

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. АКАД. И.П. ПАВЛОВА»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

**Рахманова  
Жемал Зарифовна**

**РОЛЬ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА В  
ЛЕЧЕНИИ ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ В  
ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА И ФАКТОРОВ РИСКА**

3.1.28. Гематология и переливание крови

**ДИССЕРТАЦИЯ**  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук  
Е.В. Семенова

Санкт-Петербург – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
Глава 1. АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ТЕРАПИИ ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ).....	16
1.1. Патогенез острого миелоидного лейкоза у детей.....	16
1.2. Диагностика острого миелоидного лейкоза у детей .....	20
1.3. Классификация ОМЛ.....	20
1.4. Стратификация пациентов и факторы риска при ОМЛ у детей.....	22
1.5. Терапия острого миелоидного лейкоза у детей .....	27
1.6. Новые терапевтические опции в лечении ОМЛ у детей.....	31
1.7. Аллогенная ТГСК в терапии острого миелоидного лейкоза у детей .....	36
1.7.1 Современные показания к алло-ТГСК у детей с ОМЛ .....	37
1.7.2 Роль «минимальной определяемой болезни» на разных этапах терапии ОМЛ у детей и методы выявления.....	40
1.7.3 Влияние выбора режима кондиционирования на результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ.....	44
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	51
2.1 Характеристика пациентов.....	51
2.1.1 Режимы кондиционирования .....	53
2.1.2 Оценка минимальной определяемой болезни (МОБ) .....	55
2.1.3 Профилактика реакции «трансплантат против хозяина» .....	56
2.1.4 Терапия после алло-ТГСК.....	57
2.1.5 Исследование уровня экспрессии генов, характерных для лейкемических стволовых клеток .....	59
2.2 Методы оценки эффективности аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.....	62

2.3 Методы оценки безопасности аллогенной трансплантации гемопозитических стволовых клеток .....	64
2.4 Методы математической обработки результатов исследования.....	65
Глава 3. ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЛО-ТГСК У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ .....	67
3.1 Приживление трансплантата.....	67
3.2 Показатели выживаемости пациентов в общей группе .....	68
3.3 Показатели выживаемости в зависимости от возрастной группы .....	70
3.4 Кумулятивная частота возникновения рецидивов, осложнений раннего и позднего периодов после алло-ТГСК у детей с ОМЛ разных возрастных групп .....	74
3.5 Значение генетического профиля пациентов с ОМЛ в зависимости от возраста при алло-ТГСК.....	76
3.6 Летальность после алло-ТГСК в разных возрастных группах.....	79
Глава 4. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕЖИМОВ КОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПОСЛЕ АЛЛО-ТГСК У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ.....	82
4.1 Влияние интенсивности режимов кондиционирования на результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ .....	82
4.2 Влияние различных доз бусульфана на исход алло-ТГСК у детей с ОМЛ .....	91
Глава 5. МИНИМАЛЬНАЯ ОПРЕДЕЛЯЕМАЯ БОЛЕЗНЬ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЛЕЙКЕМИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛКТОК .....	96
5.1 Значение определения МОБ перед алло-ТГСК стандартными методами.	96
5.2 Влияние экспрессии генов, характерных для лейкемических стволовых клеток на результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ.....	98
Глава 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	101
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	112
ВЫВОДЫ.....	114
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	117

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ .....	118
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	119
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	121

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования**

Острые лейкозы занимают первое место в структуре онкологической заболеваемости у пациентов детского возраста [1]. Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) - гетерогенная группа клональных опухолевых заболеваний кроветворной ткани, связанных с мутацией в клетке-предшественнице миелопоэза, следствием которой становятся блок дифференцировки и неконтролируемая пролиферация незрелых миелоидных клеток [2, 3]. Несмотря на то, что ОМЛ составляет только 20% детских лейкозов, ОМЛ превосходит острые лимфобластные лейкозы как лидирующая причина детской смертности [4].

За последние десятилетия ведущим международным исследовательским группам при разработке протоколов лечения ОМЛ у детей удалось добиться уровня бессобытийной выживаемости (БСВ) 49-57% и общей выживаемости (ОВ) 62%-74% [5, 6]. Успехи и достижения современной химио- и иммунотерапии стали возможными наряду с совершенствованием технологии аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) – потенциально излечивающим методом лечения, наилучшим способом, обеспечивающим долгосрочную ремиссию заболевания для детей с ОМЛ высокой группы риска. В ряде исследований показано, что у пациентов, получивших алло-ТГСК риск рецидива снижается на 20-30%, по сравнению с теми, кто получил только интенсивную терапию в качестве консолидации ремиссии [7-9]. При этом существенное значение может иметь ремиссионный статус на момент выполнения алло-ТГСК. Так, в наиболее крупном многоцентровом исследовании AML SCT-BFM 2007, в которое было включено 140 детей с ОМЛ, было показано, что при выполнении алло-ТГСК в первой ремиссии

при медиане наблюдения 4 года ОВ составляет – 76%, во второй ремиссии – 46% [10]. В случае выполнения алло-ТГСК вне ремиссии заболевания показатели ОВ достигают 33% [11].

Несмотря на значительное снижение риска возврата заболевания у пациентов, получивших алло-ТГСК, рецидив остается одной из основных причин посттрансплантационной летальности. Персистенция минимальной определяемой болезни (МОБ) перед алло-ТГСК значительно ухудшает прогноз пациентов с ОМЛ, в связи с повышением кумулятивного риска рецидива [12]. Основными методами диагностики МОБ являются мультипараметрическая проточная цитометрия и определение рекуррентных генетических аномалий с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). Несмотря на широкую применимость определения МОБ с помощью проточной цитометрии, которая возможна более чем у 90% пациентов с ОМЛ, чувствительность метода на порядок ниже, чем при ПЦР-РВ и составляет 0,1 - 0,01% для лейкоэмических клеток [13]. Полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ) слитых транскриптов позволяет обнаруживать МОБ с уровнем чувствительности до 0,001%, однако она может быть применима только в 50–60% случаев ОМЛ у детей [14]. Таким образом, существует потребность в исследовании новых универсальных маркеров ОМЛ.

Персистенция клона лейкоэмических стволовых клеток (ЛСК) является субстратом для развития рецидива ОМЛ. В качестве нового универсального маркера, в дополнение к МОБ, определенной стандартными методами, может быть уровень экспрессии генов характерных для ЛСК [15]. В этом отношении МОБ, определенная в совокупности методов, в том числе с помощью исследования уровня экспрессии генов, характерных для ЛСК до алло-ТГСК, может быть критерием обоснованности показаний, выбора режима кондиционирования, необходимости назначения профилактики рецидива после алло-ТГСК.

Значительно улучшая безрецидивную выживаемость (БРВ), алло-ТГСК оказывает менее выраженное влияние на ОВ [16], так как проведение трансплантации костного мозга сопряжено с осложнениями как токсического, так и иммунного генеза. Показатели выживаемости могут отличаться у пациентов разной возрастных групп, в связи с различиями в переносимости проводимой терапии. По данным литературы пациенты младшего возраста имеют лучшие показатели долгосрочной выживаемости - в исследовании AML SCT-BFM 2007 было показано, что ОВ и БСВ у детей с ОМЛ младше 12 лет, в случае выполнения алло-ТГСК в 1 ремиссии составляют 94%, и 84%, соответственно [10]. При выполнении алло-ТГСК вне ремиссии заболевания ОВ составляет 46,7% для детей младше 9 лет и 18,5% для детей старшей возрастной группы ( $p=0,01$ ) [11]. В этой связи имеет значение поиск путей снижения риска токсических осложнений, в первую очередь от интенсивности режима кондиционирования (РК) перед алло-ТГСК. При этом попытка уменьшения цитостатической нагрузки не должна приводить к увеличению риска рецидива заболевания после трансплантации, в данном случае развитие иммуноадаптивного эффекта после выполненной алло-ТГСК, вероятно, будет иметь решающее значение.

### **Степень разработанности темы исследования**

Учитывая отсутствие убедительных крупных проспективных рандомизированных исследований, роль алло-ТГСК у детей с ОМЛ остается дискуссионной. Нерешенным остается вопрос о сроках выполнения алло-ТГСК в зависимости от ремиссионного статуса. В наиболее крупном рандомизированном исследовании немецких коллег представлены показатели долгосрочной выживаемости пациентов с ОМЛ в разном ремиссионном статусе, однако прямой анализ сравнения основных показателей эффективности алло-ТГСК в зависимости от статуса заболевания не проводился [10].

Опубликованные данные о различиях в эффективности алло-ТГСК в зависимости от возрастной группы ограничены сравнением младшей возрастной группы (младше 9-12 лет), а также подростков и молодых взрослых, в то время как различия для пациентов с младенческим ОМЛ в этом контексте не анализировались [10, 11, 17].

В настоящее время также затруднительно ответить на вопросы о выборе оптимальной интенсивности режима кондиционирования. Традиционно считается, что миелоаблативное кондиционирование (МАК) имеет преимущество в отношении контроля над заболеванием у пациентов с острым лейкозом. В проспективных исследованиях на взрослой когорте пациентов с острым лейкозом было показано преимущество использования МАК для пациентов с хорошим соматическим статусом за счет более высокой БРВ, которая составила после МАК – 67,8% против 47,3% после режима кондиционирования сниженной интенсивности (РИК) ( $p < 0,01$ ). Однако данное преимущество нивелируется более высоким уровнем трансплантационной летальности и повышенной частотой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), наблюдаемой при этих схемах, которая вызвана повышенным повреждением тканей, которые активируют аллореактивные донорские клетки [18]. На детской когорте 118 пациентов с ОМЛ Бондаренко С.Н. и соавт., (2015 г.) была продемонстрирована сопоставимость режимов кондиционирования различной интенсивности у пациентов в 1 ремиссии: ОВ – 80% после МАК и 65% после РИК ( $p = 0,4$ ) и вне ремиссии: ОВ – 17% и 19%, соответственно. Однако во второй ремиссии было показано преимущество миелоаблативного кондиционирования - ОВ – 65% после МАК и 17% после РИК ( $p = 0,003$ ) [19]. Также, в настоящее время в литературе крайне мало работ о сравнении режимов кондиционирования на основе бусульфана у детей. Опубликованы результаты контролируемого, рандомизированного исследования фазы I/II, в котором было продемонстрировано преимущество дозы внутривенной формы бусульфана 11,2 мг/кг у взрослых пациентов с хроническим миелоидным лейкозом,



миелодиспластическим синдромом (МДС) и ОМЛ [20]. В то же время в литературе не опубликованы результаты сравнительного анализа эффективности алло-ТГСК в зависимости от дозы бусульфана в режиме кондиционирования у детей с ОМЛ.

Дискутабельным остается вопрос о влиянии статуса минимальной определяемой болезни перед алло-ТГСК, а также экспрессии генов, характерных для ЛСК. Одним из самых первых исследований, показывающих предиктивную значимость предтрансплантационной МОБ по данным иммунофенотипирования (ИФТ) у взрослых пациентов с ОМЛ, было исследование Walter и соавт., (2011 г.) где ретроспективно были проанализированы данные 99 пациентов в 1 ремиссии ОМЛ, получивших алло-ТГСК после миелоаблативного режима кондиционирования. Было продемонстрировано снижение 2-летней ОВ у пациентов с МОБ-позитивным статусом - 30,2% против 76,6% для пациентов с МОБ-негативным статусом, а также повышение кумулятивной частоты рецидива - 65% против 17,6%, соответственно. Похожие результаты были получены Ustun и соавт., (2016) [21]. В контексте педиатрического ОМЛ значение МОБ перед алло-ТГСК оценивалось исследовании I-BFM-AML - 5-летняя ОВ после ТГСК была значительно выше у пациентов с низким уровнем МОБ (определяемым как значение ниже  $2,1 \times 10^{-4}$ ) по сравнению с пациентами с высоким уровнем МОБ (83% против 57%;  $p = 0,012$ ) [22]. По результатам метаанализа 19 исследований, в которых оценивалась МОБ до ТГСК (в основном определяемая с помощью ИФТ) у 1431 детей и взрослых с ОМЛ, МОБ-позитивность перед ТГСК была связана со снижением БРВ, ОВ и повышением кумулятивной частоты рецидивов [12]. В то же время в литературе не представлены данные о влиянии посттрансплантационной профилактической терапии в зависимости от статуса МОБ перед алло-ТГСК.

Дополнительным фактором, отражающим глубину ремиссии заболевания может стать оценка персистенции клона ЛСК [15]. Опубликованы данные о высокой прогностической значимости экспрессии

генов, характерных для ЛСК в дебюте заболевания [24]. Однако до настоящего момента не была доказана прогностическая значимость молекулярно-генетических маркеров, отражающих количественные значения ЛСК, определенных у пациентов с ОМЛ перед алло-ТГСК.

С учетом актуальности, сложности и дефицита данных о факторах, влияющих на эффективность алло-ТГСК у детей с ОМЛ, важным представляется дальнейший детальный анализ и систематизация существующих данных.

### **Цель исследования**

Изучить взаимосвязь интенсивности режимов кондиционирования, возраста и статуса ремиссии в оценке долгосрочной выживаемости детей с острым миелоидным лейкозом при выполнении аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

### **Задачи исследования**

- 1) Оценить влияние возраста и статуса заболевания, вариантов цитогенетических изменений у детей с ОМЛ на эффективность алло-ТГСК
- 2) Проанализировать влияние режимов кондиционирования с различной интенсивностью доз на общую, бессобытийную выживаемость, трансплантационную летальность и кумулятивную частоту рецидива в исследуемой группе пациентов
- 3) Оценить эффективность миелоаблативных режимов кондиционирования у детей с ОМЛ в зависимости от дозы бусульфана при выполнении алло-ТГСК

- 4) Выявить взаимосвязь статуса минимальной определяемой болезни до трансплантации на результаты алло-ТГСК при различных режимах кондиционирования у детей с ОМЛ
- 5) Проанализировать значение экспрессии генов, характерных для лейкемических стволовых у детей с ОМЛ на результаты алло-ТГСК.

### **Научная новизна исследования**

Впервые на большой группе пациентов детского возраста с ОМЛ с длительным периодом наблюдения выполнено сравнение миелоаблативных режимов кондиционирования (МАК) в зависимости от доз бусульфана и режимов сниженной интенсивности доз (РИК)-перед алло-ТГСК.

Впервые выявлено прогностическое значение оценки уровня экспрессии генов, характерных для лейкемических стволовых клеток перед алло-ТГСК у детей с ОМЛ, сопоставлены данные о влиянии возраста и факторов риска, определяющие результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ высокой группы риска.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Исследование содержит данные о результатах применения алло-ТГСК с различной интенсивностью режимов кондиционирования у детей с ОМЛ с длительным периодом наблюдения. Определены основные показатели эффективности алло-ТГСК при ОМЛ детского возраста в зависимости от использования различных доз бусульфана в режиме кондиционирования. Оценено влияние факторов, таких как возраст на момент постановки диагноза, статус ремиссии на основании уровня МОБ, экспрессии генов, характерных для лейкемических стволовых клеток, на исходы алло-ТГСК у детей с ОМЛ, что позволит в дальнейшем оптимизировать методы профилактики и терапии рецидивов после алло-ТГСК

## Методология и методы исследования

Данное исследование является ретро-проспективным, проведенным в соответствии с современными требованиями к научно-исследовательской работе. Методология исследования основана на комплексном изучении факторов, влияющих на эффективность и безопасность алло-ТГСК у детей с ОМЛ. В работе были использованы общенаучные, клинические, специальные и статистические методы исследования.

### Основные положения, выносимые на защиту

1. Статус заболевания у детей с ОМЛ имеет определяющее значение в отношении эффективности алло-ТГСК. Среди возрастных категорий снижение показателей ОВ после алло-ТГСК, выполненной во 2 ремиссии заболевания по сравнению с 1 ремиссией, отмечается у детей от 11 до 18 лет ввиду высокой общей трансплантационной летальности. При этом цитогенетическая группа риска, определенная в дебюте заболевания, не влияет на результаты долгосрочной выживаемости у детей с ОМЛ после алло-ТГСК, в том числе у детей до 2 –х лет.
2. Факторы, улучшающие ОВ после МАК: 1-ая или 2-ая ремиссия на момент алло-ТГСК, наличие острой реакции «трансплантат против хозяина» (oРТПХ) 1-2 ст, отсутствие МОБ после алло-ТГСК, индекс Карновского/Ланского более 80%. Факторы, улучшающие ОВ после РИК – период выполнения алло-ТГСК 2013-2021гг, индекс Карновского/Ланского более 80%. Режимы кондиционирования со сниженной интенсивностью доз сопоставимы с миелоаблативными при выполнении алло-ТГСК.
3. Снижение дозы бусульфана до 12 мг/кг в миелоаблативных режимах кондиционирования у детей с ОМЛ не ведет к повышению

кумулятивной частоты рецидива, а, следовательно, снижению противолейкемического эффекта. Использование дозы бусульфана более 12 мг/кг в режиме подготовки перед алло-ТГСК приводит к более высоким показателям ранней трансплантационной летальности и снижению показателей ОВ.

4. Статус МОБ перед алло-ТГСК не оказывает статистически значимого влияния на ОВ. У пациентов детского возраста с положительным статусом МОБ перед алло-ТГСК имеется более высокая кумулятивная частота рецидива, что подчеркивает необходимость оптимизации методов профилактики рецидива на ранних сроках после алло-ТГСК.
5. Высокий уровень экспрессии генов, характерных для ЛСК, в дополнение к статусу МОБ определенному стандартными методами перед алло-ТГСК, может быть фактором, влияющим на показания к назначению терапии после алло-ТГСК с целью профилактики рецидива

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Степень достоверности результатов определяется объемом исследуемой выборки, состоящей из 216 пациентов, также в работе использовались достоверные методы исследования, были проанализированы качественно проведенные лабораторные анализы, применялись современные методы статистической обработки данных.

Основные результаты диссертационного исследования были представлены:

- в виде устных докладов на I Объединенном конгрессе НОДГО и РОДО «Актуальные проблемы и перспективы развития детской онкологии и гематологии в Российской Федерации – 2020», (Москва, 2020 г.); XIV и XVI Симпозиумах «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток», посвященных памяти Р.М. Горбачевой (Санкт-Петербург, 2020 г., 2022 г.); VI Всероссийской научно-практической конференции с международным

участием «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к терапии», (Санкт-Петербург, 2021 г.); VII Всероссийском конгрессе онкопациентов (Москва, 2022 г.); научно-практической конференции «Инновационные методы лечения онкологических и гематологических заболеваний у детей» (Санкт-Петербург, 2023 г.), IV объединенном конгрессе РОДОГ «Актуальные проблемы и перспективы развития детской онкологии и гематологии в Российской Федерации-2023» (Москва, 2023 г.), научно-практической конференции «Трансформация результатов клинических исследований в ежедневную практику» (Санкт-Петербург, 2023 г.)

-в виде постерных докладов на 45, 46, 48-й ежегодной встрече Европейского общества по трансплантации крови и костного мозга (EBMT 2019, 2020, 2022); на 62-й ежегодной встрече Американского общества гематологов (ASH 2020), XV Симпозиуме «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток», посвященных памяти Р.М. Горбачевой (Санкт-Петербург, 2021 г.); 54 конгрессе международного общества детских онкологов (SIOP 2022 г.). По теме диссертационной работы опубликовано 9 статей в журналах, индексируемых в базе данных Scopus и рекомендованные Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки России для публикации основных научных результатов диссертаций. Также был получен патент на изобретение RU2783950C1.

### **Внедрение результатов работы**

Результаты исследования внедрены в работу отделения трансплантации костного мозга для детей со злокачественными заболеваниями системы крови, амбулаторно-поликлиническое отделение НИИ ДОГиТ им.Р.М.Горбачевой, в подготовку лекций слушателям кафедры ГТТ с курсом детской онкологии имени проф. Б.В.Афанасьева ФГБОУ ВПО ПСПбГМУ им.акад И.П.Павлова Минздрава России, практику лечебной работы детского гематологического отделения Федерального государственного бюджетного

учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, а также в работу отделения онкогематологии Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения "Детский городской многопрофильный клинический специализированный центр высоких медицинских технологий".

### **Личное участие автора**

По теме диссертационной работы автором был проведен анализ как отечественных, так и зарубежных источников литературы. Автор диссертационной работы сформулировала цели и задачи исследования и оптимальные пути их решения. Автором исследования был проведен сбор и анализ данных историй болезни и лабораторных результатов пациентов с ОМЛ детского возраста. Был выполнен анализ полученных данных и их статистическая обработка. На основании полученных результатов были сформулированы выводы, основные положения, выносимые на защиту, изложены практические рекомендации.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа изложена на 145 страницах машинописного текста, содержит 19 рисунков и 28 таблиц. Структура диссертации включает введение, обзор литературы, материалы и методы проведенных исследований, результаты исследования, обсуждение результатов исследования, заключение, выводы, практические рекомендации и библиографический список. Библиографический список литературы содержит 11 отечественных и 170 зарубежных источников.

## Глава 1

### АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ТЕРАПИИ ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ)

Среди злокачественных заболеваний системы крови детей острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) составляет от 15 до 20% в год от общего количества заболевших [4, 25]. По данным регистра National Cancer Institute (NCI) заболеваемость ОМЛ зависит от возраста – наиболее высока у детей до одного года, составляя 21,3 на 1 000 000 человек в год, снижается до 4,1 на 1 000 000 человек в возрасте 5–9 лет. Начиная с подросткового возраста, заболеваемость ОМЛ растет – 7,8 на 1 000 000 человек, достигая наивысшего уровня у лиц старше 75 лет – 18,2 на 100 000 человек.

Несмотря на успехи в диагностике, стратификации пациентов по группам риска, внедрения новых протоколов химиотерапии и аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), результаты лечения ОМЛ детей остаются не удовлетворительными - 5-летняя БСВ не превышает 49%-57% , в то время как при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) БСВ достигла 85-92% [5], что связано с меньшей эффективностью протоколов терапии, что в свою очередь обусловлено биологическими особенностями популяции клеток, ответственных за инициацию и развитие клинических проявлений заболевания.

#### 1.1. Патогенез острого миелоидного лейкоза у детей

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) – быстро прогрессирующее заболевание, связанное с появлением злокачественного клона в пуле гемопоэтической стволовой клетки (ГСК) вследствие мутационных изменений генома, эпигенетической регуляции и других факторов, участвующих в лейкемогенезе. Злокачественная трансформация приводит к возникновению пула клеток с неконтролируемой способностью к



пролиферации – лейкозных стволовых клеток (ЛСК) ОМЛ, отвечающих всем признакам, ассоциированным с термином «стволовая клетка», а, именно, способностью к самоподдержанию и пролиферации, но, в отличие от нормальной ГСК, без способности к дифференцировке в клетки периферической крови. Положение о ЛСК впервые выдвинуто в Т. Lapidot и соавт., 1994, когда было продемонстрировано существование отдельной фракции клеток, преимущественно с иммунофенотипом CD34+/CD38-, способной инициировать ОМЛ при ксенотрансплантации иммунодефицитным мышам [26, 27]. В связи с тем, что здоровые ГСК имеют сходный иммунофенотип CD34+/CD38-, одной из важных задач научных исследований явилось выделение особенных черт, характеризующих фракцию ЛСК. В таблице 1 представлены основные дифференциально-экспрессируемые иммунофенотипические характеристики поверхностных маркеров для ЛСК и ГСК.

Таблица 1. – Частота встречаемости дифференциально-экспрессируемых иммунофенотипических поверхностных маркеров ГСК и ЛСК [28]

Маркер	Экспрессия			
	В норме	В случае ОМЛ(%)	ГСК	CD34+ CD38- ЛСК
IL1RAP	Т-клетки	79	–	+
CD11b	Миелоидные клетки	70	–	+
TIM-3	Активированные Т-клетки, НК-клетки	91	–	+
CD2	Т-клетки, НК-клетки	87	–	+
CD7	Т-клетки	43	–	+
CD11b	Миелоидные клетки	55	–	+
CD22	В-клетки	51	–	+

Окончание таблицы 1				
Маркер	Экспрессия			
	В норме	В случае ОМЛ(%)	ГСК	CD34+ CD38- ЛСК
CD33	Миелоидные клетки, НК-клетки	82	+	++
CD44	Повсеместно	100	+	++
CD45RA	Т-клетки, миелоидные клетки	65	-	+
CD47	Повсеместно	100	+	++
CD56	НК-клетки, активированные Т-клетки	32	-	+
CD96	Активированные Т-клетки	33	-	+
CD99	Миелоидные клетки	83	-	+
CD123	Миелоидные клетки	82	+	++

Изучению биологии ЛСК посвящено большое количество исследований. Было показано, что в отличие от нормальных ГСК ЛСК обнаруживают специфические мутации, эпигенетические модификации, имеют особенный метаболизм, обычно устойчивы к химиотерапии, являясь источником рецидива, в том числе после алло-ТГСК [15, 26-31]. Подобно ГСК ЛСК, также защищены микроокружением «ниши» как в костном мозге, так и в случае пролиферации в экстрамедуллярном очаге. «Ниши», сохраняя пролиферативный потенциал ЛСК, препятствуют не только генотоксическому воздействию на них химио- и таргетных препаратов, но и иммунотерапевтическому эффекту, в том числе аллогенных ГСК донора после алло-ТГСК. Количественная идентификация ЛСК затруднена ввиду неоднозначности профиля экспрессии генов и поверхностных маркеров, как методом иммунофенотипирования, когда каждый маркер позволяет идентифицировать только часть популяции ЛСК у больных ОМЛ и

выявляет только определенный пул общей популяции ЛСК у конкретного пациента, так и с помощью молекулярно-биологических методов исследования [15, 29, 30].

Вследствие фенотипической пластичности оценка маркеров, выявленных при иммунофенотипировании, не надежна, поскольку не отражает сути биологии ЛСК, особенностей при развитии резистентности или рецидива, следовательно, существует потребность в изучении других параметров, позволяющих более глубоко выявить количественные значения остаточной фракции ЛСК при проведении терапии ОМЛ.

Было показано, что пул ЛСК, как и нормальных ГСК, представляет собой иерархию клеток, расположенных в определенном распределении. Биоинформационный анализ ЛСК и ГСК выявил основные программы транскрипции, находящиеся в основе молекулярных свойств «стволовых» клеток. В 2011 г. К. Еррерт и соавт. на модели с ксенотрансплантатом у мышей при описании генетического профиля ЛСК, включающего 44 гена показал, что высокий уровень экспрессии ряда исследуемых генов был ассоциирован с худшим исходом у взрослых пациентов с ОМЛ, несмотря на имеющийся нормальный кариотип [31].

В дальнейшем Ng и соавт. (2016) обосновали панель, состоящую из 17 генов, характерных для ЛСК при ОМЛ у взрослых [23], что послужило предпосылкой для создания подобной модели для ОМЛ у детей [24]. В последующем при исследовании экспрессии генов, характерных для ЛСК в дебюте ОМЛ у детей, была установлена независимая прогностическая значимость панели pediatric Leukemic Stem Cell score (pLSC6), состоящей из 6 генов (DNMT3B, GPR56, CD34, SOCS2, SPINK2, IL2RA, FAM30A), которая может использоваться с целью прогноза риска рецидива и ответа на проводимую стандартную химиотерапию. Было показано, что высокий уровень экспрессии генов pLSC6, определяемый в дебюте ОМЛ, связан с худшим прогнозом даже у реципиентов при последующей алло-ТГСК. Так, при проведении химиотерапии пятилетняя БСВ пациентов с низким уровнем

pLSC6 составила 78,3 (95% ДИ = 70,5–86,9), а у пациентов с высоким уровнем pLSC6 — 34,5% (95% ДИ = 24,7–48,2),  $p < 0,0001$ . С помощью регрессионной модели Кокса было продемонстрировано, что среди пациентов с ОМЛ высокой группы риска с низким показателем pLSC6 факт выполнения алло-ТГСК был связан со статистически значимым улучшением БСВ (OR = 0,14; 95% ДИ: 0,015, 0,54;  $p = 0,002$ ). Напротив, в данной работе было показано, что проведение алло-ТГСК может не приносить клинической пользы больным с высокими показателями pLSC6, выявленными при постановке диагноза, так как факт проведения алло-ТГСК не оказывал значимого влияния ни на БСВ (OR = 1,08, 95% ДИ: 0,50, 2,14;  $p = 0,83$ ), ни на ОВ (OR = 1,16; 95% ДИ: 0,48, 2,52;  $p = 0,72$ ). [24]. К настоящему моменту данные о влиянии экспрессии генов, характерных для ЛСК, на разных этапах терапии достаточно неизучены, в том числе при выполнении алло-ТГСК.

## **1.2. Диагностика острого миелоидного лейкоза у детей**

Диагноз ОМЛ устанавливается по совокупности морфологического, цитохимического, цитофлуориметрического, цитогенетического и молекулярно-биологического методов исследования. Для постановки диагноза ОМЛ в костном мозге и/или периферической крови должно быть обнаружено 20% или более миелоидных бластов [32], либо независимо от процентного содержания бластных клеток имеет место наличие патогномоничных для ОМЛ генетических аномалий:  $t(8;21) (q22; q22)$  RUNX1::RUNX1T1,  $t(15;17) (q12; q11-12)$  PML::RAR- $\alpha$ ,  $inv(16)$  или  $t(16;16) (p12; q23)$  CBF::MYH11,  $t(1;22) (p13;q13)$ ; RBM15::MKL1, DEK::NUP214, RBM15::MRTFA, KMT2A-r, MECOM-r, NUP98-r, NPM1mut. [32, 33].

## **1.3. Классификация ОМЛ**

Современная классификация ОМЛ для взрослых и детей, основанная на экспертном заключении специалистов Всемирной организации

здоровоохранении (ВОЗ), представляет собой комбинацию молекулярно-биологических и морфологических критериев постановки диагноза (таблица 2).

Таблица 2 – Классификация ОМЛ (ВОЗ, 2022) [33]

ОМЛ с устойчиво выявляемыми генетическими аномалиями

- Острый промиелоцитарный лейкоз с транскриптом PML::RARA
- ОМЛ с транскриптом RUNX1::RUNX1T1
- ОМЛ с транскриптом CBFB::MYH11
- ОМЛ с транскриптом DEK::NUP214
- ОМЛ с транскриптом RBM15::MRTFA
- ОМЛ с транскриптом BCR::ABL1
- ОМЛ с реарранжировкой KMT2A
- ОМЛ с реарранжировкой MECOM
- ОМЛ с реарранжировкой NUP98
- ОМЛ с мутацией гена NPM1
- ОМЛ с мутацией гена СЕВРА
- ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией
- ОМЛ с другими определенными генетическими аномалиями

ОМЛ, определяемый дифференцировкой

- Острый миелобластный лейкоз с минимальной дифференцировкой
- Острый миелобластный лейкоз без созревания
- Острый миелобластный лейкоз с созреванием
- Острый базофильный лейкоз
- Острый миеломоноцитарный лейкоз
- Острый моноцитарный лейкоз
- Острый эритроидный лейкоз
- Острый мегакариобластный лейкоз

#### 1.4. Стратификация пациентов и факторы риска при ОМЛ у детей

Стратификация на группы риска детей с острым миелоидным лейкозом в дополнение к классификации ВОЗ (2022) основана на сочетании клинических, цитогенетических, молекулярно-биологических факторов в совокупности с фактором ответа на проводимую химиотерапию [6].

Такие характеристики как возраст пациента на момент постановки диагноза, клинические проявления и молекулярно-генетические изменения, факт проведения предшествующей генотоксичной терапии другого заболевания, свидетельствующий о вторичном развитии ОМЛ, оказывают существенное влияние на результаты терапии.

**В момент постановки диагноза** неблагоприятными факторами прогноза у детей с ОМЛ являются:

- Лейкоцитоз выше 100 000 клеток / мкл [34].
- Избыточная масса или дефицит массы тела. Исследование CCG2961 показало, что пациенты с недостаточной или избыточной массой тела имеют худшую общую выживаемость по сравнению с пациентами с нормальным весом из-за увеличения летальности, ассоциированной с терапией [35]
- Наличие генетической предрасположенности. Пациенты, развившие ОМЛ на фоне таких синдромов костномозговой недостаточности, как анемия Фанкони или синдром Костманна, как правило, имеют ОМЛ, характеризующийся наличием неблагоприятных цитогенетических аномалий и резистентностью к проводимой химиотерапии. Эти пациенты в ходе лечения стандартными дозами цитостатиками имеют избыточную токсичность, требующую редукции доз [6].
- ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией [36].
- Морфологический вариант ОМЛ М7 по FAB классификации у пациентов без синдрома Дауна и без t (1;22) [37-39].

**Возраст пациентов.** Пациенты с младенческим острым миелоидным лейкозом, то есть дети до 2 лет [40], относятся к группе высокого риска, имея

более неблагоприятные показатели ОВ по отношению к другим возрастным группам (рисунок №1) [41], вследствие высокой распространенности прогностически неблагоприятных факторов (частота обнаружения реаранжировки КМТ2А более 50%, преобладания варианта М7 по FAB-классификации), более редкой встречаемости благоприятных прогностических маркеров (частота обнаружения СВF-мутаций до 5%) и большей частоте токсичности, связанной с лечением [42-44].

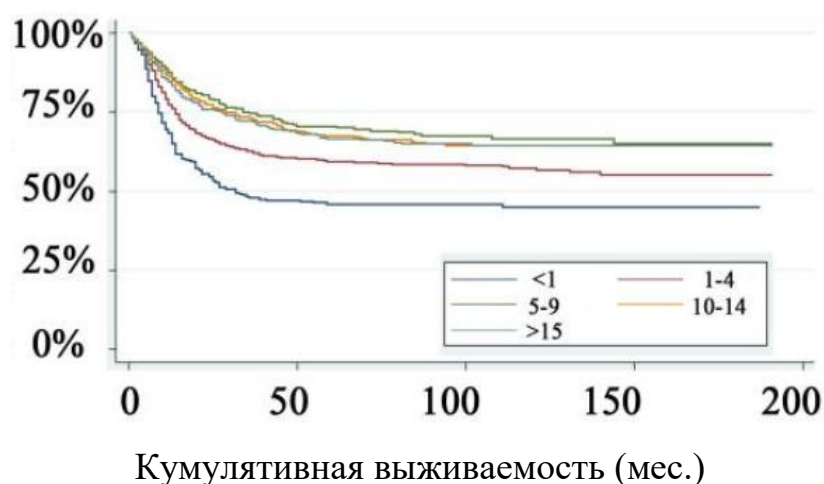


Рисунок 1. – Кумулятивная выживаемость в зависимости от возрастной группы

Однако в течение последних двух десятилетий многие кооперативные исследовательские группы сообщали об отсутствии различий исходов у детей с младенческим ОМЛ по сравнению с детьми более старшего возраста [45-47]. Так, например, по данным группы AIEOP (Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica), ОВ в группе пациентов в возрасте до года составила 73,7%, до 2 лет – 66,4%, от 2 до 10 лет – 62,8%, старше 10 лет – 65,4% ( $p=0,81$ ) [47].

### **Цитогенетические и молекулярно-генетические факторы риска**

Острый миелоидный лейкоз у детей является гетерогенным заболеванием и ландшафт молекулярно-биологических и цитогенетических мутаций является убедительным отражением биологического разнообразия данной нозологической единицы. Поскольку ОМЛ более распространен у

взрослых и пожилых людей, исторически опыт исследований был заимствован для понимания и стратификации ОМЛ у детей. Однако существуют значимые различия в мутационном ландшафте при ОМЛ у детей разных возрастных групп (рисунок 2) и взрослых и толерантности к схемам лечения, что требует возраст-адаптированной стратификации риска и рассмотрения тактики терапии у детей разного возраста.

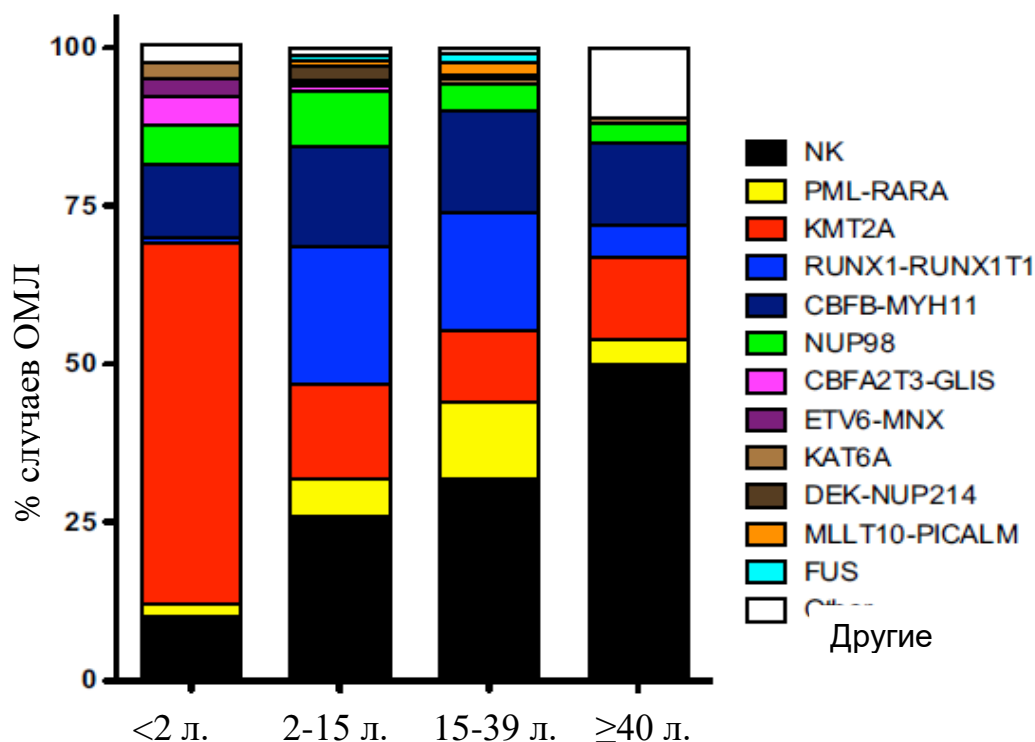


Рисунок 2. – Частота встречаемости цитогенетических аномалий в зависимости от возрастной группы [48]

В таблице 5 представлены наиболее часто встречаемые цитогенетические и молекулярно-генетические поломки у пациентов с ОМЛ и их прогностическое значение.

Благоприятные прогностические маркеры:  $t(8;21)(q21.3;q22)$ ,  $inv16(p13;q22/t(16;16)(p13;q22))$ ,  $t(15;17)(q22;q12)$  и другие редкие варианты, мутация гена NPM1, мутации гена СЕВРА.

Неблагоприятные прогностические маркеры:  $Inv3(q21.3q26.2)/t(3;3)(q21.3q26.2)$ ,  $t(3;21)(q26.2;q22)$ ,  $t(3;5)(q25;q34)$ ,  $t(6;9)(p22.3;q34.1)$ ,  $t(8;16)(p11.2;p13.3)$ ,  $t(16;21)(p11.1;q22.2)$ ,  $inv16(p13.3q24.3)$ ,  $t(4;11)(q21;q23.3)$ ,



t(6;11)(q27;q23.3), t(10;11)(q12.3;q23.3), t(10;11)(q12.1;q23.3), t(11;19)(q23.3;p13.3), реаранжировка 11p15, реаранжировка 12p13, моносомия 5/del, включая 5q31, моносомия 7, реаранжировка 10p12.3, FLT3::ITD, сложный кариотип.

Таблица 3. – Прогностически-значимые молекулярно-генетические маркеры у детей с ОМЛ

Цитогенетическая поломка	Молекулярно-биологическая поломка	Частота выявления у детей с ОМЛ	Прогноз	Ссылка
<b>Благоприятные прогностические маркеры</b>				
t(8;21)(q21.3;q22)	RUNX1::RUNX1 T1	13-14%	5-летняя ОВ 80-90%	49, 50
Inv16 (p13;q22/t(16;16) (p13;q22)	CBFB::MYH11	7-9%	5-летняя ОВ 81-87%	49,50
t(15;17)(q22;q12) и другие редкие варианты	PML::RARA и другие гены слияния RARA	5-10%	5-летняя ОВ 82-94,6%	48
<b>Благоприятные прогностические маркеры</b>				
	Мутация гена NPM1	8%, редко у детей до 3 лет Часто сочетается с нормальным кариотипом и мутациями FLT3-ITD	5-летняя ОВ 70-77%, в случае ОМЛ с нормальным кариотипом – 80-85% Нивелирует неблагоприятный прогноз FLT3-ITD	51-53
	Мутации гена СЕВРА	5-10%	5-летняя ОВ 80-85%	54-56

Продолжение таблицы 3				
Цитогенетическая поломка	Молекулярно-биологическая поломка	Частота выявления у детей с ОМЛ	Прогноз	Ссылка
<b>Неблагоприятные прогностические маркеры</b>				
Inv3 (q21.3q26.2)/t(3;3) (q21.3q26.2) t(3;21)(q26.2;q22)	RPN1::MECOM RUNX1::MECOM M	0.2%	5-летняя ОБ 20%	49,57
t(3;5) (q25;q34)	NPM1::MLF1	<0.5%	5-летняя ОБ 34%	49, 58- 59
t(6;9) (p22.3;q34.1)	DEK::NUP214	0.6-1.3%	5-летняя ОБ 50-53%	50, 60
t(8;16) (p11.2;p13.3)	KAT6A::CREBBP	0.5%	5-летняя ОБ 59%	61,62
t(16;21) (p11.1;q22.2)	FUS::ERG	0.3-0.5%	4-летняя ОБ 26%	63
Inv16 (p13.3q24.3)	CBFA2T3::GLIS2	3% 20-30% ОМЛ М7, практически не встречается у пациентов старше 3 лет	5-летняя ОБ 15-30%	64-68
t(4;11)(q21;q23.3) t(6;11)(q27;q23.3) t(10;11)(q12.3;q23.3) t(10;11)(q12.1;q23.3) t(11;19)(q23.3;p13.3)	KMT2A::AFF1 KMT2A::AFDN KMT2A::MLLT1 0 KMT2A::ABI1 KMT2A::MLLT1 9	15-20%	5-летняя ОБ 50-62%, зависит от гена партнера	49-50,67
Рearанжировка 11p15	NUP98	4-7%	4-летняя ОБ 30%	67-71

Окончание таблицы 3				
Цитогенетическая поломка	Молекулярно-биологическая поломка	Частота выявления у детей с ОМЛ	Прогноз	Ссылка
<b>Неблагоприятные прогностические маркеры</b>				
Реаранжировка 12p13	ETV6-любой ген-партнер Потеря ETV6	3-4% до 30% при младенческом ОМЛ	3-летняя ОВ 28-37%	49, 72-73
Моносомия 5/del, включая 5q31	Потеря EGR1	2%	5-летняя ОВ 27-32%	49, 74
Моносомия 7		4%	5-летняя ОВ 32%	60
Реаранжировка 10p12.3	MLLT10-любой ген-партнер	5,7%	5-летняя ОВ 38,8%	75
	FLT3::ITD	10-20%, частота выше с возрастом	4-летняя ОВ 13-33%	76-78

### 1.5. Терапия острого миелоидного лейкоза у детей

История развития терапии ОМЛ у детей – один из примеров успеха в лечении злокачественных заболеваний системы крови. Если в 1970-х годах почти все дети с ОМЛ неизбежно умирали, то в настоящее время показатели общей выживаемости у педиатрических пациентов достигают 75%. Данные результаты были достигнуты совместными усилиями исследовательских групп в Европе, Америке, Японии и России [79].

В основу химиотерапии ОМЛ положен принцип непрерывного последовательного назначения комбинаций цитостатических препаратов исходя из фазы терапии заболевания – индукция ремиссии, консолидация, поддерживающая терапия малыми дозами цитостатиков, продолжительность которой варьирует от 1,5 до 2-х лет.

Схема индукционной терапии основана на системе «7+3», состоящий из непрерывной инфузии цитарабина 100–200 мг/м<sup>2</sup> в течение 7 дней и

даунорубицина 45–60 мг/м<sup>2</sup> в течение 3 дней [80]. Также в Великобритании, Германии и США в качестве индукции используется несколько иной режим ADE (цитарабин 200 мг/м<sup>2</sup>, в течение 10 дней в сочетании с даунорубицином и этопозидом) [81].

Консолидация ремиссии состоит из высоких доз цитарабина в сочетании с антрациклинами/этопозидом для пациентов, которым не показана алло-ТГСК [82-87]. Хотя необходимость интенсивной консолидации не вызывает сомнений, необходимое количество циклов консолидации остается неопределенным. Большинство кооперативных групп проводят дополнительно два-три цикла интенсивной химиотерапии, до достижения в общей сложности трех-пяти циклов химиотерапии. Хотя недавние испытания кооперативной группы и Medical Research Council (MRC) продемонстрировали отсутствие изменений в выживаемости при дополнительном цикле химиотерапии [88-91], исследование COG (Children's oncology group) AAML1031 показало худшие результаты для пациентов, получавших четыре цикла, по сравнению с пятью в предыдущем [92].

Вопрос о необходимости проведения поддерживающей химиотерапии у детей с ОМЛ в настоящее время остается дискуссионным. В двух рандомизированных многоцентровых исследованиях кооперативных групп в Германии, включающих пациентов с ОМЛ от 15 лет, было продемонстрировано преимущество поддерживающей химиотерапии в виде более высокой медианы БРВ – 13 месяцев против 8 месяцев для пациентов без терапии ( $p=0,003$ ) [93]. В то же время исследованиями США (CCG213) и Франции (LAME - Leucemie Aigue Myeloblastique Enfant) необходимость в проведении поддерживающей терапии опровергается. Пятилетняя БРВ в исследовании LAME значимо не различалась и составила  $50 \pm 15\%$  для пациентов, получивших поддерживающую терапию и  $60 \pm 19\%$  в группе наблюдения ( $p=0,58$ ), ОВ была значимо ниже в группе пациентов после поддерживающей терапии –  $58 \pm 15\%$  против  $63 \pm 12\%$  для детей в группе контроля ( $p=0,04$ ). Такую разницу показателей ОВ исследователи связывают

с развитием резистентности опухолевых бластов на фоне длительной терапии малыми дозами цитостатиков, что доказывается более низкой частотой достижения второй ремиссии у пациентов после поддерживающей химиотерапии [94].

Схожие результаты были получены в рандомизированном исследовании CCG213 – 5-летняя ОВ в группе поддерживающей терапии составила 44% и 68% без таковой ( $p < 0,01$ ). Исследователи пришли к выводу, что интенсивные постремиссионные блоки консолидации приводят к повышению результатов лечения и исключают необходимость проведения длительной поддерживающей химиотерапии.

В связи с этим, в настоящее время, большинство исследовательских групп, за исключением BFM (Berlin-Frankfurt-Münster), отказалось от проведения поддерживающей химиотерапии.

На территории Российской Федерации широко используются протоколы группы BFM AML с модификацией AIEOP-BFM AML 2020.

Другими общепризнанными протоколами в мире лечения ОМЛ у детей являются: COG AML, SJCRH (St. Jude Children's Research Hospital) AML (США), MRC AML (Великобритания), JPLSG (Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group) AML (Япония) [6].

Результаты первичной химиотерапии наиболее значимых исследовательских групп представлены в таблице 4. Как видно из таблицы 4 наиболее крупные исследовательские группы сообщают о значениях БСВ 46,9% -57% и ОВ 62% -74% при терапии ОМЛ у детей. Однако прямое сравнение протоколов химиотерапии – сложная задача, потому что полученные результаты зависят ряда нюансов, которые включают различную стратификацию на группы риска (и, соответственно, показания для алло-ТГСК) и рекомендации по поддерживающей терапии. В завершённых и текущих исследованиях присутствуют как общие черты, так и значимые различия в тактике терапии.

Таблица 4. – Характеристики и результаты исследований наиболее крупных групп по лечению ОМЛ у детей

Исследовательская группа (название исследования)	Период	Количество пациентов	Частота полных ответов (%)	Время оценки ответа	БСВ	ОВ	Период оценки БСВ/ОВ (годы)
AIEOP (AAML2002/02)	2002-2010	482	87	2 блока	55%	68%	8
BFM (AML2004)	2004-2010	611	88-89	4 блока	55%	74%	5
COG (AAML0531)	2006-2010	1022	86.7	2 блока	46.9 - 53.1 %	65.4 - 69.4 %	3
JPLSG (AML05)	2006-2010	443		2 блока	54%	73%	3
MRC (AML12)	1994-2002	455	92	4 блока	53%	64%	10
EORT-CLG <sup>1</sup> (58921)	1993-2000	177	84	2 блока	49%	62%	7
NOPHO <sup>2</sup> (AML2004)	2004-2007	151	97.4	2 блока	57%	69%	3
SJCRH (AML08)	2008-2017	285	93	2 блока	52.9 %	64.6 %	3

1 EORT-CLG - European Organization for Research and Treatment of Cancer-Children Leukemia group

2 NOPHO - Nordic Society of Paediatric Haematology

Результаты терапии ОМЛ по протоколам наиболее крупных исследовательских групп не отличаются значимо. Во всяком случае, оценка

стандартных химиотерапевтических средств достигла плато, что диктует необходимость использование патогенетически отличных методов терапии, таких как добавления новых препаратов в программную химиотерапию, а также своевременное выполнение алло-ТГСК у пациентов с ОМЛ высокой группы риска.

### 1.6 Новые терапевтические опции в лечении ОМЛ у детей

Достижение плато в результатах современной химиотерапии ОМЛ у детей диктует поиск новых подходов к лечению данного заболевания. Несмотря на высокие дозы цитотоксической химиотерапии, рецидивы ОМЛ остаются нерешенной проблемой.

Новые подходы к лечению, описанные ниже, были внедрены в клинические исследования у детей относительно недавно (таблица 5). Эти агенты, в основном, разрабатывались и изучались в когорте пациентов пожилого возраста, которым было нецелесообразно проведение стандартной высокоинтенсивной терапии, ввиду преморбидного фона, и в настоящее время внедряются в педиатрическую практику лечения ОМЛ.

Таблица 5. – Новые терапевтические опции в лечении ОМЛ у детей

Препарат	Принцип действия	Текущий этап применения	Данные об эффективности
Моноклональные антитела			
Гемтузумаб озогамицин [95]	Конъюгат моноклононального антитела к CD33 <sup>4</sup> и калихеамицина	Одобен FDA для применения для терапии впервые выявленного ОМЛ у детей старше 1 месяца	Повышает 3-летнюю БСВ при добавлении к стандартной ХТ – 53,1% vs 46,9% (p=0,04). Не оказывает влияние на ОВ.
Флотетузумаб [96]	Биспецифическое CD3/CD123 <sup>4</sup> антитело	Исследование 1/2 фазы при p/p <sup>1</sup> ОМЛ	Частота достижения ПР у взрослых с p/p ОМЛ – 11,7% [99]

Продолжение таблицы 5			
Препарат	Принцип действия	Текущий этап применения	Данные об эффективности
Ниволумаб [97]	Анти-PD-1 моноклональное антитело/ингибитор контрольных точек	Исследование 1/2 фазы при p/p <sup>1</sup> ОМЛ в комбинации с азациитидином	Частота достижения ПР взрослых с p/p ОМЛ – 22% [100]
Эпигенетическая терапия			
Децитабин [98]	Гипометилирующий агент: ингибирование ДНК-метилтрансферазы	Завершено исследование I фазы для p/p <sup>1</sup> ОМЛ у взрослых Исследование фазы II в комбинации со стандартной химиотерапией при впервые выявленном ОМЛ у детей завершено в связи с отсутствием значимых различий в группах	Общая частота достижения ответа (ПР, ЧР) в монотерапии у взрослых с p/p ОМЛ – 14% [101]/ Частота достижения ПР в комбинации с ХТ и вориноставом у детей с p/p ОМЛ – 54% [102]
Азациитидин [103]	Гипометилирующий агент: ингибирование ДНК-метилтрансферазы	Завершено исследование I фазы для p/p <sup>1</sup> ОМЛ у детей Исследование фазы II в комбинации со стандартной химиотерапией при впервые выявленном ОМЛ	Частота достижения ПР в комбинации с ХТ – 58% [103]



Продолжение таблицы 5			
Препарат	Принцип действия	Текущий этап применения	Данные об эффективности
<b>Эпигенетическая терапия</b>			
Вориностат [104]	Ингибитор гистондеацетилаз	Исследование 1 фазы при p/p <sup>1</sup> ОМЛ	Частота достижения ПР в комбинации с ХТ и децитабином у детей с p/p ОМЛ – 54% [102]
Панобиностат [105]	Ингибитор гистондеацетилаз	Исследование 1 фазы при p/p <sup>1</sup> ОМЛ	Частота достижения ПР у взрослых с p/p ОМЛ в монотерапии – 43%, в комбинации с ХТ – 46% [106]
<b>Ингибиторы тирозинкиназ (ИТК)/FLT3-ингибиторы</b>			
Сорафениб [107]	1 поколение ИТК <sup>2</sup> II типа: активен в отношении мутаций FLT3-ITD, FLT3-TKD	Завершены исследования III фазы для ОМЛ FLT3-ITD+ с высоким аллельным соотношением	Частота достижения ПР у детей с ОМЛ при добавлении сорафениба к стандартной ХТ 53% против 40% в группе без добавления сорафениба (p=0,028), 3-летняя БСВ в соответствующих группах – 55,9% против 31,9% (p=0,001) [107].
Мидостаурин [108]	1 поколение ИТК <sup>2</sup> I типа: активен в отношении мутаций FLT3-ITD, KIT	США: исследования фазы I/ II прекращены из-за недостаточного количества пациентов Международные исследования: продолжаются испытания фазы II	Частота достижения ПР у детей с p/p ОМЛ 55,5% [109].

Продолжение таблицы 5			
Препарат	Принцип действия	Текущий этап применения	Данные об эффективности
<b>Ингибиторы тирозинкиназ (ИТК)/FLT3-ингибиторы</b>			
Гилтеритиниб [110]	2 поколение ИТК <sup>2</sup> I типа: активен в отношении мутаций FLT3-ITD, AXL	Исследования фазы III в сочетании со стандартной химиотерапией при впервые выявленном ОМЛ  Исследование фазы I / II в сочетании с FLAG при p/p <sup>1</sup> ОМЛ	Частота достижения ПР у взрослых с p/p ОМЛ в монотерапии 34% [111]
Квизартиниб [112]	ИТК <sup>2</sup> II типа	Исследование I фазы при p/p <sup>1</sup> ОМЛ	При добавлении к стандартной химиотерапии при впервые выявленном ОМЛ у взрослых медиана ОВ 31,9 мес. против 15 мес. без квизартиниба (p=0,03) [112]
Креноланиб [113]	ИТК <sup>2</sup> I типа	Исследование I фазы при p/p <sup>1</sup> ОМЛ	Частота достижения ПР у взрослых с p/p ОМЛ в комбинации с ХТ – 86% [113]
<b>Другие препараты</b>			
Венетоклакс [114]	Ингибитор BCL-2	Исследование 1/2 фазы при p/p <sup>1</sup> ОМЛ	Частота достижения ПР у детей с p/p ОМЛ в комбинации с ХТ – 69%

Окончание таблицы 5			
Препарат	Принцип действия	Текущий этап применения	Данные об эффективности
Другие препараты			
СРХ-351 [115-118]	Липосомальная форма даунорубицина и цитарабина, усиливается синергизм между препаратами и увеличивается период полувыведения	Завершены исследования 1/2 фазы при р/р <sup>1</sup> ОМЛ, текущие исследования 3 фазы при впервые выявленном ОМЛ	Частота достижения ПР у детей с р/р ОМЛ – 75% [115]
Атоваквон [119]	Подавляет окислительное фосфорилирование и активацию STAT3	Исследование 1 фазы в комбинации со стандартной химиотерапией	
CAR-T <sup>3</sup> клеточная терапия			
CD 123 CAR-T <sup>3</sup> таргетированная терапия [120]	T-клетки, генетически модифицированные для таргетирования/уничтожения клеток экспрессирующих CD123 <sup>4</sup>	Исследование 1 фазы при р/р <sup>1</sup> ОМЛ	В исследовании эффективности у детей с р/р ОМЛ достигнута ПР у 1 из 12 пациентов [121], у взрослых с р/р ОМЛ клиническая активность показана у 4 из 16 пациентов [122]
CD 33 CAR-T <sup>3</sup> таргетированная терапия [123]	Таргетирование/уничтожение CD33 <sup>4+</sup> клеток	Исследование 1 фазы при р/р <sup>1</sup> ОМЛ	

1. р/р – резистентный/рефрактерный
2. ИТК – ингибиторы тирозинкиназ

3. CAR-T - chimeric antigen receptor T cells
4. CD – cluster of differentiation

### **1.7 Аллогенная ТГСК в терапии острого миелоидного лейкоза у детей**

Несмотря на многочисленные исследования и достижения в области современной таргетной и химиотерапии, алло-ТГСК остается актуальным потенциально излечивающим методом лечения и наилучшим способом сохранения долгосрочной ремиссии для детей с ОМЛ [123, 124]. В ряде исследований показано, что у пациентов, получивших алло-ТГСК риск рецидива снижается на 20-30%, по сравнению с теми, кто получил интенсивную терапию после достижения ремиссии [7-9]. Однако, значительно улучшая безрецидивную выживаемость, алло-ТГСК оказывает менее выраженное влияние на общую выживаемость [16], так как проведение алло-ТГСК сопряжено с осложнениями, связанными с токсичностью режима кондиционирования, реакцией «трансплантат против хозяина», состоянием иммунодефицита после ТГСК и другими осложнениями.

Возможным способом достижения максимальной эффективности от данного метода терапии является уменьшение осложнений, сопряженных с лечением, и снижение показателей трансплантационной летальности. Пути решения данной проблемы заключаются в оптимизации показаний к своевременному выполнению алло-ТГСК с более прицельной стратификацией на группы риска, в уменьшении интенсивности и токсичности режимов кондиционирования, в тщательном анализе при выборе донора, в адекватной профилактике реакции трансплантат против хозяина и в проведении терапии после алло-ТГСК для предотвращения возврата заболевания.

### 1.7.1 Современные показания к алло-ТГСК у детей с ОМЛ

Исторически, в исследованиях применения алло-ТГСК у детей с ОМЛ использовалась биологическая рандомизация, когда проведение алло-ТГСК в качестве консолидации у детей определялось наличием полностью совместимого родственного донора и химиотерапии у детей при отсутствии донора [8-9, 16, 125].

Показания к алло-ТГСК эволюционировали от трансплантации вне зависимости от группы риска всем пациентам (около 80% детей с ОМЛ) в первой ремиссии, кроме благоприятной цитогенетической группы риска, до текущей практики проведения алло-ТГСК пациентам высокой группы риска (около 30% детей с ОМЛ) [126]. Различные критерии использовались и продолжают использоваться разными международными исследовательскими группами для определения высокого риска.

Из-за различных определений и показаний текущие показатели выполнения алло-ТГСК в первой ремиссии ОМЛ у детей варьируются от 11 до 29% (таблица 6) [127].

Таблица 6. – Показания к проведению и процент выполнения алло-ТГСК в различных исследовательских группах

Протокол	Показания	Донор	Процент выполнения алло-ТГСК
АIEOP 2002	Все пациенты за исключением ОМЛ с t(8;21) и inv(16)	Полностью совместимый сиблинг	29%
BFM 2004	Высокая группа риска, только с 2006 года стал учитываться фактор ответа на терапию индукции	Полностью совместимый сиблинг	18%

Окончание таблицы 6			
Протокол	Показания	Донор	Процент выполнения алло-ТГСК
COG	Все пациенты	Полностью совместимый сиблинг	15%
JPLSG AML99	Высокая и промежуточная группа риска	Полностью совместимый сиблинг/полностью совместимый неродственный донор	15%
LAME 89/91	Все пациенты	Полностью совместимый сиблинг	23%
MRC AML 12	Все пациенты за исключением ОМЛ с t(8;21) и inv(16)	Полностью совместимый сиблинг	11%
NORHO 2004	Более 15% blasts на 15 сутки от начала терапии или отсутствие ремиссии после второго индукционного блока	Полностью совместимый сиблинг/полностью совместимый неродственный донор	13%
St Jude AML 02	Стандартная группа риска при наличии полностью совместимого сиблинга или плохой риск при наличии полностью совместимого неродственного донора	Полностью совместимый сиблинг/полностью совместимый неродственный донор	23%

Современные показания к алло-ТГСК у детей с ОМЛ, разработанные The European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) представлены в таблице 7.

Таблица 7. – Показания к алло-ТГСК у детей с ОМЛ, EBMT, 2022

	Родственная полностью совместимая	Неродственная полностью совместимая	Гаплоидентичная/ частично совместимая родственная	Аутологичная
1 ремиссия (низкий риск)	НР/П	НР/П	НР/Ш	КО /П
1 ремиссия (высокий риск)	С/П	С/П	КО/П	НР/П
2 ремиссия	С/П	С/П	С/П	НР/П
>2 ремиссии	С/П	КО/П	КО/П	НР/П

\* НР = не рекомендовано, КО=клиническая опция, С = стандарт

В 2018 году в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева был разработан и внедрен в клиническую практику протокол ОМЛ-MRD-2018, в котором был заложен принцип раннего выполнения алло-ТГСК у пациентов с неблагоприятным прогнозом. Показаниями к проведению алло-ТГСК в 1 ремиссии являются [128]:

- 1) высокая группа риска при постановке диагноза
  - 11q23 аномалии, кроме t(1;11)(q21;q23) и t(9;11) с морфологией М5;
  - inv(3), t(3;3); сложные аномалии кариотипа;
  - t(8;21) с трисомией по 4 хромосоме;
  - t(16;21)(q24;q22)/RUNX1-CBFA2T3;
  - моносомия по 7 хромосоме;
  - моносомия по 5 хромосоме, делеция длинного плеча 5 хромосомы;

- нормальный кариотип с активирующими мутациями FLT3;
- М7 без t(1;22);
- М6, t(7;12);
- ОМЛ с мультилинейной дисплазией;
- транслокации с участием NUP98;
- мутация гена p53

2) Пациенты, у которых не достигнута клинико-гематологическая ремиссия после первого индукционного блока и МОБ более 0,1% после второго химиотерапевтического блока по протоколу.

3) Пациенты с МОБ более 0,1% после второго химиотерапевтического блока по протоколу.

### ***1.7.2 Роль «минимальной определяемой болезни» на разных этапах терапии ОМЛ у детей и методы выявления.***

Минимальная определяемая болезнь диагностируется при выявлении 1 злокачественной бластной клетки и более на  $1:10^4$ - $1:10^6$  лейкоцитов по сравнению с 1:20 лейкоцитов при оценке на основе морфологического исследования [14].

В настоящее время основными методами диагностики МОБ являются мультипараметрическая проточная цитометрия и определение рекуррентных генетических аномалий (слитых транскриптов) с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). Преимуществом определения МОБ методом иммунофенотипирования, является более широкая применимость, которая возможна более чем у 90% пациентов с ОМЛ, однако чувствительность метода на порядок ниже, чем при ПЦР-РВ и составляет 0,1 - 0,01% [13]. С помощью ПЦР-РВ слитых транскриптов можно обнаружить МОБ с уровнем чувствительности до 0,001%, однако данный метод применим только в 50–60% случаев ОМЛ у детей с обнаруживаемыми в момент постановки диагноза рекуррентными поломками вследствие



молекулярной гетерогенности и нестабильности генетических изменений [14].

Ответ на индукционную химиотерапию является важным предиктором исхода при ОМЛ. Отсутствие ремиссии после индукционной терапии значительно ухудшает прогноз, даже при условии достижения ремиссии заболевания после последующих блоков терапии [129]. Результаты многоцентровых исследований убедительно продемонстрировали, что МОБ после индукции является независимым прогностическим маркером у пациентов без стратифицирующих молекулярно-генетических изменений [82, 130, 131]. В то же время, по результатам исследований COG AAML03P1 и AAML0531, наличие МОБ у пациентов с цитогенетическими/молекулярно-генетическими поломками низкого риска не было связано с ухудшением прогноза. Эти данные послужили основой для двухуровневой системы стратификации риска, где пациенты с информативными цитогенетическими или молекулярными поражениями стратифицируются в зависимости от ответа на индукционную химиотерапию.

В настоящее время не существует единой общепринятой стратификации детей с ОМЛ на группы риска, по мере изучения новых факторов риска углубляются знания об их влиянии на исходы пациентов с ОМЛ, улучшается риск-адаптивный подход к терапии ОМЛ у детей.

В таблице 8 представлена двухуровневая стратификация на группы риска кооперативной группы AIEOP-BFM в зависимости от молекулярно-генетических/цитогенетических, морфологических критериев, а также от фактора ответа на проводимую химиотерапию [132].

Продолжают накапливаться данные о том, что наличие МОБ, оцененной с помощью иммунофенотипирования непосредственно перед алло-ТГСК, является важным, независимым предиктором в отношении прогноза после алло-ТГСК [133]. Известно, что позитивный статус МОБ перед алло-ТГСК значительно ухудшает прогноз пациентов с ОМЛ, в связи со

снижением БРВ (OR = 2.76 [1.90-4.00]), повышением кумулятивной частоты рецидива (OR=3.65 [2.53-5.27])[134].

В то же время, конверсия МОБ-позитивности после алло-ТГСК в МОБ-негативность после миелоаблативного кондиционирования существенно не улучшает показатели частоты рецидивов или ОВ, в связи с этим остается необходимость решения вопроса о показаниях к проведению профилактической/превентивной терапии рецидива заболевания после алло-ТГСК [135]. Самый дискуссионный вопрос на сегодняшний день - стоит ли добиваться МОБ-негативности любыми средствами перед алло-ТГСК.

Таблица 8. – Стратификация на группы риска детей с ОМЛ в исследовании AIEOP-BFM AML 2020 [132].

Группа риска	Молекулярно-генетические/ цитогенетические критерии	Критерии ответа
Стандартная группа риска	- СВFβ аномалии: t(8;21)(q22;q22) со снижением уровня экспрессии по результатам количественной ПЦР ( $\geq 2 \log$ ) после второго индукционного блока inv(16)(p13q22)/t(16;16)(p13;q22) - биаллельная СВPα абберация - t(16;21) СВFA2T3/RUNX1 и отсутствие FLT3-ITD	Стандартная группа риска по данным молекулярно - и цитогенетических исследований МОБ < 0.1% после 2 индукционного блока t(8;21) и снижение уровня экспрессии по результатам количественной ПЦР ( $\geq 2 \log$ ) после второго индукционного блока

Продолжение таблицы 8		
Группа риска	Молекулярно-генетические/ цитогенетические критерии	Критерии ответа
Промежуточная группа риска	Отсутствие молекулярно - и цитогенетических изменений, характерных для групп стандартного и высокого риска	Молекулярно- и цитогенетические изменения характерные для групп стандартного или промежуточного риска МОБ после 1 индукционного блока $\geq 0.1\%$ и $<1\%$ и $< 0.1\%$ после 2 индукционного блока
Высокая группа риска	- Комплексный кариотип ( $\geq 3$ мутаций, включая как минимум одну структурную aberrацию), исключая рекуррентные транслокации Моносомный кариотип, т.е., -7, -5/del(5q) 11q23/KMT2A реаранжировки, включая: t(4;11)(q21;q23) KMT2A::AFF1 t(6;11)(q27;q23) KMT2A::AFDN t(10;11)(p12;q23) KMT2A::MLLT10 t(9;11)(p21;q23) KMT2A::MLLT3 с другими цитогенетическими аномалиями t(16;21)(p11;q22) FUS::ERG t(9;22)(q34;q11.2) BCR::ABL1 t(6;9)(p22;q34) DEK::NUP214 t(7;12)(q36;p13) MNX1::ETV6 inv3(q21q26)/t(3;3)(q21;q26) RPN1::MECOM - 12p аномалии	МОБ $\geq 1\%$ после 1 индукции или $\geq 0.1\%$ после второй индукции или (только при информативности и доступности цитофлуориметрического исследования) $\geq 5\%$ бластов после 1 индукции

Окончание таблицы 8		
Группа риска	Молекулярно-генетические/ цитогенетические критерии	Критерии ответа
Высокая группа риска	<ul style="list-style-type: none"> <li>- FLT3-ITD с аллельным соотношением <math>\geq 0.5</math> вне комбинации с другими реципрокными мутациями или мутацией NPM1</li> <li>- WT1 мутация и FLT3-ITD</li> <li>-inv(16)(p13q24) CBFA2T3::GLIS2</li> <li>t(5;11)(q35;p15.5) NUP98::NSD1</li> <li>t(11;12)(p15;p13) NUP98::KDM5A</li> <li>- Эритроидный ОМЛ</li> </ul>	

### ***1.7.3 Влияние выбора режима кондиционирования на результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ***

Для выполнения алло-ТГСК, в качестве подготовки проводят высокодозную химиотерапию или химиотерапию в сочетании с лучевой терапией, так называемый режим кондиционирования (РК), с двумя целями: иррадикации злокачественных клеток, а также миело- и иммуноаблации для обеспечения приживления донорских ГСК [136].

В зависимости от индуцированной цитопении и необходимости в поддержке ГСК режимы кондиционирования классифицируются по интенсивности, согласно критериям Dr Richard Champlin (“Champlin criteria”):

- миелоаблативный режим кондиционирования (МАК) – режим, который вызывает необратимую (или близкую к необратимой) панцитопению с необходимостью поддержки ГСК для восстановления функции костного мозга и предотвращения смерти, связанной с аплазией.

- немиелоаблативный РК (НМА) - режим, который вызывает минимальную цитопению и не требует поддержки введением ГСК.

- режим кондиционирования сниженной интенсивности (РИК) – режим кондиционирования, не соответствующий МАК или НМА, когда восстановление кроветворения реципиента без введения ГСК донора возможно, но крайне затруднено [137].

В настоящее время вопрос выбора оптимального РК перед алло-ТГСК у детей с ОМЛ остается открытым и требует дальнейшего изучения.

Первые и наиболее часто используемые режимы подготовки к алло-ТГСК были основаны на тотальном облучении тела (ТОТ) либо бусульфана [138].

Thomas и соавт., (1972 г.) первыми описали использование ТОТ в дозе 10 Гр в подготовке к алло-ТГСК при ОМЛ и сообщили о снижении токсичности данного режима за счет фракционирования, что сопровождалось повышением показателей БРВ [139, 140].

Миелоаблативный эффект бусульфана, наблюдаемый на мышинных моделях апластической анемии, перенесли в клиническую практику Santos и Tutschka [141]. Благодаря описанному опыту Tutschka и соавт., (1987 г.) в режиме кондиционирования для пациентов с ОМЛ объединили пероральную форму бусульфана с циклофосфамидом [142]. Данный режим кондиционирования показал свою эффективность в качестве подготовки к алло-ТГСК в широком спектре гематологических злокачественных новообразований и незлокачественных заболеваний, обеспечивая альтернативу режимам кондиционирования на основе тотального облучения тела.

Режим кондиционирования на основе бусульфана, цитотоксического алкилирующего агента, в комбинации с циклофосфамидом в дозе 200 мг/кг впервые описал Santos [141]. Этот режим продемонстрировал низкую частоту рецидивов, однако имел относительно высокие показатели смертности, что в дальнейшем было нивелировано Tutschka и соавт., (1987) за счет снижения дозы циклофосфамида до 120 мг/кг [142]. Blaise и Ringden (1992 г, 1994 г.) опубликовали 2 рандомизированных исследования, в которых сравнивали

ТОТ в сочетании с циклофосфамидом в дозе 120 мг/кг (ТОТ+Цф120), а также бусульфан с циклофосфамидом 120 мг/кг (Бу+Цф120) и показали более высокую летальность, связанную с трансплантацией (TRM – transplant-related mortality) за счет ранних токсических осложнений, таких как веноокклюзионная болезнь печени (ВОб) и геморрагический цистит, более высокую частоту рецидивов в группе бусульфана [143, 144]. Тем не менее, объединенные данные 4 рандомизированных исследований, с медианой наблюдения составившей 7 лет, показали отсутствие статистически значимых различий в результатах алло-ТГСК в зависимости от режимов кондиционирования на основе бусульфана или ТОТ [145]. Недавнее ретроспективное исследование Ishida и соавт., (2015 г.) также не подтвердило достоверных различий результатов алло-ТГСК у детей с ОМЛ в 1 и 2 ремиссии, получавших ТОТ+Цф или внутривенный Бу+Цф, показав одинаковый уровень TRM, однако в группе ТОТ наблюдалась более высокая частота бактериальных инфекций [146].

Аналогичные результаты были получены французской группой в ретроспективном исследовании у пациентов с ОМЛ в первой ремиссии [147]. Относительно недавно режимы кондиционирования на основе ТОТ и химиотерапевтических агентов сравнивались в группе 624 детей с ОМЛ, получивших алло-ТГСК в 2008-2016 г., данные которых были зарегистрированы в реестре CIBMTR (Center for International Blood and Marrow Transplant Research). Пятилетняя летальность, не связанная с рецидивом, была выше при режимах на основе ТОТ (22% против 11%,  $p < 0,0001$ ), но частота рецидивов оказалась ниже (23% против 37%,  $p < 0,0001$ ) по сравнению с кондиционированием без ТОТ. Следовательно, показатели ОВ (62% против 60%,  $p=1,00$ ) значимо в группах не различались. Режимы кондиционирования на основе ТОТ ассоциировались с более высокой частотой клинически значимой оРТПХ II–IV степени и большей 3-летней частотой гонадной недостаточности, дефицита гормона роста, снижая качество жизни пациентов [148].

Эти данные привели к сокращению использования режима кондиционирования на основе ТОТ в педиатрической популяции с ОМЛ. Поскольку отдаленные осложнения, связанные с ТОТ, такие как задержка роста, нейрокогнитивные расстройства, катаракта, эндокринная дисфункция, бесплодие и значительно более высокий риск вторичных злокачественных новообразований, представляет собой серьезное бремя для выживших детей [149, 150]. Миелоаблативные бусульфан-содержащие режимы кондиционирования также могут приводить к некоторым из перечисленных осложнений, однако частота этих осложнений значительно ниже [150-153].

В 1987 году Tutschka P.J. и соавторами был установлен миелоаблативный «предел дозы» перорального бусульфана, который составил 16 мг/кг, суммарно, разделенный на четыре приема [142]. В работе Andersson B.S. и соавт., (2008 г.) на взрослой популяции больных доза бусульфана 12 мг/кг была достаточной для иммуноабляции, обеспечивающей стабильность приживления донорских клеток, при этом отмечалось снижение токсических осложнений, связанных с режимом кондиционирования [154]. В исследовании рабочей группы EBMT по острым лейкозам было показано, что снижение дозы внутривенного бусульфана в режиме кондиционирования до 6,4 мг/кг по сравнению с 12,8 мг/кг приводит к практически двукратному снижению риска двухлетней TRM в группе взрослых пациентов старше 50 лет в 1 ремиссии ОМЛ, хотя различия статистически незначимы ( $p=0,06$ ). Однако, для взрослых пациентов моложе 50 лет, получивших бусульфан в дозе 12,8 мг/кг, значимо ниже была кумулятивная частота рецидивов, что свидетельствует о преимуществе дозы-эффекта в отношении возврата ОМЛ [155].

С целью снижения риска токсических осложнений и трансплантационной летальности в когорте взрослых реципиентов алло-ТГСК была выполнена смена циклофосфида в бусульфан-содержащем МАК на флударабин, аналог нуклеозида с выраженными иммуносупрессивными свойствами и антилейкемической активностью [156].

В когорте взрослых больных с ОМЛ замена циклофосфида на флударабин привела к снижению трансплантационной летальности, улучшению результатов алло-ТГСК в виде более высокой БРВ и ОВ [154, 157-159]. Эти данные позволили внедрить данный РК в педиатрическую практику. В когорте реципиентов алло-ТГСК опубликованы единичные исследования, сравнивающие бусульфан-содержащие РК в сочетании с флударабином (БуФлу) либо циклофосфамидом (БуЦф). В наиболее крупном исследовании Harris A.C. и соавт., (2018 г.) была продемонстрирована более низкая частота синдрома синусоидальной обструкции ( $p=0,04$ ), геморрагического цистита ( $p=0,04$ ), и хронической реакции «трансплантат против хозяина» (хрРТПХ) у детей с незлокачественными заболеваниями, в когорте же детей с онкогематологической патологией результаты алло-ТГСК с разными РК были сопоставимы, но пациенты, развившие рецидив после трансплантации в группе флударабина имели ниже уровень выживаемости [160].

Внедрение препаратов, вызывающих иммунологическую толерантность, достаточную для приживания ГСК, позволило также рассматривать режимы кондиционирования сниженной интенсивности (РИК) как возможную опцию подготовки к алло-ТГСК в связи со снижением на фоне их применения ранней токсичности и риска развития отдаленных осложнений, таких как задержка роста, сохранение функции эндокринных органов, в том числе фертильности.

Так, в исследовании, проведенном ЕВМТ, в котором проанализированы результаты алло-ТГСК от полностью совместимого родственного донора пациентов с ОМЛ старше 50 лет была продемонстрирована сопоставимость режимов кондиционирования различной интенсивности по таким показателям как 10-летняя БРВ - 31% после МАК и 32% после РИК ( $p=0,57$ ), выживаемость без рецидива и РТПХ – 22% и 21% ( $p=0,79$ ) соответственно. Более высокий уровень TRM после МАК нивелировался более низким кумулятивным риском развития рецидива [161].



Существуют опасения, что вышеперечисленные явные преимущества РИК для детей с ОМЛ могут быть нивелированы повышением риска рецидива основного заболевания [162]. В НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой была проведена исследовательская работа по сравнению эффективности режимов кондиционирования различной интенсивности, была отмечена более низкая частота токсических осложнений таких как тяжелые мукозиты, геморрагические циститы, веноокклюзионная болезнь, токсические гепатиты. Однако летальность, связанная с трансплантацией, была сопоставима в обеих группах. Общая выживаемость имела зависимость от статуса заболевания и, в группе МАК и РИК в 1 ремиссии, составила 65 и 80% ( $p=0,4$ ), во второй ремиссии 65 и 17% ( $p=0,003$ ), вне ремиссии 17 и 19% ( $p=0,2$ ) соответственно. Достоверные различия ОВ у пациентов во второй ремиссии ОМЛ при МАК по сравнению с РИК могут свидетельствовать о необходимости сочетанного цитостатического и иммуноадоптивного воздействия на опухолевый клон [19].

Наиболее часто используемые режимы кондиционирования представлены в таблице 9.

Подбор РК в каждом клиническом случае зависит от ряда факторов, таких как, индивидуальные особенности пациента, возраст больного, ремиссионный статус и статус МОБ, предшествующая терапия, сопутствующие заболевания, опыт трансплантационного центра. Выбор наиболее оптимального режима кондиционирования, а также его интенсивности – актуальный вопрос, требующий дальнейших исследований.

Таким образом, среди наиболее актуальных вопросов, связанных с определением показаний и повышением эффективности алло-ТГСК у детей с ОМЛ является выявление новых молекулярно-биологических маркеров для стратификации риска рецидива и определения терапевтической тактики, их роли, как фактора присутствия МОБ до и после алло-ТГСК. Следствием этого будет являться совершенствование подготовки пациентов к алло-ТГСК

на основе РК со сниженной токсичностью, таргетных препаратов и иммунотерапии.

Таблица 9. – Режимы кондиционирования, используемые в качестве подготовки к алло-ТГСК у детей с ОМЛ

МАК	РИК
Фракционированное ТОТ > 8 Гр + Циклофосфамид 120 мг/кг [138]	Бусульфан 8 мг/кг + Флударабин 150 мг/м <sup>2</sup> [166]
Бусульфан 16 мг/кг + Циклофосфамид 120 мг/кг [142]	Мелфалан 140 мг/м <sup>2</sup> + Флударабин 150 мг /м <sup>2</sup> [166]
Бусульфан 16 мг/кг + Флударабин 150 мг/м <sup>2</sup> [160]	ТОТ ≤5 Гр, или ≤8 Гр фракционированное
Треосульфан 30 - 42 г/м <sup>2</sup> в зависимости от площади поверхности тела + Флударабин 150 мг/м <sup>2</sup> + Тиотепа 10 мг/кг [163]	
ТОТ > 8 Гр +Треосульфан 30 - 42 г/м <sup>2</sup> в зависимости от площади поверхности тела + Флударабин 150 мг/м <sup>2</sup> [164]	
Цитозар 8000 мг/м <sup>2</sup> + Циклофосфамид 3600 мг/м <sup>2</sup> + Ломустин 120 мг/м <sup>2</sup> + Бусульфан 12 мг/кг [165]	

## Глава 2.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на базе отделений трансплантации костного мозга для детей клиники НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой ФГБОУ ВО Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова Министерства здравоохранения РФ на основании анализа клинических данных и биоматериала пациентов. В исследование включены ретроспективные и проспективные данные 216 пациентов педиатрического возраста (5 месяцев – 18 лет) с ОМЛ, алло-ТГСК которым была выполнена в период с 2000 по 2021 год. На момент анализа медиана наблюдения за пациентами составила 71 месяц.

Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании (для пациентов от 0 до 14 лет согласие было получено у законного представителя, для детей старше 14 лет – от пациента и законного представителя).

#### 2.1. Характеристика пациентов

В исследование включено 216 детей с ОМЛ в возрасте от 5 месяцев до 18 лет (медиана возраста – 9 лет) на момент выполнения алло-ТГСК.

Диагноз острого миелоидного лейкоза устанавливали в соответствии с критериями, разработанными Национальным институтом онкологии (США) и классификацией FAB до 2006 г., затем в соответствии с классификацией ВОЗ в 2006, 2016, 2022 гг. с использованием рекомендуемых методов диагностики [9,10, 219]. С целью индукции ремиссии пациенты получали химиотерапию по следующим протоколам – AML-BFM (52%, n=112), AML-MRD (Москва) (8%, n=17), НИИ ДОГ ОМЛ (4%, n=9), ОМЛ-ММ (6%, n=7),

гибридные схемы и другие протоколы (30%, n=71). При развитии рецидива терапию проводили по следующим программам: Флударабин-содержащие блоки (FLAG, FLA, FLA-Ida) - 39, FLAG с гемтузумабом озогамицином - 2, гемтузумаб озогамицин - 2, блок с малыми дозами цитарабина с гемтузумабом озогамицином - 1, повторная индукция ремиссии по протоколу AML-BFM (блоки ADE, HAM или AI) - 5, гибридные схемы - 11, интратекальное введение цитостатиков - 3, без терапии - 7, отсутствует информация в медицинской документации - 24.

Распределение заболевания по цитогенетическому риску было возможно для 146 пациентов. Благоприятные поломки (t(8;21) (q22; q22) RUNX1-RUNX1T1, inv 16(p13;q22) и t(16;16) (p13;q22) CBFB-MYH11) - наблюдали у 11,6%, n=17 пациентов, неблагоприятные поломки (MLL-г (иск. t(9;11) и t(11;16)), FLT3ITD, t(6;9)(p23;q34), inv3 (q21;q26)RPN1-EVI1, поломки 7 хромосомы) - 30,8%, n=45; не имеющие прогностического значения (все остальные перестройки и нормальный кариотип) - 57,6%, n=84.

Распределение пациентов до алло-ТГСК по статусу заболевания, возрастной группе, типу донора, интенсивности режима кондиционирования, источнику трансплантата представлено в таблице 10.

Таблица 10. – Характеристика пациентов

Характеристика	Количество пациентов, n (%)
Статус заболевания	
- 1 ремиссия	89 (42%)
- 2 ремиссия	39 (18 %)
- 3 ремиссия	5 (2%)
- вне ремиссии	83 (38%)
Возрастная группа	
- 5 месяцев – 2 года	62 (29%)
- 3 года – 10 лет	72 (33%)
- 11 лет – 18 лет	82 (38%)

Окончание таблицы 10	
Характеристика	Количество пациентов, n (%)
Индекс Карновского/Ланского	
- Менее 80%	166 (78%)
- Более 80%	50 (22%)
Вид донора	
- полностью совместимый родственный	32 (15%)
- полностью совместимый неродственный	74 (34%)
- частично-совместимый неродственный	25 (11%)
- гаплоидентичный	85 (40%)
Интенсивность режима кондиционирования	
- МАК	118 (55%)
- доза бусульфана 10-16 мг/кг	103 (48%)
- треосульфана 36-42 г/м <sup>2</sup> (в зависимости от площади поверхности тела)	15 (7%)
- РИК	98 (45%)
- на основе бусульфана <10 мг/кг	36 (17%)
- на основе мелфалана 140 мг/м <sup>2</sup>	55 (25%)
- другие	7 (3%)
Источник трансплантата	
- костный мозг (КМ)	145 (67%)
- стволовые клетки периферической крови (СКПК)	64 (30%)
- комбинация КМ + СКПК	7 (3%)

### ***2.1.1 Режимы кондиционирования***

Исследование влияния интенсивности режимов кондиционирования на результаты алло-ТГСК включало анализ различных доз бусульфана у 119

детей с ОМЛ. В зависимости от дозы бусульфана пациенты были разделены на 3 группы: 8-10 мг/кг – n= 33 (28%); 12 мг/кг – n=45 (38%); 14-16 мг/кг – n=41 (34%). Данные пациентов по основным характеристикам в зависимости от дозы бусульфана в режиме кондиционирования представлены в таблице 11.

Таблица 11. – Характеристика детей с ОМЛ, в зависимости от доз бусульфана в режиме кондиционирования

Характеристика	Бу1 (8-10 мг/кг)	Бу2 (12 мг/кг)	Бу3 (14-16 мг/кг)
Количество пациентов	33	45	41
Ремиссия 1,2	24 (72%)	21 (46%)	26 (63%)
Вне ремиссии	9 (27%)	24 (54%)	15 (37%)
БуФлю	31 (94%)	21 (47%)	7 (17%)
БуЦф	2 (6%)	6 (13%)	32 (78%)
Бусульфан и другие алкиляторы.	0	18 (40%)	2 (5%)
Профилактика РТПХ на основе циклофосфида, n (%)	14 (42%)	34 (75%)	13 (29%)
Полностью совместимый родственный	2 (6%)	5 (11%)	10 (24%)
Полностью совместимый неродственный	19 (57, 5%)	9 (20%)	21 (47%)
Частично совместимый неродственный	2 (6%)	5 (11%)	4 (10%)
Гаплоидентичный	10 (30,5%)	26 (58%)	6 (15%)
<b>Способ введения:</b>			
Пероральный	28 (85%)	36 (80%)	33 (80%)
Внутривенный	5 (15%)	9 (20%)	8 (20%)

### 2.1.2 Оценка минимальной определяемой болезни (МОБ)

Для оценки влияния статуса МОБ на результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ были проанализированы данные 95 пациентов в 1-2 ремиссии. Исследование МОБ проводили двумя стандартными методами: молекулярно-биологическим и с помощью иммунофенотипирования.

Иммунофенотипирование (ИФТ) выполняли с использованием цитофлюориметра BD FACSCanto II (BD Biosciences), на основе комбинации методов обнаружения, лейкоз-ассоциированного иммунофенотипа (CD19+/7+/56+) и обнаружения фенотипа отличного от нормы (CD38+/33+/34+13+/117+/19+/45+). Положительным в количественном измерении считали уровень МОБ >0,1%.

Молекулярно-биологическая оценка МОБ проводилась методом количественной ПЦР, положительным считали относительный уровень экспрессии исследуемых генов (RUNX1::RUNX1T1, KMT2A::AFF1, KMT2A::MLLT3, PML::RARA, CBFB::MYH11) > 0,01%.

В таблице 12 представлена характеристика пациентов с разным статусом МОБ на момент алло-ТГСК.

Таблица 12. – Характеристика пациентов с ОМЛ с разным статусом МОБ на момент алло-ТГСК

Характеристика	МОБ(-)	МОБ(+)	p
Ремиссионный статус			
1 ремиссия	55 (82%)	20 (71,4%)	0,25
2 ремиссия	12 (18%)	8 (29,6%)	
Режим кондиционирования			
МАК	43 (64%)	15 (53,6%)	0,111
РИК	24 (36%)	13 (46,4%)	

Окончание таблицы 12			
Характеристика	МОБ(-)	МОБ(+)	p
Тип донора			
Родственный	8 (12%)	5 (18%)	0,29
Неродственный	33 (49%)	15 (53,5%)	
Гаплоидентичный	26 (39%)	8 (28,5%)	
Профилактика РТПХ на основе циклофосфамида	48 (71,6%)	17 (60,7%)	0,3
Факт проведения посттрансплантационной профилактической/превентивной терапии	11 (16,4%)	8 (28,5%)	0,18

### ***2.1.3 Профилактика реакции «трансплантат против хозяина»***

Все пациенты в исследуемой группе получили профилактику РТПХ: на основе посттрансплантационного циклофосфамида в Д+3 и Д+4, либо при клеточности трансплантата менее  $3 \times 10^6$  CD34+/кг веса реципиента в Д+3 в дозе 50 мг/кг/сут – 116 (53,7%) детей; с использованием серопротекции антитимоцитарным глобулином – в 74 (34,3%) случаях; с применением TCR  $\alpha/\beta$  деплеции – в 6 (2,8%). Базовую иммуносупрессию ингибиторами кальциневрина получили 191 (88,4%) пациентов: на основе циклоспорина А (3 мг/кг/сут, целевая концентрация 250 нг/мл) – 83 (38,4%) человек или такролимуса (0,03 мг/кг/сут, целевая концентрация 3–5 нг/мл) в комбинации с ингибитором mTOR – сиролимусом (1 мг/м<sup>2</sup>/сут, целевая концентрация 3–5 нг/мл) и/или микофенолата мофетила (30 мг/кг/сут) – 108 (50%) детей. Базовую иммуносупрессию ингибитором m-TOR сиролимусом (1 мг/м<sup>2</sup>/сут, целевая концентрация 3–5 нг/мл) без ингибиторов кальциневрина получили 4



(1,8%) пациента. Монопрофилактика посттрансплантационным ЦФ применялась у 15 (7%) человек.

#### *2.1.4 Терапия после алло-ТГСК*

С целью анализа влияния посттрансплантационной терапии на ОВ, БСВ и кумулятивную частоту рецидива были проанализированы данные пациентов, которым после алло-ТГСК проводилась профилактика рецидива ОМЛ. Показаниями для проведения профилактики рецидива были высокая группа риска перед алло-ТГСК, резистентное/рецидивирующее течение ОМЛ, персистенция МОБ. В группу сравнения вошли пациенты, которым посттрансплантационная профилактика не проводилась (историческая группа, некомплаентность родителей пациентов).

Всех пациентов распределили на 2 группы в зависимости от факта применения терапии после алло-ТГСК (таблица 13).

В зависимости от факта применения профилактики рецидива ОМЛ после алло-ТГСК, данные двух группы сравнения были сопоставимы по таким характеристикам как статус МОБ перед алло-ТГСК ( $p=0,22$ ), тип донора ( $p=0,25$ ), интенсивность режима кондиционирования ( $p=0,24$ ), режим профилактики РТПХ ( $p=0,5$ ).

Профилактика рецидива ОМЛ после алло-ТГСК включала:

1. 5-азациитидин- 20-70 мг/м<sup>2</sup> от 3 до 5 курсов у 7 (44%) пациентов,
2. инфузия донорских лимфоцитов (ИДЛ) в суммарной дозе CD3+/кг  $1,5 \times 10^6$ -  $2,0 \times 10^8$  у 6 (37%) пациентов,
3. ИДЛ + 5-азациитидин у 2 (13%) больных
4. инфузия НК-клеток в дозе  $3,2 \times 10^7$  + децитабин у 1 (6%) больного.

Из группы сравнения были исключены пациенты, которым проведение профилактики рецидива ОМЛ после алло-ТГСК не рассматривали по следующим причинам:

- 1) неприживление трансплантата;

- 2) рецидив, возникший в первые 2 месяца после алло-ТГСК;
- 3) острая реакция трансплантат против хозяина (РТПХ) 2-4 степени.

Таблица 13. – Сравнительная характеристика пациентов при проведении/не проведении терапии после алло-ТГСК

Параметры сравнения		Профилактика проводилась	Профилактика не проводилась	p
		n(%)	n(%)	
		16 (100%)	41 (100%)	
Статус заболевания на момент алло-ТГСК	1 ремиссия	10 (62,5%)	33 (80%)	0,22
	МОБ (+)	4 (25%)	7 (17%)	
	МОБ (-)	6 (37%)	21 (51%)	
	МОБ статус неизвестен	0	5 (12%)	
	2 ремиссия	6 (37%)	8 (19%)	
	МОБ (+)	5 (31%)	4 (9,5%)	
	МОБ(-)	1 (6%)	4 (9,5%)	
Тип донора	Родственная совместимая	1 (6%)	9 (23%)	0,25
	Неродственная	9 (56%)	25 (60%)	
	Гаплоидентичная	6 (38%)	7 (17%)	
Интенсивность режима кондиционирования	МАК	7 (44%)	25 (60%)	0,24
	РИК	9 (56%)	16 (40%)	
Профилактика оРТПХ	С ПтЦФ*	12 (75%)	27 (66%)	0,5
	Без ПтЦФ*	4 (25%)	14 (34%)	

\* ПтЦФ – посттрансплантационный циклофосфамид

### *2.1.5 Исследование уровня экспрессии генов, характерных для лейкемических стволовых клеток*

С целью оценки экспрессии генов, характерных для ЛСК, и их влияния на результаты алло-ТГСК, было выполнено ПЦР-РВ 50 биообразцов костного мозга пациентов.

Тотальная мРНК была выделена из ядродержащих клеток костного мозга с применением метода гуанидин-фенол-хлороформной экстракции с помощью TriZ Reagent (Inogene, Russia) согласно протоколу, включающего следующие основные этапы:

- 1) Гомогенизация пробы в 1 мл TriZ Reagent (Inogene, Russia) с добавлением  $10^7$  ядродержащих клеток костного мозга.
- 2) Разделение фаз – к гомогенизированному раствору добавляли 0,2 мл Хлороформа.
- 3) Выделение РНК из водной фазы с добавлением 0,5 мл Изопропанола и 1 мкл. Гликогена.
- 4) Очищение РНК с применением 70% Этаноло
- 5) Элюция РНК при помощи воды свободной от РНКаз
- 6) Пробы, после выделения ДНК хранились при  $-80^{\circ}\text{C}$  с использованием стандартных рабочих процедур.

#### *Обратная транскрипция*

Синтез кДНК осуществляли с использованием набора Обратная транскриптаза М-MuLV RN (BioLab mix, Россия). Протокол синтеза кДНК был следующим: 10 мкл. экстрагированной тотальной РНК смешивали с 2 мкл. случайных гексамерных праймеров, вортиксировали, а затем осаждали. Далее инкубировали в течение 2 минут при  $70^{\circ}\text{C}$ . После завершения процесса инкубации пробирки помещали на лед (штатив  $-20^{\circ}\text{C}$ ). На льду в пробирки добавляли 8 мкл реакционной смеси, состоящей из:

- 7 мкл. ОТ-буффер mix;

- 1 мкл. M-MuLV-RH ревертаза

Полученные пробы помещали в амплификатор со следующей программой:

- 25°C – 10 мин;
- 42°C – 60 мин;
- 70°C – 10 мин.

С каждой пробой РНК выполнялось по 2 реакции обратной транскрипции.

После окончания процесса амплификации все пробы хранились при -20°C до проведения ПЦР в реальном времени.

#### *ПЦР в реальном времени*

Для каждой пробы кДНК была выполнена мультиплексная ПЦР в режиме реального времени для генов: *SOCS2*, *CD34*, *FAM30A*, *GPR56*, *DNMT3B*, *SPINK2* с последующим определением уровня относительной экспрессией относительно референс-гена *ABL1* с использованием приборов CFX96 и iQ5 (Bio-Rad, США).

В качестве набора реагентов для амплификации использовали M-428 (Синтол, Россия), со следующими условиями реакции: 10 мкл. реакционной смеси для ПЦР, содержащей dNTP смесь по 2,5 мМ каждого, 10xПЦР буфер, 5 Ед Таq-ДНК полимеразы и 2.5µl 25 мМ MgCl<sub>2</sub>, с добавлением 7 пмоль каждого из ген-специфичных праймеров, 5 пмоль ТаqMan зондов. Последовательности праймеров и ТаqMan-зондов для ПЦР в реальном времени представлены в Таблице 14. Применялся следующий режим амплификации: начальная инкубация при 95°C – 10 мин, затем 45 циклов с условиями 95°C – 15 сек, 60 °C – 1 мин. Флуоресцентный сигнал определяли при 60°C с использованием каналов FAM, HEX, ROX, Cy5. Относительный уровень экспрессии гена рассчитывали по формуле:

$$(2^{-\Delta\Delta Ct}) * 100 = (2^{-(Ct(target\ gene) - Ct(reference\ gene))}) * 100$$

где:

Ct(target gene):

Ct(*SOCS2/CD34/FAM30A/GPR56/DNMT3B/SPINK*)

Ct(reference gene):

Ct (*ABL1*)

Таблица 14. – Нуклеотидные последовательности зондов и праймеров, использованные для определения уровня относительной экспрессии генов

Исследуемый ген	Прямой праймер (5'→3')	Обратный праймер (5'→3')	TaqMan флюоресцирующий зонд	Размер ампликона (пар оснований)
<i>DNMT3B</i>	GGAAGGAGTTT GGAATAGGG	CCAGTGCCACCA GTTTGTC	[FAM]AGTTCTCCG AGGTCTCTGCA[BH Q1]	183
<i>GPR56</i>	CCCATCTTTCTG GTGACGCT	GATCCAGCACAT GGAAGGGT	[ROX]CATCTTGGC TGTGCATAGGA[BH Q2]	114
CD34	TCCAGAGACAA CCTTGAAGC	CTTCTTAAACTCC GCACAGC	[FAM]CTAGCCTTGCA ACATCTCCC[BHQ1]	226
SOCS2	CTGGGATGCCG TGTTATTTT	TAGGAGGTGCGA GTCAGGT	[ROX]CCCTGGTTG TTGTAGCAGCT[BH Q2]	245
SPINK2	CGGAGAAAAGC GGGTTTGG	GTTTGGCGTTCTG GCAGGTC	[Cy5]GTTACTGGCG GTTCCCCAG[RTQ2]	124
FAM30A	GACCTCTTGCTT CCTGCAAC	AAAACCCACACC ACAAGCTC	[Cy5]GGCTGTGCCT AGGGTTTGTA[RTQ 2]	182
ABL1	TGGAGATAACA CTCTAAGCATA ACTAAAGGT	GATGTAGTTGCTT GGGACCCA	[HEX]CCATTTTTGG TTTGGGCTTCACA CCATT [BHQ1]	124

В данной когорте больных на момент рестадирирования перед алло-ТГСК 74% (n=37) пациентов имели 1-2 ремиссию заболевания (МОБ-позитивный статус определялся у 10 пациентов, МОБ-негативный – у 27 детей), в 26% (n=13) случаев имело место активное течение заболевания. Миелоаблативное кондиционирование проводилось у 74% (n=37), режим кондиционирования сниженной интенсивности получили 26% (n=13) детей с ОМЛ. Алогенная ТГСК от совместимого родственного донора выполнена 8% (n=4), от

неродственного донора 30% (n=15), от гаплоидентичного 62% (n=31) пациентам с ОМЛ. Оценка экспрессии генов, характерных для ЛСК, в соответствии со значением  $rLSC6$  подсчитывалась по следующей формуле:  $(DNMT3b \times 0,189) + (GPR56 \times 0,054) + (CD34 \times 0,0171) + (SOCS2 \times 0,141) + (SPINK2 \times 0,109) + (FAM30A \times 0,0516)$  [24].

## **2.2. Методы оценки эффективности аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток**

В данной работе оценивалась эффективность первой алло-ТГСК у пациентов с достигнутым приживлением трансплантата.

Перед выполнением алло-ТГСК пациентам с целью рестадирирования проводилась костномозговая, люмбальная пункции с дальнейшим морфологическим, цитогенетическим, молекулярно-генетическим и цитофлуориметрическим методами исследования, при наличии экстрамедуллярных очагов – визуализация (компьютерная томография/магнитно-резонансная томография в зависимости от вовлеченной локализации). После алло-ТГСК рестадирирование проводилось на день (Д) + 30 или ранее после приживления трансплантата, Д+60, Д+100, Д+180, Д+360, ежегодно и при подозрении на возврат основного заболевания.

Полная ремиссия устанавливалась в том случае, когда в пунктате костного мозга обнаруживалось 5% и менее бластных клеток при нормальном соотношении всех ростков кроветворения, отсутствии бластных клеток с палочками Ауэра и экстрамедуллярных очагов, при количестве нейтрофилов в периферической крови  $\geq 1,0 \times 10^9/\text{л}$ , при количестве тромбоцитов  $\geq 80 \times 10^9/\text{л}$  [33].

Первично-резистентное течение заболевания констатировалось при отсутствии ремиссии после завершения 2 курсов индукционной терапии.

Рецидив диагностировался при обнаружении в пунктате костного мозга более 5% бластов или появлении бластов в периферической крови; или развития экстрамедуллярного заболевания [32].

Приживление трансплантата определялось в соответствии с критериями EBMT на первый день из 3 последовательных дней подряд с абсолютным числом нейтрофилов выше  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  (включая рост тромбоцитов  $> 20 \times 10^9/\text{л}$  и гемоглобина  $> 80$  г/л, в отсутствие гемотрансфузионной зависимости) [167].

Неприживление трансплантата устанавливалось при абсолютном числе нейтрофилов ко дню 28 после алло-ТГСК менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$ , а также уровня гемоглобина менее 80 г/л и тромбоцитов менее  $20 \times 10^9/\text{л}$  [167].

Вторичная недостаточность трансплантата – абсолютное число нейтрофилов  $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$ , не связанное с рецидивом, инфекцией или лекарственной токсичностью после ранее зафиксированного приживления трансплантата [167].

Гипофункция трансплантата – двух- или трехростковая цитопения длительностью более 2 недель после 28 дня при определяемом донорском химеризме  $> 5\%$  [167].

Отторжение трансплантата – недостаточность трансплантата, вызванная иммунным отторжением донорских клеток, опосредованная клетками реципиента [167].

В рамках оценки прогностических факторов эффективности алло-ТГСК на основе анализа литературных данных была выделена группа клинических и лабораторных факторов прогноза. Однофакторный анализ производили среди следующих факторов возможного влияния на основные показатели выживаемости после алло-ТГСК – ремиссионного статуса, минимальной определяемой болезни, возрастной группы реципиента, интенсивности режима кондиционирования (РИК, МАК), доз бусульфана, соматического статуса.

### 2.3 Методы оценки безопасности алло-ТГСК

Перед началом режима кондиционирования проводился клинико-лабораторный и инструментальный минимум обследования, который включал клинический и биохимический анализ крови (уровень электролитов, аланинаминотрансферазы, аспрататаминотрансферазы, креатинина, мочевины, общего белка, альбумина, глюкозы, С-реактивного белка, лактатдегидрогеназы, билирубина), компьютерную томографию органов грудной клетки, околоносовых пазух, УЗИ органов брюшной полости, эхокардиографию, ЭКГ, МРТ головного мозга (при наличии показаний). В дальнейшем ежедневно с началом режима кондиционирования и до восстановления кроветворения выполнялся клинический и биохимический анализ крови, инструментальные методы исследования проводились в зависимости от наличия показаний. Степень тяжести нежелательных явлений (НЯ) оценивалась согласно критериям Common Terminology Criteria for Adverse Events v5.0 (CTCAE). Базовыми критериями определения степени тяжести НЯ являются следующие определения: степень 1 — легкое НЯ, бессимптомные проявления или легкие проявления, не требующие назначения лечения; степень 2 — умеренно выраженное НЯ, проявления, требующие проведения амбулаторного лечения, местных или неинвазивных методов лечения; степень 3 — тяжелые проявления без непосредственной угрозы жизни, требующие госпитализации или продления госпитализации; степень 4 — жизнеугрожающее осложнение, требующее экстренного медицинского вмешательства; степень 5 — смерть, связанная с нежелательным явлением.

Спектр осложнений после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток можно разделить на следующие категории: токсические, иммунные, инфекционные. Спектр возможных осложнений представлен в таблице 15.



Таблица 15. – Возможные ранние осложнения после алло-ТГСК

Токсические осложнения	Инфекционные осложнения	Иммунные осложнения
Гематологическая токсичность (анемия, лейко-нейтропения, тромбоцитопения) Геморрагические осложнения на фоне тромбоцитопении/коагулопатии Мукозит Токсический гепатит Токсидермия Кардиомиопатия Острое повреждение почек Геморрагический цистит Неврологическая токсичность Тромботическая микроангиопатия Веноокклюзионная болезнь печени	Бактериальные Вирусные Грибковые	Реакция трансплантат против хозяина Недостаточность трансплантата Неприживление трансплантата Отторжение трансплантата

#### 2.4 Методы математической обработки результатов исследования

С целью анализа результатов использовались методы описательной, параметрической и непараметрической статистики.

Результаты описательного анализа представлены в виде медиан и диапазонов для непрерывных переменных и в виде чисел и процентов для категориальных переменных.

Характеристики пациентов сравнивались в зависимости от типа переменных. Номинальные и порядковые независимые переменные

оценивались с помощью непараметрических тестов  $\chi^2$  и точного теста Фишера. Непрерывные переменные оценивались с помощью непараметрических ранговых тестов (U-тест, критерий Краскела–Уоллеса).

Эффективность аллогенной трансплантации костного мозга оценивалась с помощью показателей общей, бессобытийной выживаемости с помощью анализа Каплан-Майера, а для сравнения использовался логарифмический критерий (дискретные переменные) [168].

Общая выживаемость (ОВ) определялась как время дня 0 алло-ТГСК до смерти от любой причины. Пациенты, в отношении которых не произошло события, цензурировались на дату последнего контакта.

Бессобытийная выживаемость (БСВ) определялась как время от дня 0 алло-ТГСК до рецидива или смерти от любой причины. Пациенты, в отношении которых не произошло события, цензурировались на дату последнего контакта.

Кумулятивная частота рецидивов и летальность, связанная с трансплантацией оценивалась с учетом конкурирующих рисков по методу Fine-Grey [169].

При оценке результатов анализа статистически достоверными считались различия при значении  $p < 0,05$ .

Значение достоверных факторов исследовалось в многофакторном анализе с помощью регрессии Кокса.

Статистический анализ проводился с помощью программ IBM SPSS STATISTICS 23 и EZR (Easy R)

## Глава 3.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЛО-ТГСК У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Конечная цель аллогенной ТГСК у детей с острым миелоидным лейкозом – достижение долгосрочной выживаемости, что может быть оценено как эффективность аллогенной ТГСК, которая в свою очередь складывается из оценки нескольких состояний, а, именно, приживление трансплантата, развития осложнений раннего и позднего периодов, рецидива заболевания.

### 3.1. Приживление трансплантата

При анализе в общей группе пациентов частота приживления составила 79% (n=171) после алло-ТГСК (таблица 16) с медианой срока приживления по нейтрофилам 19,5 (от 10 до 56) дней. Медиана сроков приживления ГСК донора не зависела от статуса заболевания в момент выполнения трансплантации: в 1-ой ремиссии – 19 (от 10 до 38) дней, во 2-ой ремиссии – 18 (от 11 до 40) дней, вне 1-2 ремиссии – 21 (от 12 до 56) дней (p=0,44).

Таблица 16. – Приживление трансплантата в зависимости от статуса заболевания на момент алло-ТГСК

	Ремиссия 1	Ремиссия 2	Вне 1 и 2 ремиссии	p
Приживление	86,5% (n=77)	94,6% (n=35)	69,4% (n=59)	0,004

До предполагаемого приживления умерло 5 пациентов (2,3%), все из которых были в состоянии рецидива до алло-ТГСК.

Таким образом, ремиссионный статус ОМЛ на момент алло-ТГСК оказал значимое влияние (p=0,004) на приживление ГСК, при этом у тех

пациентов, у которых приживление состоялось длительность восстановления гемопоэза уже не зависела от стадии заболевания ( $p=0,44$ ).

### 3.2. Показатели выживаемости пациентов в общей группе

При медиане наблюдения 71 месяц показатели общей выживаемости в исследуемой когорте пациентов, достигших приживления трансплантата, в зависимости от статуса заболевания перед алло-ТГСК были следующими – 77,9% у детей в 1 ремиссии ОМЛ, 54,3% - во второй ремиссии, 27,1% вне ремиссии,  $p<0,001$  (рисунок 3). Бессобытийная выживаемость составила 67,5%, 45,7% и 20,3%,  $p<0,001$ , соответственно (рисунок 4).

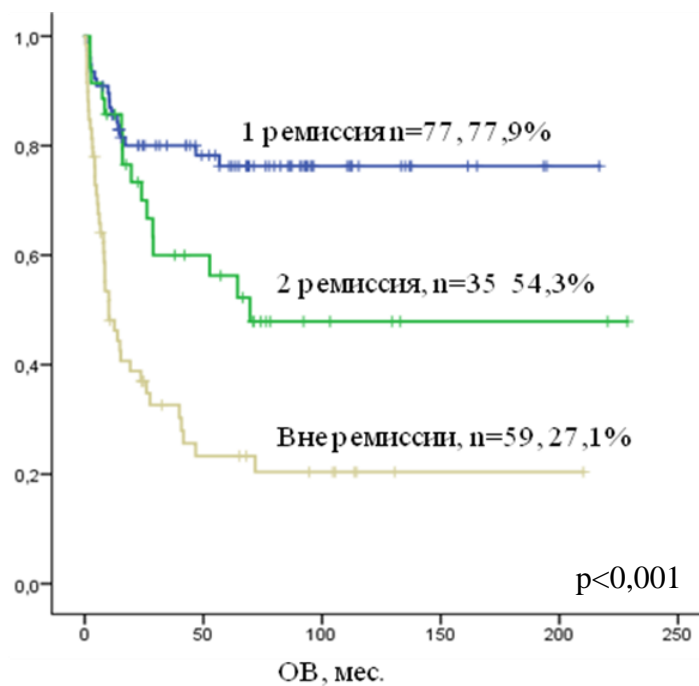


Рисунок 3. – Показатели ОВ у детей в зависимости от статуса ОМЛ перед алло-ТГСК

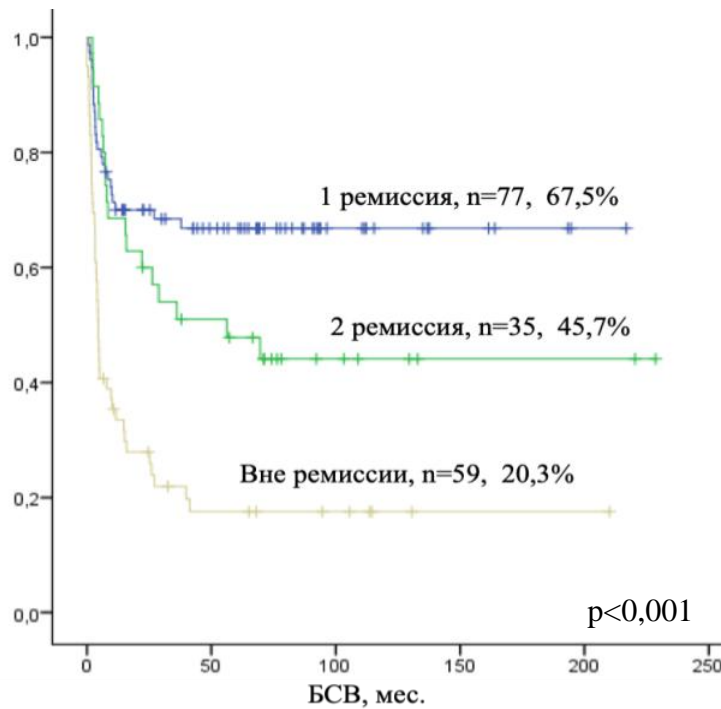


Рисунок 4. – Показатели БСВ у детей в зависимости от статуса ОМЛ перед алло-ТГСК

Трансплантационная летальность зависела от статуса ОМЛ на момент выполнения алло-ТГСК и составила 12,7% для пациентов в 1 ремиссии ОМЛ, 36,6% для детей во 2 ремиссии и 35,4% вне ремиссии ( $p=0,004$ ). Ранняя трансплантационная летальность до Д+100 составила 7,9%, 11% и 17,5% ( $p=0,117$ ), поздняя – 5,2%, 28%, 21,7% соответственно ( $p=0,015$ ).

Основные причины ранней трансплантационной летальности до Д+100 у пациентов в 1 ремиссии при выполнении алло-ТГСК – инфекционные осложнения,  $n=4$  (4,5%), оРТПХ,  $n=3$  (3,3%); у пациентов во второй ремиссии – оРТПХ,  $n=2$  (5,4%), инфекционные осложнения,  $n=1$  (2,7%), геморрагические осложнения,  $n=1$  (2,7%); вне ремиссии – оРТПХ,  $n=6$  (6,7%), инфекционные осложнения,  $n=6$  (6,7%), токсические осложнения (ВОБ),  $n=2$  (2,2%), геморрагические осложнения,  $n=1$  (1,1%).

На рисунке 5 представлены причины летальных исходов в зависимости от статуса заболевания в любые сроки после алло-ТГСК.

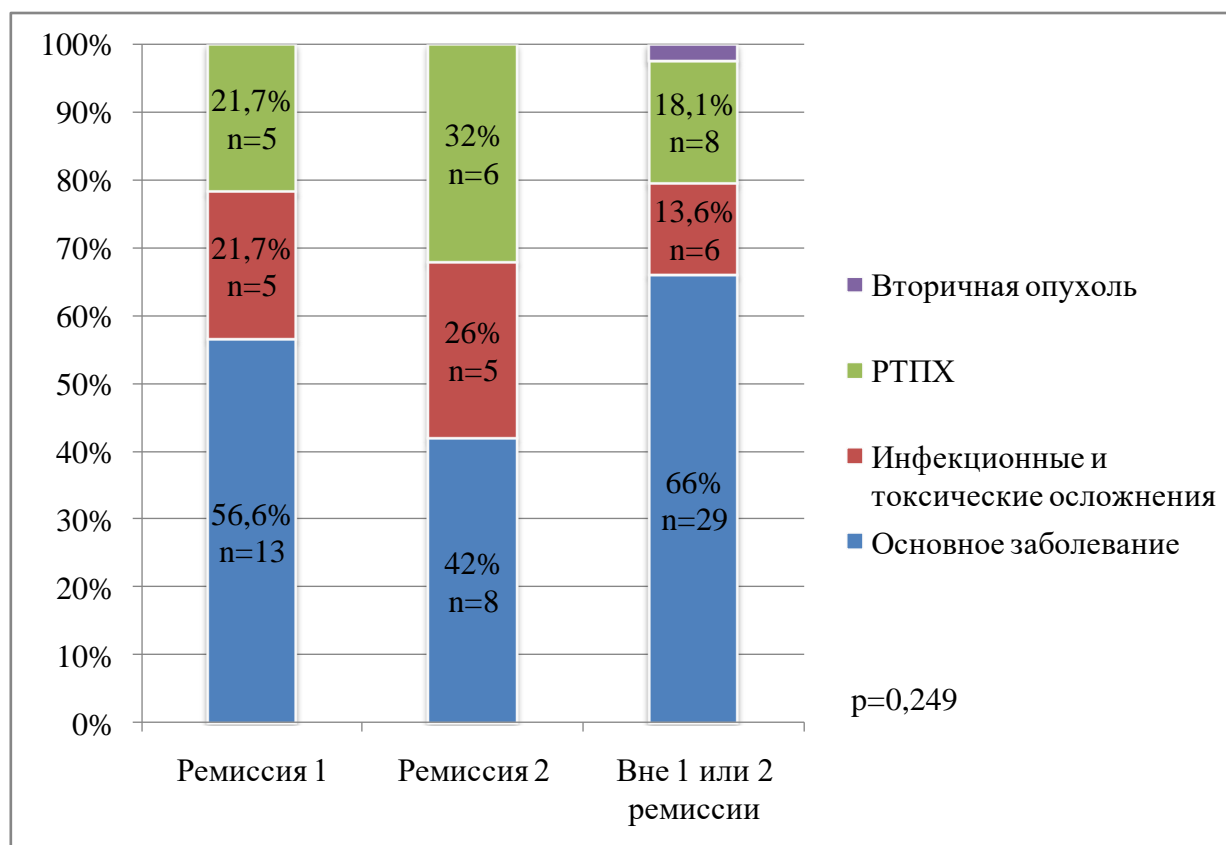


Рисунок 5. – Структура летальных исходов в зависимости от статуса заболевания на момент алло-ТГСК

Кумулятивная частота рецидива после алло-ТГСК у пациентов в 1 ремиссии составила 24,6%, у детей во второй ремиссии – 34%, вне ремиссии – 69% ( $p < 0,001$ )

Не вызывает сомнений, что статус заболевания на момент выполнения алло-ТГСК имеет ведущее значение в эффективности проводимой трансплантации, что доказывается значимыми различиями в показателях ОВ, БСВ и частотой постреплантационных рецидивов.

### 3.3 Показатели выживаемости в зависимости от возрастной группы

С целью исследования влияния фактора возраста в момент дебюта заболевания на эффективность алло-ТГСК пациенты были разделены на 3 возрастные группы, с учетом возрастной периодизации Н.П. Гундобина

(среднее и старшее детство от 3 лет, пубертатный период от 11 лет) и биологических особенностей острого миелоидного лейкоза (младенческий лейкоз от рождения до 2 лет):

- 1) От 5 месяцев до 2 лет (пациенты с младенческим лейкозом) – n = 62 (29%)
- 2) Старше 2 лет до 10 лет – n = 72 (33%)
- 3) Старше 10 лет до 18 лет – n = 82 (38%)

Частота приживления трансплантата различалась у пациентов в старшей возрастной группе и была значимо ниже у пациентов вне ремиссии заболевания, в остальных группах значимых различий не было выявлено (таблица 17).

Медиана сроков приживления ГСК донора в зависимости от возраста и статуса заболевания в момент выполнения трансплантации:

- у пациентов от 5 мес. до 2 лет в 1-ой ремиссии – 18 (от 10 до 38) дней, во 2-ой ремиссии – 15 (от 11 до 19) дней, вне ремиссии – 22 (от 13 до 34) дней (p=0,725);

- у пациентов 3-10 лет в 1-ой ремиссии – 21,5 (от 12 до 33) дней, во 2-ой ремиссии – 20 (от 13 до 40) дней, вне ремиссии – 21 (от 13 до 56) дней (p=0,339);

- у пациентов 11-18 лет в 1-ой ремиссии – 19 (от 11 до 33) дней, во 2-ой ремиссии – 18 (от 11 до 31) дней, вне ремиссии – 22 (от 12 до 33) дней (p=0,152).

Таблица 17. – Частота приживления трансплантата в зависимости от возраста и статуса заболевания до алло-ТГСК

Ремиссионный статус	5мес.-2 года	3-10 лет	11-18 лет	p
Ремиссия 1	83% (n=30)	87% (n=21)	89% (n=26)	0,7
Ремиссия 2	80% (n=4)	93% (n=14)	100% (n=17)	0,2
Вне 1 или 2 ремиссии	79% (n=15)	73% (n=24)	55% (n=20)	0,2
p	0,9	0,33	0,02	

Показатели ОВ для пациентов в 1 ремиссии ОМЛ в зависимости от возраста составили 80% у детей от 5 месяцев до 2 лет, 66,7% у пациентов от 3 до 10 лет и 84,6% в группе детей от 11 до 18 лет ( $p=0,355$ ), во второй ремиссии – 100%, 50% и 47,1% ( $p=0,3$ ), вне ремиссии – 40%, 16,7% и 30% ( $p=0,23$ ), соответственно (рисунок 6, 7, 8).

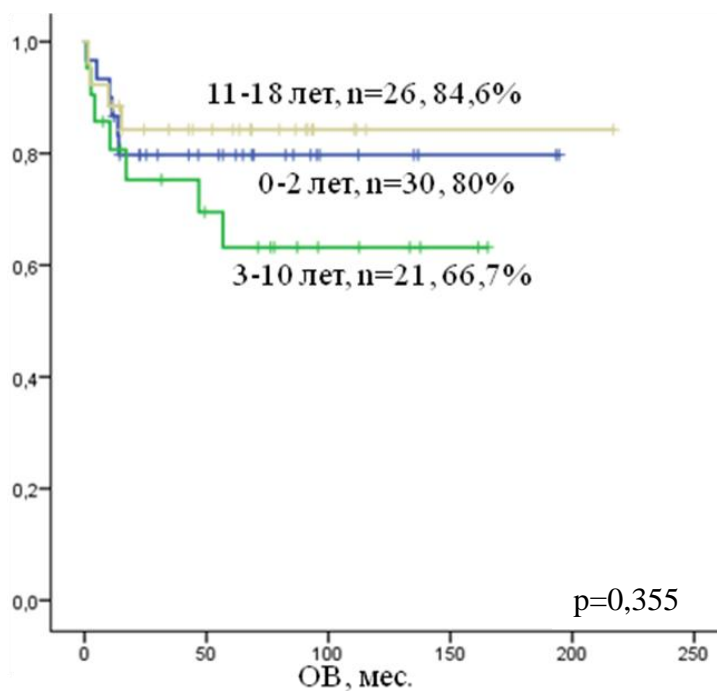


Рисунок 6. – Показатели ОВ после алло-ТГСК в 1 ремиссии ОМЛ в зависимости от возраста детей



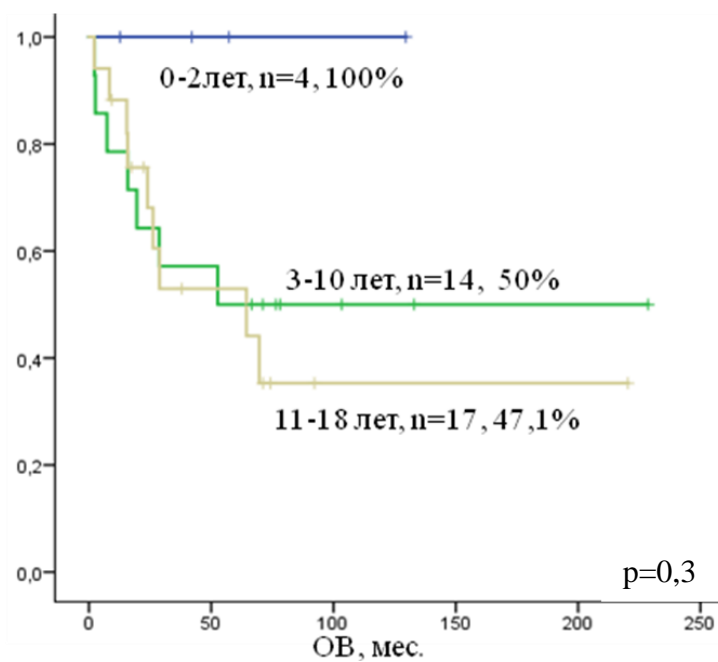


Рисунок 7. – Показатели ОВ после алло-ТГСК во 2 ремиссии ОМЛ в зависимости от возраста детей.

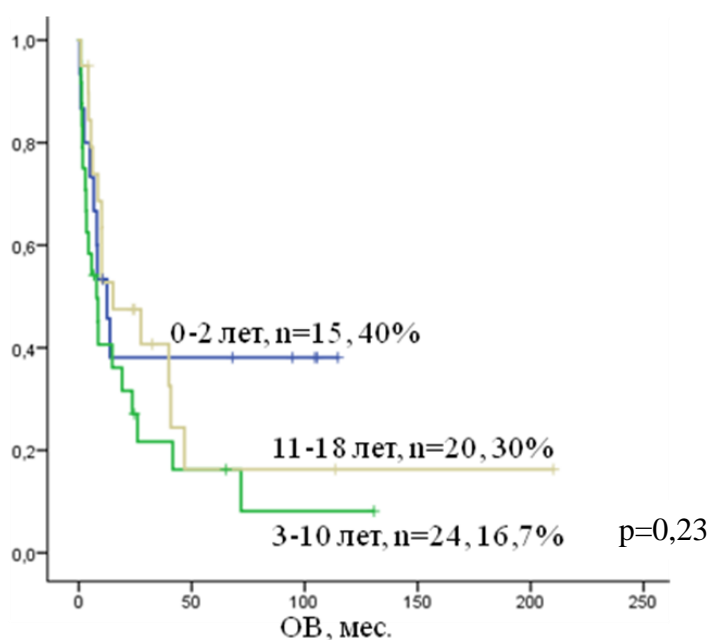


Рисунок 8. – Показатели ОВ после алло-ТГСК вне ремиссии ОМЛ в зависимости от возраста детей.

Бессобытийная выживаемость в зависимости от возраста детей и статуса заболевания на момент алло-ТГСК представлены в таблице 18.

Таблица 18. – БСВ у детей с ОМЛ в зависимости от возраста и статуса заболевания перед алло-ТГСК.

Ремиссионный статус	5 мес. – 2 года	3 – 10 лет	11 -18 лет	p
1 ремиссия	70% (n=30)	52,4% (n=21)	76,9% (n=26)	0,153
2 ремиссия	75% (n=4)	50% (n=14)	35,3% (n=17)	0,487
Вне 1 или 2 ремиссии	33,3% (n=15)	12,5% (n=24)	20% (n=20)	0,241

### 3.4. Кумулятивная частота возникновения рецидивов, осложнений раннего и позднего периодов после алло-ТГСК у детей с ОМЛ разных возрастных групп

Кумулятивная частота рецидивов после алло-ТГСК не различалась в зависимости от возрастной группы (таблица 19).

Таблица 19. – Кумулятивная частота рецидива после алло-ТГСК в зависимости от возраста и статуса ОМЛ в момент трансплантации.

Возрастная группа	5 мес. – 2 года (n=49)	3-10 лет (n=59)	11-18 лет (n=63)	p
Ремиссия 1				
Кум. частота рецидива	25% (n=7 из 30)	39% (n=7 из 21)	12,5% (n=3 из 26)	0,14
Ремиссия 2				
Кум. частота рецидива	25% (n=1 из 4)	41,6% (n=5 из 14)	33,7% (n=4 из 17)	0,7

Окончание таблицы 19				
Вне 1 или 2 ремиссии				
Возрастная группа	5 мес. – 2 года (n=49)	3-10 лет (n=59)	11-18 лет (n=63)	p
Кум. частота рецидива	56,7% (n=7 из 15)	79% (n=12 из 24)	68,8% (n=12 из 20)	0,73

При исследовании частоты развития тяжелых ранних посттрансплантационных осложнений 3-4 степени инфекционного и токсического генеза, клинически значимой острой РТПХ (2-4 степени) у пациентов в разном статусе заболевания не было выявлено закономерности в зависимости от возрастной группы (таблица 20). Имеющиеся статистически значимые более высокие значения частоты инфекционно-токсических осложнений у пациентов с младенческим лейкозом не представляется возможным трактовать однозначно ввиду малой группы пациентов (n=4).

Таблица 20. – Распределение частоты развития тяжелых ранних посттрансплантационных осложнений инфекционно-токсического генеза и клинически значимой острой РТПХ у детей с ОМЛ разных возрастных групп в зависимости от ремиссионного статуса.

Осложнения	5 мес. – 2 года	3-10 лет	11-18 лет	p
Ремиссия 1				
Инфекционные/токсические осложнения	36,7% (n=11)	23,8% (n=5)	34,6% (n=9)	0,6
Клинически значимая ОРТПХ	33,3% (n=10)	33,3% (n=7)	26,9% (n=7)	0,8

Окончание таблицы 20				
Осложнения	5 мес. – 2 года	3-10 лет	11-18 лет	p
Ремиссия 2				
Инфекционные/токсические осложнения	75% (n=3)	35,7% (n=5)	11,8% (n=2)	0,03
Клинически значимая ОРТПХ	0%	35,7% (n=5)	35,3% (n=6)	0,3
Вне 1 или 2 ремиссии				
Инфекционные/токсические осложнения	38,8% (n=19)	37,3% (n=22)	30,2% (n=19)	0,6
Клинически значимая ОРТПХ	40% (n=6)	37,5% (n=9)	30% (n=6)	0,8

### 3.5. Значение генетического профиля пациентов с ОМЛ в зависимости от возраста при алло-ТГСК

Для 146 пациентов присутствовала информация о генетических изменениях при постановке диагноза ОМЛ в зависимости от возраста, что дало основание проанализировать частоту и влияние генетических изменений на ОВ и БСВ детей разных возрастных групп. Распределение цитогенетической группы риска значительно отличалось в зависимости от возрастной группы ( $p=0,04$ ). У пациентов в возрасте от 0 - 2 лет отсутствовали благоприятные генетические изменения. Соотношение поломок, имеющих неблагоприятное и промежуточное значение в зависимости от возраста значительно не отличалось ( $p=0,118$ ) (таблица 21).

Проведенный статистический анализ не показал значимого влияния цитогенетического профиля на показатели ОВ и БСВ пациентов с ОМЛ. Полученную тенденцию к более высоким показателям ОВ у пациентов с

благоприятными цитогенетическими изменениями, получивших алло-ТГСК вне ремиссии заболевания в возрастные группы 11-18 лет не представляется возможным трактовать однозначно ввиду малой группы пациентов (таблица 22, 23).

Таблица 21. – Частота встречаемости различных цитогенетических и молекулярно-генетических изменений в зависимости от их прогностической значимости в каждой возрастной группе пациентов с ОМЛ

Цитогенетические и молекулярно-генетические поломки	Младенцы до 2 лет	Дети от 3 до 10 лет	Подростки от 11 до 18 лет	p
«Неблагоприятные» поломки*	19 (40,4%)	14 (28,6%)	13 (24%)	0,04
«Благоприятные» поломки**	0	8 (16,3%)	9 (18%)	
Не имеющие прогностического значения***	28 (59,6%)	27 (55,1%)	28 (58%)	

\* –KMT2A-г (иск. t(9;11) и t(11;16)), FLT3::ITD, t (6;9)(p23;q34), inv3 (q21;q26)RPN1::EVI1, поломки 7 хромосомы.

\*\* - t(8;21) (q22; q22) RUNX1::RUNX1T1, inv 16(p13;q22) и t(16;16) (p13;q22) CBFB::MYH11

\*\*\* – все остальные перестройки и нормальный кариотип

Таблица 22. – ОВ пациентов разного возраста с ОМЛ в зависимости от стадии заболевания на момент алло-ТГСК и генетических изменений.

Генетические изменения	благоприятные	нейтральные	неблагоприятные	p
От 5 мес. до 2 лет				
1 или 2 ремиссия	-	73,7% (n=19)	92% (n=13)	0,213
Вне 1 или 2 ремиссии	-	44,4% (n=9)	33,3% (n=6)	0,937
От 3 до 10 лет				
1 или 2 ремиссия	75% (n=4)	50% (n=16)	66,7% (n=9)	0,558
Вне 1 или 2 ремиссии	25% (n=4)	9,1% (n=11)	40% (n=5)	0,086
От 11 до 18 лет				
1 или 2 ремиссия	71,4% (n=7)	76,5% (n=17)	80%(n=10)	0,950
Вне 1 или 2 ремиссии	50% (n=2)	33% (n=9)	40% (n=5)	0,055

Таблица 23. – БСВ пациентов разного возраста с ОМЛ в зависимости от стадии заболевания на момент алло-ТГСК и генетических изменений.

Генетические изменения	благоприятные	нейтральные	неблагоприятные	p
От 5 мес. до 2 лет				
1 или 2 ремиссия	-	63,2% (n=19)	76,9% (n=13)	0,409
Вне 1 или 2 ремиссии	-	33,3% (n=9)	33,3% (n=6)	0,579

Окончание таблицы 23				
Генетические изменения	благоприятные	нейтральные	неблагоприятные	p
От 3 до 10 лет				
1 или 2 ремиссия	50% (n=4)	50% (n=16)	55,6% (n=9)	0,989
Вне 1 или 2 ремиссии	0% (n=4)	9,1% (n=11)	40% (n=5)	0,215
От 11 до 18 лет				
1 или 2 ремиссия	57,1% (n=7)	70,6% (n=17)	60%(n=10)	0,767
Вне 1 или 2 ремиссии	0% (n=2)	22,2% (n=9)	40% (n=5)	0,122

### 3.6. Летальность после алло-ТГСК в разных возрастных группах

Также были проанализированы показатели ранней до Д+100 и общей трансплантационной летальности в зависимости от возрастной группы (таблица 24). Статистически значимых различий выявлено не было, однако, обращает на себя внимание высокий уровень общей трансплантационной летальности у детей старшей возрастной группе во 2 ремиссии ОМЛ, в связи с чем эта группа пациентов была проанализирована отдельно. При оценке эффективности выполнения алло-ТГСК в 1 и 2 ремиссии ОМЛ было выявлено, что показатели ОВ для детей старшего возраста значимо ниже во второй ремиссии - 47,1% против 84,7% в 1 ремиссии ( $p=0,017$ ) что обусловлено более высокой общей трансплантационной летальностью - 41,2% во второй ремиссии против 11,5% в 1 ремиссии ОМЛ перед алло-ТГСК ( $p=0,034$ ).

Таблица 24. – Показатели ранней и общей трансплантационной летальности у детей с ОМЛ в зависимости от возраста

Возрастная группа	5 мес. – 2 года	3-10 лет	11-18 лет	p
Ремиссия 1				
Количество пациентов в каждой группе	n=30	n=21	n=26	
Ранняя ТЛ	3,3%	9,5%	7,7%	0,6
Общая ТЛ	10%	14,3%	11,5%	0,8
Ремиссия 2				
Количество пациентов в каждой группе	n=4	n=14	n=17	
Ранняя ТЛ	0%	14,3%	5,9%	0,6
Общая ТЛ	0%	21,4%	41,2%	0,2
Вне 1 или 2 ремиссии				
Количество пациентов в каждой группе	n=15	n=24	n=20	
Ранняя ТЛ	20%	25%	5%	0,6
Общая ТЛ	20%	37,5%	15%	0,1

Таким образом, возраст у детей с ОМЛ не имеет принципиального влияния на результаты алло-ТГСК, однако отмечена особенность у детей старшей возрастной группы к значимому снижению показателей ОВ во 2 ремиссии заболевания по сравнению с подростками в 1 ремиссии за счет высокой общей трансплантационной летальности. Этот факт подчеркивает необходимость своевременного выполнения алло-ТГСК в 1 ремиссии



заболевания для пациентов в возрасте 11-18 лет. Цитогенетическая группа риска, определенная при постановке диагноза, не оказывала значимого влияния на показатели долгосрочной выживаемости пациентов с ОМЛ разных возрастных групп после алло-ТГСК.

## Глава 4.

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕЖИМОВ КОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПОСЛЕ АЛЛО-ТГСК У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ**

Изучение режимов кондиционирования различной интенсивности доз у детей имеет особое значение ввиду высокой вероятности развития отдаленных осложнений, связанных с применением высоких (сверх) – высоких доз цитостатической (лучевой) терапии – задержка роста, эндокринные нарушения, метаболический синдром и другие. В связи с этим изучение возможности применения режимов кондиционирования со сниженной интенсивностью доз особенно важно у детей. Однако попытка уменьшения цитостатической нагрузки не должна приводить к увеличению риска рецидива заболевания после трансплантации, в данном случае развитие иммуноадаптивного эффекта после выполненной алло-ТГСК, вероятно, будет иметь решающее значение.

**4.1. Влияние интенсивности режимов кондиционирования на результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ**

Медиана наблюдения детей с ОМЛ, получивших РИК алло-ТГСК, составила 79 месяцев, в группе с МАК – 62 месяца.

При сравнении в общей группе пациентов приживление трансплантата было достигнуто у 77,1% (n=72) пациентов после РИК и у 86,1% (n=99) пациентов после МАК,  $p=0,09$ . Частота приживления в зависимости от статуса ремиссии в группах также значимо не отличалась (таблица 25). Медиана приживления по нейтрофилам более 500/мкл была достигнута, после РИК и МАК к Д+21 (Д+12 – Д+35) и Д+19 (Д+10 – Д+56),  $p=0,280$ , соответственно

Таблица 25. – Частота приживления после РИК и МАК в зависимости от статуса заболевания до алло-ТГСК

Статус заболевания	РИК	МАК	p
Ремиссия 1	78,8% (n=26)	91,1% (n=51)	0,1
Ремиссия 2	94,7% (n=18)	94,4% (n=17)	0,9
Вне 1 или 2 ремиссии	63,6% (n=28)	75,6% 9 (n=31)	0,2

Общая выживаемость в 1 ремиссии у пациентов после РИК составила 84,6%, после МАК 74,5% ( $p=0,245$ ). Во второй ремиссии - 38,9% против 70,6% ( $p=0,039$ ), вне ремиссии – 28,6 и 25,8% ( $p=0,378$ ) (рисунок 9, 10, 11).

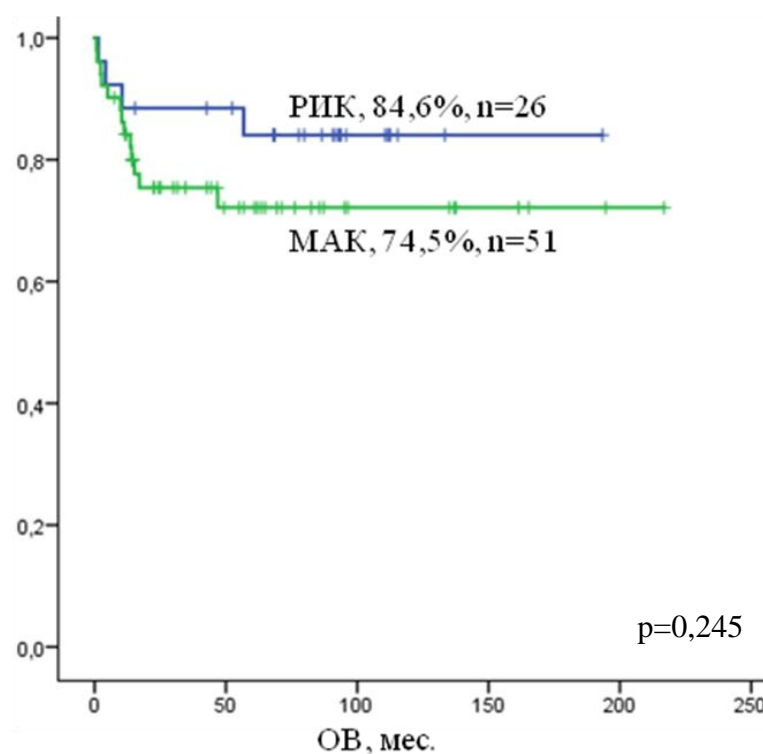


Рисунок 9. – ОВ у детей с ОМЛ в 1 ремиссии в зависимости от интенсивности режима кондиционирования.

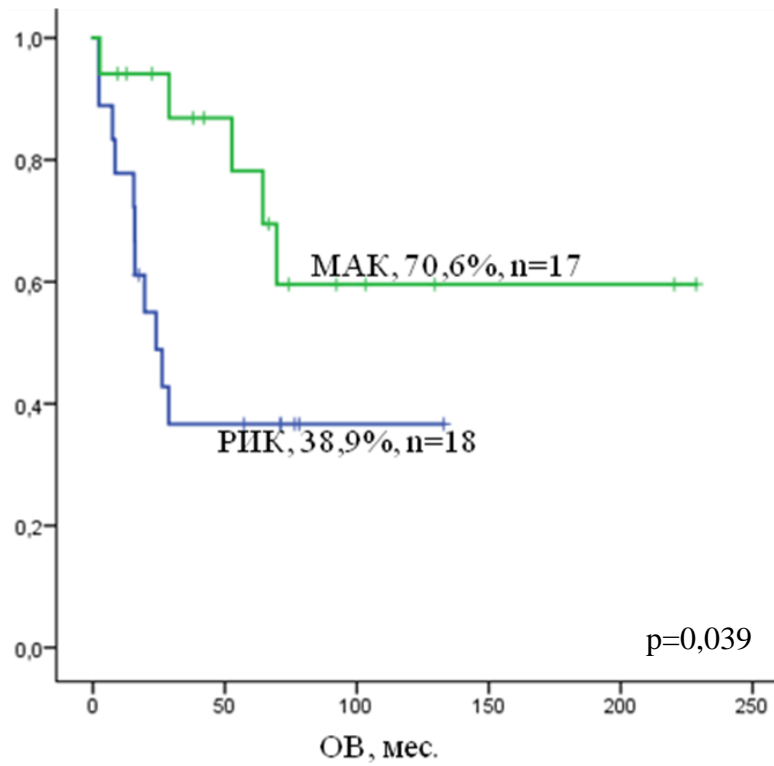


Рисунок 10. – ОБ у дітей с ОМЛ во 2 ремісії в залежності від інтенсивності режиму кондиціонування.

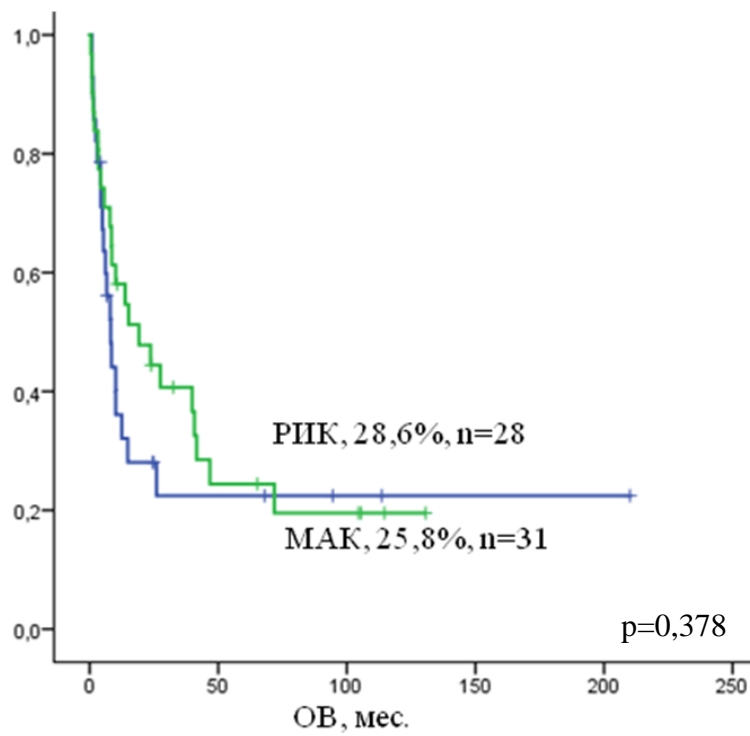


Рисунок 11. – ОБ у дітей с ОМЛ вне ремісії в залежності від інтенсивності режиму кондиціонування.

Показатели БСВ в зависимости от интенсивности режима кондиционирования во всех группах значимо не различались и составили 76,9% после РИК и 62,7% после МАК ( $p=0,19$ ) в первой ремиссии (рисунок 12), 33,3% и 58,8% ( $p=0,076$ ) во второй ремиссии (рисунок 13), 21,4% и 19,4% ( $p=0,59$ ) вне ремиссии, соответственно (рисунок 14).

Кумулятивная частота рецидива в группах также значимо не различалась и составила для пациентов в 1 ремиссии 16,6% после РИК и 28,6% после МАК ( $p=0,25$ ), во 2 ремиссии – 39,8% и 27,8% ( $p=0,3$ ), вне ремиссии – 71% и 68,5% ( $p=0,3$ ), соответственно.

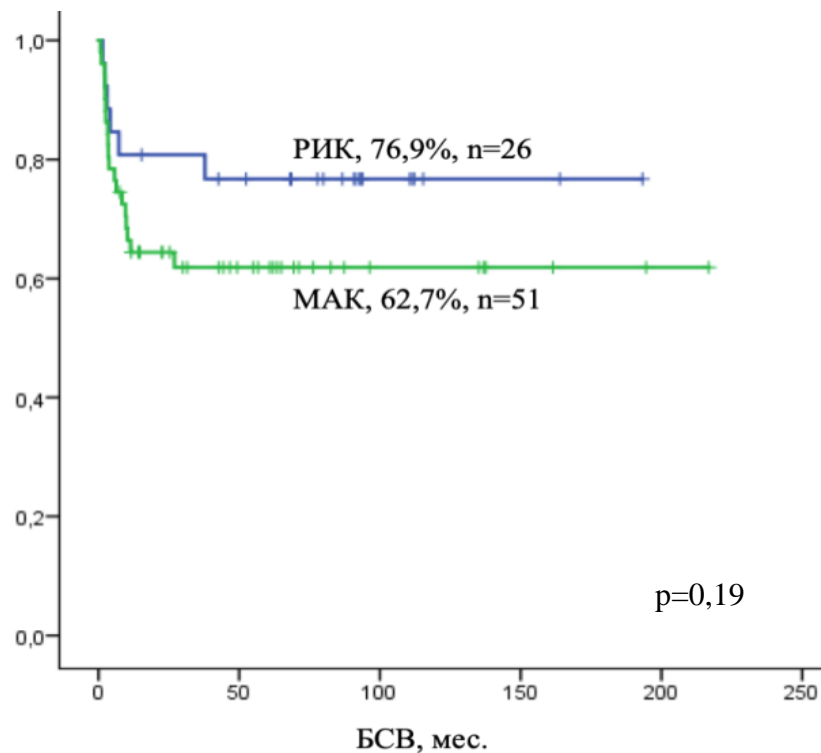


Рисунок 12. – БСВ у детей с ОМЛ в 1 ремиссии в зависимости от интенсивности режима кондиционирования.

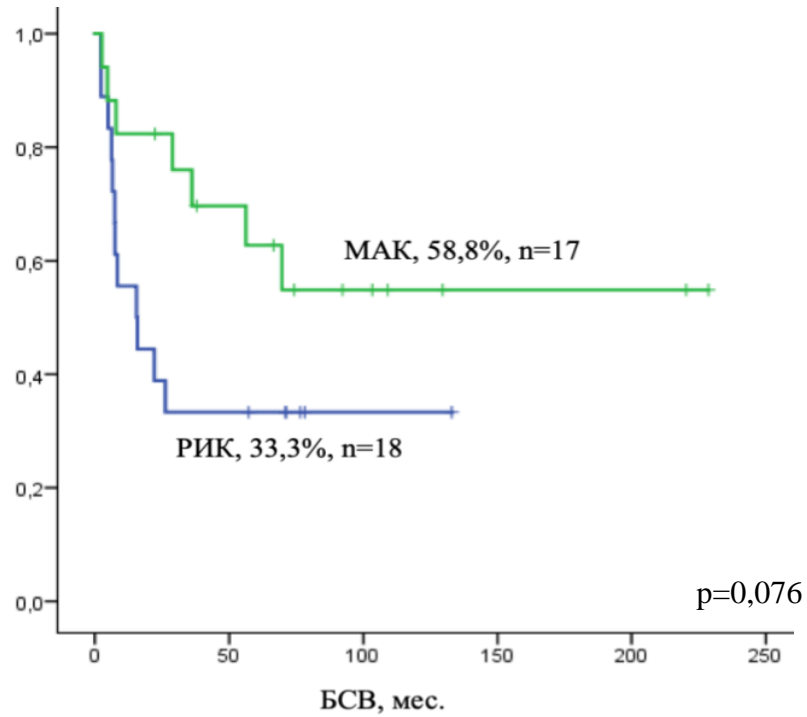


Рисунок 13. – БСВ у детей с ОМЛ во 2 ремиссии в зависимости от интенсивности режима кондиционирования.

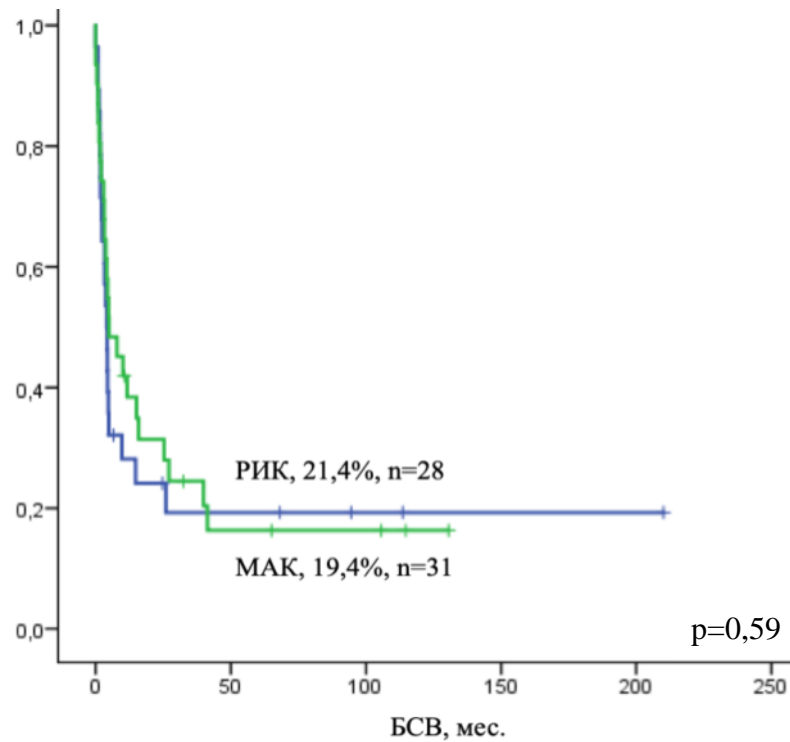


Рисунок 14. – БСВ у детей с ОМЛ вне ремиссии в зависимости от интенсивности режима кондиционирования.

В группах пациентов после РИК и МАК не было выявлено значимых различий в частоте ранних и поздних рецидивов после алло-ТГСК в зависимости от статуса на момент выполнения алло-ТГСК (таблица 26). Медиана возникновения рецидива в обеих группах в 1 и 2 ремиссии значимо не отличалась и составила 6,9 мес. после РИК и 5,7 мес. после МАК ( $p=0,44$ ), вне ремиссии – 3,5 мес. и 4,5 мес. ( $p=0,37$ ), соответственно.

Таблица 26. – Структура рецидивов после алло-ТГСК в зависимости от интенсивности режима кондиционирования и статуса заболевания.

Статус заболевания	РИК	МАК	p
1 ремиссия			
-Ранний рецидив	11,5% (n=3 из 26)	23,5% (n=12 из 51)	0,421
-Поздний рецидив	3,8% (n=1 из 26)	2% (n=1 из 51)	
2 ремиссия			
-Ранний рецидив	27,8% (n=5 из 18)	11,8% (n=2 из 17)	0,442
-Поздний рецидив	5,6% (n=1 из 18)	11,8% (n=2 из 17)	
Вне ремиссии			
-Ранний рецидив	53,6% (n=15 из 28)	32,3% (n=10 из 31)	0,129
-Поздний рецидив	3,6% (n=1 из 28)	16,1% (n=5 из 31)	

Частота тяжелых токсических и инфекционных осложнений 3-4 степени, а также клинически значимой оРТПХ у пациентов в разном статусе заболевания значимо не различалась в зависимости от интенсивности режима кондиционирования. Так, в 1-ой ремиссии инфекционные/токсические осложнения составили РИК vs МАК 26,9% и 35,3%, острая РТПХ - 38,5% и 27,5%, во 2-ой ремиссии инфекционные/токсические осложнения 27,8% и 29,4%, острая РТПХ 27,8% и 35,3%, соответственно (таблица 27).

Таблица 27. – Распределение частоты развития тяжелых ранних посттрансплантационных осложнений инфекционно-токсического генеза и клинически значимой острой РТПХ у детей с ОМЛ в зависимости от ремиссионного статуса и интенсивности режима кондиционирования.

Статус заболевания	РИК	МАК	p
1 ремиссия			
Инфекционные/токсические осложнения	26,9% (n=7 из 26)	35,3% (n=18 из 51)	0,458
Острая РТПХ, II-IV ст.	38,5% (n=10 из 26)	27,5% (n=14 из 51)	0,324
2 ремиссия			
Инфекционные/токсические осложнения	27,8% (n=5 из 18)	29,4% (n=5 из 17)	0,915
Острая РТПХ, II-IV ст.	27,8% (n=5 из 18)	35,3% (n=6 из 17)	0,632
Вне 1 или 2 ремиссии			
Инфекционные/токсические осложнения	46,4% (n=13 из 28)	38,7% (n=12 из 31)	0,284
Острая РТПХ, II-IV ст.	28,6% (n=8 из 28)	41,9% (n=13 из 31)	0,442

Показатели общей и ранней трансплантационной летальности (до Д+100) в разных группах в зависимости от интенсивности режима кондиционирования значимо не различались (таблица 28). Ранняя ТЛ в 1 ремиссии после РИК – 3,8% и 7,8% после МАК (p=0,505), общая ТЛ – 7,7% и 14,7% (p=0,439). Соответствующие показатели во второй ремиссии – 11,8% после РИК и 5,9% после МАК (p=0,563), 39,9% и 18,6% (p=0,1); вне ремиссии – 14,3% и 19,4% (p=0,623), 21,4% и 29% (p=0,76).



Таблица 28. – Трансплантационная летальность в зависимости от интенсивности режима кондиционирования и статуса заболевания.

Статус заболевания	РИК	МАК	p
1 ремиссия	n=26	n=51	
-Ранняя ТЛ до Д+100	3,8%	7,8%	0,505
-Общая ТЛ	7,7%	14,7%	0,439
2 ремиссия	n=18	n=17	
-Ранняя ТЛ до Д+100	11,1%	5,9%	0,563
-Общая ТЛ	39,9%	18,6%	0,1
Вне ремиссии	n=28	n=31	
-Ранняя ТЛ до Д+100	14,3%	19,4%	0,623
-Общая ТЛ	21,4%	29%	0,76

Для определения факторов, влияющих на результаты долгосрочной выживаемости пациентов, получивших МАК или РИК, был выполнен многофакторный анализ. В список предполагаемых предикторов были включены: возраст на момент постановки диагноза и проведения алло-ТГСК, цитогенетическая группа риска при постановке диагноза (на основании выявленных генетических и молекулярно-биологических изменений), период выполнения алло-ТГСК (2000-2012 гг или 2013-2021 гг), ремиссионный, МОБ, а также соматический (оцененный по шкале Карновского/Ланского) статусы на момент выполнения алло-ТГСК, тип донора, источник гемопоэтических стволовых клеток, сроки восстановления гемопоэза и достижения полного донорского химеризма, наличие острой и/или хронической РТПХ, развитие рецидива (в том числе молекулярно-биологического) основного заболевания после алло-ТГСК.

В ходе разведочного (однофакторного) анализа, выполненного с помощью теста Каплана-Мейера (лог-ранк) из списка потенциально

предикторов были выявлены статически значимые факторы влияния на ОВ отдельно для пациентов, получивших алло-ТГСК с МАК и с РИК. Далее эти факторы были включены в многофакторный анализ, выполненный с помощью регрессии Кокса в простом (с проверкой пропорциональности риска) и расширенном вариантах. Таким образом, были получены следующие данные:

I. Факторы, влияющие на ОВ после МАК:

1. Стадия на момент алло-ТГСК ( $p=0.001$ )

- Самый благоприятный период – 1 или 2 ремиссия

2. Наличие о.РТПХ 1-2 ст ( $p=0,005$ )

- Показатели ОВ лучше у пациентов с 1 или 2 ст. оРТПХ

3. Рецидив или появление МОБ после алло-ТГСК ( $p=0.012$ )

- Отрицательно влияют на ОВ

4. Индекс Карновского/Ланского ( $p=0,024$ )

- Показатели ОВ лучше у пациентов с 80-100%.

II. Факторы, влияющие на ОВ после РИК:

1. Период выполнения алло-ТГСК ( $p=0,041$ )

- Значимо лучше результаты алло-ТГСК, проведенной 2013-2021 гг.

2. Индекс Карновского/Ланского ( $p=0,004$ )

- Показатели ОВ лучше у пациентов с 80-100%.

Таким образом, использование режимов кондиционирования различной интенсивности доз перед алло-ТГСК у детей с ОМЛ имеют сопоставимые результаты. Частота достижения приживления трансплантата, показатели БСВ, кумулятивная частота рецидива, медиана возникновения рецидива после алло-ТГСК, частота тяжелых токсических и инфекционных осложнений, клинически значимой РТПХ в группах РИК и МАК значимо не отличались.

Более высокий уровень ОВ у детей с ОМЛ во второй ремиссии после МАК не был связан с более выраженным антилейкемическим эффектом, что подчеркивается отсутствием значимых различий в кумулятивной частоте

рецидива. Эта разница обусловлена закономерностью наблюдаемой для пациентов старшего возраста – ОВ 25% после РИК и 66,7% после МАК ( $p=0,014$ ), для других возрастных групп значимых различий получено не было. Для пациентов от 5 мес. до 2 лет ОВ составила 100%, как после РИК, так и после МАК, для детей от 3 до 10 лет – 44,4% и 60%, соответственно ( $p=0,543$ ). Пациенты, получившие РИК во второй ремиссии ОМЛ, имели высокий уровень общей ТЛ – 42%, что связано с селекцией предлеченных пациентов подросткового возраста с худшим коморбидным статусом в данной группе. Результаты многофакторного анализа убедительно показали, что хорошее соматическое состояние пациентов (80-100%) улучшает результаты ОВ не только в группе МАК, но и РИК.

#### **4.2. Влияние различных доз бусульфана на исход алло-ТГСК у детей с ОМЛ**

В общей группе медиана наблюдения составила 75 месяцев. Приживление трансплантата было достигнуто у 98 пациентов (82%). Частота первичного неприживления среди детей с ОМЛ получивших бусульфан в разных дозах, несмотря на преобладание пациентов, получивших алло-ТГСК вне ремиссии заболевания в группе Бу2, значимо не различалась и составила 18% ( $n=6$ ) в группе Бу1, 20% ( $n=9$ ) в Бу2, 15% ( $n=6$ ) в Бу3 ( $p=0,8$ ).

Медиана приживления составила Д+19 (Д+11 – Д+56), распределение по группам было следующим: Бу1 – Д+20; Бу2 – Д+19; Бу3 – Д+25 ( $p=0,7$ ).

Общая выживаемость в общей группе составила 47,9%. Медиана наблюдения за пациентами в зависимости от групп бусульфана составила для Бу1 83 месяца, для Бу2 – 44 месяца и 105 месяцев для Бу3. Не было отмечено существенного различия в группах при анализе ОВ: Бу1=54,5% по сравнению с Бу2=51,1% и Бу3=39% ( $p=0,4$ ). При разделении в группах в зависимости от статуса заболевания на момент алло-ТГСК показатели ОВ в группе Бу2 в ремиссии заболевания были достоверно лучше: ОВ пациентов в 1-2 ремиссии перед ТГСК составила 66,7% в Бу1, 90% в Бу2, 50% в Бу3, ( $p=0,03$ ) (рисунок

15) и 22,2%, 16,7%, 20% ( $p=0,8$ ), соответственно, для пациентов с рецидивом или резистентным течением болезни на момент алло-ТГСК.

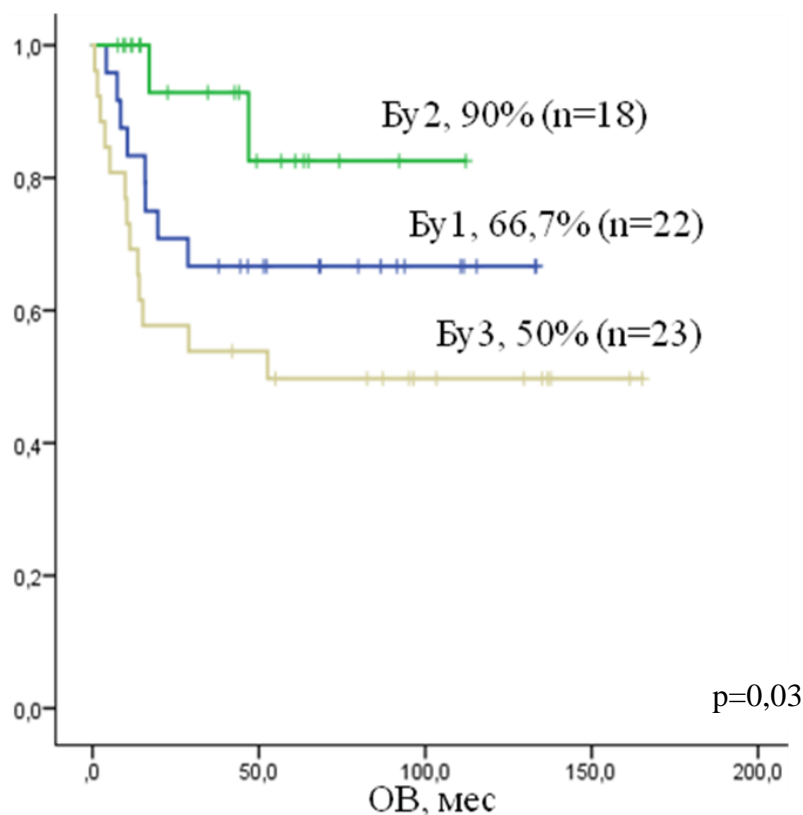


Рисунок 15. – ОВ пациентов с ОМЛ детского возраста в зависимости от дозы бусульфана в 1-2 ремиссии заболевания на момент алло-ТГСК

При анализе БСВ в общей группе этот показатель составил 43,9%. В зависимости от статуса болезни на момент алло-ТГСК показатели БСВ были следующими: 59,1% в группе Бу1, 72,2% в Бу2, 47,8% в Бу3 у пациентов в ремиссии заболевания ( $p=0,350$ ) (рисунок 16); 20%, 16,7% и 16,7% у пациентов в рецидиве или резистентном течении ОМЛ, соответственно, ( $p=0,95$ ).

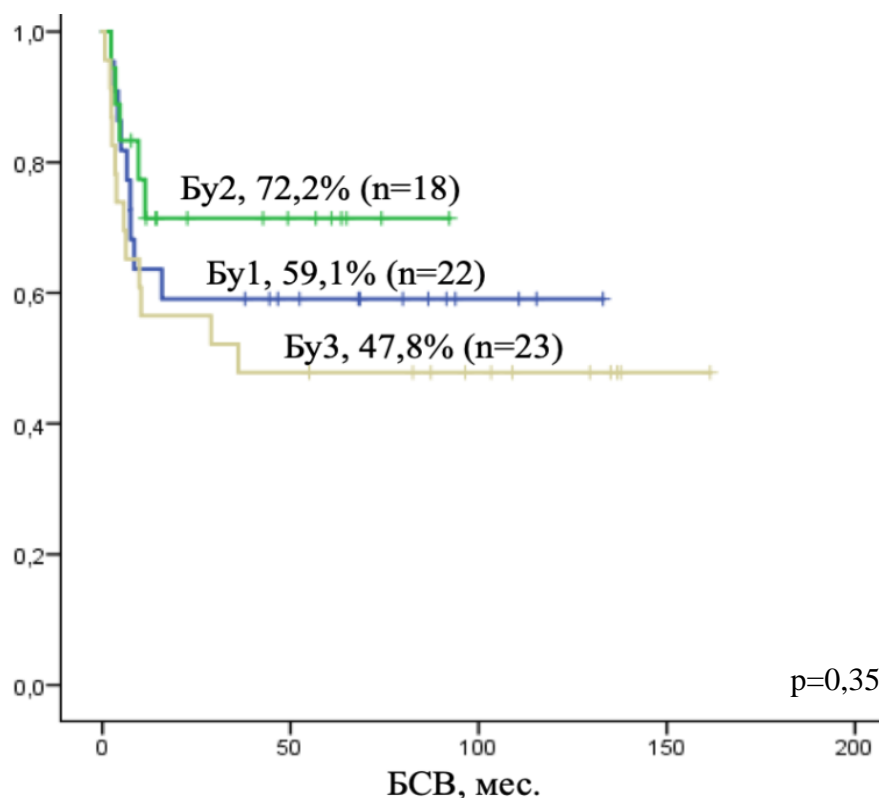


Рисунок 16. – БСВ пациентов с ОМЛ детского возраста в зависимости от дозы бусульфана в 1-2 ремиссии заболевания на момент алло-ТГСК

Кумулятивная частота рецидива в общей группе составила 42,6%. У пациентов в 1-2 ремиссии в группе Бу1 – 28,2%, Бу2 – 28,5%, Бу3 – 34,3% ( $p=0,893$ ). Кумулятивная частота рецидива у пациентов в рецидиве или резистентном течении ОМЛ на момент выполнения алло-ТГСК, составила соответственно, - 40%, 69% и 76% ( $p=0,755$ ).

Анализируя токсичность по шкале NCI-CTCAE 3-4 степени в общей группе, этот показатель составил 42% (50 человек). В зависимости от статуса болезни на момент алло-ТГСК, частота развития токсических осложнений 3-4 степени была следующей: 40,8% (29 пациентов) в 1 и 2 ремиссии ОМЛ; 43,7% (21 больных) при рецидиве или резистентном течении болезни.

Частота развития токсических осложнений, связанных с режимом кондиционирования, 3-4 степени достоверно не отличалась в зависимости от дозы бусульфана: 39% пациентов в Бу1, 33% в Бу2, 53,6% в Бу3 ( $p=0,119$ ). Наиболее частыми осложнениями были гастроинтестинальная токсичность, в

виде мукозита желудочно-кишечного тракта, и печеночная токсичность – токсический гепатит. Синдром синусоидальной обструкции наблюдался у 8 пациентов: 3 в группе Бу3 (7,3%) 4 в Бу2 (8,8%), и только 1 в Бу1 (3%), который ранее получил терапию моноклональным антителом анти-CD33+ гемтузумаб озогамицин ( $p=0,570$ ).

Частота клинически значимой оРТПХ II-IV степени в общей группе составила 41,8% (41 пациент). Не было различий в кумулятивной частоте оРТПХ II-IV степени в зависимости от дозы бусульфана: в Бу1- 40,7%, Бу2 - 36,1% и Бу3- 48,6%, соответственно ( $p=0,66$ ). Имелась тенденция к более высокой частоте тяжелой оРТПХ III-IV ст. в группе Бу3 (40%), чем в Бу1 (22,2%) и Бу2 (16,7%) ( $p=0,07$ ).

Ранняя трансплантационная летальность до Д+100 также была выше в группе Бу3 (15%), чем в Бу2 (4,6%) и Бу1 (0%) ( $p=0,03$ ) (рисунок 17).

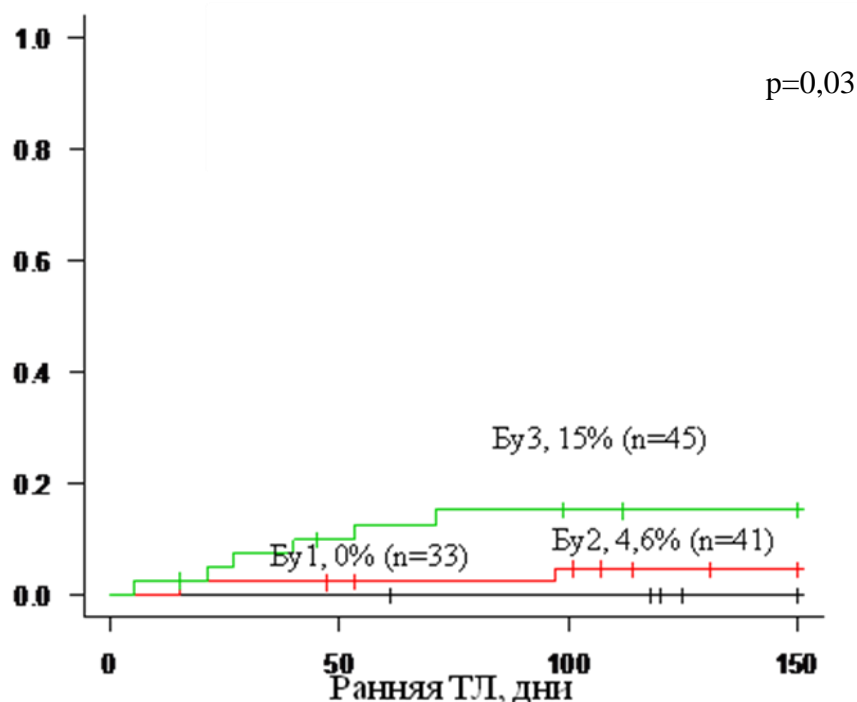


Рисунок 17. – Ранняя ТЛ до Д+100 пациентов с ОМЛ детского возраста в зависимости от дозы бусульфана.

Таким образом, снижение дозы бусульфана в миелоаблативных режимах кондиционирования у детей с ОМЛ не ведет к повышению кумулятивной частоты рецидива, а, следовательно, к снижению противолейкемического эффекта. Использование дозы бусульфана более 12мг/кг в режиме подготовки перед алло-ТГСК приводит к более высоким показателям ранней трансплантационной летальности и снижению показателей ОВ.

Оценивая в целом применение РИК и МАК режимов кондиционирования у детей можно заключить, что использование режимов кондиционирования различной интенсивности доз перед алло-ТГСК у детей с ОМЛ имеют сопоставимые результаты за исключением 2-й ремиссии ОМЛ, где различия обусловлены селекцией предлеченных пациентов в группе РИК.

## МИНИМАЛЬНАЯ ОПРЕДЕЛЯЕМАЯ БОЛЕЗНЬ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЛЕЙКЕМИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛКТОК

Минимальная определяемая болезнь – пример идентификации присутствия опухолевых клеток, находящихся на различных стадиях иерархии пула лейкемических клеток, объединенных едиными иммунофенотипическими, молекулярно-биологическими признаками. Определение МОБ у детей с ОМЛ после химиотерапии, до или после алло-ТГСК имеет несомненное прогностическое значение, однако критерии чувствительности для идентификации не определены.

### **5.1. Значение определения МОБ перед алло-ТГСК стандартными методами.**

Для оценки влияния статуса МОБ стандартными методами на результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ были проанализированы данные 95 пациентов в 1-2 ремиссии, у которых проводилось исследование МОБ молекулярно-биологическим методом и/или с помощью иммунофенотипирования. Позитивный статус МОБ перед алло-ТГСК имели 28 пациентов (29,4%), отрицательный – 67 (70,6%). Медиана наблюдения в данной группе составила 66 месяцев.

Приживление было достигнуто у 24 детей (85%) среди МОБ-позитивных пациентов и у 60 пациентов (90%) в группе МОБ-негативных пациентов,  $p=0,5$ . Медиана срока приживления по нейтрофилам составила 19 и 21 день в соответствующих группах,  $p=0,43$ .

При анализе ОВ в зависимости от статуса МОБ показатели значимо не отличались и составили 73,1% для МОБ-негативных пациентов и 67,9% для МОБ-позитивных ( $p=0,83$ ).

В группе МОБ-позитивных пациентов БСВ составила 42,9% vs 65,7% у МОБ-негативных больных,  $p=0,06$ . Медиана развития рецидива составила 4,6



и 6 месяцев, соответственно. Кумулятивная частота рецидива 50% и 22%, соответственно,  $p=0,012$ .

В зависимости от наличия МОБ перед аллоТГСК и проведения посттрансплантационной профилактики рецидива ОМЛ пациенты были разделены на четыре подгруппы, в каждой из которых была проанализирована БСВ (рисунок 18) и кумулятивная частота рецидива:

-МОБ (+) перед ТГСК без посттрансплантационной профилактики рецидива: БСВ - 35%, кумулятивная частота рецидива – 60%

-МОБ (+) перед ТГСК с посттрансплантационной профилактикой рецидива с помощью гипометилирующих препаратов и/или иммуноадаптивной терапии донорскими лимфоцитами: БСВ – 62,5%, кумулятивная частота рецидива – 25%

-МОБ (-) перед ТГСК без посттрансплантационной профилактики рецидива: БСВ – 60,7%, кумулятивная частота рецидива – 25%

-МОБ (-) перед ТГСК с посттрансплантационной профилактикой рецидива с помощью гипометилирующих препаратов и/или иммуноадаптивной терапии донорскими лимфоцитами: БСВ – 90,9%, кумулятивная частота рецидива – 9%.

Уровень значимости для БСВ -  $p=0,03$ , для кумулятивной частоты рецидива -  $p=0,01$ .

Таким образом, статус МОБ перед алло-ТГСК не оказывает статистически значимого влияния на ОВ и БСВ. Однако, у пациентов с положительным статусом МОБ перед алло-ТГСК имеется значимо более высокая кумулятивная частота рецидива, что подчеркивает необходимость оптимизации подходов к назначению ранних посттрансплантационных профилактических/превентивных вмешательств.

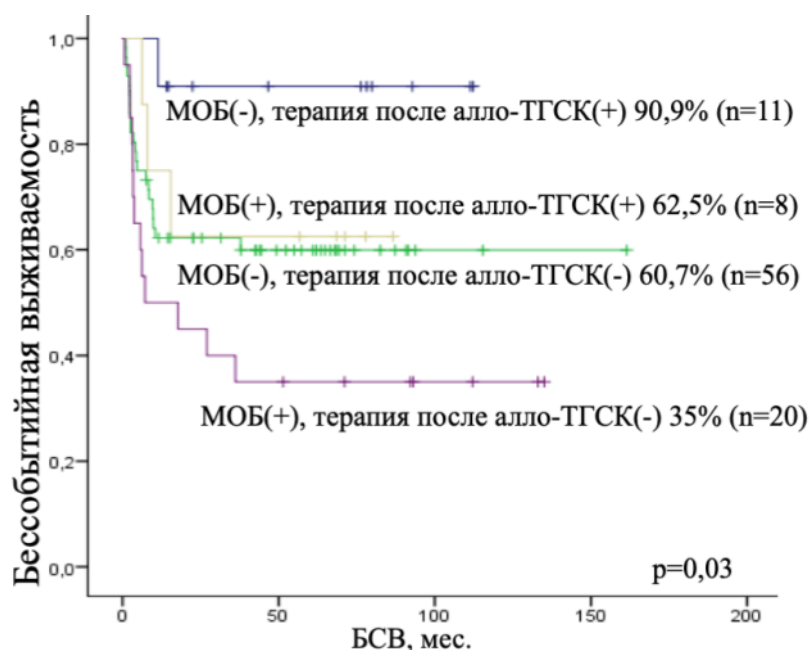


Рисунок 18. – Влияние посттрансплантационной профилактики на БСВ у пациентов с разным статусом МОБ ОМЛ перед алло-ТГСК

## 5.2. Влияние экспрессии генов, характерных для лейкемических стволовых клеток на результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ

Одной из основных причин развития рецидива ОМЛ и резистентности заболевания к проводимой терапии является сложность полной эрадикации и персистенция клона ЛСК, основными характеристиками которого являются способность к самоподдержанию и неограниченная пролиферация. Изучение ЛСК на основе экспрессии генов характерных для этой популяции позволяет визуализировать их присутствие, в том числе использовать в качестве маркера МОБ с высокой степенью чувствительности. Изучение персистенции ЛСК с целью прогнозирования риска рецидива после алло-ТГСК у детей с ОМЛ может иметь большое значение.

Для анализа влияния экспрессии генов, характерных для ЛСК было выполнено ПЦР-РВ биообразцов костного мозга 50 пациентов с ОМЛ, получивших алло-ТГСК.

По данным оценки экспрессии генов, характерных для ЛСК, в соответствии со значением pLSC6 подсчитанной по следующей формуле:  $(DNMT3b \times 0,189) + (GPR56 \times 0,054) + (CD34 \times 0,0171) + (SOCS2 \times 0,141) + (SPINK2 \times 0,109) + (FAM30A \times 0,0516)$  медиана уровня pLSC6 в исследуемой когорте пациентов составила 22. В соответствие с полученной медианой, пациенты были разделены на две группы: низкий pLSC6 (ниже медианы), высокий pLSC6 (выше медианы).

В общей сложности, 18/37 (49%) пациентов в 1-2 ремиссии заболевания имели высокий уровень экспрессии генов характерных для ЛСК до алло-ТГСК. Только 6/18 пациентов с высоким уровнем экспрессии были МОБ-положительными (по данным иммунофенотипирования или ПЦР). Линейный регрессионный анализ, включающий как пациентов в ремиссии заболевания, так и 13 детей с ОМЛ вне ремиссии, не показал связи между количеством бластов/МОБ и уровнем экспрессии генов, характерных для ЛСК (OR 1,002; 95% CI: 0,979, 1,025).

Медиана наблюдения в исследуемой когорте составила 12 месяцев. Однолетняя ОВ и БСВ у пациентов в 1-2 ремиссии ОМЛ значимо не различались в зависимости от экспрессии pLSC6: 84,2% и 78,9%, соответственно, при значении ниже медианы – 72,2% и 66,7% при значении выше медианы (p=NS)

Приживление трансплантата у детей в 1-2 ремиссии ОМЛ было достигнуто у 17 (89%) пациентов со значением pLSC6 ниже медианы и у 14 (78%) пациентов со значением pLSC6 выше медианы, p=0,341. При отсутствии статистически значимых различий в кинетике приживления по нейтрофилам у пациентов в 1-2 ремиссии ОМЛ – медиана срока приживления для пациентов с низким значением pLSC6 составила 18,5 дней и 21 день для детей с высоким значением pLSC6 (p=0,141), в общей группе, включающих также пациентов вне ремиссии, получены статистически значимые различия – 18 и 21,5 дней, соответственно (p=0,011).

Медиана времени развития рецидива в исследуемой когорте составила 5 месяцев (от 1,5 до 52 месяцев). У пациентов с высоким уровнем экспрессии исследуемых генов кумулятивный риск раннего (в течение 5 месяцев) посттрансплантационного рецидива (конкурирующие риски по методу Fine-Grey) составил 22% против 0% для детей с ОМЛ, имеющих низкий уровень экспрессии генов ЛСК ( $p=0,03$ ) (рисунок 19)

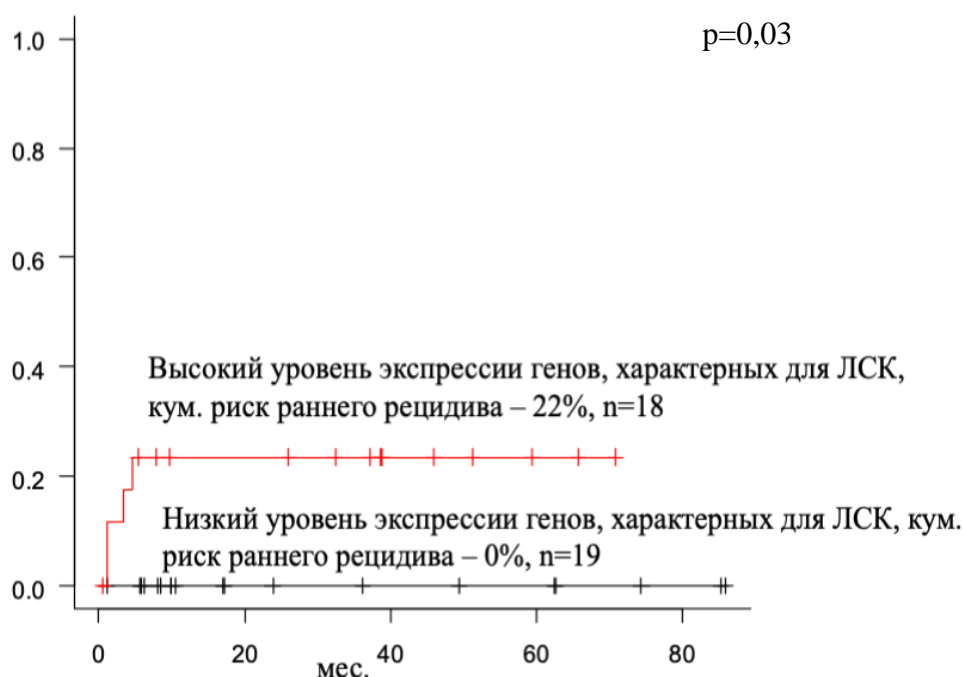


Рисунок 19. – Кумулятивная частота раннего рецидива в зависимости от уровня экспрессии генов, характерных для ЛСК

Таким образом, предтрансплантационный высокий уровень экспрессии генов, характерных для ЛСК может быть одним из факторов, определяющих показания для назначения профилактического посттрансплантационного вмешательства, в дополнение к статусу МОБ, определенному стандартными методами.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Несмотря на значительные успехи современной химио-, таргетной и иммунотерапии, значительная часть педиатрических пациентов с ОМЛ высокой группы риска нуждаются в проведении алло-ТГСК, как в единственном способе лечения, позволяющем добиться максимальной эрадикации злокачественного клона за счет противоопухолевого воздействия препаратов режима кондиционирования и реакции «трансплантат-против-лейкоза». [82, 170, 171].

Роль алло-ТГСК в лечении ОМЛ у детей является предметом постоянных дискуссий. Учитывая отсутствие убедительных проспективных рандомизированных исследований, в настоящее время затруднительно ответить на вопросы о выборе оптимальной интенсивности режима кондиционирования, о влиянии факторов риска, таких как возрастная группа пациентов, минимальная определяемая болезнь перед алло-ТГСК, экспрессия генов, характерных для ЛСК.

Целью данного исследования было изучение взаимосвязи интенсивности режимов кондиционирования, возраста и статуса ремиссии при оценке долгосрочной выживаемости детей с острым миелоидным лейкозом после алло-ТГСК.

По результатам проведенных исследований было показано, что ведущую роль в успехе проводимой алло-ТГСК играет ремиссионный статус пациента. При медиане наблюдения 71 месяц показатели ОВ составили – 77,9% у детей в 1 ремиссии ОМЛ, 54,3% - во второй ремиссии, 27,1% вне ремиссии,  $p < 0,001$ . Бессобытийная выживаемость составила соответственно 67,5%, 45,7% и 20,3%,  $p < 0,001$ . Полученные результаты соответствуют данным международных исследований. Так, например, в крупном многоцентровом немецком исследовании AML SCT-BFM 2007, в которое

было включено 140 детей с ОМЛ, было показано следующее: ОВ в первой ремиссии при медиане наблюдения 4 года – 88% (n=40), во второй ремиссии – 56% (n=41), БРВ – 76% и 46%, соответственно. Наилучшие результаты алло-ТГСК в этом исследовании показали пациенты с ОМЛ младшего возраста (менее 12 лет), получившие алло-ТГСК в 1 ремиссии: ОВ - 94%, БСВ – 84% [10]. В исследуемой нами когорте при сравнении выживаемости пациентов разных возрастных групп значимых различий получено не было. Показатели ОВ для пациентов в 1 ремиссии ОМЛ составили 80% у детей от 5 месяцев до 2 лет, 66,7% у пациентов от 3 до 10 лет и 84,6% в группе детей от 11 до 18 лет ( $p=0,355$ ), во второй ремиссии – 100%, 50% и 47,1% ( $p=0,3$ ), вне ремиссии – 40%, 16,7% и 30% ( $p=0,23$ ), соответственно. При сравнении выживаемости внутри каждой возрастной группы в зависимости от стадии на момент алло-ТГСК прослеживалась четкая тенденция к снижению показателей ОВ по мере прогрессирования заболевания. При этом значимо отличалась ОВ только при противопоставлении: ремиссии и вне ремиссии. Однако, для детей старшей возрастной группы (11-18 лет) показатели общей выживаемости даже внутри ремиссионной группы отличались и были значимо ниже во второй ремиссии - 47,1% против 84,6% в 1 ремиссии ( $p=0,017$ ), что связано с более высокой трансплантационной летальностью 41,2% во второй ремиссии против 11,5% в 1 ремиссии ОМЛ ( $p=0,034$ ). Таким образом, суммируя вышеперечисленные данные, для детей старшей возрастной группы с ОМЛ высокого риска, наиболее важно обратить внимание на своевременное выполнение алло-ТГСК в 1 ремиссии заболевания.

В ходе определения факторов прогноза для детей с ОМЛ после алло-ТГСК в нашем исследовании цитогенетическая группа риска, определенная в дебюте заболевания, в соответствии с классификацией ВОЗ, не оказывала значимого влияния на показатели долгосрочной выживаемости у пациентов разных возрастных групп, трансплантированных в ремиссии или вне ремиссии. Так, ОВ у детей до 2х лет с ОМЛ в 1-ой или 2-ой ремиссии при

наличии цитогенетических аномалий промежуточного риска составила 73,7% (n=19) и 92% (n=13) для пациентов с неблагоприятными цитогенетическими аномалиями (p=0,213), для детей этой же возрастной группы вне ремиссии показатели ОВ составили 44,4% (n=9) и 33,3% (n=6), соответственно (p=0,937). Для детей в возрасте от 3 до 10 лет в 1-ой или 2-ой ремиссии заболевания при наличии цитогенетических аномалий благоприятного значения ОВ - 75% (n=4), промежуточного значения - 50% (n=16), неблагоприятного прогноза - 66,7% (n=9) (p=0,558), вне ремиссии заболевания - 25% (n=4), 9,1% (n=11) и 40% (n=5), соответственно (p=0,086). У пациентов в возрасте от 11 до 18 лет в 1-ой или 2-ой ремиссии ОМЛ при наличии цитогенетических аномалий благоприятного значения показатели ОВ составили 71,4% (n=7), промежуточного значения - 76,5% (n=17), неблагоприятного прогноза - 80% (n=10) (p=0,950), вне ремиссии заболевания - 50% (n=2), 33% (n=9) и 40% (n=5), соответственно (p=0,055). Полученную тенденцию к более высоким показателям ОВ у пациентов с благоприятными цитогенетическими изменениями, получивших алло-ТГСК вне ремиссии заболевания в возрастные группы 11-18 лет не представляется возможным трактовать однозначно ввиду малой группы пациентов.

В исследовании Бондаренко С.Н. и соавт. (2013 г.), в которое было включено 66 пациентов от 8 до 60 лет, которым была выполнена алло-ТГСК в 1 ремиссии ОМЛ было показано, что ОВ зависит от цитогенетической группы риска: в группе высокого риска ОВ составила 24%, в группе промежуточного риска - 64%, в группе стандартного риска - 100% (p=0,027) [172]. Скорее всего, данные результаты можно объяснить тем, что в исследование были включены в основном взрослые пациенты, для которых генетические изменения имеют большую значимость в патогенезе заболевания.

В работе Гиндиной Т.Л. и соавт. (2016 г.), где были проанализированы данные 47 пациентов с ОМЛ как детского, так и взрослого возраста в разном ремиссионном статусе, было показано, что у пациентов со

структурным сложным кариотипом при наличии дополнительных неблагоприятных хромосомных аномалий (-7/7q-, -5/5q-, 17p-, t(6;9)) ОВ после алло-ТГСК составляет 0% (n=7). При отсутствии неблагоприятных хромосомных аномалий у пациентов со структурным сложным кариотипом, который сам по себе является фактором неблагоприятного прогноза, ОВ составляет 35% (p=0,03) [173]. Также Гиндиной Т.Л. и соавт. (2016) были проанализированы данные 25 взрослых и детей с ОМЛ в разном ремиссионном статусе заболевания с t(8;21) (q22;q22), являющейся цитогенетической аномалией благоприятной группы риска. Было показано, что при наличии дополнительных хромосомных аномалий (n=13) ОВ после алло-ТГСК значимо хуже – 0% по сравнению с ОВ пациентов, не имеющих дополнительные хромосомные аномалии (n=12) – 50% (p=0,029) [174]. Таким образом, оценка влияния цитогенетической группы риска при постановке диагноза, принятой международными исследовательскими группами, на эффективность алло-ТГСК затруднена, ввиду гетерогенности хромосомных аномалий и их изменяющегося влияния на прогноз в каждой возрастной группе.

Традиционно считается, что интенсивность режима кондиционирования перед алло-ТГСК является критическим фактором в достижении контроля над заболеванием у пациентов с острым лейкозом, и в некоторых проспективных исследованиях на взрослой когорте пациентов с острым лейкозом было показано преимущество использования МАК по сравнению с РИК для пациентов с хорошим соматическим статусом. Однако зачастую противолейкемическая эффективность и более высокая безрецидивная выживаемость после миелоаблативного кондиционирования нивелируется более высоким уровнем трансплантационной летальности и повышенной частотой РТПХ, наблюдаемой при этих схемах, вследствие повышенного повреждения тканей, которое активируют аллореактивные донорские клетки [175].



Scott и соавт., (2017 г.) опубликовали результаты рандомизированного исследования 3 фазы, сравнивающего МАК (n = 135) с РИК (n = 137) у взрослых пациентов с ОМЛ или с миелодиспластическим синдромом (МДС) с индексом коморбидности НСТ  $\leq 4$ , которые находились в морфологической ремиссии перед алло-ТГСК [176]. В группе РИК отмечалась значительно более высокая частота рецидивов (48,3% против 13,5%,  $p < 0.001$ ), что привело к досрочному прекращению исследования. Через 18 месяцев ОВ для пациентов в группе РИК составила 67,7% и 77,5% после МАК ( $p = 0,07$ ). Трансплантационная летальность после РИК - 4,4% по сравнению с 15,8% для группы МАК. Таким образом, по результатам рандомизированного исследования ВМТ СТН0901 был сделан вывод о том, что РИК ассоциирован с низким уровнем ТЛ, но высокой частотой рецидивов по сравнению со схемами МАК, что приводило к статистически значимому преимуществу в БРВ после МАК; однако увеличение ТЛ после более интенсивного режима кондиционирования нивелировало преимущества, отмеченные при использовании этого режима, что приводило к аналогичной ОВ. При более длительном наблюдении режимы МАК показали лучшие результаты по сравнению с РИК, 4-летняя ОВ составила 65% (МАК) и 49% (РИК); ( $p = 0,02$ ) [176].

Одновременно были опубликованы результаты многоцентрового проспективного исследования ЕВМТ, сравнивающего РИК на основе бусульфана с МАК у пациентов с ОМЛ и МДС [177]. Всего было зарегистрировано 129 пациентов из 18 центров. Кумулятивная частота рецидивов через 2 года составила 17% после РИК и 15% после МАК ( $p = NS$ ), а 2-летняя БРВ и ОВ составили 62% против 76% и 58% против 63% соответственно ( $p = NS$ ). Также однолетняя летальность, не связанная с рецидивом, значимо не различались в группах МАК и РИК (25% против 17%;  $p = 0,29$ ). Таким образом, в отличие от исследования ВМТ-СТН 0901, результаты, полученные ЕВМТ, не показали более высокой БРВ при МАК.

На детской когорте, состоящей из 118 пациентов с ОМЛ как в ремиссии основного заболевания, так и вне ремиссии, Бондаренко С.Н. и соавт., (2015 г.) была продемонстрирована сопоставимость режимов кондиционирования различной интенсивности у пациентов в 1 ремиссии: ОВ – 80% после МАК и 65% после РИК ( $p=0,4$ ) и вне ремиссии: ОВ – 17% и 19%, соответственно. Тем не менее, для детей с ОМЛ во второй ремиссии, МАК имел преимущество: ОВ – 65% и 17% после РИК ( $p=0,003$ ). В связи с чем, был сделан вывод о необходимости сочетанного цитостатического и иммуноадаптивного воздействия на опухолевый клон [19].

В нашем исследовании, в которое вошли данные 216 пациентов в возрасте от 5 месяцев до 18 лет, ОВ в 1 ремиссии у пациентов после РИК составила 84,6%, после МАК 74,5% ( $p=0,245$ ). Во второй ремиссии - 38,9% против 70,6% ( $p=0,039$ ), вне ремиссии – 28,6 и 25,8% ( $p=0,378$ ). Важно подчеркнуть, что в исследуемой когорте кумулятивная частота рецидива в зависимости от интенсивности режима кондиционирования во всех группах значимо не различалась и составила в 1 ремиссии 16,6% после РИК и 28,6% после МАК ( $p=0,25\%$ ), во 2 ремиссии – 39,8% и 27,8% ( $p=0,3$ ), вне ремиссии – 71% и 68,5% ( $p=0,3$ ), соответственно. Учитывая отсутствие значимых различий в показателях кумулятивной частоты рецидива, более высокий уровень ОВ у детей с ОМЛ во второй ремиссии после МАК не был связан с более выраженным антилейкемическим эффектом. Пациенты, получившие РИК во второй ремиссии ОМЛ, имели высокий уровень общей ТЛ – 42%, что связано с селекцией предлеченных пациентов подросткового возраста с худшим коморбидным статусом в данной группе.

В настоящее время в литературе крайне мало работ о сравнении режимов кондиционирования на основе бусульфана у детей, и тем более не опубликованы результаты сравнительных анализов алло-ТГСК в зависимости от дозы бусульфана.

S. Parmar и соавт., (2013 г.) опубликовали результаты контролируемого, рандомизированного исследования фазы I/II, в котором

было продемонстрировано преимущество дозы внутривенной формы бусульфана 11,2 мг/кг у взрослых пациентов с хроническим миелоидным лейкозом, МДС и ОМЛ. В исследование были включены пациенты в возрасте  $\leq 75$  лет. Все пациенты получили в качестве подготовки к алло-ТГСК флударабин в дозе 30 мг/м<sup>2</sup>/сут в течение 4 дней, а бусульфан вводили в различных дозах перорально или в/в диапазоне от 3,2 мг/кг до 12,8 мг/кг. При медиане наблюдения 91 месяц результаты для в/в формы бусульфана в дозе 11,2 мг/кг по сравнению с другими дозами были следующими: летальность, не связанная с заболеванием - 34% против 23% ( $p = 0,4$ ); кумулятивная частота рецидивов - 43% против 68% ( $p = 0,02$ ); БРВ - 25% против 9% ( $p = 0,017$ ); ОВ - 27% против 9% ( $p = 0,02$ ) [20].

У детей в зависимости от возрастной группы в исследовании немецких коллег AML SCT-BFM отмечалась разная переносимость интенсивных режимов кондиционирования. В начале исследования сообщалось об увеличении числа тяжелых нежелательных явлений у детей старшего возраста, получивших в качестве подготовки к трансплантации режим, включающий бусульфан, циклофосфамид и мелфалан. Промежуточный анализ показал высокий уровень ТЛ - 31% для пациентов 12 лет и старше против 10% для детей младшего возраста [10].

Нами впервые на когорте детей с ОМЛ была исследована эффективность бусульфана в разных дозах в режимах подготовки перед алло-ТГСК. Показатели ОВ в группе детей с ОМЛ в ремиссии заболевания, получивших в режиме кондиционирования бусульфан в дозе 12 мг/кг (Бу2) были достоверно лучше по сравнению с 8-10 мг/кг (Бу1) и 14-16 мг/кг (Бу3) и составили 90%, 66.7% и 50%, соответственно ( $p=0.03$ ). При этом ранняя трансплантационная летальность (ТЛ до Д+100) была выше в группе Бу3 (15,6%), чем в Бу2 (4,4%) и Бу1 (0%) ( $p=0,03$ ). Было продемонстрировано, что снижение дозы бусульфана в миелоаблативных режимах кондиционирования у детей с ОМЛ не ведет к повышению кумулятивной частоты рецидива, а, следовательно, противолейкемического эффекта.

Использование дозы бусульфана 14-16 мг/кг в режиме подготовки перед алло-ТГСК приводит к более высоким показателям ранней трансплантационной летальности и, соответственно, к снижению показателей ОВ.

Также в нашем исследовании проводилась оценка влияния предтрансплантационного статуса МОБ на результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ.

Одним из самых первых исследований, показывающих предиктивную значимость предтрансплантационной МОБ по данным ИФТ у взрослых пациентов с ОМЛ, было исследование Walter и соавт., (2011 г.) где ретроспективно были проанализированы данные 99 пациентов в 1 ремиссии ОМЛ, получивших алло-ТГСК после миелоаблативного режима кондиционирования. По данным иммунофенотипирования клеток костного мозга 24 пациента имели МОБ-положительный статус, 2-летняя ОВ составила 30,2% против 76,6% для пациентов с МОБ-негативным статусом, соответственно. Частота рецидивов составила 65% против 17,6% соответственно. По данным многофакторного анализа аномальный кариотип, неполное восстановление кроветворения и положительный статус МОБ перед ТГСК были связаны с повышением риска общей летальности с коэффициентом риска 4,05 (95% ДИ 1,9–8,6), частоты рецидивов 8,49 (95% ДИ: 3,67–19,65) [178].

Ustun и соавт., (2016) провели анализ влияния предтрансплантационного статуса МОБ по данным ИФТ в зависимости от интенсивности режима кондиционирования на результаты алло-ТГСК у взрослых пациентов с ОМЛ. Ретроспективно были изучены истории болезни 203 пациентов, из которых 80 получили МАК и 123 РИК. В группе МАК 18% пациентов имели положительный статус МОБ по сравнению с 8,1% в группе РИК. Среди пациентов с РИК МОБ-положительный статус был ассоциирован со значительно более низкими показателями БРВ (ОР 3,8; 95% ДИ: 1,7–8,7) и ОВ (ОР 3,4; 95% ДИ: 1,7–7). Авторы пришли к выводу, что у пациентов с

ОМЛ с позитивным статусом МОБ до ТГСК следует отдавать предпочтение МАК [21].

В контексте педиатрического ОМЛ прогностическое значение МОБ до ТГСК менее определено, особенно это касается определения МОБ молекулярно-биологическими методами. В недавнем многоцентровом исследовании I-BFM-AML была продемонстрирована роль МОБ, определяемая методом ПЦР в течение 5 недель до ТГСК. В исследование было включено 108 детей с ОМЛ, имеющих одну из основных молекулярно-генетических перестроек ОМЛ ( $t(8;21)(q22; q22)$ ;  $RUNX1::RUNX1T1$ ,  $inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)$ ;  $CBFB::MYH11$ ,  $t(9;11)(p22;q23)$ ;  $KMT2A::MLLT3$  или  $FLT3::ITD$ ). В этом исследовании 5-летняя ОВ после ТГСК была значительно выше у пациентов с низким уровнем МОБ (определяемым как значение ниже  $2,1 \times 10^{-4}$ ) по сравнению с пациентами с высоким уровнем МОБ: 83% против 57% ( $p = 0,012$ ) [22]. По результатам исследования Leung и соавт., (2012 г.) оценка МОБ с помощью ИФТ показала сходные по прогностической ценности результаты как при ОЛЛ, так и при ОМЛ. В когорте из 122 детей с ОЛЛ очень высокого риска ( $n = 64$ ) и ОМЛ ( $n = 58$ ) коллеги показали, что 5-летняя кумулятивная частота рецидивов после ТГСК составила 40% у пациентов с высоким уровнем МОБ ( $\geq 0,1\%$  при ОЛЛ и  $\geq 1,0\%$  при ОМЛ), 16% среди лиц детей с низким уровнем МОБ ( $0,01\% - < 0,1\%$  при ОЛЛ и  $0,1\% - < 1\%$  при ОМЛ) и 6% среди пациентов с отрицательным статусом МОБ ( $p = 0,0002$ ) [179]. Эти наблюдения дополнительно подтверждаются метаанализом 19 исследований, в которых оценивалась МОБ до ТГСК (в основном определяемая с помощью ИФТ) у 1431 детей и взрослых с ОМЛ; МОБ-позитивность перед ТГСК была связана со снижением БРВ, ОВ и повышением кумулятивной частоты рецидивов [12].

Наши результаты примечательны тем, что статус МОБ перед алло-ТГСК не оказывал статистически значимого влияния на ОВ, что может быть связано с эффективной посттрансплантационной терапевтической стратегией,

направленной на предотвращение и лечение рецидивов. Показатели ОВ составили 73,1% для МОБ-негативных пациентов и 67,9% для МОБ-позитивных ( $p=0,83$ ). Кумулятивная частота рецидива была значимо ниже у МОБ-негативных пациентов – 22% по сравнению с МОБ-позитивными - 52% ( $p=0,012$ ). Схожие с литературными данными показатели кумулятивной частоты рецидива подчеркивают необходимость оптимизации подходов к назначению терапии с целью профилактики рецидива на ранних сроках после алло-ТГСК, а также свидетельствуют о необходимости поиска дополнительных маркеров, определяющих терапевтическую тактику после алло-ТГСК.

Наряду с МОБ одним из значимых факторов, влияющих на клинические исходы и риск развития рецидива ОМЛ является персистенция клона ЛСК [13, 124, 180-181]. Недавние исследования экспрессии генов, характерных для ЛСК в дебюте заболевания показали независимую прогностическую значимость для детей с ОМЛ, которые получали стандартную химиотерапию, что послужило основой для создания шкалы pLCS6, состоящей из 6 генов с высокой предиктивной способностью [24].

Несмотря на то, что уровень pLCS6, определенный в дебюте заболевания связан с худшим прогнозом даже у реципиентов алло-ТГСК, до настоящего момента не была доказана прогностическая значимость pLCS6, определенной у пациентов непосредственно перед алло-ТГСК.

В нашем исследовании впервые определено прогностическое значение предтрансплантационного уровня экспрессии генов, характерных для ЛСК у детей с ОМЛ. Было показано, у детей с ОМЛ, имеющих высокий уровень pLSC6 перед алло-ТГСК, риск возникновения раннего (в течение 5 месяцев) посттрансплантационного рецидива выше и составляет 22% против 0% для детей с ОМЛ, имеющих низкий уровень pLSC6 ( $p=0,03$ ). Таким образом, уровень экспрессии генов, характерных для ЛСК, детектируемый с помощью мультиплексной ПЦР может быть одним из факторов, дополняющим статус

МОБ, в определении показаний для назначения посттрансплантационной терапии, предупреждающей рецидив.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток – эффективный метод сохранения долгосрочной ремиссии ОМЛ высокой группы риска у пациентов детского возраста. В нашем исследовании на репрезентативной когорте мы показали влияние интенсивности режимов кондиционирования, возраста и статуса ремиссии на долгосрочную выживаемость детей с ОМЛ после алло-ТГСК.

Было показано, что своевременное выполнение алло-ТГСК оказывает ключевое влияние на успех терапии пациентов с ОМЛ высокой группы риска - показатели ОВ при проведении алло-ТГСК в 1 ремиссии в общей группе составили 77,9%. Особенно важно своевременное выполнение алло-ТГСК для детей старшей возрастной группы (11-18 лет), так как при проведении трансплантации костного мозга во второй ремиссии показатели ОВ значимо ниже - 47,1% за счет более высокой ТЛ на фоне предлеченности пациентов.

В нашем исследовании было продемонстрировано, что использование режимов кондиционирования сниженной интенсивности доз (РИК) не приводит к повышению кумулятивной частоты рецидива, а, следовательно, может использоваться как равнозначная альтернатива миелоаблативному режиму кондиционирования с целью снижения цитостатической нагрузки и токсических осложнений. В миелоаблативном режиме кондиционирования со сниженной токсичностью на основе бусульфана была определена наиболее оптимальная доза, которая составила 12 мг/кг, приводящая к снижению трансплантационной летальности без ущерба противолейкемическому эффекту.

Важным аспектом, влияющим на эффективность алло-ТГСК у детей с ОМЛ, является глубина ремиссии заболевания - МОБ, оцениваемая с помощью молекулярно-генетических и цитофлуориметрических методов исследования. Нами было показано, что позитивный статус МОБ перед алло-



ТГСК повышает кумулятивную частоту рецидива, что обуславливает необходимость назначения ранней посттрансплантационной профилактической терапии. Данное положение подчеркивает тот факт, что в группе пациентов, с позитивным статусом МОБ перед алло-ТГСК значимо более высокий уровень кумулятивной частоты рецидива, который составил 65% для пациентов в 1-ой или 2-ой ремиссии заболевания.

Дополнительным фактором, отражающим глубину ремиссии заболевания и определяющим показания к проведению профилактики рецидива в ранние сроки после алло-ТГСК, может быть оценка экспрессии генов, характерных для ЛСК. В исследуемой когорте было продемонстрировано, что высокий уровень экспрессии генов, характерных для ЛСК, определенный перед алло-ТГСК сопряжен со значимым повышением кумулятивной частоты раннего рецидива.

## ВЫВОДЫ

- 1) Статус заболевания у детей с ОМЛ имеет ведущее значение в отношении эффективности алло-ТГСК. Показатели ОВ при медиане наблюдения 71 месяц составили – 77,9% у детей в 1-ой ремиссии ОМЛ, 54,3% - во второй ремиссии, 27,1% - вне ремиссии ( $p < 0,001$ ). Бессобытийная выживаемость составила 67,5%, 45,7% и 20,3%, соответственно ( $p < 0,001$ ). ОВ детей старшей возрастной группы (11-18 лет), которым алло-ТГСК была выполнена в 1-ой ремиссии, значимо выше по сравнению с ОВ пациентов, трансплантированных во 2-ой ремиссии, и составила 84,6% против 47,1% ( $p=0,017$ ). Различия обусловлены более высокой трансплантационной летальностью: 41,2% во второй ремиссии против 11,5% в 1-ой ремиссии ОМЛ ( $p=0,034$ ). Внутри каждой возрастной группы прогностические генетические изменения, определяющие группу риска при постановке диагноза, не повлияли на показатели ОВ и БСВ детей с ОМЛ после алло-ТГСК, в том числе для пациентов в возрасте до 2 лет.
- 2) Режимы кондиционирования различной интенсивности доз перед алло-ТГСК у детей с ОМЛ сопоставимы по результатам. Кумулятивная частота рецидива в 1-ой ремиссии составила 16,6% после РИК и 28,6% после МАК ( $p=0,25$ ), во 2-ой ремиссии – 39,8% и 27,8% ( $p=0,3$ ), вне ремиссии – 71% и 68,5% ( $p=0,3$ ), соответственно. Показатели БСВ в зависимости от интенсивности режима кондиционирования составили 76,9% и 62,7% ( $p=0,19$ ) в первой ремиссии, 33,3% и 58,8% ( $p=0,076$ ) во второй ремиссии, 21,4% и 19,4% ( $p=0,59$ ) вне ремиссии, соответственно. ОВ в 1-ой ремиссии у пациентов после РИК составила 84,6%, после МАК 74,5% ( $p=0,245$ ), во второй ремиссии - 38,9% против 70,6% ( $p=0,039$ ), вне ремиссии – 28,6 и 25,8% ( $p=0,378$ ). Более низкий уровень ОВ у детей с ОМЛ во 2-ой ремиссии после РИК объясняется более высокими

показателями общей ТЛ – 39,9%, что связано с селекцией предлеченных пациентов подросткового возраста с худшим коморбидным статусом в данной группе.

- 3) Снижение дозы бусульфана в миелоаблативных режимах кондиционирования до 12 мг/кг у детей с ОМЛ не ведет к повышению кумулятивной частоты рецидива, и, следовательно, к снижению противолейкемического эффекта. Показатели ОВ в группе детей с ОМЛ в ремиссии заболевания, получивших в режиме кондиционирования бусульфан в дозе 12 мг/кг (Bu2) были достоверно лучше по сравнению с 8-10 мг/кг (Bu1) и 14-16 мг/кг (Bu3) и составили 90%, 66.7% и 50%, соответственно ( $p=0.03$ ). При этом ранняя трансплантационная летальность (ТЛ до Д+100) была выше в группе Bu3 (15%), чем в Bu2 (4,6%) и Bu1 (0%) ( $p=0,03$ ).
- 4) Статус МОБ перед алло-ТГСК не оказывает статистически значимого влияния на ОВ. ОВ МОБ-негативных пациентов составила 73,1%, МОБ-позитивных - 67,9% ( $p=0,83$ ). Однако пациенты с ОМЛ с положительным статусом МОБ перед алло-ТГСК имеют более высокую кумулятивную частоту рецидива, что подчеркивает необходимость оптимизации методов профилактики рецидива на ранних сроках после алло-ТГСК. Кумулятивная частота рецидива значимо выше у МОБ-позитивных пациентов, не получивших профилактику рецидива – 60% по сравнению с группами МОБ-позитивных пациентов, получивших профилактическую терапию с помощью гипометилирующих препаратов и/или иммуноадаптивной терапии донорскими лимфоцитами – 25%, частота рецидива у пациентов без МОБ, у которых не проводили или проводили профилактику рецидива – 25% и 9%, соответственно ( $p= 0,01$ ).
- 5) У детей с ОМЛ, имеющих перед алло-ТГСК высокий уровень экспрессии генов, характерных для ЛСК, риск возникновения раннего (в течение 5 месяцев) посттрансплантационного рецидива выше по сравнению с пациентами, имеющими низкий уровень экспрессии генов ЛСК, и

составляет 22% против 0%, соответственно ( $p=0,03$ ). Таким образом, предтрансплантационный высокий уровень экспрессии генов, характерных для ЛСК, является дополнительным к МОБ прогностическим фактором, определяющим показания к назначению терапии, предупреждающей развитие рецидива ОМЛ после алло-ТГСК.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

По результатам проведенного исследования для применения в клинической практике мы предлагаем следующее:

- 1) Учитывая принципиальное влияние статуса заболевания на результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ рассматривать вопрос о своевременном выполнении алло-ТГСК в 1-ой или 2-ой ремиссии для детей высокой группы риска, для пациентов старшей возрастной группы (11-18 лет) следует расширить показания для выполнения алло-ТГСК в 1 ремиссии заболевания.
- 2) Относиться к режиму кондиционирования сниженной интенсивности доз как к равнозначной альтернативе миелоаблативному кондиционированию перед алло-ТГСК у детей с ОМЛ, особенно, при высоком риске тяжелых токсических осложнений.
- 3) С целью снижения рисков тяжелых токсических осложнений, а также ранней трансплантационной летальности у детей с ОМЛ предлагается воздержаться от использования доз бусульфана выше 12 мг/кг в режиме кондиционирования перед алло-ТГСК.
- 4) Расценивать позитивный статус минимальной определяемой болезни до трансплантации у детей с ОМЛ как значимый фактор, указывающий на повышение риска посттрансплантационного рецидива, и, соответственно, необходимости проведения посттрансплантационной терапии.
- 5) Относиться к высокому уровню экспрессии генов, характерных для лейкоэмических стволовых клеток как к предиктору, дополнительно к предтрансплантационному статусу МОБ, указывающему на повышенный риск развития раннего рецидива после алло-ТГСК.

## ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные в ходе данной работы результаты могут быть использованы для дальнейшей оптимизации подходов к выполнению алло-ТГСК у детей с ОМЛ.

Актуальными темами для дальнейших исследований могут являться:

- 1) Углубление исследований в отношении детекции количественных значений ЛСК ОМЛ, поиск новых маркеров и их панелей, как с помощью молекулярно-биологических методов, так и с помощью иммунофенотипирования, изучение их взаимосвязи.
- 2) Изучение влияния суррогатных маркеров количественного значения ЛСК в дебюте ОМЛ и на разных этапах терапии на исход заболевания, а также возможность использования данных маркеров в качестве своевременного выявления показаний к проведению алло-ТГСК в дополнение к стандартным используемым подходам.
- 3) Поиск оптимальных подходов к профилактике рецидива ОМЛ после алло-ТГСК, а также сроков ее проведения с учетом выявленных факторов риска.
- 4) Изучение отдаленных осложнений у детей с ОМЛ после алло-ТГСК в зависимости от интенсивности режима кондиционирования, его составляющих, а также сравнение долгосрочной эффективности и безопасности режимов кондиционирования на основе ТОТ и с использованием цитостатических препаратов.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

Алло-ТГСК	- Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
БРВ	- Безрецидивная выживаемость
БСВ	- Бессобытийная выживаемость
Бу	- Бусульфан
ВОБ	- Веноокклюзионная болезнь печени
ВОЗ	- Всемирная организация здравоохранения
ГСК	- Гемопоэтические стволовые клетки
ДИ	- Доверительный интервал
ИДЛ	- Инфузия донорских лимфоцитов
ИТК	- Ингибиторы тирозинкиназ
ИФТ	- Иммунофенотипирование
КО	- Клиническая опция
ЛСК	- Лейкемические стволовые клетки
МАК	- Миелоаблативное кондиционирование
МДС	- Миелодиспластический синдром
МОБ	- Минимальная определяемая болезнь
НМА	- Немиелоаблативное кондиционирование
НР	- Не рекомендовано
НЯ	- Нежелательное явление
ОВ	- Общая выживаемость
ОЛЛ	- Острый лимфобластный лейкоз
ОМЛ	- Острый миелоидный лейкоз
ОР	- Отношение рисков
РТПХ	- Реакция "трансплантат против хозяина"
ПЦР	- Полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	- Полимеразная цепная реакция в реальном времени
р/р	- Резистентной/рефрактерной
РИК	- Режим кондиционирования сниженной интенсивности
РК	- Режим кондиционирования
С	- Стандарт
ТЛ	- Трансплантационная летальность
ТОТ	- Тотальное облучение тела
Цф	- Циклофосфамид
АIEOP	- Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica
AML	- Acute myeloid leukemia

BFM	- Berlin-Frankfurt-Münster
CAR-T	- chimeric antigen receptor T cells
CD	- cluster of differentiation
CIBMTR	- Center for International Blood and Marrow Transplant Research
COG	- Children's oncology group
CTCAE	- Common Terminology Criteria for Adverse Events
EBMT	- European Society for Blood and Marrow Transplantation
EORT- CLG	- European Organization for Research and Treatment of Cancer- Children Leukemia group
JPLSG	- Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group
LAME	- Leucemie Aigue Myeloblastique Enfant
MRC	- Medical Research Council
NCI	- National Cancer Onstitute
NOPHO	- Nordic Society of Paediatric Haematology
pLSC6	- Pediatric leukemic stem cell score
SJCRH	- St. Jude Children's Research Hospital
TRM	- Transplant Related Mortality



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Smith MA, Ries L, Gurney J, et al. Leukemia. In: Ries L, Smith M, Gurney J, et al., editors. Cancer Incidence and Survival among Children and Adolescents: United States SEER Program 1975-1995. Bethesda, MD: National Cancer Institute, SEER Program; 1999. pp. 17–34.
2. Румянцев А.Г., Масчан А.А., Жуковская Е.В. Детская гематология: практическое пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. С 656.
3. Pui C-H (2012) Childhood leukemias. Cambridge, UK; New York: Cambridge University Press; xi, 880 p., 824 p. of col. plate's p.
4. Linabery A. M, Ross J. A. Trends in childhood cancer incidence in the U.S. (1992-2004)//Cancer. - 2008. – Vol. 112, №2. – P. 416–432
5. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014/ Ward E., DeSantis C., Robbins A. [et. al.]// CA: a cancer journal for clinicians. – 2014. – Vol. 64. – P. 83-103
6. Elgarten C. W., Aplenc R. Pediatric acute myeloid leukemia: updates on biology, risk stratification, and therapy//Current Opinion in Pediatrics. – 2020. – Vol. 32 (1). – P. 57-66
7. Impact of disease risk on efficacy of matched related bone marrow transplantation for pediatric acute myeloid leukemia: the Children's Oncology Group/Horan J.T., Alonzo T.A., Lyman G.H. [et al.]// Journal of Clinical Oncology. - 2008. - Vol. 26, №11. - P 5797-5801
8. Postremission therapy for children with acute myeloid leukemia: the children's cancer group experience in the transplant era/ Alonzo T.A., Wells R.J., Woods W.G. [et al.]//Leukemia. – 2005. – Vol. 19, № 6. - P. 965-970
9. Allogeneic bone marrow transplantation vs aggressive post-remission chemotherapy for children with acute myeloid leukemia in first complete remission. A prospective study from the French Society of Pediatric

- Hematology and Immunology (SHIP)/Michel G., Leverger G., Leblanc T. [et al.]//Bone Marrow Transplant. – 1996. - Vol. 17, № 2. - P. 191-196.
10. Hematopoietic stem cell transplantation for children with acute myeloid leukemia—results of the AML SCT-BFM 2007 trial/Sauer M.G., Lang P.J., Albert M.H. [et al.]//Leukemia. – 2020. – Vol. 34. – P. 613–624
  11. Гаплоидентичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток в лечении детей и подростков с резистентными формами острых лейкозов/Паина О.В., Станчева Н.В., Семенова Е.В. [и др.]// Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2015. – Том 2, №3. – С. 39-45.
  12. Minimal residual disease prior to allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia: A meta-analysis/ Buckley S.A., Wood B.L., Othus M [et al.]//Haematologica. – 2017. – Vol. 102. – P. 865–873
  13. Campana D. Status of minimal residual disease testing in childhood haematological malignancies//British Journal of Haematology. – 2008. Vol. 143, №4. – P. 481-489
  14. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party/Schuurhuis G.J., Heuser M., Freeman S. [et al.]//Blood.- 2018. – Vol. 131, №12. - P. 1275–1291
  15. Leukemic stem cell frequency: a strong biomarker for clinical outcome in acute myeloid leukemia/ Terwijn, M., Zeijlemaker, W., Kelder, A. [et al.]// PloS one. – 2014. – Vol. 9, №9.
  16. A review on allogeneic stem cell transplantation for newly diagnosed pediatric acute myeloid leukemia/Niewerth D., Creutzig U., Bierings M.B. [et al.]//Blood. – 2010. – Vol. 116, №13. – P. 2205–2214
  17. Improved outcome in children compared to adolescents and young adults after allogeneic hematopoietic stem cell transplant for acute myeloid leukemia: a retrospective study from the Francophone Society of Bone Marrow Transplantation and Cell Therapy (SFGM-TC)/ Pochon C, Dextrat

- M, Dalle JH. [et al.]//Journal of cancer research and clinical oncology. – 2022. – Vol. 148, №8. – P. 2083-2097
18. Salhotra A., Stein A.S. Role of Radiation Based Conditioning Regimens in Patients With High-Risk AML Undergoing Allogenic Transplantation in Remission or Active Disease and Mechanisms of Post-Transplant Relapse//Frontiers in Oncology. – 2022. Vol. 12.
  19. Эффективность аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток с миелоаблативным режимом и режимом кондиционирования со сниженной интенсивностью у детей и подростков с острым миелобластным лейкозом/Бондаренко С. Н., Разумова С. В., Станчева Н. В. [и др.]//Онкопедиатрия. – 2015, Том 2, №4. – С. 396-403
  20. Dose intensification of busulfan in the preparative regimen is associated with improved survival: a phase I/II controlled, randomized study/Parmar S., Rondon G., de Lima M. [et al.]//Biology of blood and marrow transplantation: journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation. – 2013. – Vol. 19, №3. – P. 474–480
  21. Myeloablative, but not Reduced-Intensity, Conditioning Overcomes the Negative Effect of Flow-Cytometric Evidence of Leukemia in Acute Myeloid Leukemia/Ustun C., Courville E.L., DeFor T. [et al.]//Biology of Blood and Marrow Transplantation. – 2016. – Vol. 22, №4. – P. 669-675
  22. Impact of Minimal Residual Disease (MRD) Assessed before Transplantation on the Outcome of Children with Acute Myeloid Leukemia Given an Allograft: A Retrospective Study By the I-BFM Study Group/Pigazzi M., Benetton M., Walter C. [et al.]//Blood. – 2020. – Vol. 136. – P. 38–39
  23. A 17-gene stemness score for rapid determination of risk in acute leukaemia/Ng S.W.K., Mitchell A., Kennedy J.A., [et al.]//Nature. – 2016. – Vol. 540, №7633. – P.433–437

24. A six-gene leukemic stem cell score identifies high-risk pediatric acute myeloid leukemia/ Elsayed A.H., Rafiee R., Cao X [et. al.]//Leukemia. – 2020. – Vol. 34, №3. – P.735-745
25. de Rooij J., Zwaan C., van den Heuvel-Eibrink M.. Pediatric AML: From biology to clinical management//Journal of Clinical Medicine. - 2015. - Vol. 4, № 1. - P. 127-149
26. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice/Lapidot T., Sirard C., Vormoor J. [et al.]//Nature. – 1994. – Vol. 367, №6464. – P. 645-648
27. Bonnet D., Dick J.E. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell// Nature Medicine. – 1997. – Vol. 3, №7. - 730–737
28. Hanekamp D., Cloos J., Schuurhuis G.J. Leukemic stem cells: identification and clinical application//International Journal of Hematology. – 2017. – Vol.105 №5. – P. 549-557
29. Marchand T., Pinho S.. Leukemic Stem Cells: From Leukemic Niche Biology to Treatment Opportunities//Frontiers in Immunology. – 2021. – Vol. 12
30. A simple one-tube assay for immunophenotypical quantification of leukemic stem cells in acute myeloid leukemia/Zeijlemaker W., Kelder A., Oussoren-Brockhoff Y.J.M., [et al.]// Leukemia. – 2016. – Vol. 30, №2. – P. 439–446
31. Stem cell gene expression programs influence clinical outcome in human leukemia/Eppert K., Takenaka K., Lechman E.R. [et al.]//Nature Medicine. – 2011. – Vol. 17, №9. – P. 1086–1093
32. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: Recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet/Dohner H., Estey E., Amadori S. [et al.]//Blood. – 2009. – Vol. 115, №3. – P. 453-474
33. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms/

- Khoury J.D., Solary E., Abala O. [et al.]//Leukemia. – 2022. – Vol. 36 №7. – P. 1703-1719
34. Timed-sequential induction therapy improves postremission outcome in acute myeloid leukemia: a report from the Children's Cancer Group/Woods W.G., Kobrinsky N., Buckley J.D. [et al.]//Blood. – 1996. – Vol. 87. – P.4979–4989
35. Mortality in overweight and underweight children with acute myeloid leukemia/Lange B.J., Gerbing R.B., Feusner J. [et al.]//JAMA. – 2005. – Vol. 293, №2. – P. 203–211
36. Clinical characterization of acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes as defined by the 2008 WHO classification system/Weinberg O.K., Seetharam M., Ren L. [et al.]//Blood. – 2009. – Vol. 113, № 9. – P. 1906-1908
37. Prognostic features in acute megakaryoblastic leukemia in children without Down syndrome: a report from the AML02 multicenter trial and the Children's Oncology Group Study POG 9421/O'Brien M. M., Cao X., Pounds S. [et al.]//Leukemia. – 2013. – Vol. 27, №3. – P. 731–734
38. Biology and outcome of childhood acute megakaryoblastic leukemia: A single institution's experience/Athale U.H., Razzouk B.I., Raimondi S.C. [et al.]//Blood. – 2001. – Vol. 97, №12. – P. 3727–3732
39. Clinical Characteristics and Prognosis of 27 Patients with Childhood Acute Megakaryoblastic Leukemia/ Qi, H., Mao, Y., Cao, Q. [et al.]//Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research. – 2020. – Vol. 26 -e922662
40. Acute myeloid leukemia in infants: biology and treatment/Masetti R., Vendemini F., Zama D. [et al.]//Frontiers in Pediatrics. – 2015. – Vol. 3, № 37
41. Impact of age on the survival of pediatric leukemia: an analysis of 15083 children in the SEER database/Wang Y., Huang J., Rong L. [et al.]//Oncotarget. – 2016. – Vol.7, №50. – P. 83767-83774

42. Favorable outcome in infants with AML after intensive first- and second-line treatment: an AML-BFM study group report /Creutzig U., Zimmermann M., Bourquin J.P. [et al.]//*Leukemia*. – 2012. – Vol. 26. – P. 654–661
43. Koren G., Schechter T. Cancer chemotherapy in young children: challenges and solutions//*Pediatric Blood & Cancer*. – 2007. – Vol. 49. – P.1091–1092
44. Infant Acute Myeloid Leukemia: A Unique Clinical and Biological Entity/Calvo C., Fenneteau O., Leverger G. [et al.]//*Cancers (Basel)*. – 2021. – Vol.13, №4. – P.777
45. Relationships between age at diagnosis, clinical features, and outcome of therapy in children treated in the Medical Research Council AML 10 and 12 trials for acute myeloid leukemia/ Webb D.K., Harrison G., Stevens R.F. [et al.]//*Blood*. – 2001. – Vol. 98. – P. 1714–1720
46. Superior outcome of infant acute myeloid leukemia with intensive chemotherapy: results of the Japan Infant Leukemia Study Group/Kawasaki H., Itoyama K., Eguchi M. [et al.]//*Blood*. – 2001. – Vol. 98. – P. 3589–3594
47. Infants with acute myeloid leukemia treated according to the Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica 2002/01 protocol have an outcome comparable to that of older children/Masetti R., Rondelli R., Fagioli F. [et al.]//*Haematologica*. – 2014. – Vol. 99, №8.
48. Conneely S.E., Rau R.E. The genomics of acute myeloid leukemia in children//*Cancer Metastasis Reviews*. – 2020. – Vol. 39, №1. – P.189-209
49. Cytogenetics of childhood acute myeloid leukemia: United Kingdom Medical Research Council Treatment trials AML 10 and 12/Harrison C.J., Hills R.K., Moorman A.V. [et al.]//*Journal of Clinical Oncology*. – 2010. – Vol. 28, №16. – P. 2674-2681
50. Prognostic impact of specific chromosomal aberrations in a large group of pediatric patients with acute myeloid leukemia treated uniformly according to trial AML-BFM 98/ Von Neuhoff C., Reinhardt D., Sander A. [et al.]// *Journal of Clinical Oncology*. – 2010. – Vol. 28, №16. – P. 2682-2689

51. The incidence and clinical significance of nucleophosmin mutations in childhood AML/ Brown P., McIntyre E., Rau R. [et al.]//Blood. – 2007. – Vol. 110, № 3. – P. 979-985
52. Favorable prognostic impact of NPM1 gene mutations in childhood acute myeloid leukemia, with emphasis on cytogenetically normal AML/Hollink I.H.I.M., Zwaan C.M., Zimmermann M. [et al.]//Leukemia. – 2009. – Vol. 23, №2. – P.262-270
53. Nucleophosmin mutations confer an independent favorable prognostic impact in 869 pediatric patients with acute myeloid leukemia/Xu Lu-H., Fang J-P., Liu Y-C. [et al.]//Blood Cancer Journal. – 2020. – Vol. 10, №1
54. Functional properties of KIT mutations are associated with differential clinical outcomes and response to targeted therapeutics in CBF acute myeloid leukemia/Tarlock K., Alonzo T.A., Wang Yi-C. [et al.]//Clinical Cancer Research. – 2019. – Vol. 25, №16. – P. 5038-5048
55. Prognostic implications of CEBPA mutations in pediatric acute myeloid leukemia: a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group/ Matsuo H., Kajihara M., Tomizawa D. [et al.]//Blood Cancer Journal. – 2014. – Vol. 4, №7
56. Differences between CEBPA bZIP and TAD mutations and their effect on outcome— an analysis in 4578 patients with acute myeloid leukemia/Georgi J-A., Taube F., Kramer M. [et al.]//Blood. – 2016. – Vol. 128, №22. – P. 283-283
57. High EVI1 expression predicts outcome in younger adult patients with acute myeloid leukemia and is associated with distinct cytogenetic abnormalities/Gröschel S., Lugthart S., Schlenk R.F. [et al.]//Journal of Clinical Oncology. – 2010. – Vol. 28, №12. – P. 2101-2107
58. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United

- Kingdom Medical Research Council trials/Grimwade D., Hills R.K., Moorman A.V. [et al.]//*Blood*. – 2010. – Vol. 116, №3. – P. 354-365
59. Acute myeloid leukemia with translocation t(3;5): new molecular insights/Dumezy F., Renneville A., Mayeur-Rousse C.[et al.]//*Haematologica*. – 2013. – Vol. 98, №4
60. DEK-NUP214-rearranged pediatric myeloid leukemia: an international study of 62 patients/Sandahl J.D., Coenen E.A., Forestier E. [et al.]//*Haematologica*. – 2014. – Vol. 99, №5. – P. 865- 872
61. FISH identifies a KAT6A/CREBBP fusion caused by a cryptic insertional t(8;16) in a case of spontaneously remitting congenital acute myeloid leukemia with a normal karyotype/ Barrett R., Morash B., Roback D., Pambrun C. [et al.]//*Pediatric Blood & Cancer*. – 2017. – Vol.64, №8.
62. Pediatric acute myeloid leukemia with t(8;16)(p11;p13), a distinct clinical and biological entity: a collaborative study by the International-Berlin-FrankfurtMunster AML-study group/ Coenen E.A., Zwaan C.M., Reinhardt D. [et al.]//*Blood*. – 2013. – Vol. 122, №15. – P. 2704-2713
63. Prognostic impact of t(16;21)(p11;q22) and t(16;21)(q24;q22) in pediatric AML: a EGAN ET AL. 9 of 13 retrospective study by the I-BFM study group/Noort S., Zimmermann M., Reinhardt D. [et al.]// *Blood*. – 2018. – Vol. 132 №15. – P.1584-1592
64. An Inv (16) (p13.3q24.3) - encoded CBFA2T3-GLIS2 fusion protein defines an aggressive subtype of pediatric acute megakaryoblastic leukemia/Gruber T.A., Larson Gedman A., Zhang J. [et al.]// *Cancer Cell*. – 2012. – Vol. 22, №5. – P. 683-697
65. CBFA2T3-GLIS2- positive acute myeloid leukaemia: a peculiar paediatric entity/ Masetti R., Bertuccio S.N., Pession A. [et al.]//*British Journal of Haematology*. – 2019. – Vol. 184, №3. – P. 337-347
66. CBFA2T3-GLIS2 fusion transcript is a novel common feature in pediatric, cytogenetically normal AML, not restricted to FAB M7 subtype/Masetti R.,



- Pigazzi M., Togni M. [et al.]//Blood. – 2013. – Vol. 121, №17. – P. 3469-3472
67. Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/MLL-rearranged acute myeloid leukemia: results of an international retrospective study/Balgobind B.V., Raimondi S.C., Harbott J. [et al.]//Blood. – 2009. – Vol. 114, №12. – P. 2489-2496
68. NUP98/NSD1 characterizes a novel poor prognostic group in acute myeloid leukemia with a distinct HOX gene expression pattern/Hollink I.H., van den Heuvel-Eibrink M.M., Arentsen-Peters S.T. [et al.]//Blood. – 2011. – Vol. 118, №13. – P. 3645-3656
69. NUP98-NSD1 fusion in association with FLT3-ITD mutation identifies a prognostically relevant subgroup of pediatric acute myeloid leukemia patients suitable for monitoring by real time quantitative PCR/Akiki S., Dyer S.A., Grimwade D. [et al.]//Genes Chromosomes Cancer. – 2013. – Vol. 52, №11. – P. 1053-1064
70. NUP98-NSD1 gene fusion and its related gene expression signature are strongly associated with a poor prognosis in pediatric acute myeloid leukemia/Shiba N., Ichikawa H., Taki T. [et al.]//Genes Chromosomes Cancer. – 2013. – Vol. 52, №11. – P.683-693
71. NUP98 is rearranged in 3.8% of pediatric AML forming a clinical and molecular homogenous group with a poor prognosis/Struski S., Lagarde S., Bories P. [et al.]// Leukemia. – 2017. – Vol. 31, №3. – P.565-572
72. Abnormalities of 12p are associated with high-risk acute myeloid leukemia: a Children's Oncology Group Report/Hirsch B., Alonzo T.A., Gerbing R.B. [et al.]//Blood. – 2013. – Vol. 122, №21. – P. 612.
73. ETV6 aberrations are a recurrent event in pediatric acute myeloid leukemia with poor clinical outcome/De Rooij J., Beuling E., Fornerod M. [et al.]//Blood. – 2014. – Vol. 124, №21. – P. 1012-1012
74. Outcome of pediatric patients with acute myeloid leukemia (AML) and -5/5q- abnormalities from five pediatric AML treatment protocols: a report

- from the Children's Oncology Group/Johnston D.L., Alonzo T.A., Gerbing R.B. [et al.]/*Pediatric Blood & Cancer*. – 2013. – Vol. 60, №12. – P. 2073-2078
75. Structural variants involving MLLT10/AF10 are associated with adverse outcome in AML regardless of the partner gene – a COG/Tpaml study/Ries R.E., Leonti A.R., Triche T.J. [et al.]/*Blood*. – 2019. Vol.134, Suppl.1. – P. 461
76. Clinical implications of FLT3 mutations in pediatric AML/Meshinchi S., Alonzo T.A., Stirewalt D.L. [et al.]/*Blood*. – 2006. – Vol.108, №12. – P. 3654-3661
77. Presence of FLT3-ITD and high BAALC expression are independent prognostic markers in childhood acute myeloid leukemia/Staffas A., Kanduri M., Hovland R. [et al.]/*Blood*. – 2011. Vol. 118, №22. – P.5905-5913
78. Prevalence and prognostic significance of Flt3 internal tandem duplication in pediatric acute myeloid leukemia/Meshinchi S., Woods W.G., Stirewalt D.L. [et al.]/*Blood*. – 2001. – Vol. 97, № 1. – P. 89-94
79. Worldwide comparison of survival from childhood leukaemia for 1995–2009, by subtype, age, and sex (CONCORD-2): A population-based study of individual data for 89,828 children from 198 registries in 53 countries/Bonaventure A., Harewood R., Stiller C.A. [et al.]/*Lancet Haematology*. – 2017.Vol. 4.
80. Treatment of acute myelocytic leukemia: a study by cancer and leukemia group B/Rai K.R., Holland J.F., Glidewell O.J. [et al.]/*Blood*. – 1981. – Vol. 58. – P. 1203–1212.
81. Randomized comparison of DAT versus ADE as induction chemotherapy in children and younger adults with acute myeloid leukemia. Results of the Medical Research Council's 10th AML trial (MRC AML10). Adult and Childhood Leukaemia Working Parties of the Medical Research Council/Hann I.M., Stevens R.F., Goldstone A.H. [et al.]/*Blood*. – 1997. – Vol. 89, №7. – P. 2311–2318.

82. Minimal residual disease-directed therapy for childhood acute myeloid leukaemia: results of the AML02 multicentre trial/Rubnitz J.E., Inaba H., Dahl G. [et al.]//Lancet Oncology. – 2010. – Vol. – P. 11543–11552
83. Optimization of chemotherapy for younger patients with acute myeloid leukemia: results of the medical research council AML15 trial/Burnett A.K., Russell N.H., Hills R.K. [et al.]//Journal of Clinical Oncology. – 2013. – Vol.31. – P. 3360–3368
84. Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia: cancer and leukemia group B/Mayer R.J., Davis R.B., Schiffer C.A. [et al.]//The New England Journal of Medicine. – 1994. – Vol. 331. – P.896–903
85. Intensive postremission therapy in adults with acute nonlymphocytic leukemia with ara-C by continuous infusion or bolus administration: preliminary results of a CALGB phase I study/Mayer R.J., Schiffer C.A., Peterson B.A. [et al.]//Seminars in Oncology. – 1985. – Vol. 12, №2, Suppl 3. – P. 84–90
86. The role of timing of high-dose cytosine arabinoside intensification and of maintenance therapy in the treatment of children with acute nonlymphocytic leukemia/Woods W.G., Ruymann F.B., Lampkin B.C. [et al.]//Cancer. – 1990. – Vol. 66. – P. 1106–1113
87. Impact of high-dose cytarabine and asparaginase intensification on childhood acute myeloid leukemia: a report from the Childrens Cancer Group/Wells R.J., Woods W.G., Lampkin B.C. [et al.]//Journal of Clinical Oncology. – 1993. – Vol. 11. – P. 538–545
88. Attempts to optimize induction and consolidation treatment in acute myeloid leukemia: results of the MRC AML12 trial/Burnett A.K., Hills R.K., Milligan D.W. [et al.]//Journal of Clinical Oncology. – 2010. – Vol. 28. – P. 586–595
89. Risk-stratified therapy and the intensive use of cytarabine improves the outcome in childhood acute myeloid leukemia: the AML99 trial from the

- Japanese Childhood AML Cooperative Study Group/Tsukimoto I., Tawa A., Horibe K. [et al.]// *Journal of Clinical Oncology*. – 2009. – Vol.27. – P. 4007–4013
90. Repetitive cycles of high-dose cytarabine are effective for childhood acute myeloid leukemia: long-term outcome of the children with AML treated on two consecutive trials of Tokyo Children's Cancer Study Group/Tomizawa D., Tabuchi K., Kinoshita A. [et al.]//*Pediatric Blood & Cancer*. – 2007. – Vol. 49. – P. 127–132
91. Four versus five chemotherapy courses in patients with low risk acute myeloid leukemia: a Children's Oncology Group report/Getz K.D., Alonzo T.A., Sung L. [et al.]//*Journal of Clinical Oncology*. – 2017. – Vol.35. – P. 10515
92. Results of a randomized trial in children with acute myeloid leukaemia: medical research council AML12 trial/Gibson B.E., Webb D.K., Howman A.J. [et al.]//*British Journal of Haematology*. – 2011. – Vol. 155. – P. 366–376
93. Intensified induction and consolidation with or without maintenance chemotherapy for acute myeloid leukemia (AML): two multicenter studies of the German AML Cooperative Group/Büchner T.H., Urbanitz D., Hiddemann W. [et al.]//*Journal of Clinical Oncology*. – 1985. – Vol. 3 №12. – P. 1583–1899
94. Treatment of childhood acute myeloblastic leukemia: dose intensification improves outcome and maintenance therapy is of no benefit: multicenter studies of the French LAME (Leucemie Aigue Myeloblastique Enfant) Cooperative Group/Perel Y., Auvrignon A., Leblanc T. [et al.]//*Leukemia*. – 2005. – Vol. 19. – P. 2082–2089
95. Gemtuzumab ozogamicin in children and adolescents with de novo acute myeloid leukemia improves event-free survival by reducing relapse risk: results from the randomized Phase III Children's Oncology Group Trial

- AAML0531/Gamis A.S., Alonzo T.A., Meshinchi S. [et al.]//*Journal of Clinical Oncology*. – 2014. Vol. 32. – P. 3021–3032
96. Integrated pharmacokinetic/pharmacodynamic model of a bispecific CD3xCD123 DART molecule in nonhuman primates: evaluation of activity and impact of immunogenicity/Campagne O., Delmas A., Fouliard S. [et al.]//*Clinical Cancer Research*. – 2018. – Vol. 24, №11. – P. 2631–2641
97. Broglie L., Gershan J., Burke M.J. Checkpoint inhibition of PD-L1 and CTLA-4 in a child with refractory acute leukemia// *International Journal of Hematologic Oncology*. – 2019. – Vol. 8, №1.
98. Venetoclax and decitabine for relapsed paediatric myelodysplastic syndrome-related acute myeloid leukaemia with complex aberrant karyotype after second stem cell transplantation/Raedler J., Heyde S., Kolokythas M. [et al.]//*British Journal of Haematology*. – 2020. – Vol. 189. №6.
99. Flotetuzumab as salvage immunotherapy for refractory acute myeloid leukemia/Uy G.L., Aldoss I., Foster M.C. [et al.]//*Blood*. – 2021. – Vol.137, №6. – P. 751-762
100. Efficacy, safety, and biomarkers of response to azacitidine and nivolumab in relapsed/refractory acute myeloid leukemia: a nonrandomized, open-label, phase II study/Daver N., Garcia-Manero G., Basu S. [et al.]//*Cancer Discovery*. – 2019. – Vol. 9, № 3. – P. 370–83
101. Efficacy and toxicity of Decitabine in patients with acute myeloid leukemia (AML): A multicenter real-world experience/Fili C., Candoni A., Zannier M.E. [et al.]//*Leukemia Research*. – 2019. – Vol. 76. – P. 33-38
102. Decitabine and vorinostat with FLAG chemotherapy in pediatric relapsed/refractory AML: Report from the therapeutic advances in childhood leukemia and lymphoma (TACL) consortium/Pommert L., Schafer E.S., Malvar J. [et al.]//*American Journal of Hematology*. – 2022. – Vol. 97, №5. – P. 613-622

103. A phase 1 study of azacitidine combined with chemotherapy in childhood leukemia: a report from the TACL consortium/Sun W., Triche T. Jr., Malvar J. [et al.]//Blood. – 2018. – Vol. 131, №10. – P. 1145–1148
104. Decitabine-vorinostat combination treatment in acute myeloid leukemia activates pathways with potential for novel triple therapy/Young C.S., Clarke K.M., Kettyle L.M. [et al.]//Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, №31. – P.51429–51446
105. Epigenetic drug combination induces remission in mouse xenograft models of pediatric acute myeloid leukemia/Gopalakrishnapillai A., Kolb E.A., McCahan S.M. [et al.]//Leukemia Research. – 2017. – Vol. 58. – P. 91–97
106. Panobinostat monotherapy and combination therapy in patients with acute myeloid leukemia: results from two clinical trials/Schlenk R.F., Krauter J., Raffoux E. [et al.]// Haematologica. – 2018. – Vol.103.
107. Sorafenib in Combination with Standard Chemotherapy for Children with High Allelic Ratio FLT3/ITD+ Acute Myeloid Leukemia: A Report from the Children's Oncology Group Protocol AAML1031/Pollard J.A., Alonzo T.A., Gerbing R. [et al.]//Journal of Clinical Oncology. – 2022. – Vol. 40, №18. – P.2023-2035
108. Phospho-profiling linking biology and clinics in pediatric acute myeloid leukemia/Schumich A., Prchal-Murphy M., Maurer-Granofszky M. [et al.]//Hemasphere. – 2020. – Vol. 4, №1.
109. A phase 1/2, open-label, dose-escalation study of midostaurin in children with relapsed or refractory acute leukaemia/Zwaan C.M., Söderhäll S., Brethon B. [et al.]//British Journal of Haematology. – 2019. – Vol. 185, №3. – P. 623-627
110. Evaluation of gilteritinib in combination with chemotherapy in preclinical models of FLT3-ITD(+) acute myeloid leukemia/Ueno Y., Mori M., Kamiyama Y. [et al.]//Oncotarget. – 2019. – Vol. 10, №26. – P.2530–2545

111. Gilteritinib or chemotherapy for relapsed or refractory FLT3-mutated AML/Perl A.E., Martinelli G., Cortes J.E. [et al.]//The New England Journal of Medicine. – 2019. – Vol. 381, №18. – P. 1728–1740
112. Quizartinib plus chemotherapy in newly diagnosed patients with FLT3-internal-tandem-duplication-positive acute myeloid leukaemia (QuANTUM-First): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial/Erba H.P., Montesinos P., Kim H.J.[et al.]// Lancet. – 2023. – Vol. 401. – P. 1571-1583
113. Long-term results of a phase 2 trial of crenolanib combined with 7+3 chemotherapy in adults with newly diagnosed FLT3 mutant AML/Eunice S. W., Aaron D. G., Roland B. [et al.]//Journal of Clinical Oncology. – 2022. – Vol. 40, Suppl 16. – P. 7007-7007
114. Venetoclax in combination with cytarabine with or without idarubicin in children with relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: a phase 1, dose-escalation study/Karol S.E., Alexander T.B., Budhraja A. [et al.]// Lancet Oncology. – 2020. – Vol. 21, №4. – P.551–560
115. Persistent cytarabine and daunorubicin exposure after administration of novel liposomal formulation CPX-351: population pharmacokinetic assessment/Nikanjam M., Capparelli E.V., Lancet J.E. [et al.]//Cancer Chemotherapy and Pharmacology. – 2018. – Vol. 81, № 1. – P.171–178
116. Phase II, multicenter, randomized trial of CPX-351 (cytarabine:daunorubicin) liposome injection versus intensive salvage therapy in adults with first relapse AML/Cortes J.E., Goldberg S.L., Feldman E.J. [et al.]//Cancer. – 2015. – Vol. 121, №2. – P. 234–242
117. CPX-351 (cytarabine and daunorubicin) liposome for injection versus conventional cytarabine plus daunorubicin in older patients with newly diagnosed secondary acute myeloid leukemia/Lancet J.E., Uy G.L., Cortes J.E. [et al.]//Journal of Clinical Oncology. – 2018. Vol. 36, №26. – P. 2684–2692

118. Phase I/II study of CPX-351 followed by fludarabine, cytarabine, and granulocyte-colony stimulating factor for children with relapsed acute myeloid leukemia: a report from the Children's Oncology Group/Cooper T.M., Absalon M.J., Alonzo T.A. [et al.]//Journal of Clinical Oncology. – 2020. – Vol. 38, №19. – P. 2170–2177
119. Gene expression-based discovery of atovaquone as a STAT3 inhibitor and anticancer agent/Xiang M., Kim H., Ho V.T. [et al.]//Blood. – 2016. Vol. 128, №14. – P. 1845–1853
120. Rapidly switchable universal CAR-T cells for treatment of CD123-positive leukemia/ Loff S., Dietrich J., Meyer J.E. [et al.]//Molecular Therapy - Oncolytics. – 2020. – Vol. 17. – P. 408–420
121. Safety and Anti-Leukemic Activity of CD123-CAR T Cells in Pediatric Patients with AML: Preliminary Results from a Phase 1 Trial/Naik S., Madden R., Lipsitt A. [et al.]//Blood. – 2022. Vol. 140, Suppl. 1. – P. 4584–4585
122. A Phase I Trial of UCART123v1.2, an Anti-CD123 Allogeneic CAR-T Cell Product, in Adult Patients with Relapsed or Refractory (R/R) CD123+ Acute Myeloid Leukemia (AML)/ Sallman D., DeAngelo D., Pemmaraju N. [et al.]//Blood. – 2022. – Vol. 140, Suppl. 1. – P. 2371–2373
123. Современные возможности иммунотерапии злокачественных заболеваний у детей/Казанцев И.В., Лепик К.В., Моисеев И.С., Зубаровская Л.С.// Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. – 2020. – Том 99, №4. – С. 8-17.
124. Афанасьев Б. В., Зубаровская Л. С., Моисеев И. С. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей: настоящее, проблемы, перспективы//Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2015. – №2. – С. 28-42.
125. A comparison of allogeneic bone marrow transplantation, autologous bone marrow transplantation, and aggressive chemotherapy in children with acute



- myeloid leukemia in remission/Woods W.G., Neudorf S., Gold S. [et al.]// Blood. – 2001. – Vol. 97, № 1. – P. 56-62
126. Gibson B.E.S., Sauer M.G., Amrolia P. Acute Myeloid Leukemia in Children. In: Carreras E. (Eds.) [et al.]. The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies. (7th edition, pp. 523-530). – 2019. Springer.
127. H. Hasle. A critical review of which children with acute myeloid leukaemia need stem cell procedures//British Journal of Haematology. – 2014. – Vol. 166. – P. 23–33
128. Диагностика и лечение острого миелоидного лейкоза у детей /Калинина И. И., Масчан А.А., Ольшанская Ю.В. [и др.]; Организация-разработчик: ФГБУ НМИЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Москва: Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, 2021. – 104 с. – ISBN 978-5-6047047-2-1. – EDN QTNIHQ.
129. A simple, robust, validated and highly predictive index for the determination of risk-directed therapy in acute myeloid leukaemia derived from the MRC AML 10 trial. United Kingdom Medical Research Council's Adult and Childhood Leukaemia Working Parties/Wheatley K., Burnett A.K., Goldstone A.H. [et al.]//British Journal of Haematology. – 1999. Vol. 107. – P. 69–79
130. Clinical significance of flowcytometric minimal residual disease detection in pediatric acute myeloid leukemia patients treated according to the DCOGANLL97/MRC AML12 protocol/van der Velden V.H., van der Sluijs-Geling A., Gibson B.E. [et al.]//Leukemia. – 2010. – Vol. 24. – P.1599–1606
131. Residual disease detected by multidimensional flow cytometry signifies high relapse risk in patients with de novo acute myeloid leukemia: a report from

- Children's Oncology Group/Loken M.R., Alonzo T.A., Pardo L. [et al.]//Blood. – 2012. – Vol. 120. – P. 1581–1518
132. Reinhardt D., Antoniou E., Waack K. Pediatric Acute Myeloid Leukemia-Past, Present, and Future//Journal of Clinical Medicine. – 2022. – Vol. 11 №3.
133. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia: time to move toward a minimal residual disease-based definition of complete remission?/Araki D., Wood B.L., Othus M. [et al.]//Journal of Clinical Oncology. – 2016. – Vol. 34, №4. – P. 329-336
134. High stem cell frequency in acute myeloid leukemia at diagnosis predicts high minimal residual disease and poor survival/van Rhenen A., Feller N., Kelder A. [et al.]//Clinical Cancer Research. – 2005. – Vol. 11, №18. – P. 6520-6527
135. Pre- and post-transplant quantification of measurable ('minimal') residual disease via multiparameter flow cytometry in adult acute myeloid leukemia/Zhou Y., Othus M., Araki D. [et al.]//Leukemia. – 2016. – Vol. 30, №7. – P.1456-1564
136. Vriesendorp H.M. Aims of the conditioning regimen//Experimental Hematology. – 2003. – Vol. 31. – P. 844–854
137. Champlin R. Non-myeloablative preparative regimens and allogeneic hematopoietic cellular transplantation for induction of graft-vs-malignancy effects//In: Giralt S., Slavin S., editors//New Frontiers in Cancer Therapy: Non-Myeloablative Stem Cell Transplantation. Edinburgh, UK: Darwin Scientific. – 2000. – P. 45-58
138. Impact of Conditioning Regimen on Outcomes for Children with Acute Myeloid Leukemia Undergoing Transplantation in First Complete Remission. An Analysis on Behalf of the Pediatric Disease Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation/Lucchini G., Labopin M., Beohou E. [et al.]//Biology of Blood and Marrow Transplantation. – 2017. – Vol. 23, №3. – P.467-474

139. One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation/Thomas E.D., Buckner C.D., Banaji M. [et al.]//Blood. – 1977. – Vol. 49. – P. 511-533
140. Marrow transplantation for acute nonlymphoblastic leukemia in first remission using fractionated or single-dose irradiation/Thomas E.D., Clift R.A., Hersman J. [et al.]//International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics. – 1982. – Vol. 8. – P. 817-821
141. Marrow transplantation for acute nonlymphocytic leukemia after treatment with busulfan and cyclophosphamide/Santos G.W., Tutschka P.J., Brookmeyer R. [et al.]//New England Journal of Medicine. – 1983. – Vol. 309. – P. 1347-1353
142. Tutschka P.J., Copelan E.A., Klein J.P. Bone marrow transplantation for leukemia following a new busulfan and cyclophosphamide regimen//Blood. – 1987. – Vol. 70. – P. 1382-1388
143. Allogeneic bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia in first remission: a randomized trial of a busulfan-Cytosine versus Cytosine-total body irradiation as preparative regimen: a report from the Group d'Etudes de la Greffe de Moelle Osseuse/Blaise D., Maraninchi D., Archimbaud E. [et al.]//Blood. – 1992. – Vol. 79, №10. – P. 2578-2582.
144. A randomized trial comparing busulfan with total body irradiation as conditioning in allogeneic marrow transplant recipients with leukemia: a report from the Nordic Bone Marrow Transplantation Group/Ringdén O., Ruutu T., Remberger M.//Blood. – 1994. – Vol. 83, №9. – P. 2723-2730.
145. Busulfan plus cyclophosphamide compared with total-body irradiation plus cyclophosphamide before marrow transplantation for myeloid leukemia: long-term follow-up of 4 randomized studies/Socié G., Clift R.A., Blaise D. [et al.]//Blood. – 2001. – Vol. 98, №13. – P.3569-3574
146. Comparison of Outcomes for Pediatric Patients With Acute Myeloid Leukemia in Remission and Undergoing Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation With Myeloablative Conditioning Regimens Based on

- Either Intravenous Busulfan or Total Body Irradiation: A Report From the Japanese Society for Hematopoietic Cell Transplantation/Ishida H., Kato M., Kudo K.//*Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2015. – Vol. 21, №12. – P. 2141-2147
147. Impact on long-term OS of conditioning regimen in allogeneic BMT for children with AML in first CR: TBI + CY versus BU + CY: A report from the Societe Francaise de Greffe de Moelle et de Therapie Cellulaire/de Berranger E., Cousien A., Petit A. [et al.]//*Bone Marrow Transplantation*. – 2014. – Vol. 49. – P. 382–388
148. Comparison of total body irradiation versus non-total body irradiation containing regimens for de novo acute myeloid leukemia in children/Dandoy C.E., Davies S.M., Woo Ahn K. [et al.]// *Haematologica*. – 2021. – Vol. 106. – P. 1839–1845
149. Late Effects Working Party of the European Study Group for Blood and Marrow Transplantation. Nonmalignant late effects after allogeneic stem cell transplantation/Socié G., Salooja N., Cohen A. [et al.]//*Blood*. – 2003. – Vol. 101. – P. 3373-3385
150. Long-term outcomes after allogeneic stem cell transplantation for children with hematological malignancies/Ferry C., Gemayel G., Rocha V. [et al.]// *Bone Marrow Transplantation*. – 2007. – Vol. 40. – P. 219-224
151. Late effects of allogeneic bone marrow transplantation for children with acute myeloblastic leukemia in first complete remission: the impact of conditioning regimen without total-body irradiation a report from the Societe Francaise de Greffe de Moelle/Michel G., Socié G., Gebhard F. [et al.]//*Journal of Clinical Oncology*. – 1997. – Vol. 15. – P. 2238-2246
152. New malignant diseases after allogeneic marrow transplantation for childhood acute leukemia/Socié G., Curtis R.E., Deeg H.J. [et al.]//*Journal of Clinical Oncology*. – 2000. – Vol. 18. – P. 348-357

153. Cognitive outcome after pediatric stem-cell transplantation: impact of age and total-body irradiation/Willard V.W., Leung W., Huang Q. [et al.]//Journal of Clinical Oncology. – 2014. – Vol. 32. – P.3982-3988
154. Once daily i.v. busulfan and fludarabine (i.v. Bu-Flu) compares favorably with i.v. busulfan and cyclophosphamide (i.v. BuCy2) as pretransplant conditioning therapy in AML/MDS/Andersson B.S., de Lima M., Thall P.F. [et al.]//Biology of Blood and Marrow Transplantation. – 2008. – Vol. 14, №6. – P. 672-684
155. Comparing i.v. BU dose intensity between two regimens (FB2 vs FB4) for allogeneic HCT for AML in CR1: a report from the Acute Leukemia Working Party of EBMT/Kharfan-Dabaja M.A., Labopin M., Bazarbachi A. [et al.]//Bone Marrow Transplantation. – 2014. – Vol. 49, №9. – P.1170-1175
156. Gandhi V., Plunkett W. Cellular and clinical pharmacology of fludarabine// Clinical Pharmacokinetics. – 2002. – Vol. 41, №2. – P. 93-103
157. New myeloablative conditioning regimen with fludarabine and busulfan for allogeneic stem cell transplantation: comparison with BuCy2/Chae Y.S., Sohn S.K., Kim J.G. [et al.]//Bone Marrow Transplantation. – 2007. – Vol. 40, №6. – P. 541-547
158. Busulfan plus fludarabine as a myeloablative conditioning regimen compared with busulfan plus cyclophosphamide for acute myeloid leukemia in first complete remission undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a prospective and multicenter study/Liu H., Zhai X., Song Z. [et al.]//Journal of Hematology and Oncology. – 2013. – Vol. 6.
159. Once-daily intravenous busulfan given with fludarabine as conditioning for allogeneic stem cell transplantation: study of pharmacokinetics and early clinical outcomes/Russell J.A., Tran H.T., Quinlan D. [et al.]//Biology of Blood and Marrow Transplantation. – 2002. Vol. 8, №9. – P. 468-476

160. Comparison of pediatric allogeneic transplant outcomes using myeloablative busulfan with cyclophosphamide or fludarabine/Harris A.C., Boelens J.J., Ahn K.W. [et al.]//Blood Advances. – Vol. 2, №11. – P. 1198-1206
161. Long-term survival and late events after allogeneic stem cell transplantation from HLA-matched siblings for acute myeloid leukemia with myeloablative compared to reduced-intensity conditioning: a report on behalf of the acute leukemia working party of European group for blood and marrow transplantation/Shimoni A., Labopin M., Savani B. [et al.]//Journal of Hematology and Oncology. – 2016. – Vol. 9, №1.
162. Reduced-intensity allogeneic transplantation in pediatric patients ineligible for myeloablative therapy: results of the Pediatric Blood and Marrow Transplant Consortium Study ONC0313/Pulsipher M.A., Boucher K.M., Wall D. [et al.]//Blood. – 2009. – Vol. 114, №7. – P. 1429-1436
163. Treosulfan-fludarabine-thiotepa-based conditioning treatment before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for pediatric patients with hematological malignancies/Kalwak K., Mielcarek M., Patrick K. [et al.]//Bone and Marrow Transplantation. – 2020. – Vol. 55, №10. – P.1996-2007
164. Treosulfan, Fludarabine, and Low-Dose Total Body Irradiation for Children and Young Adults with Acute Myeloid Leukemia or Myelodysplastic Syndrome Undergoing Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Prospective Phase II Trial of the Pediatric Blood and Marrow Transplant Consortium/Nemecek E.R., Hilger R.A., Adams A. [et al.]//Biology of Blood and Marrow Transplantation. – 2018. – Vol. 24, №8. – P. 1651-1656
165. Treatment of acute leukemia with unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and bone marrow transplantation/Huang X.J., Liu D.H., Liu K.Y. [et al.]//Biology of Blood and Marrow Transplantation. – 2009. – Vol. 15, №2. – P. 257-265

166. Transplantation for children with acute myeloid leukemia: a comparison of outcomes with reduced intensity and myeloablative regimens/ Bitan, M., He W., Zhang, M.J. [et al.]//Blood. – 2014. – Vol. 123, №10. – P. 1615–1620
167. The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies [Internet]/Valcárcel D., Sureda A. Graft Failure. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M, et al., editors. 7th edition. Cham (CH): Springer. – 2019. – Chapter 41.
168. Kaplan E.L.Meier P.Nonparametric estimation from incomplete observations//Journal of the American Statistical Association. – 1958. – Vol. 53. – P. 457-481
169. Fine J.P., Gray R.J.A proportional hazards model for the subdistribution of a competing risk//Journal of the American Statistical Association. – 1999. – Vol. 94. – P. 496-509
170. Successes and challenges in the treatment of pediatric acute myeloid leukemia: a retrospective analysis of the AML-BFM trials from 1987 to 2012/Rasche M., Zimmermann M., Borschel L. [et al.]//Leukemia. – 2018. – Vol. 32, №10. – P. 2167-2177
171. Unrelated donor bone marrow transplantation for children with acute myeloid leukemia beyond first remission or refractory to chemotherapy/Bunin N.J., Davies S.M., Aplenc R. [et al.]//Journal of Clinical Oncology. – 2008. – Vol. 26. – P. 4326–4332
172. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при остром миелобластном лейкозе в первой ремиссии/Бондаренко С.Н., Семенова Е.В., Вавилов В.Н. [и др.]// Терапевтический архив. – 2013. – Том 85, №7. – С. 18-25.
173. Исход аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при острых миелоидных лейкозах с гипердиплоидным кариотипом/ Гиндина Т. Л., Мамаев Н.Н., Николаева Е.С. [и др.]//Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика – 2016. – Том 9, №4. – С. 383-390.

174. Результаты аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у больных острым миелоидным лейкозом с t(8;21)(q22;q22)/runx1-runx1t1 и дополнительными цитогенетическими аномалиями/ Гиндина Т. Л., Мамаев Н.Н., Бондаренко С.Н. [и др.]// Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2016. – Том 9, №2. – С. 148-154.
175. Salhotra A., Stein A.S. Role of Radiation Based Conditioning Regimens in Patients With High-Risk AML Undergoing Allogenic Transplantation in Remission or Active Disease and Mechanisms of Post-Transplant Relapse//Frontiers in Oncology. – 2022. Vol. 12.
176. Myeloablative Versus Reduced-Intensity Hematopoietic Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes/Scott B.L., Pasquini M.C., Logan B.R. [et al.]//Journal of Clinical Oncology. – 2017. Vol. 35. – P. 1154–61
177. Dose-Reduced Versus Standard Conditioning Followed by Allogeneic Stem-Cell Transplantation for Patients With Myelodysplastic Syndrome: A Prospective Randomized Phase III Study of the EBMT (RICMAC Trial)/ Kröger N., Iacobelli S., Franke G. [et al.]//Journal of clinical oncology. – 2017. – Vol. 35. – P. 2157–2164
178. Impact of pretransplantation minimal residual disease, as detected by multiparametric flow cytometry, on outcome of myeloablative hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia/Walter R.B., Gooley T.A., Wood B.L. [et al.]//Journal of Clinical Oncology. – 2011. – Vol. 29, №9. – P. 1190-1197
179. Detectable minimal residual disease before hematopoietic cell transplantation is prognostic but does not preclude cure for children with very-high-risk leukemia/Leung W., Pui C.H., Coustan-Smith E. [et al.]//Blood. – 2012. – Vol. 120. – P. 468–472



180. Е.Б. Владимирская, А.Г. Румянцев. Лейкемические стволовые клетки// Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2005. – Том 4, № 3-4. – С. 5-9.
181. Дризе Н.И. Различие между лейкозными и нормальными кроветворными стволовыми клетками//Онкогематология. – 2006. – Том 1-2. С. 5-9.