

© 2022 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 21.04.2022
Принята к печати 13.05.2022

DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-2-32-41

Опыт применения терапии 5-азацитидином, бортезомибом и вальпроевой кислотой в целях профилактики рецидива лейкемии у детей после трансплантации гемопозитических стволовых клеток на платформе деплеции $\alpha\beta$ -Т- лимфоцитов

М.А. Илюшина, Л.Н. Шелихова, Д.А. Шашелева, Р.Д. Хисматуллина,
С.Л. Благоев, А.А. Масчан, М.А. Масчан

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

Контактная информация:
Илюшина Мария Александровна,
врач-гематолог отделения
трансплантации гемопозитических
стволовых клеток №1
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: maria.ilushina@gmail.com

Трансплантация гемопозитических стволовых клеток (ТГСК) от аллогенного донора – стандартный метод терапии лейкозов высокой группы риска, позволяющий излечивать пациентов с лейкозами, резистентными к программной химиотерапии. Ключевой биологической и клинической проблемой ТГСК остается реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ). В НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с 2012 г. в качестве платформы для профилактики РТПХ при ТГСК использовалась *ex vivo* деплеция $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов. Успешное применение данного подхода к профилактике РТПХ позволило снизить риск клинически значимой острой и хронической РТПХ до 15–20%, а трансплантационную смертность до 5–10%. Риск рецидива гемобластоза составляет 20–30%, а при выполнении ТГСК вне ремиссии достигает 50%. В лейкогенезе установлена роль эпигенетических механизмов в формировании опухолевого фенотипа и предложены фармакологические подходы. К новым классам препаратов относятся ингибиторы протеасомы, такие как бортезомиб. Относительно небольшая токсичность эпигенетической терапии и ингибитора протеасомы делает их использование в посттрансплантационном периоде привлекательным подходом в профилактике рецидивов. Применение профилактической терапии после ТГСК рассматривалось нами как один из возможных подходов, направленных на снижение частоты рецидивов. В настоящей работе исследуется комбинация гипометилирующей терапии (азацитидин), HDAC-ингибитора (вальпроевая кислота) и ингибитора протеасомы (бортезомиб). Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Циклы комбинированной терапии выполнялись после приживления трансплантата и у части пациентов сопровождалась инфузией модифицированных донорских лимфоцитов, обогащенных NK-клетками либо Т-лимфоцитами памяти. В исследуемую группу включены 35 пациентов детского возраста с гемобластозами, получивших ТГСК в период с марта 2013 г. по ноябрь 2016 г. Медиана возраста 6,9 года. У 23 пациентов выявлен острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), у 11 – острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), в 1 случае – ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (ЮММЛ). У 21 пациента на момент ТГСК сохранялась полная клинико-гематологическая ремиссия, у 14 больных (ОМЛ – 12, ОЛЛ – 1, ЮММЛ – 1) трансплантация выполнена вне ремиссии. Кондиционирование выполнялось на основе треоосульфана и мелфалана ($n = 26$), тиотепы ($n = 8$) или этопозида ($n = 1$). Посттрансплантационная химиотерапия включала азацитидин в дозе 30 мг/м² внутривенно в течение 5 дней, бортезомиб в дозе 1,3 мг/м² подкожно (№2), вальпроевую кислоту по 250 мг 3 раза в сутки *per os* (№6). Было запланировано проведение 3 курсов с перерывом 30 дней. Инфузия донорских лимфоцитов проводилась на 7-й день от начала блока. Проведено 92 курса после ТГСК. Основным побочным явлением терапии была гематологическая токсичность. Транзиторная висцеральная токсичность зарегистрирована после 46 (50%) курсов. Ни одного случая развития острой РТПХ после инфузии донорских лимфоцитов зафиксировано не было. На момент анализа медиана наблюдения составила 6,5 года. Кумулятивный риск развития острой РТПХ II–IV стадии составил 19% (95% доверительный интервал (ДИ) 12–32). Рецидив основного заболевания развился у 19 пациентов с медианой 6 мес от ТГСК. Шестнадцать пациентов умерли от прогрессии основного заболевания или последующей терапии, медиана 11,76 мес. Кумулятивная вероятность развития рецидива составила 54% (95% ДИ 40–73). Для группы трансплантированных в статусе клинико-гематологической ремиссии – 48% (95% ДИ 30–75), для трансплантированных вне ремиссии – 64% (95% ДИ 43–95). Бессобытийная выживаемость во всей группе составила 46% (95% ДИ 29–62), 52% (95% ДИ 31–73) у пациентов, трансплантированных в ремиссии, и 36% (95% ДИ 10–60) при ТГСК вне ремиссии. Случаев смерти от осложнений ТГСК, не связанных с рецидивом заболевания, в исследуемой группе зарегистрировано не было. В группе пациентов с ОМЛ кумулятивный риск рецидива составил 45% (95% ДИ 40–74) в группе клинико-гематологической ремиссии, тогда как для продвинутой стадии болезни на момент проведения ТГСК – 58% (95% ДИ 36–94). Общая выживаемость составила 53% (95% ДИ 31–73), 63% (95% ДИ 35–92) для пациентов, трансплантированных в ремиссии, и 41%

(95% ДИ 14–70) для получивших ТГСК вне ремиссии. Бессобытийная выживаемость составила 54% (95% ДИ 30–62) для группы ремиссии и 41% (95% ДИ 14–69) для группы рецидива. При ОЛЛ кумулятивный риск рецидива составил 54% (95% ДИ 31–93), общая выживаемость – 72% (95% ДИ 46–91), бессобытийная выживаемость – 45% (95% ДИ 16–75). Оценивая в целом опыт проведения профилактической терапии на основе децитина и азациитидина после ТГСК с деплецией $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов, полагаем, что данный подход следует рассматривать как сугубо экспериментальный и допустимый к использованию в рамках проспективных клинических исследований в четко очерченных когортах пациентов.

Ключевые слова: трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, $\alpha\beta$ -деплегия, превентивная посттрансплантационная терапия рецидива, острый миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз

Илюшина М.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2022; 21 (2): 32–41. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-2-32-41

Experience in the use of 5-azacytidine, bortezomib and valproic acid for the prevention of leukemia relapses in children after $\alpha\beta$ -T cell-depleted hematopoietic stem cell transplantation

M.A. Ilyushina, L.N. Shelikhova, D.A. Shasheleva, R.D. Khismatullina, S.L. Blagov, A.A. Maschan, M.A. Maschan

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

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) from an allogeneic donor is a standard treatment for high-risk leukemia that makes it possible to cure patients with chemotherapy-resistant leukemia. "Graft-versus-host" disease (GVHD) is the key biological and clinical problem associated with HSCT. *Ex vivo* depletion of $\alpha\beta$ -T cells has been used at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology since 2012 as a means to prevent GVHD after HSCT. The successful application of this approach to GVHD prevention has reduced the risk of clinically significant acute GVHD and chronic GVHD to 15–20%, and transplant-related mortality – to 5–10%. The risk of relapse is 20–30%, but when HSCT is performed in active disease, it increases to 50%. The role of epigenetic mechanisms in the formation of the tumor phenotype has been established, and pharmacological approaches have been proposed. New drug classes include proteasome inhibitors such as bortezomib. The relatively low toxicity of epigenetic therapy and proteasome inhibitors makes their use in the post-transplant period an attractive approach to relapse prevention. We regarded prophylaxis after HSCT as one of the possible approaches that could help reduce relapse rate. Here we explore the effects of hypomethylation therapy (azacitidine) combined with an HDAC inhibitor (valproic acid) and a proteasome inhibitor (bortezomib). The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology. Combination therapy cycles were carried out after engraftment and in some patients, were accompanied by infusions of modified donor lymphocytes enriched in NK cells or memory T cells. The experimental group included 35 pediatric patients with hemoblastoses who had received HSCT from March 2013 to November 2016. The median age was 6.9 years. Twenty-three children had acute myeloid leukemia (AML), 11 patients – acute lymphoblastic leukemia (ALL), and one patient was diagnosed with juvenile myelomonocytic leukemia (JMML). Twenty-one patients were in complete clinical and hematologic remission at the time of HSCT while 14 patients (AML – 12, ALL – 1, JMML – 1) underwent HSCT in active disease. The patients were conditioned with treosulfan and melphalan ($n = 26$), thiopeta ($n = 8$), or etoposide ($n = 1$). Post-transplantation chemotherapy included azacitidine at a dose of 30 mg/m² IV for 5 days, bortezomib at a dose of 1.3 mg/m² s.c. (No. 2), and valproic acid at a dose of 250 mg 3 times a day *p.o.* (No. 6). The patients were planned to receive 3 cycles of post-transplantation chemotherapy with a break of 30 days between each treatment. Donor lymphocyte infusions were given on Day 7 of each cycle. A total of 92 cycles were conducted after HSCT. The most common side effect of treatment was hematologic toxicity. Transient visceral toxicity was registered after 46 (50%) chemotherapy cycles. There were no cases of acute GVHD after donor lymphocyte infusions. At the time of the analysis, the median follow-up was 6.5 years. The cumulative risk of grade II–IV acute GVHD was 19% (95% confidence interval (CI) 12–32). Nineteen patients relapsed at a median of 6 months after HSCT. Sixteen patients died of disease progression or complications related to subsequent treatment at a median of 11.76 months. The cumulative probability of relapse was 54% (95% CI 40–73). The cumulative probability of relapse in the patients transplanted in clinical and hematologic remission and those in active disease was 48% (95% CI 30–75) and 64% (95% CI 43–95), respectively. The event-free survival in the entire group of patients was 46% (95% CI 29–62). The event-free survival rates in the patients transplanted in remission and in active disease were 52% (95% CI 31–73) and 36% (95% CI 10–60), respectively. There were no deaths of complications of HSCT that were not associated with the recurrence of the disease in the experimental group. The cumulative risk of relapse among the AML patients in clinical and hematologic remission at the time of HSCT and those with advanced stage of the disease was 45% (95% CI 40–74) and 58% (95% CI 36–94), respectively. The overall survival was 53% (95% CI 31–73); the overall survival for the patients transplanted in remission and those who received HSCT in active disease was 63% (95% CI 35–92) and 41% (95% CI 14–70), respectively. The event-free survival was 54% (95% CI 30–62) in the remission group and 41% (95% CI 14–69) in the relapse group. In the ALL patients, the cumulative risk of relapse was 54% (95% CI 31–93); the overall and event-free survival rates were 72% (95% CI 46–91) and 45% (95% CI 16–75), respectively. Our analysis of the overall experience of prophylactic treatment with decitabine and azacitidine after $\alpha\beta$ -T cell-depleted HSCT suggests that this approach should be considered purely experimental and acceptable for prospective clinical studies in clearly defined cohorts of patients.

Key words: hematopoietic stem cell transplantation, $\alpha\beta$ depletion, prevention of relapse after transplantation, acute myeloid leukemia, acute lymphoblastic leukemia

Ilyushina M.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2022; 21 (2): 32–41. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-2-32-41

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) от аллогенного донора – стандартный метод терапии лейкозов высокой группы риска, позволяющий излечивать пациентов с лейкозами, резистентными к программной химиотерапии. Терапевтический эффект аллогенной ТГСК складывается из прямого цитотоксического действия высокодозной химиотерапии и/или лучевой терапии,

а также из комплексного иммуноопосредованного эффекта, обозначаемого как реакция «трансплантат против лейкемии» (РТПЛ). Несмотря на полувековую историю развития технологии ТГСК и существенный прогресс во всех ее сегментах, определенная доля пациентов сталкивается с серьезными осложнениями и неудачей ТГСК. Ключевой биологической и клинической проблемой ТГСК остается реакция

© 2022 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 21.04.2022

Accepted 13.05.2022

Correspondence:

Maria A. Ilyushina, a hematologist at Department of Hematopoietic Stem Cell Transplantation No. 1, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation Address: 1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia E-mail: maria.ilyushina@gmail.com

«трансплантат против хозяина» (РТПХ) – феномен, обусловленный распознаванием несовместимых антигенов реципиента иммунокомпетентными клетками трансплантата. Запускаемый этим распознаванием каскад иммунологических реакций приводит к воспалительному повреждению органов реципиента и в отсутствие контроля может стать прямой или опосредованной причиной тяжелых осложнений и смерти. Исторически аллогенная ТГСК от неродственных и гаплоидентичных (частично совместимых родственных) доноров была сопряжена с высоким риском тяжелых иммунологических осложнений, в первую очередь РТПХ и отторжения трансплантата. По мере совершенствования технологии ТГСК были разработаны фармакологические и нефармакологические подходы к профилактике РТПХ, которые позволили довести эффективность и безопасность трансплантации от неродственных и гаплоидентичных доноров до аналогичных показателей стандартной ТГСК от родственных совместимых доноров. В НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с 2012 г. в качестве платформы для профилактики РТПХ при ТГСК используется *ex vivo* деплеция $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов. Данная технология обработки трансплантата позволяет с высокой эффективностью удалять $\alpha\beta$ -Т-лимфоциты из трансплантата и предотвращать развитие тяжелой РТПХ, сохраняя высокий потенциал приживления [1]. Сохраненные в трансплантате популяции эффекторов врожденного иммунитета, NK-клетки и $\gamma\delta$ -Т-клетки предположительно обеспечивают иммунологический контроль лейкемии. Успешное применение данного подхода к профилактике РТПХ позволило снизить риск клинически значимой острой и хронической РТПХ до 15–20%, а трансплантационную смертность до 5–10%. Риск рецидива гемобластоза составляет 20–30%, а при выполнении ТГСК вне ремиссии достигает 50% [2]. Таким образом, рецидив лейкемии стал ключевой причиной неудачи ТГСК.

В течение последних десятилетий интенсивно изучались механизмы лейкемогенеза. Была установлена роль эпигенетических механизмов в формировании опухолевого фенотипа и предложены фармакологические подходы, направленные на модуляцию ключевых эпигенетических процессов: метилирование ДНК и ацетилирование гистонов. Препараты из группы гипометилаторов, децитабин и азацитидин, одобрены к применению при миелодиспластических синдромах и остром миелоидном лейкозе (ОМЛ) у взрослых. Ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC-ингибиторы), такие как вориностат, используются в терапии периферических Т-клеточных лимфом. Помимо эпигенетических регуляторов к новым классам препаратов относятся ингибиторы протеасомы, такие как бортезомиб, составляющие

фундамент терапии множественной миеломы. Препараты новых классов активно изучались при гемобластозах у детей, и в ранних исследованиях были получены оптимистичные данные по их потенциальной эффективности, а в ряде случаев – синергии с компонентами стандартных режимов химиотерапии [3]. Особое внимание привлек потенциал эпигенетической терапии и ингибиторов протеасом как лекарств, способных сенсibilизировать опухолевые клетки к цитотоксическим механизмам иммунных эффекторных клеток. Так, были показаны сенсibilизация лейкемических клеток к NK-цитотоксичности при инкубации с бортезомибом [4] и повышение экспрессии эмбриональных антигенов при инкубации с азацитидином [5]. Относительно небольшая токсичность эпигенетической терапии и ингибитора протеасомы делает их применение в посттрансплантационном периоде привлекательным подходом в профилактике рецидивов. Принимая во внимание потенциально негативное влияние деплеции Т-лимфоцитов на контроль лейкемии, применение профилактической терапии после ТГСК рассматривалось нами как один из возможных подходов, направленных на снижение частоты рецидивов и повышение общей терапевтической эффективности трансплантации у детей с гемобластозами высокого риска. После внедрения методики $\alpha\beta$ -Т-деплеции и получения принципиальных доказательств ее выполнимости, безопасности и эффективности было выполнено пилотное исследование эпигенетической терапии препаратом децитабин как метода профилактики рецидива гемобластоза. Показана безопасность терапии, однако сигналов, четко указывающих на потенциальный дополнительный противолейкемический эффект препарата, получено не было [6]. В настоящей работе исследуется аналогичный подход, в основе которого лежит использование комбинации гипометилирующей терапии (азациитидин), HDAC-ингибитора (вальпроевая кислота) и ингибитора протеасомы (бортезомиб). Циклы комбинированной терапии выполнялись после приживления трансплантата и у части пациентов сопровождалась инфузией модифицированных донорских лимфоцитов, обогащенных NK-клетками либо Т-лимфоцитами памяти. Результаты исследования представлены ниже.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследуемую группу включены 35 пациентов детского возраста с гемобластозами, получивших ТГСК в период с марта 2013 г. по ноябрь 2016 г. Медиана возраста на момент ТГСК составила 6,9 года. У 23 пациентов показанием к ТГСК был ОМЛ, у 11 – острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), в 1 случае – ювенильный миеломоноци-

тарный лейкоз (ЮММЛ). У 21 пациента на момент ТГСК сохранялась полная клинико-гематологическая ремиссия, у 14 больных (ОМЛ – 12, ОЛЛ – 1, ЮММЛ – 1) трансплантация выполнена при сохранении лейкоемического поражения костного мозга или оболочек головного мозга, т. е. вне ремиссии. Донорами являлись родственные частично совместимые (гаплоидентичные) родители ($n = 18$), совместимые неродственные ($n = 14$) или совместимые родственные ($n = 3$) доноры. Детекция и мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ) не выполнялись. Детальная характеристика группы представлена в таблице 1.

Кондиционирование включало треосульфат в курсовой дозе 42 мг/м², флударабин 150 мг/м², ритуксимаб 100 мг/м². Вторым миелосупрессивным препаратом был мелфалан 140 мг/м² ($n = 26$) или тиотепа 10 мг/кг ($n = 8$), или этопозид 60 мг/кг ($n = 1$). Серотерапия перед ТГСК анти timoцитарным глобулином (АТГ) проводилась 22 пациентам: кроличьим АТГ (тимоглобулин) в курсовой дозе 5 мг/кг ($n = 12$) или лошадиным АТГ (АТГАМ) в курсовой дозе 50 мг/кг ($n = 10$). Семь пациентов получили тоцилизумаб (актемра) в дозе 10 мг/кг в день –1, 6 больных – тоцилизумаб в комбинации с абатацептом (оренсия) в дозе 8 мг/кг в дни –1, +7, +14, +28. Профилактика РТПХ после ТГСК включала програф и короткий курс метотрексата ($n = 11$). Бортезомиб был использован для профилактики РТПХ в дозе 1,3 мг/м² в дни –5, –2, +2, +5 у 24 пациентов (таблица 2).

Источником трансплантата во всех случаях являлись стволовые клетки периферической крови, полученные после стимуляции доноров гранулоцитарным колониестимулирующим фактором методом аппаратного афереза мононуклеаров на аппарате Cobe Spectra или Spectra Optia. Деплецию αβ-T-лимфоцитов и В-лимфоцитов выполняли с помощью иммуномагнитной технологии на аппарате CliniMACS с использованием моноклональных антител к αβ-T-клеточному рецептору и антигену CD19 (Miltenyi Biotec, Bergish Gladbach, Германия) в соответствии с рекомендациями производителя. Трансплантат содержал $9,6 (6,6–13,3) \times 10^6$ CD34⁺-клеток и $23 (0,84–116) \times 10^3$ αβ-T-лимфоцитов на 1 кг массы тела реципиента.

Посттрансплантационная химиотерапия включала азацитидин в дозе 30 мг/м² внутривенно (дни 1–5), бортезомиб 1,3 мг/м² подкожно №2 (дни 2 и 5), вальпроовую кислоту по 250 мг 3 раза в сутки *per os* №6. Было запланировано проведение 3 курсов с перерывом 30 дней. Инфузия донорских лимфоцитов проводилась на 7-й день от начала блока (таблица 3). Для инфузии донорских лимфоцитов использовали фракцию трансплантата после деплеции αβ-T-лимфоцитов, содержащую NK-клетки (медианная доза

Таблица 1
Характеристики пациентов, включенных в исследование

Table 1
Patient characteristics

Параметр Parameter	Исследуемая группа ($n = 35$) Experimental group ($n = 35$)	Группа контроля ($n = 31$) Control group ($n = 31$)
Возраст, годы (min–max) Age, years (min–max)	6,9 (0,96–22)	10,1 (0,66–23)
Пол (мужской/женский) Sex (male/female)	21/14	21/10
ОМЛ: CR1/CR ≥ 2/AD Acute myeloid leukemia (AML): CR1/CR ≥ 2/AD	9/2/12	7/3/2
ОЛЛ: CR1/CR ≥ 2/AD Acute lymphoblastic leukemia (ALL): CR1/CR ≥ 2/AD	4/6/1	5/12/1
ЮММЛ (AD) Juvenile myelomonocytic leukemia (AD)	1	2
Тип донора (MUD/Haplo/MSD) Type of donor (MUD/Haplo/MSD)	14/18/3	17/6/8
TCRαβ-/CD19-деплегция TCRαβ/CD19 depletion	35	23

Таблица 2
Кондиционирование и профилактика РТПХ

Table 2
Conditioning and “graft-versus-host” disease (GVHD) prevention

Препарат Agent	Доза Dose	Дни введения Days of administration
Флударабин Fludarabine	150 мг/м ² 150 mg/m ²	–6, –5, –4, –3, –2
Треосульфат Tresulfan	42 г/м ² 42 g/m ²	–5, –4, –3
Мелфалан ($n = 26$) Тиотепа ($n = 8$) Этопозид ($n = 1$) Melphalan ($n = 26$) Thiotepa ($n = 8$) Etoposide ($n = 1$)	140 мг/м ² 10 мг/кг 60 мг/кг 140 mg/m ² 10 mg/kg 60 mg/kg	–2
АТГ: лошадиный кроличий АТГАМ: horse rabbit	50 мг/кг 5 мг/кг 50 mg/kg 5 mg/kg	–10, –9
Тоцилизумаб ($n = 7$) Tocilizumab ($n = 7$)	10 мг/кг 10 mg/kg	–1
Тоцилизумаб + абатацепт ($n = 6$) Tocilizumab + abatacept ($n = 6$)	10 мг/кг 8 мг/кг 10 mg/kg 8 mg/kg	–1 +1, +7, +14, +28
Програф + метотрексат ($n = 6$) Prograf + methotrexate ($n = 6$)	0,02 мг/кг 5 мг/м ² 0.02 mg/kg 5 mg/m ²	+1, +3, +6
Бортезомиб ($n = 24$) Bortezomib ($n = 24$)	1,3 мг/м ² 1.3 mg/m ²	–5, –2, +2, +5

Таблица 3
Терапия после ТГСК

Table 3
Therapy after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT)

Препарат Agent	Дни введения Days of administration					
Азацитидин 35 мг/м ² Azacitidine 35 mg/m ²	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Бортезомиб 1,3 мг/м ² Bortezomib 1.3 mg/m ²		↓				↓
Вальпроат натрия 30 мг/кг Sodium valproate 30 mg/kg	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Инфузия донорских лимфоцитов Donor lymphocyte infusion						↓

13 × 10⁶/кг) и γδ-Т-лимфоциты (*n* = 18) либо продукт CD45RA-деплеции, содержащий донорские Т-лимфоциты памяти (*n* = 16) (медианная доза CD3⁺ 0,05 × 10⁶/кг). У 1 пациента вводили нативные донорские лимфоциты. Медиана количества инфузий составила 3 (0–7). Для старта терапии были соблюдены следующие критерии: > 30 дней после ТГСК, удовлетворительная функция трансплантата (лейкоциты > 1 × 10⁹/л, нейтрофилы > 0,5 × 10⁹/л, тромбоциты > 30,0 × 10⁹/л, гемоглобин > 95 г/л), отсутствие клинических и лабораторных признаков инфекции, отсутствие проявлений острой или хронической РТПХ > I стадии.

Сопроводительная терапия и общий уход проводились в соответствии с принятыми в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева алгоритмами и практиками, как описано ранее [7].

Диагностику и стадирование острой и хронической РТПХ проводили в соответствии со стандартными критериями [8, 9].

Контрольная группа включала пациентов из опубликованного ранее исследования применения децитабина для профилактики рецидивов гемобластозов после ТГСК (таблица 1) [6].

Статистический анализ

Сбор и анализ данных проводили с помощью клинической базы данных ТГСК, программ Excel и XLSTAT (Addinsoft, Париж, Франция). Классический анализ выживаемости выполнен с помощью метода Каплана–Майера. При расчете бессобытийной выживаемости событием считали смерть от любой причины или рецидив основного заболевания.

Для оценки рисков рецидива основного заболевания, развития РТПХ, трансплантационной смертности строили кривые кумулятивной вероятности, при этом для каждого основного события было принято конкурирующее событие: для рецидива основного заболевания – смерть от любой причины в ремиссии, для острой РТПХ – рецидив заболевания или смерть. Анализ выживаемости выполняли отдельно для групп пациентов с ОЛЛ и ОМЛ, пациентов с ЮММЛ не учитывали при анализе выживаемости.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Безопасность и выполнимость посттрансплантационной химиотерапии с инфузией донорских лимфоцитов

С марта 2013 г. по ноябрь 2016 г. 35 больных получили 92 курса посттрансплантационной химиотерапии, в среднем 3 (1–3) курса, 34 пациента – инфузии донорских лимфоцитов в количестве от 1 до 3 инфузий. Терапию проводили на базе стационара кратковременного лечения НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия

Рогачева. Основным побочным явлением терапии была гематологическая токсичность. Медиана продолжительности нейтропении составила 4 (0–25) дня, тромбоцитопении – 4 (0–15) дня, анемии – 3 (0–20) дня. Тяжелая (III степень) нейтропения зафиксирована после 18% циклов. Тяжесть гематологической токсичности отображена на рисунке 1. Двадцать четыре курса терапии (26%) у 16 пациентов осложнились инфекционными эпизодами. Фебрильная нейтропения зарегистрирована у 12 больных, из них в 4 случаях документирована виремия цитомегаловируса. У 1 пациента зафиксирован микробиологически подтвержденный септический эпизод. Локальный инфекционный эпизод в виде гастроэнтероколита зарегистрирован у 12 пациентов, в виде инфекции верхних дыхательных путей – у 5 больных.

Транзиторная висцеральная токсичность зарегистрирована после 46 (50%) курсов: изолированная печеночная токсичность – после 38 (41%) курсов в форме повышения трансаминаз до 1,5–3 норм, транзиторная нефротоксичность – после 8 (8,7%) курсов в форме азотемии, осложнения не требовали терапии, купировались самостоятельно. Ни одного случая развития острой РТПХ после инфузии донорских лимфоцитов зафиксировано не было (рисунок 2).

Рисунок 1
Гематологическая токсичность (92 курса у 35 пациентов)

Figure 1
Hematologic toxicity (92 cycles in 35 patients)

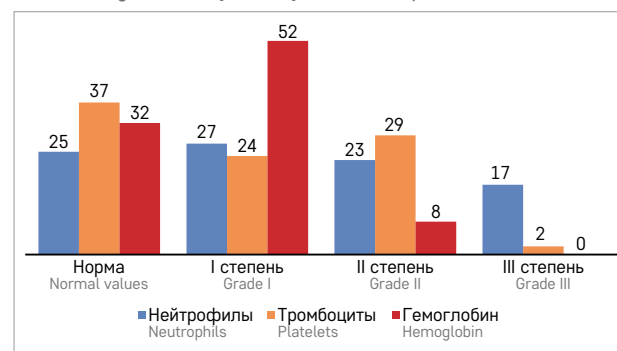
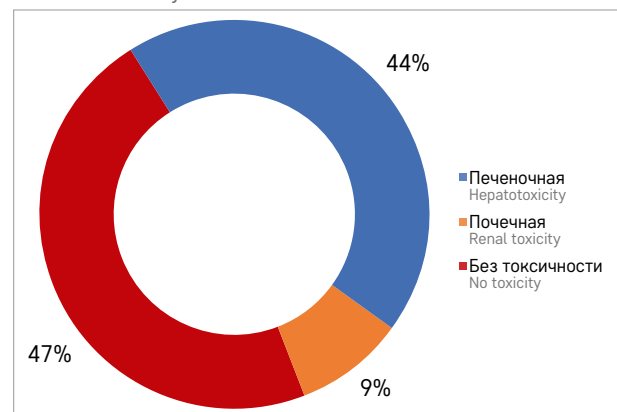


Рисунок 2
Висцеральная токсичность

Figure 2
Visceral toxicity



Общие результаты трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

На момент анализа медиана наблюдения составила 6,5 года. Кумулятивный риск развития острой РТПХ II–IV стадии составил 19% (95% доверительный интервал (ДИ) 12–32) (рисунок 3), III стадия острой РТПХ осложнила посттрансплантационный период у 3 пациентов. Хроническая РТПХ развилась в последствии у 5 больных, из них в 2 случаях зафиксирована экстенсивная форма.

Рецидив основного заболевания развился у 19 пациентов с медианой 6 мес от ТГСК. Шестнадцать пациентов умерли от прогрессии основного заболевания или последующей терапии, медиана 11,76 мес.

Кумулятивная вероятность развития рецидива в исследуемой группе составила 54% (95% ДИ 40–73). Для группы трансплантированных в статусе клинико-гематологической ремиссии – 48% (95% ДИ 30–75), для трансплантированных вне ремиссии – 64% (95% ДИ 43–95) (рисунок 4).

Общая выживаемость во всей группе составила 53% (95% ДИ 36–70). В подгруппе пациентов, трансплантированных в клинико-гематологической ремиссии, – 61% (95% ДИ 40–82), для больных, трансплантированных вне ремиссии, – 40% (95% ДИ 13–67) (рисунок 5). Бессобытийная выживаемость во всей группе составила 46% (95% ДИ 29–62), 52% (95% ДИ 31–73) у пациентов, трансплантированных в ремиссии, и 36% (95% ДИ 10–60) при ТГСК вне ремиссии (рисунок 6).

Случаев смерти от осложнений ТГСК, не связанных с рецидивом заболевания, в исследуемой группе зарегистрировано не было.

В группе пациентов с ОМЛ кумулятивный риск рецидива составил 45% (95% ДИ 40–74) в группе клинико-гематологической ремиссии, тогда как для продвинутой стадии болезни на момент проведения ТГСК – 58% (95% ДИ 36–94). Общая выживаемость составила 53% (95% ДИ 31–73), 63% (95% ДИ 35–92) для пациентов, трансплантированных в ремиссии, и 41% (95% ДИ 14–70) для получивших ТГСК вне ремиссии. Бессобытийная выживаемость составила 54% (95% ДИ 30–62) для группы ремиссии и 41% (95% ДИ 14–69) для группы рецидива (рисунок 7).

При ОЛЛ кумулятивный риск рецидива составил 54% (95% ДИ 31–93), общая выживаемость – 72% (95% ДИ 46–91), бессобытийная выживаемость – 45% (95% ДИ 16–75) (рисунок 8).

Сравнительный анализ

Мы провели сравнительный анализ выживаемости между группами пациентов, трансплантированных в клинико-гематологической ремиссии, из 2 пилотных проектов нашего Центра. Сравнили группу больных, кто получил терапию малыми дозами

децитабина [6], настоящую исследовательскую группу и группу пациентов, не получавших поддерживающую терапию после ТГСК, проведенной в тот же временной интервал. Общая выживаемость для пациентов, получавших азацитидин, составила 61% (95% ДИ 40–82), для группы, получавшей децитабин, – 57% (95% ДИ 38–76), для группы без терапии – 56% (95% ДИ 37–75). Бессобытийная выживаемость составила 52% (95% ДИ 31–73), 54% (95% ДИ 36–73) и 53% (95% ДИ 34–73) соответственно. Кумулятивный риск реци-

Рисунок 3
Острая РТПХ

Figure 3
Acute GVHD

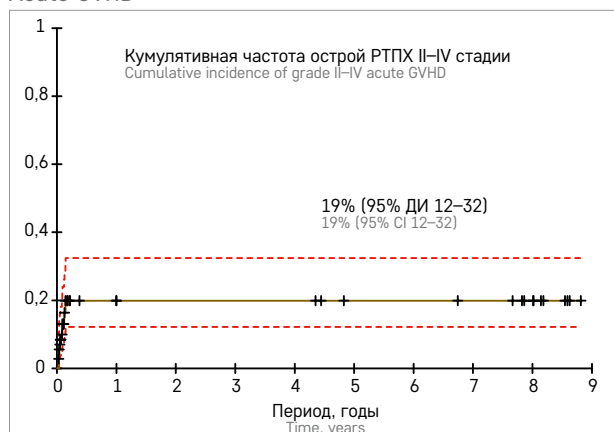


Рисунок 4

А – кумулятивная вероятность рецидива исследуемой группы пациентов; Б – кумулятивная вероятность рецидива в зависимости от статуса перед ТГСК (CR vs AD)

Figure 4
А – cumulative probability of relapse in the experimental group; Б – cumulative probability of relapse according to pretransplant disease status (CR vs AD)

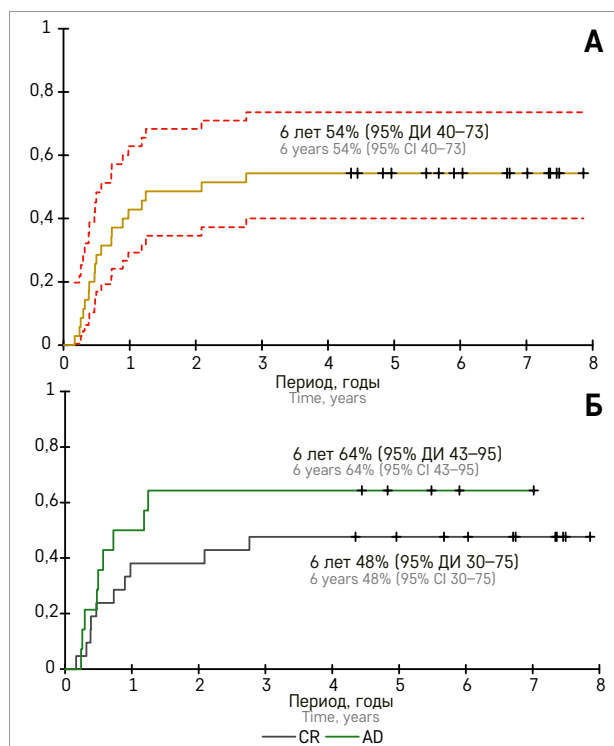
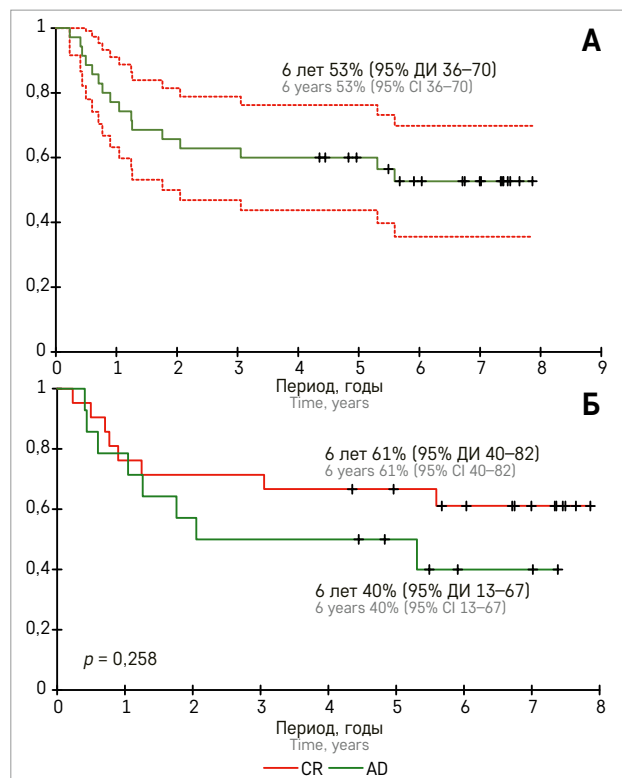


Рисунок 5

А – общая выживаемость пациентов исследуемой группы; Б – общая выживаемость в зависимости от статуса перед ТГСК (CR vs AD)

Figure 5

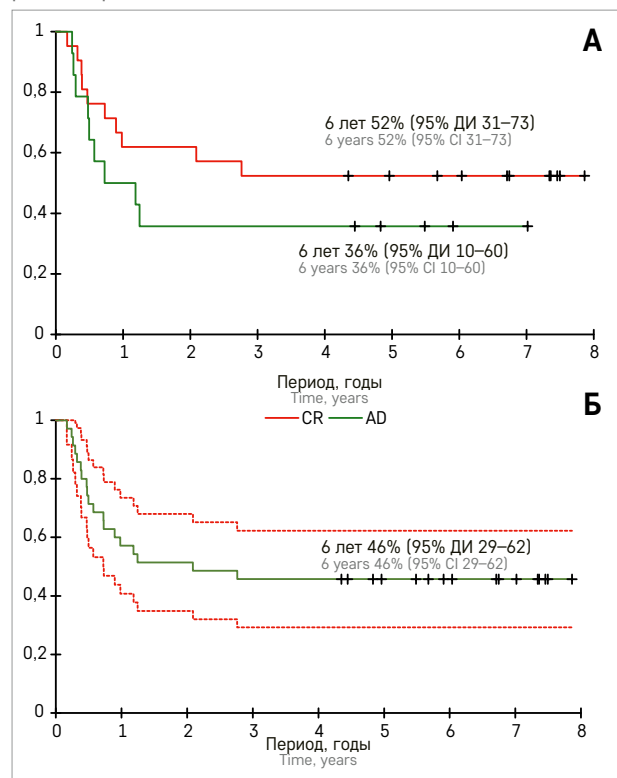
А – overall survival of the experimental group patients; Б – overall survival according to pretransplant disease status (CR vs AD)

**Рисунок 6**

А – бессобытийная выживаемость пациентов исследуемой группы; Б – бессобытийная выживаемость в зависимости от статуса перед ТГСК (CR vs AD)

Figure 6

А – event-free survival of the experimental group patients; Б – event-free survival according to pretransplant disease status (CR vs AD)

**Рисунок 7**

Показатели пациентов исследуемой группы с ОМЛ: А – кумулятивная вероятность рецидива в зависимости от статуса перед ТГСК (AD vs CR); Б – общая выживаемость; В – бессобытийная выживаемость; Г – общая выживаемость, статус перед ТГСК (CR vs AD)

Figure 7

Outcomes of the AML patients from the experimental group: А – cumulative probability of relapse according to pretransplant disease status (CR vs AD); Б – overall survival; В – event-free survival; Г – overall survival according to pretransplant disease status (CR vs AD)

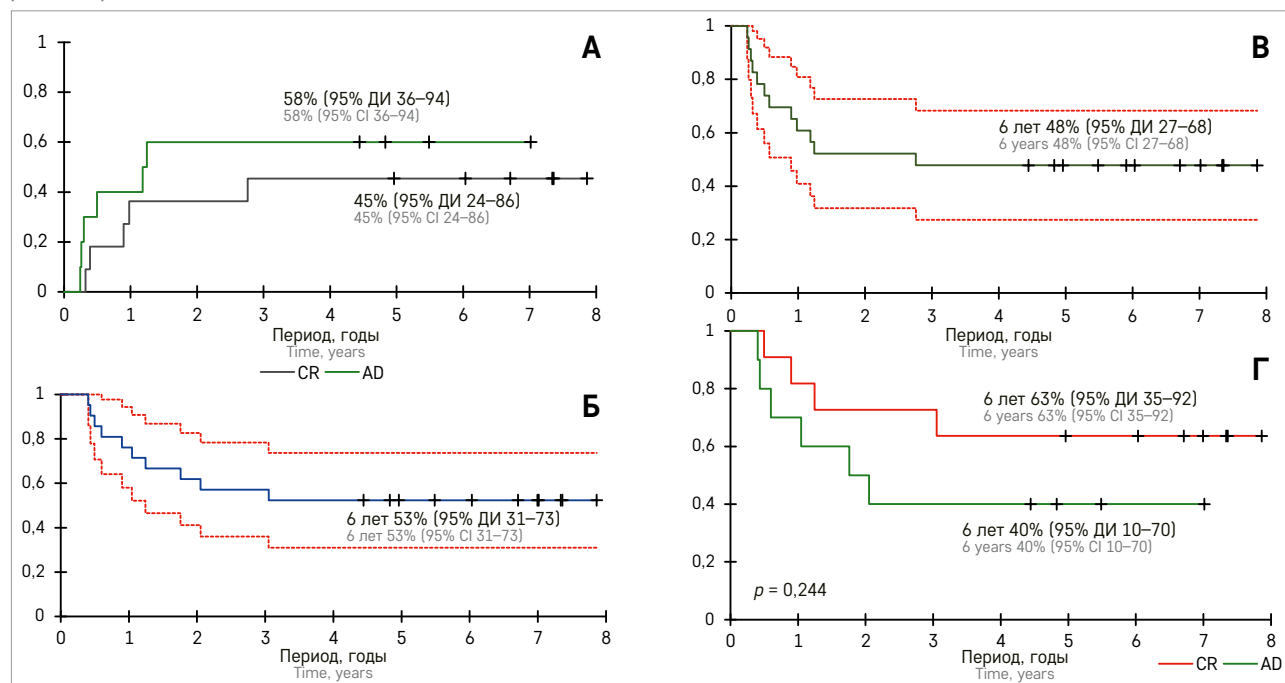
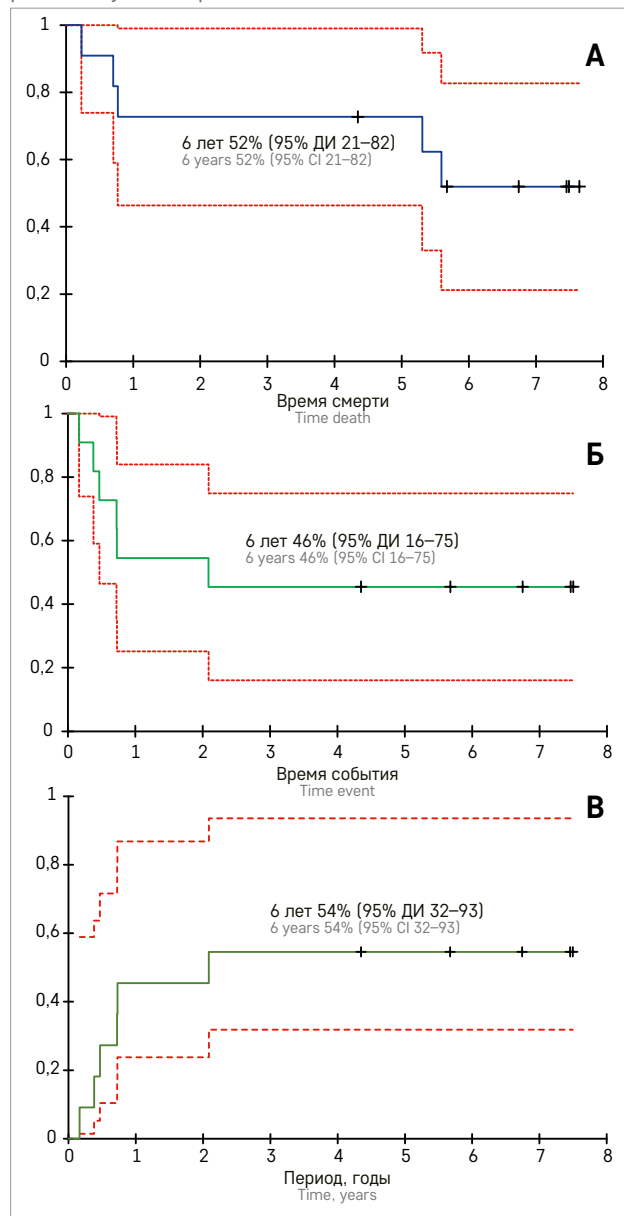


Рисунок 8

Пациенты исследуемой группы с ОЛЛ: А – общая выживаемость; Б – бессобытийная выживаемость; В – кумулятивная вероятность рецидива

Figure 8

The ALL patients from the experimental group: A – overall survival; Б – event-free survival; В – cumulative probability of relapse



дива составил 47% (95% ДИ 30–74), 34% (95% ДИ 20–58) и 27% (95% ДИ 14–50) соответственно (рисунки 9). Трансплантационная смертность для группы пациентов, получавших азацитидин, не зарегистрирована, в группе, получавшей децитабин, она составила 10%, в группе без терапии – 19%, эту разницу мы можем связать с тем, что в группе без посттрансплантационной терапии было заведомо большее число пациентов с РТПХ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

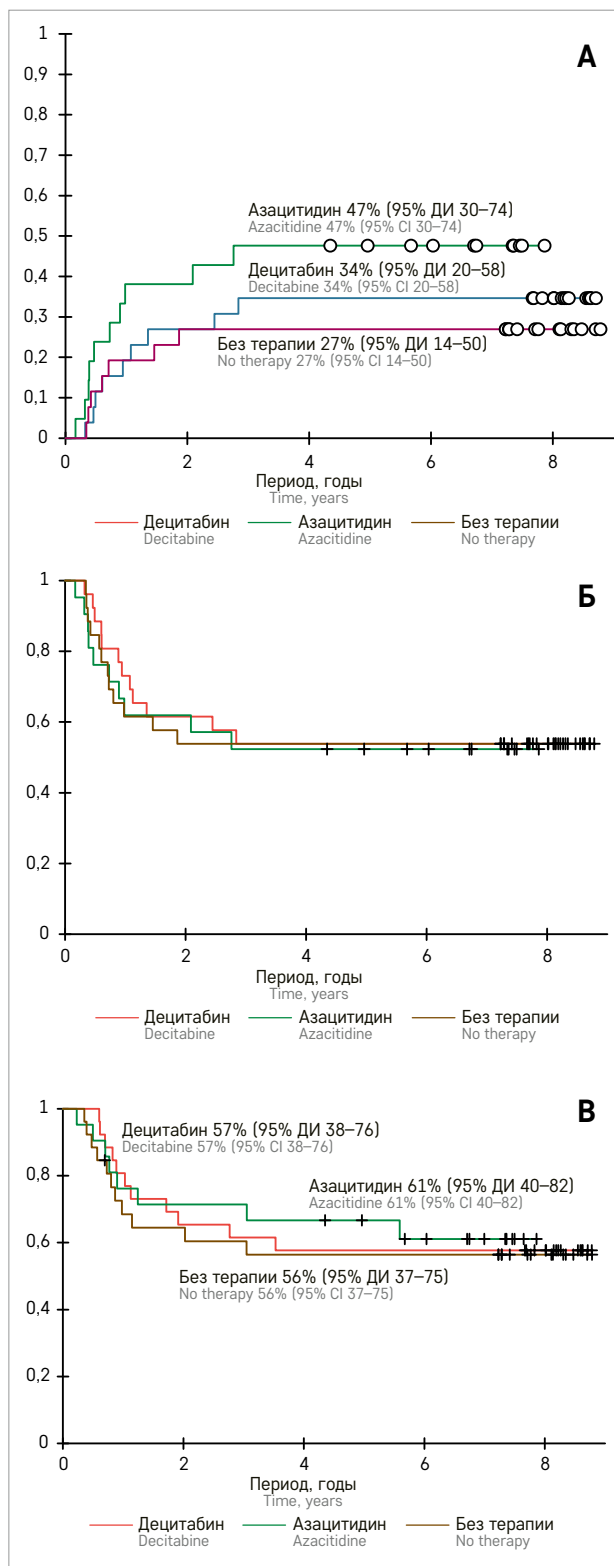
Предотвращение РТПХ и рецидивов лейкоза – 2 ключевые проблемы ТГСК у детей с гемобласто-

Рисунок 9

Сравнение децитабина/азацитидина/отсутствия терапии в группе пациентов, получивших ТГСК в полной ремиссии: А – кумулятивная вероятность рецидива; Б – бессобытийная выживаемость; В – общая выживаемость

Figure 9

Decitabine therapy/azacitidine therapy/no therapy in the patients who underwent HSCT in complete remission: А – cumulative probability of relapse; Б – event-free survival; В – overall survival



зами. Удаление $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов из трансплантата – один из наиболее перспективных методов его процессинга, направленный на профилактику РТПХ [10–12]. Данный метод позволяет радикально уменьшить риск РТПХ и трансплантационную смертность, однако теоретически селективная деплеция $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов может снизить противоопухолевую активность трансплантата, опосредованную Т-лимфоцитами. В целях сохранения противоопухолевого эффекта ТГСК было предложено использование посттрансплантационной терапии, направленной на повышение эффекта РТПЛ. В мире исследуются различные подходы к проведению поддерживающей терапии после трансплантации. Ключевым общим принципом является использование препаратов с минимальной токсичностью, не требующих интенсивной сопроводительной терапии. Гипометилирующие препараты привлекли значительное внимание в качестве поддерживающей терапии, поскольку они обладают прямым противолейкемическим действием и хорошо изученным профилем токсичности, что должно обеспечивать их безопасное введение после ТГСК.

Кроме того, было показано, что гипометилирующие агенты способны повышать экспрессию опухолевых антигенов и таким образом формировать условия для усиления эффекта РТПЛ [13]. В ряде публикаций была показана эффективность гипометилирующих препаратов в терапии рецидивов лейкоза после ТГСК, как правило, в небольших группах наблюдения [14]. Так, в исследовании RELAZA2 пациенты в возрасте 18 лет и старше с миелодиспластическим синдромом или ОМЛ, достигшие полной ремиссии после обычной химиотерапии или аллогенной ТГСК, были проспективно обследованы на МОВ в течение 24 мес с помощью количественной полимеразной цепной реакции или исследования донорского химеризма в CD34⁺-клетках. МОВ-положительные пациенты с подтвержденной полной ремиссией получали азациитидин в дозе 75 мг/м²/сут подкожно в дни 1–7 ежемесячно в течение 24 циклов. После 6 циклов статус МОВ был повторно оценен, и пациентам с хорошим ответом редуцировали терапию. Первичной конечной точкой была доля пациентов, у которых не было рецидивов и которые были живы через 6 мес после начала превентивного лечения. В заключении авторы отмечают, что упреждающая терапия азациитидином может предотвратить или существенно отсрочить гематологический рецидив у МОВ-положительных пациентов с миелодиспластическим синдромом или ОМЛ, которые имеют высокий риск рецидива [15]. В другом исследовании из MD Anderson Cancer Center (США) сообщалось о результатах проспективного рандомизированного исследования III фазы 5-азациитидина для поддержи-

вающей терапии ОМЛ после аллогенной ТГСК. В этом исследовании 187 пациентов после трансплантации были рандомизированы в группу азациитидина ($n = 93$) или контрольную группу ($n = 94$). Азациитидин вводили в дозе 32 мг/м²/день подкожно в течение 5 дней каждый месяц с планом проведения 12 циклов. Была показана хорошая переносимость терапии азациитидином, однако различий в безрецидивной и общей выживаемости продемонстрировать не удалось [16].

Результаты нашего анализа показали, что проведение курсов терапии в составе азациитидин + вальпроевая кислота + бортезомиб в сочетании с инфузией модифицированных донорских лимфоцитов безопасно и может быть реализовано в условиях дневного стационара. Убедительных сигналов, указывающих на улучшение противолейкемического эффекта ТГСК, в настоящем исследовании не зарегистрировано. Кумулятивный риск рецидивов превышает 40%, что не может считаться успешным результатом. Частичным объяснением неблагоприятных исходов является включение в группу пациентов вне клинко-гематологической ремиссии, а также субоптимальные режимы кондиционирования. Можно предположить также, что одной из биологических причин, обуславливающих недостаточный противолейкемический эффект профилактической терапии, является отсутствие в трансплантате и в составе донорских лимфоцитов $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов, с которыми частично связывают противолейкемический эффект гипометилирующей терапии после аллогенной ТГСК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценивая в целом опыт проведения профилактической терапии на основе децитабина и азациитидина после ТГСК с деплецией $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов, полагаем, что данный подход следует рассматривать как сугубо экспериментальный и допустимый к использованию в рамках проспективных клинических исследований в четко очерченных когортах пациентов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Ilyushina M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7652-7704>

Shelikhova L.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0520-5630>

Shasheleva D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5641-8567>

Khismatullina R.D. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5618-7159>

Blagov S.L. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8754-1376>

Maschan A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

Maschan M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1735-0093>

Литература

1. Масчан М.А. Деплеция альфа-/бета-Т-лимфоцитов – надежная платформа для развития трансплантации гемопоэтических стволовых клеток от гаплоидентичных доноров. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2015; 2 (3): 34–8.
2. Maschan M., Shelikhova L., Ilushina M., Kurnikova E., Boyakova E., Balashov D., 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 (5): 668–74. DOI: 10.1038/bmt.2015.343
3. Fredly H, Gjertsen BT, Bruserud O. Histone deacetylase inhibition in the treatment of acute myeloid leukemia: the effects of valproic acid on leukemic cells, and the clinical and experimental evidence for combining valproic acid with other antileukemic agents. *Clinical Epigenetics* 2013; 5 (1): 12. DOI: 10.1186/1868-7083-5-12
4. Story J.Y., Zoine J.T., Burnham R.E., Hamilton J.A.G., Spencer H.T., Doering C.B., et al. Bortezomib enhances cytotoxicity of *ex vivo*-expanded gamma delta T cells against acute myeloid leukemia and T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cytotherapy* 2021; 23 (1): 12–24. DOI: 10.1016/j.jcyt.2020.09.010
5. Jardine L., Hambleton S., Bigley V., Pagan S., Wang X.N., Collin M. Sensitizing primary acute lymphoblastic leukemia to natural killer cell recognition by induction of NKG2D ligands. *Leuk Lymphoma* 2013; 54 (1): 167–73. DOI: 10.3109/10428194.2012.708026
6. Илюшина М.А., Шелихова Л.Н., Шашелева Д.А., Хисматуллина Р.Д., Шипицина И.П., Гутовская Е.И. и др. Применение малых доз децитабина с целью профилактики рецидива гемобластозов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: опыт одного Центра. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2018; 17 (2): 59–68. DOI: 10.24287/1726-1708-2018-17-2-59-68
7. Масчан А.А., Масчан М.А., Балашов Д.Н., Шелихова Л.Н., Скворцова Ю.В. Протокол трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (единый).
8. Jagasia M.H., Greinix H.T., Arora M., Williams K.M., Wolff D., Cowen E.W., et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21 (3): 389–401.e1. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.12.001
9. Arora M., Cutler C.S., Jagasia M.H., Pidala J., Chai X., Martin P.J., et al. Late Acute and Chronic Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22 (3): 449–55. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.10.018
10. Handgretinger R. New approaches to graft engineering for haploidentical bone marrow transplantation. *Semin Oncol* 2012; 39 (6): 664–73. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2012.09.007
11. Lang P., Feuchtinger T., Teltschik H.M., Schwinger W., Schlegel P., Pfeiffer M., et al. Improved immune recovery after transplantation of TCRαβ/CD19-depleted allografts from haploidentical donors in pediatric patients. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50 Suppl 2: S6–10. DOI: 10.1038/bmt.2015.87
12. Booth C., Lawson S., Veys P. The current role of T cell depletion in paediatric stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2013; 162 (2): 177–90. DOI: 10.1111/bjh.12400
13. Almstedt M., Blagitko-Dorfs N., Duque-Afonso J., Karbach J., Pfeifer D., Jäger E., et al. The DNA demethylating agent 5-aza-2'-deoxycytidine induces expression of NY-ESO-1 and other cancer/testis antigens in myeloid leukemia cells. *Leuk Res* 2010; 34 (7): 899–905.
14. Tamura A., Ishida T., Saito A., Yamamoto N., Yokoi T., Uemura S., et al. Low-dose azacitidine maintenance therapy after allogeneic stem cell transplantation for high-risk pediatric acute myeloid leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2018; 65 (10): e27284. DOI: 10.1002/pbc.27284
15. Platzbecker U., Middeke J.M., Sockel K., Herbst R., Wolf D., Baldus C.D., et al. Measurable residual disease-guided treatment with azacitidine to prevent hematological relapse in patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukaemia (RELAZA2): an open-label, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2018; 19 (12): 1668–79.
16. Oran B., de Lima M., Garcia-Manero G., Thall P.F., Lin R., Popat U., et al. A phase 3 randomized study of 5-azacitidine maintenance vs observation after transplant in high-risk AML and MDS patients. *Blood Adv* 2020; 4 (21): 5580–8.