

Антипова А.С., Баранова О.Ю., Френкель М.А., Тупицын Н. Н.

РОЛЬ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗАХ СО СМЕШАННЫМ ФЕНОТИПОМ

ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», 115478, г. Москва

Цель исследования – изучение клинико-лабораторных, цитогенетических, молекулярных особенностей и прогноза при острых лейкозах со смешанным фенотипом (СФОЛ), а также роли ингибиторов тирозинкиназы (ИТК) в лечении Ph-позитивного варианта СФОЛ (Ph+СФОЛ).

Материал и методы. Среди 208 больных, обследованных в ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» с 2000 по 2014 г., редкий диагноз СФОЛ установлен у 5 (2,4%) пациентов. В целом группу составили 13 больных, в нее вошли 5 пациентов ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» и 8, наблюдавшихся в четырех других гематологических стационарах Москвы. Диагноз устанавливался в соответствии с критериями классификации ВОЗ 2008 г.

Результаты. В группе анализируемых больных отмечены высокая частота достижения полной ремиссии (83,3%), низкая ранняя летальность (8,3%). Вместе с тем отдаленные результаты терапии были неудовлетворительными. Показатели 3-летней общей выживаемости (ОВ) составили 18,2% при медиане 14 мес, 3-летней безрецидивной выживаемости (БРВ) – 12,8% при медиане 16 мес. В группе больных Ph+СФОЛ использование иматиниба в комбинации с программами полихимиотерапии острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) ассоциировалось с высокой непосредственной эффективностью и лучшей выживаемостью. Полные ремиссии достигнуты у всех больных Ph+СФОЛ. Показатель 3-летней ОВ в группе Ph+СФОЛ составил 61% (медиана 36 мес), показатель БРВ оказался низким.

Заключение. Первичная диагностика острых лейкозов должна быть комплексной и обязательно включать иммунофенотипирование, цитогенетическое и молекулярно-биологическое исследование. При Ph-позитивном варианте СФОЛ обязательный компонент терапии — ИТК 1-го или 2-го поколения. Представляется более перспективным использование комбинации ИТК с режимами лечения ОЛЛ со сниженной интенсивностью. Проблема терапии пациентов с Ph-негативными СФОЛ остается нерешенной. Требуется проведение дальнейших исследований по изучению цитогенетического и молекулярно-биологического профиля этой категории острых лейкозов с целью разработки оптимальных режимов терапии.

Ключевые слова: острые лейкозы со смешанным фенотипом; билинейные острые лейкозы; бифенотипические острые лейкозы; иматиниб.

Для цитирования: Российский онкологический журнал. 2015; 20 (3): 32–38.

THE ROLE OF TARGET THERAPY FOR MIXED PHENOTYPE ACUTE LEUKEMIA

Antipova A.S., Baranova O.Yu., Frenkel M.A., Tupitsyn N.N.

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, 115478, Moscow, Russian Federation

Aim was to study clinical and laboratory test results, cytogenetic and molecular characteristics and prognosis of mixed phenotype acute leukemia (MPAL) as well as the role of tyrosine-kinase inhibitors (TKIs) in treatment of Ph-positive MPAL (Ph+ MPAL).

Material and methods. The rare MPAL diagnosis was determined in 5 (2.4%) out of 208 patients examined in N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (NNBRCRC) between 2000 and 2014. On the whole, the study group included 13 patients, 5 – from NNBRCRC and 8 – treated in four other hematological hospitals of Moscow. The diagnosis was established according to WHO classification, 2008.

Results. High percentage of the complete remission (83.3%) and low early lethality (8.3%) was observed in the study group. However, the long-term therapy results were unsatisfactory. 3-year overall survival (OS) rate amounted 18.2% with the median of 14 months, and 3-year relapse free survival (RFS) was 12.8%, with the median of 16 months. Imatinib based treatment in combination with acute lymphoblastic leukemia (ALL) polychemotherapy of the patients with Ph+ MPAL associated with high immediate efficacy and better survival. Complete remission was achieved in all patients with Ph+ MPAL. 3-year OS of Ph+MPAL patients was 61% (median 36 months); RFS was low.

Conclusion. Primary acute leukemia diagnostics should be complex and necessarily include immune phenotype evaluation, cytogenetic and molecular biological tests. 1-st or 2-nd generation TKIs should be included in Ph+MPAL treatment. TKIs may be more effectively combined with lower intensive ALL therapy regimens. The problem of Ph-negative MPAL patients' treatment remains unresolved. Further studies of cytogenetic and molecular biological profile of this acute leukemia type are necessary to develop optimal therapy regimens.

Key words: mixed phenotype acute leukemia; bilineage acute leukemia; biphenotypic acute leukemia; imatinib.

Citation: Rossiiskii onkologicheskii zhurnal. 2015; 20 (3): 32–38. (In Russ.)

Correspondence to: Ol'ga Baranova – MD, PhD; e-mail: baranova-crc@mail.ru.

Received 05.03.15

Современная стратегия химиотерапии острых лейкозов (ОЛ), разработанная несколько десятилетий назад и претерпевшая за это время ряд изменений в плане интенсификации, по всей видимости, практически исчерпала свой противоопухолевый потенциал и более не может принципиально изменить результаты терапии. В настоящее время около 10 – 20% пациентов остаются резистентными к химиотерапии, а показатели отдаленной безрецидивной выживаемости (БРВ), за рядом исключений, не превышают 45–50%. Большинство современных исследований направлено на поиск и внедрение новых, порой не связанных с цитостатическими эффектами способов воздействия на лейкоэмические клетки. К ним можно отнести метод трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), переливание донорских лимфоцитов, применение новых таргетных противоопухолевых препаратов патогенетического действия (дифференцировочных агентов, ингибиторов тирозинкиназ – ИТК, моноклональных антител и др.).

Разработка новых терапевтических подходов при ОЛ стала возможной благодаря более глубокому пониманию биологии этой гетерогенной по своим клинико-морфологическим, цитогенетическим, молекулярно-биологическим характеристикам группы заболеваний. Изучение молекулярного профиля позволяет выделять новые варианты ОЛ и предоставлять важную информацию для разработки и использования в практике новых таргетных препаратов, а также проводить мониторинг минимальной остаточной популяции лейкоэмических клеток с последующим моделированием риска адаптивной терапии.

В настоящее время при некоторых вариантах ОЛ с успехом применяется таргетная терапия. Острый промиелоцитарный лейкоз (ОПЛ) стал первым вариантом ОЛ, при котором не только изучены основные молекулярные аспекты лейкогенеза, но и создана патогенетическая терапия полностью трансретиноевой кислотой (АТРА). Этими двумя составляющими обусловлен тот огромный успех, который достигнут за последние три десятилетия в области изучения и лечения этого заболевания. Идентификация химерного гена *PML-RARA*, образующегося в результате транслокации $t(15;17)(q22;q12)$, позволяет с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией устанавливать на молекулярном уровне диагноз ОПЛ, а также осуществлять мониторинг минимальной резидуальной болезни. Успешное использование АТРА, которое началось с 1986 г., кардинальным образом изменило судьбу пациентов ОПЛ и ознаменовало новую эру в терапии этого вида острого лейкоза, а также положило начало использования таргетной терапии при ОЛ. Применение комбинации АТРА и цитостатических препаратов, по данным ряда крупных многоцентровых исследований, позволило не только существенно уменьшить число ранних смертей и резистентных случаев течения заболевания, но и достигнуть более высоких показателей отдаленной БРВ. При этом шанс на выздоров-

ление имеют около 70% пациентов ОПЛ, у которых АТРА применяется уже в дебюте заболевания [1–3]. В настоящее время АТРА, являющаяся базисной составляющей программной терапии ОПЛ, продолжает активно изучаться в терапии и других вариантов острых миелоидных лейкозов (ОМЛ), в частности при обнаружении мутаций гена *NPM1* [4 – 7].

За последние два десятилетия достигнут значительный прогресс в изучении биологии и разработке терапии Ph-позитивных вариантов ОЛ и хронического миелолейкоза. Молекулярный профиль этих заболеваний характеризуется наличием химерного гена *BCR-ABL1*, являющегося результатом транслокации $t(9;22)(q34;q11.2)$. Патогенетическая терапия заключается в использовании ИТК – противоопухолевых препаратов, являющихся представителями класса таргетных цитостатических агентов с избирательным воздействием на клетки, имеющие те или иные характерные генетические дефекты. Так, иматиниб (Гливек), представляющий собой ингибитор с-ABL-киназы, на рубеже XX века полностью изменил терапевтические подходы к лечению хронического миелолейкоза (ХМЛ). Кроме того, использование иматиниба в программах терапии Ph-позитивного острого лимфобластного лейкоза значительно улучшило результаты терапии в отношении как возможности достижения полной ремиссии, так и ее продолжительности [8–10]. В настоящее время в лечении Ph-позитивных вариантов ОЛ и ХМЛ также используются ингибиторы тирозинкиназ 2-го поколения (дазатиниб, нилотиниб). Эти препараты представляют собой мультикиназные ингибиторы, которые позволяют преодолевать резистентность на фоне терапии иматинибом вследствие развития мутаций в киназном домене химерного гена *BCR-ABL*.

В последнее десятилетие с помощью молекулярного анализа открыт целый ряд дополнительных генетических изменений при ОМЛ с различными аномалиями кариотипа, проводятся изучение их прогностического значения и разработка новых терапевтических подходов. Наиболее часто детектируемые мутации затрагивают гены *c-KIT*, *FLT3*, *RAS*, кодирующие тирозинкиназы – одно из важнейших звеньев в системе передачи сигналов в клетке. Варианты ОЛ с этими мутациями, по данным большинства исследований, характеризуются неблагоприятным прогнозом.

При ОМЛ с мутациями гена *c-KIT* обнадеживающие результаты получены при использовании дазатиниба, являющегося специфическим ингибитором киназ Src и BCR-ABL. Мутации гена *c-KIT*, приводящие к гиперэкспрессии рецепторной тирозинкиназы KIT, наблюдаются сравнительно редко при ОМЛ (частота не превышает 6%). Они главным образом ассоциированы с группой CBF-ОМЛ, характеризующихся хромосомными aberrациями $t(8;21)(q22;q22)$ и $inv(16)(p13q22)/t(16;16)(p13;q22)$, молекулярными эквивалентами которых являются химерные гены *RUNX1-RUNX1T1* и *CBFβ-MYH11* соответственно (до 30% больных). Изучается эффективность дазатиниба при его использовании совместно со стандартной химиотерапией в индукционном периоде, а также на этапах консолидационной и поддерживающей терапии. Кроме того, имеются сообщения об успешном опыте применения дазатиниба в качестве монотерапии при детекции минимальной остаточ-

Для корреспонденции: Баранова Ольга Юрьевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отд-ния химиотерапии гемобластозов; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, e-mail: baranova-ocr@mail.ru.

ной болезни или развитии ранних молекулярных рецидивов в группе СВФ-ОМЛ [11–13].

ОМЛ с мутациями гена *FLT3* встречается у 13,2 – 32% взрослых больных, в том числе при нормальном кариотипе бластных клеток. Мутации гена *FLT3* (мутация по типу внутреннего tandemного удвоения – *FLT3-ITD*) приводят к независимой от лиганда димеризации и неконтролируемой активации *FLT3* (FMS-like tyrosine kinase 3) – рецепторной тирозинкиназы. Результатом этих молекулярных событий является неконтролируемая пролиферация лейкоэмических клеток. Результаты целого ряда клинических исследований свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе ОМЛ с мутациями гена *FLT3* [14–16]. Большой интерес представляет использование новых ингибиторов конститутивно активированной в результате мутаций *FLT3*-тирозинкиназы. В настоящее время проходят исследования несколько *FLT3*-ИТК: сорафениб, мидостаурин, сунитиниб, лестауртиниб, квизартиниб. Получены обнадеживающие результаты по эффективности и безопасности этой группы препаратов не только при рецидивах/резистентных ОМЛ, но и у пациентов с впервые диагностированным заболеванием при их использовании в монорежиме, а также в комбинации с цитостатической терапией [17–20].

В последние годы повышенный интерес представляют изучение биологии и разработка терапевтических подходов при ОЛ со смешанным фенотипом (СФОЛ). Интерес к этому варианту обусловлен его редкостью, неблагоприятным прогнозом и отсутствием единых терапевтических подходов, а также перспективами применения таргетной терапии.

Характерной особенностью бластных клеток костного мозга и периферической крови больных СФОЛ является отсутствие четких признаков дифференцировки по одной из гемопоэтических линий и наличие на опухолевых клетках черт одновременно миелоидной (М) и лимфоидной (В- или Т-) принадлежности. При этом в одних случаях могут одновременно определяться два клон клеток, каждый из которых экспрессирует маркеры, характерные только для одной линии (билинейные острые лейкозы). В других случаях бластные клетки способны экспрессировать на своей поверхности одновременно маркеры миелоидной и лимфоидной (В- или Т-) направленности (бифенотипические острые лейкозы).

К настоящему времени знания о СФОЛ получены в большинстве случаев по результатам немногочисленных одноцентровых исследований и серии описаний отдельных клинических наблюдений. В литературе имеются сведения лишь о нескольких репрезентативных исследованиях, проведенных среди детей или взрослых и включавших от 50 до 100 человек [21–24]. Это обуславливает отсутствие единых алгоритмов терапии СФОЛ. Как правило, лечебная тактика решается в индивидуальном порядке у каждого пациента и определяется в большей степени опытом лечебного центра и практикой врача-гематолога. При лечении СФОЛ одни исследователи отдают предпочтение программам, разработанным для лечения ОМЛ, другие считают более оправданным использование схем терапии острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) [23]. Кроме того, в ряде случаев могут использоваться комбинированные программы терапии [25]. В настоящее время большинство ис-

следователей единодушны во мнении о неблагоприятном прогнозе СФОЛ и необходимости проведения интенсифицированной терапии с обязательным выполнением аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) на постконсолидационном этапе при достижении уже первой полной ремиссии [26–29].

Возможность использования патогенетической (таргетной) терапии СФОЛ обусловлена особенностями цитогенетического и молекулярного профиля этого заболевания. Как показал ряд исследований, СФОЛ характеризуются гетерогенностью молекулярно-генетических характеристик. Кариотип лейкозных клеток при СФОЛ характеризуется высокой частотой хромосомных аномалий (59–91%) [14]. Среди повторяющихся неслучайных хромосомных aberrаций наиболее характерными являются t(9; 22) (q34;q11) с образованием химерного гена *BCR-ABL1* [27, 33] и t(v;11q23) с реаранжировкой гена *MLL* [21, 27]. В классификации ВОЗ пересмотра 2008 г. на основании обнаружения химерного гена *BCR-ABL* выделен особый Ph-позитивный вариант СФОЛ [31]. Это открывает перспективы использования ИТК 1-го и 2-го поколений в его лечении. Однако остаются неясными оптимальный режим терапии этого варианта заболевания, проблемы мониторинга минимальной резидуальной болезни, роль аллоТГСК в разных возрастных группах, посттрансплантационная стратегия лечения.

На сегодняшний день в лечении Ph-позитивных СФОЛ ряд исследователей рекомендуют использовать протоколы по одновременному использованию химиотерапии и ИТК [32]. Так, при проведении только химиотерапии, по данным исследования М. Atfy и соавт. [33], частота достижения полных ремиссий при Ph+СФОЛ не превышает 40%, а медиана общей выживаемости составляет всего 4 мес. В то же время при использовании стандартной химиотерапии в комбинации с иматинибом, по данным китайских ученых L. Yan и соавт. [34], полные ремиссии среди 15 больных СФОЛ с t(9;22) удалось достигнуть у 70% уже после 1 курса индукционной терапии. В этом исследовании достоверное улучшение показателей общей выживаемости (ОВ) наблюдалось при проведении аллоТГСК ($p=0,004$).

Опыт успешного лечения двух больных Ph+СФОЛ сообщается в работе F. Nagasawa и соавт. [35]. На индукционном этапе был использован режим HyperCVAD совместно с иматинибом в дозе 600 мг/сут. В обоих случаях достигнут не только полный гематологический, но и молекулярный ответ. На этапе консолидации больные получали терапию дазатинибом в дозе 140 мг/сут.

Сравнение результатов терапии 29 больных Ph+В-ОЛЛ и 13 больных Ph+СФОЛ проведено группой японских ученых. Частота полной ремиссии (ПР) при одновременном использовании иматиниба и химиотерапии была сопоставимой: 85 и 100% соответственно ($p=0,14$). Показатели 5-летней ОВ и БРВ также не различались (ОВ 53 и 55% соответственно; БРВ 42 и 46% соответственно).

Таким образом, биологические особенности лейкозной популяции при СФОЛ, ее морфоцитохимическая, иммунофенотипическая и цитогенетическая гетерогенность зачастую вызывают значительные трудности в выборе оптимального лечебного под-

хода. Результаты терапии при СФОЛ до настоящего времени остаются неудовлетворительными. Перспективным направлением по улучшению прогноза при Ph-позитивном варианте СФОЛ может являться применение таргетной терапии ИТК 1-го и 2-го поколений (иматиниб, дазатиниб). Иницированное в отделении химиотерапии гемобластозов РОНЦ им. Н.Н.Блохина исследование может способствовать более глубокому пониманию отдельных вопросов патогенеза СФОЛ, а также оптимизации лечебных подходов и улучшению качества жизни пациентов с этим редким заболеванием.

Материал и методы

В исследование включено 208 больных ОЛ, наблюдавшихся в ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» с января 2000 г. по ноябрь 2014 г. Группу составили 132 (63,5%) больных ОМЛ, 71 (34,2%) – ОЛЛ, 5 (2,3%) – СФОЛ. Диагноз ОЛ устанавливался в лаборатории «Иммунологии гемопоэза человека» ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» в соответствии с критериями классификации ВОЗ 2008 г. Больные ОЛЛ не включались в исследование.

В период с 2007 по 2014 г. в лаборатории «Иммунологии гемопоэза человека» ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» диагноз СФОЛ установлен у 8 больных, которые наблюдались в ГВКГ им. Бурденко, ГКБ №40, №52, №81.

Таким образом, всего группу больных СФОЛ составили 13 пациентов.

Всем пациентам проводилось иммунофенотипирование бластных клеток аспирата костного мозга методом проточной цитофлуориметрии. Экспрессию антигенов изучали с помощью метода непрямой иммунофлюоресценции с использованием широкой панели моноклональных антител.

Цитогенетическое исследование осуществлялось согласно международной номенклатуре ISCN (1995). Методом флюоресцентной гибридизации *in situ* отдельно определялась $t(9;22)(q34;q11.2)$. Молекулярный метод диагностики использован для определения экспрессии химерного транскрипта *BCR-ABL1* типов p190 и p210 с помощью полимеразной цепной реакции в режиме Real Time.

При обнаружении $t(9;22)(q34;q11)$ и/или химерного гена *BCR-ABL* больные получали иматиниб в комбинации со схемами полихимиотерапии ОЛЛ ($n=8$). При отсутствии Ph-хромосомы или неизвестном цитогенетическом и/или молекулярно-биологическом профиле заболевания индукция ремиссии проводилась по схемам лечения ОМЛ или комбинированным схемам, включающим цитостатические агенты для лечения как ОМЛ, так и ОЛЛ ($n=4$). Выбор схемы полихимиотерапии проводился в зависимости от принятых терапевтических подходов в каждом гематологическом отделении, возраста и статуса пациента на момент постановки диагноза. Программы терапии ОМЛ объединили цитарабин-антрациклиновые комбинации (схема «3+7»), программы терапии ОЛЛ включали антрациклины, винкалкалоиды, глюкокортикостероиды, L-аспарагиназу, циклофосфамид и др. Комбинированные программы одновременно включали цитостатические агенты, используемые для лечения ОМЛ и ОЛЛ. Аллогенная родственная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток выполнена 1 пациенту.

Статистический анализ выполнен с помощью статистической программы SPSS версия 16.0. Использовались общепринятые методы статистической обработки материала.

Результаты и обсуждение

В анализируемой группе 13 больных СФОЛ распределение по полу было статистически сопоставимым: 7 (53,8%) мужчин и 6 (46,2%) женщин. Медиана возраста составила 48 (20–75) лет, при этом 2 (15,4%) пациента были старше 65 лет.

У 10 пациентов отмечалась бластная инфильтрация костного мозга без экстрамедуллярных очагов поражения. Только у 2 пациентов имела место умеренная спленомегалия, при этом у одного из них в сочетании с гепатомегалией. У 1 больного диагностирована нейрорлейкемия при рецидиве заболевания.

Число лейкоцитов колебалось в значительных пределах — от 0,9 до $136,5 \cdot 10^9/\text{л}$. Случаи гиперлейкоцитоза (с числом лейкоцитов более $30 \cdot 10^9/\text{л}$) отмечались в 4 наблюдениях. Содержание гемоглобина в среднем составило 88 г/л, глубокая анемия диагностирована только у 1 больного. Показатели числа тромбоцитов колебались в пределах $42 - 206 \cdot 10^9/\text{л}$, в среднем составили $98 \cdot 10^9/\text{л}$. У большинства больных определялась тромбоцитопения I–III степени. Случаев тромбоцитопении IV степени не зарегистрировано, у 4 из 13 больных число тромбоцитов было выше $100 \cdot 10^9/\text{л}$.

При исследовании костного мозга морфоцитохимические данные позволили у 8 из 13 пациентов констатировать гетерогенность лейкозной популяции клеток костного мозга. При иммунофенотипировании полученные данные позволили установить в 2 случаях смешанный Т/М (Т-лимфоидный/миелоидный), в 11 – В/М (В-лимфоидный/миелоидный) иммунофенотип бластов. При этом у 3 (23%) пациентов опухолевые клетки представлены двойной популяцией – биклональный ОЛ, у остальных 10 (77%) – однородной популяцией бластных клеток – бифенотипический ОЛ.

Цитогенетическое и молекулярно-биологическое исследования выполнены в 9 (69,2%) случаях. При стандартном цитогенетическом исследовании хромосомные аберрации выявлены у большинства больных – у 7 (77,8%) из 9. Наиболее часто встречающейся хромосомной аберрацией стала $t(9;22)(q34;q11)$, которая диагностирована у 5 из 9 (55,5%) обследованных больных. Помимо Ph-хромосомы, при стандартном цитогенетическом исследовании обнаружены трисомия хромосомы 11 и инверсия $inv(9)(p13q21)$. При молекулярно-генетическом исследовании химерный ген *BCR-ABL* выявлен у 8 (88,9%) из 9 обследованных больных. При этом в равном соотношении обнаруживались оба типа белка p190 и p210. Таким образом, диагноз Ph+СФОЛ установлен у большинства (88,9%) обследованных больных.

Выбор программы терапии определялся цитогенетической и молекулярной характеристикой заболевания. При обнаружении $t(9;22)(q34;q11)$ и/или химерного гена *BCR-ABL* больные получали терапию, разработанную для лечения ОЛЛ (программы Hyper-CVAD, VDLP, протокол Хельцера; протокол «Ph+ОЛЛ, 2012») в сочетании с иматинибом ($n = 8$).

Иматиниб (Гливек) у 5 из них назначался уже в первой линии терапии, у 3 пациентов – только во 2–3-м курсе индукции первой ремиссии. Дозовый режим иматиниба различался: у 4 больных начальная доза составила 400 мг/сут, еще у 4 – 600 мг/сут. Дазатииниб (Спрайсел) использовался у 2 пациентов: у одного во время рецидива, у другого на этапе поддерживающей терапии. При отсутствии Ph-хромосомы или неизвестном цитогенетическом и/или молекулярно-биологическом статусе (4 пациента) первоначальный выбор индукции останавливался на комбинированных схемах, включающих одновременно препараты, используемые для лечения как ОМЛ, так и ОЛЛ (RACOP, VДАР, IACOP), или схемах, разработанных для лечения ОМЛ («3+7»).

В общей группе больных СФОЛ полные ремиссии достигнуты у 11 (91,7%) из 12 пациентов. Отказался от лечения 1 пациент, расчет произведен на 12 больных. У 1 пациентки после проведения 1-й схемы индукционной терапии смерть наступила в период аплазии костно-мозгового кроветворения, эффект оценить не удалось. Таким образом, показатель ранней летальности в период проведения индукционной терапии составил 8,3% ($n=1$).

При Ph-позитивном варианте СФОЛ использование иматиниба в сочетании с программами терапии ОЛЛ позволило достичь полные ремиссии у всех больных ($n=8$). При этом противоопухолевый эффект отмечался даже у тех пациентов, которые проявили резистентность к предшествующим двум линиям индукционной терапии. Как правило, это были программы лечения ОМЛ и комбинированные схемы. Отсроченное назначение ИТК в этой когорте больных объясняется запоздалым проведением цитогенетического и молекулярно-биологического исследования, включающего определение Ph-хромосомы и/или химерного гена *BCR-ABL* ($n=3$).

Рецидивы диагностированы у 6 (60%) больных. Исключена из анализа 1 пациентка, так как из-за тяжести состояния не получала консолидацию ремиссии. Сроки развития рецидивов колебались от 2 до 23 мес от момента достижения ремиссии. При этом в группе Ph-негативных СФОЛ и при неизвестном цитогенетическом и молекулярно-биологическом статусе рецидивы развились у всех пациентов ($n=2$) в ранние сроки (через 8 мес) от достижения ремиссии. При Ph-позитивном варианте СФОЛ также отмечалась высокая частота развития рецидивов – у 4 из 8 больных. Однако рецидивы развились в более отдаленном периоде – 16, 18 и 23 мес. Ранний рецидив на сроке 2 мес диагностирован лишь у 1 пациента. При этом ПР и цитогенетический ответ у этого больного достигнуты только после использования иматиниба в сочетании со схемой лечения ОЛЛ в 3-й линии терапии в связи с неэффективным применением схем RACOP, «3+7».

Медиана наблюдения за больными составила 10 мес (колебалась от 0,5 до 42 мес). На момент проведения статистического анализа остаются под наблюдением 6 (46,2%) пациентов. Показатели 3-летней ОВ составили 18,2%, медиана ОВ – 14 мес; 3-летняя БРВ – 12,8%, медиана БРВ – 16 мес.

Наибольшая продолжительность жизни (42 мес) и длительность ПР (39 мес) наблюдается у единственного пациента с Ph-позитивным вариантом СФОЛ, которому на этапе консолидации выполнена алло-

генная родственная ТГСК. При этом использование полихимиотерапии в сочетании с иматинибом в дозе 400 мг/сут позволило получить полную клинико-гематологическую ремиссию и полный молекулярный ответ.

В группе больных Ph+СФОЛ использование сочетания иматиниба и программ полихимиотерапии ОЛЛ сопровождалось лучшей выживаемостью. В сравнительном анализе показатели 3-летней ОВ в группах Ph+СФОЛ и Ph-СФОЛ составили 61 и 0%, медиана ОВ – 36 и 10 мес соответственно ($p=0,004$). Показатели БРВ в обеих группах оказались низкими ($p=0,1$).

Попытка использования эпигенетической терапии предпринята у 2 пациентов. В одном наблюдении больному Ph+СФОЛ в связи с моносомией хромосомы 7 проведено 4 цикла децитабином в сочетании с иматинибом на одном из этапов консолидации ремиссии. По данным контрольного FISH-исследования, у больного удалось достичь полного цитогенетического ответа. В другом наблюдении пациентке проведен 1 цикл 5-азациитидином (Вайдаза) в стандартном дозовом режиме в качестве индукции ремиссии раннего рецидива Ph-негативного варианта СФОЛ после неэффективного использования малых доз цитарабина. Однако ПР достигнуть не удалось, пациентка умерла в период постцитостатической аплазии костно-мозгового кроветворения.

Перспективным направлением в современной лейкологии является разработка таргетной терапии с избирательным воздействием на клетки, имеющие те или иные характерные генетические дефекты. Наиболее яркими примерами заболеваний, при которых изучены основные молекулярные аспекты лейкеогенеза, а также разработана патогенетическая терапия могут служить ОЛЛ и ХМЛ. В настоящее время проводятся активное изучение молекулярного профиля различных вариантов ОЛ и разработка на этой основе таргетной терапии. Несомненный интерес в этом свете представляют острые лейкозы со смешанным фенотипом.

СФОЛ являются редкими вариантами ОЛ, представляющими большие диагностические трудности в силу своеобразных морфоиммунологических характеристик лейкемической популяции клеток. В то же время их гетерогенный цитогенетический и молекулярно-биологический профиль делает перспективным разработку таргетной терапии при этом прогностически неблагоприятном заболевании.

В нашем исследовании по аналогии с другими работами при проведении цитогенетического исследования аномалии кариотипа выявлены у большинства больных СФОЛ – у 7 (77,8%) из 9. Самой частой хромосомной аберрацией при этом стала $t(9;22)(q34;q11)$, которая диагностирована у 5 (55,6%) больных. При молекулярно-генетическом исследовании химерный ген *BCR-ABL* выявлен у 8 (88,9%) из 9 обследованных больных. Важно отметить, что у 2 больных с нормальным кариотипом при проведении дополнительного молекулярно-генетического исследования обнаружен химерный ген *BCR-ABL*. Это наблюдение показывает очевидную необходимость обязательного проведения комплексного цитогенетического и молекулярно-биологического исследований при обнаружении СФОЛ. По аналогии с V-линейными иммуновариантами острых лимфо-

бластных лейкозов даже в случаях обнаружения нормального кариотипа при СФОЛ необходимо проводить дополнительный интерфазный анализ (FISH) и молекулярно-генетическое исследование на химерный ген *BCR-ABL*.

В настоящее время большинство исследователей единодушны во мнении о неблагоприятном прогнозе при СФОЛ. Вместе с тем в эру появления ИТК стало возможным значительно улучшить по крайней мере непосредственные результаты лечения Ph-позитивного варианта СФОЛ. По аналогии с Ph-позитивным вариантом ОЛЛ включение ИТК в схемы индукционной терапии позволяет получить ремиссии у большинства больных. В нашем исследовании полные ремиссии достигнуты у всех пациентов с Ph-позитивным вариантом СФОЛ (8 больных). При этом противоопухолевый эффект отмечался даже у тех больных, которые проявили резистентность к предшествующим двум линиям индукционной терапии. Как правило, это были программы лечения ОМЛ и комбинированные схемы. Отсроченное назначение ИТК в этой когорте больных объясняется запоздалым проведением цитогенетического молекулярно-биологического исследования, включающего определение Ph-хромосомы и/или химерного гена *BCR-ABL*. Как правило, оно выполнялось на том этапе, когда больные уже проявили резистентность к нескольким режимам индукционной терапии. При анализе отдаленных результатов терапии показатели 3-летней ОВ были достоверно выше в группе Ph+СФОЛ по сравнению с остальными вариантами СФОЛ. Таким образом, использование таргетной терапии ИТК играет ключевую роль в терапии Ph+СФОЛ.

В большинстве работ по терапии больных Ph+СФОЛ используются лечебные программы, разработанные для ОЛЛ. При этом зачастую исследователи отдают предпочтение интенсифицированным программам типа Нурег-CVAD. В нашем исследовании у 3 пациентов в качестве терапевтической опции использована программа, предложенная ФГБУ ГНЦ Минздрава России для лечения Ph-позитивных ОЛЛ (2012). Основным принципом этой программы является минимизация цитостатической составляющей. Так, на этапе индукции используются глюкокортикостероиды (дексаметазон), винкристин в сочетании с ИТК (иматиниб в дозе 600 мг/сут). Этот подход тем более важен в свете преимущественно пожилого возраста пациентов с Ph+СФОЛ. В нашем исследовании пациенты, которым использовалась эта программа, были старше 50 лет, одной пациентке было 75 лет. У всех достигнуты ПР с минимальным токсическим эффектом.

В целом в группе анализируемых больных отмечается высокая частота достижения ПР (83,3%), что соответствует данным литературы. При этом показатель ранней летальности оказался достаточно низким (8,3%). Вместе с тем отдаленные результаты терапии в целом были неудовлетворительными. Показатели 3-летней ОВ составили 18,2%, медиана ОВ – 14 мес, 3-летняя БРВ – 12,8%, медиана БРВ – 16 мес. Основной проблемой остаются рецидивы, которые в нашем исследовании развились у 6 из 11 больных. Все рецидивы были ранними и развились на фоне противоопухолевой терапии. При этом использование иматиниба существенно не снизило ча-

стоту рецидивов. Наибольшая продолжительность жизни и ПР наблюдалась у единственного пациента с Ph+СФОЛ, которому в качестве консолидации ремиссии, достигнутой после 1-й фазы программы Хельцера в комбинации с иматинибом, выполнена аллогенная родственная ТГСК. В ряде работ по изучению Ph+ОЛЛ также отмечалось достоверное улучшение результатов терапии при использовании аллоТГСК [29].

По всей видимости, важным компонентом в улучшении эффективности терапии служит проведение мониторинга молекулярного ответа, использование адекватных доз ИТК, своевременное переключение на ИТК-2. На наш взгляд, перспективным также может оказаться использование дазатиниба уже в первой линии терапии Ph+СФОЛ. По аналогии с Ph+ОЛЛ при Ph+СФОЛ обязательным компонентом терапии должна быть аллоТГСК в соответствующих возрастных группах. Нерешенной проблемой остается терапия Ph-негативных вариантов СФОЛ.

Заключение

На основании проведенного исследования можно сделать несколько выводов. В целом диагностика острых лейкозов должна быть комплексной и обязательно включать иммунофенотипирование и молекулярно-цитогенетическое исследование. Это позволит не только установить диагноз острого лейкоза со смешанным фенотипом, но и выявить особый вариант этого заболевания — Ph+СФОЛ, при котором в настоящее время применяется таргетная терапия ИТК 1-го и 2-го поколений. Ключевую роль в терапии Ph+СФОЛ играют ИТК. Представляется более перспективным использовать комбинацию ИТК с режимами лечения ОЛЛ со сниженной интенсивностью. Такой лечебный подход позволяет уменьшить токсичность терапии без снижения эффективности, по крайней мере непосредственной. Важным компонентом лечения больных Ph+СФОЛ является мониторинг молекулярного и цитогенетического ответа на терапию со своевременным подбором дозового режима ИТК и своевременного переключения на ИТК 2-го поколения. Первостепенная роль принадлежит аллоТГСК на постконсолидационном этапе.

Терапия больных с Ph-негативными СФОЛ остается нерешенной проблемой. Требуется проведение дальнейших исследований с изучением молекулярно-цитогенетического профиля заболевания и поиском оптимальных программ терапии.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Sanz M.A., Grimwade D., Tallman M.S. et al. Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*. 2009; 113(9): 1875–91.
2. Elbahesh E., Patel N., Tabbara I.A. Treatment of acute promyelocytic leukemia. *Anticancer Res*. 2014; 34(4): 1507–17.
3. Mi J.Q., Li J.M., Shen Z.X. et al. How to manage acute promyelocytic leukemia. *Leukemia*. 2012; 26(8): 1743–51.
4. Schlenk R.F., Dohner K., Kneba M. et al. Gene mutations and response to treatment with all-trans retinoic acid in elderly patients with acute myeloid leukemia. Results from the AMLSG Trial AML HD98B. *Haematologica*. 2009; 94(1): 54–60.
5. Burnett A.K., Hills R.K., Green C. et al. The impact on outcome of the addition of all-trans retinoic acid to intensive chemotherapy in younger patients with nonacute promyelocytic acute my-

- eloid leukemia: overall results and results in genotypic subgroups defined by mutations in NPM1, FLT3, and CEBPA. *Blood*. 2010; 115(5): 948–56.
6. Schlenk R.F., Dohner K., Krauter J et al. All-trans retinoic acid improves outcome in younger adult patients with nucleophosmin-1 mutated acute myeloid leukemia – results of the AMLSG 07-04 randomized treatment trial. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2011; 118(21): Abstr. 80.
 7. Nazha A., Bueso-Ramos C.E., Faderl S. et al. Addition of All-Trans Retinoic Acid (ATRA) to the combination of fludarabine, cytarabine, idarubicin, with or without gcsf in older, higher risk patients with aml and high-risk mds does not improve the outcome in those with NPM1 mutation. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2012; 120: Abstr. 2616.
 8. Zhang Y.R., Wang T.Y., Zou D.H. et al. Outcomes of younger than 60 years old adults with Ph/BCR-ABL positive acute lymphoblastic leukemia: a single center clinical trial of BDH ALL 2000/02. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*. 2013; 34(6): 493–7.
 9. Tanguy-Schmidt A., Rousselot P., Chalandon Y. et al. Long-term follow-up of the imatinib GRAAPH-2003 study in newly diagnosed patients with de novo Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: a GRAALL study. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2013; 19(1): 150–5.
 10. Ribera J.M. Optimal approach to treatment of patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: how to best use all the available tools. *Leukemia and Lymphoma*. 2013; 54(1): 21–7.
 11. Marcucci G., Geyer S., Zhao J. et al. Adding the kit inhibitor dasatinib (das) to standard induction and consolidation therapy for newly diagnosed patients (pts) with Core Binding Factor (CBF) Acute Myeloid Leukemia (AML): Initial results of the CALGB 10801 (Alliance) Study. *Blood*. 2014; 124(21): 8.
 12. Ustun C, Marcucci G. Emerging diagnostic and therapeutic approaches in core binding factor acute myeloid leukaemia. *Curr Opin Hematol*. 2015; 22(2): 85–91.
 13. Mpakou V.E., Kontsioti F., Papageorgiou S. et al. Dasatinib inhibits proliferation and induces apoptosis in the KASUMI-1 cell line bearing the t(8;21)(q22;q22) and the N822K c-kit mutation. *Leuk Res*. 2013; 37(2): 175–82.
 14. How J., Sykes J., Minden M. D. et al. The prognostic impact of FLT3-ITD and NPM1 mutations in patients with relapsed acute myeloid leukemia and intermediate-risk cytogenetics. *Blood Cancer J*. 2013; 3: 116.
 15. Hirsch P., Qassa G., Marzac C. et al. Acute myeloid leukemia in patients older than 75: prognostic impact of FLT3-ITD and NPM1 mutations. *Leukemia and Lymphoma*. 2015; 56(1): 147–50.
 16. Linch D.C., Hills R.K., Burnett A.K. et al. Impact of FLT3(ITD) mutant allele level on relapse risk in intermediate-risk acute myeloid leukemia. *Blood*. 2014; 124(2): 273–6.
 17. Metzelder S., Wang Y., Wollmer E. et al. Compassionate use of sorafenib in FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia: sustained regression before and after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2009; 113(26): 6567–71.
 18. Ravandi F., Cortes J.E., Jones D. et al. Phase I/II study of combination therapy with sorafenib, idarubicin, and cytarabine in younger patients with acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol*. 2010; 28(11): 1856–62.
 19. Ravandi F., Alattar M.L., Grunwald M.R. et al. Phase 2 study of azacitidine plus sorafenib in patients with acute myeloid leukemia and FLT-3 internal tandem duplication mutation. *Blood*. 2013; 121(23): 4655–62.
 20. Fiedler W., Kayser S., Kebenko M. et al. Sunitinib and intensive chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia and activating FLT3 mutations: Results of the AMLSG 10-07 Study (ClinicalTrials.gov No. NCT00783653). *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2012; Abstr. 1483.
 21. Xu X.Q., Wang J.M., Lu S.Q. et al. Clinical and biological characteristics of adult biphenotypic acute leukemia in comparison with that of acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia: a case series of a Chinese population. *Haematologica*. 2009; 94: 919–27.
 22. Rubnitz J.E., Onciu M., Pounds S. et al. Acute mixed lineage leukemia in children: the experience of St Jude Children’s Research Hospital. *Blood*. 2009; 113(21): 5083–9.
 23. Matutes E., Pickl W.F., Van’T V.M. et al. Mixed-phenotype acute leukemia: clinical and laboratory features and outcome in 100 patients defined according to the WHO 2008 classification. *Blood*. 2011; 117: 3163–71.
 24. Lingzhi Y., Nana P., Mingqing Z. et al. Clinical, immunophenotypic, cytogenetic, and molecular genetic features in 117 adult patients with mixed-phenotype acute leukemia defined by WHO-2008 classification. *Haematologica*. 2012; 97(11): 1708–12.
 25. Wang S.J., Wang X., Ge C.W. et al. Analysis of twelve patients with hybrid acute leukemia. *J. Leukemia Lymphoma (Chin.)*. 2005; 14: 201–4.
 26. Weir E.G., Ali Ansari-Lari M., Batista D.A. et al. Acute bilineal leukemia: a rare disease with poor outcome. *Leukemia*. 2007; 21: 2264–70.
 27. Legrand O., Perrot J.Y., Simonin G. et al. Adult biphenotypic acute leukaemia: an entity with poor prognosis which is related to unfavourable cytogenetics and p-glycoprotein over-expression. *Br. J. Haematol*. 1998; 100(1): 147–55.
 28. Killick S., Matutes E., Powles R.L. et al. Outcome of biphenotypic acute leukemia. *Hematologica*. 1999; 84: 699–706.
 29. Kalashetty M., Dalal B.I., Roland K.J. et al. Improved survival in adults with mixed-phenotype acute leukemia following Stem Cell Transplantation (SCT): A Single Centre Experience. *Blood*. 2013; 122(21): 5540.
 30. Manola K.N. Cytogenetic abnormalities in acute leukaemia of ambiguous lineage: an overview. *Br. J. Haematol*. 2013; 163: 24–39.
 31. Borowitz M.J., Bene M.C., Harris N.L. et al. Acute leukemias of ambiguous lineage. In: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. et al. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon: IARC Press; 2008: 150–5.
 32. Shimizu H., Yokohama A., Hatsumi N. et al. Philadelphia chromosome-positive mixed phenotype acute leukemia in the imatinib era. *Eur. J. Haematol*. 2014; 93(4): 297–301.
 33. Atfy M., Nashwa M.A. Al Azizi et al. Incidence of Philadelphia-chromosome in acute myelogenous leukemia and biphenotypic acute leukemia patients: and its role in their outcome. *Leukemia Res*. 2011; 35: 1339–44.
 34. Yan L.Z., Chen S.N., Ping N.N. et al. Clinical and laboratorial analysis for 15 adult cases of mixed phenotypic acute leukemia with Ph chromosome and/or positive BCR-ABL. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2013; 21(5): 1116–20.
 35. Nagasawa F., Nakamura Y., Tokita K. et al. Detection of BCR-ABL1 chimeric gene-positive neutrophils in a patient with mixed phenotype acute leukemia. *Rinsho Ketsueki*. 2013; 54(11): 2074–8.

Поступила 05.03.15