Применение малых доз децитабина с целью профилактики рецидива гемобластозов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: опыт одного центра

М.А. Илюшина, Л.Н. Шелихова, Д.А. Шашелева, Р.Д. Хисматуллина, И.П. Шипицына, Е.И. Гутовская, И.И. Калинина, А.А. Масчан, М.А. Масчан

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Пациентам с гемобластомами высокой группы риска показано выполнение трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), однако она по-прежнему ассоциирована с тяжелыми осложнениями, такими как реакция «трансплантата против хозяина» (РТПХ). Эффективный метод профилактики РТПХ – механическое удаление Т-лимфоцитов из трансплантата. Селективная деплеция лимфоцитов теоретически может снижать интенсивность реакции «трансплантат против лейкоза», нивелируя позитивные клинические эффекты, связанные с надежной профилактикой РТПХ. Один из современных подходов к увеличению противолейкемической эффективности ТГСК – поддерживающая терапия препаратами из группы гипометилаторов. Мы сообщаем результаты пилотного исследования безопасности применения децитабина у детей с острыми лейкозами после ТГСК. В исследование были включены 63 пациента с гемобластомами, трансплантированные с мая 2012 по ноябрь 2013 года: в группу «Децитабин+» – 32 пациента (14 – с ОМЛ; 12 – с ОЛЛ; 6 – с ЮММЛ); в группу «Децитабин-» – 31 (12 – с ОМЛ; 17 – с ОЛЛ; 2 – с ЮММЛ). Пациенты получали терапию препаратом децитабин в дозе 10 мг/м²/сут в течение 5 дней, 3 или 6 курсов 1 раз в 30 дней в зависимости от вида ТГСК. В нашем исследовании 2/3 курсов осложнились нейтропенией 2–3-й степени, около половины курсов – тромбоцитопенией 2–3-й степени и 33% курсов терапии – инфекционными эпизодами. Курсы проводили в амбулаторных условиях, госпитализация потребовалась в 15 эпизодах. В группе «Децитабин+» рецидив возник у 11 пациентов (медиана времени возникновения рецидива – 1,01 года); в группе «Децитабин-» – у 9 (медиана времени – 0,42 года); $p = 0,13$. Кумулятивная вероятность рецидива – 34% (95%-й ДИ: 29–73) и 28,8% (95%-й ДИ: 16–52) соответственно; $p = 0,45$. Общая выживаемость в группе «Децитабин+» – 61% (95%-й ДИ: 39–77), в группе «Децитабин-» – 54% (95%-й ДИ: 35–72); $p = 0,4$; бессобытийная выживаемость – 49% (95%-й ДИ: 30–69) и 48% (95%-й ДИ: 29–66) соответственно; $p = 0,75$. Терапию можно проводить амбулаторно при условии доступности обращения в медицинский центр. В группе пациентов с ОМЛ терапия гипометилирующим препаратом, возможно, ассоциирована с позитивными клиническими эффектами.

Ключевые слова: трансплантация гемопоэтических стволовых клеток крови, гипометилирующая терапия, посттрансплантационная терапия, терапия гипометилаторами.

Контактная информация:

Илюшина Мария Александровна, врач-гематолог, отделение трансплантации гемопоэтических стволовых клеток № 1 НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.

Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
Тел.: 8 (926) 557-3549

E-mail: maria.ilushina@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2018-17-2-59-68

Low doses of decitabine for prevention of relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a single-center experience

M.A. Ilushina, L.N. Shelikhova, D.A. Shashcheva, R.D. Khismatullina, I.P. Shipitsina, E.I. Gutovskaya, I.I. Kalinina, A.A. Maschan, M.A. Maschan

Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Relapse, graft-versus-host disease (GvHD) and GvHD-associated mortality are major obstacles to success of transplantation from allogeneic donors in children with hematologic malignancies. Negative depletion of $\alpha\beta$ (+) T-cells and CD19+ B lymphocytes, which permits to maintain mature donor-derived natural killer cells and $\gamma\delta$ (+) T cells in the graft may improve GvHD control, but decrease GVL (graft versus leukemia) effect. Additional attempts at relapse prevention may be posttransplant use of hypomethylating agents. In this article, we report the results of a pilot study of decitabine safety in children with hematologic malignancies after allogeneic HSCT in our center. A total of 63 pediatric patients with hematologic malignancies underwent allogeneic HSCT between May 2012 and November 2013 enrolled in this study. Group «Decitabine+» consisted of 32 patients (14 – AML, 12 – ALL, 6 – UMML), group «Decitabine-» 31 patients (12 – AML, 17 – ALL, 2 – UMML). Decitabine was used in low dose 10 mg/m²/day during 5 days. 32 patients received 133 courses with median number of courses 4 (2–6). Hematologic toxicity included grade IV neutropenia in 35%, grade III in 33%, grade II in 19%; grade IV thrombocytopenia in 7,6%, grade III in 7%, infections complicated in 33%. In group «Decitabine+» 11 of the 32 patients experienced disease relapse (mean of time to relapse 1 year), in group «Decitabine-» 9 patients (mean of time 0,42 y), $p = 0,13$. Decitabine can be administered to children on outpatient basis post-transplant with mostly moderate hematologic and mild visceral toxicity.

Efficacy of post-transplant decitabine can be safely evaluated in a prospective controlled trial.

Key words: hematopoietic stem cell transplantation, hypomethylating agents, post-transplant maintenance therapy in leukemia patients, therapy with hypomethylating agents.

Correspondence:

Maria A. Ilushina, MD, MD-hematologist. Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation.

Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
E-mail: maria.ilushina@gmail.com

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) – наиболее эффективный и зачастую единственный метод лечения детей с острыми лейкозами группы высокого риска и рецидивами. Выполнение трансплантации ассоциировано с рядом тяжелых побочных эффектов терапии, наиболее значимое из которых – реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Один из наиболее эффективных методов профилактики РТПХ – механическое удаление Т-лимфоцитов из трансплантата. В отделениях трансплантации НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России с 2012 года селективное удаление α/β -Т-лимфоцитов из трансплантата является базовой платформой для профилактики РТПХ при трансплантациях от неродственных и частично совместимых родственных (гаплоидентичных) доноров [1]. Применение данной технологии позволило существенно снизить частоту тяжелой РТПХ и смертность, не связанную с рецидивом заболевания. Рецидив острого лейкоза остается основной причиной неудач при выполнении ТГСК; кумулятивная вероятность рецидива может достигать 20–40% в зависимости от варианта трансплантации и остаточной массы опухоли на момент ТГСК. Противолейкемический эффект трансплантации обусловлен комбинацией высококодозной терапии и аллореактивности донорских иммунокомпетентных клеток в отношении резидуального пула лейкемических клеток. Реакция «трансплантат против лейкоза» (РТПЛ) биологически ассоциирована с более общим феноменом РТПХ, разделение этих процессов в клинике не всегда возможно.

Селективная деплеция лимфоцитов теоретически может снижать интенсивность РТПЛ, нивелируя таким образом позитивные клинические эффекты, связанные с надежной профилактикой РТПХ. Один из современных подходов к увеличению противолейкемической эффективности ТГСК – применение поддерживающей терапии препаратами из группы гипометилаторов, основные представители которой – децитабин и азацитидин. Гиперметилирование регуляторных областей – распространенный механизм сайленсинга генов в опухолях гемопоэтического происхождения [2].

Гипометилирующие препараты обладают прямым противолейкемическим действием и применяются в терапии миелодиспластических синдромов и острого миелобластного лейкоза у взрослых пациентов. Помимо непосредственного противолейкемического эффекта, *in vitro* было показано, что экспозиция к гипометилаторам может увеличивать экспрессию опухолевых антигенов на поверхности лейкемических клеток и sensibilizировать клетки опухоли к цитотоксическому воздействию эффекторов клеточного иммунитета [3].

Таким образом, при условии низкой токсичности терапии применение гипометилирующих препаратов после ТГСК могло бы способствовать преобладанию противолейкемических эффектов и увеличить суммарную терапевтическую эффективность метода ТГСК. Несмотря на существующие теоретические предпосылки к применению поддерживающей терапии гипометилирующими препаратами после ТГСК, данные о клинической эффективности и безопасности такой терапии ограничены, а в педиатрической популяции отсутствуют. Основная цель настоящего исследования – оценка безопасности применения поддерживающей терапии препаратом децитабин у детей с острыми лейкозами, получившими аллогенную ТГСК. В исследовании также дана предварительная оценка влияния гипометилирующей терапии на основные исходы ТГСК в сравнении с современной контрольной группой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование были включены 63 пациента с гемобластомами, трансплантированные в НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России с мая 2012 по ноябрь 2013 года.

В группу «Децитабин+» были включены 32 пациента: 14 – с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ); 12 – с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) и 6 – с ювенильным миеломоноцитарным лейкозом (ЮММЛ). Трансплантация от полностью совместимых неродственных доноров проведена 16 (50%) пациентам; от гаплоидентичных – 10 (31,25%); от полностью совместимых сиблингов – 6 (18,75%) пациентам.

В контрольную группу – «Децитабин-» включили 31 пациента: 12 – с ОМЛ; 17 – с ОЛЛ и 2 – с ЮММЛ. Трансплантацию от неродственного полностью совместимого донора получили 17 (55%); от гаплоидентичного родственного донора – 6 (19%) и от полностью совместимых сиблингов аллогенная ТГСК выполнена 8 (26%) пациентам. Сравнение исходных характеристик пациентов и групп приведено в *таблице 1*.

Кондиционирование. Пациентам проведено предтрансплантационное кондиционирование в составе: треосульфан в курсовой дозе 42 г/м²; мельфалан – 140 мг/м²; флударабин – 150 мг/м²; в качестве серотерапии при неродственных и гаплоидентичных ТГСК использовали антиtimoцитарный глобулин (АТГ лошадиный) в курсовой дозе 50 мг/кг. Схема кондиционирования представлена в *таблице 2*.

Трансплантат. Для трансплантации от неродственных и гаплоидентичных доноров использовали стволовые клетки периферической крови, очищенные от α/β -Т-лимфоцитов. Периферические гемопоэтические стволовые клетки были экстрагированы с

помощью афереза мононуклеаров после стимуляции донора гранулоцитарным колониестимулирующим фактором. Деpleцию α/β -Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов выполняли с помощью иммуномагнитной технологии на аппарате *CliniMACS* с использованием моноклональных антител к α/β -Т-клеточному рецептору и антигену CD19 (*Miltenyi Biotec, BergishGladbach*, Германия) в соответствии с рекомендациями производителя. При трансплантации от родственных совместимых доноров использовали нативный костный мозг.

Профилактика РТПХ. Состав посттрансплантационной фармакологической профилактики РТПХ зависел от дозы α/β -Т-клеток в трансплантате. Схема профилактики и распределение в выборке пациентов представлены в таблице 3.

Сопроводительная терапия: противогрибковая, противовирусная и профилактика пневмоцистной пневмонии. Профилактику назначали от начала проведения кондиционирования до восстановления уровня CD4 > 200 кл/мкл; CD19 > 50 кл/мкл, по данным иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови.

Таблица 1

Характеристика пациентов и сравнение показателей по группам

Параметр		Группа «Децитабин+»	Группа «Децитабин-»	P-value	
Пациенты, n		32	31		
Возраст, m (min-max), лет		9,4 (0,96–22)	10,1 (0,66–23)	0,65*	
Пол, м/д		21/12	21/10	0,93**	
Диагноз «ОМЛ»	CR1	9	7	0,95**	
	CR ≥ 2	3	3		
	AD	2	2		
Диагноз «ОЛЛ»	CR1	5	5	0,77**	
	CR ≥ 2	7	12		
	AD		1		
Диагноз «ЮММЛ»		AD	6	2	
Тип донора	MUD	16	17	0,52**	
	Haplo	10	6		
	MSD	6	8		
TCRαβ/CD19-деплеция		26	23		
CMV+/- пациенты	Pos	28	25	0,46**	
	Neg	1	6		
CMV+/- донор	Pos	20	23	0,32**	
	Neg	12	8		
Состав трансплантата CD34 × 10 ⁶ /кг, m (min-max)		9 (3,9–18,8)	10 (0,9–36,7)	0,06*	
NC × 10 ⁶ /кг, m (min-max)		6,8 (2,75–30)	6,3 (2,1–60)	0,32*	
TCRαβ × 10 ³ /кг, m (min-max)		28 (2,9–300)	20 (2,9–170)	0,26*	

* Критерий Манна-Уитни; ** χ^2 .

Таблица 2

Режим кондиционирования

Препарат	Σ дозы	Дни
Флюдарабин	150 мг/м ²	-6, -5, -4, -3, -2
Треосульфат	42 г/м ²	-5, -4, -3
Мельфалан	140 мг/м ²	-2
При неродственном или гаплоидентичном доноре +		
АТГ (лошадиный)	50 мг/кг	-10, -9

Таблица 3

Посттрансплантационная профилактика реакции «трансплантат против хозяина»

Схема профилактики РТПХ	ИК + Мтх*	Мтх**	ИК***	ИК + ММ****	ГКС	ММ	Без профилактики
Количество пациентов	10	5	10	2			5
	11	2	2	9	1	2	4

* Ингибиторы кальциневрина (циклоsporин или такролимус) + метотрексат коротким курсом. ** Метотрексат коротким курсом. *** Ингибиторы кальциневрина (циклоsporин или такролимус). **** Ингибиторы кальциневрина (циклоsporин или такролимус) + мофетил микофенолата.

Все пациенты находились в палатах с гепатофильтрами до момента приживления трансплантата, далее – при наличии клинических показаний. Всем пациентам еженедельно проводили мониторинг вирусной нагрузки: цитомегаловирус (ЦМВ), Эпштейн–Барр вирус (ЭБВ) в крови – методом количественной ПЦР; аденовирус (АДВ) – методом качественной ПЦР. Превентивная тактика терапии ЦМВ-инфекции включала назначение ганцикловира при первом положительном результате виремии после ТГСК с деплецией α/β -Т-лимфоцитов, а пациентам после классической трансплантации ГСК – при детекции вируса > 1000 копий/мл периферической крови. Отменяли препарат после двукратного отрицательного результата.

Виремия ЭБВ в крови более 10 000 копий/мл в двух последовательных анализах крови или при наличии признаков вирус-ассоциированной лимфопролиферации была показанием к терапии препаратом ритуксимаб.

Критерии приживления, диагностика РТПХ и оценка токсичности. Приживление регистрировали при наличии в трех последовательных анализах крови $> 0,5 \times 10^9$ /л нейтрофилов и $> 20,0 \times 10^9$ /л тромбоцитов без предшествующих трансфузий. Диагностику и стадирование острой РТПХ (оРТПХ) и хронической РТПХ (хРТПХ) проводили в соответствии со стандартными критериями [4]. Исследование линейного химеризма в CD3 и CD34 фракциях костного мозга выполняли ежемесячно с +30 до +180 дня, далее 1 раз в 3 мес. до +360 дня. Исследование проводили методом ПЦР с детекцией в режиме реального времени с использованием системы полиморфизмов InDel. Токсичность оценивали в соответствии с критериями CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events).

Состав экспериментальной терапии и формирование групп сравнения. Пациенты группы «Децитабин+» получали терапию препаратом децитабин в дозе 10 мг/м²/сут, 5 дней, путем внутривенной инфузии в течение часа; перед началом введения пациенты получали антиэметики. После неродственной или гаплоидентичной ТГСК пациентам планировали проведение 6 курсов терапии; после родственной полностью совместимых ТГСК – 3 курса.

Перед началом терапии необходимо было соблюдение следующих критериев:

- > 30 дней после ТГСК;
- удовлетворительная функция трансплантата: лейкоциты $> 1 \times 10^9$ /л; нейтрофилы $> 0,5 \times 10^9$ /л; тромбоциты $> 30,0 \times 10^9$ /л; гемоглобин > 95 г/л;
- отсутствие клинических и лабораторных признаков инфекции;
- отсутствие проявлений острой или хронической РТПХ > 1 -й стадии.

Пациенты контрольной группы не выполняли критерии включения в экспериментальную группу по следующим причинам: развитие оРТПХ 2–4-й стадии – 22 (71%) случаев; инфекционных осложнений после ТГСК – 7 (23%); рецидив на ранних сроках – 1 (3%); инициальный диагноз с благоприятным прогнозом (ОМЛ с инверсией 16) – 1 (3%) случай.

Статистический анализ. Обработку данных проводили с помощью программ Excel и XLSTAT (Addinsoft, Париж, Франция); сравнительный статистический анализ групп – методами Манна–Уитни и χ^2 . Получены значения $p > 0,05$, а значит, нет достаточных оснований считать выборки различными по параметрам, приведенным в таблице 1, и соответственно, группы «Децитабин+» и «Децитабин-» можно сравнить по основным исходам терапии.

Анализ выживаемости проводили с помощью метода Каплана–Майера. При расчете бессобытийной выживаемости событием считали рецидив основного заболевания или смерть от любой причины. Для расчетов рисков рецидива основного заболевания, развития острой и хронической РТПХ, трансплантационной смертности построили кривые кумулятивной вероятности, при этом для каждого основного события было принято конкурирующее событие: для рецидива основного заболевания – смерть от любой причины в ремиссии; для оРТПХ – рецидив заболевания или смерть до 100-го дня. Анализ выживаемости выполняли отдельно для группы пациентов с ОЛЛ и ОМЛ; пациентов с ЮММЛ не учитывали при анализе выживаемости.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общие клинические результаты ТГСК. Приживление трансплантата зафиксировано у 100% пациентов; медиана приживления лейкоцитарного

ростка – 16,5 (от 9 до 33) дня; тромбоцитарного – 16 (от 10 до 63) дней. Трансплантационная смертность к 100-му дню – 0%.

Безопасность экспериментальной терапии.

С мая 2012 по ноябрь 2013 года 32 пациента получили 133 курса децитабина. Медиана количества проведенных курсов – 4 (от 2 до 6). Медиана времени от ТГСК до начала 1 курса – 47 (от 31 до 127) дней; медиана интервала между курсами – 37,5 (от 25 до 95) дня. При оценке токсичности за 100% приняты 133 проведенных курса.

Посттрансплантационную терапию и терапию осложнений проводили на базе отделения «Стационар кратковременного лечения». Изолированной фебрильной нейтропенией осложнились 9 (7%) курсов у 6 пациентов; клиническими признаками инфекций – 35 (26%) курсов у 22 пациентов. Таким образом, 33% курсов осложнились инфекционными эпизодами, требовавшими системной антимикробной терапии. Инфекциями 1-й степени осложнились 16 (12%) курсов у 12 пациентов; инфекционные осложнения 2-й степени зарегистрированы после 16 (12%) курсов у 14 пациентов; инфекционные осложнения 3-й степени – после 12 (9%) курсов у 8 пациентов. Локализация очагов инфекций представлена в таблице 4. Госпитализация в круглосуточный стационар потребовалась в 15 (11,3%) эпизодах у 11 пациентов при развитии инфекционных осложнений 2–3-й степени. Назначение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора требовалось после 21 (15,8%) курса децитабина 9 пациентам: после 14 (10,5%) курсов – 8 пациентам в связи с инфекционными осложнениями 2–3-й степени; после 7 (5,3%) курсов – 6 пациентам из-за длительной (более 10 дней) нейтропении.

Висцеральная токсичность зарегистрирована после 33 (25%) курсов: изолированная печеночная токсичность – после 16 (12%) курсов у 8 пациентов в виде синдрома цитолиза (повышение трансми-

наз до 2-й степени); почечная токсичность – после 10 (7,5%) курсов у 7 пациентов в виде транзиторной азотемии 1-й степени; комбинированная печеночная и почечная токсичность – после 7 (5,3%) курсов у 4 пациентов.

Ни одного случая смертельного исхода, непосредственно связанного с введением децитабина, не зарегистрировано, однако один пациент погиб в связи с развитием полиорганной недостаточности, возникшей на фоне генерализованной вирусной инфекции (ЭБВ, ЦМВ, АДВ). Смерть наступила на 220-й день после ТГСК, через 140 дней после 2-го курса децитабина.

Причины сокращения объема запланированной посттрансплантационной терапии. У части пациентов число курсов терапии децитабином было сокращено. В подгруппе пациентов с ОЛЛ (n = 12) было три таких случая – в связи с длительной нейтропенией в сочетании с инфекционными эпизодами; три случая – из-за рецидива основного заболевания; один случай (указан выше) связан с генерализованной инфекцией. Для пациентов с ЮММЛ (n = 6) причинами приостановки дальнейшего проведения курсов были два случая рецидива заболевания и два случая длительной нейтропении. В подгруппе пациентов с ОМЛ (n = 14): два случая – в связи длительной нейтропенией; один случай – из-за рецидива основного заболевания; один случай связан с выраженным смещением химеризма и переходом на терапию с инфузиями донорских лимфоцитов; еще один – с развитием тяжелой инфекции.

Гематологическая токсичность. Нейтропения зарегистрирована после 118 (89%) курсов терапии децитабином: 46 (35%) проведенных курсов у 22 пациентов осложнились нейтропенией 3-й степени; 48 (36%) курсов у 25 пациентов – нейтропенией 2-й степени; 24 (18%) курса у 13 пациентов – нейтропенией 1-й степени; после 15 (11%) курсов у 8 пациентов нейтрофилы оставались в пределах нормальных

Таблица 4

Инфекционные осложнения

Локализация очага	Количество эпизодов, назначение АБ-терапии	Госпитализация в стационар (3–4-я степень)
Дыхательные пути	12	
ЖКТ	12	7
Мочевыводящие пути	2	
Блефарит	1	1
Гингивит	3	
Сепсис	7	7
Микробиологическая верификация		
Грам+ (стафилококк spp)	2	
Грам- (синегнойная палочка)	1	

Рисунок 1

Гематологическая токсичность: нейтропения

Рисунок 2

Гематологическая токсичность: тромбоцитопения

значений. Медиана длительности нейтропении – 7 (от 0 до 29) дней (рис. 1).

Тромбоцитопенией осложнились 49 (37%) курсов терапии децитабином: 3-й степени – 12 (9%) курсов у 6 пациентов; 2-й степени – 21 (16%) курс у 13 пациентов и 1-й степени – 16 (12%) курсов у 12 пациентов. Нормальные показатели содержания тромбоцитов сохранялись после 84 (63%) курсов у 25 пациентов. Медиана длительности тромбоцитопении – 8 (от 0 до 35) дней (рис. 2). Заместительные трансфузии тромбоконцентрата выполняли после 10 (7,5%) курсов 7 пациентам, в том числе в двух случаях – по причине носового кровотечения, в одном – при подготовке пациента к колоноскопии.

Рисунок 3

Надир лейкоцитов после каждого курса децитабина

Рисунок 4

Надир тромбоцитов после каждого курса децитабина

Рисунок 5

Общая выживаемость

Рисунок 6

Бессобытийная выживаемость

Рисунок 7

Общая выживаемость в группе ОМЛ

Рисунок 8

Бессобытийная выживаемость в группе ОМЛ

Анемия 3-й степени наблюдалась после 7 (5,3%) курсов у 4 пациентов; 2-й степени – после 16 (12%) курсов у 12 пациентов; 1-й степени – после 47 (35,3%) курсов у 23 пациентов; снижение гемоглобина не отмечено после 63 (47,4%) проведенных курсов. Зависимость от трансфузий наблюдалась в 15 (11,3%) эпизодах у 8 пациентов.

На рисунках 5, 6 видно, что накопительной гематологической токсичности нет. На рисунках 3, 4 представлены минимальные значения лейкоцитов и тромбоцитов у каждого пациента после каждого курса.

Эффективность терапии

Вся группа. За 3-летний период наблюдения (медиана – 2,42 года) во всей группе пациентов с острыми лейкозами ($n = 55$) рецидив заболевания зафиксирован у 20 человек: в группе «Децитабин+» – у 11 (медиана времени возникновения рецидива – 1 год); в группе «Децитабин-» – у 9 (медиана – 0,42 года); $p = 0,13$. Кумулятивная вероятность рецидива составила 34% (95%-й ДИ: 29–73) и 29% (95%-й ДИ: 16–52) соответственно; $p = 0,45$. Общая выживаемость (медиана наблюдения – 2 года) в группе «Децитабин+» – 61% (95%-й ДИ: 39–77); в группе «Децитабин-» – 54% (95%-й ДИ: 35–72); $p = 0,4$. Бессобытийная выживаемость в группе «Децитабин+» – 49% (95%-й ДИ: 30–69); в группе «Децитабин-» – 48% (95%-й ДИ: 29–66); $p = 0,75$ соответственно (рис. 5, 6).

Кумулятивная вероятность возникновения ОРТПХ в группе «Децитабин+» закономерно ниже, учитывая правила отбора пациентов, по сравнению с группой «Децитабин-»: ДИ – 26% (95%-й ДИ: 14–50) и ДИ – 69% (95%-й ДИ: 54–88) соответственно ($p = 0,34$).

В группе «Децитабин+» кумулятивная вероятность хронической РТПХ ниже, чем в группе «Децитабин-»: ДИ – 19% (95%-й ДИ: 9–48) и ДИ – 48% (95%-й ДИ: 33–69) соответственно ($p = 0,007$).

Из 6 пациентов с диагнозом «ЮММЛ» рецидивировали 3 человека; четверо на момент написания статьи находятся в полной продолжительной ремиссии. Принимая во внимание различия в биологии заболевания и потенциальной роли различных компонентов трансплантационной терапии в контроле заболевания, был выполнен анализ исходов в основных подгруппах.

Острый миелобластный лейкоз. Общая выживаемость (медиана наблюдения – 2 года) в группе «Децитабин+» – 71% (95%-й ДИ: 48–95); в группе «Децитабин-» – 50% (95%-й ДИ: 22–78); $p = 0,066$ (рис. 7). Бессобытийная выживаемость в группе «Децитабин+» – 64% (95%-й ДИ: 40–89); в группе «Децитабин-» – 38% (95%-й ДИ: 7,5–68); $p = 0,19$ (рис. 8); кумулятивный риск рецидива –

Рисунок 9

Кумулятивный риск развития острой РТПХ 2–4-й стадии

28% (95%-й ДИ: 12–65) и 37,5% (95%-й ДИ: 18–84) соответственно. Медиана времени до возникновения рецидива основного заболевания в группе «Децитабин+» – 1 год; в группе «Децитабин-» – 0,54 года ($p = 0,48$); трансплантационная смертность (ТАС) – 7% (95%-й ДИ: 1–54) и 25% (95%-й ДИ: 10–64) соответственно.

Острый лимфобластный лейкоз. В группе «Децитабин+» у пациентов с ОЛЛ общая выживаемость составила 41% (95%-й ДИ: 14–70); в группе «Децитабин-» – 58% (95%-й ДИ: 34–81), $p = 0,55$; бессобытийная выживаемость – 33% (95%-й ДИ: 7–60) и 53% (95%-й ДИ: 29–77); $p = 0,4$ соответственно. Медиана времени до возникновения рецидива основного заболевания в группе «Децитабин+» – 0,94 года; в группе «Децитабин-» – 0,42 года. Кумулятивный риск рецидива в группе «Децитабин+» – 58% (95%-й ДИ: 36–94); в группе «Децитабин-» – 23% (95%-й ДИ: 10–55); кумулятивный риск ТАС – 16% (95%-й ДИ: 5–56) и 23% (95%-й ДИ: 10–55) соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обоснование деплеции. Несмотря на высокую терапевтическую эффективность ТГСК, применение данной технологии ограничено риском серьезных побочных эффектов и смерти пациентов. Наиболее существенными причинами трансплантационной смертности остаются токсичность кондиционирования, РТПХ и продленное иммунодефицитное состояние, ведущее к развитию тяжелых инфекционных осложнений. Эти последствия наглядно продемонстрированы в исследовании AIEOP [5], целью которого была оценка трансплантат-ассоциированной токсичности и смертности среди педиатрической

Рисунок 10

Кумулятивный риск трансплантационной смертности

группы пациентов. В это исследование были включены 636 пациентов после ТГСК, проведенной по поводу острого лейкоза в 13 трансплантационных центрах: 216 аутологичных трансплантаций, 420 – аллогенных, 294 из которых выполнены от совместимых родственных доноров и 126 – от альтернативных доноров. Трехлетняя бессобытийная выживаемость составила 45%, ранняя смертность – 19%; медиана времени – 60 дней после ТГСК. Трансплантационная смертность была практически в два раза выше среди пациентов с 3–4-й стадией РТПХ (59%) по сравнению с группой пациентов с 0–2-й стадией (19%).

За последнее десятилетие снижение трансплантационной ассоциированной смертности было достигнуто за счет контролируемой редукции интенсивности режимов кондиционирования, улучшения сопроводительной терапии и разработки новых методов процессинга трансплантата. Один из наиболее перспективных методов процессинга трансплантата гемопоэтических клеток – деплеция TCR $\alpha\beta$ -позитивных Т-лимфоцитов [6], которая позволяет сохранить в трансплантате миелоидные предшественники, НК-клетки и $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты, обеспечивающие приживление и не обладающие выраженной алло-реактивностью. Данный метод позволяет уменьшить риск РТПХ и ускорить иммунореактивацию, однако теоретически селективная деплеция Т-лимфоцитов может повлиять на уменьшение противоопухолевой активности, что доказано в случае хронического миелобластного лейкоза [7]. В отношении острого лейкоза доказательства менее убедительны, однако риск рецидивов после ТГСК сохраняется на уровне 20–40%, а прогноз терапии рецидива после ТГСК остается крайне неблагоприятным, что обуславливает необходимость разработки новых стратегий контроля лейкоза после ТГСК.

Эпигенетические механизмы развития лейкозов у детей. За прошедшее десятилетие накоплен большой объем данных о роли эпигенетических механизмов в канцерогенезе, в частности, в лейкогенезе у детей. Гиперметилирование промоторных областей генов-онкосупрессоров – один из основных эпигенетических механизмов выключения генов, регулирующих пролиферацию, дифференцировку и апоптоз опухолевых клеток [8, 9]. Наиболее распространенными мишенями для метилирования считаются гены *TAL1*, *ERHV-3*, *CDKN2A*, *CALCA* и *p15* [10]. В одном из исследований [11] проводили систематическую оценку статуса метилирования гена *CALCA* при остром лейкозе у детей. Было обнаружено, что ген *CALCA* гиперметилирован в 54,3% ОМЛ и в 65,7% ОЛЛ. Гиперметилирование коррелировало с достоверно большей частотой рецидивов – у 63,2% (12 из 19) пациентов с ОМЛ с найденным гиперметилированием гена *CALCA* по сравнению с 18,7% (3 из 16) пациентов с гипометилированным геном ($p = 0,01$). Аналогично 73,9% (17 из 23) пациентов с ОЛЛ с гиперметилированием гена *CALCA* развили рецидив по сравнению с 16,7% (2 из 12) пациентов с гипометилированным геном ($p = 0,004$). Принимая во внимание потенциальную обратимость эпигенетических изменений, они представляют интерес как мишени для воздействия лекарственных препаратов.

Исследования терапии гипометилирующими агентами при гемобластозах ведут давно [12]. В основном данную группу препаратов используют для терапии миелодиспластического синдрома у взрослых [13]. По данным мультицентрового исследования в группе пациентов старше 60 лет, доза децитабина (10 мг/м^2) оказалась оптимальной в отношении токсичности и эффективности [14]. В контексте ТГСК гипометилирующие препараты (азацитидин, децитабин) исследуют в режиме монотерапии либо в комбинации с инфузиями донорских лимфоцитов в посттрансплантационном периоде. Так, в одном из исследований [15] изучали комбинированную терапию гипометилаторами и инфузиями донорских лимфоцитов при рецидиве ОМЛ/МДС после ТГСК. Были запланированы 6 курсов гипометилирующей терапии и инфузии донорских лимфоцитов. На момент трансплантации 16 (53%) пациентов находились в продвинутой стадии болезни: полной ремиссии достигли 7 (23%); у 2 (7%) была достигнута частичная ремиссия; прогрессия отсутствовала у 17%; 5 из 7 пациентов сохранили полную ремиссию (медиана времени наблюдения – 777 дней). Гематологическая токсичность после 112 курсов гипометилирующей терапии была представлена нейтропенией, тромбоцитопенией и анемией; токсичность 3–4 степени наблюдалась после 65; 63 и 33% курсов соответственно. Висцеральная токсичность практически не зарегистрирована.

Инфекционные осложнения включали локальные кожные инфекции и нетяжелые гастроэнтероколиты.

Несмотря на отдельные успешные результаты, в педиатрической популяции рецидивы гемобластов после ТГСК практически не поддаются терапии. В этой связи перспективным подходом представляется профилактическая терапия в группе пациентов с высоким риском рецидива после ТГСК.

Безопасность. В нашем исследовании использован препарат децитабин в режиме монотерапии. Целью исследования в первую очередь была оценка токсичности в группе крайне уязвимых пациентов после ТГСК. Токсичность в основном проявлялась транзиторным снижением гематологических показателей. Две трети проведенных курсов осложнились нейтропенией 2–3-й степени и около половины курсов – тромбоцитопенией 2–3-й степени. Однако длительность нейтропении и тромбоцитопении была незначительной, что позволяло проводить терапию в амбулаторных условиях. Анафилактических реакций не зафиксировано. Дополнительного введения антиэметиков не потребовалось. Не было отмечено выраженной висцеральной токсичности. Причинами, приводившими к отмене или отсрочке проведения курсов, были инфекционные осложнения, гипофункция трансплантата и рецидив основного заболевания. Госпитализация в стационар потребовалась при развитии инфекционных осложнений 2–3-й степени в 15 (11%) эпизодах из общего числа проведенных курсов.

Эффективность. В исследовательской и контрольной группах общая, бессобытийная и безрецидивная выживаемость всех пациентов существенно не отличались. В группе «Децитабин+» достоверно отличается кумулятивная частота оРТПХ, что обусловлено критериями отбора пациентов в экспериментальную группу (рис. 9). Вероятно, развитие оРТПХ оказало влияние на увеличение кумулятивного риска трансплантационной смертности в группе «Децитабин+» (рис. 10).

Анализ в подгруппах. В группе «Децитабин+» у пациентов с диагнозом «ОМЛ» отмечен тренд к улучшению общей и бессобытийной выживаемости при меньшей частоте РТПХ и меньшем кумулятивном риске трансплантат-ассоциированной смертности. Это косвенно подтверждает гипотезу о том, что применение гипометилирующей терапии может компенсировать сниженный противолейкемический потенциал трансплантата, обусловленный Т-деплецией и низкой частотой РТПХ.

У пациентов с диагнозом «ОЛЛ» при сравнении групп «Децитабин+» и «Децитабин-» нет статистически достоверных различий, однако визуально кривые не свидетельствуют в пользу группы «Децитабин+». Вероятно, в отсутствие тотального облучения тела в кондиционировании аллореактивность, ассоции-

рованная с РТПХ/РТПЛ, продолжает играть важную роль в контроле лейкемии, и терапия гипометилантами не компенсирует отсутствие аллореактивности в этой группе пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение эпигенетической терапии препаратом децитабин в дозе 10 мг/м² × 5 дней в группе детей после ТГСК не приводит к увеличению госпитального периода пациентов. Терапию можно проводить амбулаторно при условии доступности медицинского центра, где возможно назначение антибактериальной и трансфузионной терапии. В группе пациентов с ОМЛ терапия гипометилирующим препаратом, возможно, ассоциирована с позитивными клиническими

эффектами, однако место этой терапии должно быть установлено на основании проспективных сравнительных исследований.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Л.Н. Шелихова <https://orcid.org/0000-0003-0520-5630>

И.П. Шипицына <http://orcid.org/0000-0001-8687-5497>

Е.И. Гутовская <http://orcid.org/0000-0002-3800-8927>

И.И. Калинина <http://orcid.org/0000-0002-0813-5626>

А.А. Масчан <http://0000-0002-0016-6698>

М.А. Масчан <http://orcid.org/0000-0003-1735-0093>

Литература

- Maschan M., Shelikhova L., Ilushina M., et al. TCR-alpha/beta and CD19 depletion and treosulfan-based conditioning regimen in unrelated and haploidentical transplantation in children with acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51: 668–74.
- Herman J.G., Baylin S.B. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med* 2003; 349: 2042–54.
- Egger G., Liang G., Aparicio A., Jones P.A. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 2004; 429: 457–63.
- Przepiorka D., Weisdorf D., Martin P., et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15: 825–8.
- Balduzzi A., Valsecchi M.G., Silvestri D., et al. Transplant-related toxicity and mortality: an AIEOP prospective study in 636 pediatric patients transplanted for acute leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29: 93–100.
- Handgretinger R. New approaches to graft engineering for haploidentical bone marrow transplantation. *Semin Oncol* 2012; 39: 664–73.
- Kolb H.J., Schattenberg A., Goldman J.M., et al. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood* 1995; 86: 2041–50.
- Jones P.A., Baylin S.B. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* 2002; 3: 415–28.
- Kroger N., Stubig T., Atanackovic D. Immune-modulating drugs and hypomethylating agents to prevent or treat relapse after allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20: 168–72.
- Hale V., Hale G.A., Brown P.A., Amankwah E.K. A Review of DNA Methylation and microRNA Expression in Recurrent Pediatric Acute Leukemia. *Oncology* 2017; 92: 61–7.
- Ismail E.A., El-Mogy M.I., Mohamed D.S., El-Farrash R.A. Methylation pattern of calcitonin (CALCA) gene in pediatric acute leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2011; 33: 534–42.
- Wijermans P., Lubbert M., Verhoef G., et al. Low-dose 5-aza-2'-deoxycytidine, a DNA hypomethylating agent, for the treatment of high-risk myelodysplastic syndrome: a multicenter phase II study in elderly patients. *J Clin Oncol* 2000; 18: 956–62.
- Kaminskas E., Farrell A.T., Wang Y.C., et al. FDA drug approval summary: azacitidine (5-azacytidine, Vidaza) for injectable suspension. *Oncologist* 2005; 10: 176–82.
- Issa J.P., Garcia-Manero G., Giles F.J., et al. Phase 1 study of low-dose prolonged exposure schedules of the hypomethylating agent 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine) in hematopoietic malignancies. *Blood* 2004; 103: 1635–40.
- Schroeder T., Czibere A., Platzbecker U., et al. Azacitidine and donor lymphocyte infusions as first salvage therapy for relapse of AML or MDS after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia* 2013; 27: 1229–35.