

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

*На правах рукописи*

КАЗАНЦЕВ ИЛЬЯ ВИКТОРОВИЧ

**РОЛЬ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ  
КЛЕТОК И ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ ДЕТЕЙ С  
НЕЙРОБЛАСТОМОЙ**

3.1.28 – гематология и переливание крови

3.1.6 – онкология, лучевая терапия

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Елена Владимировна Семенова

доктор медицинских наук, профессор

Юрий Александрович Пунанов

Санкт – Петербург – 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ .....	12
1.1 Введение .....	12
1.2 Эпидемиология и биологические особенности нейробластомы .....	14
1.3 Стадирование и факторы риска .....	16
1.4 Тактика терапии в зависимости от группы риска .....	21
1.5 Роль ВДПХТ с ауто-ТГСК .....	23
1.6 Тактика терапии у пациентов с первичной резистентностью и рецидивом заболевания .....	28
1.7 Алло-ТГСК и другие формы клеточной и иммунотерапии .....	31
Глава 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .	36
2.1 Характеристика больных .....	36
2.2 Терапевтическая тактика у пациентов группы высокого риска .....	41
2.3 Характеристика пациентов, получивших ВДПХТ с ауто-ТГСК .....	42
2.3.1 Режимы ВДПХТ .....	48
2.3.2 Восстановление кроветворения .....	49
2.3.3 Оценка токсичности .....	50
2.4 Характеристика пациентов, получивших ПХТ второй линии и комбинированную химио- и таргетную терапию .....	50
2.4.1 Режимы терапии .....	51
2.5 Характеристика пациентов, получивших ВДПХТ с алло-ТГСК .....	53
2.5.1 Обследование пациента и донора .....	54
2.5.2 HLA-типирование, оценка совместимости по KIR .....	54
2.5.3 Режимы кондиционирования .....	55
2.5.4 Источник ГСК .....	56
2.5.5 Профилактика РТПХ .....	57
2.6 Характеристика пациентов, получивших иммуно- и таргетную терапию ...	58
2.7 Методы статистической обработки .....	60
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ .....	61

3.1 Эффективность ВДПХТ с ауто-ТГСК у пациентов с нейробластомой группы высокого риска .....	61
3.2 Восстановление кроветворения после ВДПХТ с ауто-ТГСК .....	69
3.3 Токсические осложнения и причины смерти пациентов, получивших ВДПХТ с ауто-ТГСК .....	70
3.4 Эффективность химиотерапии второй линии и комбинированной химио- и таргетной терапии у пациентов с первичной резистентностью и рецидивом нейробластомы .....	73
3.5 Эффективность ВДПХТ с алло-ТГСК у пациентов с нейробластомой .....	79
3.6 Эффективность иммуно- и таргетной терапии у пациентов с нейробластомой .....	82
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	84
4.1 Результаты ВДПХТ с ауто-ТГСК .....	84
4.2 Терапия в группе пациентов с первичной резистентностью и рецидивом заболевания .....	87
4.3 Результаты применения алло-ТГСК и посттрансплантационной терапии ...	90
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	93
ВЫВОДЫ .....	96
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	97
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	98
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	100

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы

Нейробластома (НБ) – первая по частоте экстракраниальная опухоль у детей. Заболеваемость составляет порядка 1,2 на 100 000 детского населения и это самая частая солидная опухоль у детей первого года жизни [9, 31, 109]. Несмотря на сравнительную редкость НБ и положительную тенденцию к снижению смертности по сравнению с другими солидными опухолями, до сих пор порядка 10% смертей от онкологических заболеваний у детей связаны с НБ [175].

НБ отличается значительной клинической и биологической гетерогенностью, что находит отражение в стратификации пациентов, в рамках которой обычно учитываются как клинические (возраст на момент заболевания, распространенность опухолевого процесса, возможность радикальной резекции), так и биологические факторы (гистологический тип опухоли, амплификация MYCN, хромосомные aberrации) [110, 149]. Данные различия определяют стратификацию пациентов на группы риска и терапевтическую тактику, которая варьирует от наблюдения до интенсивной комплексной терапии [110].

Роль высокодозной полихимиотерапии (ВДПХТ) с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) в группе пациентов высокого риска продемонстрирована рядом рандомизированных клинических исследований [31, 114]. Этот метод с успехом использовался в рамках комплексного подхода в отдельных Российских когортах пациентов группы высокого риска [7, 16]. Тем не менее, следует отметить, что, несмотря на использование интенсивной комплексной терапии, долгосрочная безрецидивная выживаемость в группе высокого риска не превышает 40%. В значительной степени это обусловлено существованием отдельных подгрупп сверхвысокого риска. Данные подгруппы можно выделить среди первичных пациентов на основании ряда клинических факторов, таких как возраст на момент заболевания, локализация и объем метастатического поражения [125], ответ на терапию первой

линии [7], либо сочетания клинических и биологических факторов [29, 189]. Долгосрочная выживаемость в данных группах не превышает 5-10%.

Отдельной клинической проблемой является выбор тактики терапии рецидивов заболевания. В настоящее время отсутствует единая тактика терапии рецидивов, а используемые схемы терапии, как правило, основанные на применении ингибиторов топоизомеразы I типа, по сути, не являются позволяют достичь длительной ремиссии несмотря на достаточно большой процент ответов [9, 18, 107, 122]. Соответственно, крайне необходимо определить оптимальную тактику терапии, позволяющую как достичь повторной ремиссии, так и провести эффективную ее консолидацию с целью обеспечения долгосрочного ответа. Учитывая значительное число курсов терапии в анамнезе и высокую частоту развития химиорезистентности у пациентов с рецидивами заболевания, представляет интерес оценить потенциальную эффективность применения таргетной терапии у этих больных. Принимая во внимание отсутствие специфических белков-мишеней у большинства пациентов, в ряде исследований показана возможность использования препаратов, ингибирующих сигнальные пути, задействованные в патогенезе НБ. К таким препаратам относятся мультикиназный ингибитор дазатиниб, продемонстрировавший эффективность на доклиническом этапе [190] и ингибиторы сигнального пути mTog, потенциально способные к угнетению экспрессии продукта гена MYCN [79] и не потенцирующие при этом токсичность химиотерапии [27]. Комбинация этих препаратов с химиотерапией второй линии (иринотекан, темозоломид) продемонстрировала эффективность в рамках пилотного исследования [47]. Дополнительный интерес в качестве терапевтической мишени представляет ген ALK. Несмотря на невысокую частоту его активирующих мутаций в общей популяции пациентов [127], возможно существование отдельных подгрупп, в которых вовлечение сигнального пути ALK может играть более значимую роль [180]. Описаны отдельные клинические случаи эффективного применения ингибиторов ALK у пациентов с активирующими мутациями или амплификацией гена ALK [72, 188].

Единая тактика консолидации полученного ответа у пациентов с рецидивом НБ до настоящего времени отсутствует. Использование повторной ВДПХТ с ауто-ТГСК основаны на ретроспективных данных, полученных в когорте пациентов, стратификация которых проводилась на основании различных критериев. Преимущества дозоинтенсивного подхода в группе пациентов с рецидивом после ауто-ТГСК перед использованием низкодозной метрономной терапии, характеризующейся меньшей токсичностью, не очевидны [31]. Учитывая значительную предлеченность и высокую частоту химиорезистентности у пациентов с рецидивом НБ, потенциальным преимуществом обладает подход, связанный с применением иммунотерапии. Кроме специфических антител к сиалогликозиду GD2, продемонстрировавших эффективность в качестве поддерживающей терапии в группе пациентов высокого риска [101], возможно также использование иммунотерапии, основанной на выполнении аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). В отдельных когортах пациентов описаны длительные ответы на алло-ТГСК от гаплоидентичного донора, несовместимого по антигенам системы KIR [77, 90]. Кроме того, алло-ТГСК можно рассматривать в качестве «платформы» для дополнительных методов клеточной терапии, таких как введение донорских НК-клеток [84], либо иммунотерапии, основанной на применении ингибиторов иммунных контрольных точек [48, 54, 63]. Следует отметить, что методы иммунотерапии могут быть более эффективны в отдельных подгруппах пациентов с НБ, характеризующихся большей мутационной нагрузкой [180].

### **Цель работы**

Изучить эффективность применения ВДПХТ с ауто-ТГСК в неселектированной когорте пациентов группы высокого риска и определить оптимальную тактику индукции и консолидации ремиссии у пациентов с первичной резистентностью и рецидивом НБ в рамках проспективного нерандомизированного исследования.

## **Задачи исследования**

1. Оценить эффективность ВДХТ с ауто-ТГСК в проспективной когорте пациентов с НБ группы высокого риска, включающей в себя больных с первичной резистентностью и рецидивом заболевания.
2. Выявить факторы, влияющие на эффективность ВДПХТ с ауто-ТГСК у пациентов с НБ группы высокого риска.
3. Оценить токсичность ВДПХТ с ауто-ТГСК у пациентов с НБ группы высокого риска.
4. Оценить эффективность терапии второй линии и комбинированной химио- и таргетной терапии у больных с первично-резистентными формами и рецидивами НБ.
5. Оценить эффективность ВДПХТ с алло-ТГСК у больных с первично-резистентными формами и рецидивами НБ.
6. Оценить эффективность иммунотерапии и таргетной терапии, в том числе в контексте алло-ТГСК, у больных с первично-резистентными формами и рецидивами НБ.

## **Основные положения, выносимые на защиту**

Установлена эффективность ВДПХТ с ауто-ТГСК в большой неселектированной когорте пациентов, характеризующейся значительной гетерогенностью по возрасту, в значительной степени различавшаяся по оказаниам и предшествующей терапии и включающей в себя пациентов с первичной резистентностью и рецидивом.

1. ВДПХТ с ауто-ТГСК – эффективный метод лечения первичных пациентов с нейробластомой группы высокого риска.
2. Выявлены факторы, оказывающие неблагоприятное влияние на эффективность ВДПХТ с ауто-ТГСК: возраст более 18 месяцев в дебюте заболевания, сочетанное метастатическое поражение костей и костного мозга,

рецидив и первичная резистентность заболевания, персистирование MIBG-положительных очагов поражения до и после ВДПХТ с ауто-ТГСК.

3. Продемонстрирована приемлемая токсичность ВДПХТ с ауто-ТГСК.

4. Выполнена сравнительная оценка эффективности терапии второй линии и комбинированной химио- и таргетной терапии в группе пациентов с первичной резистентностью и рецидивом НБ, продемонстрирована тенденция к большей эффективности комбинированной химио- и таргетной терапии.

5. Показана потенциальная эффективность алло-ТГСК у пациентов с первично-резистентными формами и рецидивами НБ в качестве метода консолидации ремиссии и в качестве «платформы» для дальнейшей иммунотерапии.

6. Продемонстрирована тенденция к большей эффективности алло-ТГСК у пациентов, которые в дальнейшем получили иммунотерапию.

### **Научная новизна**

В ходе данной работы впервые продемонстрирована в рамках опыта одного трансплантационного центра эффективность ВДПХТ с ауто-ТГСК в большой проспективной когорте пациентов, включавшей в себя пациентов с первично-резистентными формами и рецидивами заболевания. Впервые в России продемонстрирована приемлемая токсичность режима ВДПХТ бусульфан-мелфалан в большой группе пациентов с НБ. Впервые выполнен сравнительный анализ эффективности и токсичности химиотерапии второй линии и комбинированной химио- и таргетной терапии. Впервые произведена оценка эффективности алло-ТГСК, в том числе алло-ТГСК от гаплоидентичного донора с режимами профилактики РТПХ на основе посттрансплантационного циклофосфана, в качестве метода консолидации и «платформы» для иммунотерапии в группе пациентов с НБ крайне высокого риска.



## **Практическая значимость исследования**

Продемонстрирована возможность эффективного использования ВДПХТ с ауто-ТГСК в гетерогенной когорте пациентов в рамках опыта крупного трансплантационного центра. Произведенный анализ факторов, влияющих на эффективность ВДПХТ с ауто-ТГСК, позволит в дальнейшем выделить группу крайне неблагоприятного прогноза. Пациенты этой группы могут рассматриваться в качестве кандидатов на применение альтернативных методов терапии. В настоящее время не существует единого подхода к лечению пациентов с первичной резистентностью и рецидивом нейробластомы. Полученные результаты позволяют производить отбор потенциально курабельных пациентов. Предварительные данные об эффективности алло-ТГСК в качестве метода консолидации и эффективности иммуно- и таргетной терапии могут служить основой для дальнейших исследований методов эффективной индукции и консолидации ремиссии у пациентов с крайне неблагоприятным прогнозом заболевания.

## **Внедрение результатов исследования**

Основные положения диссертации внедрены в практическую и научно-исследовательскую работу кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ФПО, Института детской гематологии, онкологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФПО ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, ОТКМ для детей №2 Института детской гематологии, онкологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФПО ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ.

## **Структура работы**

Работа выполнена в клинике «Институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачёвой» ФГБУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ (директор – засл. врач РФ, д.м.н., профессор Афанасьев Б.В. в 2007-2020, в 2020-2021 д.м.н. Кулагин А.Д.), в отделении ТКМ для детей с онкологическими заболеваниями (зав.отд. к.м.н., Геворгян А.Г.). Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы посвященной характеристике пациентов и методам исследования, главы, посвященной анализу результатов, обсуждения полученных результатов, выводов, списка литературы. Работа изложена на 124 страницах машинописного текста. Текст иллюстрирован 14 таблицами, 30 рисунками. Библиографический указатель включает в себя 203 литературных источника, из них 187 зарубежных авторов.

## **Апробация и реализация работы**

Основные теоретические и практические положения диссертации представлены в виде устных докладов на IV съезде детских онкологов России, окружном семинаре по программе «Дальние регионы» для специалистов Северо-Западного Федерального Округа, Первом сибирском онкогематологическом форуме, VII Международном симпозиуме, посвященном памяти Раисы Максимовны Горбачевой «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей и взрослых», IX межрегиональном совещании НОДГО, X межрегиональном совещании НОДГО, VII съезде детских онкологов России, симпозиуме с международным участием «Иммунотерапия и таргетная терапия в онкологии», Международном онкологическом форуме «Белые ночи», а также постерных докладов на V Международном симпозиуме, посвященном памяти Раисы Максимовны Горбачевой «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей и взрослых», конгрессах SIOP Asia 2016, SIOP 2018, SIOP Asia 2019, EBMT 2019, X Международном симпозиуме, посвященном памяти Раисы Максимовны

Горбачевой «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей и взрослых». По теме диссертации опубликованы 11 научных работ, из них 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК.

Научные положения диссертации используются в работе отделения трансплантации костного мозга для детей с онкологическими заболеваниями клиники «Институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой», в лекциях и практических занятиях со студентами, интернами, клиническими ординаторами, слушателями факультета последипломного образования и аспирантами ФГБУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ.

# ГЛАВА 1

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ

### 1.1 Введение

Злокачественные новообразования развиваются у детей гораздо реже, чем у взрослых и составляют лишь 1% в структуре общей онкологической заболеваемости [192]. Тем не менее, в развитых странах они продолжают быть одной из ведущих причин смерти детей в возрасте от 1 до 14 лет [171]. Несмотря на то, что за последние годы достигнуты значительные успехи в лечении целого ряда детских опухолей, для отдельных категорий и групп риска эта динамика не так очевидна и смертность все еще остается высокой [175]. Те же тенденции в отношении динамики детской смертности характерны и для России [9, 10]. Детские солидные опухоли, включая опухоли центральной нервной системы составляют примерно половину новых случаев злокачественных образований. Это крайне гетерогенная группа заболеваний, в которой отдельные категории пациентов характеризуются крайне неблагоприятным прогнозом, что заставляет искать новые способы терапии, улучшающие результаты лечения.

С того момента, когда впервые была выполнена инфузия донорского костного мозга [183] и успешно проведена миелоаблативная химиотерапия с реинфузией собственных гемопоэтических стволовых клеток [66] метод продолжает развиваться. В мире сохраняется устойчивая тенденция к росту числа трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). С 2016 года в Европе выполняется более 40 000 трансплантаций в год [138], а в России число проводимых трансплантаций выросло за последние 20 лет в более, чем в 5 раз. На сегодняшний день ТГСК стала общепринятым стандартом терапии при целом ряде детских врожденных и приобретенных заболеваний, в том числе заболеваниях системы гемопоэза, иммунной системы, метаболических нарушениях и солидных опухолях [52, 83]. Тем не менее, хотя интенсификация терапии с применением ВДПХТ давно рассматривается как способ улучшения

результатов лечения у детей с солидными опухолями неблагоприятной прогностической группы и применяется уже более 30 лет, до сих пор нет единого мнения относительно показаний к этому виду терапии [139]. Данная ситуация обусловлена сравнительной редкостью злокачественных новообразований у детей, гетерогенностью исследуемых когорт и сложностью проведения рандомизированных исследований.

Согласно критериям Европейской группы по трансплантации костного мозга (ЕВМТ) наличие ряда солидных опухолей у детей может рассматриваться как показание к выполнению ТГСК [52]. В связи с отсутствием достаточной доказательной базы большинство диагнозов соответствуют уровню рекомендации С (возможный вариант терапии) и D (экспериментальная терапия). Исключением являются нейробластома и опухоли семейства саркомы Юинга (доказательность уровня S – стандарт терапии). В соответствии с рекомендациями Международного исследовательского центра трансплантации костного мозга (СІВМТR) ВДПХТ также признана в качестве стандарта терапии для этих двух нозологий [83]. В России при определении показаний к ТГСК принято ориентироваться на критерии ЕВМТ [1, 18]. По данным ЕВМТ в 2018 году выполнено было 47 468 ТГСК [140]. Определенный сегмент трансплантационной активности относится к пациентам с солидными опухолями, в том числе нейробластомой (2,0% от всех ТГКС), герминомами (2,0% ТГСК, включая пациентов детского возраста), саркомами (1,0%) и другими солидными опухолями (2%). Рассматриваемая когорта пациентов включает в себя и больных, которым выполнялась ТГСК в ряде Российских трансплантационных центров. В отношении солидных опухолей у детей спектр показаний к трансплантации мало изменился за последние два года [140]. Данные СІВМТR описывают сходный спектр трансплантационной активности в 2008-2014 годах [85]. Большая часть из 3024 ауто-ТГСК у пациентов детского возраста выполнена у пациентов с нейробластомой (n=1338; 43.4%), на втором месте находится медуллобластома (n=389; 12.6%), порядка 4% ауто-ТГСК выполнено у пациентов с опухолями семейства саркомы Юинга. Таким образом, несмотря на относительную редкость

злокачественных новообразований у детей и недостаточность доказательной базы, солидные опухоли остаются одним из распространенных показаний к выполнению ауто-ТГСК у пациентов детского возраста. В условиях, сложившихся в Российской Федерации, метод может использоваться как в рамках крупных онкологических и гематологических центров [7], так и в рамках трансплантационной клиники [15]. Существование эффекта трансплантат-против-опухоли при алло-ТГСК у пациентов с лейкозами [23], и возможность воспроизведения этого эффекта у детей с солидными опухолями [74] делает метод привлекательной альтернативой химиотерапии у пациентов группы сверхвысокого риска. Однако до настоящего времени алло-ТГСК при солидных опухолях у детей остается экспериментальным методом лечения [52, 83] и основным показанием по данным EBMT (39 ТГСК в 2018) остается нейробластома [138].

Дополнительное преимущество метода ало-ТГСК состоит в возможности его использования в качестве «платформы» для иммунотерапии, особенно при выполнении трансплантации от частично совместимых доноров [143]. Следует отметить, что несмотря на сохраняющуюся положительную тенденцию в виде уменьшения смертности, связанной с процедурой алло-ТГСК [70], этот метод до сих пор сопряжен со значительным числом тяжелых острых и отсроченных осложнений, что заставляет искать новые подходы к терапии. В качестве альтернативных подходов возможно использование таргетной терапии [202] терапии и методов иммунотерапии, в частности, воздействия на иммунные контрольные точки [45].

## **1.2 Эпидемиология и биологические особенности нейробластомы**

Нейробластома (НБ) – это опухоль, развивающаяся из незрелых клеток-предшественников симпатической нервной системы, занимающая первое место по частоте среди экстракраниальных солидных опухолей у детей. Большинство случаев заболевания регистрируется у детей младшей возрастной группы с

медианой возраста на момент постановки диагноза около 19 месяцев [106]. У детей в возрасте до 18 лет регистрируется 10-12 новых случаев НБ на 1 миллион (7-8% от всех злокачественных новообразований) [9, 185, 192]. Таким образом, ожидаемая частота новых случаев заболевания НБ в Российской Федерации составляет около 300 в год. Несмотря на то, что НБ – это самая частая солидная опухоль у детей первого года жизни, у которых она составляет до 30% новообразований [185], около половины случаев диагностируется у пациентов старше года. В этих случаях опухоль часто характеризуется исходной диссеминацией и более агрессивным клиническим течением. Прогноз пациентов группы высокого риска неблагоприятен даже при условии использования агрессивной комплексной терапии [7, 31, 114], в связи с чем значительная часть смертей у детей от онкологических заболеваний (порядка 10% в современных когортах) связана с прогрессированием НБ [175]. Учитывая отсутствие в Российской Федерации единого онкологического регистра, привести достоверные данные о смертности в группе пациентов с НБ не представляется возможным. Тем не менее, на основании данных об онкологической заболеваемости среди детского населения, которые незначительно отличаются от общемировых [3], и данных о смертности пациентов с солидными опухолями (40 на 1 млн населения при европейских показателях в 22–26 на 1 млн населения) можно говорить о существовании проблемы, которая наиболее вероятно связана со сложностями первичной диагностики и координации логистики этапов терапии, в том числе ВДПХТ [9].

Для НБ характерна крайняя гетерогенность клинического течения. С одной стороны, существует подгруппа пациентов с крайне агрессивным течением заболевания и очень низкой вероятностью долгосрочного ответа даже при использовании самой мощной комплексной терапии [189]. С другой стороны, по данным скрининга детей первого года жизни, выявлена высокая частота спонтанной регрессии опухоли [56, 196], обусловленная рядом биологических механизмов [37].

Как и для других детских солидных опухолей, для НБ характерна низкая мутационная нагрузка (порядка 0,60 на Мб) и вариабельный паттерн мутаций (относительно частые мутации генов ALK, PTPN1, ATRX, MYCN) [67, 152]. Тем не менее, несмотря на вариабельность генетических изменений и отсутствие устойчивых паттернов мутаций, НБ обладает крайней биологической гетерогенностью [202]. Необходимо выделить отдельную подгруппу наследственных форм НБ. Несмотря на относительную редкость (семейные формы порядка 0,5% и заболевания на фоне наследственных синдромов порядка 1,5%), эти формы чаще всего характеризуются вовлечением генов PNOX2B и ALK [5, 155]. При спорадической нейробластоме чаще всего выявляется амплификация гена MYCN (около 16% от всех новых случаев), регулирующего пролиферацию, рост и дифференцировку клеток эмбриональных тканей центральной нервной системы [46]. Спектр мутаций изменяется по мере увеличения возраста на момент заболевания. Кроме роста мутационной нагрузки, для пациентов старшего возраста крайне нехарактерно выявление амплификации MYCN при значительном росте частоты мутаций генов ATRX и ALK [30, 180]. Об изменениях на уровне генома можно судить на основании изменении ploidy и выявления характерных хромосомных aberrаций (del1p, del11q, gain17q). При отсутствии хромосомных аномалий прогностическую роль может играть число потенциальных драйверных мутаций [178].

### **1.3 Стадирование и факторы риска**

Для адекватного стадирования пациентов с НБ необходимо использовать комплекс диагностических методов. После выявления опухоли по данным ультразвукового исследования необходимо выполнение компьютерной (КТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ) области первичного очага с расширением области исследования на соседние анатомические зоны с целью выявления возможного поражения лимфоузлов. Весьма важную роль в исходном стадировании и рестадировании пациентов с НБ играет выполнение



сцинтиграфии со  $^{123}\text{I}$ -метайодбензилгуанидином ( $^{123}\text{I}$ -MIBG) [112]. Данный метод позволяет также проводить оценку динамики метастатических очагов и в значительной степени превосходит по эффективности альтернативные методы оценки, в частности, остеосцинтиграфию с технецием [62]. Для адекватной оценки поражения костного мозга необходимо цитологическое исследование качественных аспиратов не менее, чем из двух точек, а также не менее, чем двух трепанобиоптатов [39]. В качестве дополнительного критерия оценки поражения костного мозга возможно исследование аспиратов методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с определением сравнительной экспрессии генов PNOX2B и TN [51], проточной цитофлюорометрии с определением характерного для опухолевых клеток иммунофенотипа [11] либо их сочетания [12].

Первично диссеминированная форма заболевания ассоциирована с неблагоприятным прогнозом. В когорте пациентов, проанализированной при формировании консенсуса INRG, в которой более половины больных получали менее интенсивные режимы терапии в период до 1996 года, первичная диссеминация коррелировала со значительно меньшей общей и безрецидивной выживаемостью:  $91\pm 1\%$  и  $83\pm 1\%$  для пациентов с I-III и IVs, но  $42\pm 1\%$  и  $35\pm 1\%$  для пациентов с IV стадией [46]. В когортах, получавших дозоинтенсивную консолидацию, показатели ОВ и БСВ в группе высокого риска были выше:  $59\pm 8\%$  и  $42\pm 5\%$ , соответственно [114]. Локализация отдаленных метастазов при стадировании обычно не учитывается (за исключением стадии 4S), хотя существуют отдельные ретроспективные исследования, по данным которых прогноз у пациентов с изолированными метастазами в лимфатические узлы более благоприятный [123]. При оценке прогноза заболевания возможно использование так называемого метастатического индекса, характеризующего количество пораженных областей. Так, по данным анализа базы данных INRG пациенты с метастатическим индексом более одного характеризуются менее благоприятным прогнозом, хотя эта разница нивелируется в группе пациентов, получивших ВДПХТ с ауто-ТГСК [125]. Многофакторный анализ данных о пациентах, получавших лечение в рамках протокола HR-NBL-1/SIOPEN, также говорит о

важности метастатического индекса более единицы, в то время как локализация метастазов не оказывает статистически достоверного влияния [124]. Прогностическим значением могут также обладать факторы, косвенно свидетельствующие об агрессивности течения заболевания, например, сывороточный уровень лактатдегидрогеназы [125] или нейрон-специфической энolahзы (NSE) [64] в дебюте заболевания.

Учитывая наличие взаимосвязи между возрастом пациента и биологическим вариантом НБ, этот фактор учитывается в рамках большинства основных систем стадирования. Долгое время было принято ориентироваться на данные ранних статистических исследований, определивших в качестве порогового значения, определяющего прогноз заболевания, возраст в один год [35]. Тем не менее, данные более позднего исследования в когорте из 3666 пациентов, получавших терапию в рамках протоколов Children's Cancer Group (CCG), говорят о важности порогового значения возраста в 15 месяцев [106]. Результаты еще более позднего исследования INRG, в рамках которого были проанализированы данные более, чем 5000 пациентов, не включавшихся в протоколы CCG, подтвердили прогностическое значение возраста более 15-19 месяцев. С целью удобства практической классификации в качестве порогового значения принят возраст 18 месяцев [46]. Исключение делается для пациентов с диплоидными первично диссеминированными опухолями без амплификации MYCN, для которых принято меньшее пороговое значение возраста в 12 месяцев. Для пациентов с метастатическими формами заболевания продемонстрирована важность порогового значения возраста в 5 лет [125]. Пациенты старшего возраста характеризуются неблагоприятным прогнозом, хотя определить точное значение возраста как прогностического фактора мешает крайняя малочисленность исследованных групп [128, 180].

Для подтверждения диагноза нейробластомы необходимы биопсия опухоли с ее морфологическим и иммуногистохимическим исследованием [69]. При морфологическом исследовании опухоли оценивается степень созревания опухолевых клеток, процент незрелых клеток, а также содержание в опухоли

Шванновской стромы и индекс митоз-кариорексис, лежащие в основе международной морфологической классификации НБ по Шимада [144, 166]. Согласно этой классификации выделяются следующие морфологические варианты: недифференцированная нейробластома, смешанный вариант ганглионейробластомы, нодулярный вариант ганглионейробластомы (благоприятный и неблагоприятный подтипы) и ганглионейрома. Морфологический вариант опухоли играет роль независимого прогностического фактора у детей младше пяти лет [158]. Кроме того, на основании биопсийного материала выполняются цитогенетические и молекулярно-биологические исследования. Амплификация MYCN – это наиболее надежный молекулярно-биологический прогностический критерий, причем для пациентов с локализованной опухолью может также иметь значение количество копий гена MYCN [40]. Дополнительно прогностическими критериями могут служить ploидность клеток опухоли [20], выявление таких хромосомных aberrаций, как del 11q [46], del 1p, gain 17q [161]. В отдельных подгруппах пациентов дополнительное прогностическое значение могут иметь другие хромосомные aberrации, например, del 9p [4]. Мутации отдельных генов встречаются сравнительно редко и чаще выявляются у пациентов старшей возрастной группы либо у больных с наследственными формами НБ [152]. Учитывая появление потенциально активного метода терапии [129], дополнительное значение приобретает выявление мутаций гена ALK, а также его амплификации и экспрессии в ткани опухоли [43], которые также играют роль неблагоприятных прогностических маркеров [191]. Исследование спектра мутаций и профиля экспрессии генов в ткани опухоли пока носит экспериментальный характер, хотя, возможно, в дальнейшем сможет быть использовано для стратификации [17] и поиска потенциальных терапевтических мишеней [178].

До этапа формирования международной группы по стратификации факторов риска при НБ International Neuroblastoma Risk Group (INRG) для стадирования заболевания использовалось несколько систем, наиболее распространенной из которых была международной системы стадирования НБ

(International Neuroblastoma Staging System - INSS). В рамках этой системы учитывается первичный объем распространения опухоли, ее морфологический вариант и возможность радикальной резекции [36]. К I-III стадиям относятся локализованные формы заболевания, а исходно-диссеминированные формы соответствуют стадии IV и IVs (IVspecial), представляющей собой отдельный биологический вариант опухоли, развивающейся у детей младше года и характеризующейся благоприятным течением с высокой частотой спонтанных ремиссий. Более поздняя версия классификации [38] предусматривала выделение отдельных групп пациентов в зависимости от выявления определенных биологических факторов (амплификация MYCN, del 1p, плоидность опухоли). К недостаткам системы следует отнести то, что стадия заболевания окончательно определялась после этапа хирургической резекции, что затрудняло исходное стадирование и препятствовало адекватному сравнению когорт пациентов, получавших различную терапию. В 2009 году представителями ряда кооперативных групп по лечению детей с онкологическими заболеваниями из нескольких стран была сформирована международная группа по стратификации факторов риска при НБ INRG. На основании анализа 13 потенциально значимых факторов риска в когорте из 8800 пациентов с нейробластомой была создана усовершенствованная система стадирования заболевания [46]. Данная система позволяет выполнять исходное стадирование за счет введения понятия анатомических факторов риска (Image Defined Risk Factors, IDRFs), связанных с локализацией опухоли и вероятностью ее полного хирургического удаления, определяемой на основании первичной визуализации [120]. Локализованные опухоли подразделяются на опухоли без вовлечения локальных структур (INRGS L1) и опухоли с локальным инвазивным ростом (INRGS L2). Стадии INRGS M и MS (у детей в возрасте до 12 месяцев на момент диагноза либо до 18 месяцев при отсутствии неблагоприятных биологических факторов), которые соответствуют стадиям 4 и 4S по системе INSS [181]. Исходный анализ факторов, влияющих на эффективность терапии, позволил выделить дополнительные факторы, дополняющие стадию INRG при исходном определении группы риска. К этим

факторам относятся степень дифференцировки опухоли, амплификация MYCN, ploидность опухоли и выявление делеции 11q [46]. Для группы очень низкого риска характерна долгосрочная выживаемость более 85%, в группе низкого риска она варьирует в пределах 75-85%, среднего риска 50-75%, а для группы высокого риска не превышает 50%.

#### **1.4 Тактика терапии в зависимости от группы риска**

Тактика терапии в группе пациентов низкого риска основана на максимально радикальной резекции опухоли. Учитывая способность НБ у детей младшего возраста к спонтанной регрессии в ряде случаев допустимо ограничиться наблюдением [6, 132]. Для получения биоптата с целью оценки биологических факторов риска допустимо использование минимально инвазивных методов [68]. Даже при невозможности тотальной резекции (стадии INSS 2A, 2B) пятилетняя ОВ и БСВ составляет около 95% без применения химио- или лучевой терапии [173]. Подобная тактика применима для пациентов со стадией 4S кроме тех случаев, когда тяжесть состояния связана с быстрым ростом или большим объемом опухоли, требующим экстренного вмешательства [86]. С целью достижения контроля клинических симптомов возможно использование системной терапии. Согласно рекомендациям немецкого общества детских гематологов и онкологов (GPOH), возможна отложенная резекция опухоли при сохранении объемного образования у ребенка старше 2 лет либо при низком риске хирургического вмешательства при сроке наблюдения более одного года [172].

Группа среднего риска в основном представлена пациентами младшего возраста с L2 стадией заболевания (INSS 3) без амплификации MYCN, у которых были выявлены другие неблагоприятные биологические факторы, либо пациентами с диссеминированным поражением без амплификации MYCN. Кроме того, к ней относятся пациенты с L2 (INSS 3) без амплификации MYCN старше двух лет на момент постановки диагноза. В этой группе необходимо

использование химиотерапии. После достижения ответа на терапию предпринимается попытка хирургической резекции опухоли [91]. У детей, у которых сохраняется метаболически активная остаточная опухоль после завершения индукционной полихимиотерапии и есть дополнительные биологические факторы риска, дополнительно проводится лучевая терапия [49, 172].

К группе высокого риска относятся пациенты с неблагоприятными прогностическими факторами (4 стадия заболевания, возраст старше 18 месяцев на момент постановки диагноза, неблагоприятный гистологический вариант опухоли, амплификация MYCN и другие неблагоприятные биологические факторы). Несмотря на успехи тактики интенсификации терапии, значительно улучшившие отдаленные результаты за последние 20 лет, долгосрочная выживаемость пациентов этой группы не превышает 50% [149].

Учитывая то, что у данных пациентов опухоль часто охватывает крупные сосуды (аорта, почечные артерии), ее радикальная резекция может представлять собой крайне сложную задачу. После выполнения биопсии проводится индукционная химиотерапия, направленная на уменьшение объема метастатического поражения и сокращение первичного опухолевого очага с возможностью его более полной резекции. При этом прогностическая роль объема резекции у пациентов группы высокого риска до сих пор остается предметом обсуждения несмотря на данные свидетельствующие о значении радикальности резекции [75], что обуславливает необходимость внимательной оценки потенциальных рисков и преимуществ радикального хирургического вмешательства. Большинство режимов индукционной терапии включают в себя антрациклины, алкилирующие препараты, препараты платины и ингибиторы топоизомеразы II типа. Ответ на индукционную терапию играет роль важного прогностического фактора [198].

У пациентов с первичной резистентностью возможно использование до этапа ВДПХТ с ауто-ТГСК терапии второй линии химиотерапии [21, 28] либо терапии высокими дозами  $^{131}\text{I}$ -MIBG [32, 115], хотя влияние этих мер на

долгосрочную выживаемость пока остается неясным. На следующем этапе терапии проводится ВДПХТ с ауто-ТГСК, преимущество которой было продемонстрировано на основании результатов трех рандомизированных исследований [34, 117, 151]. Согласно рекомендациям GPOH, в случае сохранения значительного объема остаточной опухоли суммарная общая доза облучения увеличивается до 36-40 Гр [172]. Эффективность эскалации дозы лучевой терапии также подтверждалась группой Memorial Sloan Kettering Cancer Center [41]. При необходимости интенсификации лучевой терапии на опухоль «сложной» локализации альтернативой фотонному может стать протонное облучение [78]. В качестве поддерживающей терапии после ВДПХТ с ауто-ТГСК у большинства пациентов группы высокого риска используется изотретиноин несмотря на отсутствие достаточной доказательной базы у данного метода терапии [141]. Долгосрочные результаты терапии возможно улучшить за счет использования специфических антител к GD2, хотя этот метод и сопряжен со значительной токсичностью [101, 201].

### **1.5 Роль ВДПХТ с ауто-ТГСК**

С того момента, когда были впервые продемонстрированы возможность и потенциальная эффективность высокодозной консолидации у пациентов с нейробластомой группы высокого риска [25], этот метод все чаще стал применяться в клинической практике. Это по крайней мере отчасти объясняет положительную динамику результатов, наблюдающуюся за последние 30 лет [126]. Был проведен ряд нерандомизированных исследований, сравнивавших результаты в когорте пациентов, получавших высокодозную консолидацию (большинство режимов ВДПХТ включали в себя препараты платины, мелфалан и тотальное облучение тела), с результатами в ретроспективной группе сравнения, получавшей стандартную ПХТ [145, 150]. Несмотря на улучшение результатов в группах ВДПХТ, невозможно с уверенностью связать это улучшение с ролью ВДПХТ из-за других различий в использованных режимах терапии. Этот

недостаток постарались устранить в последующих исследованиях, в рамках которых оценивались группы пациентов, получивших одинаковую терапию в одинаковые сроки. Сравнения, выполненные группами POG [168] и CCG [177], не продемонстрировали статистически достоверного улучшения результатов в группах ВДПХТ. Учитывая отсутствие в исследованиях рандомизации (распределение по группам основывалось на выборе лечащего врача), этот факт вероятнее всего связан с ошибкой выборки, в результате которой в группу более интенсивной терапии попадали пациенты со значительно худшим прогнозом.

Исследование группы ENSG (European Neuroblastoma Study Group) стало первым (1982-1985 годы) рандомизированным исследованием, в задачи которого входило сравнение эффективности высокодозной терапии и терапии стандартными дозами [147]. Было продемонстрировано преимущество ВДПХТ (мелфалан в дозе  $180 \text{ мг/м}^2$ ) в группе пациентов старше 1 года с НБ 4 стадии по сравнению с группой поддерживающей терапии (пятилетняя ОВ 33% и 17%,  $p = 0.01$ ; БСВ 46% и 21%,  $p = 0,03$ ). К недостаткам исследования следует отнести то, что до этапа рандомизации была исключена крупная группа (28%) больных, включавшая в себя пациентов с наименее благоприятным прогнозом. В 2005 году были опубликованы долгосрочные результаты с медианой срока наблюдения 14,3 года, свидетельствующие о сохранении преимущества ОВ и БСВ в группе ВДПХТ [151].

К моменту публикации предварительных результатов предыдущего исследования, уже проводился набор пациентов в рандомизированное исследование группы CCG, в задачи которого входила оценка эффективности ВДПХТ с ауто-ТГСК и поддерживающей терапии изотретиноином [117]. В отличие от исследования ENSG, рандомизация выполнялась после второго цикла индукционной химиотерапии, то есть на тот момент, когда 95% пациентов соответствовали критериям рандомизации. Кроме того, исследовались более крупные когорты пациентов (порядка 190 человек в каждой из групп). Тем не менее, сохранялась проблема отказа от рандомизации (около 30% от исходно включенных в исследование пациентов). Использовался режим ВДПХТ СЕМ



(карбоплатин 1000 мг/м<sup>2</sup>, этопозид 640 мг/м<sup>2</sup>, мелфалан 210 мг/м<sup>2</sup>) в сочетании с тотальным облучением тела. Перед началом приема изотретиноина проводилась повторная рандомизация. Результаты исследования говорили об улучшении БСВ как в общей группе пациентов, так и в группе фактически получивших ВДПХТ с ауто-ТГСК (34% и 22%, соответственно;  $p = 0.03$ ) с наилучшими результатами в группе пациентов, получавших ВДПХТ и дифференцирующую терапию (46% и 29%, соответственно;  $p = 0.03$ ). Тем не менее, между группами не было выявлено статистически достоверных различий в ОВ несмотря на отсутствие значимой разницы в смертности от токсичности терапии. Более поздний анализ результатов с медианой наблюдения в 7,7 лет подтвердил преимущество в БСВ в группе ВДПХТ ( $p = 0.004$ ) [114]. Следует отметить недостатки исследования, связанные, как и в предыдущем случае, с селекцией на этапе до первой рандомизации и исключением пациентов с первично-резистентными формами, что было отмечено при мета-анализе данных об эффективности ВДПХТ с ауто-ТГСК [195]. При анализе долгосрочных результатов исследования в общей группе из 539 пациентов высокого риска [113] пятилетняя ОВ составила только 36%, не было выявлено достоверной разницы в ОВ между четырьмя исследованными группами, хотя и сохранялось преимущество в БСВ, а ОВ в группе ВДПХТ была выше при ее сравнении со всеми остальными группами ( $p=0.054$ ). Данный факт стал предметом обсуждения [44, 114]. Выдвигалась гипотеза о различиях в сроках диагностики [97] и эффективности лечения рецидива заболевания, что маловероятно, учитывая продемонстрированное в дальнейшем отсутствие значимого преимущества в ОВ у пациентов, получавших противорецидивную терапию [107].

Третье крупное рандомизированное исследование выполнено группой ГРОН [34]. В это исследование были включены 339 пациентов с НБ 4 стадии в возрасте более 1 года на момент диагноза или с амплификацией MYCN, получавшие лечение в 1997-2002 годах. После второго цикла ПХТ пациенты рандомизировались с разделением на группу ВДПХТ по схеме СЕМ и группу поддерживающей терапии пероральным циклофосфаном. Пациентам с

сохранением метаболически активной опухоли после завершения индукции проводилась МВВГ-терапия. После завершения терапии часть пациентов получали антитела к GD2 (ch14.18), а оставшиеся - изотретиноин. В общей группе из 295 пациентов 3-летние ОВ и БСВ составили 58% и 39%, соответственно. Как и в исследовании CCG, было зафиксированы лучшие показатели БСВ в группе с ВДПХТ по сравнению с группой поддерживающей терапии (47% и 31%, соответственно;  $p = 0.022$ ) при отсутствии значимого преимущества в ОВ при анализе общей когорты, включавшей в себя пациентов, не прошедших рандомизацию. При анализе долгосрочных результатов в когорте пациентов, не получавших иммунотерапию [32], продемонстрировано преимущество в десятилетней БСВ и ОВ группы ВДПХТ по сравнению с группой поддерживающей терапии (46% и 25%; 49% и 31%, соответственно;  $p=0.02$ ). Это преимущество сохранялось при включении в анализ пациентов, не прошедших рандомизацию (36% и 27%; 41% и 35%, соответственно;  $p<0.01$ ). Пациенты, получившие МВВГ-терапию, демонстрировали тенденцию к увеличению ОВ [162].

Вопрос об оптимальном режиме ВДПХТ пока остается открытым. Большинство исследовательских групп отказалось от тотального облучения тела в связи с отсутствием очевидного преимущества в выживаемости и выраженными отсроченными эффектами [99]. В рамках рандомизированного исследования SIOPEN продемонстрировано преимущество режима Ви-Mel (бусульфана - мелфалан) по сравнению с режимом СЕМ (пятилетняя БСВ и ОВ 45% и 33%, 54% и 41%, соответственно) [100], хотя это преимущество неочевидно при сравнении полученных результатов с результатами протоколов ГРОН, в рамках которого использован похожий режим МЕС [172]. Данный факт может объясняться тем, что протокол NB-97 предусматривает использование более интенсивной индукционной терапии в группе высокого риска. В связи с токсичностью бусульфана и риском потенцирования токсичности при использовании МВВГ-терапии [163] часть исследовательских групп заменяет его тресульфаном [7].

Отдельные исследовательские группы предпринимали попытки повышения эффективности ВДПХТ с ауто-ТГСК за счет использования высокодозной MIBG-терапии у пациентов с сохранением MIBG-позитивных опухолевых очагов. Возможные преимущества продемонстрированы в рамках исследования II фазы группы NANT (New Approaches to Neuroblastoma Therapy) [197], но пока не получили убедительного подтверждения в рамках рандомизированных исследований [32].

Учитывая продемонстрированную в эксперименте способность клеток НБ в костном мозге к формированию опухолевого клона при рецидиве [154], и описание отдельных клинических случаев ранних диссеминированных рецидивов с милиарным опухолевым поражением легких [81], определенные усилия прилагались к предотвращению контаминации трансплантата. Тем не менее, рандомизированное исследование группы COG не продемонстрировало преимущества в выживаемости при использовании позитивной иммуномагнитной селекции CD34+ клеток [94]. Большинство групп используют в качестве источника трансплантата периферические стволовые клетки крови в связи с потенциально меньшими сроками приживления трансплантата и более низким риском контаминации [60, 135].

В ряде случаев предпринимались попытки повышения эффективности ВДПХТ за счет использования тандемной ауто-ТГСК. Хотя эффективность данного подхода и не была продемонстрирована в рамках пилотных исследований [65, 165], дополнительная циторедукция за счет повторной ВДПХТ может позволить добиться лучшего эффекта терапии у пациентов, получающих после ауто-ТГСК антитела к GD2 [137]. К данному методу следует относиться с осторожностью, учитывая повышение риска отдаленных осложнений, в том числе развития вторичного острого миелобластного лейкоза [24]. Эффективность посттрансплантационной терапии специфическими антителами к GD2 исходно продемонстрирована в рамках рандомизированного исследования [201] и нашла подтверждение в больших когортах пациентов в рамках протоколов COG [134] и SIOPEN [101]. В отдельных когортах пациентов этот метод использовался как

эффективный способ консолидации у пациентов, не получивших ВДПХТ [96], хотя эффективность данного подхода пока не показана в рандомизированных исследованиях.

Следует отметить, что ВДПХТ с ауто-ТГСК практически повсеместно признана стандартом терапии для пациентов группы высокого риска. Внедрение комплексных методов терапии, включающих в себя ВДПХТ с ауто-ТГСК, способно привести к улучшению выживаемости пациентов с нейробластомой [14]. В России этот метод включен в рекомендации НОДГО для данной группы пациентов.

### **1.6 Тактика терапии у пациентов с первично-резистентной опухолью и рецидивом заболевания**

До 20% пациентов группы высокого риска развивают первичную резистентность к индукционной терапии, а у 40-50% больных, получивших ВДПХТ с ауто-ТГСК, впоследствии диагностируется рецидив заболевания [114]. В обоих случаях прогноз заболевания остается крайне неблагоприятным [189]. Несмотря на то, что выживаемость при рецидиве в большой исторической когорте INRG составляет порядка 20% [105], эти показатели, в основном достигаются за счет пациентов, исходно относившихся к прогностически благоприятным группам. В группе пациентов исходно низкого [142] или среднего риска [13, 26] дозоинтенсивная терапия и локальный контроль позволяют добиться значительного (70-90%) числа долгосрочных ответов. При наличии любых неблагоприятных прогностических факторов (ранний срок рецидива, старший возраст на момент заболевания, неблагоприятные биологические факторы) долгосрочная выживаемость не превышает 5-10% [105].

В настоящее время отсутствует единая тактика терапии у пациентов с первично-резистентной опухолью и у больных группы высокого риска, развивших рецидив. Большинство используемых схем терапии, основанных на применении ингибиторов топоизомеразы I типа [28, 50], по сути, не приводят к

излечению, несмотря на достаточно большой процент ответов [107, 122, 189]. Локальная лучевая терапия обычно позволяет добиться временного эффекта, но в большинстве случаев играет роль паллиативной терапии [42]. Терапия высокими дозами  $^{131}\text{I}$ -MIBG позволяет добиться значительного количества ответов, но у большинства пациентов возникает рецидив в пределах одного года от завершения терапии [115], хотя долгосрочные результаты несколько лучше у больных с первично-резистентной опухолью по сравнению с рецидивами НБ [203]. Представления об эффективности повторной ВДПХТ с ауто-ТГСК основаны на данных ретроспективного исследования, описывающего долгосрочную выживаемость около 15% [174]. Вероятно, этот результат отчасти связан с длительным временным промежутком, который охватывает данное исследование, и фактом включения в него пациентов, относящихся согласно современным системам стадирования к группе среднего риска. Преимущества дозоинтенсивного подхода в современной когорте пациентов с рецидивом после ауто-ТГСК перед использованием низкодозной метронормальной терапии, характеризующейся меньшей токсичностью, не очевидны [33]. Учитывая то, что большинство пациентов данной когорты характеризуется значительной предпочтительностью с развитием первичной или вторичной резистентности к химиотерапии, значительный интерес представляют методы, основанные на использовании иммунной либо таргетной терапии. Определенного числа длительных ответов (около 20%) можно добиться на фоне монотерапии антителами к GD2, хотя результаты данной терапии лучше в группе пациентов с первично-резистентными опухолями по сравнению с группой больных с рецидивами НБ [130].

Отдельные препараты, способные ингибировать сигнальные и метаболические каскады, задействованные в патогенезе нейробластомы, продемонстрировали свою эффективность в рамках исследований первой и второй фазы. Ингибиторы ALK обладают потенциальной активностью у пациентов с НБ, у которых выявлены активирующие мутации этого гена [129]. Описаны отдельные клинические случаи эффективного применения данного

класса препаратов у пациентов с мутациями или амплификацией ALK [188]. Вероятно, большей активностью обладают ингибиторы ALK второго и третьего поколения, эффективные при большем спектре мутаций [72]. Несмотря на потенциальную эффективность ингибирования сигнального пути RAS [80], преимущество монотерапии сорафенибом пока не продемонстрировано в клинических условиях [133]. Описаны единичные случаи стабилизации и частичных ответов на терапию ингибиторами продуктов реаранжировки гена TRK в рамках исследования первой фазы [118]. Данный класс препаратов изучен в рамках доклинических исследований [186] и потенциально способен принести пользу при его комбинировании с другими таргетными препаратами. Следует отметить значительный потенциал ингибирования пути синтеза полиаминов, который активируется у пациентов с вовлечением MYCN [57]. Эффективность терапии дифторметилорнетином продемонстрирована в рамках исследования первой фазы [167].

Учитывая возможность формирования резистентности к таргетным препаратам, исследуется возможность сочетания препаратов с различными механизмами действия, а также их применения вместе с химиотерапией и иммунотерапией. Учитывая потенциальную эффективность ингибиторов гистондеацетилаз в сочетании с ретиноидами [153], данная комбинация была использована в рамках исследования первой фазы. Хотя ее использование и не позволило достичь полных и частичных ответов, у части пациентов отмечались длительные стабилизации заболевания [148], что в дальнейшем может позволить проводить лечение в сочетании с иммунотерапией [95]. Применение комбинации химиотерапии второй линии (иринотекан-темозолomid) с ингибитором киназы Aurora A алисертибом позволило достичь 30% ответов и добиться 52% 2-летней БСВ в группе пациентов с первичной резистентностью и рецидивом [53]. В рамках небольшого рандомизированного исследования продемонстрирована эффективность комбинация терапии второй линии со специфическими антителами, которая возможно позволяет добиться большего числа ответов, чем комбинация с ингибитором mTOR [119]. Дазатиниб, способный ингибировать ряд

тирозинкиназ, в том числе BTK и SCR [156], продемонстрировал способность к угнетению продуктов активации сигнального пути MYCN на доклинической фазе исследований [190]. Приемлемый профиль токсичности препарата у детей [22] и возможность дополнительного снижения токсичности с сохранением эффективности при интермиттирующем приеме более высокой дозы [98] позволяет использовать его в комбинации с другими таргетными препаратами. В частности, потенциально эффективна его комбинация с ингибиторами mTOR [200], которые обладают частично совпадающим спектром активности и также способны к ингибированию продуктов экспрессии MYCN [79]. Ингибиторы mTOR можно комбинировать со схемами терапии второй линии без значимого изменения их профиля токсичности [27], а результаты пилотного исследования комбинации иринотекана и темозоломида с сиролимусом и дазатинибом (схема RIST) говорят о хорошей переносимости этой схемы и высоком числе ответов у пациентов с нейробластомой [47].

### **1.7 Алло-ТГСК и другие формы клеточной и иммунотерапии**

Поражение костного мозга, затрудняющее получение аутологичного трансплантата, встречается приблизительно у 80% пациентов с НБ группы высокого риска, поэтому первые попытки выполнения алло-ТГСК практически совпадают по времени с первым опытом применения ауто-ТГСК [25]. До недавнего времени недостаточный объем данных в пользу иммунологического эффекта алло-ТГСК и высокая токсичность метода препятствовали его широкому распространению. Большая часть ретроспективных исследований включает в себя небольшие группы (порядка 10 человек) реципиентов алло-ТГСК [58, 61, 82, 146, 150]. БРВ у реципиентов алло-ТГСК в рамках этих исследований составляла до 15–30%, что в целом было выше, чем для реципиентов ауто-ТГСК, но не позволяет судить об эффективности метода в силу небольшого числа пациентов. В рамках двух ретроспективных исследований, сравнивавших эффективность ауто-ТГСК и алло-ТГСК в небольших группах пациентов, совпадающих по

основным характеристикам, в одном случае (группа COG) были получены данные о большей БРВ у реципиентов алло-ТГСК [111]. В другом случае (данные регистра EBMT) значимых различий в выживаемости между группами не было. Согласно результатам ретроспективного анализ данных CIBMTR [71], эффективность алло-ТГСК в первой ремиссии близка к эффективности ауто-ТГСК, а выполнение алло-ТГСК у пациентов с рецидивом после ауто-ТГСК не приводит к значимому улучшению долгосрочной выживаемости.

Описаны отдельные случаи использования комбинации миелоаблативных доз  $^{131}\text{I}$ -MIBG с ПХТ в качестве режима кондиционирования перед алло-ТГСК [104, 159, 182, 184]. К сожалению, несмотря на отдельные свидетельства возникновения РТПО [104, 182, 184], малое число известных случаев и разнородность характеристик пациентов не позволяют делать определенные выводы об эффективности этого метода терапии. Следует отметить, что все эти исследования носят ретроспективный характер и охватывают крайне широкий временной период. Отсутствие преимущества алло-ТГСК может быть связано с гетерогенностью показаний и высокой токсичностью процедуры аллогенной трансплантации. Тем не менее, потенциальная эффективность метода растет по мере распространения немиелоаблативных режимов кондиционирования и снижения смертности, связанной с процедурой трансплантации [70].

Причиной неудач такого лечения могут также быть особенности иммунного ответа на опухоль. Нестабильный спектр экспрессии HLA I и герминальных опухолевых антигенов [194], а также отсутствие постоянного спектра мутаций и малое число неоантигенов [67] затрудняет иммунный лизис, опосредованный Т-лимфоцитами. В то же время, потеря экспрессии HLA I класса делает опухолевые клетки потенциально более уязвимыми для лизиса, опосредованного NK-клетками [193]. Косвенным свидетельством роли NK-клеток в патогенезе НБ может служить выявление зависимости между KIR и HLA генотипами и долгосрочным прогнозом реципиентов ауто-ТГСК [187], сохраняющей свое значение в контексте иммунотерапии [55]. При KIR-несовместимой алло-ТГСК NK-клетки донора могут инициировать эффект трансплантат-против-опухоли у



пациентов с солидными новообразованиями [143]. У больных с нейробластомой группы высокого риска вероятно также играет роль высокий уровень экспрессии «неклассических» HLA I класса [193], которые способны взаимодействовать с активирующими рецепторами NK-клеток при алло-ТГСК [76]. В условиях иммунной агрессии, опосредованной NK-клетками опухоль способна восстановить экспрессию «классических» HLA I класса [131], что делает опухолевые клетки уязвимыми для цитотоксических Т-лимфоцитов. Все эти факторы служат аргументом в пользу использования для алло-ТГСК гаплоидентичного KIR-несовместимого донора. На данный момент описаны лишь отдельные серии наблюдений в небольших когортах пациентов [77, 103, 104, 160]. Следует отметить, что, несмотря на различия в используемых подходах, в большинстве случаев применяется немиелоаблативный режим кондиционирования. На примере наиболее крупной из описанных групп [77] можно говорить о долгосрочной выживаемости в 15-20%. В большинстве случаев используется модификация трансплантата с помощью метода иммуномагнитной селекции [77, 90]. Посттрансплантационное введение циклофосфана, продемонстрировавшее свою эффективность в качестве профилактики РТПХ у пациентов с острыми лейкозами [19], используется редко из-за риска элиминирования аллореактивных NK-клеток [157]. Описаны только отдельные случаи успешного применения посттрансплантационного циклофосфана у пациентов с нейробластомой [92, 160].

Существует ряд возможных стратегий посттрансплантационной иммунотерапии. Учитывая возможность индукции экспрессии HLA I класса, при алло-ТГСК от KIR-несовместимого донора, возможно использование иммуноадоптивной терапии лимфоцитами донора, эффективность которой показана у пациентов с лейкозами [93]. Кроме того, возможная роль индуцированной экспрессии PD-L1 в формировании иммунной толерантности [48], определяет потенциальную эффективность ингибиторов иммунных контрольных точек, обладающих также потенциальным синергизмом с другими формами иммунотерапии [170]. Данные доклинических исследований [164] и

описаний клинических случаев и небольших групп пациентов [84, 89] позволяют говорить о потенциальной эффективности применения посттрансплантационной адоптивной терапии НК-клетками гаплоидентичного донора. Получены хорошие предварительные результаты применения специфических антител к GD2 после алло-ТГСК от гаплоидентичного донора [102]. Двухлетняя БСВ в описанной когорте пациентов составила порядка 40%, что может быть связано с синергизмом между цитотоксичностью антител и НК-клеток [55]. В связи со сравнительно небольшим сроком наблюдения и селекцией пациентов, вошедших в данное исследование, сложно судить об истинной эффективности подобного лечения до публикации окончательных результатов. По данным отдельных исследований иммунотерапия может играть большую роль у пациентов старшего возраста [179] в связи с особенностями биологических характеристик опухоли, большей мутационной нагрузкой и значительным числом иммуногенных неоантигенов [180].

Ранние исследования, связанные с созданием CAR-T клеток первого [136] и второго [59] поколения к молекулам L1-CAM не продемонстрировали достаточной клинической эффективности метода. Несколько более эффективным оказался подход, при котором специфический к опухолевым антигенам рецептор размещался на мембране вирус-специфичных Т-лимфоцитов [108]. В этом случае удалось добиться клинического эффекта у 3 из 11 пациентов с прогрессированием заболевания. Другой возможный подход состоит в *in vitro* экспансии и активации аутологичных лимфоцитов пациента с последующей обработкой антителами биспецифичными к CD3 и GD2. Этот метод показал эффективность у пациентов с НБ на доклинической фазе исследований [199]. Клиническое использование CAR-T клеток третьего и четвертого поколений затрудняется нестабильностью экспрессии мишеней опухолевыми клетками и высокой потенциальной токсичностью метода [176].

Таким образом, можно говорить об отсутствии общепринятой эффективной тактики терапии у пациентов с первичной резистентностью и рецидивом заболевания. Подход, используемый в группе первичных пациентов и

подразумевающий использование индукционной терапии в сочетании с локальным контролем и дозоинтенсивной консолидацией, в этой группе недостаточно эффективен. Вероятно, только применение принципиально иных методов лечения, опирающихся на таргетную терапию и иммунотерапию, в том числе алло-ТГСК, способен привести к излечению части пациентов. К сожалению, единые критерии оценки эффективности и выбора больных, которым показан тот или иной метод лечения, пока отсутствуют.

## ГЛАВА 2

### ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1 Характеристика больных

В исследование включены 110 пациентов с нейробластомой, получавшие терапию в НИИ детской гематологии, онкологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» в период с 2008 по 2017 годы (рисунок 1).

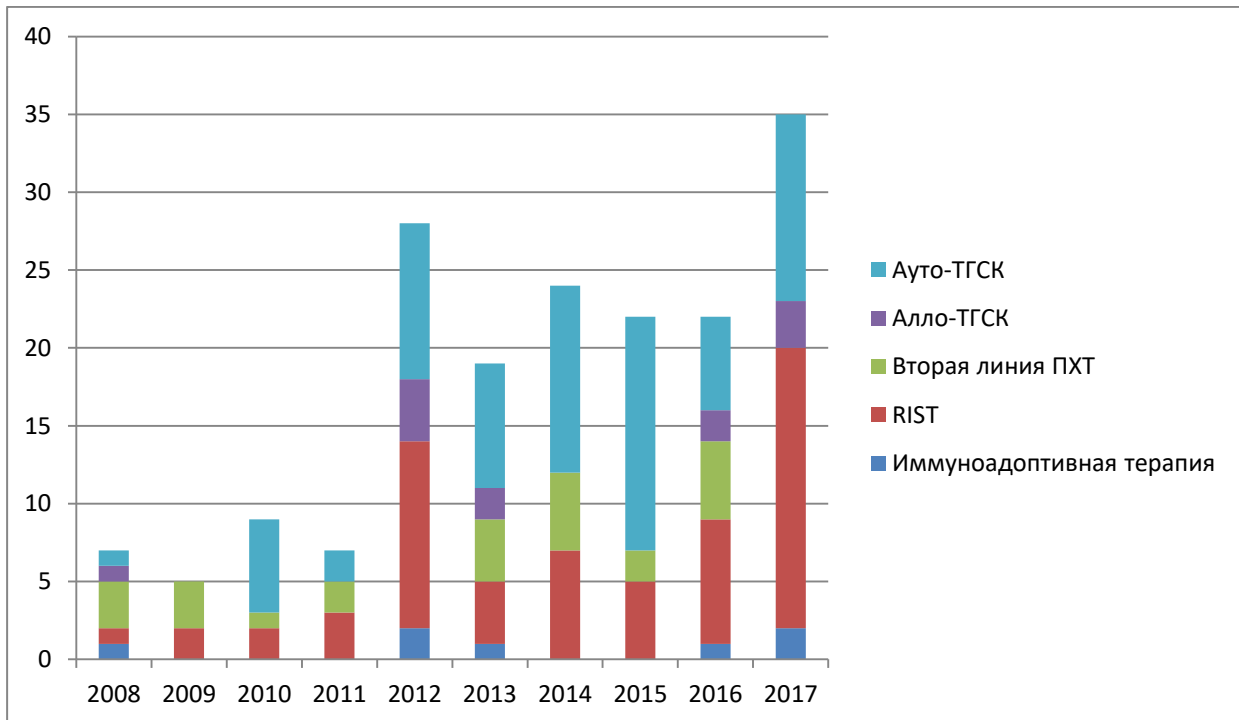


Рисунок 1 – Распределение пациентов с НБ группы высокого риска по годам в зависимости от метода лечения

Все пациенты относились к группе высокого риска на основании наличия одного или нескольких из следующих факторов: возраст более 18 месяцев на момент постановки диагноза (n=91), первично-диссеминированное поражение (n=85), неблагоприятные биологические факторы (амплификация MYCN, n=38;

del1p, n=9), первичная химиорезистентность (n=55), рецидив заболевания (первый ранний рецидив, n=22; первый поздний рецидив, n=7; второй и более рецидив, n=12) (таблица 1). У 28 пациентов с рецидивом заболевания ранее проводилась интенсивная комплексная терапия, включавшая в себя высокодозную полихимиотерапию (ВДПХТ) с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). Медиана возраста на момент постановки диагноза составила 3 года 8 месяцев (диапазон от 4 месяцев до 20 лет). На момент проведения терапии в отделении трансплантации костного мозга (ОТКМ) для детей №2 НИИ детской гематологии, онкологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой медиана возраста составляла 5 лет (диапазон от 7 месяцев до 21 года). Подробная характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристики пациентов с НБ группы высокого риска, включенных в исследование.

<b>Характеристика</b>	<b>Число пациентов</b>	<b>%</b>
<b>Пол</b>		
Мужской	62	56
Женский	48	44
<b>Возраст на момент диагноза</b>		
Медиана (диапазон)	3 года 8 месяцев (4 месяца – 20 лет)	
Менее 18 мес	19	17
Более 18 мес	91	83
<b>Локализация первичной опухоли</b>		
Забрюшинная	77	70
Средостение	21	19
Другая	12	11
<b>Стадия INSS на момент диагноза</b>		
2	11	10
3	13	12

## Продолжение таблицы 1

<b>Характеристика</b>	<b>Число пациентов</b>	<b>%</b>
4s	1	1
4	85	77
<b>Стадия INRG на момент диагноза</b>		
L1	11	10
L2	14	13
M	85	77
<b>Локализация метастазов</b>		
Л/у	69	62
Кости	59	53
Костный мозг	66	60
Печень	18	16
Легкие	17	15
Г/м и оболочки	9	8
<b>MYCN</b>		
Амплификация	37	34
Без амплификации	65	71
Неизвестно	8	7
<b>Цитогенетика</b>		
Del 1p	9	8
Без особенностей	37	34
Неизвестно	64	58
<b>Радикальная резекция первичного очага поражения</b>		
Да	34	31
Нет	76	69
<b>Лучевая терапия на первичный очаг поражения</b>		
Да	12	11
Нет	98	89

Продолжение таблицы 1

<b>Характеристика</b>	<b>Число пациентов</b>	<b>%</b>
<b>МЙБГ-терапия</b>		
Да	7	6
Нет	103	94
<b>ВДПХТ с ауто-ТГСК с анамнезе</b>		
Да	28	25
Нет	82	75
<b>Первичная резистентность</b>		
Да	55	50
Нет	55	50
<b>Ответ на вторую линию ПХТ</b>		
Да	27	25
Нет	28	25
<b>Рецидив, сроки</b>		
Первый ранний	22	20
Первый поздний	7	6
Второй и более	12	11
<b>Рецидив, объем поражения</b>		
Локальный	7	6
Системный	34	31
<b>Статус на момент поступления</b>		
Полный ответ	41	37
Частичный ответ	31	28
Стабилизация	16	15
Прогрессирование	22	20

Несмотря на то, что у большинства детей с НБ были исходно-диссеминированные формы заболевания, различные возрастные группы

характеризовались различным профилем факторов риска. Так, у детей в возрасте до 18 месяцев значительно чаще наблюдались биологические неблагоприятные прогностические факторы (в частности, амплификация MYCN выявлена в 68% случаев) и первичная резистентность к проводимой терапии (47% пациентов). В группе от 18 месяцев до 5 лет повышалось клиническое значение рецидивов заболевания (39% пациентов), а в группе старше 5 лет значительно снижалось число неблагоприятных генетических аномалий. Так, в частности, амплификация MYCN выявлена только у 2 из 22 (9%) пациентов. На первое место среди факторов риска выходит первично-резистентное течение заболевания, выявленное у 16 из 22 (72%) пациентов данной группы (рисунок 2).

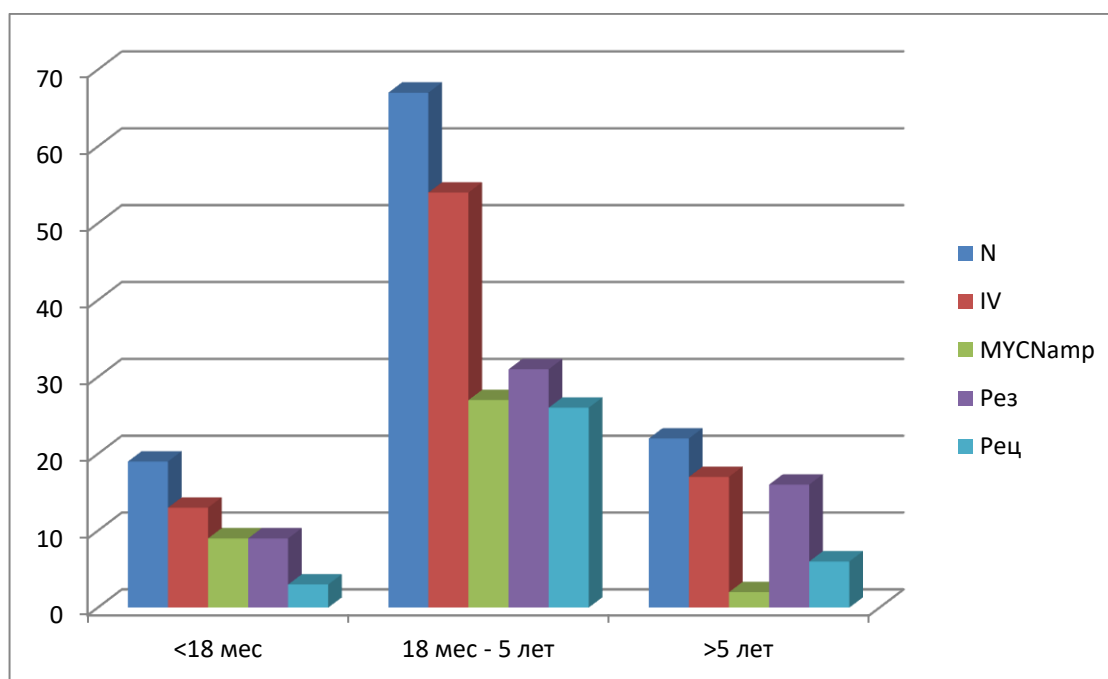


Рисунок 2 – Структура факторов риска у детей с НБ в зависимости от возраста.

Проведенная терапия: ауто-ТГСК у пациентов с исходно неблагоприятным прогнозом (n=72), терапия второй линии у пациентов с первично-резистентными формами заболевания (n=25), комбинированная химио- и таргетная терапия у пациентов, не достигших ответа на терапию первой и второй линии (n=58), аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК;



n=15), иммуноадаптивная терапия (n=7) и другие виды посттрансплантационной терапии (n=3).

## **2.2 Терапевтическая тактика у пациентов группы высокого риска**

В ОТКМ для детей №2 получили терапию 110 пациентов. Все пациенты проходили обследование: КТ с оценкой ответа по критериям RECIST 1.1, миелограмма/трепанобиопсия костного мозга, проточная цитофлуориметрия костного мозга, сцинтиграфия с I-MIBG. У 49 первичных пациентов группы высокого риска на основании обследования зафиксирован хороший частичный или полный ответ. Этим пациентам проведена ВДПХТ с ауто-ТГСК. Первичная резистентность констатировалась при сохранении значительного объема поражения по данным КТ/сцинтиграфии с I-MIBG и/или отсутствии санации костного мозга по данным миелограммы и/или трепанобиопсии после завершения индукционной ПХТ либо при прогрессировании заболевания по данным КТ/сцинтиграфии с I-MIBG на фоне индукционной терапии первой линии. Данные признаки выявлены у 33 больных. Все эти пациенты получали терапию второй и/или третьей линии. В случае достижения хорошего частичного или полного ответа, проводилась консолидация в виде ВДПХТ с ауто-ТГСК (n=24). В двух случаях выполнена ВДПХТ с алло-ТГСК в связи с невозможностью забора достаточного числа аутологичных ГСК. Пациентам с рецидивом заболевания, которые ранее лечились в других клиниках (n=28) либо развили рецидив после ранее выполненной в НИИДОГиТ им.Р.М.Горбачевой ВДПХТ с ауто-ТГСК (n=17) проводилась ПХТ с топотеканом/иринотеканом либо терапия по схеме RIST. При достижении ответа проводилась консолидирующая терапия в виде ВДПХТ с ауто-ТГСК (n=10) либо алло-ТГСК (n=17). После алло-ТГСК (n=12) либо при невозможности добиться ответа на терапию второй и третьей линии (n=3) пациенты дополнительно получали иммуно- и таргетную терапию. Тактика терапии у пациентов группы высокого риска представлена на рисунке 3.

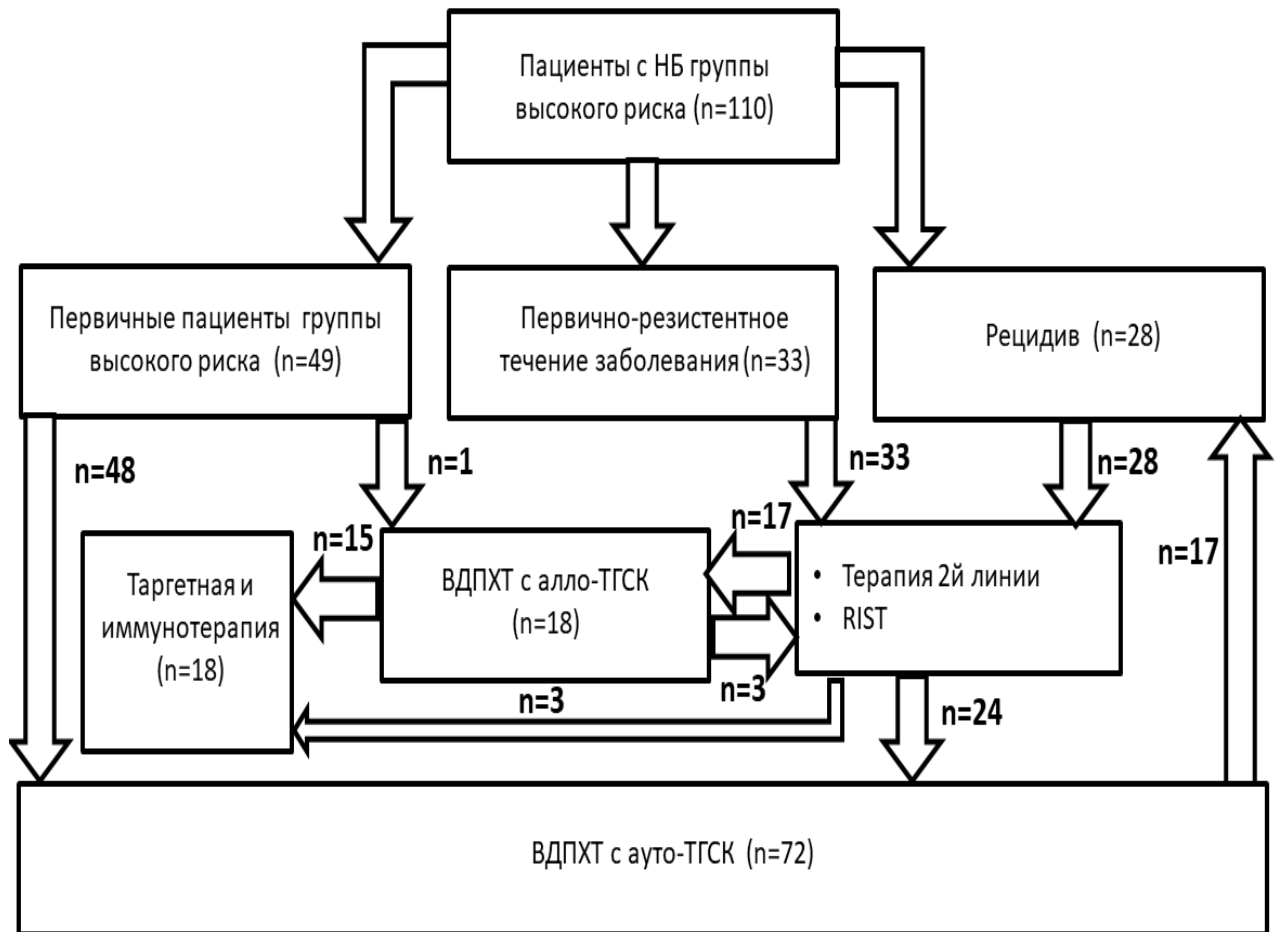


Рисунок 3 – Тактика терапии у 110 пациентов с НБ группы высокого риска.

### 2.3 Характеристика пациентов, получивших ВДПХТ с ауто-ТГСК

В период с декабря 2008 по август 2017 года в ОТКМ для детей №2 НИИДОГиТ им. Р. М. Горбачевой выполнена ВДПХТ с ауто-ТГСК у 72 пациентов с НБ группы высокого риска. Распределение по полу составило 1,25/1 (40 пациентов мужского и 32 женского пола). Медиана возраста на момент постановки диагноза равнялась 3 года 10 месяцам (диапазон от 4 месяцев до 20 лет). На момент проведения терапии в НИИДОГиТ им. Р. М. Горбачевой медиана возраста составила 4 года 4 месяца (7 месяцев – 22 года) (рисунок 4).

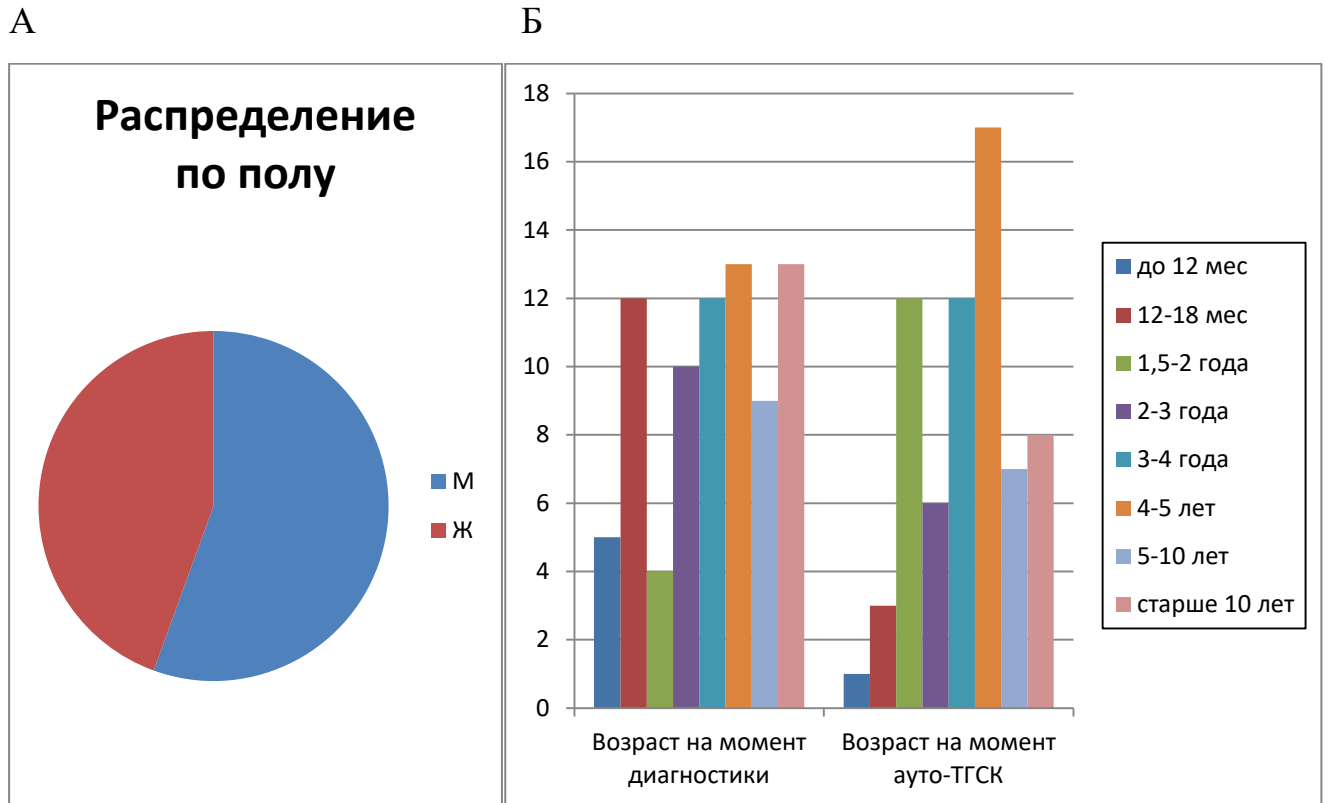


Рисунок 4 – Распределение реципиентов ауто-ТГСК по полу (А) и возрасту (Б).

У большинства пациентов, получивших ВДПХТ с ауто-ТГСК, исходно выявлены один или несколько из следующих факторов риска: первично-диссеминированная форма заболевания (n=55), первичная резистентность к индукционной терапии с ответом на терапию второй и третьей линии (n=11), химиочувствительный рецидив (n=10). Часть пациентов с поздним рецидивом заболевания (n=6) ранее уже получала ВДПХТ с ауто-ТГСК. Большинство реципиентов ауто-ТГСК на момент заболевания были старше 1,5 лет (n=53, 74%). В исследуемую группу также включены пациенты младше 1,5 лет на момент диагностики, у которых были выявлены неблагоприятные биологические прогностические факторы (n=19, 26%). В трех случаях ВДПХТ с ауто-ТГСК выполнялась в качестве циторедуктивной терапии у пациентов с первично-резистентными формами заболевания, достигших стабилизации на фоне терапии второй и/или третьей линии (таблица 2).

Таблица 2 – Характеристика 72 пациентов с НБ группы высокого риска, получивших ВДПХТ с ауто-ТГСК.

Характеристика	Число пациентов (%)
Возраст на момент заболевания <ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt;1,5 лет</li> <li>• &gt;1,5 лет</li> </ul>	19 (26) 53 (74)
Исходная стадия INSS <ul style="list-style-type: none"> <li>• I</li> <li>• II</li> <li>• III</li> <li>• IV</li> </ul> Исходная стадия INRG <ul style="list-style-type: none"> <li>• L1</li> <li>• L2</li> <li>• M</li> </ul>	4 (6) 3 (4) 10 (14) 55 (76) 6 (8) 12 (16) 55 (76)
Метастатическое поражение <ul style="list-style-type: none"> <li>• Лимфоузлы</li> <li>• Костный мозг</li> <li>• Кости</li> <li>• Печень</li> <li>• ЦНС/оболочки</li> <li>• Легкие</li> </ul>	44 (61) 42 (58) 33 (46) 10 (14) 6 (8) 15 (21)
Гистологический вариант <ul style="list-style-type: none"> <li>• Недифференцированная</li> <li>• Ганглионейробластома, нодулярный вариант</li> <li>• Ганглионейробластома, смешанный вариант</li> </ul>	58 (81) 8 (11) 6 (8)

Продолжение таблицы 2

Характеристика	Число пациентов (%)
Биологические факторы риска <ul style="list-style-type: none"> <li>• Амплификация MYCN</li> <li>• Неблагоприятная цитогенетика</li> </ul>	23 (32) 8 (11)
Первичная резистентность <ul style="list-style-type: none"> <li>• Получен ответ на терапию второй линии</li> <li>• Без ответа на терапию</li> </ul>	14 (19) 11 (15) 3 (4)
Рецидив <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ранее выполнялась ВДПХТ</li> <li>• ВДПХТ не выполнялась</li> </ul>	10 (14) 6 (8) 4 (6)
Статус на момент ауто-ТГСК <ul style="list-style-type: none"> <li>• Полный ответ</li> <li>• Частичный ответ</li> <li>• Стабилизация</li> </ul>	38 (53) 30 (41) 4 (6)

На этапе проведения индукционной ПХТ у всех пациентов выполнялся забор аутологичного костного мозга (КМ; n=59, 82%) или стволовых клеток периферической крови (СКПК; n=11, 15%). У двух пациентов (n=2, 3%), у которых не удалось заготовить достаточное количество аутологичных СКПК (не менее  $2.0 \times 10^6$  CD34+/кг) дополнительно выполнялась миелоэкспузия (рисунок 5).



Рисунок 5 - Источники ауто-ГСК.

Относительное содержание CD34+ клеток в трансплантате оценивалось с помощью метода проточной цитофлуориметрии (аппарат FACSCalibur Becton Dickinson CA рег.№2003/457, США, моноклональные антитела CD34 Becton Dickinson CA, США). Перед заготовкой аутологичных ГСК выполнялась исследование костного мозга с оценкой его поражения по данным миелограммы (n=72, 100%) и морфологического исследования трепанобиоптата (n=34, 47%). У 52 из 66 (79%) пациентов с исходным поражением костного мозга дополнительно выполнялось исследование костного мозга и забранного трансплантата с помощью метода проточной цитофлуориметрии. Оценивались следующие популяции клеток: CD45-56+ (n=11), CD45-56+34- (n=2), CD45-56+81+ (n=27), CD45-56+GD2+(n=8), CD45-56+81+GD2+(n=4) (моноклональные антитела CD34, CD45, CD56, CD81, GD2 Becton Dickinson CA, США) (таблица 3). При выявлении  $\geq 1\%$  клеток, фенотип которых соответствовал опухолевым, заготовка трансплантата откладывалась с повторным обследованием после выполнения двух дополнительных циклов ПХТ. При выявлении  $\geq 0,05\%$  клеток, фенотип которых соответствовал опухолевым, выполнялся аферез СКПК с дополнительной оценкой заготовленного трансплантата методом проточной цитофлуориметрии перед его криоконсервацией. Проточная цитофлуориметрия выполнялась в лаборатории иммунологии НИИДОГиТ им.Р.М.Горбачевой (зав. лабораторией иммунологии и криоконсервации Бабенко Е. В.).

Таблица 3 – Использованный метод ИФТ.

<b>Исследуемая популяция</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
CD45-56+	11	17
CD45-56+34-	2	3
CD45-56+81+	27	41
CD45-56+GD2+	8	12
CD45-56+81+GD2+	4	6
Не оценивалась	14	21

Перед выполнением афереза СКПК выполнялась стимуляция кроветворения с помощью ростовых факторов гемопоэза. Пациенту вводился препарат гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) в дозе 10 мг/кг/сут за 2 введения в течение 5 дней с оценкой на четвертый день количества CD34+ клеток в периферической крови. Оценка выполнялась методом проточной цитофлюориметрии. Процедура афереза СКПК осуществлялась на пятый день. За 2 часа до начала процедуры выполнялось девятое введение Г-КСФ. В ходе процедуры лейкофереза использовался клеточный фракционатор с постоянным током крови COBE SPECTRA (Spectra LRS, COBE BCT Inc., Lakewood, CO, USA). После оценки количества CD34+ клеток методом проточной цитофлюориметрии необходимость повторной процедуры определялась на следующий день. Миелоэкспузия выполнялась по стандартной методике: множественные пункции задне-верхних остей и гребней подвздошных костей в условиях хирургической операции под общим эндотрахеальным наркозом. Медиана содержания CD34+ в заготовленном трансплантате составила 2,8 (2,1-7,3) x 10<sup>6</sup>/кг массы реципиента, а медиана ядросодержащих клеток 2,8 (0,9-27,7) x 10<sup>7</sup>/кг.

При получении трансплантата достаточной клеточности выполнялась его криоконсервация в 7,5% растворе диметилсульфоксида (программный замораживатель Planer Kryo 560-10 Plc, Великобритания; МЗ РФ №2002/1017). В дальнейшем трансплантат хранился до момента выполнения ауто-ТГСК в парах

жидкого азота при температуре  $-180^{\circ}\text{C}$ . Хранение осуществлялось в криобанке НИИ ДОГиТ им. Р. М. Горбачевой.

Перед выполнением ВДПХТ с ауто-ТГСК все пациенты проходили плановое обследование: УЗИ органов брюшной полости и почек, КТ с захватом областей поражения, сцинтиграфию с I-MIBG. Также выполнялась миелограмма/трепанобиопсия костного мозга и проба Шварца для оценки скорости клубочковой фильтрации.

### 2.3.1 Режимы ВДПХТ

В подавляющем большинстве случаев ( $n=64$ ) использован режим кондиционирования, сочетающий пероральный прием бусульфана (суммарная доза  $16\text{ мг/кг}$ ) в день  $-7$ ,  $-6$ ,  $-5$ ,  $-4$  (за четыре приема каждые 6 часов в дозе  $1\text{ мг/кг}$ ) и внутривенное введение мелфалана ( $140\text{ мг/м}^2$ ) за 1 час в день  $-2$ . Трем пациентам младшего возраста пероральная форма бусульфана заменена внутривенной (*Busilvex*®) в суммарной дозе  $19,2\text{ мг/кг}$ . Суточная доза препарата в день  $-7$ ,  $-6$ ,  $-5$ ,  $-4$  составляла  $4,8\text{ мг/кг}$  (4 введения по  $1,2\text{ мг/кг}$  за 1 час). Реинфузия аутологичных ГСК производилась в Д0. Учитывая нейротоксичность бусульфана, все пациенты профилактически получали противосудорожную терапию: фенитоин  $5\text{ мг/кг/сут}$  в четыре приема в дни  $-8$ ,  $-7$ ,  $-6$ ,  $-5$ ,  $-4$ ,  $-3$  ( $n=56$ ), леветирацитам  $20\text{ мг/кг/сут}$  в два приема в дни  $-8$ ,  $-7$ ,  $-6$ ,  $-5$ ,  $-4$ ,  $-3$  ( $n=16$ ).

Трем пациентам с первичной резистентностью с целью преодоления резистентности и циторедукции проводилась ВДПХТ в режиме 5D/5D (5 days / 5 drugs): карбоплатин ( $500\text{ мг/м}^2/\text{сут}$  в/в за 1 час) в дни  $-8$ ,  $-7$  (суммарная доза  $1000\text{ мг/м}^2$ ), иринотекан ( $50\text{ мг/м}^2/\text{сут}$  в/в за 1 час) в дни  $-8$ ,  $-7$ ,  $-6$  (суммарная доза  $150\text{ мг/м}^2$ ), темозоломид ( $250\text{ мг/м}^2/\text{сут}$  перорально за один прием) в дни  $-8$ ,  $-7$ ,  $-6$  (суммарная доза  $750\text{ мг/м}^2$ ), этопозид ( $200\text{ мг/м}^2/\text{сут}$  в/в за 2 часа) в дни  $-6$ ,  $-5$  (суммарная доза  $400\text{ мг/м}^2$ ), циклофосфамид ( $70\text{ мг/кг/сут}$  в/в за 6 часов) в дни  $-5$ ,  $-4$  (суммарная доза  $140\text{ мг/кг}$ ) (Таблица 4). С целью профилактики



геморрагического цистита всем пациентам вводился уромитексан (70 мг/кг/сут за 24 часа) в дни -5 и -4. Реинфузия аутологичных ГСК производилась в Д0.

Таблица 4 - Режимы высокодозной полихимиотерапии.

Препарат	Способ введения	Суточная доза	Суммарная доза	№ пациентов (%)
Бусульфан	per os	4 мг/кг	16 мг/кг	66 (92)
Мелфалан	в/в	140 мг/м <sup>2</sup>	140 мг/м <sup>2</sup>	
<i>Busilvex</i> ®	в/в	4,8 мг/кг	19,2 мг/кг	3 (4)
Мелфалан	в/в	140 мг/м <sup>2</sup>	140 мг/м <sup>2</sup>	
Карбоплатин	в/в	500 мг/м <sup>2</sup>	1000 мг/м <sup>2</sup>	3 (4)
Иринотекан	в/в	50 мг/м <sup>2</sup>	150 мг/м <sup>2</sup>	
Темозоломид	per os	250 мг/м <sup>2</sup>	750 мг/м <sup>2</sup>	
Этопозид	в/в	200 мг/м <sup>2</sup>	400 мг/м <sup>2</sup>	
Циклофосфамид	в/в	70 мг/кг	140 мг/кг	

### 2.3.2 Восстановление кроветворения

Восстановление кроветворения фиксировалось согласно критериям EBMT (The EBMT Handbook 5<sup>th</sup> Edition, 2008) при определении следующих показателей анализа периферической крови:

1. абсолютное число гранулоцитов  $\geq 0,5 \times 10^9$  в течение трех дней без введения ростовых факторов гемопоэза (Г-КСФ);
2. абсолютное число лейкоцитов  $\geq 1,0 \times 10^9$  в течение трех дней;
3. абсолютное число тромбоцитов  $\geq 20,0 \times 10^9$  в течение трех дней при условии отсутствия заместительных трансфузий тромбоконцентрата;
4. уровень гемоглобина  $\geq 80,0$  г/л в течение трех дней при условии отсутствия заместительных трансфузий эритроцитарной взвеси.

### 2.3.3 Оценка токсичности

Оценка токсичности ВДХТ с ауто-ТГСК производилась с помощью стандартных международных критериев Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.0 (May 28, 2009) и оценки объективных функциональных показателей органов и систем. При диагностики и оценке тяжести веноокклюзионной болезни печени использовались критерии EBMТ.

### 2.4 Характеристика пациентов, получивших ПХТ второй линии и комбинированную химио- и таргетную терапию

В клинике НИИДОГиТ им.Р.М.Горбачевой получили 78 пациентам с первично-резистентной формой или рецидивом НБ проведена терапия второй линии (n=20) либо комбинированная химио- и таргетная терапия (n=58). Показаниями с резистентным течением заболевания (n=33), первым (n=34) либо вторым и более (n=11) локальным (n=20) либо системным (n=25) рецидивом заболевания. Медиана возраста пациентов на момент начала терапии 5(1-20) лет. У большинства пациентов на момент начала терапии отмечалось прогрессирование заболевания (50/78, 64%), у остальных пациентов отмечалась стабилизация либо частичный ответ на фоне предшествующей терапии. Сравнительные характеристики пациентов, получавших терапию второй линии и комбинированную химио- и таргетную терапию, приведены в таблице 5.

Таблица 5 – Сравнительная характеристика пациентов, получавших терапию второй линии и комбинированную химио- и таргетную терапию

Характеристики пациентов	Терапия второй линии	<b>RIST</b>
	Абс.значение (%)	Абс.значение (%)
Число пациентов	20	58
Медиана возраста, лет	20	58

Продолжение таблицы 5

Показания к терапии, N(%):		
Резистентность	11 (55)	22 (38)
Рецидив	9 (45)	36 (62)
• Первый (ранний/поздний)	6 (30) / 1 (5)	24 (41) / 2 (3)
• Второй и более	2 (10)	10 (15)
• Локальный	5 (25)	15 (22)
• Системный	4 (20)	21 (31)
• Ранее ауто-ТГСК	8 (40)	25 (37)
Статус на момент начала терапии		
• ЧР	1 (5)	6 (10)
• Стабилизация	5 (25)	16 (28)
• Прогрессирование	14 (70)	36 (62)

Значительная часть пациентов (40/58, 69%), получавших комбинированную химио- и таргетную терапию, ранее уже получали терапию ингибиторами топоизомеразы I. На момент начала терапии 18 (26%) пациентов находились в стабилизации на фоне предшествующей терапии, у 24 (35%) пациентов наблюдалось прогрессирование заболевания на фоне предшествующей терапии, 16 (24%) пациентов развили второй и более рецидив заболевания после достижения ответа на терапию второй линии, у 10 (15%) пациентов схема R1ST применялась в связи с отсутствием ответа на индукционную терапию первой линии.

#### 2.4.1 Режимы терапии

В качестве второй линии терапии использовались режимы Топотекан – Циклофосфан (топотекан 0,75 мг/м<sup>2</sup> Д1-Д5, циклофосфан 250 мг/м<sup>2</sup> Д1-Д5), N8 (топотекан 0,75 мг/м<sup>2</sup> Д1-Д5, циклофосфан 250 мг/м<sup>2</sup> Д1-Д7, этопозид 100 мг/м<sup>2</sup>

Д8-Д10), Иринотекан – Темозоломид (иринотекан 50 мг/м<sup>2</sup> Д1-Д5, темозоломид 150 мг/м<sup>2</sup> Д1-Д5). В качестве третьей линии терапии использовался режим комбинированной химио- и таргетной терапии RIST (иринотекан 50 мг/м<sup>2</sup> Д8-Д12, темозоломид 150 мг/м<sup>2</sup> Д8-Д12, сиролимус 3 мг/м<sup>2</sup> в Д1, 1 мг/м<sup>2</sup> в Д2-Д4, дазатиниб 2 мг/кг в Д1-Д4) (таблица 6).

Таблица 6 – Режимы терапии.

Препарат	Способ введения	Суточная доза	Суммарная доза	Число пациентов (%)
Топотекан	в/в	0,75 мг/м <sup>2</sup>	3,75 мг/м <sup>2</sup>	6 (8)
Циклофосфан	в/в	250 мг/м <sup>2</sup>	1250 мг/м <sup>2</sup>	
<b>№8</b>				4 (5)
Топотекан	в/в	0,75 мг/м <sup>2</sup>	5,25 мг/м <sup>2</sup>	
Циклофосфан	в/в	250 мг/м <sup>2</sup>	1750 мг/м <sup>2</sup>	
Этопозид	в/в	100 мг/м <sup>2</sup>	300 мг/м <sup>2</sup>	
Иринотекан	в/в	50 мг/м <sup>2</sup>	250 мг/м <sup>2</sup>	4 (13)
Темозоломид	per os	150 мг/м <sup>2</sup>	750 мг/м <sup>2</sup>	
<b>RIST</b>				58 (74)
Иринотекан	в/в	50 мг/м <sup>2</sup>	250 мг/м <sup>2</sup>	
Темозоломид	per os	150 мг/м <sup>2</sup>	750 мг/м <sup>2</sup>	
Сиролимус	per os	1 мг/м <sup>2</sup>	6 мг/м <sup>2</sup>	
Дазатиниб	per os	2 мг/кг	10 мг/кг	

Плановый промежуток между курсами терапии составлял 2 недели. Критериями начала следующего курса было отсутствие значимой органной и гематологической токсичности (лейкоциты более  $1,5 \times 10^9$  и нейтрофилы более  $0,5 \times 10^9$  без стимуляции Г-КСФ, гемоглобин более 80 г/л и тромбоциты более  $25 \times 10^9$  в течение 3 дней без гемотрансфузий). При проведении терапии RIST плановый промежуток между курсами химиотерапии увеличивался с четвертого

и восьмого месяца от начала терапии за счет дополнительного приема таргетных препаратов (Фаза 1 – Фаза 3) (рисунок 6).

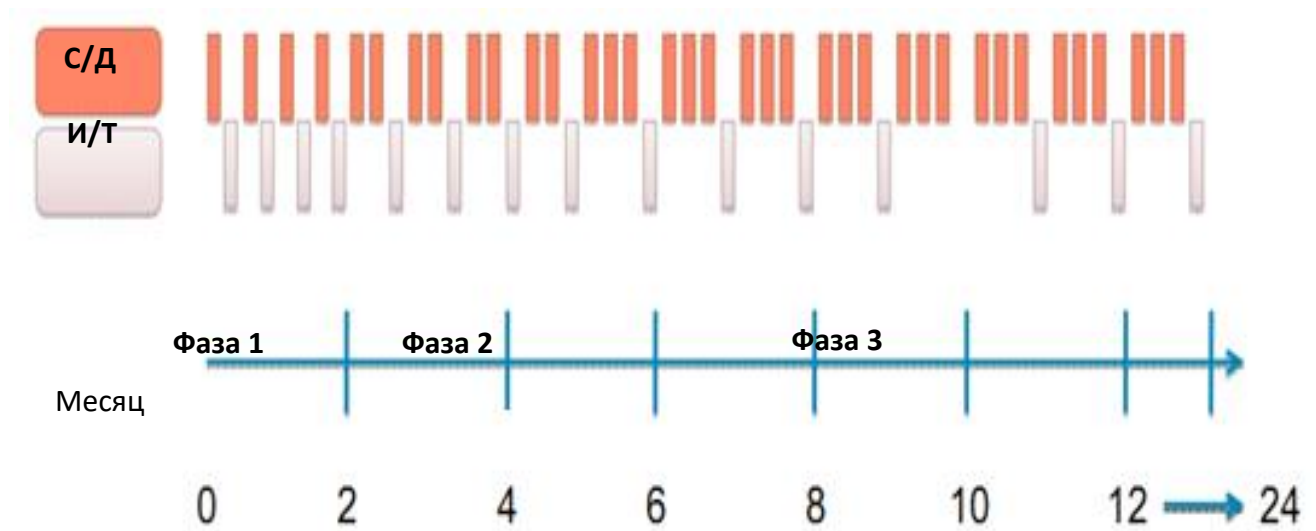


Рисунок 6 – Фазы терапии RIST.

Токсичность терапии оценивалась согласно критериям CTCAE Version 4.0 (May 28, 2009). Ответ на терапию оценивался после каждых трех курсов по данным КТ согласно критериям RECIST. У пациентов с поражением костного мозга дополнительно выполнялась миелограмма / оценивался трепанобиоптат костного мозга. У пациентов с MIBG-позитивной опухолью после каждых 4 курсов терапии проводилась сцинтиграфия с I-MIBG. При достижении ответа по данным сцинтиграфии с I-MIBG и сохранении MIBG-негативных объемных образований рассматривалась техническая возможность хирургического лечения или дистантной лучевой терапии с СОД 24-36 Гр. Пациенты, достигшие полного или хорошего частичного ответа по данным КТ/сцинтиграфии с I-MIBG, рассматривались в качестве кандидатов на консолидирующую терапию.

## 2.5 Характеристика пациентов, получивших ВДПХТ с алло-ТГСК

Алло-ТГСК выполнена 18 пациентам с первичной резистентностью (n=4) либо рецидивом заболевания (n=10), достигшим полного/хорошего частичного

ответа по данным КТ и сцинтиграфии с I-MIBG (n=16). В двух случаях алло-ТГСК выполнена у первично-резистентных пациентов со стабилизацией заболевания.

### **2.5.1 Обследование пациента и донора**

Перед выполнением алло-ТГСК все пациенты были обследованы. Выполнялся клинический и биохимический анализ крови, миелограмма / трепанобиопсия костного мозга, ультразвуковое исследование органов брюшной полости и почек, эхокардиографическое исследование сердца, проба Шварца, компьютерная томография органов грудной клетки и брюшной полости, сцинтиграфия с I-MIBG. В сыворотке реципиента и донора оценивалось количество копий ДНК цитомегаловируса, вируса Эпштейна-Барр, аденовируса методом ПЦР.

### **2.5.2 HLA-типирование, оценка совместимости по KIR**

Типирование генов HLA-системы осуществлялось методом полимеразной цепной реакции с сиквенс-специфическими праймерами (PSR-SSP) (наборы реагентов фирмы «Protrans» с низким разрешением, далее от среднего разрешения к высокому) с визуализацией продуктов путем электрофореза в горизонтальном 2% агарозном геле. Интерпретация результатов осуществлялась с помощью таблиц, прилагаемых к набору праймеров. В 15 случаях (83%) донор был гаплоидентичным (совместимость по 5 из 10 генам HLA-системы), в двух случаях (11%) донор был совместим по 7 из 10 генам HLA-системы, в одном случае донор (отец) был совместим по 10 из 10 генам HLA-системы. Донорами были отец пациента (n=8, 44%) или мать пациента (n=8, 44%). У двух пациентов донорами были другие родственники: гаплоидентичный по генам HLA-системы брат (n=1, 6%), гаплоидентичная по генам HLA-системы сестра отца пациента (n=1, 6%).

Для оценки совместимости по KIR-антигенам использовалась онлайн-программа IPD KIR Calculator (Release 2.7.1, 16 February 2018), позволяющая определить потенциальную совместимость по KIR-рецепторам в паре донор-реципиент на основании сопоставления данных HLA-типирования с информацией онлайн-базы данных. При наличии двух и более гаплоидентичных доноров (родственники первого порядка) и отсутствии у доноров противопоказаний к донорству ГСК предпочтение при выборе донора оказывалось донору с KIR-несовместимостью в направлении «трансплантат-против-хозяина» (graft versus host) (n=6, 33%).

### 2.5.3 Режимы кондиционирования

При подготовке к гапло-ТГСК использовались флударабин-содержащие немиелоаблативные режимы кондиционирования. У пациентов, у которых до этапа алло-ТГСК был получен полный ответ по данным КТ или сцинтиграфии с I-MIBG (n=10) использовался флударабин (суммарная доза 150 мг/м<sup>2</sup>) в виде пяти введений в дозе в день -6, -5, -4, -3, -2 (30 мг/м<sup>2</sup>/сут в/в за 1 час) и мелфалан (суммарная доза 140 мг/м<sup>2</sup>) за два введения в день -3, -2 (70 мг/м<sup>2</sup> в/в за 1 час). У пациентов без полного ответа по данным КТ и/или сохранением остаточных очагов накопления радиофармпрепарата по данным сцинтиграфии с I-MIBG (n=8) использовался более дозоинтенсивный режим кондиционирования, включающий в себя флударабин (суммарная доза 150 мг/м<sup>2</sup>) в виде пяти введений в дозе в день -6, -5, -4, -3, -2 (30 мг/м<sup>2</sup>/сут в/в за 1 час) и пероральный бусульфан (суммарная доза 12 мг/кг) в виде 4 приемов (разовая доза 1 мг/кг) в дни -5, -4, -3 (суточная доза 4 мг/кг) (таблица 7). Условием использования режима кондиционирования было отсутствие бусульфан-содержащей ВДПХТ в течение года до начала режима кондиционирования, нормальные показатели при исследовании функции внешнего дыхания (ФВД) и нормальные функциональные показатели печени при предтрансплантационном обследовании, отсутствие веноокклюзионной болезни печени в анамнезе.

Таблица 7- Режимы кондиционирования при алло-ТГСК

Препарат	Способ введения	Суточная доза	Суммарная доза	Число пациентов (%)
Флударабин	в/в	30 мг/м <sup>2</sup>	150 мг/м <sup>2</sup>	10 (56)
Мелфалан	в/в	140 мг/м <sup>2</sup>	140 мг/м <sup>2</sup>	
Флударабин	в/в	30 мг/м <sup>2</sup>	150 мг/м <sup>2</sup>	8 (44)
Бусульфан	per os	4 мг/кг	12 мг/кг	

#### 2.5.4 Источник ГСК

Источником трансплантата были праймированные ГСК костного мозга (n=14), ПСКК (n=1) или их комбинация (n=3). С целью праймирования все доноры костного мозга получали Г-КСФ (5 мкг/кг/сут в течение 3 дней). Процедуры подготовки к донорству ПСКК, афереза ПСКК и миелоэкфузии аналогичны описанным ранее процедурам, использовавшимся при заборе аутологичных ГСК. В ряде случаев трансплантат подвергался позитивной (CD34+, n=1) либо негативной (CD3-19-, n=7; TCRαβ, n=2) иммуномагнитной селекции с помощью аппарата CliniMACS (Miltenyi Biotec). При использовании профилактики РТПХ с введением посттрансплантационного циклофосфида модификация трансплантата не выполнялась. Инфузия комбинированного трансплантата (костный мозг и ПСКК) выполнялась в два этапа с промежутком в одни сутки. Медиана содержания CD34+ в трансплантате составила 10,1 (3,9-15,9), x 10<sup>6</sup>/кг, ядродержащих клеток 15,3 (8,3-55,6) x 10<sup>8</sup>/кг, CD3+ клеток 4,9 (0,005-13,3) x 10<sup>7</sup>/кг. Трансплантаты после иммуномагнитной селекции практически не отличались по содержанию CD34+ и клеточности (таблица 8).



Таблица 8 – Сравнительная характеристика манипулированных и неманипулированных трансплантатов.

Показатели	Селекция (n=10)	Без селекции (n=8)
Медиана CD34+, 10 <sup>6</sup> /кг	10,2 (3,9-30,4)	9,0 (6,5-13,5)
Медиана NC, 10 <sup>8</sup> /кг	15,3 (10,2-55,6)	13,5 (8,3-26,6)
Медиана CD3+, 10 <sup>7</sup> /кг	0,0095 (0,005- 6,9)	6,6 (4,9-13,3)

### 2.5.5 Профилактика РТПХ

Восьми пациентам, получившим немодифицированный трансплантат, проводилась профилактика реакции «трансплантат-против-хозяина» (РТПХ) на основе посттрансплантационного введения циклофосфида (50 мг/кг/сут в Д+3, +4). Все пациенты получали базисную иммуносупрессивную терапию циклоспорином А (ЦСА; n=6, 33%) с в начальной дозе 3 мг/кг/сут либо такролимусом в начальной 0,03 мг/кг/сут (n=12, 66%) с Д-1 у пациентов, не получавших посттрансплантационный циклофосфан, или с Д+5 у пациентов, получавших посттрансплантационный циклофосфан.

Одному пациенту дополнительно вводился антитимоцитарный глобулин (АТГАМ, Pharmacia & Upjohn Company, США) в суммарной дозе 60 мг/кг. Остальные пациенты дополнительно получали мофетила микофенолат (ММФ) 30 мг/кг/сут с Д+5 (n=5), сиролимус 1 мг/м<sup>2</sup>/сут с Д-3 (n=9) либо их комбинацию (n=4) (таблица 9).

Таблица 9 – Режим профилактики оРТПХ у пациентов, получивших модифицированный и немодифицированный трансплантат.

Препараты	Селекция (n=10)	Без селекции (n=8)
<u>Базисная иммуносупрессия</u>		
Циклоспорин А 3 мг/кг/сут	С Д -1 (n=6)	-
Такролимус 0,03 мг/кг/сут	С Д -1 (n=4)	С Д+5 (n=8)

## Продолжение таблицы 9

Препараты	Селекция (n=10)	Без селекции (n=8)
Циклофосфан (50 мг/кг/сут)	-	Д+3, +4 (n=8)
ММФ 30 мг/кг/сут	С Д+5 (n=5)	-
Сиролимус 1 мг/м <sup>2</sup> /сут	С Д-3 (n=2)	С Д-3 (n=8)
ММФ + Сиролимус	С Д+5 и Д-3 (n=4)Д-	-
АТГАМ (20 мг/кг/сут)	3, -2, -1 (n=1)	-

При отсутствии признаков оРТПХ отмена базисной иммуносупрессии начиналась с Д+60 с полной отменой к Д+90. Для оценки восстановления кроветворения так же, как и у реципиентов ауто-ТГСК, использовались описанные выше критерии EBMT. Для оценки тяжести острой РТПХ (первые симптомы до Д+100, степень от 0 до 4) использовались критерии Seattle. Хроническая РТПХ (новые симптомы после Д+100) рассматривалась как ограниченная или экстенсивная форма на основании динамики клинических проявлений. Плановое обследование после алло-ТГСК проводилось на Д+30, Д+60, Д+120 и включало в себя миелограмму и оценку донорского химеризма методом ПЦР STR. Эффект терапии оценивался в плановом порядке на Д+60 (КТ, УЗИ), Д+90 (сцинтиграфия с I-MIBG), далее плановое обследование выполнялось с промежутком в 3 месяца в сроки до одного года, 6 месяцев в сроки до 2 лет, далее раз в год. Дополнительно проводились функциональные тесты, эхокардиография.

## 2.6 Характеристика пациентов, получивших иммуно- и таргетную терапию

В группе больных, которым выполнялась алло-ТГСК, посттрансплантационная терапия проводилась у 9 из 18 пациентов (50%).

Учитывая отсутствие полной ремиссии на момент выполнения алло-ТГСК и крайне высокий риск рецидива шести пациентам проводилась инфузия лимфоцитов донора в эскалирующих дозах от  $1 \times 10^4$  –  $1 \times 10^6$  по CD3+ (n=3;

выполнено по 3-4 введения донорских лимфоцитов) либо инфузия донорских НК-клеток. В качестве донора лимфоцитов либо НК-клеток использовался тот же донор, что и при алло-ТГСК. После афереза фракции мононуклеаров периферической крови с помощью клеточного фракционатора с постоянным током крови COBE SPECTRA (Spectra LRS, COBE BCT Inc., Lakewood, CO, USA) полученный продукт подвергался позитивной иммуномагнитной селекции (CD16+56+) с помощью аппарата CliniMACS (Miltenyi Biotec). Трем пациентам выполнено от 2 до 4 инфузий концентрата НК-клеток в дозе от 1 до  $4,2 \times 10^6$ /кг CD16+56+. С целью *in vivo* экспансии НК клеток пациентам вводился препарат интерлейкина-2 в дозе 1 млн ЕД/м<sup>2</sup>/сут п/к (6 введений в Д-1, +1, +3, +5, +7 и +9 от введения НК-клеток). Один пациент с сохранением значительного объема опухоли после ее частичной регрессии на фоне алло-ТГСК получил два введения специфических антител (anti-GD2, dinutuximab beta) с последующей терапией ингибиторами иммунных контрольных точек (anti-PD1, 12 введений ниволумаба). Одному пациенту, у которого была выявлена амплификация гена ALK в опухолевых клетках с экспрессией ALK в ткани опухоли по данным иммуногистохимического исследования проводилась терапия ингибитором ALK (кризотиниб). Дополнительно, монотерапия кризотинибом проводилась у пациента со вторым рецидивом нейробластомы. Четырём пациентам с признаками прогрессирования заболевания проводилась комбинированная химио- и таргетная терапия по схеме RIST (от 2 до 5 курсов). Кроме того, один пациент со значительным объемом опухоли и получил терапию ингибиторами иммунных контрольных точек (12 введений ниволумаба с лимфодеплецией) после ауто-ТГСК. Двум пациентам с резистентным рецидивом выполнено 2 и 4 введения ниволумаба одновременно с комбинированной химио- и таргетной терапией (иринотекан, темозоломид, дазатиниб). Двум пациентам (первично-резистентная опухоль с отсутствием ответа на терапию второй и третьей линии, второй рецидив) проводится терапия кризотинибом.

## 2.7 Методы статистической обработки

При анализе полученных данных использовались параметрические и непараметрические статистические методы. При обработке результатов использовались стандартные пакеты статистических программ Statistica 10.0, GraphPad Prism 6.01. Результаты ТГСК обрабатывались согласно общепринятым правилам и международным рекомендациям по представлению результатов ТГСК [87, 88]. Анализ выживаемости осуществлялся методом Каплан-Майер, при определении статистической достоверности различий использовался лог-ранк тест. При анализе общей и безрецидивной выживаемости в качестве точки отсчета принимался момент выполнения ТГСК. В качестве конечной точки принимался момент диагностирования рецидива либо смерти пациента, цензурирование событий производилось при достижении предела срока наблюдения. Учитывая крайне неблагоприятный прогноз пациентов с первичной резистентностью и рецидивом заболевания, в качестве основного критерия эффективности использовалась оценка медианы бессобытийной выживаемости с момента начала терапии до смерти пациента либо диагностики рецидива/прогрессирования заболевания. При сравнении параметрических событий использовались Т-критерий Стьюдента и парный Т-тест для зависимых и независимых групп, для непараметрических событий использовался U-тест Манна-Уитни. Различия считались статистически достоверными при значениях  $p \leq 0,05$  [2]. При оценке конкурирующих рисков применялась программа «R» (EZR version 1.37, April 1 2018), рекомендованная к использованию ЕВМТ. При анализе выраженности и частоты встречаемости использовались методы описательной статистики: вычисление медианы и среднего арифметического, стандартного отклонения, частоты и процентных отношений встречаемости. Для построения графиков и диаграмм использован табличный процессор Microsoft Excel.

## ГЛАВА 3

### РЕЗУЛЬТАТЫ

В качестве основных показателей, характеризующих эффективность ВДПХТ с ауто-ТГСК, использованы двухлетняя общая и безрецидивная выживаемость, а также оценка трансплантационной токсичности по критериям CTCAE 4.0. В качестве основного критерия эффективности терапии у пациентов, получавших химиотерапию второй линии и комбинированную химио- и таргетную терапию использована медиана бессобытийной выживаемости. При оценке медианы бессобытийной выживаемости оценивался интервал между началом терапии и смертью пациента либо выявлением рецидива/прогрессирования заболевания.

#### 3.1 Эффективность ВДПХТ с ауто-ТГСК у пациентов с нейробластомой группы высокого риска

Медиана наблюдения в группе пациентов рассчитывалась по методу, приложенному M Schemper и соавт, и соответствует 24 (1-125) месяцам. Двухлетняя ОБ и БРВ всех пациентов (n=72), включенных в исследование, составили 61% и 41%, соответственно (рисунок 7).

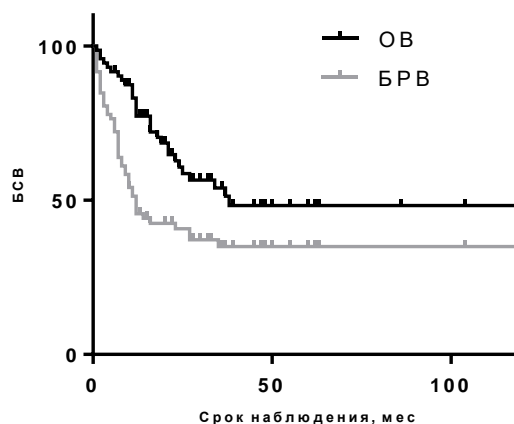


Рисунок 7 – Общая (ОБ) и безрецидивная (БРВ) выживаемость пациентов с нейробластомой, которым выполнялась ВДПХТ с ауто-ТГСК.

Согласно полученным данным, пятилетняя ОВ и БРВ составляют 48% и 35%, соответственно.

При сравнении выживаемости в зависимости от возраста на момент постановки диагноза продемонстрированы статистически значимые различия в группах пациентов старше и младше 18 мес. Двухлетняя ОВ в группах пациентов младше 18 месяцев и старше 18 месяцев на момент диагноза составили 85% и 61% ( $p=0,02$ ), соответственно (рисунок 8А). Двухлетняя безрецидивная выживаемость в этих группах составляет 51% и 33% ( $p<0,01$ ) (рисунок 8Б).

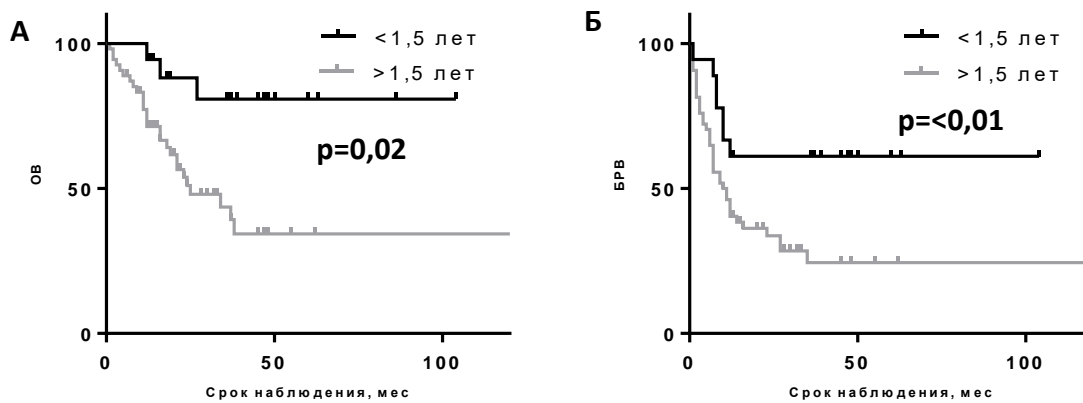


Рисунок 8 – Общая (А) и безрецидивная (Б) выживаемость пациентов в зависимости от возраста на момент постановки диагноза (менее или более 18 месяцев).

Выявлена статистически достоверная разница ( $p=0,05$ ) в безрецидивной выживаемости в группе первичных пациентов (без рецидива в анамнезе на момент выполнения ауто-ТГСК;  $n=61$ ) в зависимости выявления поражения костного мозга на момент постановки диагноза (рисунок 9).

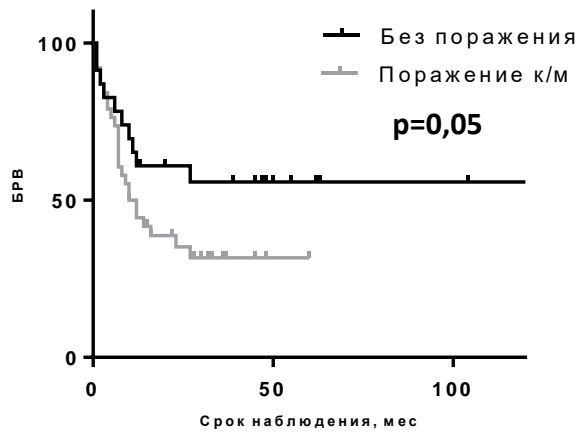


Рисунок 9 – BRB в группе первичных пациентов (n=61) в зависимости от исходного поражения костного мозга.

В общей группе пациентов (n=72) сохраняло значимость сочетанное метастатическое поражение костей и костного мозга (рисунок 10).

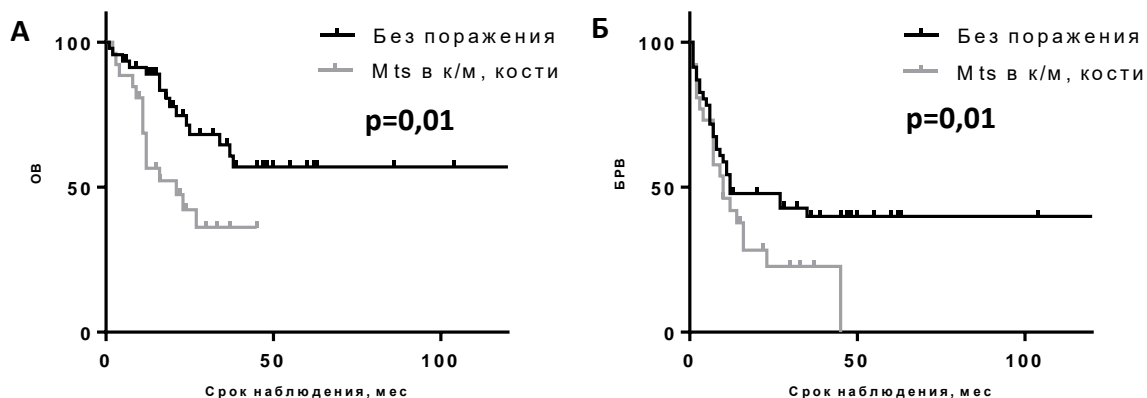


Рисунок 10. Общая (А) и безрецидивная (Б) выживаемость пациентов в зависимости от выявления сочетанного поражения костей и костного мозга.

Выявлена статистически достоверно худшая безрецидивная выживаемость (p=0,04) пациентов с высоким (более 100 нг/мл) сывороточным уровнем нейронспецифической энолазы (NSE) (рисунок 11).

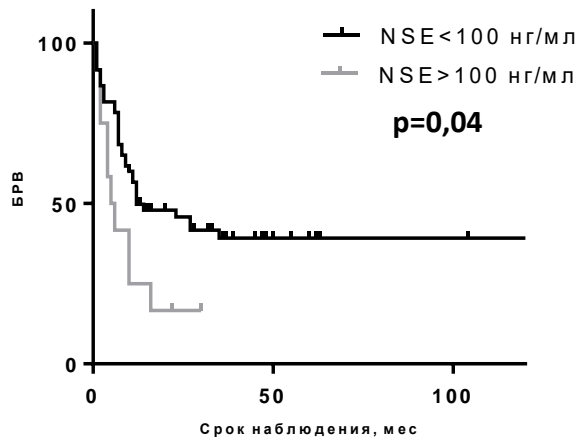


Рисунок 11. БРВ в зависимости от уровня NSE на момент диагноза.

Одним из наиболее значимых прогностических факторов было выявление первичной химиорезистентности заболевания (рисунок 12).

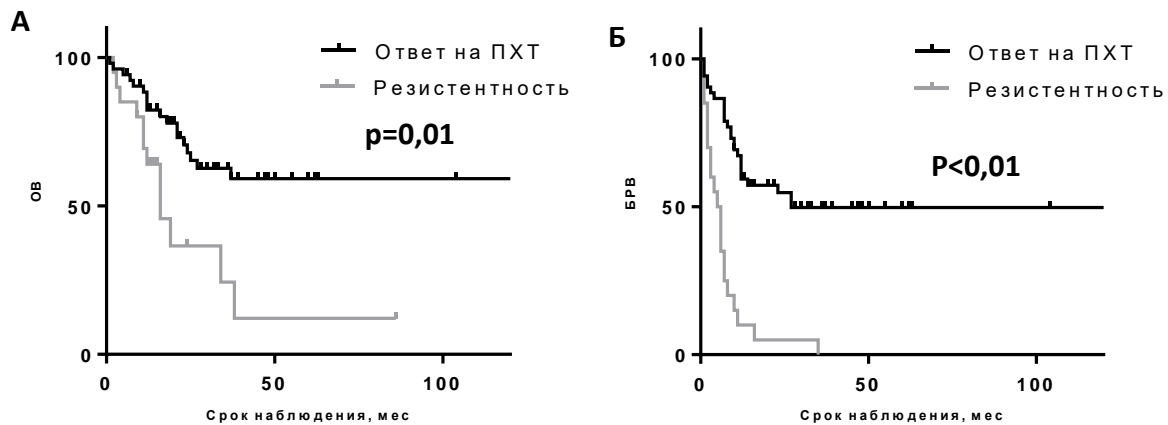


Рисунок 12. Общая (А) и безрецидивная (Б) выживаемость пациентов в зависимости от ответа на индукционную ПХТ.

Факт первичной резистентности сохранял отрицательное прогностическое значение вне зависимости от полноты ответа, достигнутого на фоне терапии второй и третьей линии (рисунок 13).



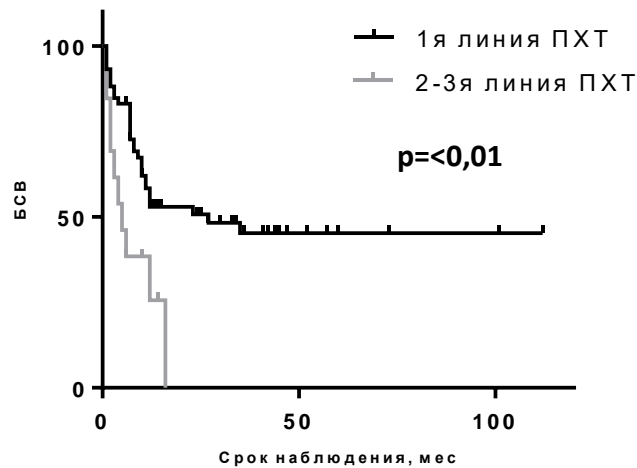


Рисунок 13. Безрецидивная выживаемость пациентов, достигших до этапа ВДПХТ с ауто-ТГСК полного или частичного ответа на первой либо второй и последующих линиях терапии.

Помимо критериев RECIST, значительную прогностическую роль играл факт персистирования очагов гиперфиксации радиофармпрепарата по данным скинтиграфии с I-MIBG до этапа выполнения ВДПХТ с ауто-ТГСК (рисунок 14) и в посттрансплантационном периоде (рисунок 15).

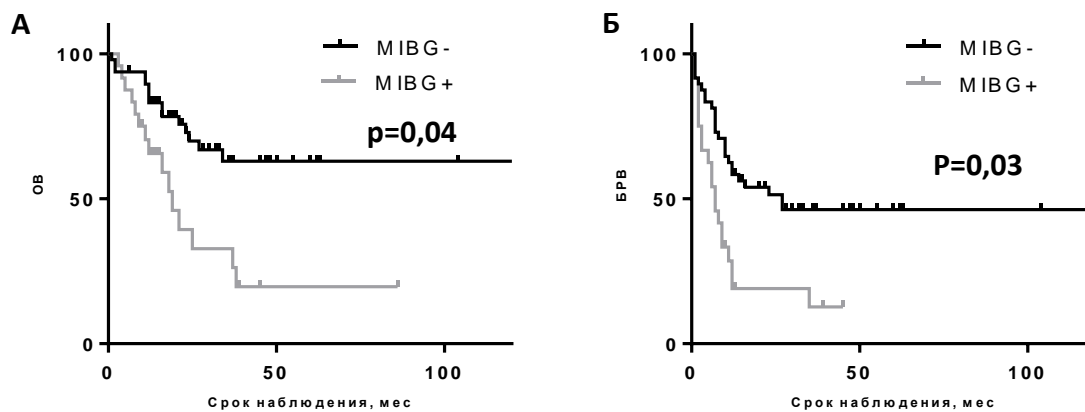


Рисунок 14. Общая (А) и безрецидивная (Б) выживаемость в зависимости от персистирования очагов гиперфиксации MIBG перед ВДПХТ с ауто-ТГСК.

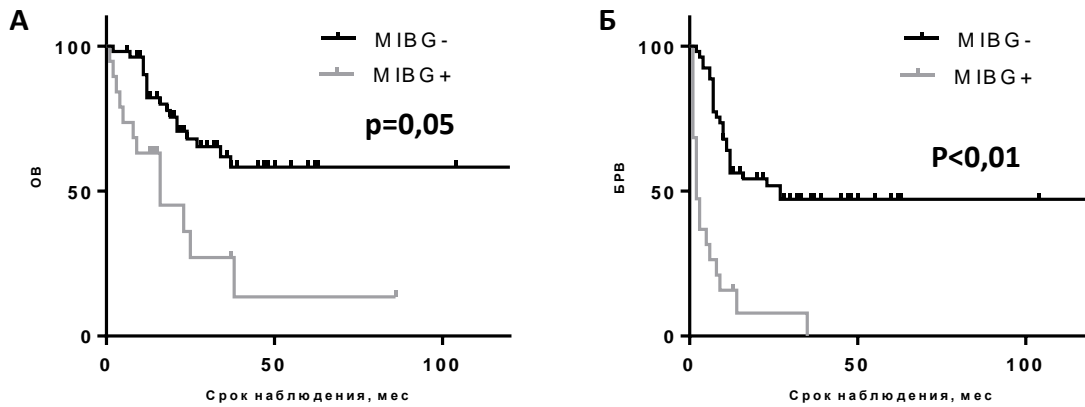


Рисунок 15. Общая (А) и безрецидивная (Б) выживаемость в зависимости от сохранения метаболически активных очагов поражения на посттрансплантационном этапе.

Все пациенты с поздним химиочувствительным рецидивом, получившие повторную ВДПХТ с ауто-ТГСК, развили второй рецидив и умерли от прогрессирования заболевания (рисунок 16).

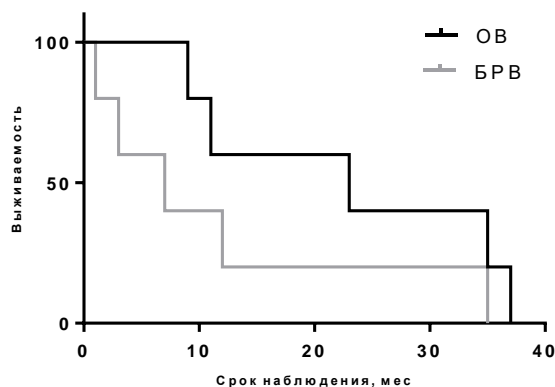


Рисунок 16. Общая (ОВ) и безрецидивная (БРВ) выживаемость пациентов с поздним химиочувствительным рецидивом, получивших повторную ВДПХТ с ауто-ТГСК.

При выполнении ВДПХТ по схеме 5D/5D у всех трех пациентов достигнута лишь кратковременная (2-5 месяцев) стабилизация, в дальнейшем все три пациента умерли в результате прогрессирования заболевания.

При оценке кумулятивной частоты рецидивов с использованием методов конкурирующих рисков данные факторы сохраняли свое прогностическое значение (рисунок 17А-11Е).

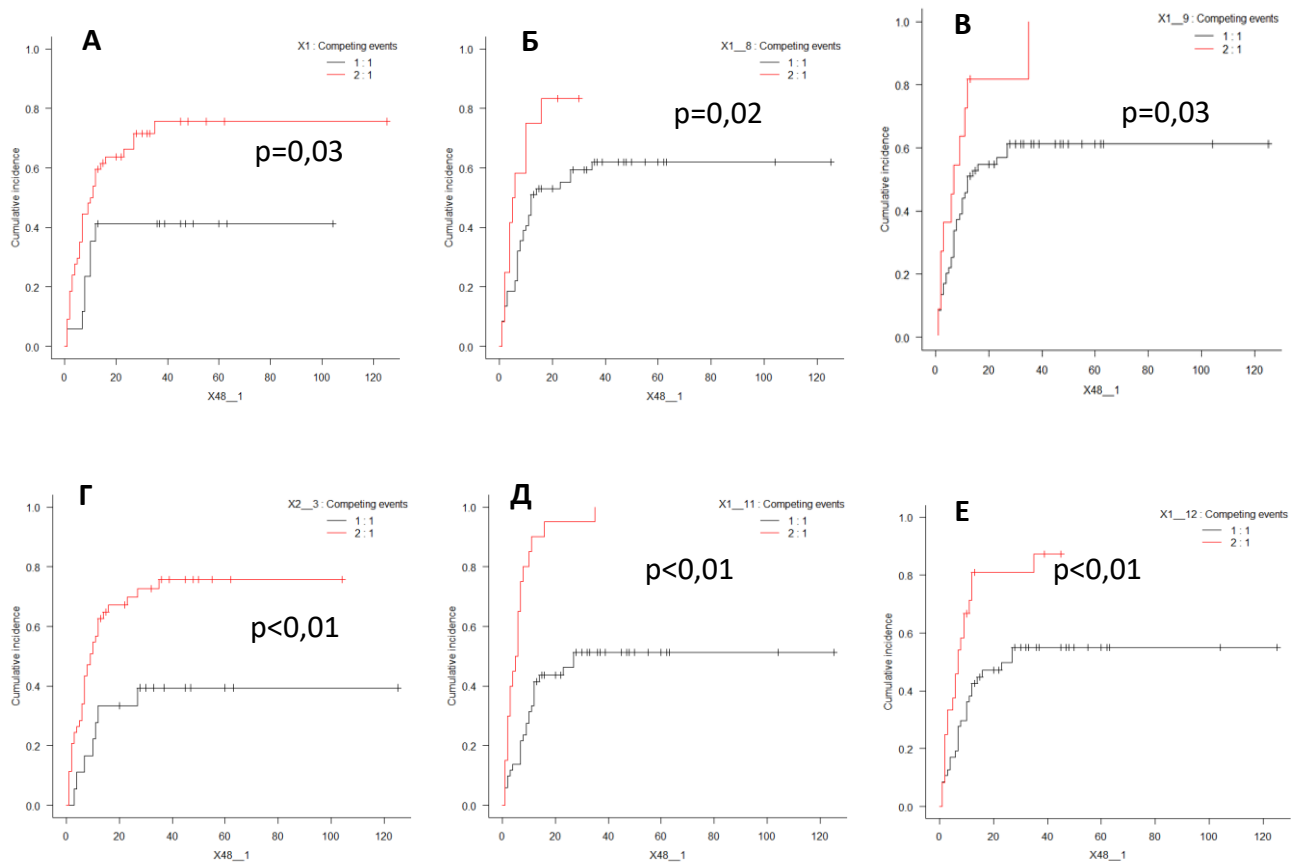


Рисунок 17 – Кумулятивный риск рецидива в зависимости от возраста на момент заболевания (А), сывороточного уровня NSE на момент диагноза (Б), выявления рецидива до этапа ауто-ТГСК (В), полноты ответа по критериям RECIST (Г), выявления первичной резистентности (Д), ответа по данным скинтиграфии с I-MIBG (Е).

При однофакторном анализе факторов, влияющих на выживаемость пациентов, получивших ВДПХТ с ауто-ТГСК, методом регрессии Кокса выявлено статистически достоверное влияние возраста пациентов на общую (HR 4,65; 95% CI 1,400-4,645; p=0,01) и безрецидивную выживаемость (HR 2,56; 95% CI 1,136-5,575; p=0,02). Также на общую выживаемость влияет выявление сочетанного метастатического поражения костей и костного мозга (HR 2,48; 95% CI 1,194-

5,143;  $p=0,01$ ). Уровень NSE в дебюте заболевания сохраняет влияние на общую (HR 2,33; 95% CI 0,976-5,576;  $p=0,051$ ) и безрецидивную выживаемость (HR 2,20; 95% CI 1,080-4,597;  $p=0,02$ ). На общую и безрецидивную выживаемость отрицательно влияют ранее диагностированный рецидив заболевания (HR 2,24; 95% CI 0,993-5,104;  $p=0,05$  для ОБ и HR 2,30; 95% CI 1,129-4,678;  $p=0,02$  для БРВ), выявление первичной резистентности (HR 2,87; 95% CI 1,357-6,064;  $p<0,01$  для ОБ и HR 4,95; 95% CI 2,658-9,225;  $p<0,01$  для БРВ), сохранение остаточных очагов гиперфиксации МИБГ до (HR 2,91; 95% CI 1,416-6,005;  $p<0,01$  для ОБ и HR 2,55; 95% CI 1,398-4,642;  $p<0,01$  для БРВ) и после (HR 3,05; 95% CI 1,454-6,376;  $p<0,01$  для ОБ и HR 5,12; 95% CI 2,750-9,531;  $p<0,01$  для БРВ) ауто-ТГСК. Дополнительно выявлено влияние на общую выживаемость выявления перед ауто-ТГСК в костном мозге субпопуляции клеток с характерным для опухоли иммунофенотипом вне зависимости от размера субпопуляции (HR 2,38; 95% CI 1,113-5,085;  $p=0,02$ ). Данные однофакторного анализа методом регрессии Кокса представлены в таблицах 10 и 11.

Таблица 11 – Влияние различных факторов на БРВ пациентов с нейробластомой, получивших ВДПХТ с ауто-ТГСК.

<b>Фактор</b>	<b>HR</b>	<b>95% CI</b>	<b>p</b>
Возраст более 1,5 лет	4,65	1,400-4,645	0,01
Поражение костей и к/м	2,48	1,194-5,143	0,01
NSE>100 в дебюте заболевания	2,33	0,976-5,576	0,05
Рецидив заболевания	2,24	0,993-5,104	0,05
Первичная резистентность	2,87	1,357-6,064	<0,01
МИБГ-статус перед ауто-ТГСК	2,91	1,416-6,005	<0,01
МИБГ-статус после ауто-ТГСК	3,05	1,454-6,376	<0,01
Остаточное поражение к/м (ИФТ)	2,38	1,113- 5,085	0,02

Таблица 10 – Влияние различных факторов на ОВ пациентов с нейробластомой, получивших ВДПХТ с ауто-ТГСК.

<b>Фактор</b>	<b>HR</b>	<b>95% CI</b>	<b>p</b>
Возраст более 1,5 лет	2,56	1,136-5,575	0,02
Поражение костного мозга	1,60	0,866-2,654	0,05
Уровень NSE в дебюте заболевания	2,20	0,038-0,715	0,02
Рецидив заболевания	2,30	1,129-4,678	0,02
Первичная резистентность	4,95	2,658-9,225	<0,01
MIBG-статус перед ауто-ТГСК	2,55	1,398-4,642	0,02
MIBG-статус после ауто-ТГСК	5,12	2,750-9,531	<0,01

При многофакторном анализе статистически достоверное влияние на общую выживаемость сохраняет ответ по данным скинтиграфии с I-MIBG перед ауто-ТГСК (HR 2,52; 95% CI 1,009-6,328; p=0,05) и выявление амплификации MYCN (HR 2,95; 95% CI 1,262-6,914; p=0,05). На безрецидивную выживаемость влияют возраст менее 1,5 лет на момент заболевания (HR 4,35; 95% CI 2,028-7,355; p<0,01), ответ по данным скинтиграфии с I-MIBG после ауто-ТГСК (HR 3,31; 95% CI 1,383-7,938; p<0,01) и выявление первичной резистентности (HR 2,91; 95% CI 1,228-6,892; p=0,01).

### **3.2 Восстановление кроветворения после ВДПХТ с ауто-ТГСК**

У всех пациентов кроме одного (смерть от осложнений терапии до восстановления; 1/72, 1%) зафиксировано восстановление кроветворения. Медиана значения дня приживления составила 17 (11-51) дней. В группе пациентов, которым была выполнена реинфузия аутологичного костного мозга (n=59), медиана значения дней с момента ауто-ТГСК до приживления составила 19 (11-51), а для пациентов, у которых выполнялся аферез СКПК (n=12), 15 (11-34) дней. Сроки приживления не зависели от количества CD34+ клеток в

трансплантате, но различались в зависимости от содержания в трансплантате мононуклеаров (NC). При значениях  $NC \leq 2 \times 10^7/\text{кг}$  (n=19) медиана дня приживления составила 21 (11-51) день, при значениях  $2-4 \times 10^7/\text{кг}$  (n=28) 18 (12-32) дней, при значениях более  $4 \times 10^7/\text{кг}$  (n=24) 15 (11-46) дней. При многофакторном анализе методом регрессии Кокса выявлено влияние на сроки приживления источника трансплантата (HR 2,84; 95% CI 0,301-1,785;  $p < 0,01$ ). При использовании регрессионной модели с конкурирующими рисками факторами, ассоциированными с более ранними сроками приживления были использование СКПК ( $p < 0,01$ ), значения  $NC > 2 \times 10^7/\text{кг}$  ( $p = 0,01$ ).

### **3.3 Токсические осложнения и причины смерти пациентов, получивших ВДПХТ с ауто-ТГСК**

Без учета гематологической токсичности терапии было получено следующее распределение токсических эффектов по степени тяжести: 65 эпизодов токсичности первой степени, 98 эпизодов токсичности второй степени, 48 эпизодов токсичности третьей степени, 9 эпизодов токсичности четвертой степени. В большинстве случаев у одного пациента выявлялось несколько эпизодов с поражением различных органов и систем. С учетом максимальной степени токсичности получено следующее распределение: токсичность первой степени у 15%, второй степени у 44%, третьей степени у 35% и четвертой степени у 6% пациентов (рисунок 18).

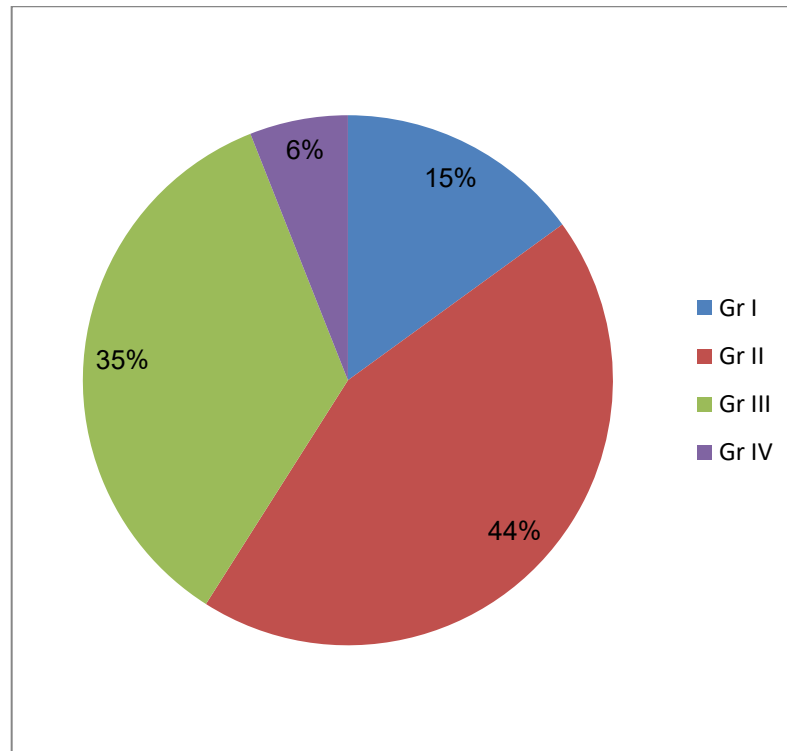


Рисунок 18 – Распределение по степени токсичности (с учетом максимальной степени).

У 70/72 (97%) пациентов развилась гематологическая токсичность IV степени на фоне проведения ВДПХТ. У 55/72 (76%) пациентов наблюдалась тошнота I степени, в большинстве случаев купированная за счет изменения схемы терапии антиэметиками. В пострасплатационном периоде преобладали инфекционные осложнения в виде фебрильной нейтропении (n=57, 79%), сепсиса (n=4, 6%), септического шока (n=2, 3%), инвазивного аспергиллеза легких (n=2, 3%). У 42 (58%) пациентов развился оральный мукозит II и у 7 пациентов (10%) III степени. Печеночная токсичность в виде повышения уровня билирубина и трансаминаз зафиксирована у 34 (II степени у 28, 39%; III степени у 6, 8%) пациентов. У двух (3%) пациентов выявлено развитие веноокклюзионной болезни печени I-II степени. У 4 (6%) пациентов выявлена почечная токсичность в виде повышения сывороточного уровня креатинина и снижения клиренса креатинина. Диарея II степени наблюдалась у 20 (28%) пациентов. У одного пациента развился геморрагический инсульт в раннем пострасплатационном периоде (Д+22). Распределение токсичности по органам и системам представлено на рисунке 19.

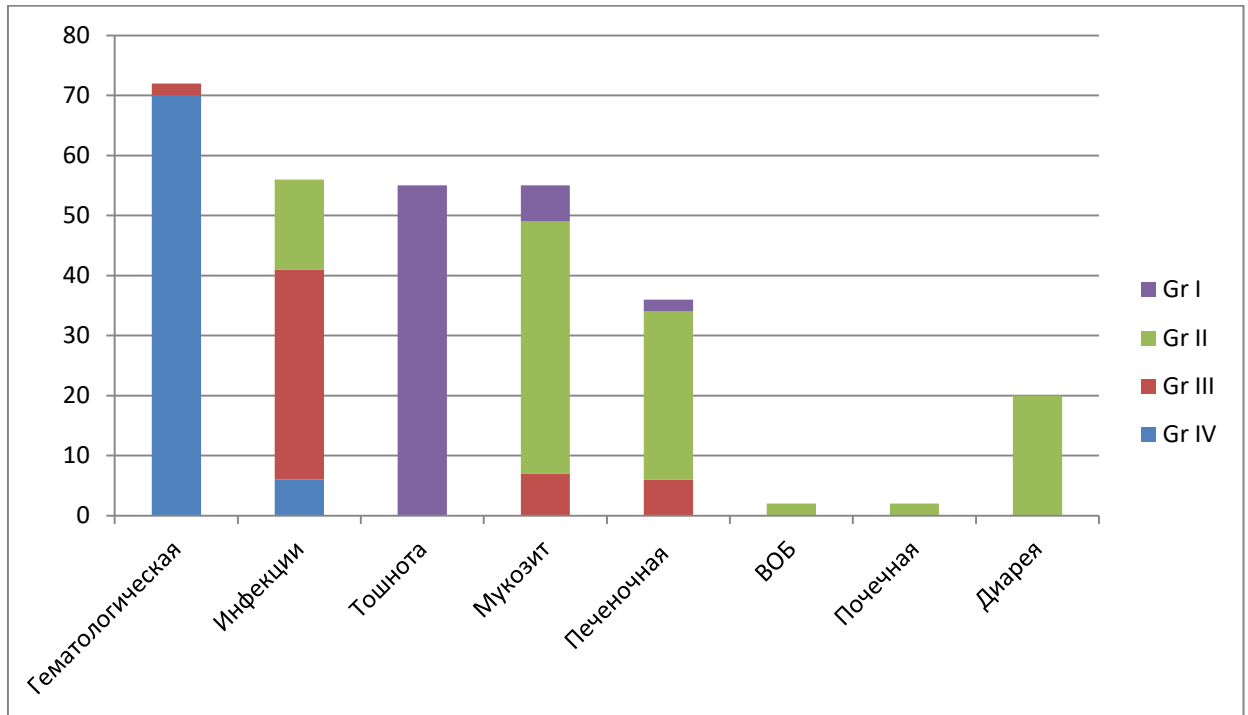


Рисунок 19 – Распределение токсичности по органам и системам.

За период наблюдения умерло 29 (40%) пациентов. Основной причиной смерти был рецидив и прогрессирование заболевания (n=25, 35%). Все рецидивы развивались в области первично выявленных очагов поражения. Один пациент умер в результате развития инфекционных осложнений. В одном случае причиной смерти стал геморрагический инсульт. У одного пациента развилась комбинированная вирусная и бактериальная инфекция на Д +68 от проведения ТГСК. У одного пациента развился рефрактерный к терапии острый миелобластный лейкоз через 18 месяцев после выполнения ауто-ТГСК. Таким образом, кумулятивный риск рецидива за двухлетний период составил 57% (95%CI 0,445-0,680), а кумулятивный риск смерти от других причин 4% (95%CI 0,011-0,114) (рисунок 20).



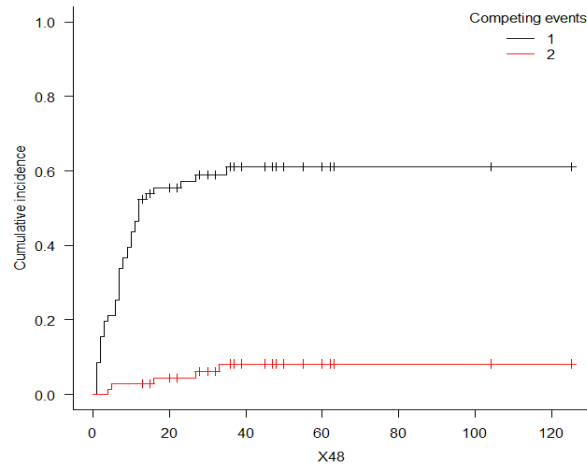


Рисунок 20 – Кумулятивный риск смерти от рецидива и смерти от других причин.

### 3.4 Эффективность терапии второй линии и комбинированной химио- и таргетной терапии у пациентов с первичной резистентностью и рецидивом нейробластомы

Медиана бессобытийной выживаемости (БСВ) у пациентов, получавших терапию второй линии, составила 2,5 (1-11) месяца. Клинический эффект (ответ либо стабилизация заболевания) наблюдался у 12/20 (60%) пациентов. У одного пациента (5%) выявлен полный ответ по данным сцинтиграфии с I-MIBG с сохранением остаточной опухоли по КТ, у трех пациентов (15%) частичный ответ, в 8 случаях (40%) наблюдалась стабилизация заболевания.

Медиана бессобытийной выживаемости в группе пациентов, получавших комбинированную химио- и таргетную терапию (RIST), составила 8 (1-76) месяцев. Клинический эффект наблюдался у 49/58 (85%) пациентов. Полный ответ по данным сцинтиграфии с I-MIBG у зафиксирован у 8/58 (14%), по данным КТ и сцинтиграфии с I-MIBG только у 4/58 (7%) пациентов. Хороший частичный ответ по данным КТ/сцинтиграфии с I-MIBG зафиксирован у 18/58 (31%) пациентов, стабилизация у 24/58 (40%) пациентов.

Таблица 12 – Бессобытийная выживаемость и ответ на лечение у пациентов, получавших терапию второй линии и комбинированную химио- и таргетную терапию.

Режим	Медиана БСВ, мес	Клинический эффект, %	Полный ответ, %	Частичный ответ, %	Стабилизация, %
2я линия	2,5 (1-11)	60	5	15	40
R1ST	8 (1-76)	85	14	31	40

При сравнении бессобытийной (рисунок 21А) и общей (рисунок 21Б) выживаемости пациентов, получавших терапию второй линии и комбинированную химио- и таргетную терапию выявлены статистически достоверные различия в бессобытийной выживаемости.

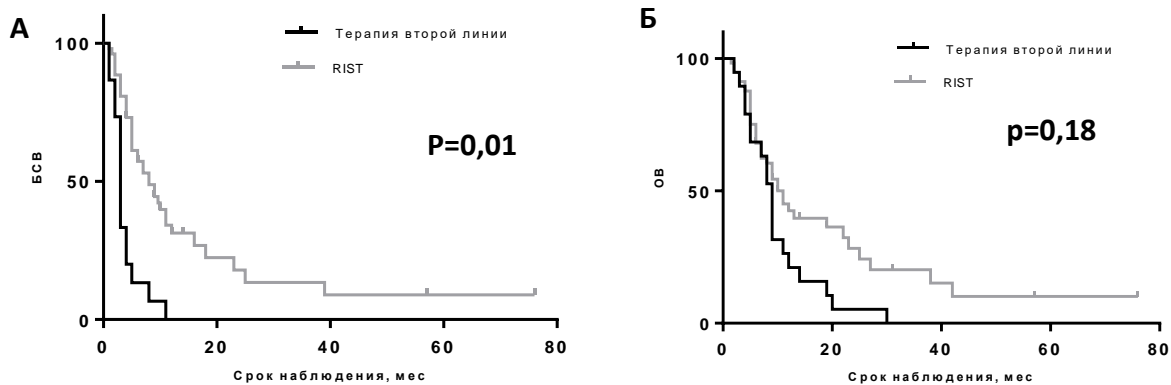


Рисунок 21 – Бессобытийная (А) и общая (Б) выживаемость пациентов, получавших терапию второй линии и комбинированную химио- и таргетную терапию.

У 7 (35%) пациентов, получавших терапию второй линии, и у 11 (19%) пациентов, получавших комбинированную химио- и таргетную терапию развилась гематологическая токсичность 3-4 степени с необходимостью заместительных гемотрансфузий. Кроме того, у 6 (10%) пациентов, получавших комбинированную химио- и таргетную терапию зафиксировано развитие диареи 2-3 степени на фоне введения иринотекана.

При анализе факторов, влияющих на эффективность комбинированной химио- и таргетной терапии, выявлена зависимость длительности ответа от статуса пациента на момент начала терапии. Медиана БСВ пациентов, у которых не получен клинический эффект от терапии второй линии составила 4 месяца. У пациентов, у которых зафиксирована стабилизация на фоне предшествующей терапии медиана БСВ составила 8 месяцев (рисунок 22).

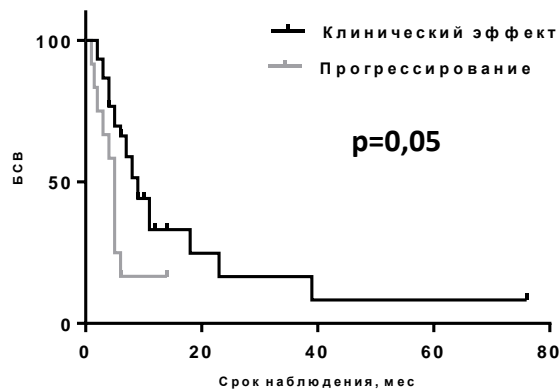


Рисунок 22 – БСВ в зависимости от ответа на терапию второй линии.

Сравнительно неблагоприятным прогнозом характеризуется группа пациентов с ранним рецидивом заболевания (рисунок 23) и поражением костного мозга (рисунок 24).

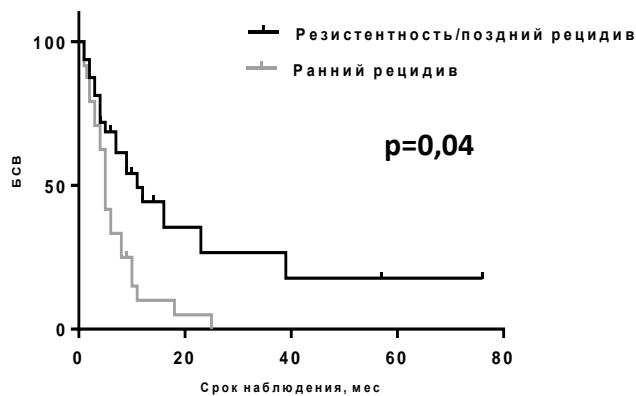


Рисунок 23 – БСВ у пациентов с ранним рецидивом заболевания

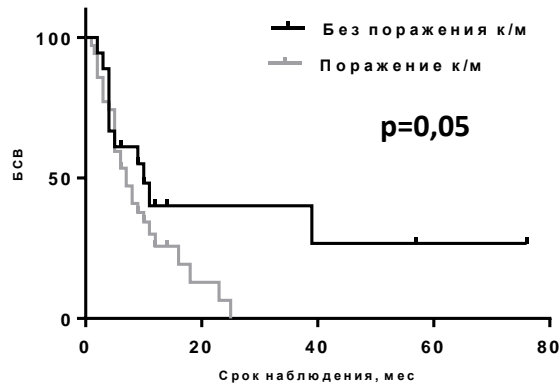


Рисунок 24 – БСВ пациентов, получавших комбинированную химио- и таргетную терапию в зависимости от поражения костного мозга.

При отдельном анализе группы пациентов с рецидивом заболевания, получавших комбинированную химио- и таргетную терапию меньшая медиана БСВ (7 месяцев) наблюдалась у пациентов ранним рецидивом заболевания по сравнению с пациентами с поздним рецидивом (14 месяцев; рисунок 25).

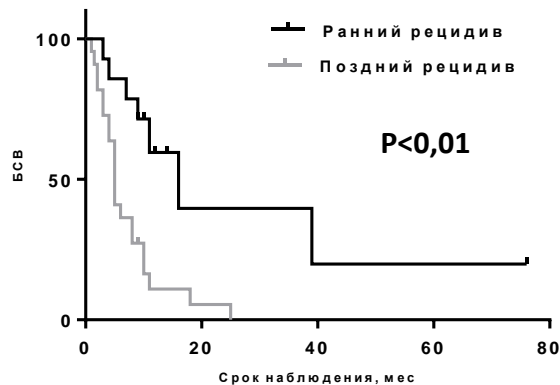


Рисунок 25 – БСВ пациентов с рецидивом заболевания в зависимости от сроков рецидива.

Кроме того, худшим прогнозом характеризовалась группа пациентов с рецидивом после ВДПХТ с ауто-ТГСК (рисунок 26).

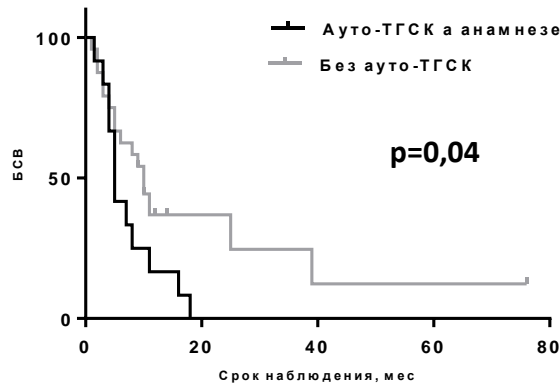


Рисунок 26 – БСВ пациентов с рецидивом заболевания после ВДПХТ с ауто-ТГСК.

В группе пациентов с первичной резистентностью ( $n=22$ ) медиана БСВ была больше у пациентов, у которых наблюдался клинический эффект предыдущих линий терапии (рисунок 27).

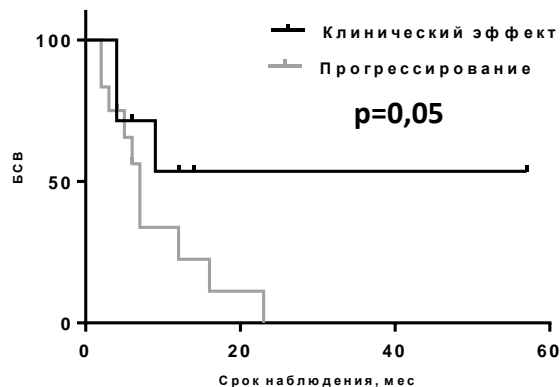


Рисунок 27 – БСВ пациентов с первичной резистентностью в зависимости от клинического эффекта предшествующей терапии.

Кроме того, относительно неблагоприятным прогнозом характеризовались группы пациентов с поражением костного мозга (рисунок 28) и амплификацией MYCN (рисунок 29).

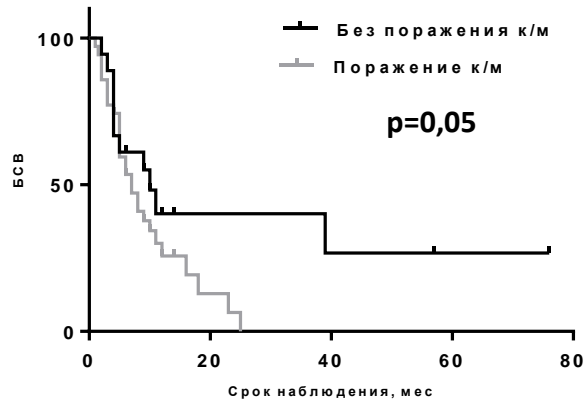


Рисунок 28 – БСВ пациентов с первичной резистентностью в зависимости от поражения костного мозга.

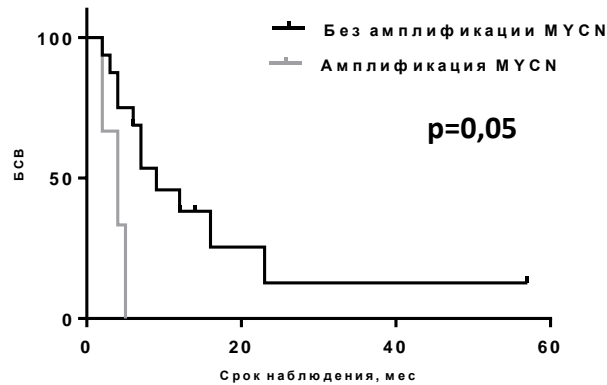


Рисунок 29 – БСВ пациентов с первичной резистентностью в зависимости от выявления амплификации MYCN.

При однофакторном анализе факторов, влияющих на выживаемость пациентов, получивших комбинированную химио- и таргетную терапию, методом регрессии Кокса выявлено статистически достоверное влияние возраста пациентов на длительность бессобытийной выживаемости клинического эффекта предыдущих линий терапии (HR 2,04; 95% CI 1,059-3,927;  $p=0,03$ ), поражения костного мозга (HR 1,99; 95% CI 0,967-4,107;  $p=0,05$ ) и сроков развития рецидива (HR 2,42; 95% CI 1,296-4,573;  $p<0,01$ ). Для группы пациентов с рецидивом заболевания статистически значимыми был срок развития рецидива (HR 3,14; 95% CI 0,098-1,045;  $p=0,02$ ) и отсутствие прогрессирования на терапии второй линии (HR 2,21; 95% CI 0,062-2,731;  $p=0,02$ ). Для пациентов с первичной

резистентностью заболевания статистически значимым был клинический эффект предыдущих линий терапии (HR 3,23; 95% CI 0,028-1,146; p=0,03). Данные однофакторного анализа методом регрессии Кокса представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Влияние различных факторов на БСВ пациентов с нейробластомой, получивших комбинированную химио- и таргетную терапию.

Фактор	HR	95% CI	p
<b>Общая группа</b>			
Клинический эффект терапии	2,04	1,059-3,927	0,03
Поражение костного мозга	1,99	0,967-4,107	0,05
Срок развития рецидива	2,42	1,296-4,537	<0,01
<b>Рецидив заболевания</b>			
Клинический эффект терапии	2,21	0,062-2,731	0,02
Срок развития рецидива	3,14	0,098-1,045	0,01
<b>Первичная резистентность</b>			
Клинический эффект терапии	3,23	0,028-1,146	0,03

При многофакторном анализе в общей группе пациентов сохраняет статистическую достоверность клинический ответ на предыдущие линии терапии (HR 2,36; 95% CI 0,853-8,838; p=0,05). Тот же фактор сохраняет влияние в группе пациентов с рецидивом (HR 3,76; 95% CI 1,499-9,460; p<0,01).

### 3.5 Эффективность ВДПХТ с алло-ТГСК у пациентов с нейробластомой

Двухлетняя общая и бессобытийная выживаемость в группе пациентов, получивших ВДПХТ с алло-ТГСК составили 42% и 19%, соответственно с медианой БСВ в 7 (1-64) месяцев (рисунок 30). Не выявлено статистически достоверной зависимости длительности БСВ от статуса на момент алло-ТГСК. Также не выявлено зависимости между исходом алло-ТГСК и KIR-совместимостью в паре донор-реципиент.

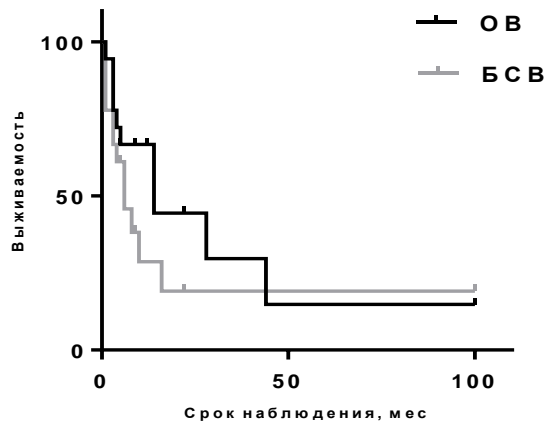


Рисунок 30 – Общая (ОВ) и бессобытийная (БСВ) выживаемость пациентов, получивших ВДПХТ с алло-ТГСК.

Медиана приживления трансплантата в общей группе составила Д+18(8-40). В группе пациентов, получавших посттрансплантационный циклофосфан, медиана дня приживления была больше (Д23; диапазон 14-40), чем в группе пациентов, получивших трансплантат после обработки с помощью CLiniMACS без введения посттрансплантационного циклофосфана (Д17; диапазон 8-23). У одного пациента, получившего алло-ТГСК после выполнения иммуномагнитной деплеции (TCR $\alpha\beta$  деплеция) приживление не зафиксировано и на Д+83 после алло-ТГСК пациент умер в результате инфекционных осложнений. У всех пациентов, у которых достигнуто приживление, зафиксирован полный донорский химеризм. В группе пациентов, получивших алло-ТГСК с модификацией трансплантата у 4 пациентов зафиксирована оРТПХ 1-2 степени с ответом на глюкокортикостероиды, еще у четырех пациентов диагностирована оРТПХ 3-4 степени с ответом на терапию терапия 2-4 линии. В группе пациентов, получавших алло-ТГСК с посттрансплантационным введением циклофосфана оРТПХ 1-2 степени развилась только у двух пациентов. Ни один из эпизодов оРТПХ не привел к смерти пациента. У одного пациента, получившего алло-ТГСК с посттрансплантационным введением циклофосфана диагностирована ограниченная форма хронической РТПХ. Кроме того, у одного пациента развилась почечная токсичность ингибиторов кальциневрина. В группе



пациентов, получавших посттрансплантационный циклофосфан, в трех случаях развился геморрагический цистит, в одном случае тромботическая микроангиопатия, в одном случае веноокклюзионная болезнь печени II степени. Характеристика осложнений в двух группах представлена в таблице 14.

Таблица 14 – Число осложнений в группах пациентов, получивших алло-ТГСК после модификации трансплантата и без модификации с введением посттрансплантационного циклофосфана.

Вид осложнений	Селекция	Циклофосфан
oРТПХ	8	2
1-2	4	2
3-4	4	0
xРТПХ	0	1
Гем.цистит	0	3
Инфекционные осложнения 3-4	6	4
Почечная токсичность	1	0
ТМА	0	1
ВОБ	0	1

У шести (30%) пациентов зафиксирован полный ответ по данным скинтиграфии с I-MIBG, у семи (39%) частичный ответ, у двух (11%) кратковременная стабилизация. Медиана длительности ответа составила 4 (2-64) месяца. В настоящий момент живы 8 из 18 пациентов, ответ сохраняется у 6 из 18 при медиане срока наблюдения в 6 (4-64) месяцев. Все пациенты со сроком ответа более 6 месяцев получали посттрансплантационную терапию: инфузии НК-клеток (n=2), введение специфических антител и ингибиторов иммунных контрольных точек (n=1). В большинстве случаев причиной смерти стало прогрессирование заболевания (n=8), в одном случае пациент умер в результате инфекционных осложнений (n=1).

### **3.6 Эффективность иммуно- и таргетной терапии у пациентов с нейробластомой**

У всех трех пациентов, получавших инфузии донорских лимфоцитов, зафиксировано прогрессирование заболевания. Кроме того, во всех трех случаях инфузия донорских лимфоцитов ассоциировалась с развитием оРТПХ 2-3 степени с ответом на терапию первой (n=2) либо второй линии (n=1). У двух из трех пациентов, получавших инфузии НК-клеток, наблюдался частичный ответ по данным сцинтиграфии с I-MIBG (длительность ответа 48 и 16 месяцев), у одного пациента краткосрочная стабилизация (2 месяца). Введение НК-клеток не было связано с развитием оРТПХ или других осложнений. У пациента, получившего специфические антитела к GD2 и ингибиторы иммунных контрольных точек (ниволумаб) зафиксирован длительный ответ, сохранявшийся на фоне введения ниволумаба. После отмены ниволумаба отмечалось увеличение интенсивности накопления радиофармпрепарата остаточной опухолью по данным сцинтиграфии с I-MIBG. Проведена лучевая терапия на область остаточной опухоли с СОД 24 Гр и возобновлена терапия ниволумабом. У пациентов, получавших после алло-ТГСК комбинированную химио- и таргетную терапию (RIST) развилась стабилизация либо частичный ответ длительностью от 4 до 12 месяцев. Режим характеризуется умеренной токсичностью у реципиентов алло-ТГСК.

Терапия ингибиторами иммунных контрольных точек (ниволумаб) в сочетании с химиотерапией второй линии не продемонстрировала эффективности у пациентов с первичной резистентностью и резистентным рецидивом. Оба пациента умерли от прогрессирования заболевания. Наблюдается частичный ответ на терапию ниволумабом в сочетании с лимфодеплецией (4 курса) у пациентки с прогрессированием заболевания после ауто-ТГСК. В настоящее время продолжена терапия по той же схеме. Зафиксирован хороший клинический эффект у пациента с первичной резистентностью, получающего терапию кризотинибом (частичная санация костного мозга, восстановление гемопоэза, отсутствие зависимости от гемотрансфузий). У пациента, получавшего

кризотиниб в связи с рецидивом заболевания после алло-ТГСК препарат отменен в связи с токсичностью (рвота, повышение уровня трансаминаз) после трех недель приема. В одном случае зафиксирован длительный (8 месяцев) ответ на монотерапию кризотинибом у пациента со вторым рецидивом нейробластомы с последующей потерей ответа.

## ГЛАВА 4

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Несмотря на сравнительную редкость, НБ группы высокого риска вносит заметный вклад в структуру детской смертности от онкологических заболеваний [175]. Эта проблема особенно актуальна для Российской Федерации, в которой показатели детской онкологической смертности в исторической когорте пока превышают европейские [3]. ВДПХТ с ауто-ТГСК продемонстрировала свою эффективность в рамках рандомизированных клинических исследований [114, 172]. Можно надеяться на то, что успешное использование этого метода, который с 2018 года входит в стандарт терапии НОДГО для детей с НБ группы высокого риска, поможет добиться улучшения отдаленных результатов. Отдельную проблему представляет лечение пациентов с первичной резистентностью и рецидивом опухоли, единых стандартов терапии для которых пока не существует [107, 122]. В данной работе проанализирован опыт крупного трансплантационного центра в лечении пациентов группы высокого риска, а также пациентов с первичной резистентностью и рецидивом заболевания.

#### 4.1 Результаты ВДПХТ с ауто-ТГСК

Применение ВДПХТ с ауто-ТГСК позволило добиться 48% пятилетней ОВ, и 35% пятилетней БСВ в крупной неселектированной когорте пациентов (n=72). Описанные результаты близки к результатам крупных европейских [32], американских [114] и российских исследований [7] групп, включавших в себя пациентов с первичной резистентностью. Следует учитывать то, что описанная когорта крайне гетерогенна в отношении, как клинических (возраст на момент заболевания, исходный объем поражения, ответ на индукционную терапию), так биологических (амплификация MYCN) факторов. Выявлены различия в структуре факторов риска у пациентов младше и старше пяти лет. В последней группе крайне редко выявляется амплификация MYCN и сравнительно чаще

наблюдается плохой ответ на индукционную терапию. В отдельных подгруппах пациентов, в первую очередь пациентов с первичной резистентностью и поздним рецидивом заболевания после ауто-ТГСК, использование ВДПХТ с ауто-ТГСК не продемонстрировало эффективности. Значительно худшим прогнозом характеризуются также пациенты с исходным поражением костей и костного мозга и пациенты, у которых до или после этапа трансплантации сохраняются метаболически активные опухолевые очаги по данным сцинтиграфии с I-MIBG, хотя при многофакторном анализе основную прогностическую роль играл возраст более 1,5 лет на момент постановки диагноза (HR 4,35; 95% CI 0,657-1,355;  $p < 0,01$ ). В рамках исследованной когорты не выявлена прогностическая роль морфологического варианта опухоли в связи с тем, что она в значительной степени представлена пациентами старше 5 лет.

У 59 пациентов без поражения костного мозга на момент заготовки аутологичных стволовых клеток в качестве источника трансплантата использован костный мозг. Контроль контаминации трансплантата осуществлялся с использованием метода проточной цитофлуориметрии. Учитывая то, что в исследованной когорте пациентов не наблюдалось ранних диссеминированных рецидивов с характерным паттерном поражения [81], этот метод представляется достаточно эффективным для контроля качества трансплантата. Тем не менее, по данным многофакторного анализа основными факторами, влияющими на сроки приживания, были использование СКПК и содержание моноклеаров в трансплантате. Мобилизация СКПК потенциально способна снизить число осложнений процедуры и уменьшить длительность госпитализации.

Использованный режим Bu-Mel (бусульфан в дозе 16 мг/кг и мелфалан в дозе 140 мг/м<sup>2</sup>) продемонстрировал приемлемую токсичность. Несмотря на значительную гепатотоксичность бусульфана, веноокклюзионная болезнь печени развилась только у двух (3%) пациентов. Большинство смертей в посттрансплантационном периоде связано с прогрессированием заболевания. Только в двух случаях зафиксирована смерть пациента, непосредственно связанная с токсичностью терапии (смерть от инфекции на фоне полиорганной

недостаточности, геморрагический инсульт в раннем посттрансплантационном периоде). У одного пациента развилась комбинированная вирусная и бактериальная инфекция в позднем посттрансплантационном периоде. Еще в одном случае смерть наступила в результате развития острого миелобластного лейкоза. Следует отметить, что согласно результатам исследования INRG риск развития вторичного злокачественного новообразования у получавших терапию пациентов с НБ в 17,5 раз выше, чем в общей популяции [24]. Учитывая также данные рандомизированного исследования SIOPEN, свидетельствующие о преимуществе режимов кондиционирования на основе бусульфана по сравнению с режимами кондиционирования на основе препаратов платины [100], можно рекомендовать данный режим в качестве одного из стандартов ВДПХ. В качестве альтернативы бусульфану можно рассматривать треосульфат. Эффективность данного подхода продемонстрирована в крупных когортах пациентов [7, 16]. К его преимуществам можно также отнести потенциально меньшую токсичность у пациентов, получивших терапию высокими дозами  $^{131}\text{I}$ -MIBG или лучевую терапию. Оценить общую токсичность сочетания данных факторов в рамках исследованной когорты невозможно в связи с небольшим количеством пациентов, у которых на этапе перед ауто-ТГСК использовались данные методы терапии.

Подход, основанный на применении ВДПХТ с ауто-ТГСК, не продемонстрировал эффективности в группе пациентов первичной резистентностью. Большая часть пациентов в дальнейшем развила рецидив заболевания вне зависимости от эффективности терапии второй и третьей линии. Применение высоких доз  $^{131}\text{I}$ -MIBG [197] у пациентов, у которых сохраняются метаболически активные опухолевые очаги до этапа ауто-ТГСК, потенциально более эффективен, хотя этот факт пока не нашел убедительного подтверждения в рамках рандомизированных клинических исследований [32]. Кроме того, рецидив развили все шесть пациентов, исходно относившихся к группе высокого риска, у которых проводилась повторная ауто-ТГСК после развития рецидива заболевания. Данный факт может объясняться малым размером исследованной подгруппы. Тем не менее, следует отметить, что существующие представления об

эффективности метода основаны на данных ретроспективного исследования [174]. В Условиях использования современной стратификации по группам риска [46] преимущество повторной ВДПХТ с ауто-ТГСК перед другими подходами к терапии неочевидно [33]. Вероятно, в дальнейшем в лечении данных групп пациентов не следует ориентироваться исключительно на подходы, основанные на повышении дозоинтенсивности. Кроме того, возможна дополнительная стратификация пациентов на основании клинических факторов [125] и дополнительных данных лабораторных исследований. В частности риск рецидива после ауто-ТГСК можно оценить на основании выявления остаточного поражения костного мозга методом ПЦР [51]. Отдельную проблему представляет также лечение пациентов старшей возрастной группы [180]. Определенный интерес для группы пациентов с наименее благоприятным прогнозом могут представлять методы, основанные на использовании таргетной и иммунотерапии.

#### **4.2 Терапия в группе пациентов с первичной резистентностью и рецидивом заболевания**

Порядка 15-20% пациентов группы высокого риска развивают первичную резистентность [32, 114], прогноз в этой группе крайне неблагоприятен. Об этом также свидетельствуют данные о результативности ВДПХТ с ауто-ТГСК в изученной когорте, в рамках которой продемонстрирована крайне неблагоприятная прогностическая роль любых форм резистентности к терапии (сохранение MIBG-позитивных очагов до и после ауто-ТГСК, сохранение остаточного поражения костного мозга). Кроме того, более половины пациентов группы высокого риска развивают рецидив после ВДПХТ с ауто-ТГСК. В настоящее время отсутствуют единые стандарты терапии для данных групп пациентов. Большинство существующих методов позволяет добиться лишь временного ответа [107, 122], что заставляет ориентироваться на медиану бессобытийной выживаемости в качестве основного критерия оценки эффективности существующих методов терапии. Наиболее распространен подход

к терапии, направленный на достижение контроля заболевания при сохранении качества жизни пациента [33]. В рамках подхода, ориентированного на излечение определенной части больных, существует необходимость разработки единых клинических, биологических и этических критериев, позволяющих селектировать потенциально курабельных пациентов. В рамках исследованной когорты пациентов ( $n=20$ ), получивших терапию второй линии, клинический эффект был достигнут в 60%, а полный либо частичный ответ в 20% случаев. Длительность достигнутых ответов была незначительной, медиана БСВ составила 2,5 (1-11) месяца. Учитывая потенциальную активность ингибиторов тирозинкиназ [190] и ингибиторов mTOR [200], а также предварительные данные об эффективности этих препаратов в комбинации с терапией второй линии [47], в группе из 58 пациентов с первичной резистентностью или рецидивом заболевания использована комбинированная химио- и таргетная терапия (схема RIST). Большинство пациентов (69%) ранее уже получали терапию второй линии и на момент начала терапии была зафиксирована стабилизация (28%) либо прогрессирование (62%) заболевания. На основании полученных данных можно говорить о том, что данный подход не является куративным. Несмотря на то, что в значительном проценте случаев (85%) был зафиксирован клинический эффект терапии, а полный либо частичный ответ был зафиксирован у 45% пациентов, большинство пациентов развили рецидив заболевания. Медиана БСВ составила 8 месяцев, что позволяет говорить об эффективности сопоставимой с результатами большинства исследований первой и второй фазы [107, 122]. Используемый режим терапии характеризуется низкой токсичностью, что позволяет использовать его в условиях дневного стационара, в том числе у реципиентов ауто- и алло-ТГСК. Терапия оказалась значительно менее эффективной в отдельных, наиболее неблагоприятных, группах пациентов. К ним можно отнести пациентов с ранним агрессивным рецидивом заболевания, пациентов со значительным объемом поражения костного мозга, а также пациентов с исходно агрессивным течением заболевания без ответа на терапию второй линии. Кроме того, большинство пациентов с длительными ответами получали дополнительную



таргетную или иммунотерапию.

При сравнении со стандартными режимами второй линии терапия RIST выглядит более эффективной. Тем не менее, с связи с небольшим размером и гетерогенностью группы сравнения, различными временными характеристиками исследованных когорт и различиями в использованных методах консолидации ответа, в данный момент нельзя однозначно говорить о преимуществе комбинированной химио- и таргетной терапии. Учитывая сравнимый профиль токсичности режимов терапии второй линии и комбинированной химио- и таргетной терапии, для достоверного определения их сравнительной эффективности необходимо проведение проспективного исследования.

Несмотря на то, что комбинированная химио- и таргетная терапия не обладает явными преимуществами перед низкодозной метроромной терапией в рамках «паллиативного» подхода, значительный процент ответов в рамках исследованной когорты позволяет в дальнейшем рассматривать ее в качестве эффективного метода циторедукции. В рамках подхода, направленного на излечение, необходим поиск эффективного метода консолидации с использованием таргетной или иммунотерапии. Определенным потенциалом обладает ингибирование продуктов гена ALK [129]. У пациентов старшего возраста потенциально эффективны ингибиторы иммунных контрольных точек [180]. К сожалению, число случаев применения препаратов данных групп в рамках исследованной когорты невелико, что не позволяет пока сделать даже предварительные выводы об эффективности этих методов терапии. В дальнейшем возможно выявление дополнительных потенциальных мишеней для таргетной терапии на основании исследования профиля экспрессии генов, кодирующих потенциальные мишени терапии. Использование специфических антител к GD2, продемонстрировавших эффективность в рамках крупных когорт пациентов группы высокого риска [101, 134], затрудняется отсутствием зарегистрированных форм препаратов на территории Российской Федерации. В сложившихся условиях одним из потенциально активных и относительно доступных методов консолидации является алло-ТГСК.

### 4.3 Результаты применения алло-ТГСК и посттрансплантационной терапии

Алло-ТГСК от родственного донора выполнена в группе из 18 пациентов с первичной резистентностью (n=4) либо рецидивом заболевания (n=10), достигшим полного/хорошего/частичного ответа по данным КТ и сцинтиграфии с I-MIBG (n=16). В большинстве случаев донор был гаплоидентичным. При наличии нескольких потенциальных доноров приоритетным был донор несовместимый по KIR. Достигнутая двухлетняя общая и бессобытийная выживаемость в группе пациентов, получивших ВДПХТ с алло-ТГСК (42% и 19%, соответственно), приблизительно соответствует результатам, описанным для близких по характеристикам групп пациентов [77, 90]. Не продемонстрирована эффективность алло-ТГСК в качестве «терапии спасения» у пациентов с плохим ответом на предшествующую терапию и агрессивным метастатическим поражением. Тем не менее, терапия позволила добиться длительного ответа у двух пациентов старше 5 лет на момент заболевания с первичной химиорезистентностью. Это может объясняться как биологическими особенностями НБ в данной группе пациентов [180], так и тем, что в обоих случаях использовалась дополнительная посттрансплантационная иммунотерапия. К сожалению, возможность выделения точных клинических и биологических критериев, определяющих вероятность ответа на терапию, невозможна в связи с небольшим размером исследованной когорты. Несмотря на достижение отдельных длительных ответов, медиана БСВ составила 7 (1-64) месяца. Учитывая высокую токсичность метода, необходимо в дальнейшем разработать более эффективные критерии селекции пациентов, потенциально способных ответить на алло-ТГСК.

В большинстве описанных случаев [77, 90, 103, 104, 160] для профилактики РТПХ при алло-ТГСК у пациентов с нейробластомой используется модификация трансплантата методом иммуномагнитной селекции. Это связано с потенциальным риском элиминирования аллореактивных НК-клеток [157]. В рамках изученной нами группы иммуномагнитная селекция применялась у 10

пациентов, в 8 случаях использована профилактика с использованием посттрансплантационного циклофосфана. Однозначных данных о преимуществе контроля заболевания при использовании модификации трансплантата не получено. Это может объяснять как небольшим размером исследованной группы, так и потенциальной ролью других факторов, например, полиморфизма активирующих рецепторов НК-клеток [169]. Данный вопрос требует дальнейшего изучения. Несмотря на большую медиану сроков приживления в группе пациентов, получавших посттрансплантационный циклофосфан, по сравнению с группой получившей модифицированный трансплантат (Д 23 и Д 17, соответственно), первая группа характеризовалась более низкой частотой РТПХ. Указанный фактор важен в связи с потенциальной возможностью более ранней отмены иммуносупрессии и начала посттрансплантационной терапии. Тем не менее, в группе пациентов, получавших посттрансплантационный циклофосфан, отмечалась большая частота развития геморрагического цистита. Дозоинтенсивность режима кондиционирования варьировала в зависимости от опухолевой нагрузки на момент выполнения алло-ТГСК. Размер исследованной группы слишком мал для определения потенциальной эффективности данного подхода, но следует отметить, что использование более интенсивного режима кондиционирования на основе бусульфана (12 мг/кг) может быть связано с риском развития веноокклюзионной болезни печени у пациентов, ранее получавших ВДПХТ на основе бусульфана. Данный подход возможно требует корректирования.

Значительное число рецидивов после алло-ТГСК определяет необходимость поиска эффективных методов посттрансплантационной терапии. Применение посттрансплантационной химиотерапии позволяет в отдельных случаях достичь клинического ответа при прогрессировании заболевания и характеризуется приемлемой токсичностью. Тем не менее, достигнутый эффект ограничен по времени, что вероятно связано с элиминированием активно пролиферирующих популяций иммунных клеток-эффекторов. Несмотря на отдельные факты, позволяющие обосновать эффективность использования инфузий донорских

лимфоцитов в контексте KIR-несовместимой алло-ТГСК [121], данный подход следует использовать с осторожностью в связи с риском РТПХ. Использование донорских НК-клеток вероятно более эффективно (достигнут длительный ответ у двух пациентов). Тем не менее, использованный подход характеризуется определенными недостатками, обусловленными технической сложностью и высокой стоимостью получения достаточного количества донорских НК-клеток. Кроме того, *in vivo* экспансия НК-клеток с использованием препаратов интерлейкина-2 потенциально ассоциирована с риском развития РТПХ и не всегда надежна, учитывая дозозависимый эффект терапии. Описанная эффективность посттрансплантационной терапии специфическими антителами к GD2 [102] пока недостаточно обоснована, учитывая то, что известны только предварительные результаты в небольшой селектированной группе пациентов. Потенциальная эффективность ингибиторов иммунных контрольных точек у пациентов с НБ [48, 54, 63, 180] и возможность использования этого метода в контексте алло-ТГСК [73, 131] позволяют использовать его как дополнительный способ контроля иммунного ответа. В исследованной когорте длительный ответ на терапию ниволумабом достигнут у одного пациента. Тем не менее, у того же пациента дополнительно проводилась терапия антителами к GD2, что могло увеличить эффективность терапии ниволумабом в силу потенциального синергизма этих препаратов [170].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ВДПХТ с ауто-ТГСК остается «золотым стандартом» лечения в группе высокого риска. Данный метод позволяет добиться длительных ответов у части пациентов группы высокого риска и в существующих условиях существования нескольких крупных трансплантационных центров может использоваться в рамках взаимодействия между клиниками. Необходима дальнейшая координация усилий в рамках данного взаимодействия для обеспечения своевременности сроков забора аутологичных ГСК. Оптимальный источник аутологичных ГСК для процедуры ауто-ТГСК – стволовые клетки периферической крови, но возможно также использование аутологичного костного мозга при условии адекватного контроля для предотвращения его контаминации опухолевыми клетками. С этой целью можно использовать проточную цитометрию, значительным потенциалом обладает также определение сравнительной экспрессии генов методом ПЦР в реальном времени [51]. Режим Вu-Mel характеризуется приемлемым профилем токсичности и может применяться в качестве стандартного режима кондиционирования. В качестве альтернативы может рассматриваться режим Тгео-Mel (треосульфат и мелфалан) с учетом его эффективности [7] и потенциально более низкой токсичности у пациентов, получавших лучевую терапию до этапа ВДПХТ с ауто-ТГСК. Необходимо обратить особое внимание на группы пациентов с наиболее неблагоприятным прогнозом. К ним относятся пациенты с исходно агрессивным течением заболевания, исходно большим объемом поражения (множественные костные очаги, вовлечение костного мозга), а также пациенты с любыми признаками резистентности к проводимой системной терапии (сохранение MIBG-позитивных опухолевых очагов, остаточное поражение костного мозга по данным проточной цитофлуориметрии). Подход, основанный на применении полихимиотерапии второй и третьей линии, не продемонстрировал эффективности в рамках исследованной группы. При развитии первичной резистентности прогноз остается неблагоприятным вне зависимости от ответа, достигнутого на фоне терапии второй или третьей линии.

Необходима разработка дополнительных клинических [125] и биологических критериев, позволяющих выделить группу сверхвысокого риска, которой требуется дополнительная терапия на этапе после ауто-ТГСК. При анализе факторов риска в различных возрастных группах выявлены различия в их структуре у пациентов младше и старше пяти лет. Учитывая биологическую гетерогенность нейробластомы в зависимости от возраста на момент заболевания [30], возможно использование потенциально более эффективных методов, основанных на иммунотерапии [179], у пациентов старшей возрастной группы.

В рамках исследованной когорты пациентов не продемонстрирована возможность достижения длительного ответа у пациентов с первичной резистентностью и рецидивом заболевания на фоне терапии второй линии (медиана БСВ 2,5 месяца). Использование комбинированной химио- и таргетной терапии представляется более эффективной альтернативой стандартным режимам второй линии. Режим R1ST обладает сравнимой токсичностью и, в рамках исследованной когорты, позволил добиться большего числа длительных ответов (медиана БСВ 8 месяцев). Тем не менее, сделать окончательные выводы о сравнительной эффективности режимов второй линии и комбинированной химио- и таргетной терапии можно только в рамках проспективного исследования. Несмотря на то, что подавляющее большинство пациентов развивает прогрессирование или рецидив заболевания, учитывая достаточное число ответов, можно рассматривать режим R1ST в качестве способа добиться циторедукции с возможностью дальнейшей консолидации ответа. В отдельных группах пациентов (первичная резистентность с агрессивным течением заболевания, ранний рецидив) эффективность использования режима невысока. Необходимо разработать систему клинических, биологических и этических критериев, позволяющую стратифицировать пациентов на потенциально курбельных и «паллиативных». В последнем случае использование низкодозной метронормной терапии потенциально способно обеспечить лучшее качество жизни. Объем данных об эффективности альтернативных методов таргетной терапии (ингибиторы ALK) и иммунотерапии (ингибиторы иммунных контрольных точек)

вне контекста алло-ТГСК пока недостаточно для того, чтобы сделать выводы об их эффективности.

В большинстве случаев в качестве метода консолидации ответа использовалась алло-ТГСК от гаплоидентичного родственного донора, позволяющая добиться длительного ответа у 20% пациентов. Не продемонстрировано различий в зависимости от интенсивности режима кондиционирования и методов профилактики РТПХ (модификация трансплантата и использование посттрансплантационного циклофосфана), что может быть связан с различиями в медиана срока наблюдения в когортах пациентов, получавших различные режимы профилактики. Тем не менее, у всех пациентов, получивших посттрансплантационный циклофосфан, наблюдалось приживление трансплантата, хотя и на несколько более поздних сроках, чем в другой группе. Кроме того, в этой группе сравнительно реже наблюдаются тяжелые формы РТПХ, что потенциально делает возможным использование на более ранних сроках посттрансплантационной иммунотерапии. Следует отметить, что пациенты с наиболее длительным ответом получали посттрансплантационную терапию. Сравнительная характеристика использованных методов (инфузия лимфоцитов донора, адоптивная терапия с использованием донорских НК-клеток, использование специфических антител, ингибиторов иммунных контрольных точек) невозможна в связи с небольшим количеством пациентов, получавших каждый из методов терапии. Тем не менее, использование алло-ТГСК в качестве «платформы» для дальнейшей иммунотерапии потенциально может быть более эффективным методом. Таким образом, необходимо выполнение ВДПХТ с ауто-ТГСК пациентам группы высокого риска. Учитывая неблагоприятный прогноз пациентов с первичной резистентностью и рецидивом, получивших ВДПХТ с ауто-ТГСК, для данных групп пациентов необходимо использование альтернативных методов терапии. Одним из таких методов может быть использование терапии второй линии либо комбинированной химио- и таргетной терапии с последующей алло-ТГСК и посттрансплантационной иммунотерапией.

## ВЫВОДЫ

1. Высокодозная полихимиотерапия с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток – эффективный метод лечения первичных пациентов с нейробластомой группы высокого риска. Двухлетняя и пятилетняя ОВ и БСВ составили 61% и 41%, 48% и 35%, соответственно.

2. Основные факторы, влияющие на исход ауто-ТГСК: ответ со стороны первичной опухоли и MIBG-позитивных очагов на этапе до (HR 2,91; 95% CI 1,416-6,005;  $p < 0,01$ ) и после ауто-ТГСК (HR 3,05; 95% CI 1,454-6,376;  $p < 0,01$ ), возраст на момент заболевания более 1,5 лет (HR 4,65; 95% CI 1,400-4,645;  $p = 0,01$ ), объем метастатического поражения (HR 2,48; 95% CI 1,194-5,143;  $p = 0,01$ ). При наличии признаков первичной резистентности или рецидиве заболевания пациенты относятся к группе сверхвысокого риска.

3. Режим кондиционирования Bu-Me1 характеризуется приемлемой токсичностью (IV ст. в 6% случаев) и низкой трансплантационной летальностью (кумулятивный риск смерти от токсичности 4%).

4. У пациентов с первичной резистентностью и рецидивом заболевания терапия второй линии и комбинированная химио- и таргетная терапия (RIST) позволяют добиться полного ответа в 14% и частичного ответа в 31% случаев с медианой длительности ответа в 8 месяцев.

5. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток может использоваться для консолидации ответов у пациентов с первичной резистентностью и рецидивом заболевания и эффективна в 20% случаев.

6. Повышения эффективности алло-ТГСК можно достичь за счет использования посттрансплантационной таргетной и иммунотерапии (зафиксирован ответ более 12 месяцев у 5 из 6 пациентов).



## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется использование ВДПХТ с ауто-ТГСК в качестве стандарта терапии пациентов с НБ группы высокого риска.
2. При выборе тактики терапии первичных пациентов группы высокого риска следует учитывать следующие факторы: возраст более 1,5 лет на момент постановки диагноза, ответ на терапию (в том числе по данным скинтиграфии с I-MIBG) до и после ауто-ТГСК.
3. У пациентов с дополнительными факторами риска (резистентность к терапии первой линии) и пациентов с рецидивом заболевания ВДПХТ с ауто-ТГСК не позволяет добиться длительного ответа, в этих случаях показано использование дополнительных или альтернативных методов терапии.
4. У пациентов с первично-резистентным течением или рецидивом заболевания рекомендуется проведение химиотерапии второй линии либо комбинированной химио- и таргетной терапии. При достижении ответа показана алло-ТГСК с последующей иммуно- или таргетной терапией на «платформе» алло-ТГСК.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- Алло-ТГСК – аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
- Ауто-ТГСК – аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
- БРВ – безрецидивная выживаемость
- БСВ – бессобытийная выживаемость
- ВДПХТ – высокодозная полихимиотерапия
- ВДПХТ – полихимиотерапия
- КТ – компьютерная томография
- МРТ – магнитно-резонансная томография
- НБ – нейробластома
- ОВ – общая выживаемость
- oРТПХ – острая реакция трансплантат-против-хозяина
- РТПХ – реакция трансплантат-против-хозяина
- ТГСК* – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
- Bu-Mel – Busulphan-Melphalan, режим кондиционирования, включающий в себя бусульфан и мелфалан
- CAR-T – Chimeric antigen receptor T-cell, T-лимфоцит с модифицированным T-клеточным рецептором
- CCG – Children’s Cancer Group, группа по изучению детских онкологических заболеваний
- CEM – Carboplatin-Etoposide-Melphalan, режим кондиционирования, включающий в себя карбоплатин, этопозид и мелфалан
- COG – Children’s Oncology Group, группа по изучению детских онкологических заболеваний
- EBMT – European Group for Blood and Marrow Transplantation, Европейская группа по трансплантации костного мозга
- ENSG – European Neuroblastoma Study Group, европейская группа по изучению нейробластомы
- GPOH – Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie, общество детских

гематологов и онкологов (Германия)

HLA – Human Leukocyte Antigen, главный комплекс гистосовместимости у человека

IBMTR – Center for International Blood and Marrow Transplant Research, Международный исследовательский центр трансплантации костного мозга

IDRF – Image Defined Risk Factors, анатомический фактор риска

INRG – International Neuroblastoma Risk Group, международная группа по идентификации факторов риска у пациентов с нейробластомой

INRGS – INRG stage, стадия заболевания по классификации INRG

INSS – International Neuroblastoma Staging System, международная система стадирования нейробластомы

KIR – Killer cell Immunoglobulin-like Receptor, иммуноглобулин-подобный рецептор естественной клетки-киллера

MEC – Melphalan-Etoposide-Carboplatin, режим кондиционирования, включающий в себя мелфалан, этопозид и карбоплатин

MIBG – meta-iodo-benzyl-guanidine, метайодобензилгуанидин

NANT – New Approaches to Neuroblastoma Therapy, группа по изучению новых подходов к терапии нейробластомы

NK – Natural Killer cell, естественная клетка-киллер

NSE – Neuron specific enolase, нейрон-специфическая энлаза

PD-L1 – Programmed death-ligand 1, лиганд рецептора программированной клеточной смерти 1

POG – Pediatric Oncology Group, группа по изучению детских онкологических заболеваний

RIST – Rapamycin-Irinotecan-Sirolimus-Dasatinib, схема терапии, включающая в себя сиролимус, дазатиниб, иринотекан и темозоломид

SIOP – The International Society of Paediatric Oncology, международное общество детских онкологов

SIOPEN – European SIOP Neuroblastoma Group, европейская группа ассоциации SIOP по изучению нейробластомы

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Афанасьев, Б.В. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток: настоящее, проблемы, перспективы. / Б.В. Афанасьев, Л.С. Зубаровская, И.С. Моисеев // Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО) – 2015. – Vol. 2, N 2. – С. 28–42.
2. Гланц, С. Медико-биологическая статистика. / С.Гланц. - Москва: Практика, 1998. – 462 с.
3. Давыдов, М.И. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2007 году. / М.И. Давыдов, Е.М. Аксель // Вестник РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН. – 2009. – Vol. 20, N 3. – С. 1–156.
4. Друй, А.Е. Прогностическое значение делеции короткого плеча хромосомы 9 при нейробластоме. / А.Е. Друй, Е.В. Шориков, Г.А. Цаур [и др.] // Вопросы Онкологии. – 2015. – Vol. 61, N 5. – С. 821–827.
5. Качанов, Д.Ю. Генетическая предрасположенность к нейробластоме у детей: собственные данные и обзор литературы. / Д.Ю. Качанов, Т.В. Шаманская, Д.В. Шевцов [и др.] // Онкопедиатрия. – 2016. – Vol. 3, N 4. – С. 277–287.
6. Качанов, Д.Ю. Нейробластома группы наблюдения: опыт ФГБУ ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. / Д.Ю. Качанов, Т.В. Шаманская, Е.С. Андреев [и др.] // Онкопедиатрия. – 2016. – Vol. 3, N 2. – С. 146–146.
7. Качанов, Д.Ю. Результаты риск-адаптированной терапии нейробластомы у детей: автореферат дис. ... докт. мед. наук: 14.01.08, 14.01.12 / Качанов Денис Юрьевич. - М., 2017. – 64 с.
8. Курникова, Е.Е. Результаты мобилизации, афереза и реинфузии гемопоэтических стволовых клеток у детей с нейробластомой: роль мониторинга количества CD34+ клеток в периферической крови. / Е.Е. Курникова, И.Б. Кумукова, И.В. Гуз [и др.] // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2017. – Vol. 1, N 16. – С. 28-39.

9. Мень, Т.Х. Эпидемиология злокачественных новообразований у детей в России. / Т.Х. Мень, В.Г. Поляков, М.Д. Алиев // Онкопедиатрия. – 2014. – Vol. 1, N 1. – С. 7–13.
10. Мерабишвили, В.М. Детский популяционный раковый регистр Северо-Западного региона России: методологические основы создания. / В.М. Мерабишвили, С.А. Кулева // Онкопедиатрия. – 2016. – Vol. 3, N 2. – С. 80 – 87.
11. Попов, А.М. Прогностическое значение определения поражения костного мозга у детей с нейробластомой методом проточной цитометрии. / А.М. Попов, Е.В. Шориков, Т.Ю. Вержбицкая [и др.] // Вопросы Онкологии. – 2014. – Vol. 60, N 4. – С. 470–476.
12. Попов, А.М. Сравнение результатов определения поражения костного мозга у детей с нейробластомой методами проточной цитометрии и полимеразной цепной реакции. / А.М. Попов, А.Е. Друй, Е.В. Шориков [и др.] // Вопросы Онкологии. – 2015. – Vol. 61, N 5. – С. 767–773.
13. Пролесковская, И.В. Прогрессия заболевания и рецидивы при нейробластоме у детей в Республике Беларусь, характеристика и исходы. / И.В. Пролесковская // Евразийский Онкологический Журнал. – 2015. – Vol.1, N 4. – С. 34-45.
14. Пролесковская, И.В. Нейробластома у детей в Республике Беларусь (заболеваемость, диагностика, результаты лечения): 20-летний опыт. / И.В. Пролесковская, Д.В. Кочубинский, Е.В. Волочник Е.В. [и др.] // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2017. – Vol.1, N 3. – С. 308-317.
15. Скоробогатова, Е.В. Итоги двадцатилетнего опыта трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей. / Е.В. Скоробогатова, Д.Н. Балашов, П.Е. Трахтман [и др.] / Педиатрия. – 2011. – Vol. 90, N 4. – С. 12-16.
16. Хижников, А.В. Лечение пациентов с нейробластомой группы высокого риска. / А.В. Хижников, А.П. Казанцев // Онкопедиатрия. – 2017. – Vol. 4, N 2. – С. 131-140.

17. Ackermann, S. A mechanistic classification of clinical phenotypes in neuroblastoma. / S. Ackermann, M. Cartolano, B. Hero [et al.] // *Science*. - 2018. - Vol. 362, N 6419. - P. 1165–1170.
18. Afanasyev, B.V. Indications for hematopoietic stem cell transplantation. / B.V. Afanasyev, K.S. Afanasyeva, M.V. Barabanschikova [et al.] // *Cellular Therapy and Transplantation*. - 2019. - Vol. 8, N 4. - P. 101–145.
19. Al-Homsi, A.S. Post-transplant high-dose cyclophosphamide for the prevention of graft-versus-host disease. / A.S. Al-Homsi, T.S. Roy, K. Cole [et al.] // *Biol Blood Marrow Transplant*. - 2015. - Vol. 21, N 4. - P. 604-611.
20. Ambros, P.F. International consensus for neuroblastoma molecular diagnosis: a report from the International Neuroblastoma Risk Group (INRG) Biology Committee. / P.F. Ambros, I.M. Ambros, G.M. Brodeur [et al.] // *Br J Cancer*. - 2009. - Vol. 100, N 9. - P. 1471–1482.
21. Amoroso, L. Topotecan-Vincristine-Doxorubicin in Stage 4 High-Risk Neuroblastoma Patients Failing to Achieve Complete Metastatic Response to Rapid COJEC: A SIOPEN Study. / L. Amoroso, G. Ermino, G. Makin [et al.] // *Cancer Res Treat*. - 2018. - Vol. 50, N 1. - P. 148–155.
22. Aplenc, R. Pediatric phase I trial and pharmacokinetic study of dasatinib: a report from the children's oncology group phase I consortium. / R. Aplenc, S. Blaney, L. Strauss [et al.] // *J Clin Oncol*. - 2011. - Vol. 29, N 7. - P. 839–844.
23. Appelbaum, F.R. Haemopoietic cell transplantation as immunotherapy. / F.R. Appelbaum // *Nature*. - 2001. - Vol. 411, N 6835. - P. 385–389.
24. Applebaum, M.A. Neuroblastoma survivors are at increased risk for second malignancies: A report from the International Neuroblastoma Risk Group Project. / M.A. Applebaum, Z. Vaksman, S.M. Lee [et al.] // *Eur J Cancer*. - 2017. - Vol. 72. - P. 177-185.
25. August, C.S. Treatment of advanced neuroblastoma with supralethal chemotherapy, radiation, and allogeneic or autologous marrow reconstitution. / C.S. August, F.T. Serota, P.A. Koch [et al.] // *J Clin Oncol*. - 1984. - Vol. 2, N 6. - P. 609–616.

26. Bagatell, R. Outcomes of children with intermediate-risk neuroblastoma after treatment stratified by MYCN status and tumor cell ploidy. / R. Bagatell, P. Rumcheva, W.B. London [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2005. – Vol. 23, N 34. – P. 8819–8827.
27. Bagatell, R. Phase 1 trial of temsirolimus in combination with irinotecan and temozolomide in children, adolescents and young adults with relapsed or refractory solid tumors. / R. Bagatell, R. Norris, A. Ingle [et al.] // *Pediatr Blood Cancer.* – 2014. – Vol. 61, N 5. – P. 833–839.
28. Bagatell, R. Phase II study of irinotecan and temozolomide in children with relapsed or refractory neuroblastoma: a Children's Oncology Group study. / R. Bagatell, W.B. London, L.M. Wagner [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2011. – Vol. 29, N 2. – P. 208–213.
29. Basta, N. Factors associated with recurrence and survival length following relapse in patients with neuroblastoma. / N. Basta, G. Halliday, G. Makin [et al.] // *Br J Cancer.* – 2016. – Vol. 115, N 9. – P. 1048-1057.
30. Berbegall, A.P. Neuroblastoma after Childhood: Prognostic Relevance of Segmental Chromosome Aberrations, ATRX Protein Status, and Immune Cell Infiltration. / A.P. Berbegall, E. Villamón, I. Tadeo [et al.] // *Neoplasia.* – 2014. – Vol. 16, N 6. – P. 471–480.
31. Berthold, F. Incidence, Survival, and Treatment of Localized and Metastatic Neuroblastoma in Germany 1979-2015. / F. Berthold, C. Spix, P. Kaatsch [et al.] // *Pediatr Drugs.* – 2017. – Vol. 19, N 6. – P. 577–593.
32. Berthold, F. Long-term outcome of the GPOH NB97 trial for children with high-risk neuroblastoma comparing high-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation and oral chemotherapy as consolidation. / F. Berthold, A. Ernst, B. Hero [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2018. – Vol. 119, N 3. – P. 282-290.
33. Berthold, F. Metronomic therapy has low toxicity and is as effective as current standart treatment for recurrent high-risk neuroblastoma. / F. Berthold, M. Hömberg, I. Proleskovskaya [et al.] // *Pediatr Hematol Oncol.* – 2017. – Vol. 37, N 5. – P. 308–319.

34. Berthold, F. Myeloablative megatherapy with autologous stem-cell rescue versus oral maintenance therapy as consolidation treatment in patients with high-risk neuroblastoma: A randomized controlled trial. / F. Berthold, J. Boos, S. Burdach [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2005. – Vol. 6, N 9. – P. 649-658.

35. Breslow, N. Statistical estimation of prognosis for children with neuroblastoma. / N. Breslow, B. McCann // *Cancer Res.* – 1971. – Vol. 31, N 12. – P. 2098–2103.

36. Brodeur, G.M. International criteria for diagnosis, staging, and response to treatment in patients with neuroblastoma. / G.M. Brodeur, R.C. Seeger, A. Barrett [et al.] // *J Clin Oncol.* – 1988. – Vol. 6, N 12. – P. 1874–1881.

37. Brodeur, G.M. Mechanisms of neuroblastoma regression. / G.M. Brodeur, R. Bagatell // *Nat Rev Clin Oncol.* – 2014. – Vol. 11, N 12. – P. 704–713.

38. Brodeur, G.M. Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment. / G.M. Brodeur, J. Pritchard, F. Berthold [et al.] // *J Clin Oncol.* – 1993. – Vol. 11, N 8. – P. 1466–1477.

39. Burchill, S.A. Recommendations for the standardization of bone marrow disease assessment and reporting in children with neuroblastoma on behalf of the International Neuroblastoma Response Criteria Bone Marrow Working Group. / S.A. Burchill, K. Beiske, H. Shimada [et al.] // *Cancer.* – 2017. – Vol. 123, N 7. – P. 1095–1105.

40. Campbell, K. Association of MYCN copy number with clinical features, tumor biology, and outcomes of neuroblastoma: A report from the Children's Oncology Group. / K. Campbell, J.M. Gastier-Foster, M. Mann [et al.] // *Cancer.* – 2017. – Vol. 123, N 21. – P. 4224–4235.

41. Casey, D.L. Dose-escalation is needed for gross disease in high-risk neuroblastoma. / D.L. Casey, B.H. Kushner, N.V. Cheung [et al.] // *Pediatr Blood Cancer.* – 2018. – Vol. 65, N 7. – P. e27009.

42. Caussa, L. Role of palliative radiotherapy in the management of metastatic pediatric neuroblastoma: a retrospective single-institution study. / L. Caussa, T. Hijal, J. Michon [et al.] // *Int J Radiat Biol Phys.* – 2011. – Vol. 79, N 1. – P. 214–219.



43. Chang, H.H. The prognostic roles of and correlation between ALK and MYCN protein expression in neuroblastoma. / H.H. Chang, M.Y. Lu, Y.L. Yang [et al.] // *J Clin Pathol.* – 2020. – Vol. 73, N 3. – P. 154–161.

44. Cheung, N.K. When Overall Survival Fails to Confirm Event-Free Survival, Should the Latter be Used to Set the Standard of Care? / N.K. Cheung, S. Modak, I. Ostrovnaya [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2014. – Vol. 32, N 36. – P. 4173-4174.

45. Cocco, C. Immune Checkpoints in Pediatric Solid Tumors: Targetable Pathways for Advanced Therapeutic Purposes. / C. Cocco, F. Morandi, I. Airoidi // *Cells.* – 2021. – Vol. 10, N 4. – P. 927–927.

46. Cohn, S.L. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: an INRG Task Force report. / S.L. Cohn, A.D. Pearson, W.B. London [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 27, N 2. – P. 289–297.

47. Corbacioglu, S. The RIST design: A molecularly targeted multimodal approach for the treatment of patients with relapsed or refractory neuroblastoma. / S. Corbacioglu, D. Steinbach, H.L. Lode [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2013. – Vol. 31, N 15s. – P. 10017–10017.

48. Davis, K. L. Nivolumab in children and young adults with relapsed or refractory solid tumors or lymphoma (ADVIL1412): a multicentre, open-label, single-arm, phase 1-2 trial. / K.L. Davis, E. Fox, M. Merchant [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2020. – Vol. 21, N 4. – P. 541-550.

49. Defferrari, R. Influence of segmental chromosome abnormalities on survival in children over the age of 12 months with unresected localized peripheral neuroblastic tumours without MYCN amplification. / R. Defferrari, K. Mazzocco, I.M. Ambros [et al.] // *Br J Cancer.* – 2015. – Vol. 112, N 2. – P. 290–295.

50. Di Gianatale, A. Phase II study of temozolomide in combination with topotecan (TOTEM) in relapsed or refractory neuroblastoma: a European Innovative Therapies for Children with Cancer SIOP-European Neuroblastoma study. / A. Di Gianatale, N. Dias-Gastellier, A. Devos [et al.] // *Eur J Cancer.* – 2014. – Vol. 50, N 1. – P. 170–177.

51. Druy, A.E. Prospective investigation of applicability and the prognostic significance of bone marrow involvement in patients with neuroblastoma detected by quantitative reverse transcription PCR. / A.E. Druy, E.V. Shorikov, G.A. Tsaur [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2018. – Vol. 65, N 11. – P. e27354.

52. Duarte, R.F. Indications for hematopoietic stem cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2019. / R.F. Duarte, M. Labopin, P. Bader [et al.] // *Bone Marrow Transplant*. – 2019. – Vol. 54, N 10. – P. 1525–1552.

53. DuBois, S.G. Phase I Study of the Aurora A Kinase Inhibitor Alisertib in Combination With Irinotecan and Temozolomide for Patients With Relapsed or Refractory Neuroblastoma: A NANT (New Approaches to Neuroblastoma Therapy) Trial. / S.G. DuBois, A. Marachelian, E. Fox [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2016. – Vol. 34, N 12. – P. 1368–1375.

54. Ehlert, K. Nivolumab and dinutuximab beta in two patients with refractory neuroblastoma. / K. Ehlert, I. Hansjuergens, A. Zinke [et al.] // *J Immunother Cancer*. – 2020. – Vol. 8, N 1. – P. e000540.

55. Erbe, A. Neuroblastoma patients' KIR and KIR-ligand genotypes influence clinical outcome for dinutuximab-based immunotherapy: a report from the Children's Oncology Group. / A. Erbe, W. Wang, L. Carmichael [et al.] // *Clin Cancer Res*. – 2018. – Vol. 24, N 1. – P. 189–196.

56. Erttmann, R. 10 years' neuroblastoma screening in Europe: preliminary results of a clinical and biological review from the Study Group for Evaluation of Neuroblastoma Screening in Europe (SENSE). / R. Erttmann, T. Tafese, F. Berthold [et al.] // *Eur J Cancer*. – 1998. – Vol. 34, N 9. – P. 1391–1397.

57. Evangelidou, N.F. Polyamine Antagonist Therapies Inhibit Neuroblastoma Initiation and Progression. / N.F. Evangelidou, M. Haber, A. Vu [et al.] // *Clin Cancer Res*. – 2016. – Vol. 22, N 17. – P. 4391–4404.

58. Evans, A.E. Bone marrow transplantation for high risk neuroblastoma at the Children's Hospital of Philadelphia: an update. / A.E. Evans, C.S. August, N. Kamani [et al.] // *Med Pediatr Oncol*. – 1994. – Vol. 23, N 4. – P. 323–327.

59. Figueroa, J.A. Chimeric antigen receptor engineering: a right step in the evolution of adoptive cellular immunotherapy. / J.A. Figueroa, A. Reidy, L. Mirandola [et al.] // *Int Rev Immunol.* – 2015. – Vol. 34, N 2. – P. 154-187.
60. Fish, J.D. Stem cell transplantation for neuroblastoma. / J.D. Fish, S.A. Grupp. // *Bone Marrow Transplant.* – 2008. – Vol. 41, N 2. – P. 159–165.
61. Garaventa, A. Myeloablative therapy and bone marrow rescue in advanced neuroblastoma. Report from the Italian Bone Marrow Transplant Registry. Italian Association of Pediatric Hematology-Oncology, BMT Group. / A. Garaventa, R. Rondelli, E. Lanino [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 1996. – Vol. 18, N 1. – P. 125–130.
62. Gauget, J.M. Evaluation of the utility of <sup>99m</sup>Tc-MDP bone scintigraphy versus MIBG scintigraphy and cross-sectional imaging for staging patients with neuroblastoma. / J.M. Gauget, T. Pace-Emerson, F.D. Grant [et al.] // *Pediatr Blood Cancer.* – 2017. – Vol. 64, N 11.
63. Georger, B. Pembrolizumab in paediatric patients with advanced melanoma or a PD-L1-positive, advanced, relapsed, or refractory solid tumor or lymphoma (KEYNOTE-051): interim analysis of an open-label, single-arm, phase 1-2 trial. / B. Georger, H.J. Kang, M. Yalon-Oren [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2020. – Vol. 21, N 1. – P. 121-133.
64. Georantzi, K. Chromogranin A and neuron-specific enolase in neuroblastoma: Correlation to stage and prognostic factors. / K. Georantzi, E.G. Sköldenberg, M. Stridsberg [et al.] // *Pediatr Hematol Oncol.* – 2018. – Vol. 25, N 2. – P. 156-165.
65. George, R.E. High-risk neuroblastoma treated with tandem autologous peripheral-blood stem cell-supported transplantation: long-term survival update. / R.E. George, S. Li, C. Medeiros-Nancarrow [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2006. – Vol. 24, N 18. – P. 2891–2896.
66. Gorin, N.C. Autologous bone marrow transplantation in acute myelocytic leukemia. / N.C. Gorin, A. Najman, G. Duhamel [et al.] // *Lancet.* – 1977. – Vol. 1, N 8020. – P. 1050.

67. Gröbner, S.N. The landscape of genomic alterations across childhood cancers. / S.N. Gröbner, B.C. Worst, J. Weischenfeldt [et al.] // *Nature*. – 2018. – Vol. 555, N 7696. – P. 321–327.

68. Gurria, J.P. Minimally invasive surgery for abdominal and thoracic neuroblastic tumors: A systematic review by the APSA Cancer committee. / J.P. Gurria, M.M. Malek, T.E. Heaton [et al.] // *J Pediatr Surg*. – 2020. – Vol. 55, N 11. – P. 2260–227.

69. Hachitanda, Y. Expression of pan-neuroendocrine proteins in 53 neuroblastic tumors. An immunohistochemical study with neuron-specific enolase, chromogranin, and synaptophysin. / Y. Hachitanda, M. Tsuneyoshi, M. Enjoji // *Arch Pathol Lab Med*. – 1989. – Vol. 113, N 4. – P. 381–384.

70. Hahn, T. Significant improvement in survival after allogeneic hematopoietic cell transplantation during a period of significantly increased use, older recipient age, and use of unrelated donors. / T. Hahn, H.L. McCarthy Jr, A. Hasselbroek [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2013. – Vol. 31, N 19. – P. 2437–2449.

71. Hale, G.A. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for neuroblastoma: the CIBMTR experience. / G.A. Hale, M. Arora, K.W. [et al.] // *Bone Marrow Transplant*. – 2013. – Vol. 48, N 8. – P. 1056–1064.

72. Heath, J.A. Good clinical response to alectinib, a second generation ALK inhibitor, in refractory neuroblastoma. / J.A. Heath, M.A. Campbell, A. Thomas A [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2018. – Vol. 65. – N 7 – P. e27055.

73. Herbaux, C. Efficacy and tolerability of nivolumab after allogeneic transplantation for relapsed Hodgkin lymphoma. / C. Herbaux, J. Gautier, P. Brice [et al.] // *Blood*. – 2017. – Vol. 129, N 18. – P. 2471–2478.

74. Hirayama M. Evidence of graft-versus-tumor effect in refractory metastatic neuroblastoma. / M. Hirayama, E. Azuma, M. Araki [et al.] // *Transplantation*. – 2006. – Vol. 82, N 1. – P. 142–144.

75. Holmes, K. Influence of Surgical Excision on the Survival of Patients With Stage 4 High-Risk Neuroblastoma: A Report From the HR-NBL1/SIOPEN Study. / K.

Holmes, U. Pötschger, A.D.J. Pearson [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2020. – Vol. 38. – N 25. – P. 2902–2915.

76. Hosseini, E. Do human leukocyte antigen E polymorphisms influence graft-versus-leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation? / E. Hosseini, A.P. Schwarzer, M. Ghasemzadeh // *Exp Hematol.* – 2015. – Vol. 43, N 3. – P. 149–157.

77. Illhardt, T. Haploidentical Stem Cell Transplantation for Refractory/Relapsed Neuroblastoma. / T. Illhardt, J. Toporski, T. Feuchtinger [et al.] // *Biol Blood Marrow Transplant.* – 2018. – Vol. 24, N 5. – P. 1005–1012.

78. Jazmati, D. Proton Beam Therapy for Children With Neuroblastoma: Experiences From the Prospective KiProReg Registry. / D. Jazmati, S. Butzer, B. Hero [et al.] // *Front Oncol.* – 2021. – Vol. 10. – P. 617506.

79. Johnsen, J. Inhibitors of mammalian target of rapamycin downregulate MYCN protein expression and inhibit neuroblastoma growth in vitro and in vivo. / J. Johnsen, L. Segenstrom, A. Orrego [et al.] // *Oncogene.* – 2008. – Vol. 27, N 20. – P. 2910–2922.

80. Kakodkar, N.C. Sorafenib inhibits neuroblastoma cell proliferation and signaling, blocks angiogenesis, and impairs tumor growth. / N.C. Kakodkar, R.R. Peddinti, Y. Tian [et al.] // *Pediatr Blood Cancer.* – 2012. – Vol. 59, N 4. – P. 642–647.

81. Kalra, R. Radiological case of the month. Miliary pulmonary neuroblastoma. / R. Kalra, S. Zoger, M.S. Kosovich [et al.] // *Arch Pediatr Adolesc Med.* – 1995. – Vol. 149, N 2. – P. 195–196.

82. Kamani, N. A study of thiotepa, etoposide and fractionated total body irradiation as a preparative regimen prior to bone marrow transplantation for poor prognosis patients with neuroblastoma. / N. Kamani, C.S. August, N. Bunin [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 1996. – Vol. 17, N 6. – P. 911–916.

83. Kanate, A.S. Indications for Hematopoietic Cell Transplantation and Immune Effector Cell Therapy: Guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation and Cellular Therapy. / A.S. Kanate, N.S. Mahjhail, B.N.

Savani [et al.] // Biol Blood Marrow Transplant. – 2020. – Vol. 26, N 7. – P. 1247–1256.

84. Kanold, J. NK cell immunotherapy for high-risk neuroblastoma relapse after haploidentical HSCT. / J. Kanold, C. Pailard, A. Tchirkov [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2012, Vol. 59. – N 4. – P. 739–742.

85. Khandelwal, P. Hematopoietic Stem Cell Transplantation Activity in Pediatric Cancer between 2008 and 2014 in the United States: A Center for International Blood and Marrow Transplant Research Report / P. Khandelwal, H.R. Millard, E. Thiel [et al.] // *Biol Blood Marrow Transplant*. – 2017. – Vol. 23, N 8. – P. 1342–1349.

86. Kirkpatrick, A.W. Intra-abdominal hypertension and the compartment syndrome: updated consensus and clinical practice guidelines from the World Society of the Abdominal Compartment Syndrome. / A.W. Kirkpatrick, D.J. Roberts, J. De Waele [et al.] // *Intensive Care Med*. – 2013. – Vol. 39, N 7. – P. 1190–1206.

87. Klein, J.P. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part I: unadjusted analysis. / J.P. Klein, J.D. Rizzo, M.J. Zhang [et al.] // *Bone Marrow Transplant*. – 2001. – Vol. 28, N 10. –P. 909-915.

88. Klein, J.P. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part 2: Regression modeling. / J.P. Klein, J.D. Rizzo, M.J. Zhang [et al.] // *Bone Marrow Transplant*. – 2001. – Vol. 28, N 11. –P. 1001-1011.

89. Kloess, S. IL-2-activated haploidentical NK cells restore NKG2D-mediated NK-cell cytotoxicity in neuroblastoma patients by scavenging of plasma MICA. / S. Kloess, S. Huenecke, D. Piechulek [et al.] / S. Kloess, S. Huenecke, D. Piechulek [et al.] // *Eur J Immunol*. – 2010. – Vol. 40. – N 11. –P. 3255-3267.

90. Koh, K.N.  $\alpha\beta$  T-cell-depleted haploidentical hemopoietic stem cell transplantation and zolendronate/interleukin-2 therapy in children with relapsed, high-risk neuroblastoma / K.N. Koh, H.J. Im, H. Kim [et al.] // *Bone Marrow Transplant*. – 2019. . – Vol. 54, N 2. – P. 438-352.

91. Kohler, J.A. Treatment of children over the age of one year with unresectable localized neuroblastoma without MYCN amplification: results of the SIOPEN study. / J.A. Kohler, H. Rubie, V. Castel [et al.] // *Eur J Cancer*. – 2013. – Vol. 49, N 17. – P. 3671–3679.
92. Kohli, S. MIBG followed by haploidentical stem cell transplantation with post transplant cyclophosphamide in relapsed/refractory neuroblastoma. / S. Kohli, N. Rastogi, S. Nivargi [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2015. – Vol. 34, N 15s. – P. e22002.
93. Kolb, H.J. Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. / H.J. Kolb // *Blood*. – 2008. – Vol. 112, N 12. – P. 4371–4383.
94. Kreissman, S.G. Purged versus non-purged peripheral blood stem-cell transplantation for high-risk neuroblastoma (COG A3973): a randomized phase 3 trial. / S.G. Kreissman, R.C. Seeger, K.K. Matthay [et al.] // *Lancet Oncol*. – 2013. – Vol. 14, N 10. – P. 999–1008.
95. Kroesen, M. Anti-GD2 mAb and Vorinostat synergize in the treatment of neuroblastoma. / M. Kroesen, C. Büll, P.R. Gielen [et al.] // *Oncoimmunology*. – 2016. – Vol. 5, N 6: e1164919.
96. Kushner, B.H. Lack of survival advantage with autologous stem-cell transplantation in high-risk neuroblastoma consolidated by anti-GD2 immunotherapy and isotretinoin. / B.H. Kushner, I. Ostrovnaya, I.Y. Cheung [et al.] // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7, N 4. – P. 4155–4166.
97. Kushner, B.H. Sensitivity of surveillance studies for detecting asymptomatic and unsuspected relapse of high-risk neuroblastoma. / B.H. Kushner, K. Kramer, S. Modak [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2009. – Vol. 27. – N 7. – P. 1041–1046.
98. La Rosée, P. Improved tolerability by a modified intermittent treatment schedule of dasatinib for patients with chronic myeloid leukemia resistant or intolerant to dasatinib. / P. La Rosée, P. Martiat, A. Leitner [et al.] // *Ann Hematol*. – 2013. – Vol. 92, N 10. – P. 1345–1350.
99. Ladenstein, R. 28 years of high-dose therapy and SCT for neuroblastoma in Europe: lessons from more than 4000 procedures. / R. Ladenstein, U. Pötschger, O. Hartman [et al.] // *Bone Marrow Transplant*. – 2008. – Vol. 41, N S2. – P. 118–127.

100. Ladenstein, R. Busulfan and melphalan versus carboplatin, etoposide, and melphalan as high-dose chemotherapy for high-risk neuroblastoma (YR-NBL1/SIOPEN): an international, randomized, multi-arm, open-label, phase 3 trial. / R. Ladenstein, U. Pötschger, A.D. Pearson [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2017. – Vol. 18, N 4. – P. 500–514.

101. Ladenstein, R. Investigation of the Role of Dinutuximab Beta-Based Immunotherapy in the SIOPEN High-Risk Neuroblastoma 1 Trial (HR-NBL1). / R. Ladenstein, U. Pötschger, D. Valteau-Couanet [et al.] // *Cancers (Basel)*. – 2020. – Vol. 12, N 2. – P. 39.

102. Lang, P. Haploidentical stem cell transplantation and subsequent immunotherapy with anti-GD2 antibody for patients with relapsed metastatic neuroblastoma. / P. Lang, T. Illhardt, M. Ebinger [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2015. – Vol. 33, N 15s. – P. 10056–10056.

103. Lang, P. Haploidentical stem cell transplantation in patients with pediatric solid tumors: preliminary results of a pilot study and analysis of graft versus tumor effects. / P. Lang, M. Pfeiffer, I. Mueller [et al.] // *Klin Padiatr.* – 2006. – Vol. 218, N 6. – P. 321–326.

104. Lee, J.W. Incorporation of high-dose  $^{131}\text{I}$ -metaiodobenzylguanidine treatment into killer immunoglobulin-like receptor/HLA-ligand mismatched haploidentical stem cell transplantation for children with neuroblastoma who failed tandem autologous stem cell transplantation. / J.W. Lee, E.S. Kang, K.W. Sung [et al.] // *Pediatr Blood Cancer.* – 2017. – Vol. 64, N 6.

105. London, W.B. Clinical and biological features predictive of survival after relapse of neuroblastoma: a report from the International Neuroblastoma Risk Group project. / W.B. London, V. Castel, T. Monclair [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2011. – Vol. 29, N 24. – P. 3286–3292.

106. London, W.B. Evidence for an age cutoff greater than 365 days for neuroblastoma risk group stratification in the Children's Oncology Group. / W.B. London, R.P. Castleberry, K.K. Matthay [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2005. – Vol. 23, N 27. – P. 6459–6465.



107. London, W.B. Historical time to disease progression and progression-free survival in patients with recurrent/refractory neuroblastoma treated in the modern era on Children's Oncology Group early-phase trials. / W.B. London, R. Bagatell, B.J. Weigel [et al.] // *Cancer*. – 2017. – Vol. 123, N 24. – P. 4914–4923.

108. Louis, C.U. Antitumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor–positive T cells in patients with neuroblastoma. / C.U. Louis, B. Savoldo, G. Dotti [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol. 118, N 23. – P. 6050-6056.

109. Maris, J. Neuroblastoma. / J. Maris, M. Hogarty, R. Bagatell [et al.] // *Lancet*. – 2007. – Vol. 369, N 9579. – P. 2106–2120.

110. Maris, J. Recent Advances in Neuroblastoma. / J. Maris // *N Engl J Med*. – 2010. – Vol. 362, N 23. – P. 2202–2211.

111. Matthay, K.K. Allogeneic versus autologous purged bone marrow transplantation for neuroblastoma: a report from the Children's Cancer Group. / K.K. Matthay, R.C. Seeger, C.P. Reynolds [et al.] // *J Clin Oncol*. – 1994. – Vol. 12, N 11. – P. 2382–2389.

112. Matthay, K.K. Criteria for evaluation of disease extent by (123)I-metaiodobenzylguanidine scans in neuroblastoma: a report for the International Neuroblastoma Risk Group (INRG) Task Force. / K.K. Matthay, B. Shulkin, R. Ladenstein [et al.] // *Br J Cancer*. – 2010. – Vol. 102, N 9. – P. 1319–1326.

113. Matthay, K.K. ERRATA. / K.K. Matthay, C.P. Reynolds, R.C. Seeger [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2014. – Vol. 32, N 17. – P. 1862-1863.

114. Matthay, K.K. Long-term results for children with high-risk neuroblastoma treated on a randomized trial of myeloablative therapy followed by 13-cis-retinoic acid: a children's oncology group study. / K.K. Matthay, C.P. Reynolds, R.C. Seeger [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2009. – Vol. 27, N 7. – P. 1007-1013.

115. Matthay, K.K. Phase II study on the effect of disease sites, age, and prior therapy on response to iodine-131-metaiodobenzylguanidine therapy in refractory neuroblastoma. / K.K. Matthay, G. Yanik, J. Messina [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2007. – Vol. 25, N 9. – P. 1054–1060.

116. Matthay, K.K. Reply to N.-K.V. Cheung et al. / K.K. Matthay, W.B. London, J. Moris [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2014. – Vol. 32, N 36. – P. 4174-4175.

117. Matthay, K.K. Treatment of high-risk neuroblastoma with intensive chemotherapy, radiotherapy, autologous bone marrow transplantation, and 13-cis-retinoic acid. Children's Cancer Group./ K.K. Matthay, J.G. Villablanca, R.C. Seeger [et al.] // *N Engl J Med.* – 1999. – Vol. 341, N 16. – P. 1165–1173.

118. Minturn, J.E. Phase I trial of lestaurtinib for children with refractory neuroblastoma: a new approach to neuroblastoma therapy consortium study. / J.E. Minturn, A.E. Evans, J.G. Villablanca [et al.] // *Cancer Chemother Pharmacol.* – 2011. – Vol. 68, N 4. – P. 1057–1065.

119. Mody, R. Irinotecan, Temozolomide, and Dinutuximab With GM-CSF in Children With Refractory or Relapsed Neuroblastoma: A Report From the Children's Oncology Group. / R. Mody, A.L. Yu, A. Naranjo [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2020. – Vol. 38, N 19. – P. 2160–2169.

120. Monclair, T. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) staging system: an INRG task force report. / T. Monclair, G.M. Brodeur, P.F. Ambros [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 27, N 2. – P. 298–303.

121. Morandi, F. Immunotherapeutic Strategies for Neuroblastoma: Present, Past and Future. / F. Morandi, F. Sabatini, M. Podestà [et al.] // *Vaccines (Basel).* – 2021. – Vol. 9, N 1. – P. 43.

122. Moreno, L. Outcome of children with relapsed or refractory neuroblastoma: A meta-analysis of ITCC/SIOPEN European phase II clinical trials. / L. Moreno, H. Rubie, A. Varo [et al.] // *Pediatr Blood Cancer.* – 2017. – Vol. 64, N 1. – P. 25–31.

123. Morgenstern, D.A. Metastatic neuroblastoma confined to distant lymph nodes (stage 4N) predicts outcome in patients with stage 4 disease: a study from the International Neuroblastoma Risk Group Database. / D.A. Morgenstern, W.B. London, D. Stephens [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2014. – Vol. 32, N 12. – P. 1228–1235.

124. Morgenstern, D.A. Prognostic significance of pattern and burden of metastatic disease in patients with stage 4 neuroblastoma: A study from the

International Neuroblastoma Risk Group database. / D.A. Morgenstern, W.B. London, D. Stephens D [et al.] // *Eur J Cancer*. – 2016. – Vol. 65. – P. 1–10.

125. Morgenstern, D.A. Risk stratification of high-risk metastatic neuroblastoma: A report from the HR-NBL-1/SIOPEN study. / D.A. Morgenstern, U. Pötschger, L. Moreno [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2018. – Vol. 65, N 11. – P. e27363.

126. Moroz, V. Changes over three decades in outcome and the prognostic influence of age-at-diagnosis in young patients with neuroblastoma: a report from the International Neuroblastoma Risk Group Project. / V. Moroz, D. Machin, A. Faldum [et al.] // *Eur J Cancer*. – 2011. – Vol. 47, N 4. – P. 561–571.

127. Mossé, Y.P. Identification of ALK as a major familial neuroblastoma predisposition gene. / Y.P. Mossé, M. Laudenslager, L. Longo [et al.] // *Nature*. – 2008. – Vol. 455, N 7215. – P. 930–935.

128. Mossé, Y.P. Neuroblastoma in older children, adolescents and young adults: a report from the International Neuroblastoma Risk Group project. / Y.P. Mossé, R.J. Deyell, F. Berthold [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2014. – Vol. 61, N 4. – P. 27–35.

129. Mossé, Y.P. Safety and activity of crizotinib for paediatric patients with refractory solid tumors or anaplastic large-cell lymphoma: a Children's Oncology Group phase 1 consortium study. / Y.P. Mossé, M.S. Lim, S.D. Voss [et al.] // *Lancet Oncol*. – 2013. – Vol. 14, N 6. – P. 472–480.

130. Mueller, I. Tolerability, response and outcome of high-risk neuroblastoma patients treated with long-term infusion of anti-GD<sub>2</sub> antibody ch14.18/CHO. / I. Mueller, K. Ehlert, S. Endres [et al.] // *Mabs*. – 2018. – Vol. 10, N 1. – P. 55–61.

131. Neal, Z. NXS2 murine neuroblastomas express increased levels of MHC class I antigens upon recurrence following NK-dependent immunotherapy. / Z. Neal, M. Imboden, A. Rakhmelevich [et al.] // *Cancer Immunol Immunother*. – 2004. – Vol. 53, N 1. – P. 41–52.

132. Nuchtern, J.G. A prospective study of expectant observation as primary therapy for neuroblastoma in young infants: a Children's Oncology Group study. / J.G.

Nuchtern, W.B. London, K.K. Barnewolt [et al.] // *Ann Surg.* – 2012. – Vol. 256, N 4. – P. 573-580.

133. Okada, K. Sorafenib treatment in children with relapsed and refractory neuroblastoma: an experience of four cases. / K. Okada, Y. Nakano, K. Yamasaki [et al.] // *Cancer Med.* – 2016. – Vol. 5, N 8. – P. 1947–1949.

134. Ozkaynak, M.F. A Comprehensive Safety Trial of Chimeric Antibody 14.18 With GM-CSF, IL-2, and Isotretinoin in High-Risk Neuroblastoma Patients Following Myeloablative Therapy: Children's Oncology Group Study ANBL0931. / M.F.Ozkaynak, A.L. Gilman, W.B. London [et al.] // *Front Immunol.* – 2018. Vol. 9. – P. 1355–1355.

135. Parikh, N.S. SIOP-PODC adapted risk stratification and treatment guidelines: Recommendations for neuroblastoma in low- and middle-income countries. / N.S. Parikh, S.C. Howard, G. Chantada G [et al.] // *Pediatr Blood Cancer.* – 2015. – Vol. 62, N 8. – P. 1305–1316.

136. Park, J.R. Adoptive Transfer of Chimeric Antigen Receptor Re-directed Cytolytic T Lymphocyte Clones in Patients with Neuroblastoma. / J.R. Park, D.L. DiGiusto, M. Slovak [et al.] // *Mol Ther.* – 2007. – Vol. 15, N 4. – P. 825-833.

137. Park, J.R. Effect of Tandem Autologous Stem Cell Transplant vs Single Transplant on Event-Free Survival in Patients With High-Risk Neuroblastoma: A Randomized Clinical Trial. / J.R. Park, S.G. Kreissman, W.B. London [et al.] // *JAMA.* – 2019. – Vol. 322, N 8. – P. 746–755.

138. Passweg, J.R. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40 000 transplants annually. / J.R. Passweg, H. Baldomero, P. Bader [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2016. – Vol. 51, N 6. – P. 786–792.

139. Passweg, J.R. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe: data and trends in 2012 with special consideration of pediatric transplantation. / J.R. Passweg, H. Baldomero, C. Peters [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2014. – Vol. 49, N 6. – P. 744–750.

140. Passweg, J.R. The EBMT activity survey on hematopoietic-cell transplantation and cellular therapy 2018: CAR-T's come into focus. / J.R. Passweg, H.

Baldomero, C. Cabannon [et al.] // Bone Marrow Transplant. – 2020.– Vol. 55, N 8. – P. 1604–1613.

141. Peinemann, F. Retinoic acid postconsolidation therapy for high-risk neuroblastoma patients treated with autologous hematopoietic stem cell transplantation. / F. Peinemann, E.C. van Dalen, D.A. H. Enk [et al.] // Cochrane Database Syst Rev. – 2017. – Vol. 8, N 8. – P. CD010685.

142. Perez, C.A. Biologic variables in the outcome of stages I and II neuroblastoma treated with surgery as primary therapy: a children's cancer group study. / C.A. Perez, K.K. Matthay, J.B. Atkinson [et al.] // J Clin Oncol. – 2000. – Vol. 18, N 1. – P. 18-26.

143. Pérez-Martínez, A. Natural killer cells can exert a graft-vs-tumor effect in haploidentical stem cell transplantation for pediatric solid tumors. / A. Pérez-Martínez, I. de Prada Vicente, L. Fernández [et al.] // Exp Hematol. – 2012. – Vol. 40, N 11. – P. 882–891.

144. Peuchmaur, M. Revision of the International Neuroblastoma Pathology Classification: confirmation of favorable and unfavorable prognostic subsets in ganglioneuroblastoma, nodular. / M. Peuchmaur, E.S. d'Amore, V.V. Joshi [et al.] // Cancer. – 2003. – Vol. 98, N 10. – P. 2274–2281.

145. Philip, T. Improved survival at 2 and 5 years in the LMCE1 unselected group of 72 children with stage IV neuroblastoma older than 1 year of age at diagnosis: is cure possible in a small subgroup? / T. Philip, J.M. Zucker, J.L. Bernard [et al.] // J Clin Oncol. – 1991. – Vol. 9, N 6. – P. 1037–1044.

146. Philip, T. 1070 myeloablative megatherapy procedures followed by stem cell rescue for neuroblastoma: 17 years of European experience and conclusions. European Group for Blood and Marrow Transplant Registry Solid Tumour Working Party. / T. Philip, R. Ladenstein, C. Lasset [et al.] // Eur J Cancer. – 1997. – Vol. 33, N 12. – P. 2130–2135.

147. Pinkerton, CR. ENSG 1-randomised study of high-dose melphalan in neuroblastoma. / C.R. Pinkerton // Bone Marrow Transplant. – 1991. - Vol 7, N 3s. – P. 112–113.

148. Pinto, N. Phase I study of vorinostat in combination with isotretinoin in patients with refractory/recurrent neuroblastoma: A new approaches to Neuroblastoma Therapy (NANT) trial. / N. Pinto, S.G. DuBois, A. Marachelian [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2018. – Vol. 65, N 7 – P. e27023.

149. Pinto, N.R. Advances in Risk Classification and Treatment Strategies for Neuroblastoma. / N.R. Pinto, M.A. Applebaum, S.L. Volchenbom [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2015. – Vol. 33, N 27. – P. 3008–3017.

150. Pole, J.G. High-dose chemoradiotherapy supported by marrow infusions for advanced neuroblastoma: a Pediatric Oncology Group study. / J.G. Pole, J. Casper, G. Elfenbein [et al.] // *J Clin Oncol*. – 1991. – Vol. 9, N 1. – P. 152–158.

151. Pritchard, J. High-dose melphalan in the treatment of advanced neuroblastoma: Results of a randomized trial (ENSG-1) by the European Neuroblastoma Study Group. / J. Pritchard, S.L. Cotteril, S.M. Germond [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2005. – Vol. 44, N 4. – P. 348-357.

152. Pugh, T.J. The genetic landscape of high-risk neuroblastoma. / T.J. Pugh, O. Morozova, E.F. Attiyeh [et al.] // *Nat Genet*. – 2013. – Vol. 45, N 3. – P. 279–284.

153. Rettig, I. Selective inhibition of HDAC8 decreases neuroblastoma growth in vitro and in vivo and enhances retinoic acid-mediated differentiation. / I. Rettig, E. Koeneke, F. Trippe [et al.] // *Cell Death Dis*. – 2015. – Vol. 6, N 2. – P. e1657. doi: 10.1038/cddis.2015.24.

154. Rill, D.R. Direct demonstration that autologous bone marrow transplantation for solid tumors can return a multiplicity of tumorigenic cells. / D.R. Rill, V.M. Santana, W.M. Roberts [et al.] // *Blood*. – 1994. – Vol. 84, N 2. – P. 380–383.

155. Ritenour, L.E. Genetic susceptibility to neuroblastoma: current knowledge and future directions. / L.E. Ritenour, M.P. Randall, K.R. Bosse [et al.] // *Cell Tissue Res*. – 2018. – Vol. 372, N 2. – P. 287–307.

156. Rix, U. Chemical proteomic profiles of the BCR-ABL inhibitors imatinib, nilotinib, and dasatinib reveal novel kinase and nonkinase targets. / U. Rix, O. Hantschel, G. Dürnberg [et al.] // *Blood*. – 2007. – Vol. 110, N 12. – P. 4055–4063.

157. Russo, A. NK cell recovery after haploidentical HSCT with posttransplant cyclophosphamide: dynamics and clinical implications. / A. Russo, G. Oliveira, S. Berglund [et al.] // *Blood*. – 2018. – Vol. 131, N 2. – P. 247-262.

158. Sano, H. International neuroblastoma pathology classification adds independent prognostic information beyond the prognostic contribution of age. / H. Sano, J. Bonadio, R.B. Gerbing [et al.] // *Eur J Cancer*. – 2006. – Vol. 42, N 8. – P. 1113–1119.

159. Sato, Y. I-131-metaiodo-benzylguanidine therapy with allogeneic cord blood stem cell transplantation for recurrent neuroblastoma. / Y. Sato, H. Kurosawa, K. Fukushima [et al.] // *Ital J Pediatr*. – 2012. - Vol. 38, N 1. – P. 53.

160. Sawada, A. Feasibility of HLA-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation with post-transplantation cyclophosphamide for advanced pediatric malignancies. / A. Sawada, M. Shimizu, K. Isaka [et al.] // *Pediatr Hematol Oncol*. – 2014. – Vol. 31, N 8. – P. 754–764.

161. Schleiermacher, G. Segmental chromosomal alterations have prognostic impact in neuroblastoma: a report from the INRG project. / G. Schleiermacher, V. Mosseri, W.B. London [et al.] // *Br J Cancer*. – 2012. – Vol. 107, N 8. – P. 1418–1422.

162. Schmidt, M. Is there a benefit of 131 I-MIBG therapy in the treatment of children with stage 4 neuroblastoma? A retrospective evaluation of the German Neuroblastoma Trial NB97 and implications for The German Neuroblastoma Trial NB2004. / M. Schmidt, T. Simon, B. Hero [et al.] // *Nuklearmedizin*. – 2006. - Vol. 45, N 4. – P. 145–151.

163. Seddon, B.M. Fatal radiation myelopathy after high-dose busulphan and melphalan chemotherapy and radiotherapy for Ewing's sarcoma: a review of the literature and implications for practice. / B.M. Seddon, A.M. Cassoni, M.L. Galloway [et al.] // *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. – 2005. – Vol. 17, N 5. – P. 385–390.

164. Seidel, D. Disialoganglioside-specific human natural killer cells are effective against drug-resistant neuroblastoma. / D. Seidel, A. Shibina, N. Siebert [et al.] // *Cancer Immunol Immunother*. – 2015. – Vol. 64, N 5. –P. 621-634.

165. Seif, A.E. A pilot study of tandem high-dose chemotherapy with stem cell rescue as consolidation for high-risk neuroblastoma: Children's Oncology Group study ANBL00P1. / A.E. Seif, A. Naranjo, D.L. Baker DL [et al.] // Bone Marrow Transplant. – 2013. – Vol. 48, N 7. – P. 947–952.
166. Shimada, H. The International Neuroblastoma Pathology Classification (the Shimada system). / H. Shimada, I.M. Ambros, L.P. Dehner [et al.] // Cancer. – 1999. – Vol. 15, N 2. – P. 364-372.
167. Sholler, G.L.S. A Phase I Trial of DFMO Targeting Polyamine Addiction in Patients with Relapsed/Refractory Neuroblastoma. / G.L.S. Sholler, W.Ferguson, G. Bergendahl [et al.] // Sci Rep. – 2018. – Vol. 8, N 1. –P. 14445.
168. Shuster, J.J. The prognostic significance of autologous bone marrow transplant in advanced neuroblastoma. / J.J. Shuster, A.B. Cantor, N. McWilliams [et al.] // J Clin Oncol. – 1991. – Vol. 9, N 6. – P. 1045–1049.
169. Siebert, N. Neuroblastoma patients with high-affinity FCGR2A, -3A and stimulatory KIR 2DS2 treated by long-term infusion of anti-GD<sub>2</sub> antibody ch14.18/CHO show higher ADCC levels and improved event-free survival. / N. Siebert, C. Jensen, S. Troschke-Meurer [et al.] // Oncoimmunology. – 2016. – Vol. 5, N 11 – P. e1235108.
170. Siebert, N. PD-1 blockade augments anti-neuroblastoma immune response induced by anti-GD<sub>2</sub> antibody ch14.18/CHO. / N. Siebert, M. Zumpe, M. Jüttner [et al.] // Oncoimmunology. – 2017. – Vol. 6, N 10 – P. e1343775.
171. Siegel, R.L. Cancer Statistics, 2017. / R.L. Siegel, K.D. Miller, A. Jemal. // CA Cancer J Clin. – 2017. – Vol. 67. – N 1. – P. 7–30.
172. Simon, T. 2017 GPOH Guidelines for Diagnosis and Treatment of Patients with Neuroblastic Tumors. / T. Simon, B. Hero, J.H. Schulte et al. // Klin Pediatr. – 2017. – Vol. 229, N 3. – P. 147–167.
173. Simon, T. Risk estimation in localized unresectable single copy MYCN neuroblastoma by the status of chromosomes 1p and 11q. / T. Simon, R. Spitz, B. Hero [et al.] // Cancer Lett. – 2006. – Vol. 237, N 2. – P. 215–222.



174. Simon, T. Treatment and outcomes of patients with relapsed, high-risk neuroblastoma: results of German trials. / T. Simon, F. Berthold, A. Borkhardt [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2011. – Vol. 56, N 4. – P. 578–583.

175. Smith, M.A. Declining childhood and adolescent cancer mortality. / M.A. Smith, S.F. Alterkruse, P.C. Adamson [et al.] // *Cancer*. – 2014. – Vol. 120, N 16. – P. 2497–2506.

176. Straathof, K. Antitumor activity without on-target off-tumor toxicity of GD2-chimeric antigen receptor T cells in patients with neuroblastoma. / K. Straathof, B. Flutter, R. Wallace [et al.] // *Sci Transl Med*. – 2020. – Vol. 12, N 571. – P. eabd6169.

177. Stram, D.O. Consolidation chemoradiotherapy and autologous bone marrow transplantation versus continued chemotherapy for metastatic neuroblastoma: a report of two concurrent Children's Cancer Group Study. / D.O. Stram, K.K. Matthay, M. O'Leary M [et al.] // *J Clin Oncol*. – 1996. – Vol. 14. – N 9. – P. 2412–2426.

178. Suo, C. Accumulation of potential driver genes with genomic alterations predicts survival of high-risk neuroblastoma patients. / C. Suo, W. Deng, T.N. Vu [et al.] // *Biol Direct*. – 2018. – Vol. 13, N 1. – P. 14-14.

179. Suzuki, M. Anti-GD2 immunotherapy in adults with high-risk neuroblastoma (HR-NB): The Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC) experience. / M. Suzuki, B.H. Kushner, K. Kramer [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2017. – Vol. 15, N 15s. – P. 10550–10550.

180. Suzuki, M. Treatment and outcome of adult-onset neuroblastoma. / M. Suzuki, B.H. Kushner, K. Kramer [et al.] // *Int J Cancer*. – 2018. – Vol. 143, N 5. – P. 1249–1258.

181. Taggart, D.R. Prognostic value of the stage 4S metastatic pattern and tumor biology in patients with metastatic neuroblastoma diagnosed between birth and 18 months of age. / D.R. Taggart, W.B. London, M.L. Schmidt [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2011. – Vol. 29, N 33. – P. 4358–4364.

182. Takahashi, H. Iodine-131-metaiodobenzylguanidine therapy with reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation in recurrent neuroblastoma. / H.

Takahashi, A. Manabe, C. Aoyama [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2008. - Vol. 50, N 3. – P. 676–678.

183. Thomas, E.D. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. / E.D. Thomas, H.L. Lochte, W.C. Lu [et al.] // *N Engl J Med*. – 1957. – Vol. 257, N 11. – P. 491–496.

184. Toporski, J. High-dose iodine-131-metaiodobenzylguanidine with haploidentical stem cell transplantation and posttransplant immunotherapy in children with relapsed/refractory neuroblastoma. / J. Toporski, M. Garkavij, J. Tennvall [et al.] // *Biol Blood Marrow Transplant*. – 2009. – Vol. 15, N 9. – P. 1077-1085.

185. Tulla, M. Incidence, Trends, and Survival of Children With Embryonal Tumors. / M. Tulla, F. Berthold, N. Graf N [et al.] // *Pediatrics*. – 2015. – Vol. 136, N 3. – P. e623–632.

186. Vaishnavi, A. TRKking down an old oncogene in a new era of targeted therapy. / A. Vaishnavi, A.T. Le, R.C. Doebele // *Cancer Discov*. – 2015. – Vol. 5, N 1. – P. 25–34.

187. Venstrom, J. KIR and HLA genotypes are associated with disease prognosis and survival following autologous hemopoietic stem cell transplantation for high-risk neuroblastoma. / J. Venstrom, J. Zheng, N. Noot // *Clin Cancer Res*. – 2009. – Vol. 15, N 23. – P. 7330–7334.

188. Verma, P. Complete response with crizotinib in two children with chemotherapy resistant neuroblastoma. / P. Verma, S. Jain, G. Kapoor // *Asian J Cancer*. – 2017. – Vol. 6, N 2. – P. 89–90.

189. Villablanca, J.G. Predictors of response, progression-free survival, and overall survival using NANT Response Criteria (v1.0) in relapsed and refractory high-risk neuroblastoma. / J.G. Villablanca, L. Ji, A. Shapira-Lewinson [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2018. – Vol. 65, N 5 – P. e26940.

190. Vitali, R. Activity of tyrosine kinase inhibitor Dasatinib in neuroblastoma cells in vitro and in orthotopic mouse model. / R. Vitali, C. Mancini, V. Cesi [et al.] // *Int J Cancer*. – 2009. – Vol. 125, N 11. – P. 2547–2555.

191. Wang, M. ALK amplification and protein expression predict inferior prognosis in neuroblastomas. / M. Wang, C. Zhou, Q. Sun [et al.] // *Exp Mol Pathol.* – 2013. – Vol. 95, N 2. – P. 124–130.
192. Ward, E. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. / E. Ward, C. DeSantis, A. Robbins [et al.] // *CA Cancer J Clin.* – 2014. – Vol. 64, N 2. – P. 83–103.
193. Wienke, J. The immune landscape of neuroblastoma: Challenges and opportunities for novel therapeutic strategies in pediatric oncology. / J. Wienke, M.P. Dierselhuis, G.A.M. Tytgat [et al.] // *Eur J Cancer.* – 2021. – Vol. 144. – P. 123-150.
194. Wölfl, M. Expression of MHC class I, MHC class II, and cancer germline antigens in neuroblastoma. / M. Wölfl, A.A. Jungbluth, F. Garrido [et al.] // *Cancer Immunol Immunother.* – 2005. – Vol. 54, N 4. – P. 400–406.
195. Yalcin, B. High-dose chemotherapy and autologous haematopoietic stem cell rescue for children with high-risk neuroblastoma. / B. Yalcin, L.C. Kremer, H.N. Caron [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2013. – Vol. 22. – N 8. – P. CD006301.
196. Yamamoto, K. Marginal decrease in mortality and marked increase in incidence as a result of neuroblastoma screening at 6 months of age: cohort study in seven prefectures in Japan. / K. Yamamoto, S. Ohta, E. Ito [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2002. – Vol. 20, N 5. – P. 1209–1214.
197. Yanik, G.A. 131 I-Metaiodobenzylguanidine with Intensive Chemotherapy and Autologous Stem Cell Transplantation for High-Risk Neuroblastoma. A New Approaches to Neuroblastoma Therapy (NANT) Phase II Study. / G.A. Yanik, J.G. Villablanca, J.M. Maris [et al.] // *Biol Blood Marrow Transplant.* – 2015. – Vol. 21, N 4. – P. 673-681.
198. Yanik, G.A. Semiquantitative mIBG scoring as a prognostic indicator in patients with stage 4 neuroblastoma: a report from the Children's oncology group. / G.A. Yanik, M.T. Parisi, B.L. Shulkin [et al.] // *J Nucl Med.* – 2013. – Vol. 54, N 4. – P. 541–548.
199. Yankelevich, M. Anti-CD3 x anti-GD2 bispecific antibody redirects T-cell cytolytic activity to neuroblastoma targets. / M. Yankelevich, S.V. Kondadasula, A. Thakur [et al.] // *Pediatr Blood Cancer.* – 2012. – Vol. 59, N 7. – P. 1198-1205.

200. Yori, J.L. Combined SFK/mTOR inhibition prevents rapamycin-induced feedback activation of AKT and elicits efficient tumor regression. / J.L. Yori, K.L. Lozada, D.D. Seachrist [et al.] // *Cancer Res.* – 2014. – Vol. 74, N 17. – P. 4762–4771.

201. Yu, A.L. Long-term Follow-up of a Phase III Study of ch14.18 (Dinutuximab) + Cytokine Immunotherapy in Children with High-Risk Neuroblastoma: COG Study ANBL0032. / A.L. Yu, A.L. Gilman, M.F. Ozkaynak [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2021. – Vol. 27, N 8. – P. 2179–2189.

202. Zafar, A. Molecular targeting therapies for neuroblastoma: Progress and challenges. / A. Zafar, W. Wang, G. Liu [et al.] // *Med Res Rev.* – 2021. – Vol. 41, N 2. – P. 961–1021.

203. Zhou, M.J. Different outcomes for relapsed versus refractory neuroblastoma after therapy with (131)I-metaiodobenzylguanidine ((131)I-MIBG). / M.J. Zhou, M.Y. Doral, S.G. DuBois [et al.] // *Eur J Cancer.* – 2015. – Vol. 51, N 16. – P. 2465–2472.