 препарата с/без гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (схемы FLA или FLAG) и с/без включения различных антрациклиновых антибиотиков. В соответствии с результатами протоколов по лечению рецидивов ОМЛ (AML-BFM-REZ91, AML-BFM-REZ93, AML-BFM-REZ97/2001), вероятность достижения повторной ремиссии составляет 78 % при использовании режима FLAG с антрациклинами, несмотря на известную кардиотоксичность идарубицина (Таблица 1.2) [5, 35, 36]. В исследование В. Tavit и соавт. были включены дети с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ. Терапия проводилась по схеме FLAG с включением идарубицина (FLAG-IDA). Частота ПО уже после 1го курса FLAG-IDA составила 80 % [37].

Химиотерапевтические агенты из группы аналогов пуриновых нуклеотидов с успехом используются в лечении ОМЛ. **Кладрибин** в монорежиме или в сочетании с цитарабином и/или топотеканом продемонстрировал положительные результаты при лечении ОМЛ у детей [38–41]. Благодаря доказанным доклиническим и клиническим данным о высокой эффективности кладрибина и флударабина в лечении ОМЛ возникла идея синтеза препарата антиметаболита пуриновых нуклеотидов 2го поколения – **клофарабина**. Новый препарат сочетает в себе противоопухолевые фармакокинетические характеристики кладрибина и флударабина, но с менее выраженным профилем нейротоксичности. Флударабин и кладрибин ингибируют ДНК-полимеразы и рибонуклеотидредуктазы соответственно, клофарабин эффективно подавляет активность обоих ферментов [42]. Появление клофарабина привело к уменьшению использования кладрибина в схемах лечения рецидивов и рефрактерных форм ОМЛ у пациентов детского

возраста. Замена кладрибина на клофарабин в схеме с цитарабином в рамках терапии рецидивов и рефрактерных форм ОМЛ позволила получить 3-летнюю ОВ в 46 % (Таблица 1.2) [43].

Включение клофарабина в схемы лечения ОМЛ у детей стало возможным, благодаря результатам, полученным в когорте взрослых больных лимфопролиферативными заболеваниями и острыми лейкозами [44]. Использование клофарабина у пациентов моложе 21 года с рецидивами и рефрактерными формами острого лимфобластного лейкоза и ОМЛ позволило определить максимально переносимую дозу (МПД) препарата для детей и подростков, которая оказалась равной 52 мг/м^2 , а частота ответов на лечение составила 38 %.

В соответствии с результатами II фазы клинического исследования по лечению рецидивов и рефрактерных форм ОМЛ у пациентов моложе 22 лет, у которых число предшествовавших режимов терапии составляло от 1 до 5 (в среднем, - 2), частота ПО/частичных ответов составила 26% (средняя продолжительность ответа - 20 нед). Клофарабин вводился внутривенно капельно в течение 2 часов (МПД для детей - 52 мг/м^2) ежедневно в течение 5 дней. Циклы терапии повторяли каждые 2–6 нед. Полученные данные свидетельствовали о недостаточной частоте ПО, но с учетом полученного антилейкемического эффекта при использовании клофарабина в монорежиме, стало возможным использовать данный препарат в комбинации с другими химиопрепаратами. Так, проведено изучение эффективности сочетания клофарабина (40 мг/м^2) с циклофосфамидом (440 мг/м^2) и этопозидом (100 мг/м^2) при рецидивах и рефрактерных формах ОМЛ у детей и подростков. Все 3 химиотерапевтических препарата вводили внутривенно, с 1 по 5 дни курса. У 1 из 5 больных ОМЛ достигнут ПО, в 4 – ПО без восстановления уровня тромбоцитов в общем анализе крови. Наиболее частыми побочными эффектами, отмеченными при проведении данной схемы лечения, были фебрильная нейтропения с инфекционными осложнениями, тошнота, рвота и диарея. Повышение уровня трансаминаз не

относилось к неблагоприятным событиям в данном исследовании, но наблюдалось более чем у 30% пациентов [45, 46].

Митоксантрон эффективно ингибирует топоизомеразу II и нарушает синтез ДНК/РНК. При монотерапии митоксантроном у взрослых больных с рецидивом или рефрактерной формой ОМЛ частота ПО составила 51 % [47]. Первый опыт использования митоксантрон-содержащих режимов показал невысокую частоту кардиотоксичности, что позволило продолжить изучение препарата как в монорежиме, так и в комбинации с другими противоопухолевыми агентами. Так, схема терапии с включением митоксантрона, этопозида и цитарабина позволила достичь ПО у 44 % взрослых пациентов с рефрактерной формой ОМЛ и у 76 % пациентов с первым рецидивом ОМЛ [48]. У детей митоксантрон используется не только в схемах терапии первой линии ОМЛ, но и при рецидиве заболевания. В исследовании CCG-2951 проанализированы результаты лечения 101 пациента с рецидивами/рефрактерными формами ОМЛ с применением цитарабина в дозе 1 г/м² каждые 12 ч (8 введений) и митоксантрона в дозе 12 мг/м² ежедневно (4 введения) в качестве 1й линии индукции повторной ремиссии. Частота ПО составила 76 %. Токсические явления данной схемы терапии были прогнозируемыми, включали аплазию кроветворения и инфекционные осложнения [49].

В исследованиях 2002-2003гг. авторам удалось достичь ПО при рецидивах и рефрактерных формах ОМЛ у 46% больным благодаря применению комбинации топотекана, винорелбина, тиотепа и гемцитабина (TVTG) [50, 51]. При проведении II фазы клинического исследования был отмечен положительный эффект применения схемы TVTG у детей с рефрактерными формами или рецидивами ОМЛ. Топотекан назначался в дозе 1 мг/м²/сут, в виде непрерывной инфузии с 1 по 4й дни курса, винорелбин 20 мг/м² – в виде внутривенного введения 1 раз в неделю в 0, 7 и 14 дни, тиотепа 15 мг/м² – в день 2 и клофарабин в дозе эскалации 30 и 40 мг/м² – с 3 по 7й дни курса. Схема TVTG была проведена 11 больным ОМЛ в возрасте до 24 лет. У 8 из 11 пациентов ПО или ПО без

восстановления тромбоцитов, и всем 8 пациентам впоследствии была проведена алло-ТГСК [44].

Липосомальные формы лекарственных препаратов

Современные схемы терапии 2й линии при ОМЛ включают препараты флударабин и цитарабин. Эффективность и токсичность (по частоте инфекционных осложнений и гематологической токсичности) данных подходов сопоставима. Включение антрациклинов в схемы лечения не привело к достоверному увеличению частоты кардиотоксических эпизодов, тем не менее, дальнейшей эскалации суммарных курсовых доз антрациклиновых антибиотиков не происходит. С целью повышения эффективности и снижения токсичности развиваются технологии синтеза липосомальных форм химиопрепаратов. Так, липосомальная форма даунорубицина замедляет ферментативное превращение лекарственного средства в его кардиотоксичную форму и сохраняет относительную стабильность в кровотоке, что ведет к меньшему воздействию на окружающие ткани.

Вопрос кардиотоксичности весьма актуален при лечении ОМЛ у взрослых пациентов, особенно с сопутствующей сердечно-сосудистой патологией. Эффективность липосомальной формы комбинированного (цитарабин+даунорубицин) препарата CPX-351 представлена в результатах III фазы клинического исследования (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01696084), проводимого в когорте больных в возрасте 60–75 лет со вторичным ОМЛ группы высокого риска. Терапия включала 1–2 индукционных цикла химиотерапии препаратом CPX-351 или схему «7+3» (цитарабин, даунорубицин/доксорубицин/идарубицин). Среди больных, достигших полной ремиссии (в том числе с неполным восстановлением тромбоцитов или нейтрофилов), последующее лечение проводилось препаратом CPX-351 или с использованием схемы «5+2» соответственно. Медиана ОВ была выше в группе

больных, получавших CPX-351 и составила 25,4 мес, тогда как при проведении схем «7+3»/«5+2» - 8,5 мес. [52].

5-летняя ОВ, а зависимости от включения в схему терапии липосомального или нативного препарата оказалась одинаковой. Так, при использовании идарубицина 5-летняя ОВ составила 75%, а липосомального даунорубицина (L-DNR) - 76%. Однако отмечено, что L-DNR был более эффективным у больных ОМЛ с транслокацией t(8;21) и перестройками *RUNX1/RUNX1T1*. Кроме того, показано, что число летальных исходов, обусловленных осложнениями проводимого лечения, было меньше в группе пациентов, получавших L-DNR [9]. В литературе представлен опыт использования L-DNR у детей с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ: у 4 из 8 пациентов был достигнут ПО после 1го курса химиотерапии и успешно проведена ТГСК, полученная ремиссия продолжается более 2 лет [53].

Немецкая группа BFM опубликовала результаты первого рандомизированного клинического исследования по лечению рецидивов ОМЛ у детей (исключая М3-вариант ОМЛ по FAB-классификации) [33]. Изучено добавление L-DNR к режиму FLAG в первом курсе индукции повторной ремиссии. Среди 394 пациентов 197 (50%) получили терапию по схеме FLAG и 197 (50%) – FLAG+L-DNR. Второй курс терапии проводился по схеме FLAG без L-DNR. У 69% пациентов из группы FLAG+L-DNR получен ПО, тогда как во второй группе данный показатель составил 59 % (p = 0,07) (Таблица 1.2).

Таргетные препараты

Благодаря развитию фундаментальной онкологии активно изучаются молекулярно-биологические, эпигенетические, протеомные и иммунологические основы лейкогенеза. Стало возможным синтезировать лекарственные препараты, ингибирующие фарнезилтрансферазу, FLT3, гистондеацетилазу (ГДАЦ), протеасомы [54, 55]. Но если в терапии впервые диагностированного ОМЛ таргетные препараты в настоящее время не нашли широкого применения, то

случаи рецидивов и рефрактерных форм ОМЛ – возможные показания для их использования. Формирование лекарственной устойчивости за счет мутации *FLT3ITD* – известный в настоящее время механизм развития рецидива ОМЛ. Соответственно, для лечения рецидивов ОМЛ следует использовать препараты, подавляющие *FLT3ITD* [56]. В ряде работ были изучены ингибиторы тирозинкиназы, направленные на подавление активации гена *FLT3*, – сорафениб, лестауртиниб (CEP 701), мидостаурин, сунитиниб и семаксиниб (SU5416). Несмотря на то, что данные ингибиторы изначально были разработаны для других вариантов злокачественных опухолей, они с успехом продемонстрировали антилейкемические эффекты. Подобное отсутствие специфичности является следствием гомологии *FLT3*-рецептора тирозинкиназы и других рецепторов, включая *KIT* и фактор роста тромбоцитов (*PDGFR*) [57] (Таблица 1.3, Рисунок 1.1).

Таблица 1.3 - Ингибиторы киназ, применяемые для лечения пациентов с острым миелоидным лейкозом

Препарат	Ингибирующая активность
Лестауртиниб	FLT3, JAK2, TrkA
Мидостаурин	FLT3, cKIT, PKC, PDGFR, VEGFR
Сорафениб	FLT3, cKIT, PDGFR, RAF, VEGFR
Квизартиниб	FLT3, cKIT, PDGFR, RET
Креноланиб	FLT3, PDGFR
Гилтеритиниб	FLT3, AXL

Сорафениб по своему биологическому механизму действия является низкомолекулярным ингибитором мультикиназ тирозина, включая *FLT3*, *c-KIT*, *PDGFRA-B*, фактор роста эндотелия сосудов (рецепторы 1, 2 и 3), *C-RAF*, *B-RAF*. Данные сигнальные молекулы участвуют в процессах роста злокачественных клеток и формировании лекарственной устойчивости [58, 59]. При использовании сорафениба в качестве антилейкемического моноагента при рецидивах и

рефрактерном течении ОМЛ с мутацией *FLT3ITD*, частота ПО составила 20% [60–63]. К сорафенибу быстро формировалась устойчивость, что диктует необходимость разработки комбинированных режимов терапии с включением сорафениба [64]. Так, при комбинации сорафениба с клофарabiном и цитарабином МОБ-негативный статус отмечен у 63,6% пациентов с рецидивом ОМЛ [65].

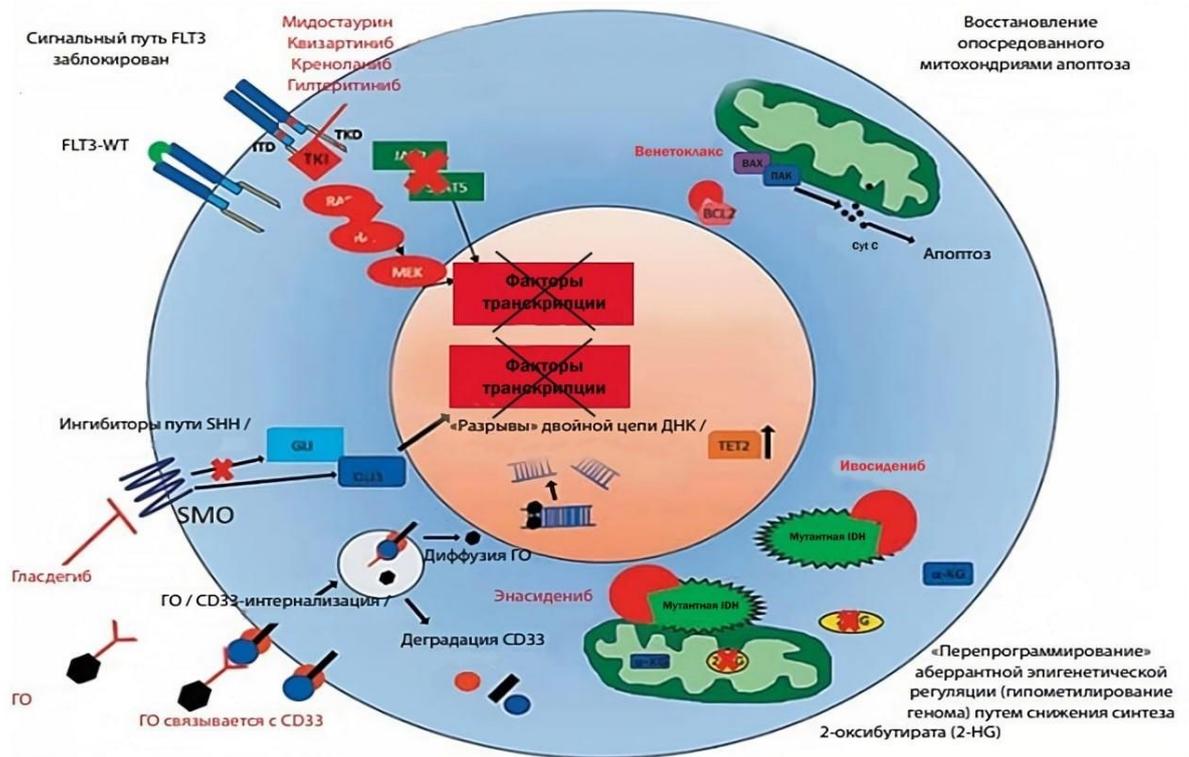


Рисунок 1.1 – Таргетные и эпигенетические терапевтические мишени в лечении ОМЛ

С учетом антилейкемического эффекта ингибиторов *FLT3* 1го поколения (сорафениб) в рамках монотерапии, был синтезирован новый лекарственный препарат **квизартиниб**, который обладает более избирательным и устойчивым подавлением *FLT3*. Период полувыведения квизартиниба превышает 24ч, а профиль токсичности вполне приемлемый. Эти свойства препарата позволяют в течение более длительного времени подавлять активность *FLT3*. Квизартиниб относится к группе высокоселективных *FLT3ITD*-ингибиторов 2го поколения,

МПД составляет 200 мг/сут [66, 67]. Частота ПО составила 44 %, частичных ответов – 54 % при использовании квизартиниба в монорежиме. Продолжительности полученного ответа достигала 12,7 нед. Рецидивы развились у 50% больных, включенных в исследование, в течение 3 мес. Полученные данные свидетельствуют о необходимости проведения ТГСК в максимально ранние сроки после терапии квизартинибом, пока полученный противоопухолевый эффект не утрачен [68].

Применение квизартиниба в схемах с азацитидином или цитарабином позволило получить общий ответ на лечение у 82 % пациентов с мутацией *FLT3-ITD* (исследование проведено в достаточно гетерогенной группе больных ОМЛ, МДС и хроническим миеломоноцитарным лейкозом) [69]. При наиболее распространенной мутации тирозинкиназы *KIT* происходит замена валина на аспарагиновую кислоту в кодоне 816 (*KIT D816V*). В исследованиях *in vitro* и *ex vivo* было отмечено снижение чувствительности лейкемических клеток к квизартинибу при данном типе мутации. Полученные данные диктуют необходимость проведения генотипирования тирозинкиназы перед использованием квизартиниба [56, 70–72]. К группе ингибиторов тирозинкиназ 2-го поколения также относится **креноланиб** с активностью в отношении *FLT3ITD*- и *FLT3TKD*-мутаций. В целом, креноланиб обладает более широким спектром действия в отношении *FLT3*-активных, в т.ч мутированных тирозинкиназ [73]. Креноланиб применяется в дозе 200 мг/м² 3 раза в день в течение 28 дней при рецидивах и рефрактерных формах ОМЛ, в ряде случаев удается достичь ПО продолжительностью до 19 недель [74].

При резистентности вариантов ОМЛ с мутациями *KIT* к иматинибу показано проведение типирования тирозинкиназы и обнаружение мутации кодона *D816V/Y* (одна из наиболее распространенных мутаций при Core Binding Factor ОМЛ - СВФ-ОМЛ) в гене *KIT*, может свидетельствовать о возможной чувствительности к дазатинибу. По данным результатов I-II фазы клинических исследований применения дазатиниба у взрослых больных, показана

возможность достижения 4-летней ОБ у 74 % пациентов с впервые диагностированным ОМЛ [75].

К группе препаратов-ингибиторов тирозинкиназ относится **мидостаурин**, который является мультикиназным ингибитором и активен в отношении FLT3, c-KIT, PDGFRB, VEGFR-2 и протеинкиназы C. По результатам I фазы клинического исследования мидостаурина в сочетании с индукционной химиотерапией у больных с впервые установленным диагнозом ОМЛ в возрасте от 18 до 60 лет ПО составил 92 % при наличии мутации *FLT3ITD* или *FLT3* домена тирозинкиназы. При мутации *FLT3WT* частота ПО была ниже - 74 %. Мидостаурин применялся в дозе 50 мг 2 раза в день (последовательно или одновременно с химиотерапией) [76]. С.М. Zwaan и соавт. представили результаты использования мидостаурина при рецидивах и рефрактерных ОМЛ с мутацией *FLT3*. Исследование проведено в небольшой группе – 9 больных в возрасте младше 18 лет. Мидостаурин применялся внутрь в дозе 60 мг/м². На 14й день индукции ремиссии ПО был зарегистрирован у 1 пациента (в последующем была проведена алло-ТГСК); у 4х пациентов был достигнут частичный ответ, и у 4х пациентов - стабилизация заболевания. Продолжительность ПО сохраняется в течение 2,5 лет. Медиана ОБ во всей группе больных составила 3,7 мес. [76, 77].

Гилтеритиниб является препаратом, активно подавляющим оба варианта мутации *FLT3*: *FLT3ITD* и *FLT3TKD*. В достаточно крупном исследовании, включавшем 247 пациентов с рецидивом и рефрактерной формой ОМЛ, гилтеритиниб применялся в дозе 120 мг/сут. У 215 (87%) пациентов была выявлена изолированная мутация *FLT3ITD*, у 21 (8,5%) – мутация *FLT3TKD*, а у 7 (2,8%) – сочетание обеих мутаций. Общая выживаемость в течение 1 года составила 37,1 %. Полученные данные позволяют предположить, что сочетание ингибиторов *FLT3* с другими новыми препаратами индукционной химиотерапии может привести к увеличению числа ПО и ОБ [77, 78].

Моноклональные антитела представляют собой еще один класс таргетных препаратов, которые с успехом используются в лечении ОМЛ. Мишенью данной группы препаратов являются белки и рецепторы, расположенные на поверхности

опухолевой клетки или трансмембранно. Удобной мишенью является антиген CD33, который экспрессируется на поверхности до 90% лейкозных бластов, тогда как на нормальных кроветворных клетках или на наиболее незрелых плюрипотентных стволовых клетках CD33 не обнаруживается [78].

В экспериментальных работах анти-CD33 антитело (**линтузумаб**), продемонстрировало авидность в низких дозах, но терапевтическая антилейкемическая активность оказалась недостаточной [79]. Последующие совершенствования анти-CD33 антител привели к созданию **гемтузумаба озогамицина** (гуманизированное анти-CD33 моноклональное антитело, конъюгированное с N-ацетилу-калихеамицина диметилгидразином – противоопухолевым антибиотиком семейства энедибиновых) (Рисунок 1.1). В соответствии с результатами III фазы клинических исследований улучшения общей и безрецидивной выживаемости у детей с впервые диагностированным ОМЛ при применении гемтузумаба озогамицина не было получено. Однако при использовании данного препарата в группе больных с рецидивом или рефрактерной формой ОМЛ отмечено повышение выживаемости, равно как и более частое достижение МОБ-негативного статуса перед ТГСК [80].

C.M. Zwaan и соавт. принадлежат одни из первых результатов по использованию гемтузумаба озогамицина у детей с рецидивами/рефрактерными формами ОМЛ. Частота достижения ПО при использовании гемтузумаба озогамицина составила 20 %, ПО без восстановления показателей тромбоцитов – 33%. В 27% терапевтический эффект отсутствовал. Проводимая терапия сопровождалась развитием осложнений, среди которых наиболее часто регистрировалась гепатотоксичность. В дальнейших исследованиях по применению гемтузумаба озогамицина у детей и подростков с рецидивами и рефрактерными ОМЛ при количестве бластных клеток в костном мозге >25 % после 1 курса терапии второй линии частота ПО составляла от 9 до 27 %. Проведение последующей ТГСК оказалось возможным у 30% больных, но лишь треть из них пережили 3-летний рубеж без признаков заболевания [81, 82]. В научной-практической литературе приводится возможность комбинации

гемтузумаба озогомицина с цитарабином, митоксантроном и АТРА [33], а также с цитарабином и L-аспарагиназой [83].

Немецкая группа ВФМ представила результаты как монотерапии гемтузумабом озогомицином (n=36), так и комбинации с цитозинарабинозидом (n=36) рецидивов и рефрактерных форм ОМЛ (Таблица 1.2). При среднем периоде наблюдения 4,3 года ОВ во всей группе больных составила 18 ± 5 %. Повышение выживаемости отмечено в группе пациентов, которые получили ТГСК – 27 %. Достоверных различий ОВ в зависимости от режима терапии не отмечено [84, 85].

Препараты эпигенетического действия

Изучение эпигенетических механизмов лейкозогенеза позволило установить, что процессы метилирования и деацетилирования могут активировать онкогенные события, способствуя опухолевой трансформации клетки-предшественницы миелопоэза. Были идентифицированы гены, ответственные за эпигенетические процессы регуляции генома, в частности за метилирование ДНК или модификацию гистонов: *DNMT3A*, *IDH1/2*, *TET2* и др. Белки IDH1/2 являются метаболическими ферментами. Измененные (мутированные) варианты этих ферментов способствуют накоплению (D)-2гидроксиглутарата, в результате чего происходит гиперметилирование ДНК [85]. В целом около 15 % пациентов с ОМЛ имеют мутации в *IDH1/2* [86, 87]. В настоящее время проводятся клинические исследования лекарственных препаратов-ингибиторов IDH1/2. Предварительные результаты показали, что эти агенты улучшают ответ у больных с рецидивом ОМЛ при минимальных проявлениях токсичности. **Энаседениб** в 2017 г. был одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) как первый ингибитор IDH2. Частота ПО при использовании энаседениба у больных рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ составила 41 %. Рекомендованная продолжительность приема энаседениба - 6 мес. [88]. Препарат в целом хорошо переносился, и МПД не была достигнута [89].

Ингибиторы IDH1 проходят клинические исследования и в настоящее время ведется изучение следующих препаратов: AG-120 (**ивосидениб**) и IDH305. Показания для использования ивосидениба – рецидивы и рефрактерные формы ОМЛ. Предварительные результаты свидетельствуют об эффективности ивосидениба, аналогичной таковой, полученной при использовании ингибитора IDH2. Частота ПО и ПО с частичным восстановлением гематологических показателей составляет 30,4 % [90].

Участие гистонов в лейкозогенезе было подтверждено в экспериментальных работах по изучению прогностически неблагоприятных *MLL*-реаранжировок. При острых лейкозах с перестройками *MLL* 3-летняя ОВ составляет 12 % [91]. В исследованиях *in vivo* и *in vitro* показано, что ключевым медиатором *MLL*-реаранжировки является гистон-лизин-метилтрансфераза DOT1L. Попытки использования ингибитора DOT1L (EPZ-5676) позволили достичь ПО у 2 (6%) из 34 больных острыми лейкозами с *MLL*-реаранжировкой или *MLL*-частичным дублированием тандема. Цитологическая и молекулярно-генетическая ремиссия достигнута лишь в 1 (3%) случае [92].

Процессы метилирования ДНК крайне важны для реализации нормального клеточного цикла и транскрипции генов. В основе метилирования лежит присоединение метильной группы к цитозинового основанию в составе динуклеотидов цитозин-гуанин (CpG-островки) в ДНК. Подобный вариант метилирования ДНК играет важную регуляторную роль в функционировании генома. В норме метилирование осуществляется благодаря работе ферментов ДНК-метилтрансфераз. Известны несколько типов ДНК-метилтрансфераз. Так, DNMT1 обеспечивает передачу метилирования дочерним клеткам при делении, DNMT3A и DNMT3B вносят метильную группу в основания, которые прежде не были модифицированы. В результате дисфункции DNMT происходят нарушения метилирования генома и сбои в нормальной работе генов. Известны примеры гиперметилирования генов-промоторов онкосупрессоров в опухолевых клетках и, напротив, случаи деметилирования онкогенов. В основе данных нарушений лежат соматические мутациями генов ДНК-метилтрансфераз и/или их гиперактивность

[93]. Гиперметилирование промоторов способствует блокировке «чтения» генов-онкосупрессоров, тогда как процессы гипометилирования ответственны за нестабильность генома. Оба процесса весьма характерны для лейкемической клетки. В ходе исследования гиперметилирования генов-онкосупрессоров *CDKN2A*, *MLH1*, *BRCA1*, *VHL* было показано, что на начальных этапах опухолевой трансформации возникают соматические мутации в гене ДНК-метилтрансферазы. При ОМЛ соматические мутации происходят в гене ДНК-метилтрансферазы *DNMT3A*. Модификации гистонов являются обратимыми. Преимущественно модификациям подвергаются концы белковых молекул гистонов. Выделены 4 типа концевых молекул гистонов: H2A, H2B, H3 и H4. При объединении 2 гистоновых белков каждого типа происходит образование нуклеосомы (полисомного белкового комплекса).

В 2004 г. первым эпигенетическим препаратом, одобренным FDA для использования в клинической практике, стал **5-азацитидин** (аналог нуклеотида цитидина). Данный препарат ингибирует фермент ДНК-метилтрансферазу за счет образования химической сшивки и способствует активации генов-онкосупрессоров, выключенных в лейкемической клетке в ходе гиперметилирования. Еще одним аналогом цитидина является **децитабин** (5-аза-20-деоксицитидин) - деметилирующий агент с несколькими механизмами действия, также препарат обеспечивает деградацию ДНК-метилтрансферазы (DNMT), ведущей к глобальному гипометилированию, а также блокированию синтеза ДНК. Децитабин в исследованиях *in vitro* индуцировал дифференцировку миелоидных бластов до зрелых форм. В клинической практике децитабин у пациентов старше 65 лет продемонстрировал высокую эффективность при приемлемом профиле токсичности [94]. Было показано, что монотерапия децитабином в дозе 20 мг/м² курсами по 10 дней привела к ПО при первичных ОМЛ у 40 % взрослых больных, тогда как при рецидивах и рефрактерных формах данный показатель оказался существенно ниже – 15,7 %. Клиническое применение децитабина в педиатрии при рецидивах или рефрактерном ОМЛ привело к антилейкемическому эффекту у 3 из 8 пациентов. ПО отмечен у 1 из 8

больных. В исследованиях *in vitro* проводится анализ антилейкемических эффектов гипометилирующих агентов за счет активации апоптоза путем подавления антиапоптотического белка MCL1 [95].

Ингибиторы ГДАЦ (HDAC-гистондеацетилаза) являются еще одним подклассом эпигенетических препаратов, к которым относятся **вориностат** (субероиланилид гидроксамовой кислоты) и **ромидепсин**. Вориностат активирует апоптоз в CD33+бластных клетках при ОМЛ [96]. В рамках I фазы клинического исследования проведена оценка эффективности комбинации вориностата, цитарабина и этопозида у взрослых пациентов с рецидивами/рефрактерными формами ОМЛ. Отмечено, что ПО/ПО без восстановления тромбоцитов достижимы в 33% случаев [97]. Во II фазе клинических исследований схемы вориностат, идарубицин и цитарабин у больных впервые диагностированным ОМЛ и МДС объективный ответ был получен в 85 %: ПО – в 76% и ПО с неполным восстановлением тромбоцитов – в 9% [98].

Помимо метилирования генома, эпигенетические воздействия могут быть реализованы через процессы деацетилирования. Известный ингибитор фермента деацетилазы - **вальпроевая кислота (ВК)**. Было показано, что данная короткоцепочечная жирная кислота стимулирует дифференцировку нормальных гемопоэтических клеток-предшественников и лейкозных бластов в костном мозге и периферической крови у больных ОМЛ. Предполагается, что антилейкемические эффекты ВК реализуются путем протеасомной деградации ГДАЦ (в частности ГДАЦ2). Кроме этого, ВК может влиять на химерный ген *AML/ETO* при ОМЛ с транслокацией t(8;21) за счет диссоциации комплекса *AML/ETO*-ГДАЦ из промотора генов *AML/ETO* и вызывает значительное торможение активности гистона H3 и гиперацетилирование гистона H4, РНК-полимеразы II, что приводит к транскрипционной реактивации генов-мишеней и подавлению химерного белка *AML/ETO*. Эти эпигенетические фармакологические эффекты приводят к подавлению лейкемической активности. Другим препаратом, влияющим на ацетилирование и метилирование гистонов, является полностью транс-ретиноевая кислота (**АТРА**) – природный метаболит

ретинола. АТРА индуцирует апоптоз и дифференцировку лейкемических клеток при ОМЛ. АТРА кардинально изменила прогноз больных острым промиелоцитарным лейкозом. Ранее считавшийся одним из наиболее неблагоприятных вариантов ОМЛ острый промиелоцитарный лейкоз, благодаря включению АТРА в протоколы лечения, стал потенциально курабельным с возможностью достижения 10-летней ОВ в 89,6 % [99]. Анализ и сравнение результатов 8 различных исследований по лечению ОМЛ (за исключением острого промиелоцитарного лейкоза) с включением АТРА не показали существенных различий в ОВ между группами [100]. В протоколе лечения ОМЛ (за исключением острого промиелоцитарного лейкоза), разработанном в НИИ ДОГ ФГБУ «НМИЦ онкологии им.Н.Н.Блохина» Минздрава России, изучена эффективность сочетания стандартной химиотерапии (основанной на протоколе AML-BFM) с эпигенетическими препаратами (вальпроевая и полностью транс-ретиноевая кислоты) при лечении первичных больных детей с ОМЛ. Показатели 5-летней выживаемости (безрецидивной, БСВ, ОВ) составили $56,1 \pm 7,0$; $51,7 \pm 7,0$; $54,7 \pm 6,1$ % соответственно. Увеличения токсичности терапии при добавлении эпигенетических препаратов не отмечено [101].

Еще одним препаратом с антилейкемическим эффектом является ингибитор протеасом **бортезомиб** (аналог дипептидил борной кислоты). In vitro было показано, что бортезомиб повышает чувствительность лейкемических клеток к другим цитостатикам. Клинический опыт использования бортезомиба у детей с рецидивом, рефрактерной формой и вторичным ОМЛ были впервые представлены на конференции Американского общества гематологов в 2012 г. Бортезомиб применялся в комбинации с 2 другими режимами химиотерапии. Так, если суммарная доза ранее полученных антрациклинов была менее 400 мг/м^2 , бортезомиб был комбинирован с идарубицином (12 мг/м^2 в 1–3 дни курса) и цитарабином (100 мг/м^2 в 1–7 дни курса). В другой группе пациентов с предшествующей дозой антрациклинов более 400 мг/м^2 бортезомиб был комбинирован с цитарабином (1000 мг/м^2 каждые 12 дней) и этопозидом (150 мг/м^2 в 1–5 дни курса). Однако результаты исследования не показали

преимуществ одного режима перед другим и не позволили предложить наиболее оптимальную программу терапии рецидивов и рефрактерных ОМЛ [102, 103].

Перспективным методом клеточной терапии при неблагоприятных вариантах острого лейкоза является трансфузия натуральных клеток-киллеров (NK), которые действуют на главный комплекс гистосовместимости (HLA), высвобождают цитокины и индуцируют апоптоз [103, 104]. NK лизируют клетки со сниженной экспрессией HLA-молекул I класса, подобных собственным, без предварительного контакта и развития иммунного ответа. Гены *KIR* (killer cell immunoglobulin-like receptors, гены иммуноглобулин-подобных рецепторов NK) кодируют рецепторы, посредством которых NK-клетки распознают HLA молекулы I класса. Трансфузия KIR-несоответствующих (для которых отсутствует соответствующий лиганд HLA, являются гипореактивными) NK-клеток изучена при проведении алло-ТГСК, а также без ТГСК. Отмечены их потенциальные антилейкемические или «трансплантат против лейкемии» эффекты, без развития реакции «трансплантат против хозяина».

Использование гаплоидентичных NK-клеток без ТГСК у больных ОМЛ группы неблагоприятного прогноза показало *in vivo*, что более длительная персистенция NK-клеток отмечена при подкожном введении интерлейкина 2 и проведении схемы химиотерапии, с включением циклофосфида и лимфодеплетирующего препарата флударабина. Несмотря на отмеченные миелосупрессию, лихорадку, плевральный выпот и гипоксию, у 26 % взрослых пациентов с ОМЛ получен ПО. В пилотном исследовании J.E. Rubnitz и соавт. пациенты детского возраста с ОМЛ в 1й ремиссии получали алло-ТГСК в сочетании с трансфузиями NK-клеток и менее интенсивным режимом предтрансплантационного кондиционирования. Были показаны безопасность и клиническая эффективность предложенного метода лечения: у всех пациентов ПО сохраняется в течение 2 лет [104–106].

Иммунотерапия генетически модифицированными Т-клетками (CAR) представляет собой перспективное, активно развивающееся направление. Концепция CAR-технологии позволяет перепрограммировать собственные

иммунные клетки больного и обеспечить распознавание и разрушение лейкемических клеток. По данным I фазы исследований для оценки безопасности аутологичных CAR T-клеток, направленных против антигена LeY у взрослых с рецидивом ОМЛ, у 2 из 4 пациентов, которые получили подобное лечение, была достигнута ремиссия [107, 108].

Таким образом, современный комплексный подход в лечении больных с впервые диагностированным ОМЛ включает интенсивную полихимиотерапию, применение таргетных и эпигенетических агентов в сочетании с алло-ТГСК. Клиническое применение всех возможных опций позволило повысить показатели выживаемости, чего нельзя сказать о результатах терапии рецидивов и рефрактерных форм ОМЛ, при которых использование всего арсенала химиотерапевтических, биологических, иммунных и клеточных технологий не позволяет добиться удовлетворительных результатов. Остается ряд нерешенных вопросов в связи с недостаточным опытом, особенно в России. Дальнейшее изучение биологических основ лейкозогенеза, определение молекулярных онкогенных событий, вероятно, позволит совершенствовать таргетные и эпигенетические подходы в лечении ОМЛ.

ГЛАВА II. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ, МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ

В исследование были включены 54 пациента с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ. Всем больным диагностика и лечение проводились в НИИ детской онкологии и гематологии им. академика РАМН Л.А.Дурнова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России с 1997 по 2021 гг. Результаты терапии оценивались на 21.08.2022г.

Среди 54 пациентов мальчиков было несколько больше (n=32; 59,3%), чем девочек (n=22; 40,7%) (Рисунок 2.1).

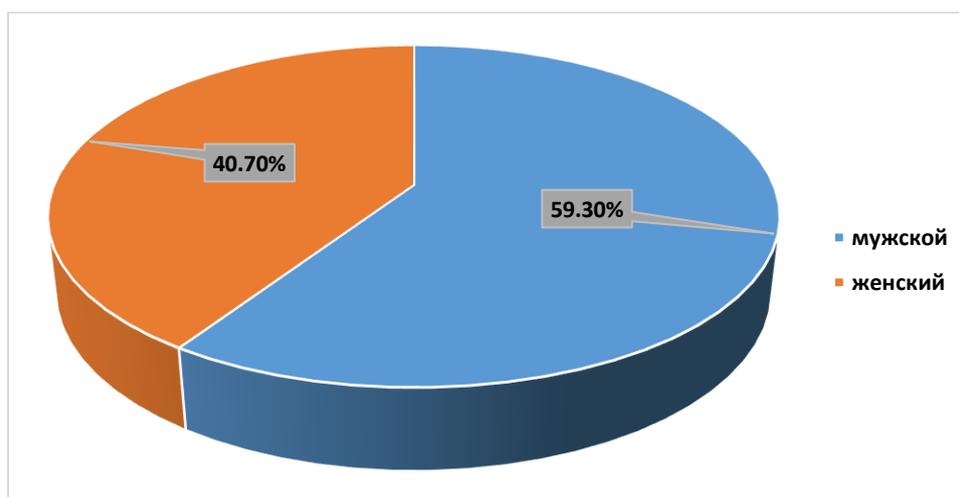


Рисунок 2.1 – Распределение больных с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ по полу

Распределение по возрастам было согласно установившимся в педиатрии нормам (Тяжкая А.В., Крамарев С.А., Петренко В.И. и др., // Педиатрия: учебник для студентов высших медицинских учебных заведений IV уровня аккредитации) [109] (Таблица 2.1).

Средний возраст детей, получивших противорецидивную программу терапии по поводу р/р ОМЛ (n = 54), составил $9,2 \pm 4,6$ лет. Самому младшему ребенку на момент постановки рецидива ОМЛ было 13 месяцев, самому старшему - 17 лет.

Таблица 2.1 – Распределение пациентов в зависимости от возраста

Возраст (лет)	Абс.	%
1,1-3	7	13,0
3,1-7	14	25,9
7,1-14	25	46,3
>14,1	8	14,8
всего	54	100

Критерии включения пациентов в исследование:

- Возраст на момент констатации рецидива или рефрактерного ОМЛ от 0 до 18 лет.
- Диагноз ОМЛ рецидив или рефрактерная форма, подтверждённые с учетом клинических данных, результатов морфо-цитохимического, цитогенетического и иммунологического исследований бластных клеток костного мозга.
- Наличие информированного согласия законных представителей пациента на лечение.

Критерии исключения пациентов из исследования:

- Острый промиелоцитарный лейкоз (FAB M3).
- Второй и последующие рецидивы ОМЛ; бифенотипический лейкоз.
- Отказ законных представителей пациента от терапии.

Диагноз был установлен, учитывая данные морфологических, цитохимических, иммунологических и цитогенетических параметров бластных клеток периферической крови и костного мозга. Морфологическая идентификация бластных клеток проводилась по морфологическим препаратам пунктатов костного мозга и периферической крови, окрашенных по методу Романовского-Гимза в лаборатории гемцитологии НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (зав.

лабораторией - к.б.н Т.В. Давыдова). Типирование бластных клеток осуществлялось по критериям международной классификации FAB.

Иммунофенотипирование бластных клеток костного мозга и периферической крови, при диагностике и в рецидиве производилось методом 3–8 цветной проточной цитометрии на приборах BD FACS Canto II и FACScan (Becton, Dickinson США). С 2013 года диагностические подходы базировались на 8-цветной концепции Euroflow, которая включает в себя оценку линейности лейкоза по ориентационной пробе ALOT и последующий анализ бластных клеток согласно их линейной принадлежности. Антиген-положительным считался случай с экспрессией маркера более чем на 20% бластных клеток. Исследование иммунофенотипической характеристики бластных клеток проводилась в лаборатории иммунологии гемопоза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (зав. лабораторией – д.м.н., профессор Н.Н. Тупицын).

Всем больным при диагностике рецидива ОМЛ проводились рентгенография и/или компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки, с целью выявления изменений лёгочной ткани и органов средостения. Также всем пациентам (100%) проводилось ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости, органов малого таза, периферических лимфатических узлов. Больным с экстрамедуллярными локализациями рецидива дополнительно выполнялась компьютерная томография зон поражения с внутривенным болюсным контрастированием в отделении лучевой диагностики НИИ детской онкологии и гематологии им. академика РАМН Л.А. Дурнова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (зав. отделением – к.м.н. Е.В. Михайлова).

Всем пациентам перед началом терапии и в процессе лечения проводились обследования, включающие: общий клинический и биохимический анализы крови, коагулограмму, общий анализ мочи, выявление антител: к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ), гепатиту С, к возбудителю сифилиса (*Treponema pallidum*).

Перед началом каждого этапа терапии всем больным выполнялась электрокардиография (ЭКГ) и ЭХО-кардиография (ЭХО-КГ) с целью оценки функционального состояния сердечной мышцы. Для выявления поражения центральной нервной системы (ЦНС) всем пациентам выполнялось цитологическое исследование ликвора. При наличии признаков ЦНС-поражения дополнительно проводилась магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга (Таблица 2.2).

Таблица 2.2 – Критерии для оценки поражения ЦНС

ЦНС - статус 1 (ЦНС1) (отрицательный)	Нет клинических симптомов лейкоцитарного поражения ЦНС (в т.ч. черепно-мозговых нервов)
	Отсутствие бластных клеток в ликворе.
ЦНС - статус 2 (ЦНС2) (отрицательный)	Обнаружение в ликворе клеток (цитоз $\leq 5 \times 10^9$ /л) напоминающих бластные на фоне эритроцитов в соотношении эритроциты: лейкоциты $\leq 100:1$, в препарате приготовленном на цитоспине, пункцию нельзя считать травматичной и/или контаминированной
	Обнаружение в ликворе бластов на фоне примеси крови в соотношении эритроциты: лейкоциты $> 100 : 1$, в препарате приготовленном на цитоспине, пункция травматичная и/или контаминированная.
	Первичный лейкоцитоз $> 5 \times 10^9$ /л, травматичная спинномозговая пункция сочетается с примесью крови.
ЦНС - статус 3 (ЦНС3) (положительный)	Выраженные изменения в головном мозге и/или оболочках мозга по данным МРТ/КТ. Патология со стороны черепно-мозговых нервов даже без обнаружения бластных клеток в ликворе и изменений на МРТ/КТ.

	Не травматичная спинномозговая пункция с цитозом ликвора $> 5 \times 10^9$ /л и большее количество бластных клеток в препарате, приготовленном на цитоспине.
--	--

Диагноз «нейролейкоз» при «контаминации» ликвора кровью устанавливался при помощи жидкостной цитологии (цитоспин), если:

- Цитоз ликвора $> 5 \times 10^9$ /л + наличие бластных клеток + соотношение эритроциты : лейкоциты $\leq 100:1$.

- Цитоз ликвора $> 5 \times 10^9$ /л + процент бластных клеток в ликворе выше чем в периферической крови.

2.1 Прогностические группы риска

Каждый пациент, получивший противорецидивную терапию, был отнесен к одной из двух прогностических групп риска, на основании таких факторов как время возникновения и локализация рецидива, иммунофенотип бластной популяции клеток, цитогенетические характеристики бластных клеток и сроки полного ответа на индукцию.

Благоприятная прогностическая группа:

- Рецидив более чем через 1,5 года от диагностики первичного ОМЛ (поздний рецидив);
- Изолированный поздний костномозговой рецидив;
- $t(8;21)(q22;q22)$, $inv(16)(p13.1q22)$ или $t(16;16)(p13.1;q22)$;
- Полный ответ (M-1 ответ) по костному мозгу на 15 день противорецидивной ПХТ.

Неблагоприятная прогностическая группа:

- Рецидив ранее чем через 1,5 года от диагностики ОМЛ (ранний рецидив);
- Поздний комбинированный рецидив;

- Первично рефрактерная форма ОМЛ;
- Частичный ответ (M-2 ответ) или отсутствие ответа (M-3 ответ) по костному мозгу на 15 день от начала противорецидивной ПХТ;
- Рецидив или рефрактерная форма вторичного ОМЛ.

2.2. Методы лечения

Лечение больные получали в отделении химиотерапии гемобластозов НИИ детской онкологии и гематологии им. академика РАМН Л.А. Дурнова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по пяти различным противорецидивным программам высокодозной полихимиотерапии.

Противорецидивная терапия с целью получения второй ремиссии была проведена по четырем основным программам: два курса FLA (2FLA) (n = 11; 20,4%); HAM с флударабином и вепезидом (n = 19; 35,2%); HAM и FLA (n = 10; 18,5 %); FLA с азацитидином (n = 10; 18,5%). Четверо пациентов (7,4%) получили иную противорецидивную ПХТ: двое пациентов - терапию азацитидином в монорежиме; один пациент - цитарабин в сочетании с L-аспарагиназой и азацитидином; один пациент получил в первом курсе ПХТ режим FLA, после которого был введен бортезомиб в сочетании с цитарабином и даунорубицином (Рисунок 2.2).

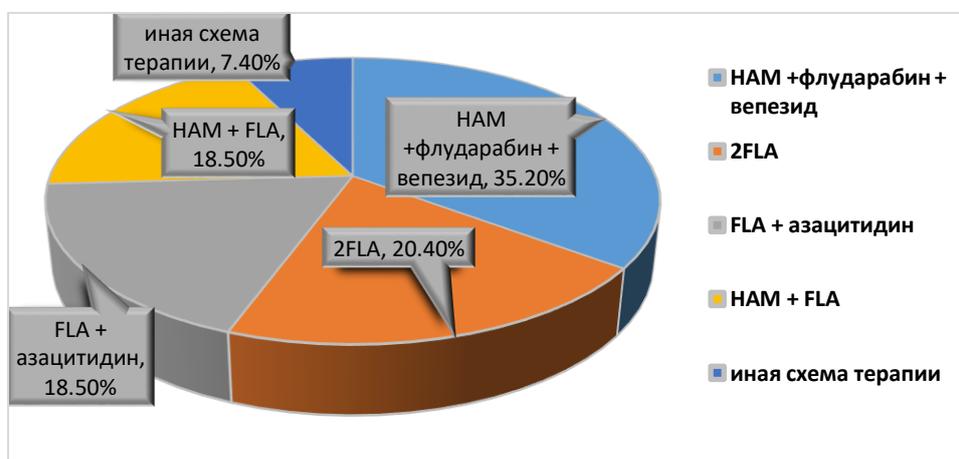


Рисунок 2.2 – Распределение больных р/р ОМЛ в зависимости от программы терапии индукции второй ремиссии

Цель исследования всех групп состояла в попытке сравнения режимов, для определения схемы лечения с более ранними сроками достижения повторной ремиссии и качества ремиссии перед трансплантацией. При достижении ремиссии всем больным была показана алло-ТГСК.

Схема FLA

1 курс ПХТ

Флударабин 30 мг/м²/сут внутривенно, капельно 1-5 дни;

Цитарабин 2000 мг/м²/сут внутривенно, капельно 1-5 дни.

2 курс ПХТ

Флударабин 30 мг/м²/сут внутривенно, капельно 1-5 дни;

Цитарабин 2000 мг/м²/сут внутривенно, капельно 1-5 дни.

Согласно схеме, пациенты, включенные в противорецидивный протокол, получили лечение с применением 2х последовательных курса FLA. Второй курс FLA начинался не позднее 28го дня от начала первого курса вне зависимости от восстановления абсолютного содержания гранулоцитов (АСГ) по данным общего анализа периферической крови (ОАК) или мог начаться раньше при восстановлении АСГ более $0,5 \times 10^9/\text{л}$ и тромбоцитов более $50 \times 10^9/\text{л}$ по данным ОАК. В первый день ПХТ, при подтвержденном, с помощью КТ/МРТ с в/в контрастированием и/или цитологического исследования ликвора, поражении ЦНС, интратекально, в дозировках, зависящих от возраста (Таблица 2.3), вводились три препарата (метотрексат, цитарабин, преднизолон).

При отсутствии подтвержденного поражения ЦНС, с целью профилактики поражения, интратекально в первый день, вводился один препарат – цитарабин в возрастной дозе.

Таблица 2.3 — Дозы химиопрепаратов для эндолюмбального введения в зависимости от возраста

Возраст	Метотрексат (мг)	Цитарабин (мг)	Преднизолон (мг)
<1 года	5	20	4
1-2 года	8	26	6

2-3 года	10	34	8
>3 лет	12	40	10

Схема FLA + азацитидин

Флударабин 30 мг/м²/сут внутривенно, капельно 1-5 дни;
 Цитарабин 2000 мг/м²/сут внутривенно, капельно 1-5 дни;
 Азацитидин 75мг/м²/сут внутривенно, капельно 15-19 дни.

Согласно схеме, пациентам с р/р ОМЛ проводилось лечение с применением одного пролонгированного курса полихимиотерапии – FLA + азацитидин.

Принципы профилактики поражения ЦНС аналогичны схеме FLA.

Схема НАМ + флударабин, вепезид

1 курс ПХТ

Цитарабин 3000 мг/м²/сут внутривенно, капельно, каждые 12 часов 1-3 дни;
 Митоксантрон 12 мг/м²/сут внутривенно, капельно 2-4 дни.

2 курс ПХТ

Флударабин 30 мг/м²/сут внутривенно, капельно 1-5 дни;
 Вепезид 125 мг/м²/сут внутривенно, капельно 1-5 дни.

Схема НАМ включала цитарабин и митоксантрон в обозначенном режиме. Второй курс начинался не позднее 21го дня от окончания первого курса вне зависимости от восстановления АСГ по данным ОАК или курс мог начаться раньше при восстановлении АСГ более 0,5х10⁹/л и тромбоцитов более 50х10⁹/л по данным ОАК.

Принципы профилактики поражения ЦНС аналогичны схеме FLA.

Схема НАМ + FLA

1 курс ПХТ

Цитарабин 3000 мг/м²/сут внутривенно, капельно, каждые 12 часов 1-3 дни;
 Митоксантрон 12 мг/м²/сут внутривенно, капельно 2-4 дни.

2 курс ПХТ

Флударабин 30 мг/м²/сут внутривенно, капельно 1-5 дни;

Цитарабин 2000 мг/м²/сут внутривенно, капельно 1-5 дни.

Схема НАМ + FLA состояла из двух последовательных блоков. Второй курс (FLA) начинался не позднее 21го дня от окончания первого курса (НАМ) вне зависимости от восстановления АСГ по данным ОАК или мог начаться раньше при восстановлении АСГ более 0,5x10⁹/л и тромбоцитов более 50x10⁹/л по данным ОАК.

Принципы профилактики поражения ЦНС аналогичны схеме FLA.

Иные схемы

- **Азацитидин** 75мг/м²/сут внутривенно, капельно 1-5 дни.

Согласно плану введения, азацитидин пациенту с р/р ОМЛ вводился в монорежиме.

Принципы профилактики поражения ЦНС аналогичны схеме FLA.

- **Цитарабин + L-аспарагиназа + децитабин**

Цитарабин 3000 мг/м² 2 раза в сутки внутривенно, капельно 1-2 и 8-9 дни;

L-аспарагиназа 6000 ЕД/м² внутривенно, капельно 2 и 9 дни;

Децитабин 20 мг/м² внутривенно, капельно 15-19 дни.

Принципы профилактики поражения ЦНС аналогичны схеме FLA.

- **НАМ + децитабин**

Цитарабин 3000 мг/м²/сут внутривенно, капельно, каждые 12 часов 1-3 дни;

Митоксантрон 12 мг/м²/сут внутривенно, капельно 2-4 дни;

Децитабин 20 мг/м²/сут внутривенно, капельно 15-19 дни.

Противорецидивная программ включала проведение ПХТ по схеме НАМ. Далее на 15-19 дни курса вводился децитабин. Принципы профилактики поражения ЦНС аналогичны схеме FLA.

- Программа из 3 курсов ПХТ

1 курс ПХТ

Флударабин 30 мг/м²/сут внутривенно, капельно 1-5 дни;

Цитарабин 2000 мг/м²/сут внутривенно, капельно 1-5 дни;

Идарубицин 12 мг /м²/сут внутривенно, капельно 3, 5, 7 дни.

2 курс ПХТ

Бортезомиб 1.3 мг/м²/сут внутривенно, капельно 1 день.

3 курс ПХТ

Клофарабин 30 мг/м²/ сут внутривенно, капельно 1-5 день;

Цитарабин 100 мг/м² внутривенно, капельно 2 раза в день 1–3 день;

Даунорубицин 30 мг/м² внутривенно, капельно 2 раза в день 1-3 день.

Каждый последующий курс начинался не позднее 28го дня от начала первого курса вне зависимости от восстановления АСГ по данным ОАК или мог начаться раньше при восстановлении АСГ более $0,5 \times 10^9$ /л и тромбоцитов более 50×10^9 /л по данным ОАК.

Принципы профилактики поражения ЦНС аналогичны схеме FLA.

2.3. Оценка ответа на лечение

Оценка ответа на лечение включала цитологическое исследование костного мозга, проводилась на 15 день от начала терапии и после восстановления показателей крови, но не позднее 28 дня от начала первого курса терапии индукции второй ремиссии.

Оценка эффекта включала цитологические критерии:

- Полный ответ (M-1) – при количестве бластов в пунктате костного мозга менее 5%, при отсутствии бластов в общем анализе крови; Восстановление абсолютного числа нейтрофилов более $1,0 \times 10^9$ /л, тромбоцитов более 50×10^9 /л, независимо от трансфузий компонентов крови (эритроцитная взвесь, концентрат тромбоцитов и пр.) и отсутствие внекостномозговых опухолевых очагов. У пациентов с экстрамедуллярным поражением критерием полного ответа (ПО) считалось полное исчезновение очагов поражения при клиническом и инструментальном обследовании.

При стабильном сохранении указанных показателей в течение 1 месяца – констатируется полная ремиссия (ПР).

- Частичный ответ (М-2) – в случае регистрации значительного уменьшения числа бластных клеток (более 50% от исходного, при этом их процент в пунктате КМ не должен превышать 25%), нормализации показателей периферической крови с незначительными отклонениями от необходимых параметров (полное отсутствие бластов в общем анализе крови, число тромбоцитов не менее $50 \times 10^9 / \text{л}$, но не более $100 \times 10^9 / \text{л}$).

- Отсутствие ответа (М-3) – в случае регистрации количества бластных клеток в костном мозге более 25% или развитие/сохранение экстрамедуллярного очага болезни.

Оценка ответа по ликвору производилась после первого курса ПХТ индукции второй ремиссии.

По окончании терапии индукции второй ремиссии и подтверждении сохраняющейся клинико-гематологической ремиссии, дальнейшая тактика предусматривала алло-ТГСК при наличии полностью совместимого донора. При отсутствии полностью совместимого донора рассматривалось иное терапевтическое решение:

- Ауто-ТГСК
- Гапло-ТГСК
- Поддерживающая терапия (метотрексат, 6-меркаптопурин, весаноид, депакин – внутрь; цитарабин подкожно).

Распределение пациентов по полу и возрасту в зависимости от схемы противорецидивной терапии представлено в таблицах 2.4 и 2.5.

При сравнении распределения пациентов, получавших лечение по всем схемам, не было выявлено достоверной разницы по полу ($p=0,1$) и возрасту ($p=0,5$). Больше число пациентов отмечено среди мальчиков (59%) и в возрасте от 7,1 до 14 лет.

Таблица 2.4 – Распределение пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ, в зависимости от схемы терапии индукции второй ремиссии и возраста

Возраст, лет	Схема терапии индукции второй ремиссии									
	2FLA		НАМ + флударабин, вепезид		НАМ + FLA		FLA + азацитидин		Иные схемы	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
1,1-3	3	5,6	1	1,9	1	1,9	0	0	2	3,7
3,1-7	2	3,7	5	9,3	2	3,7	4	7,4	1	1,9
7,1-14	5	9,3	10	18,5	5	9,3	4	7,4	1	1,9
>14	1	1,9	3	5,6	2	3,7	2	3,7	0	0
Всего	11	20,4	19	35,2	10	19,6	10	19,6	4	7,4

Таблица 2.5 – Распределение больных с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ по полу с учетом схемы терапии индукции второй ремиссии

Схема терапии индукции второй ремиссии	Пол				Общее количество больных	
	Мальчики		Девочки			
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
2FLA	6	11,1	5	9,3	11	20,4
НАМ + флударабин, вепезид	13	24,1	6	11,1	19	35,2
НАМ + FLA	8	14,8	2	3,7	10	18,5
FLA + азацитидин	3	5,6	7	13,0	10	18,5
Иные схемы	2	3,7	2	3,7	4	7,4
Всего	32	59,3	22	40,7	54	100

В соответствии с FAB-классификацией лейкомиические бласты были представлены семью морфологическими вариантами (пациенты с ОМЛ М3 в

исследование включены не были). Распределение больных в зависимости от FAB-варианта ОМЛ и схемы терапии представлено в таблице 2.6. Среди 54 анализируемых больных у большинства (31,5%) был диагностирован M2 морфологический вариант ОМЛ.

Таблица 2.6 – Распределение больных с рецидивами ОМЛ по противорецидивным схемам лечения, в зависимости от FAB-варианта

Схема ПХТ	FAB-вариант ОМЛ							Всего Абс. (%)
	Абс. (%)							
	M0	M1	M2	M4	M5	M6	M7	
2FLA	1 (1,9)	1 (1,9)	2 (3,7)	3 (5,6)	4 (7,4)	0	0	11 (20,4)
НАМ + флударабин , вепезид	1 (1,9)	3 (5,6)	7 (13,0)	3 (5,6)	4 (7,4)	0	1 (1,9)	19 (35,2)
НАМ + FLA	1 (1,9)	1 (1,9)	5 (9,3)	3 (5,6)	0	0	0	10 (18,5)
FLA + азацитидин	0	4 (7,4)	3 (5,6)	1 (1,9)	1 (1,9)	1 (1,9)	0	10 (18,5)
Иные	1 (1,9)	0	0	1 (1,9)	1 (1,9)	1 (1,9)	0	4 (7,4)
Всего Абс. (%)	4 (7,4)	9 (16,7)	17 (31,5)	11 (20,4)	10 (18,5)	2 (3,7)	1 (1,9)	54 (100)

При сравнении распределения пациентов, получавших различные варианты противорецидивных программ, не было выявлено достоверной разницы по FAB-вариантам ОМЛ ($p=0,3$).

Все пациенты на этапе инициальной диагностики ОМЛ были разделены, согласно стратификации, на три группы риска. В группу стандартного риска включались пациенты с наличием транслокации t(8;21), t(16;16) или инверсии

inv(16). Без учета морфологических вариантов. В группу среднего риска были включены пациенты с морфологическими FAB-вариантами M1, M2, M4; с утратой половой хромосомы или нормальным кариотипом, с вовлечением 11q23, исключая t(10;11), +8, аномалией 3q хромосомы. В группу высокого риска были включены пациенты с FAB M0, M5, M6, M7, ОМЛ с мультилинейной дисплазией без предшествующего миелодиспластического синдрома. При наличии транслокации t(6;9), t(10;11), t(9;22), del(7q-), del(5q-), -7, -5, t(3;5), более 3 хромосомных аномалий исключая стандартные – вне зависимости от FAB-варианта. При наличии более 25% бластов в миелограмме на 15й день индукции ремиссии пациенты стандартного и среднего риска были рестратифицированы в группу высокого риска.

Из 54 пациентов, получивших противорецидивную химиотерапию 5 (9,3%) изначально удовлетворяли критериям группы стандартного риска, 16 (29,6%) - среднего риска и 33 (61,1%) - группы высокого риска (Таблица 2.7).

Таблица 2.7 – Распределение больных в зависимости от групп риска при первичной диагностике ОМЛ и полученной программы терапии индукции второй ремиссии

Программа индукции второй ремиссии	Группа риска			Всего Абс. (%)
	Стандартная	Средняя	Высокая	
2FLA	0	3	8	11 (20,4)
НАМ + флударабин, вепезид	3	3	13	19 (35,2)
НАМ + FLA	0	6	4	10 (18,5)
FLA + азацитидин	2	4	4	10 (18,5)
Иные	0	0	4	4 (7,4)
Всего Абс. (%)	5 (9,3)	16 (29,6)	33 (61,1)	54 (100)

При сравнении распределения пациентов, получавших противорецидивную программу индукции второй ремиссии, не было выявлено достоверной разницы в зависимости от инициальной группы риска ОМЛ ($p=0,1$), однако в два раза больше пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ оказалось в группе с инициально высоким риском (61,1%).

Среди 54 детей с р/р ОМЛ, получивших противорецидивное лечение у 11 пациентов (20,4%) была первично рефрактерная форма ОМЛ. Из 43 пациентов с рецидивом ОМЛ у 27 (50,0%) - ранний рецидив (возникший в течении 18 месяцев от начала индукции), у 16 (29,6%) пациентов - поздний (возникший после истечения 18 месяцев от начала индукции).

По локализации у большинства больных ($n=40$) был изолированный костномозговой рецидив (93,0%). Костномозговой рецидив в сочетании с поражением центральной нервной системы был диагностирован у 3 пациентов (7,0%).

Среди пациентов с первично рефрактерным ОМЛ ($n=10$) четверо больных были с сочетанным поражением костного мозга и центральной нервной системы, у одного из них помимо поражения костного мозга и центральной нервной системы были поражены десны, у остальных пациентов ($n=6$) проявление ОМЛ было диагностировано только в костном мозге.

Распределение пациентов с рецидивами ОМЛ в зависимости от времени возникновения и локализации рецидива представлено в таблице 2.8.

Таблица 2.8 – Распределение больных с рецидивами ОМЛ, в зависимости от срока развития и локализации рецидива

Локализация	Рецидив				Всего	
	Ранний		Поздний			
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
КМ	24	55,8	16	37,2	40	93,0
КМ + ЦНС	3	7,0	0	0	3	7,0
Всего	27	62,8	16	37,2	43	100

Лечение по программе 2FLA получили 11 больных, среди них: ранний рецидив был у 7 (63,6%), поздний – у 3 детей (27,3%), один из пациентов (9%) был с изначально рефрактерным течением ОМЛ. У 2 пациентов (18,2%), развивших в последующем рецидив заболевания, исходно ОМЛ являлся второй опухолью. У всех 11 пациентов (100%) было изолированное поражение КМ, без экстрамедуллярных поражений.

Среди больных, которые получали лечение по программе FLA + азациитидин (n=10), ранний рецидив был у 7 (70,0%), поздний - у 2 детей (20,0%), один пациент (10%) был с первично рефрактерным течением ОМЛ у него же было инициальное поражение ЦНС и в анамнезе первичное заболевание остеосаркома (+1 год ремиссии). У остальных пациентов (n=9) было изолированное поражение КМ. В этой группе у троих пациентов (30,0%), получивших индукцию второй ремиссии ОМЛ, был второй опухолью.

Среди больных (n=12), которые получали лечение по программе НАМ + флударабин + вепезид, ни одного пациента со вторичным ОМЛ не было. Трое пациентов (25,0%) с первично рефрактерной формой ОМЛ. Ранний рецидив был у 4 (33,3%), поздний - у 5 детей (41,7%). У всех пациентов (n=12) было поражение КМ. В 3 (25%) случаях отмечено сочетание поражения КМ и ЦНС, у одного из пациентов также отмечалось поражение десен.

Среди больных (n=9), которые получали лечение по программе НАМ + FLA, один пациент со вторичным ОМЛ. Двое пациентов с первично рефрактерной формой ОМЛ. Ранний рецидив был у 4 пациентов (44,4%), поздний - у 3 детей (33,3%). У всех пациентов (n=9) было изолированное поражение КМ без экстрамедуллярных проявлений ОМЛ.

Четверо больных получили отличную от стандартных схем терапию, из них трое пациентов со вторичным ОМЛ, двое из них с ранним рецидивом, один с рефрактерной формой ОМЛ, они в первую линию ПХТ получили азациитидин. Один пациент с ранним рецидивом, наличием транслокации t(9;11); *MLL AF9* получил первым курсом комбинацию FLA + идарубицин (бласты в КМ после первого блока ПХТ составляли 85%), а вторым курсом получил сочетание

бортезомиба с цитарабином, клофарабином и даунорубицином. У двух пациентов было изолированное поражение КМ. У 2 других из 4 пациентов - поражение КМ сочеталось с ЦНС-поражением.

Из 54 пациентов цитогенетическое исследование КМ было проведено 30 (55,6%) пациентам, что представлено в таблице 2.9.

Полученные результаты цитогенетического исследования опухолевых клеток у пациентов с рецидивом и рефрактерной формой ОМЛ показывают высокую гетерогенность этого заболевания.

Таблица 2.9 – Распределение больных в зависимости от цитогенетических аномалий

Цитогенетическая абберация/кариотип	Абс.	%
46XX/46XY	22	73,3
45XY	2	6,7
47XY	3	10,0
t(3;12)	1	3,3
t(9;11)	4	13,3
t(1;9)	1	3,3
t(8;21)	4	13,3
t(11;16)	1	3,3
t(11;19)	2	6,7
t(10;11)	2	6,7
inv(16)	1	3,3
AML/ETO	2	6,7
MLL/AF9	3	10,0
MLL/AF10	1	3,3

Несмотря на продемонстрированную гетерогенность, нормальный кариотип встречался в преобладающем большинстве случаев (73,3%) рецидивов и рефрактерных форм ОМЛ.

2.4. Оценка эффективности терапии

- Безрецидивная выживаемость (БРВ) – интервал времени от начала лечения до прогрессирования болезни, развития повторного рецидива.
- Бессобытийная выживаемость (БСВ) – интервал времени от даты начала лечения до любого события (прогрессирование во время лечения, отсутствие ремиссии после завершения лечения, осложнения, приведшего к прекращению терапии, повторный рецидив, смерть от любой причины).
- Общая выживаемость (ОВ) - интервал времени от начала лечения до смерти больного или последней даты наблюдения.

2.5. Статистическая обработка данных

Оценка параметрических данных проводилась посредством сравнения средних величин с использованием коэффициента Стьюдента. Разница считалась значимой при $p < 0,05$.

Непараметрические данные сравнивались при помощи построения таблиц сопряженности признаков с использованием критерия χ^2 Пирсона или точного критерия Фишера. Разница между группами считалась достоверной при $p < 0,05$.

Оценка вероятностной выживаемости проводилась при помощи построения кривых по методу Kaplan-Meier. Сравнение кривых выживаемости проводилось по методу log-rank. Разница между кривыми считалась достоверной при $p < 0,05$.

ГЛАВА III. ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОФЕНОТИПА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТОК ПРИ РЕЦИДИВЕ ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ

Острый миелоидный лейкоз — крайне гетерогенное злокачественное заболевание гемопоэтической ткани, при котором происходит клональная экспансия аномальных предшественников миелопоэза в костном мозге, крови, печени, селезенке и, реже, — в некроветворных органах. Для ОМЛ достаточно часто характерны рецидивы, в основе которых лежит формирование резистентного к противоопухолевому лечению субклона. Частота рефрактерных случаев при ОМЛ составляет 3–19%, рецидивов — до 40% [110]. Развитие рефрактерности и рецидива ОМЛ может быть обусловлено персистенцией остаточных опухолевых клеток — минимальной остаточной болезни (МОБ) и формированием резистентных лейкоэмических субклонов.

В 2017 г. ELN (European Leukaemia Net) дополнили понятие полной ремиссии для больных ОМЛ — «полная ремиссия с отсутствием МОБ». МОБ (негативный статус) констатируется при неопределяемой остаточной популяции лейкоэмических клеток высокочувствительными методами, такими как полимеразная цепная реакция (ПЦР) и многопараметрическая проточная цитометрия [111, 112]. Дальнейшие исследования были направлены на определение роли МОБ в прогнозе исходов терапии при ОМЛ, показано, что количественные значения МОБ определяют долгосрочные результаты лечения. В настоящее время для определения МОБ широко применяются два метода: количественная ПЦР и многоцветная проточная цитофлуориметрия. С учетом обнаруживаемых молекулярно-генетических транскриптов, у 40% пациентов возможен молекулярный мониторинг МОБ методом ПЦР. К удобным и клинически используемым мишеням для ПЦР-детекции МОБ относят *NPM1*, *RUNX1-RUNX1T1*, *t(8;21)(q22;q22)*, *CBFB-MYH11* или *PML-RARA* на различных этапах программного лечения. Чувствительность метода ПЦР при определении данных мутаций методом ПЦР достигает 10^{-6} . Многие другие мутации (*FLT3-ITD*,

FLT3-TKD, NRAS, KRAS, DNMT3A, ASXL1, IDH1, IDH2, MLL-PTD GATA2, CEBPA) не являются надежными мишенями для детекции МОБ в связи с недостаточно достоверной корреляцией с течением заболевания.

Проточная цитометрия – наиболее используемый метод диагностики МОБ, в его основе лежит применение диагностических панелей, рекомендованных консорциумом Euroflow. Метод позволяет выявить aberrантный иммунофенотип лейкоэмических клеток («лейкоз-ассоциированный иммунофенотип»), используемый в дальнейшем для определения остаточной популяции лейкоэмических бластов. Иммунологическая aberrантность лейкоэмических миелобластов не является константной характеристикой и в рецидиве ОМЛ изменяется. Данный феномен получил название «иммунологический сдвиг». Результаты исследований, анализирующих иммунологический портрет бластной популяции клеток изначально и в рецидиве ОМЛ, показали, что у 80-98% больных отмечаются различия в спектре антигенов на лейкоэмической клетке [113-117]. В основе «иммунологического сдвига» лежат антигенная лабильность инициального лейкоэмического клона, а также возможность развития бластных клеток при рецидиве ОМЛ из минорного субклона, который существовал в дебюте заболевания. Не исключается возможность появления нового клона бластных клеток, полностью отличного от первичной опухолевой популяции по цитогенетическим и иммунологическим характеристикам.

В настоящей работе проведен сравнительный анализ первичного иммунофенотипа ОМЛ и у тех же больных при развитии рецидива заболевания. Сопоставить данные иммунофенотипирования бластных клеток удалось у 26 (48%) из 54 пациентов (возраст от 1 года до 16 лет).

Распределение пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ в зависимости от FAB-варианта представлено в таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Варианты ОМЛ в соответствии с FAB-классификацией, включенные в анализ эволюции иммунофенотипа

FAB-вариант	Количество пациентов	
	Абс.	%
M0	1	3,8
M1	5	19,2
M2	8	30,8
M4	6	23,1
M5	5	19,2
M6	1	3,8
Всего	26	100

Среди больных, включенных в сравнительный анализ иммунофенотипа бластной популяции клеток, преобладали M2- и M4-варианты ОМЛ (30,8% и 23,1%, соответственно).

Сопоставление антигенного спектра лейкемических бластов при инициальной диагностике и в рецидиве ОМЛ показало, что в 21 (80,7%) из 26 случаев происходит изменение «иммунологического портрета» бластных клеток (Таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Частота экспрессии антигенов при инициальной диагностике и в рецидиве ОМЛ

Антиген	Инициальная диагностика		Рецидив	
	Абс.	%	Абс.	%
CD4	2/25	8,0	2/16	12,5
CD7	6/26	23,1	6/26	23,1
CD10	1/25	4,0	1/23	4,3
CD13	19/26	73,1	16/25	64,0
CD19	7/26	26,9	3/26	11,5
CD33	21/25	84,0	24/25	96,0

Продолжение таблицы 3.2

CD34	17/23	73,9	15/25	60,0
CD38	13/16	81,3	21/23	91,3
CD56	8/16	50,0	7/18	38,9
CD61	1/18	5,6	0/18	0
CD64	7/21	33,3	6/21	28,6
CD117	9/10	90,0	11/11	100
HLA-DR	24/26	92,3	23/26	88,5

Антиген CD13 (аминопептидаза N) является трансмембранным гликопротеином. Эта металлопротеиназа участвует в белковом обмене и обнаруживается на поверхности большинства клеток миелоидного происхождения, включая нейтрофилы, эозинофилы, базофилы и моноциты, а также на части клеток-предшественников. Антиген CD13 не определяется Т- и В-лимфоцитах, а также эритроцитах и тромбоцитах.

Экспрессия антигена CD13 в рецидиве ОМЛ была достоверно ассоциирована с первичным иммунофенотипом (точный критерий Фишера, $p = 0,012$). Так, при наличии антигена в дебюте заболевания (73,1%) экспрессия в рецидиве отмечалась в 64,0% случаев.

Анализируя изменение экспрессии антигена CD56, было показано, что при его инициальном отсутствии, он не определялся и в рецидиве ОМЛ: у 87,5% пациентов, у которых антиген отсутствовал при инициальной диагностике, он отсутствовал и в рецидиве. В то же время при наличии экспрессии CD56 в дебюте его экспрессия сохранялась и в рецидиве: в 38,9% случаев наличия антигена CD56 при инициальной диагностике его экспрессия определялась и в рецидиве (ассоциация достоверна, $p = 0,041$). Подобная тенденция отмечена и для антигена CD64: отсутствие, как и наличие CD64 на бластах при диагностике достоверно чаще оставалось таковым при рецидиве, $p = 0,006$.

Для антигена CD7 также имела место ассоциация экспрессии при диагностике и в рецидиве ОМЛ ($p = 0,013$).

Антиген CD19 (мембранный гликопротеин I типа, выполняющий функции сигнальной трансдукции), при его наличии на лейкемических бластных клетках в дебюте ОМЛ, в рецидиве чаще отсутствовал ($p = 0,167$).

Экспрессия антигенов CD33 (общимиелоидный маркер), CD34 (стволовоклеточный антиген), CD4, HLA-DR и CD38 при инициальной диагностике ОМЛ не была достоверно связана с экспрессией в рецидиве ($p > 0,05$).

Антиген CD10 был экспрессирован при инициальной диагностике на части бластных клеток только у одного пациента; эта экспрессия сохранялась и в рецидиве ОМЛ.

Антиген CD117 экспрессировался во всех случаях рецидива ОМЛ и характеризовался стойкой экспрессией на этапе первичной диагностики (отсутствовал лишь у одного пациента). Данный антиген представляет собой трансмембранный тирозинкиназный рецептор, который кодируется протоонкогеном *c-kit*. Лигандом к этому рецептору является фактор стволовых клеток (также известный как лиганд *kit* или фактор роста тучных клеток). CD117 является одним из специфичных маркеров для опухолевых миелобластов; данный антиген входит в современные панели диагностики и определения МОБ при ОМЛ [116-117].

Полученные результаты позволили констатировать факт изменения иммунофенотипа опухолевых клеток у 21 пациента (80,7%) с ОМЛ; у 9 из них изменилась экспрессия лишь одного антигена. Наиболее «стабильными» (характерными и для первичной диагностики, и рецидива ОМЛ) оказались следующие антигены: CD13, CD56, CD64, CD7, CD117. Данный спектр антигенов позволяет формировать иммунологическую панель для определения МОБ, как для оценки ответа на терапию индукции, так и на поздних сроках лечения и по его завершении.

По результатам научных исследований, данные о частоте изменений антигенного профиля бластов при рецидиве ОМЛ, в сравнении с дебютом

варьируют в широких пределах от 37,5 до 91% [111-113]. Изменения антигенного спектра лейкоэмических бластов существенно затрудняют констатацию ремиссии и оценку МОБ. В исследовательской работе Voskova D. проанализирована частота изменений «лейкоз-ассоциированный иммунофенотипа» у взрослых больных при первичной диагностике и в рецидиве ОМЛ. Автор использовала методы проточной цитометрии, цитоморфологии, цитогенетики и молекулярной генетики. Среди 49 пациентов у 37 (76%) по крайней мере один «лейкоз-ассоциированный иммунофенотип», обнаруживаемый при постановке диагноза, сохранялся при рецидиве; у 12 пациентов (24%) ни один из исходных «лейкоз-ассоциированных иммунофенотипов» не определялся при рецидиве [114]. M. Ваег и соавт. продемонстрировали, что только в 9% случаев рецидива выявляется идентичный первичному иммунофенотип бластных клеток [115].

Таким образом, в связи с частыми изменениями антигенов бластов при ОМЛ, показано исследование широкой панели антител для мониторинга популяций остаточных опухолевых клеток в костном мозге. При возможности, для обеспечения большей точности определения МОБ следует сочетать методы детекции МОБ (проточную цитометрию и ПЦР), поскольку частота появления новых цитогенетических и молекулярно-биологических событий при рецидивах ОМЛ достаточно высока и составляет около 56%. Близкие к этим данные были получены в работе W. Сui и соавт., где изучались изменения антигенов опухолевых клеток у 47 взрослых пациентов при рецидивах ($n = 25$) и рефрактерных ($n = 22$) ОМЛ. Было показано, что изменения «лейкоз-ассоциированного иммунофенотипа» произошли у 74% пациентов. Наиболее часто изменялась экспрессия антигена CD13, менее вариабельной оказалась экспрессия CD33, CD56, CD7, CD4 и CD11b. Но не только иммунологические и молекулярно-генетические изменения происходят при рецидиве ОМЛ, описаны изменения и морфологических характеристик бластных клеток [116]. По данным ряда исследований около 70% пациентов с ОМЛ «теряют» или «приобретают» тот или иной маркер, однако значительные изменения первичного «лейкоз-ассоциированного иммунофенотипа» происходят примерно в 25% случаев

рецидивов ОМЛ. Менее 30% больных в рецидиве ОМЛ сохраняют исходный иммунофенотип. В ходе исследования, проведенного в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России по изучению МОБ в период рецидива и при рефрактерном течении ОМЛ у 3 из 10 пациентов (30%) старше 18 лет было выявлено полное изменение дебютного «лейкоз-ассоциированный иммунофенотип», у остальных пациентов изменения антигенного спектра бластных клеток при ОМЛ были минимальны и основной лейкоз-специфический спектр антигенов оставался прежним [111]. У детей и подростков с рецидивом ОМЛ в большинстве случаев нарастает частота обнаружения антигенов клеток-предшественников (CD34, CD117, HLA-DR) и одновременно снижается экспрессия антигенов зрелых клеток, aberrantная экспрессия которых наблюдалась при инициальной диагностике (CD14, CD11b, CD15). Близкие к этим данные были получены ранее в работе C.Langebrake и соавт.: иммунофенотип в рецидиве отличался от такового в дебюте у 88% пациентов детского возраста с ОМЛ [117]. Данные нашей работы частично согласуются с общемировыми: частота изменения иммунофенотипа опухолевых клеток в рецидиве составила 80,7%. Некоторые из наиболее часто определяющихся на бластных клетках ОМЛ антигены несвойственных линий дифференцировки — Т-линейный антиген CD7, NK-клеточный CD56 — достоверно чаще сохранялись на бластах и в рецидиве. В то же время В-линейный антиген CD19 характеризуется менее стабильной экспрессией и чаще перестает определяться в рецидиве (в 71,4% случаев). Общимиелоидные антигены CD13, CD117, а также моноцитарный антиген CD64 являлись в большинстве случаев стабильной характеристикой иммунофенотипа бластных клеток.

Полученные данные свидетельствуют о стабильной экспрессии ряда антигенов бластных клеток при ОМЛ у детей в рецидиве заболевания, что может служить основой разработки индивидуальных панелей антител для мониторинга минимальной остаточной болезни.

ГЛАВА IV. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ РЕЦИДИВОВ И РЕФРАКТЕРНЫХ ФОРМ ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ

4.1 Частота повторных ремиссий

В работе мы проанализировали данные 54 больных с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ, которые находились под наблюдением в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России с 1997 по 2022 гг. Каждый пациент получил одну из пяти различных схем индукции повторной ремиссии (Таблица 4.1).

Таблица 4.1 – Распределение пациентов, в зависимости от полученной программы терапии индукции второй ремиссии

Программа											
FLA + FLA		НАМ + флударабин, вепезид		НАМ + FLA		FLA + азацитидин		Иные схемы		Всего	
Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
11	20,4	19	35,2	10	18,5	10	18,5	4	7,4	54	100

Большинство, 50 (92%) пациентов получили режимы терапии второй линии, с применением флударабина. Четверо (8%) пациентов получили иные схемы терапии, включавшие: бортезомиб, цитарабин, L-аспарагиназу, даунорубицин. Ответ на лечение оценивался по данным цитологического анализа костного мозга на 15 день от начала первого курса ПХТ. Среди 54 пациентов не получили следующий курс индукции второй ремиссии 2 (3,7%) пациентов, которые погибли после первого курса терапии (одному пациенту после курса НАМ планировалось проведение ПХТ по схеме FLA, но до начала второго курса он погиб вследствие прогрессирования заболевания. Второму пациенту планировалась иная схема

индукции второй ремиссии, но он погиб от сепсиса, вызванного *Pseudomonas aeruginosa*, после терапии азациитидином). Остальные 52 пациента, несмотря на полученный ответ на лечение после первого курса индукции второй ремиссии, получили второй курс ПХТ, согласно данным, представленным в таблице 4.1.

Из 54 пациентов, включенных в исследование у 36 (66,6%) был достигнут второй полный (M-1) клинико-гематологический ответ после первого курса, у 13 (24,1%) пациентов был отмечен M-2 ответ, 1 (1,8%) пациент из числа случаев с M-2 ответом – погиб от сепсиса; среди 5 (9,3%) пациентов с M-3 ответом после первого курса противорецидивной ПХТ (количество бластов в костном мозге составляло 27- 69%), у одного (1,8%) пациента с количеством бластов в костном мозге 69% произошло прогрессирование заболевания и летальный исход до проведения второго противорецидивного курса индукции повторной ремиссии.

Следующий курс терапии индукции второй ремиссии был проведен 52 (96,3%) пациентам.

Результаты цитологического ответа по костному мозгу после первого и второго курсов представлены в таблице 4.2.

Таблица 4.2 – Результаты цитологического ответа по костному мозгу после первого и второго курсов терапии индукции второй ремиссии

1 курс	Абс.	%	Смерть после 1 курса	%	2 курс	Абс.	%	Смерть после 2 курса	%
M-1	36	66,6	-	0	M-1	29	55,7	4	7,7
M-2	13	24,1	1	1,8	M-2	11	21,2	1	1,9
M-3	5	9,3	1	1,8	M-3	12	23,1	11	21,2
Всего	54	100	2	3,6	Всего	52	100	16	30,8

Среди 36 пациентов с М-1 ответом после первого курса противорецидивной ПХТ, только у 25 (69,4%) удалось сохранить полный ответ после завершения второго курса, у 9 (25,0%) отмечен М-2 ответ, у 2 (5,6%) произошло прогрессирование ОМЛ.

Из 13 больных с М-2 ответом после первого курса терапии индукции второй ремиссии 1 (7,7%) пациент погиб от инфекционных осложнений, 3 (23,1%) достигли М-1 ответа после второго курса терапии, 1 (7,7%) пациент сохранил М-2 ответ и в 8 (61,5%) случаях отмечено прогрессирование ОМЛ.

Среди 5 пациентов с М-3 ответом после первого курса ПХТ: 1 пациент погиб от прогрессии заболевания на 17 день от начала противорецидивной терапии, 1 пациент достиг полного клинико-гематологического ответа, 1 - частичного (М-2) ответа, 2 пациентов так и не достигли ремиссии.

При анализе частоты достижения ответа (М-1/М-2 ответ по костному мозгу) на второй курс индукции второй ремиссии в зависимости от возраста установлено, что среди 6 пациентов в возрасте от 1,1 до 3 лет пятеро (83,3%) достигли полного клинико-гематологического ответа после второго курса противорецидивной ПХТ, у одного (16,7%) пациента клинико-гематологический ответ был частичный.

При оценке ответа на проводимую терапию в зависимости от возраста, оказалось, что среди 14 пациентов в возрасте от 3,1 до 7 лет у 6 (42,9%) пациентов был получен полный клинико-гематологический ответ, 3 (21,4%) пациентов достигли частичного клинико-гематологического ответа (М-2), 5 (35,7%) пациентов не вышли в ремиссию по завершении терапии индукции второй ремиссии.

Из 24 пациентов в возрасте от 7,1 до 14 лет, 13 (54,2%) пациентов получили полный клинико-гематологический ответ после следующего курса индукции второй ремиссии, у 6 (25,0%) пациентов был достигнут частичный клинико-гематологический ответ (М-2), 5 (20,8%) пациентов ремиссии не достигли.

Среди 8 пациентов в возрастной группе старше 14 лет достигли полного клинико-гематологического ответа 5, у 1 пациента был получен частичный

клинико-гематологический ответ, у 2 пациентов ремиссии достичь не удалось ($p=0,3$).

Частота достижения ответа среди 52 пациентов, получивших второй курс индукции второй ремиссии представлена в таблице 4.3.

Таблица 4.3 - Частота достижения ответа после второго курса индукции второй ремиссии при рецидивах и рефрактерных формах ОМЛ в зависимости от возраста пациентов

Данные		Возраст, лет				Всего
		1,1-3	3,1-7	7,1-14	>14,1	
Ответ после 2 курса ПХТ	М-1	5 83,3%	6 42,9%	13 54,2%	5 62,5%	29
	М-2	1 16,7%	3 21,4%	6 25,0%	1 12,5%	11
	М-3	0	5 35,7%	5 20,1%	2 25,0%	12
Всего		6	14	24	8	52 100%

У пациентов в возрастной группе от 1 года до 3,1 лет отмечен наилучший ответ на терапию: М-1 ответ был достигнут в 83,3%, тогда как в группе больных подросткового возраста (старше 14 лет) М-1 ответ был отмечен в 62,5% ($p=0,3$).

При первичной диагностике ОМЛ все пациенты, в зависимости от риска развития рецидива или рефрактерного течения заболевания, были разделены на три прогностические группы. Среди 54 пациентов, в дальнейшем получивших противорецидивную терапию только 5 (9,3 %) изначально были включены в благоприятную (стандартную) группу риска, 16 (29,6%) пациентов – в группу среднего риска. В подавляющем большинстве случаев пациенты были отнесены в изначально высокую группу прогностического риска – 33 (61,1%). Анализ частоты достижения повторной ремиссии среди 54 пациентов в зависимости от

инициальной прогностической группы риска, показал, что у пациентов, которые были включены в стандартную группу риска, реже отмечались случаи прогрессировали на фоне противорецидивной терапии в сравнении с пациентами из средней и высокой групп риска. Так среди пациентов из стандартной группы риска 4 (80,0%) пациентов достигли клинико-гематологической ремиссии после второго курса ПХТ (3 пациентов достигли М-1 ответа, 1 пациент - М-2 ответа), ремиссии не достиг 1 пациент. Причиной смерти двух пациентов, достигших клинико-гематологического ответа (М-1 ответ, М-2 ответ), стала внутрибольничная пневмония возбудителем которой была *Pseudomonas aeruginosa*. Из 16 пациентов, первично включенных в группу среднего риска, у 9 (56,3%) была достигнута полная клинико-гематологическая ремиссия (М-1 ответ) после второго курса противорецидивной ПХТ, у 3 (18,8%) получен частичный клинико-гематологический ответ, 4 (25,0%) пациента ремиссии не достигли и погибли в результате прогрессии ОМЛ. Среди 33 (61,1%) больных с первично высоким риском развития рецидива, у 17 (51,5%) пациентов был М-1 ответ на противорецидивный курс ПХТ, у 7 (21,2%) - М-2 ответ, 7 (21,2%) пациентов не вышли в ремиссию (Рисунок 4.1).

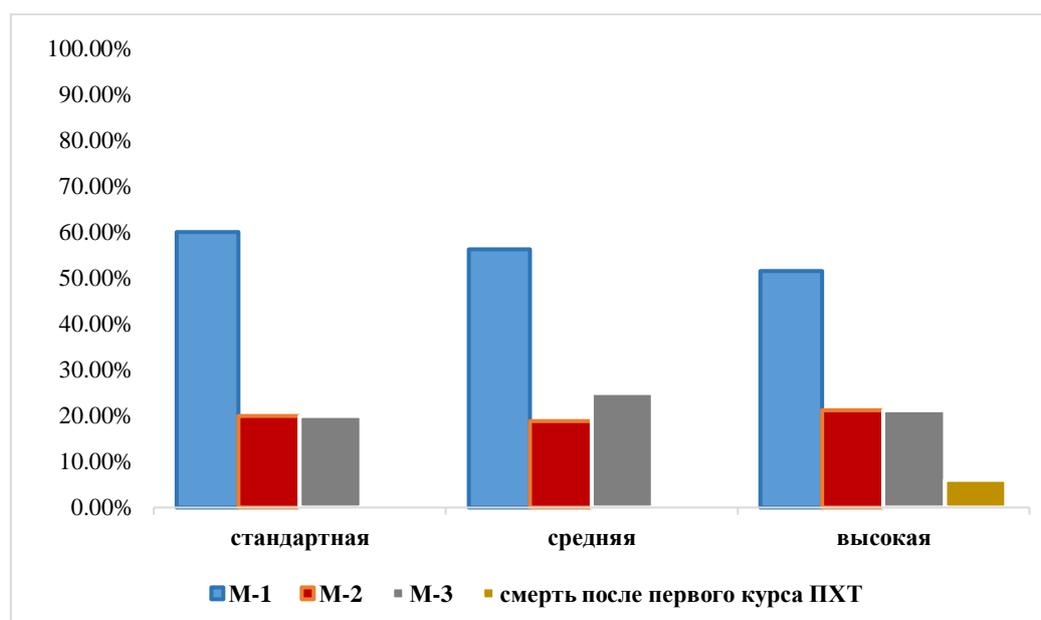


Рисунок 4.1 – Ответ на второй курс индукции повторной ремиссии в зависимости от инициальной группы риска

Причиной смерти 11 (33,3%) пациентов, погибших за время терапии индукции второй ремиссии, стала прогрессия ОМЛ, один пациент (3,0%) погиб от инфекционных осложнений.

Выявлено, что пациенты из изначально стандартной группы риска чаще достигали М-1 ответа (60,0%) после терапии индукции второй ремиссии в сравнении с пациентами из группы среднего риска (М-1 ответ у 56,3%) и пациентами из высокой группы риска (М-1 ответ у 51,5%) ($p=0,01$) (Рисунок 4.1).

В зависимости от длительности первой ремиссии (рефрактерное течение, ранний рецидив – зафиксированный ранее 1,5 лет от начала индукции первой ремиссии, поздний – зафиксированный позднее 1,5 лет от начала индукции первой ремиссии), пациенты ($n=54$) распределились следующим образом: пациентов с ранним рецидивом всего было 27, из них полный клинико-гематологический ответ после второго курса индукции повторной ремиссии получен у 11 (40,7%), у 5 (18,5%) пациентов диагностирован М-2 ответ, а 10 (37,0%) пациентов ремиссии не достигли и в дальнейшем погибли от прогрессии заболевания. Один пациент погиб после первого курса индукции второй ремиссии. Среди пациентов с М-1 ответом, у двоих летальный исход был обусловлен инфекционными осложнениями до проведения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Из 16 пациентов с поздним рецидивом достигли второго полного клинико-гематологического ответа 11 (68,8%) больных, у 4 (25,0%) получен частичный клинико-гематологический ответ, 1 (6,3%) пациент не достиг ремиссии. В этой группе погибли двое больных, не получив трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (1 пациент с М-3 ответом – прогрессирование заболевания, 1 пациент с М-1 ответом – прогрессирование заболевания, несмотря на достижение хорошего ответа на терапию индукции второй ремиссии). Из 11 пациентов с рефрактерным течением 1 (9,1%) пациент погиб после первого курса индукции второй ремиссии, 7 (63,6%) достигли полного ответа после второго курса ПХТ, у 2 (18,2%) пациентов получен М-2 ответ, у 1 (9,1%) пациента ремиссия не достигнута. В результате прогрессии ОМЛ погибло трое пациентов: 1 – с М-3

ответом, 1 пациент с М-2 ответом (родители отказались от ТГСК по религиозным убеждениям) и в 1 случае, несмотря на достигнутый М-1 ответом, непосредственно перед проведением трансплантации гемопоэтических стволовых клеток констатировано прогрессирование ОМЛ (Рисунок 4.2).

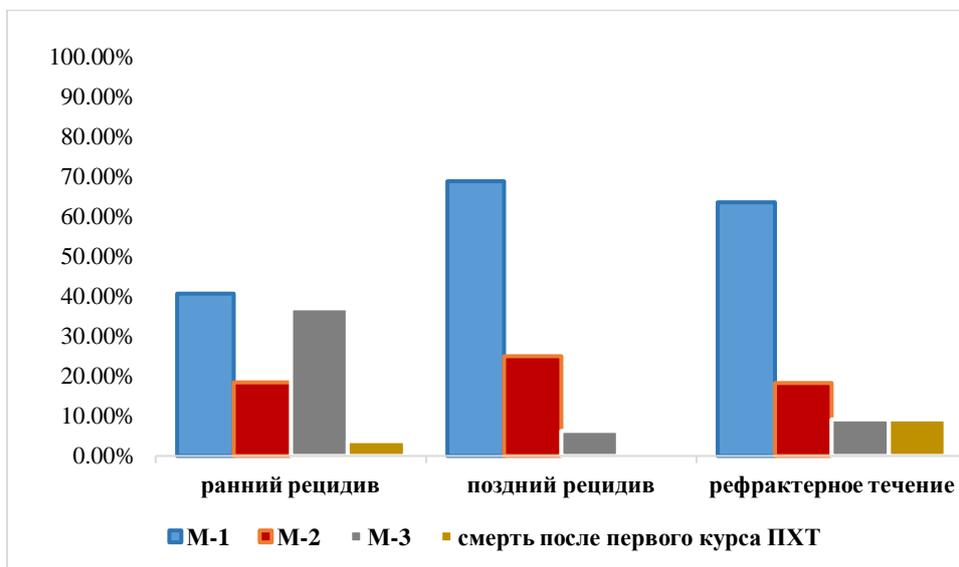


Рисунок 4.2 – Ответ после двух курсов индукции второй ремиссии в зависимости от времени возникновения рецидива

Хотя общее число ответов (М-1+М-2) на терапию второй линии у пациентов с рефрактерными формами (81,8%) и поздними рецидивами (93,8%) оказались существенно выше, чем у пациентов с ранними рецидивами (59,2%), статистическая достоверность не получена ($p=0,1$).

Достижение ответа на второй курс индукции повторной ремиссии в зависимости от морфологического варианта ОМЛ, среди 52 пациентов, распределилось следующим образом: из 3 (5,7%) пациентов с FAB M0 вариантом 2 пациентов достигли полного клинико-гематологического ответа (М-1 ответ), 1 пациент ремиссии не достиг (М-3 ответ). Из 9 (17,3%) пациентов с FAB M1 вариантом ОМЛ – 7 достигли М-1 ответа после второго курса противорецидивной ПХТ, у 1 пациента получен М-2 ответ, в 1 случае ответ на терапию не получен. Среди 17 (32,7%) пациентов с FAB M2 вариантом ОМЛ – 8 (47,1%) пациентов достигли М-1 ответа, 5 (29,4%) – М-2 ответа, 4 (23,5%) пациентов не ответили на

противорецидивную ПХТ (М-3 ответ). Из 10 (19,2%) пациентов с FAB М4 вариантом ОМЛ констатирован М-1 ответ у 5 (50,0%) пациентов, М-2 ответ был у 3 (30,0%) пациентов, у 2 (20,0%) пациентов ремиссии достигнуто не было. Среди 10 (19,2%) пациентов с FAB М5 вариантом ОМЛ после второго курса противорецидивной ПХТ 4 (40,0%) пациентов достигли М-1 ответа, 2 (20,0%) - частичного клинико-гематологического ответа, 4 (40,0%) не ответили на терапию индукции второй ремиссии (М-3 ответ). Двое (3,8%) пациентов с FAB М6 вариантом ОМЛ достигли М-1 ответа, так же достижение М-1 ответа наблюдалось у единственного (1,9%) пациента с FAB М7 вариантом ОМЛ. При расчете частоты достижения повторного клинико-гематологического ответа (М-1, М-2 или М-3 ответ) среди 52 пациентов в зависимости от морфологического подтипа ОМЛ, не выявлено статистической значимости ($p=0,4$).

Несмотря на малое число больных в анализируемых группах (что может объяснить отсутствие статистической достоверности при анализе данных) следует отметить, несколько большую частоту М-1 ответа при терапии индукции второй ремиссии в группах больных с М0, М1, М6 и М7 – вариантами ОМЛ.

Анализ цитогенетических aberrаций в миелоидных опухолевых бластов при ОМЛ проведен 30 больным, у 19 (35,2%) пациентов были выявлены прогностически благоприятные хромосомные аномалии [$t(8;21)(q22;q22)$, $inv(16)(p13.1q22)$ или $t(16;16)(p13.1;q22)$]. В группе пациентов с благоприятными аномалиями 16 (84,2%) больных достигли повторного клинико-гематологического ответа (М-1 ответ – 13 (68,4%), М-2 ответ – 3 (15,8%)), но в 3 (15,8%) случаях ответа достичь не удалось.

Ответ на второй курс индукции повторной ремиссии в зависимости от результатов цитогенетического исследования представлен на рисунке 4.3.

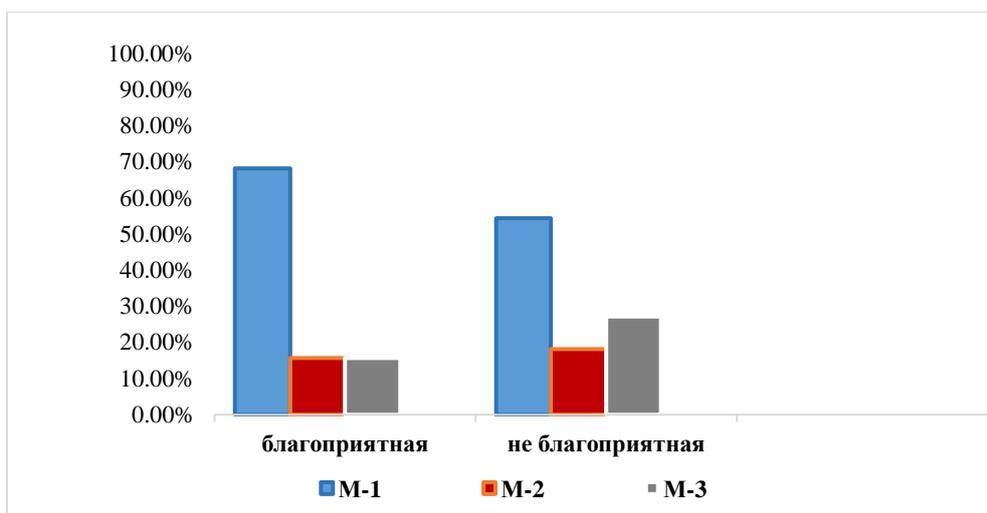


Рисунок 4.3 – Ответ на второй курс индукции повторной ремиссии в зависимости от результатов цитогенетического исследования

Пациенты (n=11; 20,4%) у которых не выявлены благоприятные хромосомные аномалии стратифицированы в группу неблагоприятного прогностического риска. Распределение больных в зависимости от результатов цитогенетического исследования костного мозга отражено в таблице 4.4.

Таблица 4.4 – Результаты цитогенетического исследования у больных ОМЛ из неблагоприятной прогностической группы риска

Транслокация	Число больных	Дополнительно	Число больных
t (1;9)	1	-	-
t (3;12)	1	-	-
t (9;11)	4	MLL/AF9	3
t (10;11)	2	MLL/AF10	1
t (11;16)	1	47 XY	1
t (11;19)	2	-	-

Среди пациентов у кого не было обнаружено прогностически благоприятных хромосомных аномалий 7 (63,6%) пациентов достигли повторного клинико-гематологического ответа (6 – М-1 ответ, 1 – М-2 ответ), у 3 (27,3%) пациентов ремиссии достичь не удалось (p=0,6).

Учитывая данные о достижении ремиссии в зависимости от времени возникновения рецидива и наличия хромосомных аномалий были выделены две группы прогностического риска для рецидивов/рефрактерных форм ОМЛ, с учетом длительности первой ремиссии и цитогенетических aberrаций опухолевого клона клеток. В анализ были включены 30 пациентов, из которых в благоприятную группу вошли 5 (17,2%), из них двое достигли М-1 ответа после второго курса ПХТ, двое пациентов – М-2 ответа, один пациент ремиссии не достиг.

Из 25 больных, которые были включены в группу с неблагоприятным прогнозом, у 17 (68,0%) пациентов была достигнута полная ремиссия (М-1), у 3 (12,0%) пациентов - М-2 ответ, у 5 (20,0%) ремиссии достичь не удалось ($p=0,1$) (Рисунок 4.4).

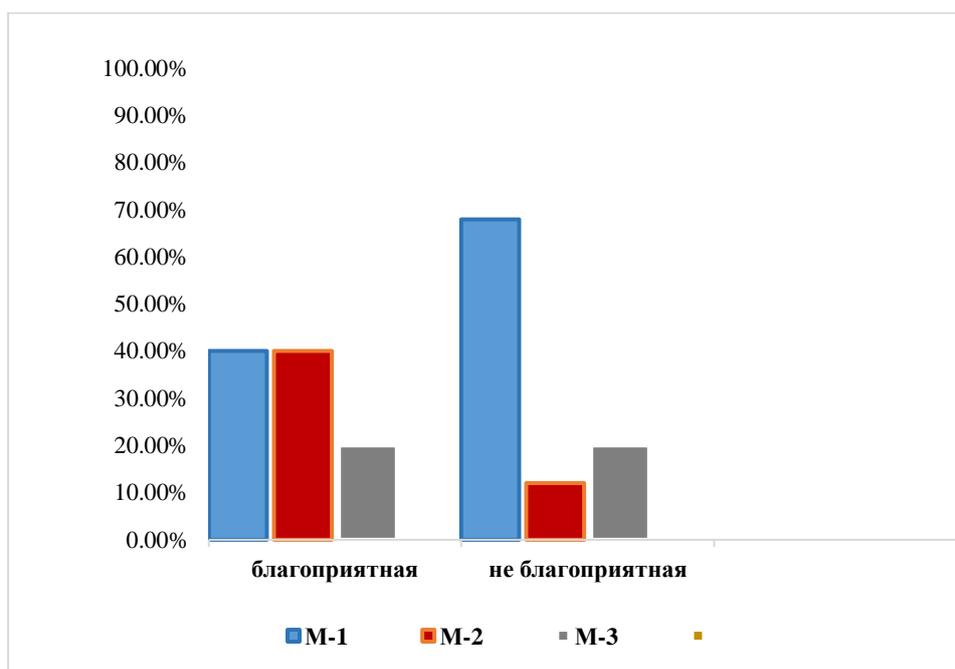


Рисунок 4.4 - Ответ на терапию индукции второй ремиссии при рецидивах и рефрактерных формах ОМЛ в зависимости от прогностической группы риска

В зависимости от применяемой противорецидивной программы ПХТ, результаты ответа на терапию оказались следующими: среди 11 больных получивших программу FLA+FLA (2FLA) был достигнут полный клинико-гематологический ответ (М-1 ответ) у 9 (81,8%) пациентов, 2 (18,2%) пациента

ответа не достигли; из 19 пациентов получивших программу HAM + флударабин + этопозид у 8 (42,1%) был зарегистрирован M-1 ответ, у 6 (31,6%) достигнут частичный клинико-гематологический ответ (M-2 ответ), 5 (26,3%) пациентов не достигли ремиссии; из 10 больных получивших программу HAM + FLA у 4 (40,0%) удалось достичь M-1 ответа, у 4 (40,0%) - M-2 ответ, у 1 (10,0%) – M-3 ответ и 1 (10,0%) пациент погиб на этапе первого курса терапии индукции второй ремиссии; из 10 пациентов получивших программу FLA + азацитидин у 6 (60,0%) удалось достичь M-1 ответа, 1 (10,0%) - M-2 ответ, 3 (30,0%) не ответили на терапию (M-3 ответ); из 4 пациентов получивших иную программу 2 вышли в полную ремиссию после второго курса терапии индукции второй ремиссии, 2 пациентов ремиссии не достигли (у одного пациента развились фатальные инфекционные осложнения) (p=0,1) (Рисунок 4.5).

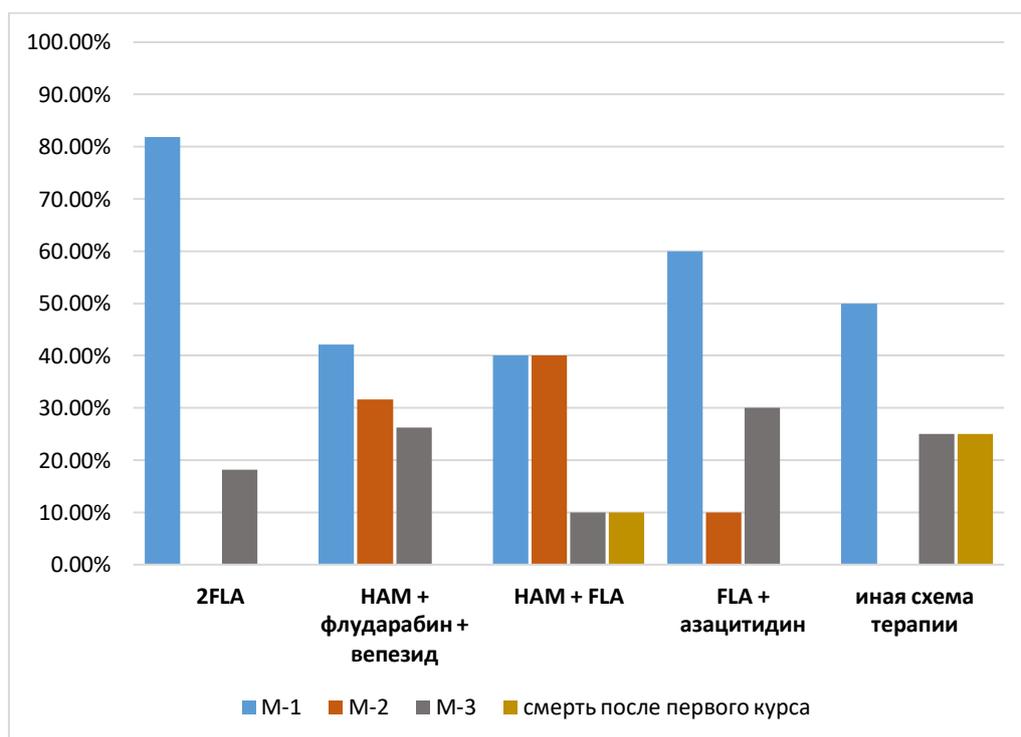


Рисунок 4.5 - Ответ на лечение в зависимости от схемы индукции второй ремиссии у пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ

Среди 54 больных рецидивами и рефрактерными ОМЛ, получивших пять разных программ противорецидивной ПХТ, пациенты после схем 2FLA и HAM +

FLA чаще достигали клинико-гематологического ответа (M-1/M-2 ответ); 81,8% и 80,0% соответственно ($p=0,1$).

При анализе результатов достижения второй ремиссии после первого курса ПХТ, в зависимости от включения эпигенетических препаратов (азацитидин, децитабин, вальпроевая и полностью транс-ретиноевая кислоты) показана достоверная ($p=0,003$) эффективность в достижении M-1/M-2 ответа в группе из 27 пациентов где применялась эпигенетическая терапия: M-1 ответ достигнут у 16 (59,3%) пациентов, M-2 ответ - у 11 (40,7%) пациентов (M-1/M-2 – 100%) в сравнении с группой пациентов ($n=27$) получавших лечение без эпигенетических агентов, где 20 (74,1%) пациентов достигли M-1 ответа, 2 (7,4%) пациентов достигли M-2 ответа (M-1/M-2 – 81,5%) и 5 (18,5%) пациентов ответа не достигли (Рисунок 4.6).

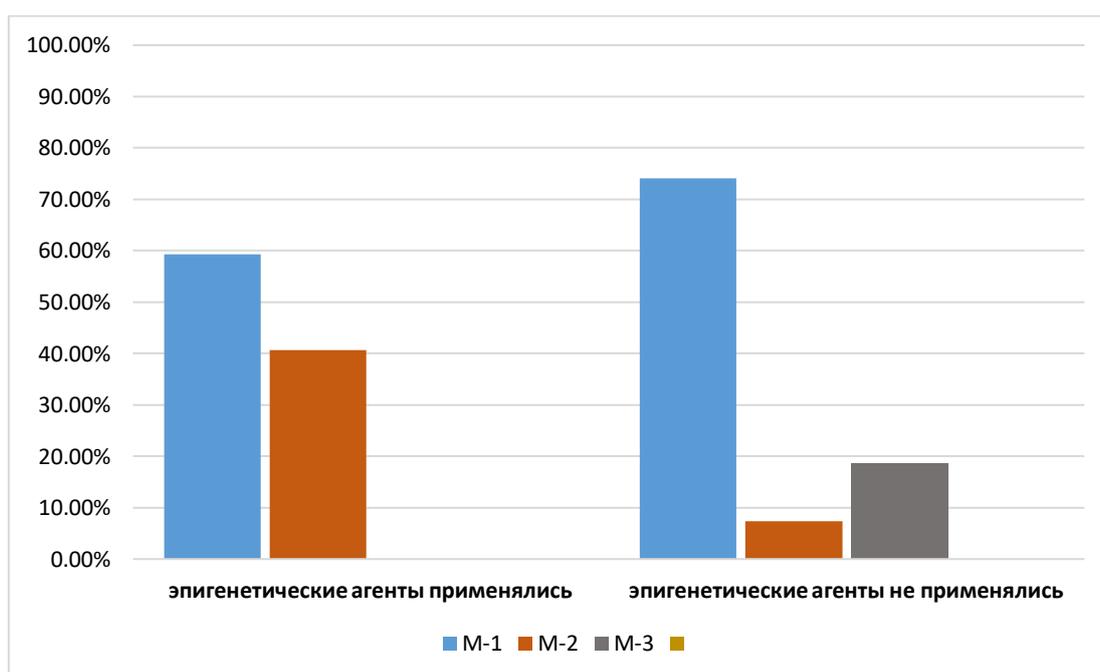


Рисунок 4.6 – Характеристика ответа при рецидивах и рефрактерных ОМЛ в зависимости от применения эпигенетических агентов в терапии индукции второй ремиссии

Таким образом, полученные данные позволяют констатировать, что относительно лучший ответ на терапию при р/р ОМЛ отмечен в младшей возрастной группе, особенно в возрасте от 1 года до 3,1 лет по сравнению с

пациентами от 3,1 до 18 лет ($p=0,3$). Пациенты, изначально включенные в группу стандартного риска при первичном ОМЛ чаще (80,0%) достигали клинико-гематологического ответа (M-1/M-2 ответ) после второго курса противорецидивной ПХТ, чем больные из средней и высокой групп риска ($p=0,001$). Пациенты с поздним рецидивом и с изначально рефрактерной формой ОМЛ чаще достигают второй ремиссии (93,8% и 90,0% соответственно) в сравнении с пациентами с ранним рецидивом (61,5%) ОМЛ ($p=0,1$). Так же выявлено, что на достижение ответа повлияло наличие благоприятных хромосомных аномалий (M-1/M-2 ответ – 84,2%) ($p=0,3$) и выбор программы терапии второй линии. Так, несколько лучше ответ на терапию при рецидивах и рефрактерных формах ОМЛ отмечен при использовании схемы 2FLA (M-1 – 81,8%) и HAM + FLA (M-1/M-2 – 80,0%) ($p=0,1$).

Доказано, что применение эпигенетической терапии позволяет достичь полного и частичного клинико-гематологического ответа после первого курса противорецидивной ПХТ у 100% больных, тогда как при отсутствии эпигенетических агентов в схеме терапии второй линии M-1/M-2 ответы отмечены у 81,5% больных ($p=0,003$).

4.2 Результаты выживаемости

Результаты выживаемости больных рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ определены в группе из 54 пациентов (2 случая летального исхода после первого курса ПХТ учтены в показателях выживаемости).

При определении БСВ пациентов в зависимости от пола оказалось, что у больных мужского пола ($n=32$) БСВ составила $27,5 \pm 8,0\%$ при среднем периоде наблюдения $83,2 \pm 21,9$ мес., женского ($n=22$) – $24,0 \pm 9,3\%$ при среднем периоде наблюдения $60,2 \pm 18,7$ мес. ($p=0,6$).

Результаты БСВ пациентов с р/р ОМЛ в зависимости от пола отражены на рисунке 4.7.

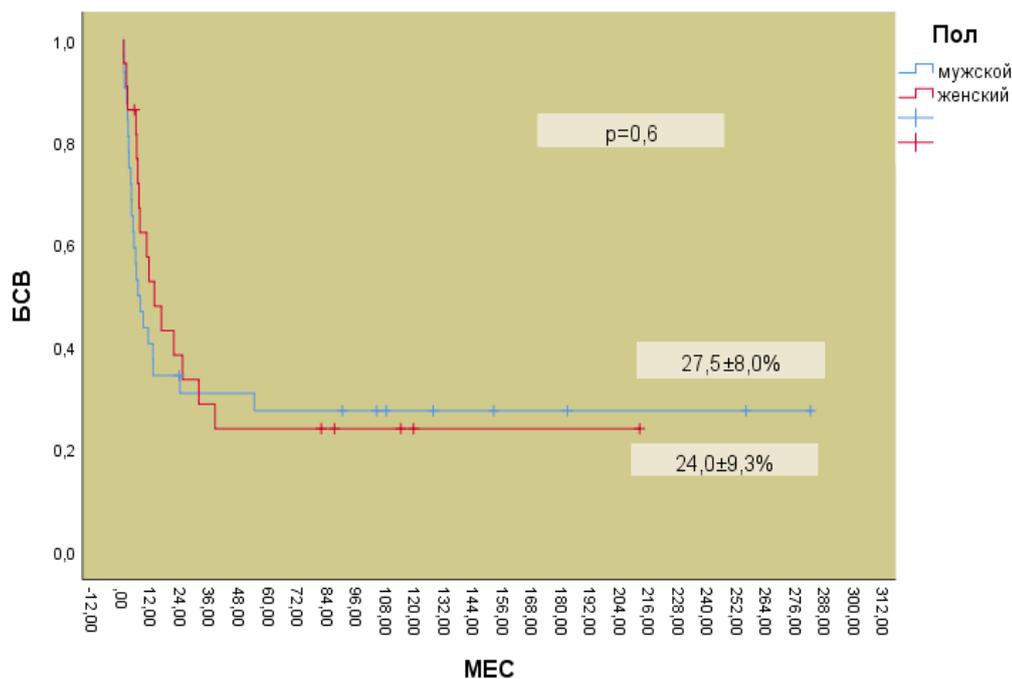


Рисунок 4.7 – БСВ пациентов с рецидивами и рефрактерными ОМЛ в зависимости от пола

Следовательно, пол пациента не являлся фактором, влияющим на показатели БСВ. Аналогичные данные получены при анализе ОВ в зависимости от пола пациента. Так ОВ у мальчиков оказалась $34,4 \pm 8,4\%$ при среднем периоде наблюдения $100,6 \pm 23,1$ мес., у девочек - $27,3 \pm 9,5\%$ при среднем периоде наблюдения $66,9 \pm 19,0$ мес. ($p=0,8$).

При анализе БСВ в зависимости от возраста показано, что у пациентов от 1,1 до 3 лет БСВ составила $57,1 \pm 18,7\%$ при среднем периоде наблюдения $123,7 \pm 38,4$ мес; в возрасте от 3,1 года до 7 лет - $28,6 \pm 12,1\%$, при среднем периоде наблюдения $55,4 \pm 21,4$ мес; у пациентов в возрасте от 7,1 до 14 лет - $20,0 \pm 8,0\%$ при среднем периоде наблюдения $66,3 \pm 21,6$ мес; для пациентов старше 14 лет - $15,6 \pm 14,2\%$ при среднем периоде наблюдения $48,3 \pm 34,8$ мес. ($p=0,5$).

ОВ для пациентов в возрасте от 1,1 до 3 лет составила $57,1 \pm 18,7\%$ при среднем периоде наблюдения $124,1 \pm 38,3$ мес; для пациентов от 3,1 года до 7 лет - $28,6 \pm 12,1\%$, при среднем периоде наблюдения $55,5 \pm 21,4$ мес; больные в возрасте от 7,1 до 14 лет достигали ОВ в $28,0 \pm 9,0\%$, при среднем периоде

наблюдения $86,6 \pm 24,3$ мес; для пациентов старше 14 лет ОВ была $25,0 \pm 15,3\%$, при среднем периоде наблюдения $71,0 \pm 37,7$ мес. ($p=0,5$) (Рисунки 4.8 и 4.9).

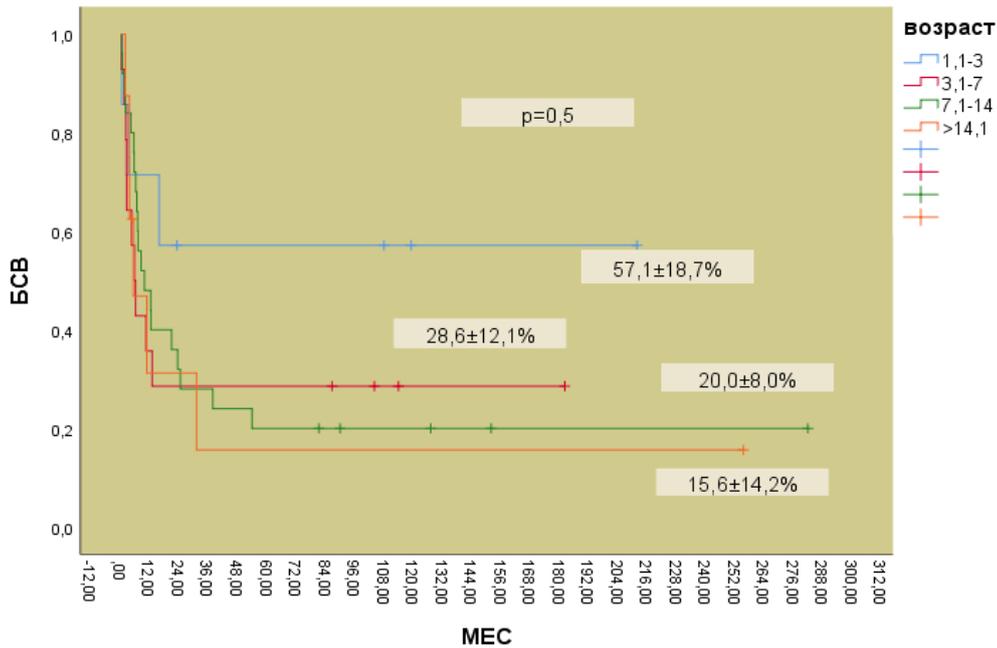


Рисунок 4.8 – БСВ пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ в зависимости от возраста

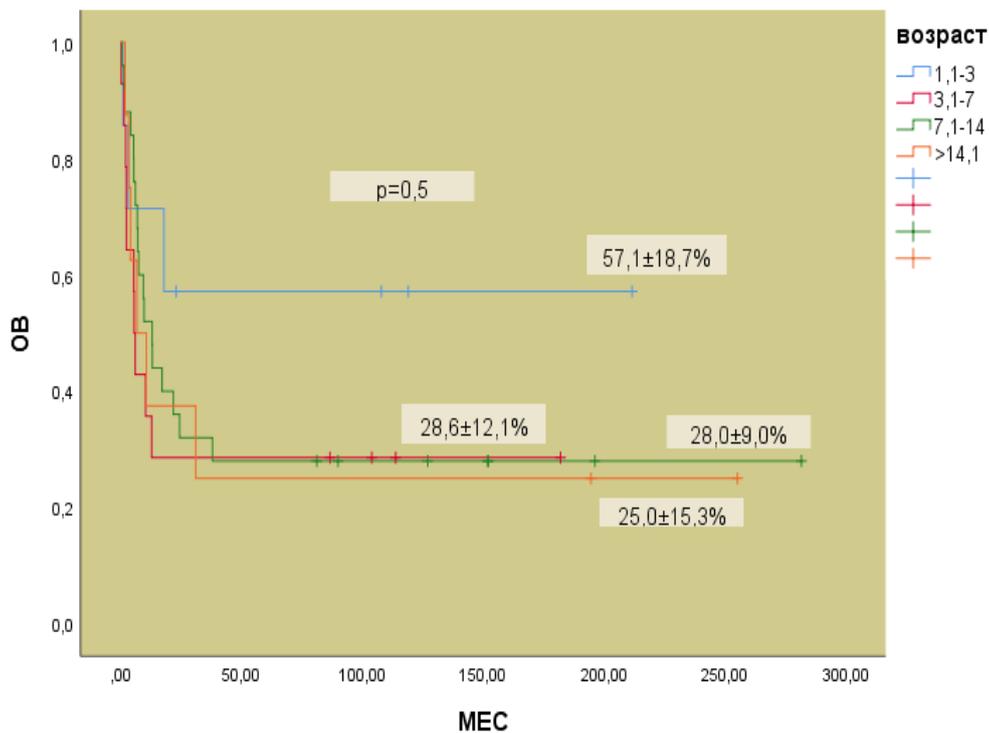


Рисунок 4.9 – ОВ пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ в зависимости от возраста

Следовательно, наилучшие результаты многолетней выживаемости (БСВ/ОВ) были в младшей возрастной группе (от 1,1 до 3 лет), которая составила $57,1 \pm 18,7\%$, по сравнению с пациентами из других возрастных групп (от 3,1 года до 7 лет; от 7,1 до 14 лет; старше 14 лет) ($p=0,5/p=0,5$).

При разделении пациентов на две возрастные группы (младше 14 лет и старше 14 лет) отмечались лучшие, как БСВ, так и ОВ у пациентов младше 14 лет – $27,7 \pm 6,7\%$ при среднем периоде наблюдения $85,1 \pm 18,1$ мес. ($p=0,5$), и $32,3 \pm 6,9\%$ при среднем периоде наблюдения $96,9 \pm 18,9$ мес. ($p=0,7$), соответственно.

У пациентов старше 14 лет БСВ оказалась почти в 2 раза ниже – $15,6 \pm 14,2\%$ при среднем периоде наблюдения $48,3 \pm 34,8$ мес. ($p=0,5$), ОВ – $25,0 \pm 15,3\%$ при среднем периоде наблюдения $71,0 \pm 37,7$ мес. ($p=0,7$) (Рисунки 4.10 и 4.11).

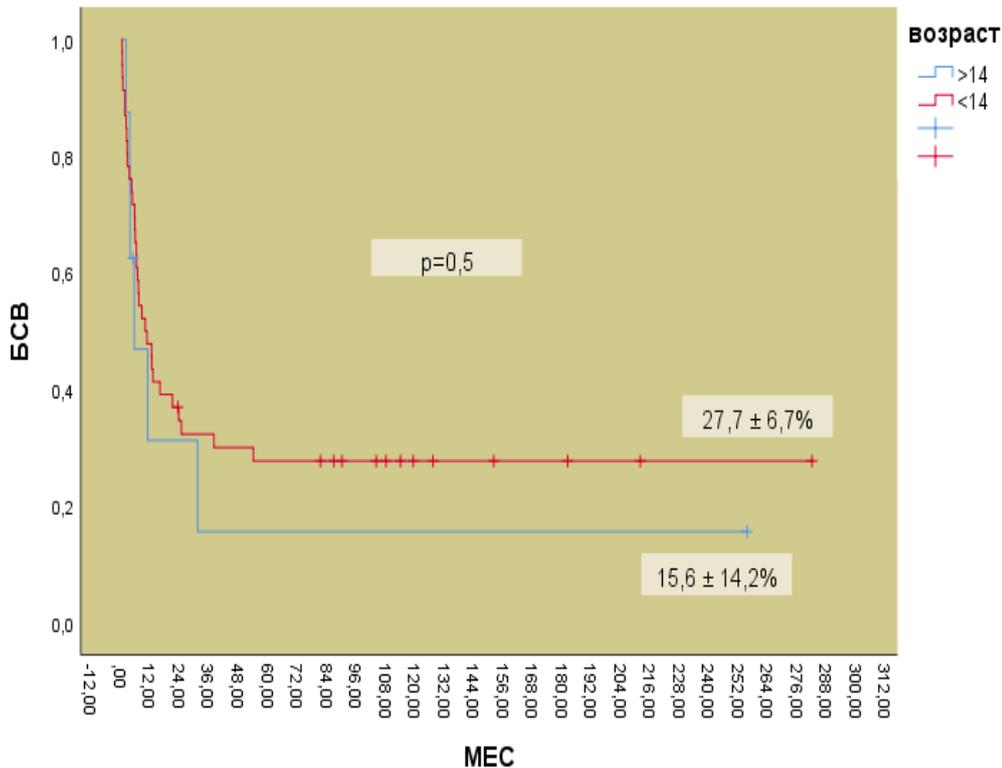


Рисунок 4.10 – БСВ пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ в зависимости от возраста (старше и младше 14 лет)

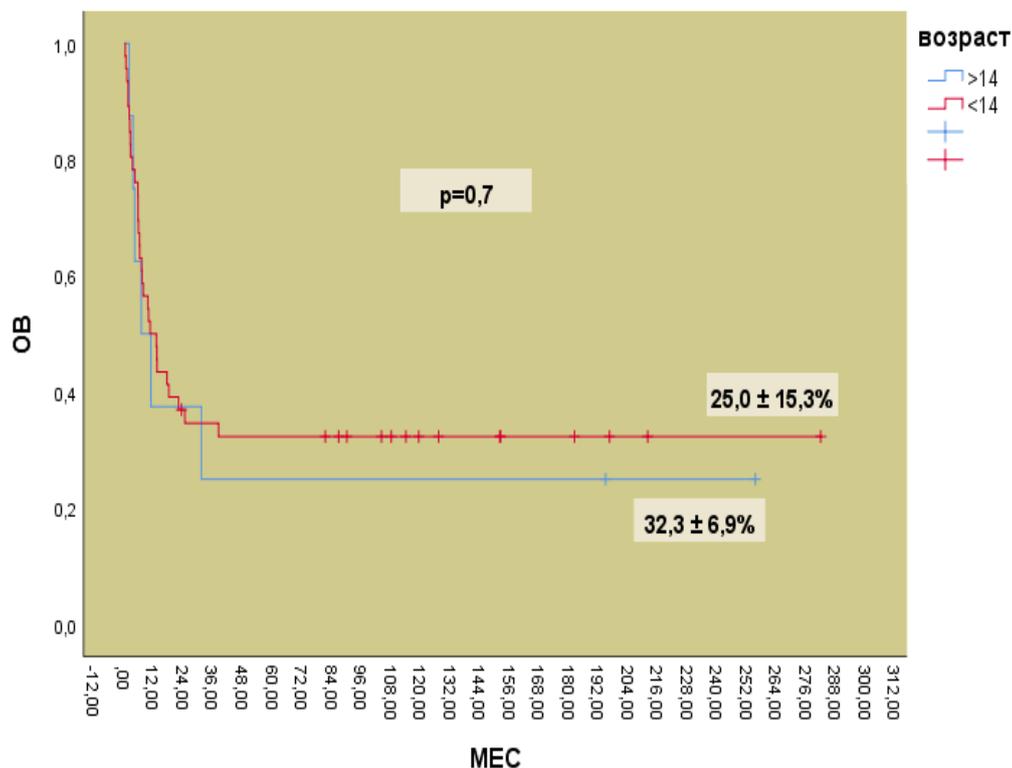


Рисунок 4.11 - ОВ пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ в зависимости от возраста (старше и младше 14 лет)

У пациентов в возрасте от 1,1 до 3 лет отмечается лучшая многолетняя выживаемость по сравнению с больными других возрастных групп: БСВ составила $57,1 \pm 18,7\%$; ОВ - $57,1 \pm 18,7\%$, ($p=0,5/p=0,5$).

При определении БСВ в зависимости от инициальной группы риска установлено, что в стандартной группе риска показатель БСВ оказался 0,0% при среднем периоде наблюдения $8,6 \pm 3,7$ мес; в средней группе риска БСВ составила $27,3 \pm 11,6\%$ при среднем периоде наблюдения $78,6 \pm 28,2$ мес; в высокой группе риска $29,8 \pm 8,1\%$ при среднем периоде наблюдения $89,9 \pm 21,9$ мес. ($p=0,3$).

Результаты выживаемости (БСВ/ОВ) пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ в зависимости от инициальной группы риска отражены на рисунках 4.12 и 4.13.

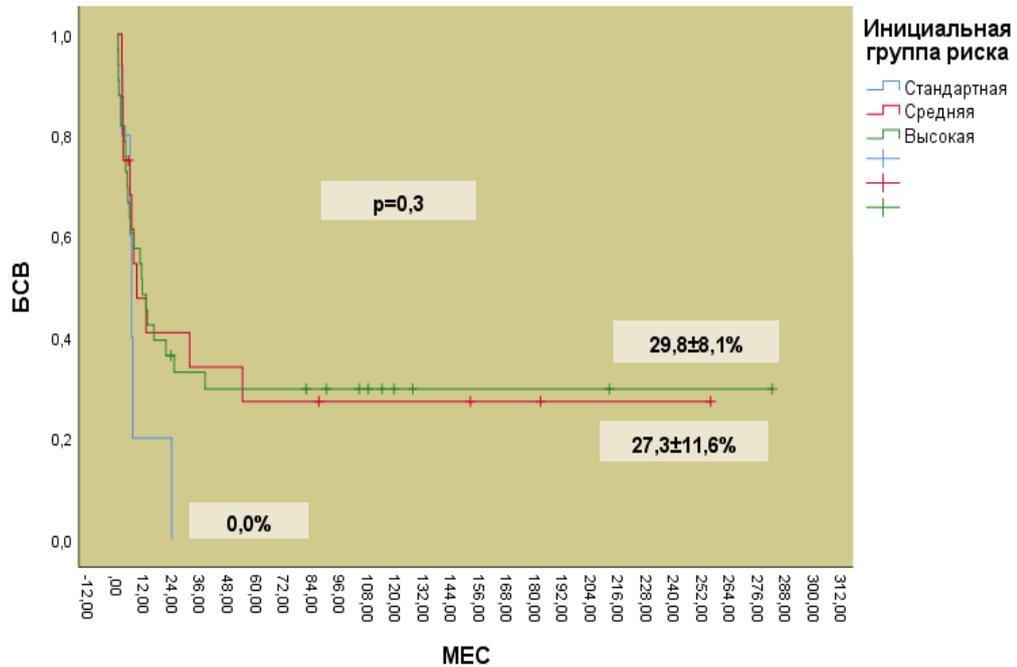


Рисунок 4.12 – БСВ пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ в зависимости от инициальной группы риска

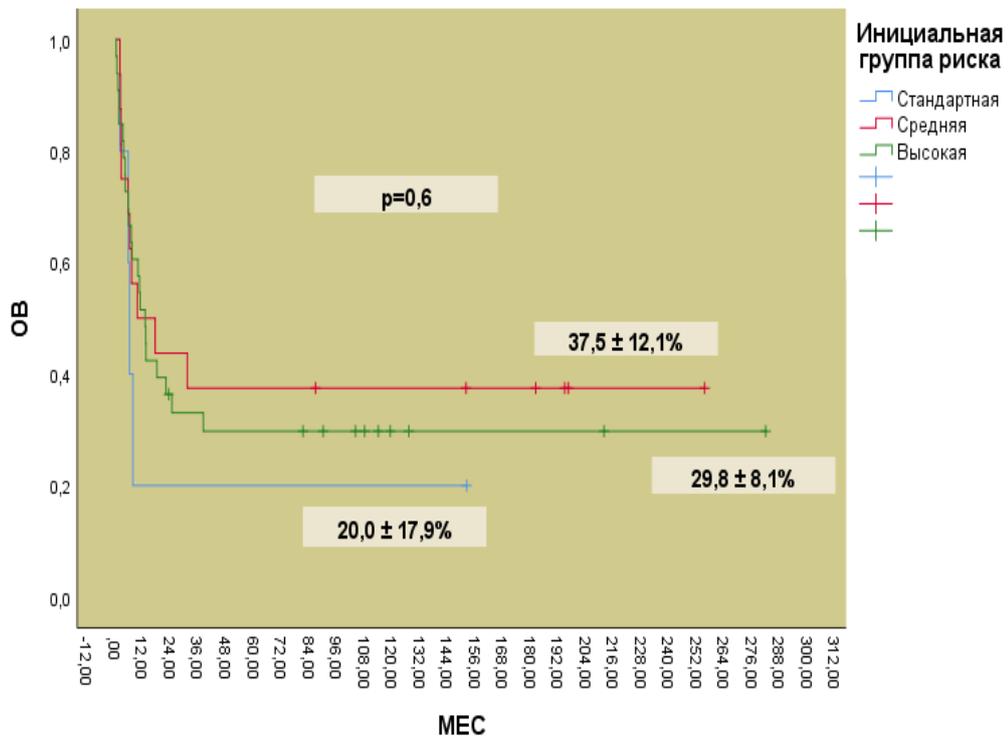


Рисунок 4.13. - ОВ пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ в зависимости от инициальной группы риска

При оценке выживаемости пациентов в зависимости от инициальной группы риска оказалось, что в стандартной группе риска ОВ была $20,0 \pm 17,9\%$ при среднем периоде наблюдения $34,6 \pm 26,3$ мес; в средней группе риска – $37,5 \pm 12,1\%$ при среднем периоде наблюдения $101,0 \pm 29,9$ мес; в высокой группе риска – $29,8 \pm 8,1\%$ при среднем периоде наблюдения $90,6 \pm 21,9$ мес. ($p=0,6$).

Инициальные группы риска не подтвердили своей прогностической значимости ($p=0,3/p=0,6$), при анализе общей и бессобытийной выживаемости пациентов с рецидивами и рефрактерными формами острого миелоидного лейкоза.

Была оценена выживаемость пациентов в зависимости от времени возникновения рецидива.

Пятилетняя БСВ в группе больных с ранним рецидивом ОМЛ составила $17,3 \pm 7,5\%$, с поздним – $26,7 \pm 11,4\%$. Наиболее высокими оказались результаты 5-летней БСВ среди пациентов с инициально рефрактерной формой ОМЛ - $45,5 \pm 15,0\%$. ($p=0,05$).

Пятилетняя ОВ при раннем рецидиве ОМЛ оказалась $17,8 \pm 7,5\%$, позднем – $43,8 \pm 12,4\%$, инициально рефрактерном течении ОМЛ - $45,5 \pm 15,0\%$ ($p=0,02$).

Результаты выживаемости пациентов с р/р ОМЛ в зависимости от времени возникновения рецидива отражены на рисунках 4.14 и 4.15.

Статистически достоверно выявлено, что 5-летняя БСВ пациентов гораздо хуже при ранних рецидивах, по сравнению с поздними рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ ($17,3 \pm 7,5\%$; $26,7 \pm 11,4\%$; $45,5 \pm 15,0\%$, соответственно) ($p=0,05$). ОВ: $17,8 \pm 7,5\%$; $43,8 \pm 12,4\%$; $45,5 \pm 15,0\%$, соответственно ($p=0,02$).

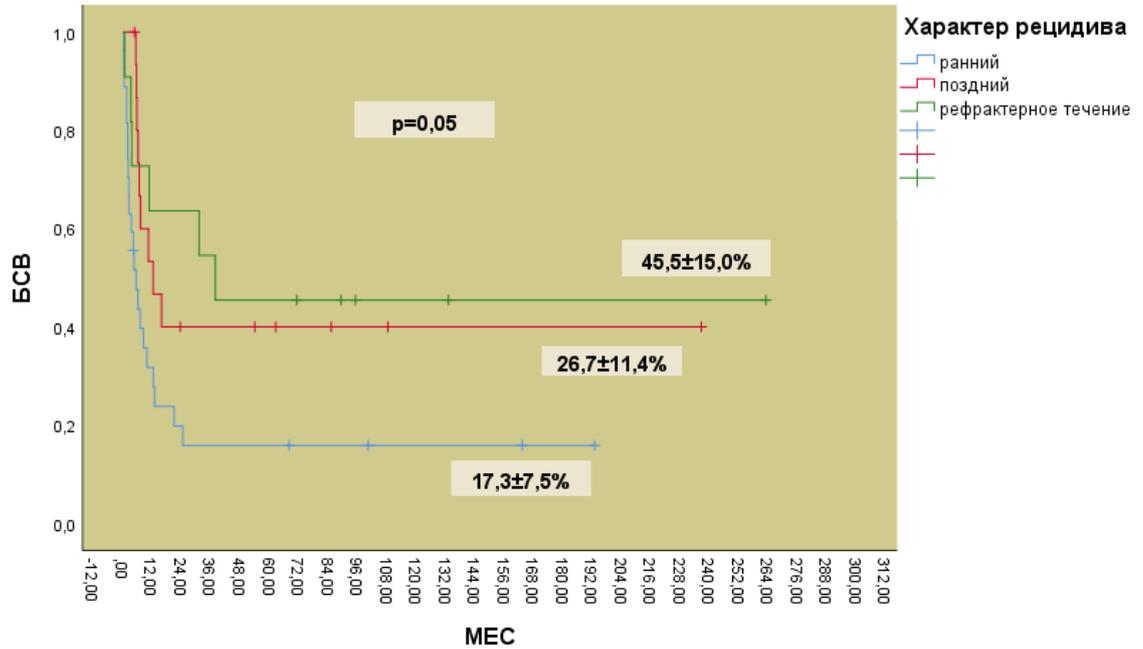


Рисунок 4.14 – БСВ пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ в зависимости от времени возникновения рецидива

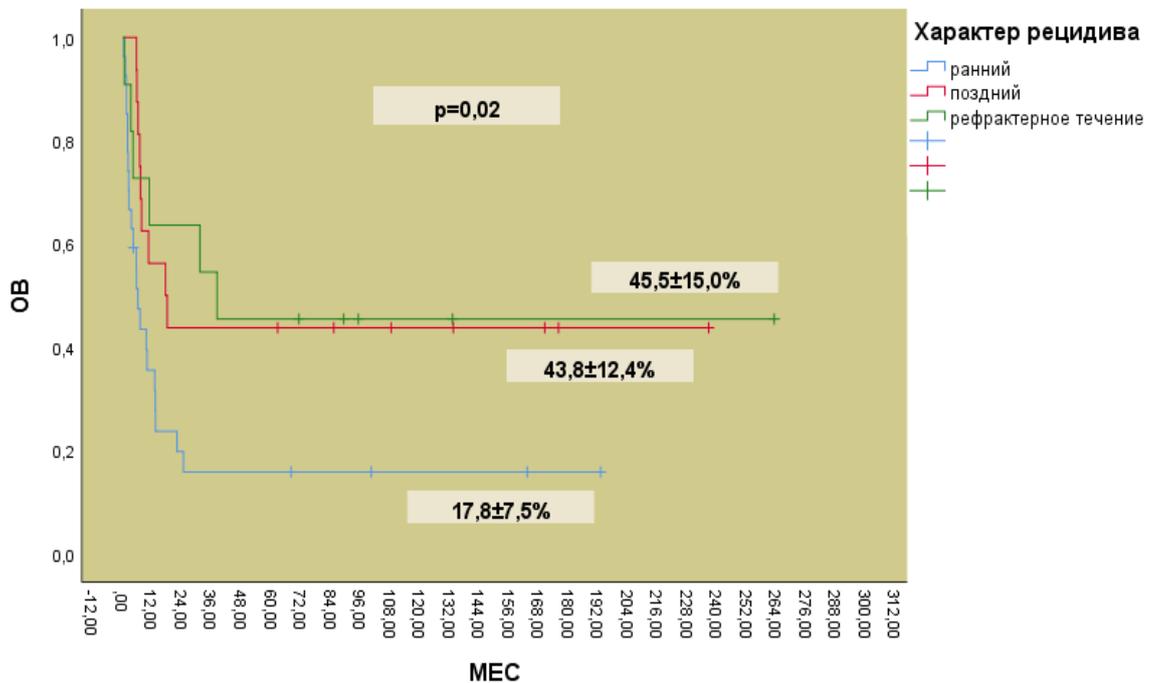


Рисунок 4.15 – OB пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ в зависимости от времени возникновения рецидива

Среди 54 пациентов цитогенетическое исследование бластных клеток было выполнено у 30 больных, из них наличие или отсутствие генетических аномалий

отразилось на результатах выживаемости следующим образом: БСВ пациентов с благоприятными цитогенетическими аномалиями была $36,8 \pm 11,1\%$ при среднем периоде наблюдения $109,8 \pm 30,1$ мес., при неблагоприятных - $13,6 \pm 11,7\%$ при среднем периоде наблюдения $20,4 \pm 8,9$ мес. ($p=0,2$) (Рисунок 4.16).

ОВ пациентов с благоприятными цитогенетическими аномалиями составила $42,1 \pm 11,3\%$ при среднем периоде наблюдения $124,4 \pm 30,8$ мес., для пациентов с неблагоприятными - $13,6 \pm 11,7\%$ (средний период наблюдения $21,0 \pm 8,2$ мес.) ($p=0,2$) (Рисунок 4.17).

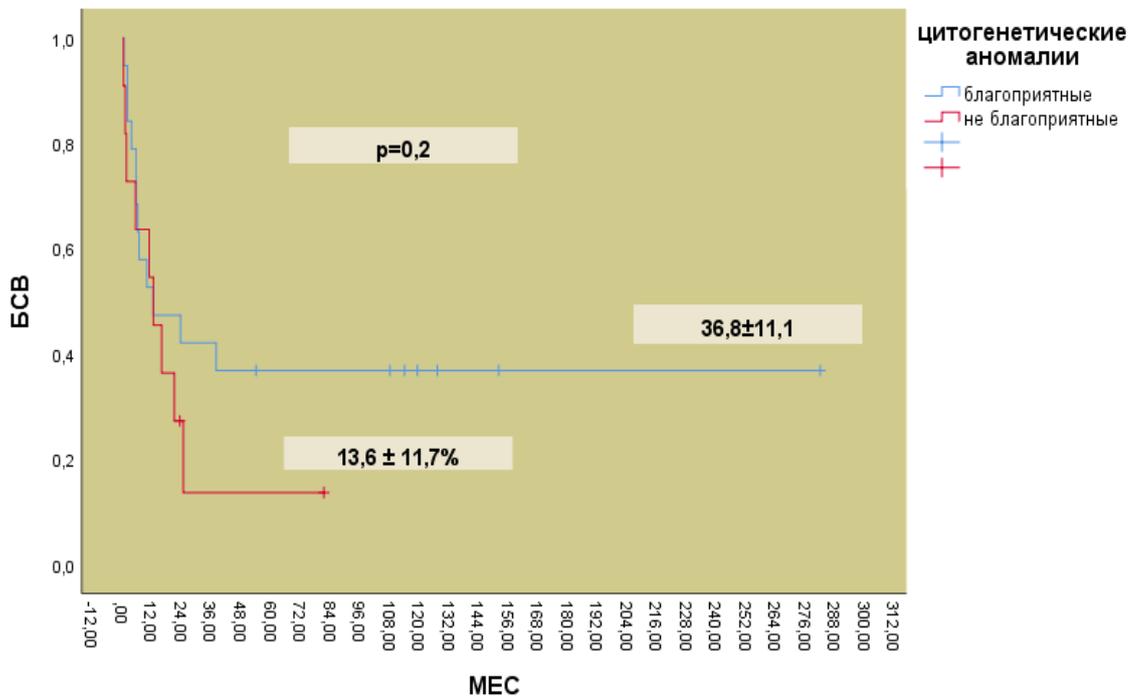


Рисунок 4.16 – БСВ при рецидивах и рефрактерных формах ОМЛ в зависимости от выявленных цитогенетических аномалий

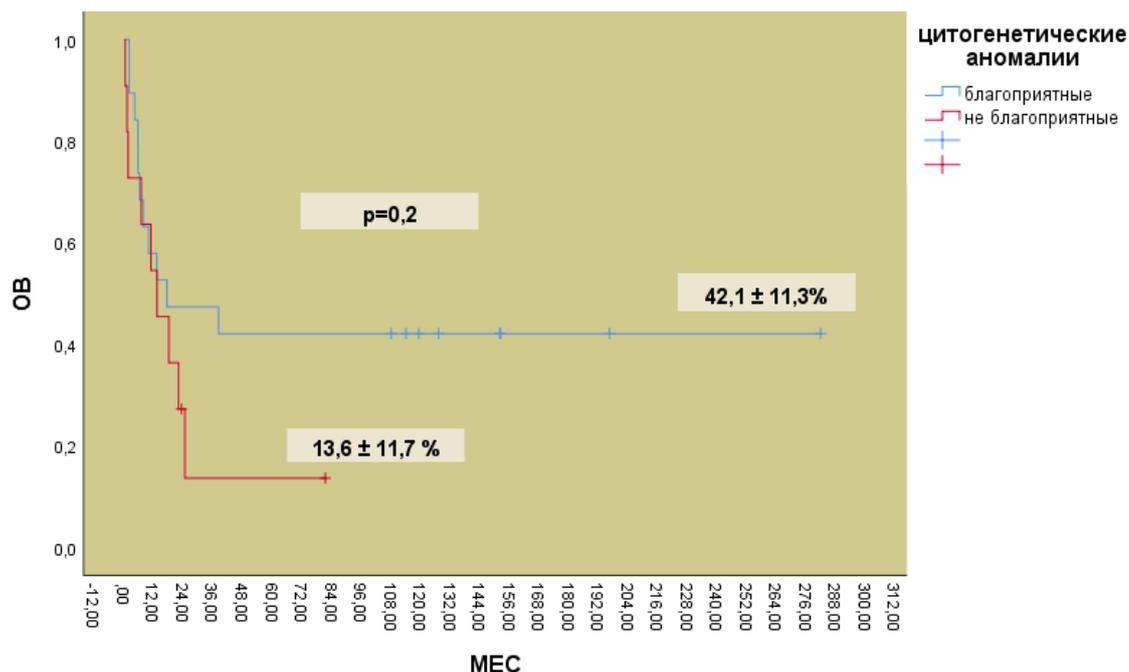


Рисунок 4.17 – ОВ при рецидивах и рефрактерных формах ОМЛ в зависимости от выявленных цитогенетических аномалий

У больных ОМЛ риск развития рецидива крайне высок (до 40%). С учетом частоты рецидивов, внедрение наиболее чувствительных методов обнаружения опухолевых клеток позволяет с большей точностью отслеживать эффективность лечения и прогнозировать долгосрочные результаты (ремиссия, рецидив). К подобным высокочувствительным методам относятся молекулярный (полимеразная цепная реакция - ПЦР, секвенирование нового поколения - СНП) и иммунофенотипический (многоцветная проточная цитофлуориметрия).

Однако представленные в литературе данные, как правило, основаны на клинических наблюдениях у взрослых больных ОМЛ. Практически отсутствуют данные у детей о динамике выявления числа копий, например, *MLL* гена в зависимости от этапа лечения, в связи с чем каждое новое наблюдение, представляет интерес с научно-практической точки зрения.

Клинический пример. Пациент Е. (2 года) с февраля 2020г. по май 2020г. в НИИ детской онкологии и гематологии им. академика РАМН Л.А. Дурнова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России получал интенсивную ПХТ в рамках протокола AML BFM 2004 с эпигенетической терапией в

соответствии с клиническим диагнозом: «ОМЛ (M0 FAB-вариант), кариотип 46 XY, t(9;11)(p21;q23). ЦНС статус 1. Высокая группа риска». Полная ремиссия была достигнута после первого курса индукционной ПХТ. При проведении поддерживающей терапии в общем анализе крови 16.09.2020г отмечены бластные клетки 28%, снижение гемоглобина до 90г/л, тромбоцитов до 50×10^9 /л. В этот же день выполнена пункция костного мозга, по результатам миелограммы, бластные клетки составляли 34%.

При осмотре состояние пациента тяжелое за счет рецидива основного заболевания. Ребенок и родители жалоб не предъявляют, самочувствие не страдает. Вес – 13 кг, рост – 90 см. Кожа и видимые слизистые бледно-розовые, чистые. Периферические лимфатические узлы не пальпируются. Со стороны дыхательной и сердечно-сосудистой систем патологии не выявлено. Артериальное давление 95/65 мм.рт.ст. пульс 98 уд/мин. Язык чистый, влажный. Живот мягкий, доступен поверхностной и глубокой пальпации во всех отделах. Печень и селезенка не увеличены. Стул оформленный, самостоятельный, регулярный. Диурез не нарушен, мочеиспускание свободное.

В общем анализе крови от 29.09.2020г. – выявлен умеренный лейкоцитоз (лейкоциты $20,10 \times 10^9$ /л), эритроциты $3,21 \times 10^{12}$ /л, анемия легкой степени (гемоглобин 106 г/л), тромбоциты 169×10^9 /л, бластные клетки 48%, сегментоядерные нейтрофилы 25%, лимфоциты 23%, моноциты 4%.

По данным миелограммы от 29.09.2020г – пунктат костного мозга средноклеточный, мономорфный. Бластные клетки составляют 62,8%, часть с отростчатой цитоплазмой, в основном мезо- и макроформы, с умеренным и высоким ядерно/цитоплазматическим соотношением, умеренной краевой базофилией цитоплазмы, в части – зернистость. Цитохимическое исследование: миелопероксидаза – отр; липиды – отр; PAS-реакция – в большинстве бластов в диффузном и диффузно-гранулярном виде; неспецифическая эстераза – отр. По морфоцитохимическим данным картина костного мозга соответствует рецидиву острого миелоидного лейкоза.

По данным **иммунофенотипирования** (CD34 – 21,0%, CD117 – 81,0%, CD13 – 36,0%, CD33 – 98,0%, CD123 – 85,0%, CD14 – 0,0%, CD7 – 9,0%, sCD22 – 0,0%, CD15 – 36,0%) – иммунофенотип бластных клеток более соответствует острому миелоидному лейкозу. Цитогенетическое исследование выявило кариотип - 46, XY, t (9;11) (p21; q23). **Результат real time PCR - KMT2A (MLL) – MLLT3 (AF9) – число копий = $8.77 \cdot 10^3$.**

Данные **цитологического исследования ликвора** (цитоз 0 кл/мкл. Бластные клетки не найдены) свидетельствуют об отсутствии поражения ЦНС.

Таким образом, в ходе обследования был подтвержден рецидив заболевания и установлен клинический диагноз: «ОМЛ (M0 FAB-вариант), кариотип 46 XY, t(9;11)(p21;q23). ЦНС статус 1. Высокая группа риска. Сверхранний изолированный костномозговой рецидив I».

Противорецидивная терапия проводилась по схеме 2 FLA с введением цитозара люмбально в возрастной дозировке для профилактики поражения ЦНС. В октябре 2020г. проведен первый курс терапии.

ПХТ пациентом была перенесена удовлетворительно, с проявлением гематологической токсичности IV степени, которая корригировалась трансфузией компонентов крови (тромбоконцентрат, эритроцитная взвесь). На 15-й день ПХТ отмечен инфекционный синдром в виде подъема температуры до фебрильных цифр (>38 C). Инфекционный синдром купирован на 20-й день на терапии, ванкомицином и меропенемом.

На **21-й день от начала курса FLA** в общем анализе крови лейкоциты $0,11 \cdot 10^9$ /л, нейтрофилы $0,01 \cdot 10^9$ /л, гемоглобин 95 г/л, тромбоциты $48 \cdot 10^9$ /л. По результатам **миелограммы** – пунктат костного мозга беден клеточными элементами. Подсчет на 400 клеток. Бластные клетки составляют 3,0%, снижено количество лимфоцитов (7,5%). В гранулоцитарном ростке (42,3%) преобладают зрелые формы. Выраженная моноцитарная реакция (40,3%). Эритроидный росток редуцирован. Мегакарициты единичные. При **определении уровня минимальной остаточной болезни методом проточной цитофлуориметрии** выявлено, что миелоидные предшественники составляют 0,17% от

миелокариоцитов. По данным **исследования спинно-мозговой жидкости** в препарате приготовленном на цитоспине бластные клетки не найдены.

После первого курса противорецидивной ПХТ достигнута клинико-морфологическая ремиссия.

После полного восстановления кроветворения и соматического статуса пациента (+34 день) начат второй блок ПХТ. Химиотерапию перенес удовлетворительно на фоне сопроводительной антибактериальной (меропенем) и заместительной гемокомпонентной терапии (концентрат тромбоцитов, эритроцитная взвесь). Дополнительно к антибактериальной терапии был добавлен колистиметат натрия, поскольку при микробиологическом исследовании кала получен рост *Klebsiella pneumonia*, чувствительной к колистиметату натрия.

На 21 день от начала 2-го курса проведено обследование: **ОАК** – лейкоциты $2,29 \cdot 10^9$ /л, сегментоядерные нейтрофилы 36,0%, лимфоциты 43,0%, моноциты 21,0%, эритроциты $3,12 \cdot 10^{12}$ /л, гемоглобин 97 г/л, тромбоциты $125 \cdot 10^9$ /л; **Исследование спинно-мозговой жидкости** – в препарате приготовленном на цитоспине бластные клетки не найдены; **Миелограмма** – пунктат костного мозга беден клеточными элементами. Бластные клетки составляют 0,4%, количество лимфоцитов – 6,0%. Гранулоцитарный росток сужен (27,6%), представлен в основном зрелыми формами – 21,6%. Выражена моноцитарная реакция (32,4%). Эритроидный росток расширен (33,6%). Мегакариоциты единичные в препарате; **результат real time PCR - KMT2A(MLL)-MLLT3(AF9)** – число копий = 0.

Достигнута полная клинико-морфологическая и цитогенетическая ремиссия, которая была консолидирована алло-ТГСК. К апрелю 2023г (+3 года) ремиссия сохраняется.

Данный случай демонстрирует эффективность противорецидивной ПХТ даже при неблагоприятных факторах прогноза. Дополнительной консолидирующей опцией при раннем рецидиве ОМЛ стало проведение алло-ТГСК.

Внедрение дополнительных высокочувствительных методов контроля полноты ремиссии при ОМЛ позволит, в случае плохого ответа на лечение,

своевременно сменить вектор терапии на вторую линию, такую как схемы FLA или НАМ и рассматривать вопрос об алло-ТГСК.

Для анализа показателей общей и бессобытийной выживаемости в зависимости от прогностических факторов, больные рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ были распределены на две прогностические группы с учетом цитогенетических aberrаций, времени развития рецидива, и сроков достижения полной ремиссии.

Пятилетняя БСВ пациентов из благоприятной группы риска (n=5) составила $40,0 \pm 21,9\%$, для пациентов из неблагоприятной группы риска (n=25) БСВ – $27,0 \pm 9,1\%$ ($p=0,4$) (Рисунок 4.18).

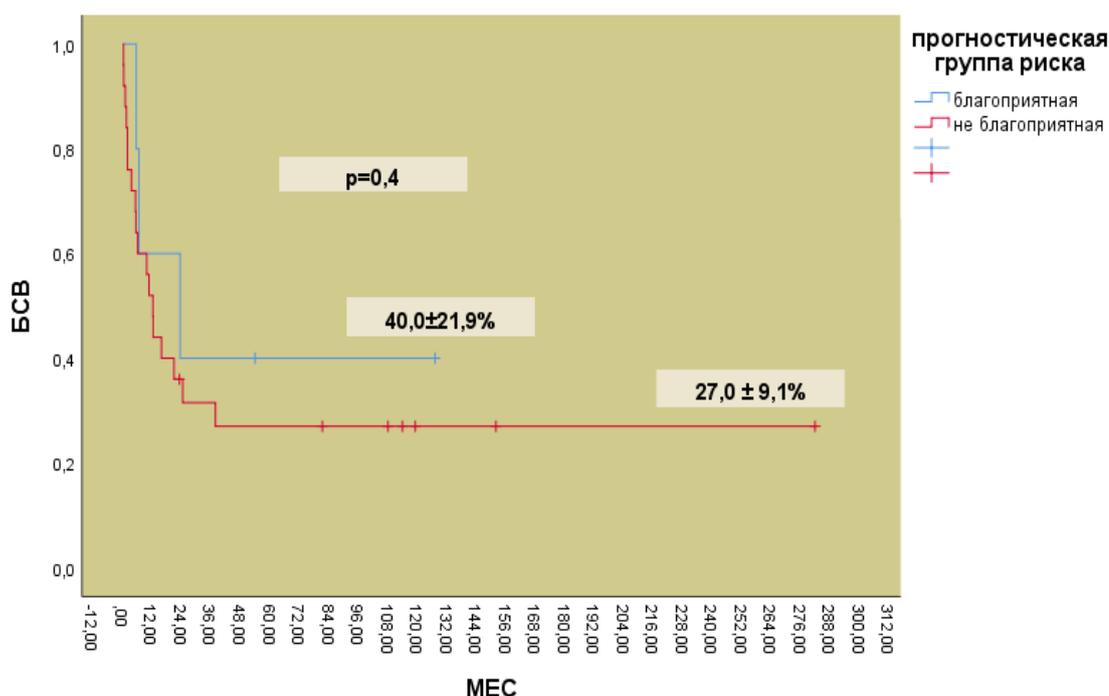


Рисунок 4.18 – БСВ в зависимости от прогностической группы риска при рецидивах и рефрактерных ОМЛ

Пятилетняя ОВ пациентов из благоприятной группы риска достигла $60,0 \pm 21,9\%$, тогда как у больных из неблагоприятной группы риска ОВ была почти в 2 раза ниже – $27,0 \pm 9,1\%$ ($p=0,2$) (Рисунок 4.19).

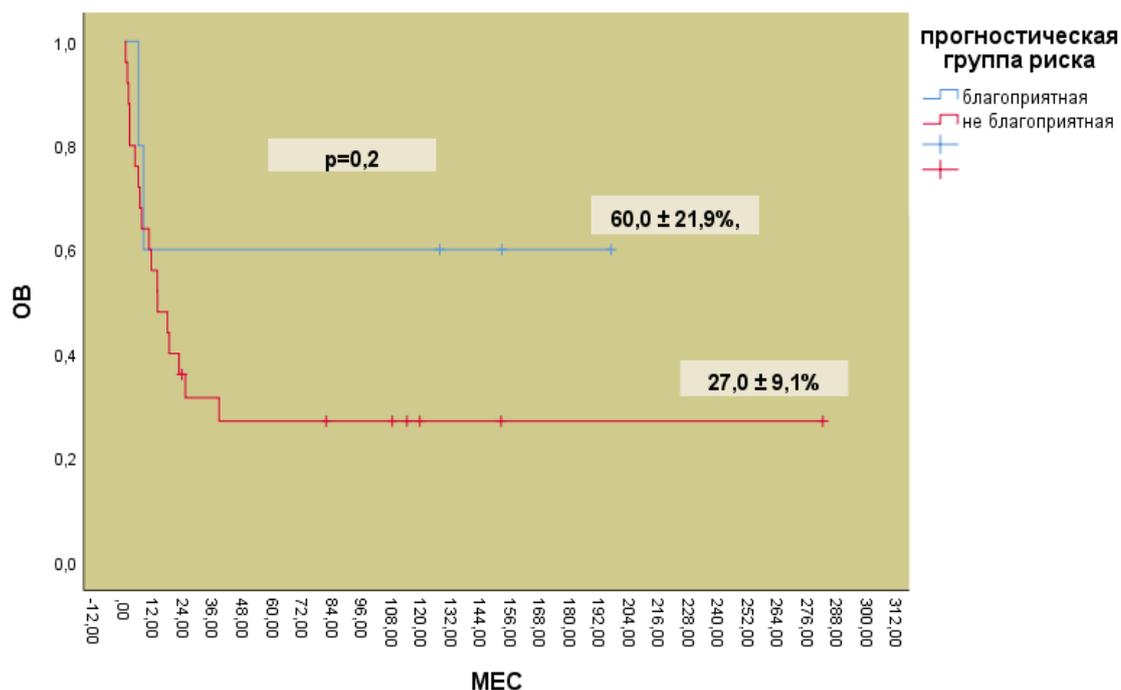


Рисунок 4.19 – ОВ в зависимости от прогностической группы риска при рецидивах и рефрактерных ОМЛ

Следовательно, у пациентов, включенных в благоприятную прогностическую группу, относительно лучшая пятилетняя ОВ – $50,0 \pm 15,8\%$, в сравнении с пациентами из неблагоприятной прогностической группы, которая составила $26,8 \pm 6,7\%$ ($p=0,1$).

Бессобытийная выживаемость пациентов в зависимости от программы противорецидивной терапии оказалась выше при использовании двух последовательных курсов FLA – $36,4 \pm 14,5\%$ при среднем периоде наблюдения $82,9 \pm 29,4$ мес., а также НАМ + FLA – $28,6 \pm 16,5\%$ при среднем периоде наблюдения $66,3 \pm 26,6$ мес., тогда как у больных, получивших схему НАМ + флударабин + этопозид – $15,8 \pm 8,4\%$ при среднем периоде наблюдения $51,9 \pm 22,9$ мес, FLA + азациитидин – $30,0 \pm 14,5\%$ при среднем периоде наблюдения $36,3 \pm 14,1$ мес. ($p=0,5$) (Рисунок 4.20).

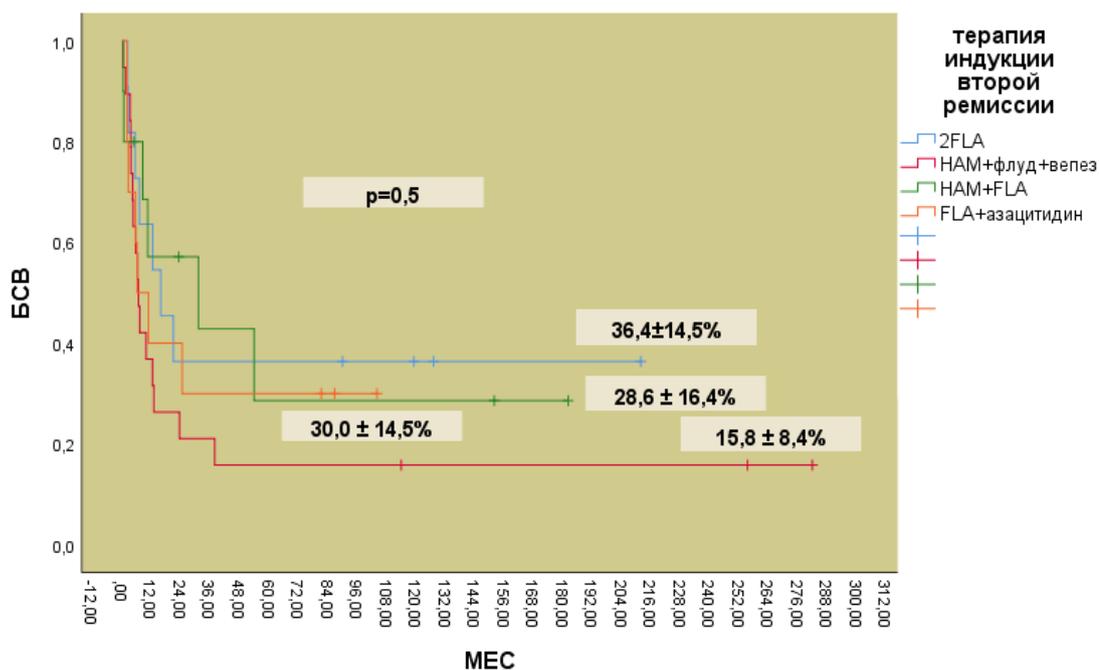


Рисунок 4.20 – БСВ пациентов с рецидивами и рефрактерными ОМЛ в зависимости от схемы противорецидивной терапии

ОВ пациентов в зависимости от схемы противорецидивной терапии была лучше при использовании схемы 2 FLA – $36,4 \pm 14,5\%$ (средний период наблюдения $83,4 \pm 29,2$ мес.), а также HAM + FLA – $48,0 \pm 16,4\%$ (средний период наблюдения $101,3 \pm 29,8$ мес.), тогда как ОВ пациентов получавших лечение по схеме HAM + флударабин + вепезид составила $21,1 \pm 9,4\%$ при среднем периоде наблюдения $65,9 \pm 25,6$ мес., FLA + азацитидин – $30,0 \pm 14,5\%$ при среднем периоде наблюдения $36,4 \pm 14,1$ мес. ($p=0,3$).

Результаты ОВ пациентов с р/р ОМЛ в зависимости от схемы противорецидивной терапии отражены на рисунке 4.21.

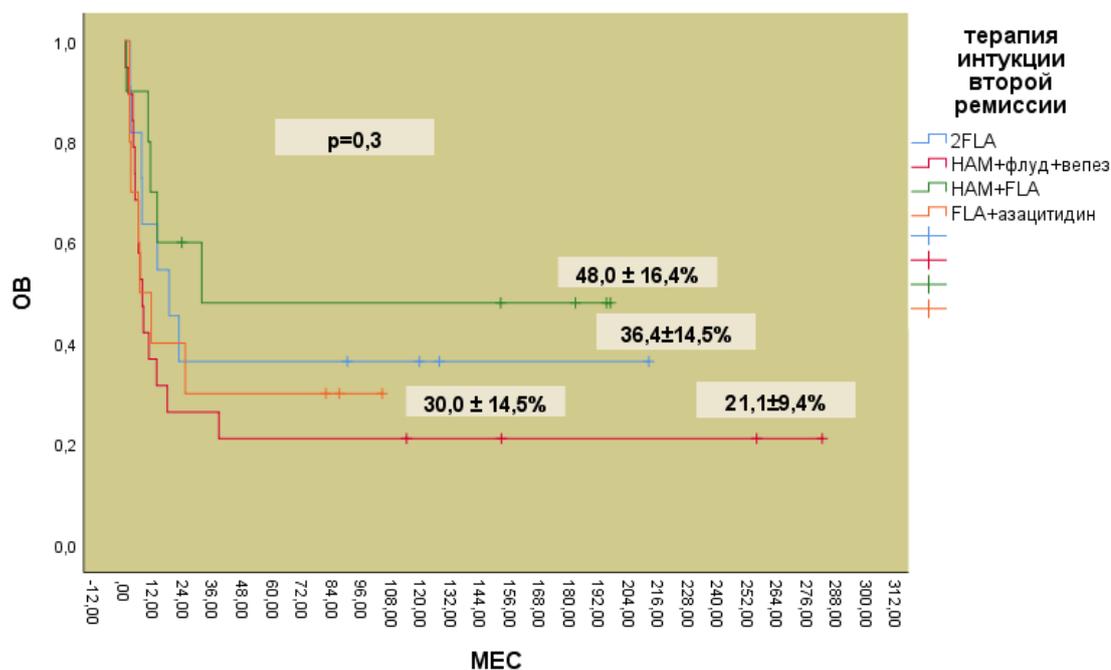


Рисунок 4.21 – ОВ пациентов с рецидивами и рефрактерными ОМЛ в зависимости от схемы противорецидивной терапии

Сравнительный анализ БСВ и ОВ проводился между 4 основными программами терапии повторной индукции. В группе из 4 пациентов (7,5%), которые получили иную противорецидивную химиотерапию (2 – азацитидин в течение пяти дней, с интратекальным введением метотрексата, цитозара, преднизолона в возрастных дозах в первый день курса; 1 – цитозар в сочетании с L-аспарагиназой и азацитидином; 1 – схема FLA, а затем по восстановлении соматического статуса и показателей общего анализа крови – бортезомиб в сочетании с цитозаром и липосомальным даунорубицином) показатель БСВ составил $25,0 \pm 21,7\%$ при среднем периоде наблюдения $29,0 \pm 22,8$ мес.

Дополнительно были проанализированы пациенты с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ в зависимости от включения эпигенетической терапии в режим противорецидивной ПХТ.

БСВ пациентов, в программу лечения которых были включены эпигенетические агенты, оказалась $31,3 \pm 9,1\%$ при среднем периоде наблюдения $63,8 \pm 15,8$ мес. БСВ пациентов без использования эпигенетической терапии –

$20,8 \pm 8,0\%$ при среднем периоде наблюдения $66,3 \pm 21,8$ мес. ($p=0,4$) (Рисунок 4.22).

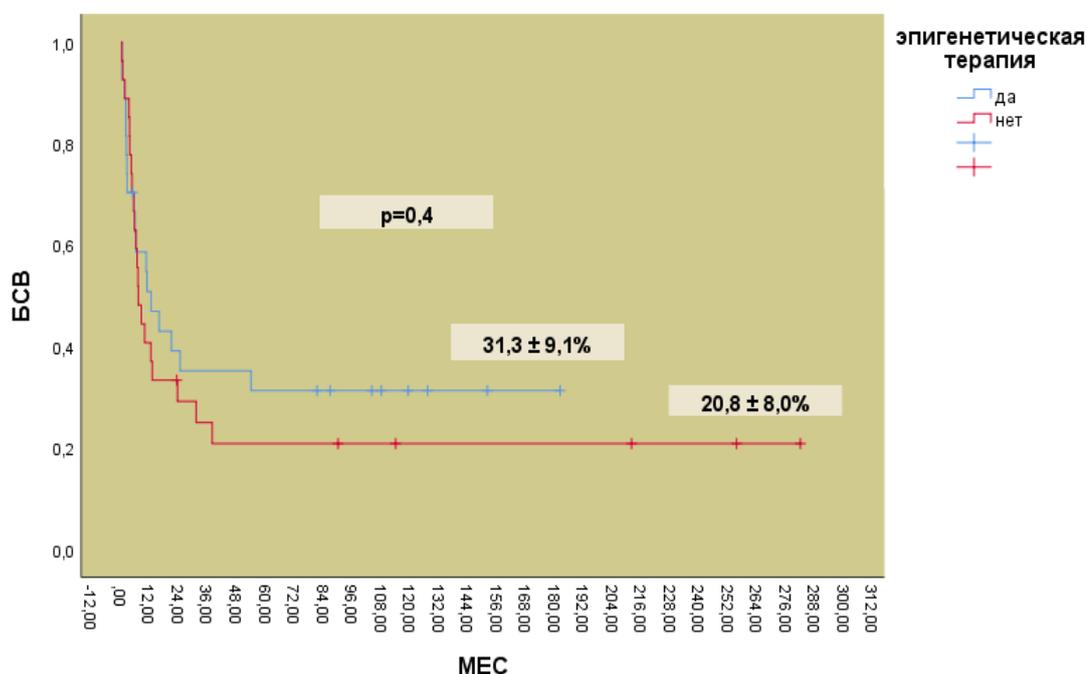


Рисунок 4.22 – БСВ пациентов с рецидивами и рефрактерными ОМЛ в зависимости от включения в программу терапии эпигенетических агентов

ОВ пациентов, терапия второй линии которых включала эпигенетические агенты, составила $37,0 \pm 9,3\%$, при среднем периоде наблюдения $77,9 \pm 17,5$ мес. ОВ пациентов без использования эпигенетической терапии была $25,0 \pm 8,5\%$ при среднем периоде наблюдения $77,4 \pm 23,1$ мес. ($p=0,4$).

Результаты ОВ пациентов с р/р ОМЛ в зависимости от получения эпигенетической терапии отражены на рисунке 4.23.

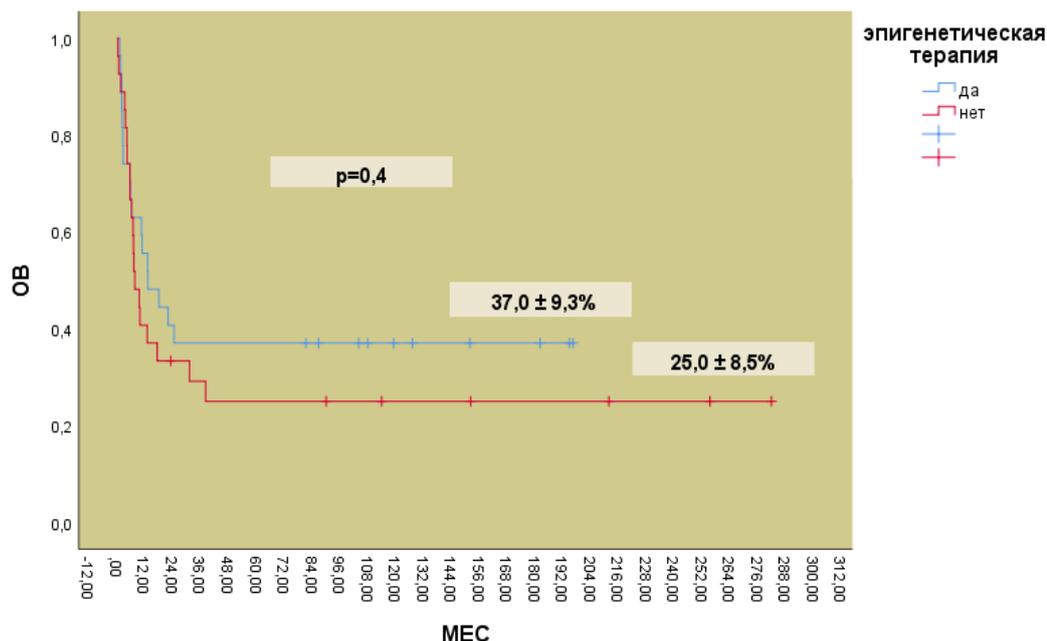


Рисунок 4.23 – OS пациентов с рецидивами и рефрактерными ОМЛ в зависимости от получения эпигенетической терапии

Еще одним фактором, прогностическое значение которого было оценено в настоящей работе, стало проведение ауто-/алло-ТГСК. Клинико-лабораторные данные пациентов ($n=8$), получивших ауто-ТГСК, представлены в таблице 4.5.

Таблица 4.5 - Характеристика пациентов с рецидивами и рефрактерными ОМЛ получивших ауто-ТГСК после терапии индукции второй ремиссии

№	Пол	Характер рецидива	FAB	Цитогенетические aberrации	Терапия индукции второй ремиссии	Ответ на 15 день ПХТ	Исход	Срок наблюдения
1	ж	поздний	M2	t(8;21)	НАМ + FLA	ЧО	Жив	16 лет
2	м	поздний	M2	НК	НАМ + FLA	ПО	Жив	16 лет
3	ж	поздний	M2	t(8;21)	НАМ + флударабин + этопозид	ПО	ПС – прогрессия	<1 года

Продолжение таблицы 4.5

4	м	поздний	M4	t(9;11)	НАМ + флудара-бин + этопозид	ПО	ПС – прогрессия	2 года
5	ж	ранний	M2	НД	НАМ + флудара-бин + этопозид	ПО	ПС – инфекцион ные осложнени я	<1 года
6	м	рефрак- терное течение	M2	НК	НАМ + флудара-бин + этопозид	ПО	Жив	23 года
7	ж	рефрак- терное течение	M1	НД	НАМ + FLA	ПО	ПС – прогрессия	2 года
8	м	поздний	M2	НД	НАМ + флудара-бин + вепезид	ПО	ПС – прогрессия	<1 года

Примечание: ПО – полный ответ, ЧО – частичный ответ, НД – нет данных, ПС – причина смерти, НК - нормальный кариотип.

БСВ пациентов, которым была выполнена алло-ТГСК (n=27) составила $47,6 \pm 9,7\%$ при среднем периоде наблюдения $127,7 \pm 23,6$ мес. Без ТГСК все больные погибли в течении $4,7 \pm 1,9$ мес. от момента диагностики рецидива или констатации рефрактерного течения ОМЛ.

Следовательно, больным с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ проведение алло-ТГСК является обязательным этапом комплексного лечения.

ОВ пациентов получивших ауто-ТГСК составила $37,5 \pm 17,1\%$, при среднем периоде наблюдения $114,6 \pm 45,8$ мес. Проведение алло-ТГСК позволяет добиться ОВ в $51,4 \pm 9,7\%$, при среднем периоде наблюдении $137,1 \pm 23,6$ мес., выживаемость пациентов не получивших ТГСК 0%, при среднем периоде наблюдения $5,5 \pm 1,9$ мес. ($p < 0,001$) (Рисунок 4.24).

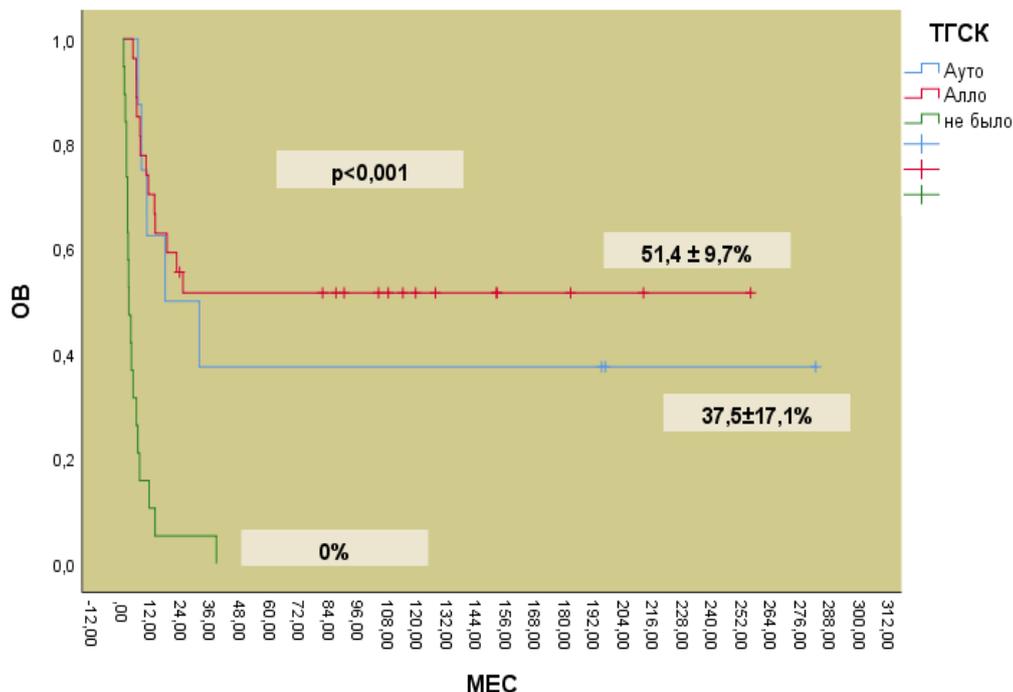


Рисунок 4.24 – ОВ пациентов с рецидивами и рефрактерными ОМЛ в зависимости от вида полученной ТГСК в программе противорецидивной ПХТ

Показатели ОВ также подтвердили необходимость проведения алло-ТГСК при рецидивах и рефрактерных формах ОМЛ, поскольку позволили получить наилучшие показатели выживаемости в анализируемой группе больных – $51,4 \pm 9,7\%$ при среднем периоде наблюдении $134,5 \pm 23,3$ мес.

Исходя из изложенного выявлена определенная закономерность влияния некоторых факторов на выживаемость (БРВ, БСВ, ОВ) пациентов. Так у пациентов с ранним рецидивом ОМЛ БСВ составила лишь $17,3 \pm 7,5\%$, тогда как при позднем рецидиве – $43,8 \pm 12,4\%$, и при изначально рефрактерной форме ОМЛ – $45,5 \pm 15,0\%$ ($p=0,03$). БСВ пациентов с благоприятными хромосомными аномалиями (с наличием $t(8;21)$, $inv(16)$ или $t(16;16)$) оказалась наилучшей – $42,1 \pm 11,3\%$ при среднем периоде наблюдения $116,5 \pm 28,7$ мес., в сравнении с теми, у кого были выявлены иные генетические аномалии – $10,4 \pm 9,8\%$ при средней периоде наблюдения $16,5 \pm 5,5$ мес. ($p=0,1$). Пятилетняя ОВ пациентов из благоприятной группы риска составила $50,0 \pm 15,8\%$, для пациентов из неблагоприятной группы риска – $26,7 \pm 6,7\%$ ($p=0,1$).

Сравнение пяти программ терапии позволило выделить две программы при которых выживаемость пациентов была лучше. Так БСВ пациентов, получивших программу 2 FLA ($36,4 \pm 14,5\%$ при среднем периоде наблюдения $81,5 \pm 28,8$ месяца) и у пациентов, получивших программу HAM + FLA ($42,9 \pm 17,4\%$ при среднем периоде наблюдения $83,0 \pm 28,7$ месяца) ($p=0,6$) оказалась наиболее высокой, по сравнению с группой больных, в лечении которых применялись другие химиотерапевтические режимы. Включение эпигенетических препаратов в противорецидивную ПХТ выявило тенденцию к улучшению ОВ пациентов ($37,0 \pm 9,3\%$, при среднем периоде наблюдения $76,4 \pm 17,1$ мес.), в сравнении с пациентами использовавших только ПХТ ($25,0 \pm 8,5\%$ при среднем периоде наблюдения $76,4 \pm 22,8$ мес.) ($p=0,3$). Достоверно важно для улучшения выживаемости пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ применение алло-ТГСК, поскольку данная опция позволяет повысить ОВ до $51,4 \pm 9,7\%$, тогда как выполнение ауто-ТГСК сопровождается достижением ОВ у $37,5 \pm 17,1\%$. Все пациенты, не получившие ТГСК при р/р ОМЛ погибли ($p<0,001$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Острый миелоидный лейкоз представляет собой злокачественное новообразование кроветворной системы, на которое приходится до 20% всех случаев лейкозов детского возраста [7, 22].

Применение современных протоколов лечения пациентов с впервые выявленным ОМЛ позволяет достичь полную костномозговую ремиссию в 90% случаев [22, 102]. Следовательно, остаются 10% пациентов с первично резистентным течением ОМЛ [9, 21]. Несмотря на высокий процент полных ремиссий, показатели общей и бессобытийной выживаемости остаются низкими, 70% и 40-56% соответственно [20-22]. Применение последующей консолидирующей и поддерживающей терапии не позволяет достичь хорошего результата, поскольку в 30 - 40% развивается рецидив.

В отношении пациентов с рецидивами ОМЛ и рефрактерными формами ОМЛ, в настоящее время, отсутствует единый подход к терапии и результаты лечения остаются крайне низкими. Улучшение показателей выживаемости удастся достичь за счет применения высокодозной химиотерапии с аллогенной (алло-) или аутологичной (ауто-) трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) при условии достижения противоопухолевого ответа в процессе противорецидивной ПХТ.

В настоящее время 5-летняя ОВ пациентов с рецидивом и рефрактерной формой ОМЛ, получавших лечение согласно различным противорецидивным протоколам (COG AAML07P1; AML BFM-REZ91/93/97/01) составляет 20 - 40% [2, 3, 31-33]. Следовательно, около 80% случаев р/р ОМЛ сопровождаются повторными рецидивами или заболевание приобретает рефрактерный характер течения.

Основная задача настоящего исследования – поиск терапии, направленной на улучшение результатов лечения пациентов с ОМЛ, входящих в заведомо неблагоприятную прогностическую группу.

В связи с тем, что интенсивность используемых в лечении р/р ОМЛ программ достигла своего максимума, повышение результатов лечения, возможно будет достигнуто с применением новых препаратов, влияющих на развитие опухоли (эпигенетическая терапия), блокирующих сигнальные пути в опухолевой клетке. Как правило, цитогенетические события сопровождаются мутациями генов, участвующих в трансдукции сигнальных путей, – *FLT3*, *KIT*, *N-RAS*, *K-RAS* и *RTPN11*, которые являются перспективной мишенью для таргетной терапии. Обязательным этапом терапии р/р ОМЛ является проведение ТГСК (ауто- или алло-).

Для определения оптимального терапевтического подхода в лечении р/р ОМЛ, роли и места эпигенетических препаратов, выбору оптимального вида ТГСК были проанализированы результаты лечения 54 пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ. Все пациенты, включенные в исследование, получали лечение в НИИ детской онкологии и гематологии им. академика РАМН Л.А.Дурнова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России с 1997 по 2021 годы. Средний возраст больных составил $9,2 \pm 4,6$ лет. Мальчиков (59,3%) было несколько больше, чем девочек (40,7%).

У всех больных диагноз ОМЛ установлен на основании морфологического, цитохимического и иммунологического исследований бластных клеток костного мозга. У 30 пациентов проведен цитогенетический анализ, бластных клеток.

Всем пациентам был установлен морфоиммунологический вариант ОМЛ. Среди 54 анализируемых больных у большинства ($n=17$; 31,5%) был диагностирован М2 вариант ОМЛ. Вторым по частоте встречаемости стал М4 ($n=11$; 20,4%). При распределении пациентов в зависимости от получаемой противорецидивной ПХТ и варианта ОМЛ не было выявлено достоверной разницы ($p=0,3$). Несколько более благоприятными оказались М0, М1, М6, М7 варианты р/р ОМЛ.

При анализе кариотипа при р/р ОМЛ оказалось, что у большинства детей ($n=22$) выявлен нормальный кариотип опухолевых клеток. Благодаря цитогенетическому анализу удалось показать, что выживаемость пациентов с

благоприятными хромосомными aberrациями [t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13.1q22) или t(16;16)(p13.1;q22)] в несколько раз выше, чем без них, так БСВ пациентов с благоприятными aberrациями оказалась $36,8 \pm 11,1\%$ при среднем периоде наблюдения $109,8 \pm 30,1$ мес., при неблагоприятных – $13,6 \pm 11,7\%$ при среднем периоде наблюдения $20,4 \pm 8,9$ мес., ($p=0,2$). ОВ пациентов с благоприятными цитогенетическими аномалиями составила $42,1 \pm 11,3\%$ при среднем периоде наблюдения $124,4 \pm 30,8$ мес., а для пациентов с неблагоприятными – $13,6 \pm 11,7\%$ (средний период наблюдения $21,0 \pm 8,2$ мес.) ($p=0,2$).

Время возникновения рецидива оказалось прогностически значимым фактором при рецидивах ОМЛ. Так, вне зависимости от наличия других благоприятных факторов, пациенты с ранним рецидивом (возникший ранее 1,5 лет от начала терапии индукции) должны быть включены в группу неблагоприятного прогноза. Пятилетняя БСВ пациентов при раннем рецидиве составила $17,3 \pm 7,5\%$, с поздним – $26,7 \pm 11,4\%$, у пациентов с изначально рефрактерной формой ОМЛ БСВ была $45,5 \pm 15,0\%$. ($p=0,02$). Пятилетняя ОВ пациентов при раннем рецидиве оказалась $17,8 \pm 7,5\%$, при позднем – $43,8 \pm 12,4\%$, у пациентов с изначально рефрактерной формой ОМЛ ОВ составила $45,5 \pm 15,0\%$ ($p=0,02$).

Учитывая влияние на выживаемость цитогенетических aberrаций и времени возникновения рецидива, (с учетом выполненного цитогенетического исследования; $n=30$) были выделены две прогностические группы риска (благоприятная и неблагоприятная). В благоприятную группу риска были включены пациенты с поздним рецидивом, при условии изолированного поражения костного мозга, при наличии благоприятных хромосомных aberrаций, таких как t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13.1q22) или t(16;16)(p13.1;q22) и при достижении М-1 ответа на 15й день первого курса противорецидивной терапии. Остальные пациенты были отнесены в группу с неблагоприятным прогнозом. Таким образом, в благоприятную прогностическую группу было включено 5 пациентов (16,7%), и 25 (83,3%) пациентов были включены в неблагоприятную прогностическую группу. При сравнении распределения пациентов, получавших

лечение по пяти схемам ПХТ в зависимости от групп риска, не было выявлено достоверной разницы ($p = 0,2$). Однако 5-летняя ОВ пациентов из благоприятной группы риска составила $60,0 \pm 21,9\%$, а для пациентов, включенных в неблагоприятную группу риска ОВ лишь $27,0 \pm 9,1\%$ ($p=0,2$).

Для того чтобы определить наиболее эффективную схему лечения пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ, было проанализировано пять противорецидивных программ ПХТ. Из 54 пациентов включенных в исследование 11 (20,4%) получили терапию по программе 2FLA, 19 (35,2%) - НАМ + флударабин + вепезид, 10 (18,5%) - НАМ + FLA, 10 (18,5%) - FLA + азацитидин и 4 (7,4%) пациента получили терапию отличную от стандартных (один пациент получил азацитидин в монорежиме; один пациент получил цитарабин и азацитидин в сочетании с L-аспарагиназой; один пациент - бортезомиб в сочетании с цитозаром и даунорубицином; один пациент получил НАМ с децитабином) программ лечения.

В нашем исследовании была оценена частота ремиссий в зависимости от программы ПХТ у детей с рецидивами и рефрактерными формами ОМЛ, и проведена сравнительная оценка БСВ и ОВ этих больных. Среди 54 больных, получивших пять разных программ противорецидивной ПХТ, пациенты получившие 2FLA и НАМ + FLA чаще достигали полного клинико-гематологического ответа (M-1/M-2 ответа): 81,8% и 80,0% соответственно ($p=0,1$). Пятилетняя ОВ пациентов в зависимости от схемы противорецидивной терапии так же была лучше у пациентов получивших 2 FLA - $36,4 \pm 14,5\%$ при среднем периоде наблюдения $83,4 \pm 29,2$ мес. и НАМ + FLA $48,0 \pm 16,4\%$ при среднем периоде наблюдения $101,3 \pm 29,8$ мес. ($p=0,6$).

Анализ эффективности применения препаратов эпигенетического действия в сочетании с противорецидивной ПХТ показал, что данный подход позволяет увеличить 5-летнюю БСВ пациентов до $31,3 \pm 9,1\%$ (5-летняя БСВ пациентов без использования эпигенетической терапии была $20,8 \pm 8,0\%$) ($p=0,4$). Так же была выше ОВ пациентов, терапия второй линии которых включала эпигенетические агенты – $37,0 \pm 9,3\%$, при среднем периоде наблюдения $77,9 \pm 17,5$ мес. ОВ

пациентов без использования эпигенетической терапии – $25,0 \pm 8,5\%$ при среднем периоде наблюдения $77,4 \pm 23,1$ мес. ($p=0,4$).

Сравнение показателей выживаемости пациентов в зависимости от выполнения ТГСК продемонстрировало значимое превосходство в ОВ среди больных, которым ТГСК была проведена, по сравнению с теми больными, которым данный вид терапии не был выполнен. Отмечено достижение более высоких показателей ОВ у больных р/р ОМЛ, получивших алло-ТГСК - $51,4 \pm 9,7\%$ при среднем периоде наблюдения $137,7 \pm 23,6$ мес., по сравнению с ауто-ТГСК - $37,5 \pm 17,1\%$, при среднем периоде наблюдения $114,6 \pm 45,8$ мес., тогда как при отсутствии ТГСК в рамках терапии р/р ОМЛ все больные погибли в течение, в среднем, $5,5 \pm 1,9$ мес. ($p<0,001$).

Полученные данные позволили определить флударабин- и цитарабинсодержащие схемы (FLA и HAM) с включением эпигенетических препаратов как наиболее эффективные при лечении р/р ОМЛ. Проведение алло-ТГСК должно быть обязательной опцией при терапии больных р/р ОМЛ. Развитие цитогенетических, молекулярно-биологических исследований в России позволит выявить дополнительные факторы прогноза при ОМЛ у детей и создать молекулярно-направленные препараты для дальнейшей оптимизации терапевтических подходов при лечении такой сложной нозологической группы больных, как рецидивы и рефрактерные формы ОМЛ.

ВЫВОДЫ

1. Эволюция лейкоз-ассоциированного иммунологического фенотипа при рецидивах острых миелоидных лейкозов у детей встречается с частотой 80,7%. Динамика изменений иммунологического фенотипа при рецидивах острых миелоидных лейкозах в сравнении с исходными данными заключается в снижении экспрессии антигена CD19 (71,4%) при сохранении экспрессии антигенов CD13, CD117, HLA-DR и CD64.

2. При рецидивах острых миелоидных лейкозов у детей обнаружение цитогенетических aberrаций типа $t(8;21)(q22;q22)$, $inv(16)(p13.1q22)$, $t(16;16)(p13.1;q22)$, изолированный костномозговой рецидив и факт достижения костномозговой ремиссии на 15-й день первого противорецидивного цикла имеют важное дополнительное прогностически благоприятное значение и позволяют рассчитывать на долгосрочное сохранение ремиссии.

3. В прогностически благоприятной группе риска показатель 5-летней общей выживаемости составил 60%. В прогностически неблагоприятной группе риска без указанных цитогенетических [$t(8;21)(q22;q22)$, $inv(16)(p13.1q22)$, $t(16;16)(p13.1;q22)$] и клинических параметров прогноза 5-летняя общая выживаемость оказалась равной лишь 27%.

4. При рецидивах и рефрактерных острых миелоидных лейкозах у детей непосредственный общий ответ после двух противорецидивных флударабин/цитарабин-содержащих циклов составил 81,8% (FLA+FLA) и 80% (НАМ+FLA). Частота полных ремиссий в группе FLA+FLA – 81,8%, в группе НАМ+FLA - 40%. Пятилетняя общая выживаемость в группе FLA+FLA составила 36,4%, НАМ+ FLA - 48% ($p>0,05$).

5. При рецидивах и рефрактерном течении острых миелоидных лейкозов у детей включение в программы лечения наряду с эпигенетическими препаратами, трансплантации гемопоэтических стволовых клеток существенно улучшает результаты терапии. Десятилетняя общая выживаемость в группе с алло-ТГСК составила 51,4%, в группе с ауто-ТГСК оказалась равной 37,5%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Все пациенты с рецидивами и рефрактерными ОМЛ должны рассматриваться, как потенциальные кандидаты для выполнения трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

2. При рецидивах и рефрактерных ОМЛ необходимо проводить цитогенетические и иммунологические исследования бластных клеток с обязательным сопоставлением полученных данных с исходными характеристиками опухолевого клона.

3. На основании комплексного обследования (клинического, лабораторного, инструментального) каждого пациента с рецидивом и рефрактерным ОМЛ стратифицировать в прогностическую группу риска.

4. Пациентам с рецидивами и рефрактерными ОМЛ рекомендованной схемой выбора для индукции повторной ремиссии считать FLA+FLA или НАМ+FLA с включением эпигенетических препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Махачева, Ф. А. Изменение иммунофенотипа злокачественных клеток при рецидиве острого миелоидного лейкоза у детей / Ф. А. Махачева, А. Д. Палладина, Т. Т. Валиев [и др.] // Иммунология гемопозеза. – 2/2021. - № 1. – Т.19. – С. 18-30.
2. Sander, A. Consequent and intensified relapse therapy improved survival in pediatric AML: results of relapse treatment in 379 patients of three consecutive AML-BFM trials / A. Sander, M. Zimmermann, M. Dworzak [et al.] // *Leukemia*. – 2010. – Vol. 24, N 8. – P. 1422–1428. DOI: 10.1038/leu.2010.127.
3. Rubnitz, J. E. Prognostic factors and outcome of recurrence in childhood acute myeloid leukemia / J. E Rubnitz, B. I. Razzouk, S. Lensing [et al.] // *Cancer*. – 2007. – Vol. 109, N 1. – P. 157–163. DOI: 10.1002/cncr.22385.
4. Коркина, Ю.С. Клинические и молекулярно-биологические особенности острых лейкозов у детей до 1 года / Ю.С. Коркина, Т.Т. Валиев, С.Р. Варфоломеева // *Онкогематология*. – 2022. – Т.17, № 2. – С. 23-29.
5. Becktel, K. Epigenetic therapy in a patient with down syndrome and refractory acute myeloid leukemia / K. Becktel, K. Houser, M. J. Burke // *J Pediatr Hematol Oncol*. – 2019. – Vol. 41, N 1. – P. 38–40. DOI: 10.1097/MPH.0000000000001158.
6. Александрова, Г. А. Социально значимые заболевания населения России в 2018 г. (статистические материалы). / Г. А. Александрова, Н. А. Голубев, Е. М. Тюрина [и др.] // Министерство здравоохранения Российской Федерации. – 2019. – С.73.
7. Мень, Т. Х. Эпидемиология злокачественных новообразований у детей в России / Т. Х. Мень, В. Г. Поляков, М. Д. Алиев // *Онкопедиатрия*. – 2014. – № 1(1). – С. 7–12.
8. Kelly, L. M. Genetics of myeloid leukemias / L. M. Kelly, D. G. Gilliland // *Annu Rev Genomics Hum Genet*. – 2002. – Vol. 3. – P.179–198. DOI: 10.1146/annurev.genom.3.032802.115046.

9. de Rooij, J. D. Pediatric AML: from biology to clinical management / J. D. de Rooij, C. M. Zwaan, M. van den Heuvel-Eibrink // *J Clin Med.* – 2015. – Vol. 4, N 1. – P. 127–149. DOI: 10.3390/jcm4010127.
10. Betts, D. R. The prognostic significance of cytogenetic aberrations in childhood acute myeloid leukaemia. A study of the Swiss Paediatric Oncology Group (SPOG) / D. R. Betts, R. A. Ammann, A. Hirt [et al.] // *European Journal of Haematology.* – 2007. – Vol. 78, N 6. – P. 468–476. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2007.00854.x.
11. Grimwade, D. The clinical significance of cytogenetic abnormalities in acute myeloid leukaemia / D. Grimwade // *Best Pract Res Clin Haematol.* – 2001. – Vol. 14, N 3. – P. 497–529. DOI: 10.1053/beh.2001.0152.
12. Swerdlow, S. H. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues / S. H. Swerdlow, E. Campo, N. L. Harris [et al.] // Revised 4th edn. IARC: Lyon. – 2017.
13. Balgobind, B. V. Integrative analysis of type-I and type-II aberrations underscores the genetic heterogeneity of pediatric acute myeloid leukemia / B.V. Balgobind, I. H. Hollink, S. T. Arentsen-Peters [et al.] // *Haematologica.* – 2011. – Vol. 96, N 10. – P. 1478-1487. DOI: 10.3324/haematol.2010.038976.
14. Coenen, E. A. Prognostic significance of additional cytogenetic aberrations in 733 de novo pediatric 11q23/MLL-rearranged AML patients: results of an international study / E. A. Coenen, S. C. Raimondi, J. Harbott [et al.] // *Blood.* – 2011. – Vol. 117. – P. 7102-7111. DOI: 10.1182/blood-2010-12-328302.
15. Von Neuhoff, C. Prognostic impact of specific chromosomal aberrations in a large group of pediatric patients with acute myeloid leukemia treated uniformly according to trial AML-BFM 98 / C. Von Neuhoff, D. Reinhardt, A. Sander [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2010. – Vol. 28, N 16. – P.2682-2689. DOI: 10.1200/JCO.2009.25.6321.
16. Hasle, H. Monosomy 7 and deletion 7q in children and adolescents with acute myeloid leukemia: an international retrospective study / H. Hasle, T. A. Alonzo, A. Auvrignon [et al.] // *Blood.* – 2007. – Vol.109, N 11. – P. 4641–4647. DOI: 10.1182/blood-2006-10-051342.

17. Bachas, C. High-frequency type I/II mutational shifts between diagnosis and relapse are associated with outcome in pediatric AML: Implications for personalized medicine / C. Bachas, G. J. Schuurhuis, I. H. Hollink [et al.] // *Blood*. – 2010. – Vol.116. – P.2752-2758.
18. Abu-Duhier, F. M. FLT3 internal tandem duplication mutations in adult acute myeloid leukaemia define a high-risk group / F. M. Abu-Duhier, A. C. Goodeve, G. A. Wilson [et al.] // *Br J Haematol*. – 2000. – Vol. 111, N 1. – P. 190-195. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2000.02317.x.
19. Tarlock, K. Pediatric acute myeloid leukemia: biology and therapeutic implications of genomic variants / K. Tarlock, S. Meshinchi // *Pediatr Clin N Am*. – 2015. – Vol. 62, N 1. – P.75–93. DOI: 10.1016/j.pcl.2014.09.007.
20. Truong, T. H. Enrollment on clinical trials does not improve survival for children with acute myeloid leukemia: a population-based study / T. H. Truong, J. D. Pole, R. Barber [et al.] // *Cancer*. – 2018. – Vol. 124, N 20. – P. 4098-4106. DOI: 10.1002/cncr.31728.
21. Суворов, Д. И. Лечение рецидивов и рефрактерных форм острых миелоидных лейкозов / Д. И. Суворов, Н. Н. Климович // *Проблемы здоровья и экологии* – 2014. - №4(42). – С.75–80.
22. Попа, А. В. Эпигенетическая терапия индукции ремиссии у детей, больных острым миелоидным лейкозом / А. В. Попа, Е. В. Горохова, И. Н. Серебрякова [и др.] // *Клиническая онкогематология*. – 2008. - №1(1). – С.34-38.
23. Niewerth, DA review on allogeneic stem cell transplantantation for newly diagnosed pediatric acute myeloid leukemia / D. Niewerth, U. Creutzig, M. B. Bierings, G. J. Kaspers [et al.] // *Blood*. – 2010. – Vol. 116, N 13. – P. 2205–2213. DOI: 10.1182/blood-2010-01-261800.
24. Abrahamsson, J. Therapy in pediatric acute myeloid leukemia with excellent remission rate / J. Abrahamsson, E. Forestier, J. Heldrup [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2011. – Vol. 29, N 3. – P. 310-315. DOI: 10.1200/JCO.2010.30.6829.
25. Pession, A. Treatment and long-term results in children with acute myeloid leukaemia treated according to the AIEOP AML protocols / A. Pession, R. Rondelli, G.

Basso [et al.] // *Leukemia*. – 2005. – Vol. 19, N 12. – P. 2043-2053. DOI: 10.1038/sj.leu.2403869.

26. Tomizawa, D. Repetitive cycles of high-dose cytarabine are effective for childhood acute myeloid leukemia: long-term outcome of the children with AML treated on two consecutive trials of Tokyo Children's Cancer Study Group / D. Tomizawa, K. Tabuchi, A. Kinoshita [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2007. – Vol. 49, N 2. – P. 127-132. DOI: 10.1002/pbc.20944.

27. Horan, J. T. Impact of disease risk on efficacy of matched related bone marrow transplantation for pediatric acute myeloid leukemia: the Children's Oncology Group / J. T. Horan, T. A. Alonzo, G. H. Lyman [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2008. – Vol. 26, N 35. – P. 5797-5801. DOI: 10.1200/JCO.2007.13.5244.

28. Pession, A. Results of the AIEOP AML 2002/01 multicenter prospective trial for the treatment of children with acute myeloid leukemia / A. Pession, R. Masetti, C. Rizzari [et al.] // *Blood*. – 2013. – Vol. 122, N 2. – P. 170-178. DOI: 10.1182/blood-2013-03-491621.

29. Webb, D. K. Outcome for children with relapsed acute myeloid leukaemia following initial therapy in the Medical Research Council (MRC) AML 10 trial. MRC Childhood Leukaemia Working Party / D. K. Webb, K. Wheatley, G. Harrison [et al.] // *Leukemia*. – 1999. – Vol. 13, N 1. – P. 25-31. DOI: 10.1038/sj.leu.2401254.

30. Bunin, N. J. Unrelated donor bone marrow transplantation for children with acute myeloid leukemia beyond first remission or refractory to chemotherapy / N. J. Bunin, S. M. Davies, R. Aplenc [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2008. – Vol. 26, N 26. – P. 4326-4332.

31. Passweg, J. R. Hematopoietic SCT in Europe: Data and trends in 2012 with special consideration of pediatric transplantation / J. R. Passweg, H. Baldomero, C. Peters [et al.] // *Bone Marrow Transpl*. – 2014. – Vol. 49, N 6. – P. 744-750. DOI: 10.1038/bmt.2014.55.

32. Gorman, M. F. Outcome for children treated for relapsed or re-refractory acute myelogenous leukemia (rAML): a Therapeutic Advances in Childhood Leukemia

(TACL) Consortium study / M. F. Gorman, L. Ji, R. H. Ko [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2010. – Vol. 55, N 3. – P. 421-429. DOI: 10.1002/pbc.22612.

33. Kaspers, G. J. Improved outcome in pediatric relapsed acute myeloid leukemia: results of a randomized trial on liposomal daunorubicin by the International BFM Study Group / G. J. Kaspers, M. Zimmermann, D. Reinhardt [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2013. – Vol. 31, N 5. – P. 599–607. DOI: 10.1200/JCO.2012.43.7384.

34. Gandhi, V. Minimum dose of fludarabine for the maximal modulation of 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine triphosphate in human leukemia blasts during therapy / V. Gandhi, E. Estey, M. Du [et al.] // *Clin Cancer Res*. – 1997. – Vol. 3, N 9. – P. 1539-1545.

35. Clavio, M. High efficacy of fludarabine-containing therapy (FLAG-FLANG) in poor risk acute myeloid leukemia / M. Clavio, P. Carrara, M. Miglino [et al.] // *Haematologica*. – 1996. – Vol. 81, N 6. – P. 513–520.

36. Tardi, P. In vivo maintenance of synergistic cytarabine: daunorubicin ratios greatly enhances therapeutic efficacy / P. Tardi, S. J. Johnstone, N. Harasym [et al.] // *Leuk Res*. – 2009. – Vol. 33, N 1. – P. 129-139. DOI: 10.1016/j.leukres.2008.06.028.

37. Tavit, B. Fludarabine, cytarabine, granulocyte colony-stimulating factor, and idarubicin (FLAG-IDA) for the treatment of children with poor-prognosis acute leukemia: the Hacettepe experience / B. Tavit, S. Aytac, Y. I. Balci [et al.] // *Pediatr Hematol Oncol*. – 2010. – Vol. 27, N 7. – P. 517-528. DOI: 10.3109/08880018.2010.493578.

38. Rubnitz, J. E. Phase II trial of cladribine and cytarabine in relapsed or refractory myeloid malignancies / J. E. Rubnitz, B. I. Razzouk, D. K. Srivastava [et al.] // *Leuk Res*. – 2004. – Vol. 28, N 4. – P. 349-352. DOI: 10.1016/j.leukres.2003.08.010.

39. Inaba, H. Combination of cladribine plus topotecan for recurrent or refractory pediatric acute myeloid leukemia / H. Inaba, C. F. Stewart, K. R. Crews [et al.] // *Cancer* – 2010. – Vol. 116, N 1. – P. 98–105. DOI: 10.1002/cncr.24712.

40. Vahdat, L. Therapeutic and neurotoxic effects of 2-chlorodeoxyadenosine in adults with acute myeloid leukemia / L. Vahdat, E. T. Wong, M. J. Wile [et al.] // *Blood*. – 1994. – Vol. 84, N 10. – P. 3429–3434.

41. Cheson, B. D. Neurotoxicity of purine analogs: a review / B. D. Cheson, D. A. Vena, F. M. Foss [et al.] // *J Clin Oncol.* – 1994. – Vol. 12, N 10. – P. 2216-2228.
42. Bonate, P. L. Discovery and development of clofarabine: a nucleoside analogue for treating cancer / P. L. Bonate, L. Arthaud, W. R. Cantrell [et al.] // *Nat Rev Drug Discov.* – 2006. – Vol. 5, N 10. – P.855–863. DOI: 10.1038/nrd2055.
43. Cooper, T. M. AAML0523: A report from the Children’s Oncology Group on the efficacy of clofarabine in combination with cytarabine in pediatric patients with recurrent acute myeloid leukemia / T. M. Cooper, T. A. Alonzo, R. B. Gerbing [et al.] // *Cancer* – 2014. – Vol. 120, N 16. – P. 2482–2489. DOI: 10.1002/cncr.28674.
44. Shukla, N. Phase II trial of clofarabine with topotecan, vinorelbine, and thiotepa in pediatric patients with relapsed or refractory acute leukemia / N. Shukla, R. Kobos, T. Renaud [et al.] // *Pediatr Blood Cancer.* – 2014. – Vol. 61, N 3. – P. 431-435. DOI: 10.1002/pbc.24789.
45. Abd Elmoneim, A. Phase I dose-escalation trial of clofarabine followed by escalating doses of fractionated cyclophosphamide in children with relapsed or refractory acute leukemias / A. Abd Elmoneim, I. Gore, R. M. Ricklis [et al.] // *Pediatr Blood Cancer.* – 2012. – Vol. 59, N 7. – P. 1252-1258.
46. Miano, M. Clofarabine, cyclophosphamide and etoposide for the treatment of relapsed or resistant acute leukemia in pediatric patients / M. Miano, A. Pistorio, M. C. Putti [et al.] // *Leuk Lymphoma.* – 2012. – Vol. 53, N 9. – P. 1693-1698. DOI: 10.3109/10428194.2012.663915.
47. Van Dalen, E.C. Cumulative incidence and risk factors of mitoxantrone-induced cardiotoxicity in children: a systematic review / E.C. Van Dalen, H. J. van der Pal, P. J. Bakker [et al.] // *Eur J Cancer.* – 2004. – Vol. 40, N 5. – P. 643–652. DOI: 10.1016/j.ejca.2003.12.006.
48. Archimbaud, E. Timed sequential chemotherapy for previously treated patients with acute myeloid leukemia: long-term follow-up of the etoposide, mitoxantrone, and cytarabine-86 trial / E. Archimbaud, X. Thomas, V. Leblond [et al.] // *J Clin Oncol.* – 1995. – Vol. 13, N 1. – P.11-18. DOI: 10.1200/JCO.1995.13.1.11.

49. Wells, R. J. Mitoxantrone and cytarabine induction, high-dose cytarabine, and etoposide intensification for pediatric patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia: Children's Cancer Group Study 2951 / R. J. Wells, M. T. Adams, T. A. Alonzo [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2003. – Vol. 21, N 15. – P. 2940-2947. DOI: 10.1200/JCO.2003.06.128.

50. Kolb, E. A. A new multidrug reinduction protocol with topotecan, vinorelbine, thiotepa, dexamethasone, and gemcitabine for relapsed or refractory acute leukemia / E. A. Kolb, P. G. Steinherz // *Leukemia.* – 2003. – Vol. 17, N 10. – P. 1967–1972. DOI: 10.1038/sj.leu.2403097.

51. Steinherz, P. G. Phase I study of gemcitabine (difluoro deoxycytidine) in children with relapsed or refractory leukemia (CCG-0955): a report from the Children's Cancer Group / P.G. Steinherz, N. L. Seibel, M. M. Ames [et al.] // *Leuk Lymphoma.* – 2002. – Vol. 43, N 10. – P. 1945–1950. DOI: 10.1080/1042819021000015880.

52. Kolitz, J. E. Consolidation outcomes in CPX-351 versus cytarabine/daunorubicin-treated older patients with high-risk/secondary acute myeloid leukemia / J. E. Kolitz, S. A. Strickland, J. E. Cortes [et al.] // *Leuk Lymphoma.* – 2019. – P. 1–10. DOI: 10.1080/10428194.2019.1688320.

53. Bengoa, Ş. Y. FLAG Regimen with or without idarubicin in children with relapsed / refractory acute leukemia: experience from a Turkish pediatric hematology center / Ş. Y. Bengoa, E. Ataseven, D. Kızmazoğlu [et al.] // *Turk J Hematol.* – 2017. – Vol. 34, N 1. – P.46–51. DOI: 10.4274/Tjh.2015.0411.

54. Kottaridis, P. D. The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials / P. D. Kottaridis, R. E. Gale, M. E. Frew [et al.] // *Blood.* – 2001. – Vol. 98, N 6. – P. 1752–1759. DOI: 10.1182/blood.v98.6.1752.

55. Frohling, S. AML Study Group Ulm. Acute myeloid leukemia. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm / S.

Frohling, R. F. Schlenk, J. Breitruck [et al.] // *Blood*. – 2002. – Vol. 100, N 13. – P.4372–4380. DOI: 10.1182/blood-2002-05-1440.

56. Smith, C. C. Validation of ITD mutations in FLT3 as a therapeutic target in human acute myeloid leukaemia / C. C. Smith, Q. Wang, C. S. Chin [et al.] // *Nature*. – 2012. – Vol. 485, N 7397. – P.260–263. DOI: 10.1038/nature11016.

57. Pratz, K. W. FLT3-mutant allelic burden and clinical status are predictive of response to FLT3 inhibitors in AML / K.W. Pratz, T. Sato, K. M. Murphy [et al.] // *Blood*. – 2010. – Vol. 115, N 7. – P.1425–1432. DOI: 10.1182/blood-2009-09-242859.

58. Wilhelm, S. Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer / S. Wilhelm, C. Carter, M. Lynch [et al.] // *Nat Rev Drug Discov*. – 2006. – Vol. 5, N 10. – P.835-844. DOI: 10.1038/nrd2130.

59. Sharma, M. Treatment of FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia relapsing after allogeneic stem cell transplantation with sorafenib / M. Sharma, F. Ravandi, U. D. Bayraktar [et al.] // *Biol Blood Marrow Transplant*. – 2011. – Vol. 17, N 12. – P. 1874-1877. DOI: 10.1016/j.bbmt.2011.07.011.

60. Zhang, W. Mutant FLT3: a direct target of sorafenib in acute myelogenous leukemia / W. Zhang, M. Konopleva, Y. X. Shi [et al.] // *J Natl Cancer Inst*. – 2008. – Vol. 100, N 3. – P.184–198. DOI: 10.1093/jnci/djm328.

61. Borthakur, G. Phase I study of sorafenib in patients with refractory or relapsed acute leukemias / G. Borthakur, H. Kantarjian, F. Ravandi [et al.] // *Haematologica*. – 2011. – Vol. 96. – P.62–68.

62. Crump, M. A randomized phase I clinical and biologic study of two schedules of sorafenib in patients with myelodysplastic syndrome or acute myeloid leukemia: a NCIC (National Cancer Institute of Canada) Clinical Trials Group Study / M. Crump, D. Hedley, S. Kamel-Reid [et al.] // *Leuk Lymphoma*. – 2010. – Vol. 51, N 2. – P. 252–260. DOI: 10.3109/10428190903585286.

63. Pratz, K. W. A pharmacodynamics study of sorafenib in patients with relapsed and refractory acute leukemias / K. W. Pratz, E. Cho, M. J. Levis [et al.] // *Leukemia*. – 2010. – Vol. 24, N 8. – P. 1437–1444. DOI: 10.1038/leu.2010.132.

64. Zauli, G. State of the art of the therapeutic perspective of sorafenib against hematological malignancies / G. Zauli, R. Voltan, V. Tisato [et al.] // *Curr Med Chem.* – 2012. – Vol. 19, N 28. – P. 4879–4884. DOI: 10.2174/092986712803341548.

65. Inaba, H. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the multikinase inhibitor sorafenib in combination with clofarabine and cytarabine in pediatric relapsed/refractory leukemia / H. Inaba, J. E. Rubnitz, E. Coustan-Smith [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2011. – Vol. 29, N 24. – P. 3293–3300. DOI: 10.1200/JCO.2011.34.7427.

66. Zarrinkar, P. P. AC220 is a uniquely potent and selective inhibitor of FLT3 for the treatment of acute myeloid leukemia (AML) / P. P. Zarrinkar, R. N. Gunawardane, M. D. Cramer [et al.] // *Blood.* – 2009. – Vol. 114, N 14. – P. 2984–2992. DOI: 10.1182/blood-2009-05-222034.

67. Cortes, J. E. Phase I study of quizartinib administered daily to patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia irrespective of FMS-like tyrosine kinase 3-internal tandem duplication status / J. E. Cortes, H. Kantarjian, J. M. Foran [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2013. – Vol. 31, N 29. – P.3681–3687. DOI: 10.1200/JCO.2013.48.8783.

68. Cortes, J. E. A phase II open-label, AC220 monotherapy efficacy (ACE) study in patients with acute myeloid leukemia (AML) with FLT3-ITD activating mutations: interim results / J. E. Cortes, A. E. Perl, H. Dohner [et al.] // *Haematologica.* – 2011. – Vol. 96. – P.1019a.

69. Borthakur, G. The combination of quizartinib with azacitidine or low dose cytarabine is highly active in patients (Pts) with FLT3-ITD mutated myeloid leukemias: interim report of a phase I/II trial / G. Borthakur, H. M. Kantarjian, S. O'Brien S. [et al.] // *Blood.* – 2014. – Vol. 124. – P. 388.

70. Alvarado, Y. Treatment with FLT3 inhibitor in patients with FLT3-mutated acute myeloid leukemia is associated with development of secondary FLT3 – tyrosine kinase domain mutations / Y. Alvarado, H. M. Kantarjian, R. Luthra [et al.] // *Cancer.* – 2014. – Vol. 120, N 14. – P.2142–2149. DOI: 10.1002/cncr.28705.

71. Albers, C. The secondary FLT3-ITD F691L mutation induces resistance to AC220 in FLT3-ITD1 AML but retains in vitro sensitivity to PKC412 and sunitinib / C.

Albers, H. Leischner, M. Verbeek [et al.] // *Leukemia*. – 2013. – Vol. 27, N 6. – P. 1416–1418. DOI: 10.1038/leu.2013.14.

72. Kampa-Schittenhelm, K. M. Quizartinib (AC220) is a potent second generation class III tyrosine kinase inhibitor that displays a distinct inhibition profile against mutant-FLT3, -PDGFRA and -KIT isoforms / K.M. Kampa-Schittenhelm, M. C. Heinrich, F. Akmut [et al.] // *Mol Cancer*. – 2013. – Vol. 12. – P.19. DOI: 10.1186/1476-4598-12-19.

73. Smith, C. C. Crenolanib is a selective type I pan-FLT3 inhibitor / C. C. Smith, E. A. Lasater, K. C. Lin [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2014. – Vol. 111, N 14. – P.5319–5324. DOI: 10.1073/pnas.1320661111.

74. Randhawa, J. K. Results of a phase II study of crenolanib in relapsed/refractory acute myeloid leukemia patients (Pts) with activating FLT3 mutations / J. K. Randhawa, H. Kantarjian, G. Borthakur [et al.] // *Blood*. – 2014. – Vol. 124, N 21. – P. 389.

75. Paschka, P. Adding dasatinib to intensive treatment in core-binding factor acute myeloid leukemia-results of the AMLSG 11-08 trial / P. Paschka, R. F. Schlenk, D. Weber [et al.] // *Leukemia*. – 2018. – Vol. 32, N 7. – P. 1621-1630. DOI: 10.1038/s41375-018-0129-6.

76. Zwaan, C. M. A phase 1/2, open-label, dose-escalation study of midostaurin in children with relapsed or refractory acute leukaemia / C.M. Zwaan, S. Söderhäll, B. Brethon // *Br J Haematol*. – 2019. – Vol. 185, N 3. – P. 623–627. DOI: 10.1111/bjh.15593.

77. Perl, A. E. Gilteritinib or chemotherapy for relapsed or refractory FLT3-Mutated AML / A.E. Perl, G. Martinelli, J. E. Cortes [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2019. – Vol. 381, N 18. – P.1728–1740. DOI: 10.1056/NEJMoa1902688.

78. Creutzig, U. Clinical significance of surface antigen expression in children with acute myeloid leukemia: results of study AML-BFM-87 / U. Creutzig, J. Harbott, C. Sperling [et al.] // *Blood*. – 1995. – Vol. 86, N 8. – P.3097–3108.

79. Feldman, E. Treatment of relapsed or refractory acute myeloid leukemia with humanized antiCD33 monoclonal antibody HuM195 / E. Feldman, M. Kalaycio,

G. Weiner [et al.] // *Leukemia*. – 2003. – Vol. 17, N 2. – P. 314–318. DOI: 10.1038/sj.leu.2402803.

80. Petersdorf S. H. A phase 3 study of gemtuzumab ozogamicin during induction and postconsolidation therapy in younger patients with acute myeloid leukemia / S. H. Petersdorf, K. J. Kopecky, M. Slovak [et al.] // *Blood*. – 2013. – Vol. 121, N 24. – P. 4854–4860. DOI: 10.1182/blood-2013-01-466706.

81. Zwaan, C. M. Gemtuzumab ozogamicin: first clinical experiences in children with relapsed/refractory acute myeloid leukemia treated on compassionate-use basis / C. M. Zwaan, D. Reinhardt, S. Corbacioglu [et al.] // *Blood*. – 2003. – Vol. 101, N 10. – P. 3868–3871. DOI: 10.1182/blood-2002-07-1947.

82. Reinhardt, D. Gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg) in children with refractory or relapsed acute myeloid leukemia / D. Reinhardt, S. Diekamp, G. Fleischhack [et al.] // *Onkologie*. – 2004. – Vol. 27, N 3. – P.269–272. DOI: 10.1159/000075606.

83. Hütter-Krönke, M. L. Salvage therapy with high-dose cytarabine and mitoxantrone in combination with all-trans retinoic acid and gemtuzumab ozogamicin in acute myeloid leukemia refractory to first induction therapy / M. L. Hütter-Krönke, A. Benner, K. Döhner [et al.] // *Haematologica*. – 2016. – Vol. 101, N 7. – P.839–845. DOI: 10.3324/haematol.2015.141622.

84. Aplenc, R. Safety and efficacy of gemtuzumab ozogamicin in combination with chemotherapy for pediatric acute myeloid leukemia: a report from the Children's Oncology Group / R. Aplenc, T. A. Alonzo, R. B. Gerbing [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2008. – Vol. 26, N 14. – P. 2390–3295. DOI: 10.1200/JCO.2007.13.0096.

85. Niktoreh, N. Gemtuzumab ozogamicin in children with relapsed or refractory acute myeloid leukemia: a report by Berlin–Frankfurt–Münster study group / N. Niktoreh, B. Lerijs, M. Zimmermann [et al.] // *Haematologica*. – 2018. – Vol. 104, N 1. – P. 120–127. DOI: 10.3324/haematol.2018.191841.

86. Cancer Genome Atlas Research Network, Ley, T. J. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia / T. J. Ley, C. Miller

[et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2013. – Vol. 368, N 22. – P.2059–2074. DOI: 10.1056/NEJMoa1301689.

87. Серегин, Г. З. Возможности эпигенетической терапии острых миелоидных лейкозов у детей / Г. З. Серегин, А. В. Лифшиц, Г. А. Алекскерова [и др.] // *Современная онкология*. – 2019. - № 4. – С.36–39.

88. Chan, S. M. Role of DNMT3A, TET2, and IDH1/2 mutations in preleukemic stem cells in acute myeloid leukemia / S.M. Chan, R. Majeti // *Int J Hematol*. – 2013. – Vol. 98, N 6. – P. 648–657. DOI: 10.1007/s12185-013-1407-8.

89. DiNardo, C. D. AG-221, an oral, selective, first-in-class, potent inhibitor of the IDH2 mutant enzyme, induced durable responses in a phase 1 study of IDH2 mutationpositive advanced hematologic malignancies / C.D. DiNardo, E.M. Stein, J. K. Altman [et al.] // *EHA Library*. – 2015. – Vol. 100710. – P. 569.

90. Galkin, M. Enasidenib in the treatment of relapsed/refractory acute myeloid leukemia: an evidencebased review of its place in therapy / M. Galkin, B. A. Jonas // *Core Evidence*. – 2019. – Vol. 14. – P. 3-17. DOI: 10.2147/CE.S172912.

91. DiNardo, C. D. Durable remissions with ivosidenib in IDH1-mutated relapsed or refractory AML / C. D. DiNardo, E. M. Stein, S. de Botton [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2018. – Vol. 378, N 25. – P. 2386-2398. DOI: 10.1056/NEJMoa1716984.

92. Schoch, C. AML with 11q23/MLL abnormalities as defined by the WHO classification: incidence, part-ner chromosomes, FAB subtype, age distribution, and prognostic impact in an unselected series of 1897 cytogenetically analyzed AML cases / C. Schoch, S. Schnittger, M. Klaus [et al.] // *Blood*. – 2003. – Vol. 102, N 7. – P. 2395–2402. DOI: 10.1182/blood-2003-02-0434.

93. Stein, E. M. Emerging therapeutic drugs for AML / E. M. Stein, M. S. Tallman // *Blood*. – 2016. – Vol. 127, N 1. – P. 71–78. DOI: 10.1182/blood-2015-07-604538.

94. Rodríguez-Paredes, M. Cancer epigenetics reaches mainstream oncology / M. Rodríguez-Paredes, M. Esteller // *Nat Med*. – 2011. – Vol. 17, N 3. – P.330-339. DOI: 10.1038/nm.2305.

95. Thomas, X. G. Results from a randomized phase III trial of decitabine versus supportive care or low-dose cytarabine for the treatment of older patients with newly diagnosed AML / X. G. Thomas, A. Dmoszynska, A. Wierzbowska [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2011. – Vol. 29 (15 Suppl.). – P. 6504.

96. Phillips, C. L. Low dose decitabine in very high risk relapsed or refractory acute myeloid leukaemia in children and young adults / C. L. Phillips, S. M. Davies, R. McMasters [et al.] // *Br J Haematol.* – 2013. – Vol. 161, N 3. – P. 406-410. DOI: 10.1111/bjh.12268.

97. Silva G., Cardoso B.A., Belo H., Almeida A.M. Vorinostat induces apoptosis and differentiation in myeloid malignancies: genetic and molecular mechanisms / G. Silva // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, №1. – P.e53766. DOI: 10.1371/journal.pone.0053766.

98. Gojo, I. Translational phase I trial of vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid) combined with cytarabine and etoposide in patients with relapsed, refractory, or high-risk acute myeloid leukemia / I. Gojo, M. Tan, H. B. Fanget [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2013. – Vol. 19, N 7. – P.1838–51. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR12-3165.

99. Garcia-Manero, G. Phase II trial of vorinostat with idarubicin and cytarabine for patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome / G. Garcia-Manero, F. P. Tambaro, N. B. Bekele [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2012. – Vol. 30, N 18. – P. 2204-2210. DOI: 10.1200/JCO.2011.38.3265.

100. Zhang, Y. Long-term follow-up of children with acute pro-myelocytic leukemia treated with Beijing Children's Hospital APL 2005 protocol (BCH-APL 2005) / Y. Zhang, L. Wang, R. Zhang [et al.] // *Pediatr Hematol Oncol.* – 2019. – Vol. 36, N 7. – P. 399–409. DOI: 10.1080/08880018.2019.1621971.

101. Küley-Bagheri, Y. Effects of all-trans retinoic acid (ATRA) in addition to chemotherapy for adults with acute myeloid leukaemia (AML) (non-acute promyelocytic leukaemia (non-APL)) / Y. Küley-Bagheri, K. A. Kreuzer, I. Monsef [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2018. – Vol. 8, N 8. DOI: 10.1002/14651858.CD011960.pub2.

102. Немировченко, В. С. Деметилирование ДНК в лечении детей с острыми миелоидными лейкозами / В. С. Немировченко, Е. В. Флейшман, О. И. Сокова [и др.] // Успехи молекулярной онкологии. – 2015. - №2(4). – С. 56-57.

103. Horton, T. MA phase 2 study of bortezomib combined with reinduction chemotherapy in children and young adults with recurrent, refractory or secondary acute myeloid leukemia: a Children's Oncology Group (COG) study [Abstract 3580] / T. M. Horton, J. Perentesis, A. S. Gamiš [et al.] // ASH Annual Meeting Abstracts. – 2012. – Vol. 120.

104. Vivier, E. Innate or adaptive immunity? / E. Vivier, D. H. Raulet, A. Moretta [et al.] // Science. – 2011. – Vol. 331, N 6013. – P.44-49. DOI: 10.1126/science.1198687.

105. Rubnitz, J. E. NKAML: a pilot study to determine the safety and feasibility of haploidentical natural killer cell transplantation in childhood acute myeloid leukemia / J. E. Rubnitz, H. Inaba, R. C. Ribeiro [et al.] // J Clin Oncol. – 2010. – Vol. 28, N 6. – P. 955–959. DOI: 10.1200/JCO.2009.24.4590.

106. Berg, M. Clinical-grade ex vivo-expanded human natural killer cells up-regulate activating receptors and death receptor ligands and have enhanced cytolytic activity against tumor cells / M. Berg, A. Lundqvist, P. Jr. McCoy [et al.] // Cytotherapy. – 2009. – Vol. 11, N 3. – P. 341–355.

107. Fujisaki, H. Expansion of highly cytotoxic human natural killer cells for cancer cell therapy / H. Fujisaki, H. Kakuda, N. Shimasaki [et al.] // Cancer Res. – 2009. – Vol. 69, N 9. – P. 4010-4017. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3712.

108. Ritchie, D. S. Persistence and efficacy of second generation CAR T cell against the LeY antigen in acute myeloid leukemia / D. S. Ritchie, P. J. Neeson, A. Khot [et al.] // Mol Ther. – 2013. – Vol.21, N 11. – P. 2122–2129. DOI: 10.1038/mt.2013.154.

109. Тяжкая, А. В. Педиатрия: учебник для студентов высших медицинских учебных заведений IV уровня аккредитации / А. В. Тяжкая, С. А. Крамарев, В. И. Петренко [и др.] // Винница: Новая книга. – 2010. №2. – С. 28-184

110. Махачева, Ф. А. Лечение острых миелоидных лейкозов у детей: современный взгляд на проблему / Ф. А. Махачева, Т. Т. Валиев // Онкогематология. – 2020. - №15 (1). – С. 10–27. DOI: 10.17650/181883462020151-1027
111. Лобанова, Т. И. Клиренс опухолевого клона у пациентов с разными молекулярно-генетическими вариантами острых миелоидных лейкозов: автореф. дис. канд. Мед. Наук: 14.01.21 — гематология и переливание крови / Т. И. Лобанова. – М., 2018. – 2-28 с.
112. Heuser, M. 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party / M. Heuser, S.D. Freeman, G.J. Ossenkoppele [et al.] // Blood — 2021. – Vol. 138, N 26. – P. 2753–2767.
113. Macedo, A. Phenotypic changes in acute myeloid leukaemia: implications in the detection of minimal residual disease / A. Macedo, J. F. San Miguel, M. B. Vidriales [et al.] // J Clin Pathol. – 1996. – Vol. 49, N 1. – P.15-18. doi: 10.1136/jcp.49.1.15. PMID: 8666678; PMCID: PMC1023150.
114. Voskova, D. Stability of leukemia-associated aberrant immunophenotypes in patients with acute myeloid leukemia between diagnosis and relapse: comparison with cytomorphologic, cytogenetic, and molecular genetic findings / D. Voskova, C. Schoch, S. Schnittger [et al.] // Cytometry B Clin Cytom. – 2004. – Vol. 62, N 1. – P. 25–38. doi: 10.1002/cyto.b.20025. PMID: 15468339.
115. Baer, M. R. High frequency of immunophenotype changes in acute myeloid leukemia at relapse: implications for residual disease detection (Cancer and Leukemia Group B Study 8361) / M. R. Baer, C. C. Stewart, R. K. Dodge [et al.] // Blood. – 2001. – Vol. 97, N 11. – P. 3574–3580.
116. Cui, W. Leukemia-associated aberrant immunophenotype in patients with acute myeloid leukemia: Changes at refractory disease or first relapse and clinicopathological findings / W. Cui, D. Zhang, M.T. Cunningham, L. Tilzer // Int. J. Lab. Hematol. – 2014. – Vol. 36, N 6. – P. 636–649.

117. Langebrake, C. Immunophenotypic differences between diagnosis and relapse in childhood AML: implications for MRD monitoring / C. Langebrake, I. Brinkmann, A. Teigler-Schlegel [et al.] // *Cytometry B. Clin. Cytom.* – 2005. – Vol. 63. – P. 1–9.