

Эпигенетическая терапия — важная составляющая в лечении детей, больных острым миелоидным лейкозом

А.В. Попа¹, Е.В. Горюхова², Е.В. Флейшман², О.И. Сокова², И.Н. Серебрякова⁴, В.С. Немировченко¹, Л.Г. Фечина⁵, О.П. Хлебникова⁵, Л.Ю. Гривцова⁴, К.С. Асланян⁶, В.В. Лебедев⁷, Е.В. Инюшкина³, Э.Г. Бойченко⁸, С.А. Маякова¹, Г.Л. Менткевич¹

РЕФЕРАТ

Epigenetic therapy is an important component in treating children with acute myeloid leukemia

A.V. Popa¹, E.S. Gorohova², E.V. Flejshman², O.I. Sokova², I.N. Serebryakova⁴, V.S. Nemirovchenko¹, L.G. Fetchina⁵, O.P. Hlebnikova⁵, L.J. Gritsova⁴, K.S. Aslanyan⁶, V.V. Lebedev⁷, E.V. Inyushkina³, E.G. Bojchenko⁸, S.A. Mayakova¹, G.L. Mentkevich¹

SUMMARY

The results of pediatric AML are not good that is why we try to find new abilities of treatment besides knowing chemotherapy. We propose combination of epigenetic and chemotherapy is able to improve the treatment results in this group of patients.

From 1991 to 2010 3 consecutive studies with 157 children enrolled were conducted, age 3 mo to 17 years, median age is 8.5 ± 0.39 years. In the protocol AML BFM 87 54 pts (m — 35 (64.8 %), f — 19 (35.2 %)) were enrolled, in study NII DOG AML 2002 — 52 pts (m — 26 (51 %) and f — 25 (49 %)). The protocol NII DOG AML 2007 was based on the combination of chemotherapy and epigenetic therapy consisting of valproic acid and all trans retinoic acid (ATRA). There were 52 pts were included in that study (m — 31 (59.6 %) and f — 21 (40.4 %)). The remission rate was 43 (76.9 %) pts in protocol AML BFM 87, 43 (84.3 %) in protocol NII DOG AML 2002 and 48 (92.3 %) in protocol NII DOG AML 2007, $p = 0.17$. Complete remission achievement was higher in pts from high risk cohort who were treated by protocol NII DOG AML 2007 — 21 (91.3 %) than by AML BFM 87 — 9 (69.2 %) and NII DOG AML 2002 — 9 (74.2 %), $p < 0.0001$.

Despite the absence of significant difference of EFS and DFS between pts stratified in different risk groups (EFS for standard, intermedium and high $p = 0.8$, $p = 0.5$ and $p = 0.16$; DFS $p = 0.57$, $p = 0.4$ and $p = 0.19$) EFS and DFS were higher in NII DOG AML 2007 study for all risk groups. Thus, the combination of chemotherapy with epigenetic drugs allows to achieve more complete remissions in intermedium and high risk groups of pts and higher survival. These results allow us to continue the study with histone deacetylating inhibitors and make a new protocol with demethylation drugs.

Keywords: acute myeloid leukemia, epigenetic therapy, chemotherapy, treatment, histone deacetylating inhibitors, valproic acid, all trans retinoic acid (ATRA).

¹ N.N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, Pediatric Oncology and Hematology Research Institute, Hematology/Oncology Department, Moscow

² N.N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, Institute of Cancer Genesis, Laboratory of Cytogenetic, Moscow

³ Moscow Region Oncology Hospital, Pediatric Oncology Department, Balashiha

⁴ N.N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, Institute of Clinical Oncology, Moscow

⁵ Yekaterinburg Region Pediatric Cancer Research Centre

⁶ Rostov-na-Donu Region Pediatric Hospital, Hematology/Oncology Department

⁷ Krasnodar Region Pediatric Hospital, Hematology Department

⁸ St. Petersburg Children's Hospital No. 1

Контакты: arora@list.ru

Принято в печать: 22 февраля 2011 г.

Результаты лечения детей, больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ), в настоящее время недостаточно удовлетворительны, что заставляет искать новые возможности лечения помимо уже известной химиотерапии. Мы полагаем, что сочетание эпигенетической и химиотерапии может улучшить результаты лечения этой группы пациентов.

Начиная с 1991 по 2010 г. проведено 3 исследования, в которые было включено 157 детей в возрасте от 3 мес. до 17 лет, средний возраст $8,5 \pm 0,39$ года. В группу пациентов, получавших лечение по протоколу AML BFM 87, включили 54 детей (35 (64,8 %) мальчиков и 19 (35,2 %) девочек), в группу пациентов, лечившихся по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2002, — 51 ребенка (26 (51 %) мальчиков и 25 (49 %) девочек). В исследование НИИ ДОГ ОМЛ 2007 включили 52 детей (31 (59,6 %) мальчик и 21 (40,4 %) девочка). В отличие от протоколов AML BFM 87 и НИИ ДОГ ОМЛ 2002 протокол НИИ ДОГ ОМЛ 2007 основан на сочетании химио- и эпигенетической терапии, состоявшей из вальпроевой и полностью транс-ретиноевой кислоты.

Из 54 больных, включенных в протокол AML BFM 87, ремиссия была достигнута у 43 (76,9 %) детей, в исследованиях НИИ ДОГ ОМЛ 2002 и НИИ ДОГ ОМЛ 2007 — у 43 (84,3 %) и 48 (92,3 %) пациентов соответственно ($p = 0,17$). Более высокая частота полных ремиссий была отмечена в группе высокого риска у детей, включенных в исследование НИИ ДОГ ОМЛ 2007, чем у детей из исследований НИИ ДОГ ОМЛ 2002 и AML BFM 87 — 21 (91,3 %), 9 (69,2 %) и 9 (74,2 %) соответственно ($p < 0,0001$).

Несмотря на отсутствие значимой разницы в бессобытийной (БСВ) и безрецидивной выживаемости (БРВ) между больными, стратифицированными в разные группы риска (БСВ для стандартного, среднего и высокого риска $p = 0,8$, $p = 0,5$ и $p = 0,16$; БРВ соответственно $p = 0,57$, $p = 0,4$ и $p = 0,19$), отмечено повышение уровня выживаемости в исследовании НИИ ДОГ ОМЛ 2007 для всех групп риска.

Таким образом, сочетание химиотерапии с препаратами эпигенетической направленности позволяет достичь более высокого числа полных ремиссий у больных со средним и высоким риском ОМЛ, а также более высокой выживаемости.

Полученные результаты позволяют продолжить исследование с ингибиторами деацетилазы и разработать протокол с применением препаратов с деметилирующими свойствами.

Ключевые слова

острый миелоидный лейкоз, эпигенетическая терапия, химиотерапия, лечение, ингибиторы деацетилазы, вальпроевая кислота, полностью транс-ретиноевая кислота.

¹ НИИ детской онкологии и гематологии ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

² НИИ канцерогенеза ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

³ Московский областной онкологический диспансер МЗ РФ, Балашиха

⁴ НИИ клинической онкологии ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

⁵ Областная детская клиническая больница, Екатеринбург

⁶ Областная детская клиническая больница, Ростов-на-Дону

⁷ Краевая детская клиническая больница, Краснодар

⁸ Городская детская клиническая больница № 1, Санкт-Петербург

ВВЕДЕНИЕ

Результаты лечения детей, больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ), в настоящее время недостаточно удовлетворительны, что заставляет искать новые возможности лечения помимо уже известной химиотерапии.

По данным ведущих онкологических клиник России, бессобытийная выживаемость (БСВ) детей, больных ОМЛ стандартного риска (согласно современным критериям), до начала 90-х годов XX в. не превышала 20–25 %. Пациенты с высоким риском не выживали [1]. Основной причиной неудач в лечении детей с ОМЛ было отсутствие достижения ремиссии, а также гибель больных от инфекционных и геморрагических осложнений в связи с недостаточной сопроводительной терапией. Лечение в то время состояло из 6 курсов «7+3» с последующей поддерживающей терапией, продолжавшейся до 5 лет. Начиная с 1991 г. в НИИ ДОГ стал применяться модифицированный протокол AML BFM 87. Результаты 5-летней БСВ достигли 42 % у всей группы больных [1]. В 2002 г. было начато исследование НИИ ДОГ ОМЛ 2002, в котором приняли участие две клиники: НИИ ДОГ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН и Московский областной онкологический диспансер (МООД). Результаты лечения оказались такими же, как и в предыдущем исследовании, хотя в протоколе НИИ ДОГ ОМЛ 2002 использовались средние и высокие дозы цитарабина (Ara-C), в протоколе AML BFM 87 — нет. Основной причиной невысокой выживаемости при лечении по протоколам AML BFM 87 и НИИ ДОГ ОМЛ 2002 были рецидивы заболевания. Также анализ результатов лечения детей с ОМЛ во многих странах показал, что большинство неудач было связано с развитием рефрактерности опухолевых клеток к проводимой инициальной химиотерапии и возникновением рецидивов [2].

В решении этих проблем немаловажную роль может сыграть эпигенетическая терапия. Под эпигенетической терапией подразумевается внешнее воздействие на регуляцию хроматина с лечебной целью. В частности, при ОМЛ эпигенетическим называется лечение, которое влияет на активность генов, отвечающих за пролиферацию и дифференцировку клетки. Химические реакции метилирования, фосфорилирования или ацетилирования гистонов происходят непрерывно, а превалирование одной из них зависит от жизнедеятельности клетки. Нарушение баланса гистондеацетилазной активности (ГДАЦ) приводит к гиперметилированию гистона и локальной ремодуляции (компактизации) хроматина, вследствие чего происходит ингибция экспрессии генов, воздействующих на дифференцировочную и пролиферативную функции клетки.

Недавно было установлено, что вальпроевая кислота (ВК), известный противосудорожный препарат, служит ингибитором ГДАЦ, приводящим к гиперацетилированию N-концов гистонов, придавая им положительный заряд [3]. Наличие положительного заряда N-концов гистонов вызывает превращение гетерохроматина (компактная форма) в эухроматин (менее компактная форма), в котором обычно отмечается более высокая экспрессия генов, что, в свою очередь, приводит к индукции апоптотических белков и дифференцировке бластов при ОМЛ [4, 5]. Антипролиферативный эффект ВК был продемонстрирован на клеточных линиях ОМЛ и на моделях животных с нейробластомой и раком молочной железы [5–7]. А. Kuendgen и соавт. показали высокую активность ВК в сочетании с ретиноевой кислотой у больных со вторичным ОМЛ и миелодиспластическим синдромом (МДС) [7]. F.R. Schlenk

и соавт. у больных ОМЛ старше 61 года показали эффективность терапии ВК и полностью транс-ретиноевой кислотой (АТРА) [8]. Согласно этому исследованию, лечение только ВК давало существенно меньший эффект, чем в комбинации с АТРА. Следовательно, ОМЛ можно рассматривать как эпигенетическое заболевание, требующее наряду с химиотерапией и эпигенетического лечения.

Мы полагаем, что сочетание эпигенетической и химиотерапии может улучшить результаты лечения детей с ОМЛ. В этой статье проведен анализ частоты полных ремиссий и выживаемости детей с ОМЛ, получавших лечение по трем различным протоколам, в одном из которых наряду с химиотерапией применялась эпигенетическая терапия.

ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Во все 3 исследования было включено 157 детей в возрасте от 3 мес. до 17 лет, средний возраст $8,5 \pm 0,39$ года. В группе детей, получавших лечение по протоколу AML BFM 87, вошло 54 ребенка (35 (64,8 %) мальчиков и 19 (35,2 %) девочек), в группу пациентов, лечившихся по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2002, — 51 ребенок (26 (51 %) мальчиков и 25 (49 %) девочек). В исследование НИИ ДОГ ОМЛ 2007 включено 52 ребенка (31 (59,6 %) мальчик и 21 (40,4 %) девочка). Между группами значимой разницы ни по полу, ни по возрасту выявлено не было.

В разных исследованиях стратификация больных по группам риска была различной. В исследовании AML BFM 87 к группе стандартного риска были отнесены пациенты с морфологическими вариантами M1 и M2 по классификации FAB, наличием палочек Ауэра и количеством лейкоцитов в периферической крови не более $20 \times 10^9/\text{л}$, а также с вариантом M4 в сочетании с аномальной эозинофилией ($> 3\%$) в пунктате костного мозга. Все остальные пациенты были отнесены к группе высокого риска.

Для исследований НИИ ДОГ ОМЛ 2002 и НИИ ДОГ ОМЛ 2007 стратификация больных на группы риска была следующей: **стандартный риск** — больные ОМЛ с $t(8;21)$, $inv(16)$ или $t(16;16)$, морфологические варианты не учитывались; **средний риск** — больные с морфологическими вариантами M1, M2 и M4 по FAB-классификации, с нормальным кариотипом или с утратой одной из половых хромосом, трисомией 8, перестройками $11q23$, исключая $t(10;11)$, или +8 либо аномалией длинного плеча хромосомы 3; **высокий риск** — ОМЛ с морфологическими вариантами M0, M5, M6, M7, ОМЛ с мультилинейной дисплазией без или с предшествующим МДС; морфологическими вариантами M1, M2, M4 в сочетании с утратой хромосом 5 (–5) или 7 (–7), делециями длинного плеча этих хромосом ($5q-$ или $7q-$), транслокациями $t(6;9)(p23;q34)$, $t(9;22)(q34;q11)$ $t(10;11)$, перестройками с участием длинного плеча хромосомы 3, кольцевой хромосомой, со сложным кариотипом (3 хромосомные аномалии и более, исключая $t(8;21)$, $inv(16)$ или $t(16;16)$). Кроме того, в эту группу мы переводили пациентов из групп со стандартным и средним риском, у которых в миелограмме на 15-й день от начала индукции ремиссии было обнаружено более 25 % бластов.

Модифицированный протокол AML BFM 87 описан нами в более ранних публикациях [1]. Модификация состояла в отсутствии курсов ранней интенсификации в протоколе лечения.

Больные, включенные в группы стандартного или среднего риска, получали лечение по протоколу НИИ ДОГ-ОМЛ 2002 для стандартного риска, которая состояла из индукции ремиссии (Ara-C 100 мг/м²/сут в 1-й, 2-й дни и

100 мг/м² каждые 12 ч в 3–8-й день, идарубицин 12 мг/м²/сут в 3–5-й день и этопозид 150 мг/м²/сут в 6–8-й день), одной фазы консолидации ремиссии (даунорубицин 30 мг/м²/сут в 1, 8, 15 и 22-й дни, Ага-С 75 мг/м²/сут в 3–6, 10–13, 17–20 и 24–27-й дни, 6-меркаптопурин 60 мг/м²/сут в 1–28-й день), 2 курсов ранней интенсификации, состоявших из повышенных доз Ага-С (1000 мг/м² каждые 12 ч в 1–3-й день), этопозид (125 мг/м²/сут во 2–4-й день) и поддерживающей терапии (Ага-С 40 мг/м²/сут 4 дня с повтором каждые 28 дней до 108 нед. от начала лечения, 6-меркаптопурин 40 мг/м²/сут ежедневно до 78 нед., считая от начала индукции ремиссии). Поддерживающая терапия была сохранена в протоколе в связи с тем, что по данным группы BFM неэффективность поддерживающей терапии не доказана. Суммарная доза химиопрепаратов антрациклинового ряда составила 156 мг. Профилактику поражения ЦНС проводили путем эндолюмбального введения Ага-С (40 мг) и краниального облучения после окончания 2-го курса интенсификации (СОД 12 Гр).

Больным, включенным в группу среднего риска, в отличие от группы стандартного риска не проводили облучение ЦНС и поддерживающую терапию. В заключение протокола осуществляли аутологичную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток без дальнейшей поддерживающей терапии.

Лечение больных в группе высокого риска состояло из 4 альтернирующих курсов химиотерапии: НАЕ (Ага-С 1000 мг/м² каждые 12 ч в 1–3-й день, митоксантрон 12 мг/м²/сут во 2–4-й день) и флударабин в сочетании с этопозидом (флударабин 30 мг/м²/сут в 1–5-й день и этопозид 100 мг/м²/сут в 1–5-й день, цитарабин эндолюмбально 40 мг в 1-й день). Суммарная доза митоксантрона составила 72 мг. Профилактику поражения ЦНС проводили путем эндолюмбального введения Ага-С в дозе 40 мг в каждом курсе.

Больные, включенные в исследование НИИ ДОГ ОМЛ 2007 со стандартным риском, получили индукцию ремиссии АИЕ длительностью 8 дней, состоявшую из цитарабина (Ага-С 100 мг/м² в 1–2-й день и 100 мг/м² каждые 12 ч в 3–8-й день), идарубицина (IDA 12 мг/м² в 3–8-й день) и этопозид (Вепезид [VP-16] 150 мг/м² в 5–8-й день). С 21-го дня от окончания индукции ремиссии начиналась консолидация ремиссии. В терапию консолидации ремиссии были включены следующие химиопрепараты: Ага-С (75 мг/м² 4 курса по 4 дня с 3-дневным перерывом), даунорубицин (30 мг/м² 1 раз в неделю), 6-меркаптопурин (6-МП 60 мг/м² ежедневно 28 дней). По окончании курса консолидации и восстановлении абсолютного числа гранулоцитов более 0,5 × 10⁹/л и тромбоцитов более 100 × 10⁹/л проводили 2 курса интенсификации hAE (Ага-С 1000 мг/м² каждые 12 ч в 1–3-й день и VP-16 125 мг/м² во 2–5-й день) с интервалом 2 нед. Поддерживающее лечение состояло из ежемесячных 4-дневных курсов Ага-С, ежедневного приема 6-МП и эпигенетической терапии: ВК 25 мг/кг ежедневно и АТРА 25 мг/м² каждые 14 дней с 14-дневным перерывом. Поддерживающая терапия продолжалась до 78 нед. от начала индукции ремиссии. Облучение ЦНС про-

водилось больным с t(16;16) или inv(16) без инициального поражения ЦНС (СОД 12 Гр, РОД 2 Гр).

В протоколе НИИ ДОГ ОМЛ 2007 больные с ОМЛ среднего и высокого риска с целью индукции ремиссии получали следующее лечение: АИЕ + НАЕ (Ага-С 3000 мг/м² каждые 12 ч в 1–3-й день и митоксантрон 12 мг/м²/сут в 3–4-й день). Для пациентов, изначально включенных в группу среднего и высокого риска и с уровнем бластов более 25 % на 15-й день от начала режима АИЕ, терапия индукции ремиссии проводилась в режиме **timing**: курс НАЕ начинался на 15-й день от начала курса АИЕ. Режим **timing** не соблюдался только при констатации тяжелой инфекции. При количестве бластов в пунктате костного мозга менее 25 % курс химиотерапии НАЕ начинался на 21-й день от окончания курса АИЕ. Начиная с 1-го дня лечения пациенты со средним и высоким риском получали ВК (Депакин хроно) 25 мг/кг ежедневно и АТРА (Весаноид) 25 мг/м² в 1–43-й день.

Консолидация ремиссии начиналась на 21-й день от окончания индукции и была представлена курсом FLAG: флударабин (30 мг/м² в 1–5-й день, Ага-С 2000 мг/м² в 1–5-й день, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор 5 мкг/кг в 0–6-й день) с непрерывным приемом ВК 25 мг/кг и АТРА 25 мг/м² в 1–14-й день.

После восстановления уровня гранулоцитов и тромбоцитов проводился курс ранней интенсификации НАЕ (Ага-С 3000 мг/м² каждые 12 ч в 1–3-й день и VP-16 125 мг/м² во 2–5-й день), ежедневный прием ВК 25 мг/кг и АТРА 25 мг/м² в 1–14-й день.

Поддерживающая терапия была такой же, как у пациентов со стандартным риском. Только для детей, включенных в группу высокого риска, планировалось проведение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток от полностью совместимого родственного донора.

Распределение пациентов по группам риска и протоколам представлено в табл. 1. Существенно больше больных было включено в группу стандартного риска, лечившихся по протоколу AML BFM 87, чем детей, лечившихся по протоколам НИИ ДОГ ОМЛ 2002 и НИИ ДОГ ОМЛ 2007: 23 (46,9 %), 13 (26,5 %) и 13 (36,5 %) соответственно. В исследовании AML BFM 87 не было группы среднего риска, а в исследованиях НИИ ДОГ ОМЛ 2002 и НИИ ДОГ ОМЛ 2007 было 25 (61 %) и 16 (39 %) пациентов соответственно. В группе высокого риска больше всего больных было в исследовании AML BFM 87 — 31 (46,3 %), меньше в исследовании НИИ ДОГ ОМЛ 2007 — 23 (34,3 %) и еще меньше — 13 (19,4 %) в исследовании НИИ ДОГ ОМЛ 2002 ($p < 0,0001$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из 54 больных, включенных в протокол AML BFM 87, ремиссия была достигнута у 43 (76,9 %) детей, в исследованиях НИИ ДОГ ОМЛ 2002 и НИИ ДОГ ОМЛ 2007 — у 43

Таблица 1. Распределение пациентов в зависимости от групп риска и протокола лечения

Группа		Протокол			Всего
		НИИ ДОГ ОМЛ 2002	НИИ ДОГ ОМЛ 2007	AML BFM 87	
Стандартный риск	Абсолютное число	13	13	23	49
	В группе риска	26,5 %	26,5 %	46,9 %	100,0 %
	В протоколе	25,5 %	25,0 %	42,6 %	31,2 %
Средний риск	Абсолютное число	25	16	0	41
	В группе риска	61,0 %	39,0 %	0 %	100,0 %
	В протоколе	49,0 %	30,8 %	0 %	26,1 %
Высокий риск	Абсолютное число	13	23	31	67
	В группе риска	19,4 %	34,3 %	46,3 %	100,0 %
	В протоколе	25,5 %	44,2 %	57,4 %	42,7 %
Итого	Абсолютное число	51	52	54	157
	В группе риска	32,5 %	33,1 %	34,4 %	100,0 %
	В протоколе	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %

(84,3 %) и 48 (92,3 %) пациентов соответственно, $p = 0,17$ (табл. 2). Среди больных со стандартным риском ремиссия не была достигнута у 3 (13 %) пациентов в группе детей, получавших лечение по протоколу AML BFM 87, в то время как в двух других исследованиях ремиссия отмечена у всех пациентов, стратифицированных в эту группу. У детей, вошедших в группу среднего риска, ремиссия была достигнута у 21 (84 %) ребенка, леченного по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2002, и у 14 (87,5 %) — по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2007. Также более высокая частота полных ремиссий была отмечена в группе высокого риска у детей, включенных в исследование НИИ ДОГ ОМЛ 2007, чем у детей в исследованиях НИИ ДОГ ОМЛ 2002 и AML BFM 87: 21 (91,3 %), 9 (69,2 %) и 9 (74,2 %) соответственно, $p < 0,0001$ (табл. 3–5).

Наиболее высокая БСВ отмечалась у больных, получавших лечение по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2007, — $52,9 \pm 7,1$ %, средняя продолжительность наблюдения 31,9 мес. (95%-й доверительный интервал [95% ДИ] 25,5–37,2 мес.), более низкая была у пациентов, включенных в протокол AML BFM 87, — $45,1 \pm 6,9$ %, средняя продолжительность наблюдения $99,2 \pm 13,5$ мес. (95% ДИ 73,0–125,4 мес.). Наиболее низкой БСВ оказалась у детей, получавших лечение по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2002, — $39,2 \pm 6,8$ %, средняя продолжительность наблюдения $40,5 \pm 5,5$ мес. (95% ДИ 29,1–51,0 мес.), $p = 0,39$ (рис. 1).

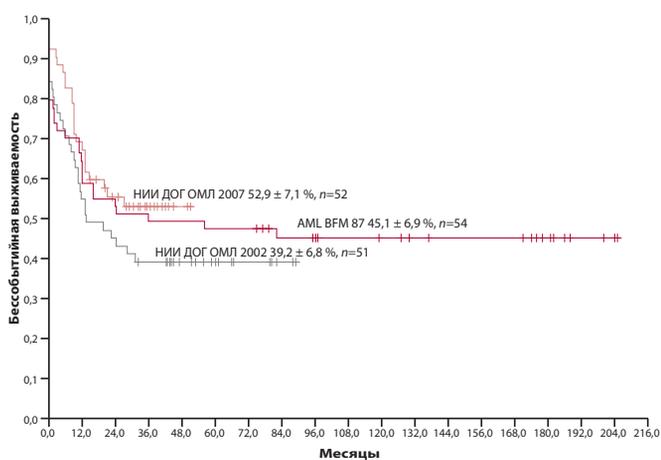


Рис. 1. Бесобытийная выживаемость детей с ОМЛ в зависимости от протокола лечения

При анализе безрецидивной выживаемости (БРВ) она также была более высокая у больных, лечившихся по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2007, чем по AML BFM 87 и НИИ ДОГ ОМЛ 2002: $61,2 \pm 7,3$ %, средняя продолжительность наблюдения $35,2 \pm 2,9$ мес. (95% ДИ 29,6–41,1 мес.); $47,5 \pm 7,1$ %, средняя продолжительность наблюдения $104,0 \pm 13,5$ мес. (95% ДИ 77,8 ± 130,9 мес.) и $44,1 \pm 7,2$ %, средняя продолжительность наблюдения $44,3 \pm 5,8$ мес. (95% ДИ 32,9–55,7 мес.) соответственно, $p = 0,23$ (рис. 2).

Таблица 2. Распределение пациентов в зависимости от достижения ремиссии и протокола лечения

Состояние ремиссии	Абсолютное число	Протокол			Всего
		НИИ ДОГ ОМЛ 2002	НИИ ДОГ ОМЛ 2007	AML BFM 87	
Не достигнута	В группе не достигших ремиссии	8	4	11	23
	В группе	34,8 %	17,4 %	47,8 %	100,0 %
	В протоколе	15,7 %	7,7 %	20,4 %	14,6 %
Достигнута	В группе достигших ремиссии	43	48	43	134
	В группе	32,1 %	35,8 %	32,1 %	100,0 %
	В протоколе	84,3 %	92,3 %	79,6 %	85,4 %
Итого	Абсолютное число	51	52	54	157
	В протоколе	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %

Таблица 3. Распределение пациентов, лечившихся по протоколу AML BFM 87, в зависимости от групп риска и достижения ремиссии

Состояние ремиссии	Абсолютное число	Группа риска		Всего
		Стандартный	Высокий	
Ремиссия не достигнута	В группе не достигших ремиссии	3	8	11
	В группе	27,3 %	72,7 %	100,0 %
	В группе риска	13,0 %	25,8 %	20,4 %
Ремиссия достигнута	В группе достигших ремиссии	20	23	43
	В группе	46,5 %	53,5 %	100,0 %
	В группе риска	87,0 %	74,2 %	79,6 %
Итого	Абсолютное число	23	31	54
	В группе риска	100,0 %	100,0 %	100,0 %

Таблица 4. Распределение пациентов, лечившихся по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2002, в зависимости от групп риска и достижения ремиссии

Состояние ремиссии	Абсолютное число	Группа риска			Всего
		Стандартный	Средний	Высокий	
Ремиссия не достигнута	В группе не достигших ремиссии	0	4	4	8
	В группе	0 %	50,0 %	50,0 %	100,0 %
	В группе риска	0 %	16,0 %	30,8 %	15,7 %
Ремиссия достигнута	В группе достигших ремиссии	13	21	9	43
	В группе	30,2 %	48,8 %	20,9 %	100,0 %
	В группе риска	100,0 %	84,0 %	69,2 %	84,3 %
Итого	Абсолютное число	13	25	13	51
	В группе риска	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %

Таблица 5. Распределение пациентов, лечившихся по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2007, в зависимости от групп риска и достижения ремиссии

Состояние ремиссии	Абсолютное число	Группа риска			Всего
		Стандартный	Средний	Высокий	
Ремиссия не достигнута	В группе не достигших ремиссии	0	2	2	4
	В группе	0 %	50,0 %	50,0 %	100,0 %
	В группе риска	0 %	12,5 %	8,7 %	7,7 %
Ремиссия достигнута	В группе достигших ремиссии	13	14	21	48
	В группе	27,1 %	29,2 %	43,8 %	100,0 %
	В группе риска	100,0 %	87,5 %	91,3 %	92,3 %
Итого	Абсолютное число	13	16	23	52
	В группе риска	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %

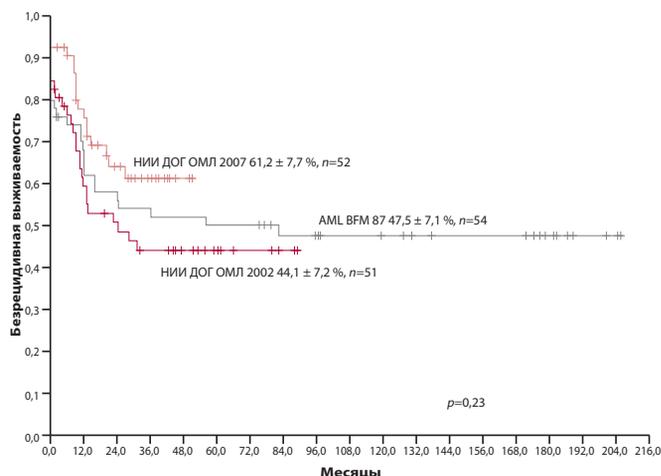


Рис. 2. Безрецидивная выживаемость детей с ОМЛ в зависимости от протокола терапии

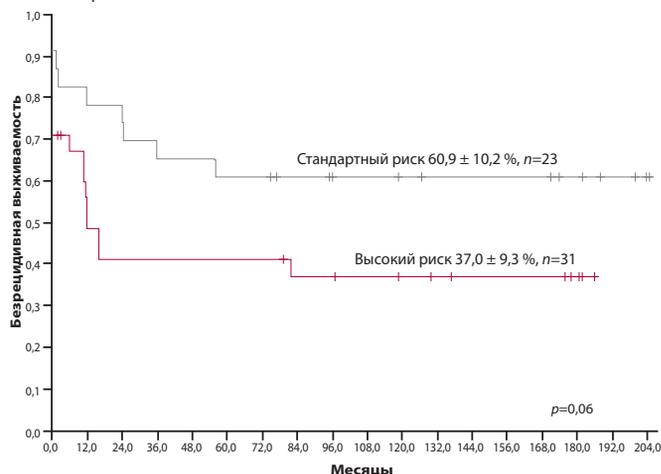


Рис. 4. Безрецидивная выживаемость детей с ОМЛ, получавших лечение по протоколу AML BFM 87, в зависимости от групп риска

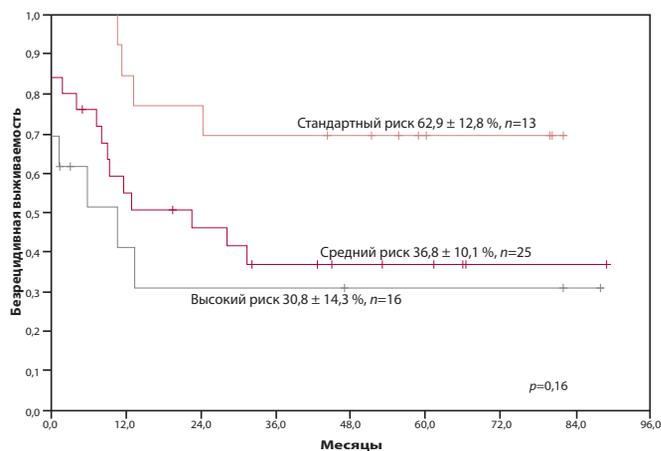


Рис. 6. Безрецидивная выживаемость детей с ОМЛ, получавших лечение по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2002, в зависимости от групп риска

Среди больных, получавших лечение по протоколу AML BFM 87, значительно более высокие показатели БСВ и БРВ были в группе со стандартным риском, чем с высоким. Так, БСВ в группе со стандартным риском составила $60,9 \pm 10,2 \%$, средняя продолжительность наблюдения $131,0 \pm 19,2$ мес. (95% ДИ 93,8–169,2 мес.), а с высоким риском — $33,5 \pm 8,7 \%$, средняя продолжительность наблюдения $68,6 \pm 15,4$ мес. (95% ДИ 38,3–99,0 мес.), $p = 0,03$ (рис. 3). БРВ в группах со стандартным и высоким риском равнялась $60,9 \pm 10,2$ и $37,0 \pm 9,3 \%$ соответственно, средняя продолжительность наблюдения — $131,0 \pm 13,3$ мес. (95% ДИ 116,2–168,6 мес.), $p = 0,06$ (рис. 4).

Для протокола НИИ ДОГ ОМЛ 2002 была выявлена значимая разница БСВ между группами пациентов с раз-

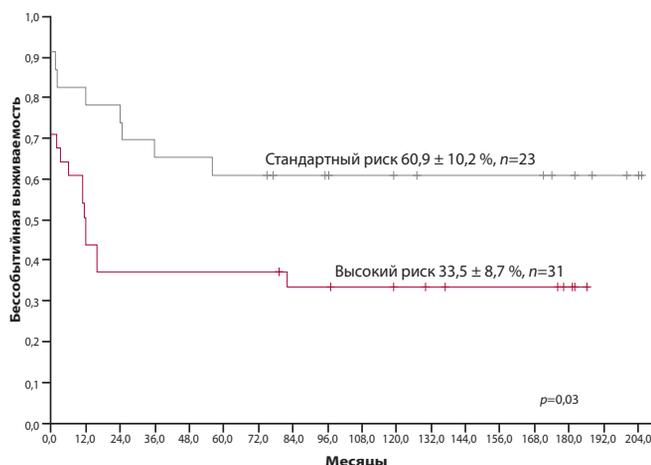


Рис. 3. Бессобытийная выживаемость детей с ОМЛ, получавших лечение по протоколу AML BFM 87, в зависимости от групп риска

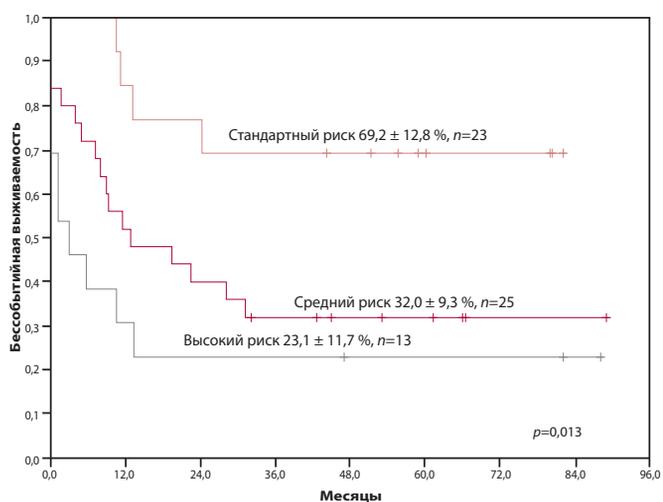


Рис. 5. Бессобытийная выживаемость детей с ОМЛ, получавших лечение по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2002, в зависимости от групп риска

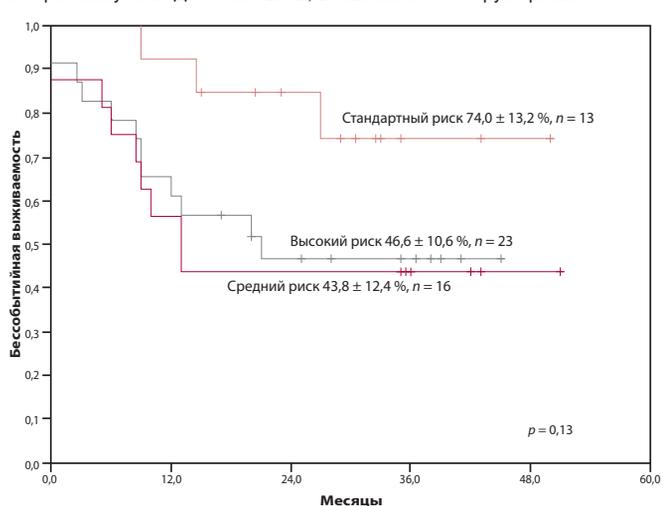


Рис. 7. Бессобытийная выживаемость детей с ОМЛ, получавших лечение по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2007, в зависимости от групп риска

личным риском, но при анализе БРВ эта разница оказалась не столь существенной. В этом исследовании БСВ для стандартного риска составила $69,2 \pm 12,8 \%$, средняя продолжительность наблюдения $61,3 \pm 8,6$ мес. (95% ДИ 44,4–78,2 мес.); среднего риска — $32,0 \pm 9,3 \%$, средняя продолжительность наблюдения $35,3 \pm 7,5$ мес. (95% ДИ 20,5–50,07 мес.) и высокого — $23,1 \pm 11,7 \%$, средняя продолжительность наблюдения $23,0 \pm 9,9$ мес. (95% ДИ 3,5–42,5 мес.), $p = 0,013$ (рис. 5). БРВ детей со стандартным риском оказалась такой же, как и БСВ, для групп среднего и высокого риска она составила соответственно $36,8 \pm 10,1$ и $30,8 \pm 14,3 \%$, средняя продолжительность наблюдения —

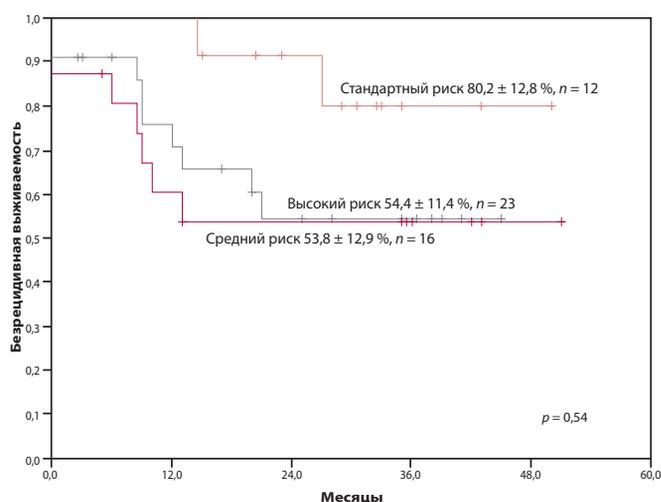


Рис. 8. Безрецидивная выживаемость детей с ОМЛ, получавших лечение по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2007, в зависимости от групп риска

39,2 ± 8,0 (95% ДИ 23,5–54,9 мес.) и 30,3 ± 11,8 мес. (95% ДИ 7–53,3 мес.), $p = 0,16$ (рис. 6).

В исследовании НИИ ДОГ ОМЛ 2007 не было выявлено столь значительной разницы БСВ и БРВ, как в двух предыдущих протоколах, хотя оба вида выживаемости были выше в группе пациентов со стандартным риском, чем со средним и высоким. Так, БСВ детей со стандартным риском была 74,0 ± 13,2 %, средняя продолжительность наблюдения 41,6 ± 4,2 мес. (95% ДИ 33,4–49,9 мес.); со средним риском — 43,8 ± 12,4 %, средняя продолжительность наблюдения 26,3 ± 5,5 мес. (95% ДИ 15,5–37,1 мес.) и с высоким — 46,6 ± 10,6 %, средняя продолжительность наблюдения 25,7 ± 3,9 мес. (95% ДИ 18–33,4 мес.), $p = 0,13$ (рис. 7). БРВ для групп стандартного, среднего и высокого риска составила соответственно 80,2 ± 12,8, 53,8 ± 12,9 и 54,4 ± 11,4 %, средняя продолжительность наблюдения — 44,4 ± 3,5 (95% ДИ 37,3–51,4 мес.), 30,5 ± 5,7 (95% ДИ 19,3–41,8 мес.) и 29,4 ± 3,9 мес. (95% ДИ 21,7–41,8 мес.), $p = 0,54$ (рис. 8).

ОБСУЖДЕНИЕ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большое число неудач в терапии ОМЛ привело к поиску новых способов лечения этого заболевания. Первым препаратом, с помощью которого при остром промиелоцитарном лейкозе удалось заставить опухолевую клетку «дозреть» и погибнуть, была АТРА [9, 10]. S. Tohda и соавт. в исследовании механизма воздействия АТРА на культуру клеток ОМЛ доказали, что АТРА ингибирует рост бластов и повышает их чувствительность к химиопрепаратам [11]. В 2 клинических исследованиях увеличения выживаемости больных ОМЛ при добавлении к терапии АТРА выявлено не было [12, 13]. Следовательно, в испытании *in vivo* данные, полученные *in vitro*, о воздействии АТРА на бластные клетки при ОМЛ не подтвердились.

Длительное применение ВК в качестве противосудорожного средства у больных эпилепсией приводило к лейкопении, тромбоцитопении и анемии, у ряда пациентов развивался МДС, который самостоятельно исчезал после прекращения приема препарата. На основании этих данных был поставлен вопрос о возможном воздействии ВК на гемопоэз и апоптоз гемопоэтических клеток. M.R. Trus и соавт. исследовали воздействие ВК и АТРА на клеточную линию ОМЛ ОС1/AML-2, состоящую из бластных элементов миелоидного ряда без признаков, характерных для промиелоцитов. В клетках этой линии и бластных клетках, полученных от 6 больных ОМЛ, сочетанное применение

ВК и АТРА индуцировало экспрессию гена *p21* и снижало экспрессию гена *p53*. Этот эффект не был отмечен при воздействии только АТРА и был существенно меньше при применении только ВК [14].

До сих пор сочетание ВК и АТРА без проведения химиотерапии использовали при лечении больных пожилого возраста с рефрактерными формами или рецидивами ОМЛ либо МДС. При рецидивах ОМЛ полные ремиссии достигались в 25–40 % случаев, а при МДС — в 52 % [15, 16]. С. Pilatino и соавт. заметили повышение уровня тромбоцитов и независимость от трансфузий эритроцитарной массы у 6 из 11 пожилых пациентов с ОМЛ или МДС в течение 63–550 дней во время лечения АТРА и ВК [17].

По нашему мнению, добавление к химиотерапии ВК и АТРА, по-видимому, может увеличить число полных ремиссий за счет изменения структуры хроматина рецидивальных бластов и повысить их чувствительность к цитостатическим препаратам. В представленном нами исследовании было решено соединить химиотерапию с эпигенетической терапией в период индукции, консолидации ремиссии, ранней интенсификации и поддерживающего лечения у больных в группах среднего и высокого риска. Учитывая достаточно удовлетворительные результаты лечения детей с ОМЛ из группы стандартного риска при использовании протокола НИИ ДОГ ОМЛ 2002 [2], ВК и АТРА были добавлены только к поддерживающей терапии, при этом химиотерапия индукции и консолидации ремиссии для этой группы больных осталась без изменения.

Несмотря на отсутствие значимой разницы БСВ и БРВ между больными, стратифицированными в разные группы риска (БСВ для стандартного, среднего и высокого риска $p = 0,8$, $p = 0,5$ и $p = 0,16$; БРВ соответственно $p = 0,57$, $p = 0,4$ и $p = 0,19$), было отмечено повышение уровня выживаемости в исследовании НИИ ДОГ ОМЛ 2007 для всех групп риска. Кроме того, количество полных ремиссий было существенно больше в группе больных со средним и высоким риском и получавших лечение по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2007.

Таким образом, сочетание химиотерапии с препаратами эпигенетической направленности позволяет достичь большего числа полных ремиссий у больных ОМЛ среднего и высокого риска, а также лучших показателей выживаемости.

Благодаря полученным результатам мы продолжим исследование с ингибиторами деацетилазы и будем разрабатывать протокол с применением препаратов с деметилирующими свойствами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попа А.В. Стратегия диагностики и лечения острого миелоидного лейкоза у детей: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2003.
2. Попа А.В., Маякова С.А. Лечение острого миелоидного лейкоза у детей. Онкогематология 2006; 1(1–2): 63–9.
3. Gottlicher M., Minucci S., Zhu P. et al. Valproic acid defines a novel class of HDAC inhibitors inducing differentiation of transformed cells. EMBO 2001; 20: 6969–78.
4. Phiel C.J., Zhang F., Huang E.Y. et al. Histone deacetylase is a direct target of valproic acid, a potent anticonvulsant, mood stabilizer, and teratogen. J. Biol. Chem. 2001; 276: 36734–41.
5. Cinatl J. Jr, Cinatl J., Driever P.H. et al. Sodium valproate inhibits *in vivo* growth of human neuroblastoma cells. Anti-Cancer Drugs 1997; 8: 958–63.
6. Kawagoe R., Kawagoe H., Sano K. Valproic acid induces apoptosis in human leukemia cells by stimulating both caspase-dependent and -independent apoptotic signaling pathways. Leuk. Res. 2002; 26: 495–502.
7. Kuendgen A., Strupp C., Aivado M. et al. Treatment of myelodysplastic syndromes with valproic acid alone or in combination with all-trans retinoic acid. Blood 2004; 104: 1266–9.
8. Schlenk R.F., Frohling S., Dohner H. et al.; AML Study Group Ulm. Phase III study of all-trans retinoic acid in previously untreated patients 61 years or older with acute myeloid leukemia. Leukemia 2004; 18: 1798–803.

9. Tallman M.S., Andersen J.W., Schiffer C.A. et al. All-trans-retinoic acid in acute promyelocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 1997; 337: 1021–8.
10. Warrell R.P. Jr, Maslak P., Eardley A. et al. Treatment of acute promyelocytic leukemia with all trans retinoic acid: an update of the New York experience. *Leukemia* 1994; 8: 929–33.
11. Tohda S., Curtis J.E., McCulloch E.A., Minden M.D. Comparison of the effects of all-trans and cis-retinoic acid on the blast stem cells of acute myeloblastic leukemia in culture. *Leukemia* 1992; 6: 656–61.
12. Estey E.H., Thall P.F., Pierce S. et al. Randomized phase II study of fludarabine + cytosine arabinoside + idarubicin ± all-trans retinoic acid ± granulocyte colony-stimulating factor in poor prognosis newly diagnosed acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Blood* 1999; 93: 2478–84.
13. Bolanos-Meade J., Karp J.E., Guo C. et al. Timed sequential therapy of acute myelogenous leukemia in adults: a phase II study of retinoids in combination with the sequential administration of cytosine arabinoside, idarubicin and etoposide. *Leuk. Res.* 2003; 27: 313–21.
14. Trus M.R., Yang L., Suarez Saiz F. et al. The histone deacetylase inhibitor valproic acid alters sensitivity towards all trans retinoic acid in acute myeloid leukemia cells. *Leukemia* 2005; 19: 1161–8.
15. Raffoux E., Chaibi P., Dombret H., Laurent D. Treatment of elderly acute myeloid leukemia with valproic acid and all-trans retinoic acid. *Hematologica* 2005; 90(7): 986–8.
16. Kuendgen A., Strupp S., Fox F. et al. Results of a phase 2 study of valproic acid alone or in combination with all-trans retinoic acid in 75 patients with myelodysplastic syndrome and relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Ann. Hematol.* 2005;84(Suppl. 1): 61–6.
17. Pilatino C., Cilloni D., Messa E. et al. Increase in platelet count in older, poor-risk patients with acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome treated with valproic acid in ALL-Trans retinoic acid. *Cancer* 2005; 104(1): 101–9.
-

