

ОБЗОРЫ

REVIEWS

Гипометилирующие препараты в онкогематологии

А.Д. Ширин, О.Ю. Баранова

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478

Hypomethylating Agents in Oncohematology

AD Shirin, OYu Baranova

NN Blokhin Russian Cancer Research Center, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478

РЕФЕРАТ

В обзоре описываются эпигенетические процессы, включая метилирование ядерной и митохондриальной ДНК, а также РНК. Рассматриваются механизмы деметилирования и препараты, обладающие этим свойством. Широко освещаются результаты многочисленных крупных рандомизированных исследований, посвященных изучению гипометилирующих средств (азануклеозидов). Особое внимание уделяется результатам терапии азануклеозидами у пациентов с острыми миелоидными лейкозами. В статье описаны некоторые прогностические системы и алгоритм лечения миелодиспластических синдромов. К настоящему времени в России одобрено к клиническому применению два азануклеозида: азацитидин (для п/к введения) и децитабин (для в/в введения). В зарубежных работах анализируется опыт применения децитабина внутрь и подкожно. Остается открытым вопрос об использовании гипометилирующих препаратов не по прямым показаниям (off-label). Кратко описываются проводимые новые клинические исследования с включением азануклеозидов.

Ключевые слова: эпигенетика, острые миелоидные лейкозы, миелодиспластические синдромы, азацитидин, децитабин, гипометилирующие препараты, азануклеозиды.

Получено: 10 мая 2016 г.

Принято в печать: 20 мая 2016 г.

Для переписки: Антон Дмитриевич Ширин, канд. мед. наук, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478; тел.: +7(499)324-28-24; e-mail: shirin-anton@mail.ru

Для цитирования: Ширин А.Д., Баранова О.Ю. Гипометилирующие препараты в онкогематологии. Клиническая онкогематология. 2016;9(4):369–82.

DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-4-369-382

ABSTRACT

The review describes epigenetic processes, including methylation of nuclear and mitochondrial DNA, as well as RNA. It dwells on mechanisms of demethylation and corresponding medicinal products. It presents detailed information on results of numerous large randomized studies intended to evaluate hypomethylating agents (azanucleosides). Special attention is paid to outcomes of azanucleoside therapy in patients with acute myeloid leukemias. The article describes several prognostic systems and treatment algorithms for myelodysplastic syndromes. Two azanucleosides have been approved in Russia to date: azacitidine (for SQ administration) and decitabine (for IV administration). International authors analyze the experience in oral and subcutaneous administration of decitabine. However, the problem of off-label use of hypomethylating agents is still open. The review gives a brief description of ongoing clinical trials with azanucleosides.

Keywords: epigenetics, acute myeloid leukemias, myelodysplastic syndromes, azacitidine, decitabine, hypomethylating agents, azanucleosides.

Received: May 10, 2016

Accepted: May 20, 2016

For correspondence: Anton Dmitrievich Shirin, PhD, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478; Tel.: +7(499)324-28-24; e-mail: shirin-anton@mail.ru

For citation: Shirin AD, Baranova OYu. Hypomethylating Agents in Oncohematology. Clinical oncohematology. 2016;9(4):369–82 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-4-369-382

ВВЕДЕНИЕ

В результате изучения множества физиологических эпигенетических процессов, происходящих в любой живой клетке организма (от прокариот до млекопитающих), стала актуальной концепция метилирования/деметилирования ДНК, объясняющая процессы эмбрио- и онтогенеза, а также старения. Безусловно, в эпигенетике события не ограничиваются только метилированием. Помимо транскрипции и трансляции — передачи информации с ДНК на РНК и последующим синтезом белков, обладающих различными функциями, происходят многочисленные взаимодействия последних с нуклеиновыми кислотами на посттрансляционном этапе. В основе эпигенетики лежат «причинные взаимодействия между генами и их продуктами, образующими фенотип» [1]. Согласно концепции С.Н. Waddington, сформулированной в 1957 г., в организме присутствует «эпигенетический ландшафт», который представляет собой набор «эпигенетических траекторий», ведущих от зиготы к взрослому состоянию организма. Клетка (зигота) может развиваться по различным направлениям онтогенеза, способствующим или препятствующим ее дифференцировке и пролиферации, что, в свою очередь, может приводить к ее опухолевой трансформации.

Кроме того, несмотря на одинаковый геном в каждой клетке, в процессе ее развития экспрессируются или перестают экспрессироваться («включаются» или «выключаются») гены или их наборы. С этой точки зрения не только генотип, но и эпигенетические процессы определяют фенотип и старение организма, а выключение генов опухолевой супрессии приводит к формированию злокачественных клеток даже без изменения последовательности ДНК.

Исследования профиля экспрессии генов и технологии секвенирования следующего поколения позволили уточнить мутационный статус онкогематологических заболеваний. Они подтвердили, что аберрантная экспрессия или мутация регуляторов эпигенетических процессов относятся к последовательным патобиологическим процессам. Эпигенетическая информация передается с помощью посттрансляционных (процесс синтеза белка) модификаций ДНК или гистонов [2, 3].

Эти модификации «записываются» и «удаляются» определенными белками-ферментами, т. е. эпигенетические процессы имеют обратимый характер. К наиболее изученным посттрансляционным модификациям относят такие процессы, как метилирование, ацетилирование и др. Представляет интерес, что в отличие от растений метилированию ДНК человека подвергается не более 1 % клеток.

С точки зрения современной онкологии ведущими направлениями остаются морфоиммунологические, цитогенетические и молекулярно-биологические исследования материала опухолевой ткани. Первая концепция секвенирования (определение аминокислотной или нуклеотидной последовательности белков и нуклеиновых кислот [ДНК и РНК]) была предложена Ф. Сэнгером в 1977 г. В 1965 г. Ф. Сэнгер предложил метить РНК и ДНК, предназначенные для структурных исследований, радиоактивным изотопом фосфора ^{32}P , что позволило осуществлять работы с чрезвычайно малым количеством материала — 10^{-6} г. Далее была определена структура РНК (120 оснований; 1967 г.) и ДНК фага (5375 оснований;

1977 г.). Даже через 20 лет W.J. Ansorge [4] указывал на то, что секвенирование нового (следующего) поколения последовательности ДНК открывает удивительные возможности для естествознания. Применение новых методов в биологии и медицине становится реальностью за пределами познаний секвенирования генома, что было первоначальной целью его открытия [4].

Отправной точкой развития технологии стали появление ПЦР (полимеразной цепной реакции) и автоматизация основных этапов «чтения» ДНК, давшие начало методам секвенирования следующего поколения. Секвенирование нового поколения — это техника определения нуклеотидной последовательности ДНК и РНК для получения формального описания ее первичной структуры. Технология такого исследования позволяет «прочитать» одновременно сразу несколько участков генома, что является главным отличием от более ранних методов секвенирования. Полногеномное секвенирование — метод исследования, применение которого позволяет получить больше информации о последовательности ДНК, чем любые другие методы. Результаты демонстрируют, что метод точно выявил около 90 % клинически значимых мутаций, кроме того, были открыты новые мутации в онкогенах. Эти данные свидетельствуют о том, что метод позволит усовершенствовать лечение пациентов с онкологическими заболеваниями, а также поможет найти новые онкогены [5].

В молекулярной биологии бисульфитная модификация цитозина с последующим секвенированием используется для идентификации неметилированных нуклеотидов в структуре ДНК (бисульфитное секвенирование). Оно представляет собой общее название группы методов, направленных на изучение картины метилирования ДНК посредством обработки ее бисульфитом. Бисульфит действует на одноцепочечную ДНК путем преобразования цитозина в урацил [6]. В том случае, если цитозин метилирован, он не конвертируется. Таким образом, бисульфит изменяет последовательность ДНК в зависимости от ее картины метилирования, после его воздействия можно как установить метилирование конкретного CpG-островка, так и определить долю метилированного цитозина на конкретном участке ДНК или даже по всему геному в целом [4, 7]. Описанные методы используют секвенирование обработанных бисульфитом участков ДНК (бисульфит-конвертированную ДНК) для определения картины метилирования [8].

Таким образом, исследование экспрессии генов позволило утверждать, что каждая клетка организма находится под «эпигенетическим контролем». Один из основных эпигенетических процессов подавления экспрессии генов — метилирование ДНК (присоединение группы CH_3 к цитозину). Вслед за цитозином расположена фосфатная группа и гуанин (CpG-динуклеотид). Участки с повышенным содержанием CpG-динуклеотидов обнаруживаются преимущественно в промоторных участках генов. Реакцию метилирования катализируют ДНК-метилтрансферазы (DNMT), представляющие собой группу ферментов (DNMT1, DNMT3a, DNMT3b и DNMT3L). DNMT3a, DNMT3b обозначают метилтрансферазами *de novo*, т. к. они, предположительно, инициируют метилирование на начальных этапах и участвуют в дифференцировке клеток.

Для осуществления транскрипции гена необходимо взаимодействие транскрипционных факторов и РНК-

полимеразы с промотором данного гена. Метилирование CpG-динуклеотидов препятствует воздействию транскрипционных факторов и дальнейшему считыванию информации с ДНК, в т. ч. с генов опухолевой супрессии, что наблюдается при ряде онкологических заболеваний, например острых миелоидных лейкозах (ОМЛ) и миелодиспластических синдромах (МДС).

В 2010 г. было обнаружено, что мутации генов *IDH1* и *IDH2* вызывают гиперметилирование ДНК и нарушают дифференцировку гемопоэтических клеток. *IDH*-мутации приводят к метилированию ДНК и гистонов. Клеточные культуры ОМЛ *de novo* с мутациями генов *IDH1/2* и *TET2* характеризуются одинаковым эпигенетическим профилем, выражающимся в гиперметилировании промоторных областей большого числа генов. По мнению С.В. Thompson, ОМЛ с мутациями *IDH1/2* и *TET2* могут рассматриваться в качестве отдельного биологического варианта лейкоза, связанного с эпигенетической регуляцией экспрессии генов [8].

Метилирование митохондриальной ДНК

Несомненный интерес вызывает изучение метилирования митохондриальной ДНК (мтДНК). Значение метилирования мтДНК к настоящему времени остается неизвестным [9].

Метилирование цитозина в мтДНК было обнаружено еще в 1970-е годы [10–13]. В митохондриях метилирование активно происходит не только в CpG-сайтах. Лишь в последние годы появились данные об изменениях в характере метилирования мтДНК, вызванных различными воздействиями. Гиперметилирование генов и РНК наблюдалось у рабочих, профессиональная деятельность которых связана с длительным загрязнением сталью из воздуха, бензином и др. [14].

Различные онкологические заболевания могут сопровождаться гиперметилированием мтДНК [15]. Возможно, этот процесс приводит к изменениям в экспрессии митохондриальных генов, что ведет к снижению активности дыхательной цепи митохондрий. Это, в свою очередь, может служить основанием изменения профиля экспрессии генов ядерной ДНК, что модифицирует онкогенез [10].

Кроме того, более 40 лет назад была установлена связь между старением и уменьшением выраженности метилирования ДНК у млекопитающих [16]. Логично предположить, что подобная схема (возрастные эпигенетические изменения в митохондриях и ядре → изменение экспрессии ядерных генов → формирование старческого фенотипа) может лежать в основе реализации общей «программы старения» и охватывать многие метаболические пути. Гипотетически метилирование мтДНК может приводить к метилированию ядерной ДНК и развитию онкологических заболеваний.

Метилирование РНК

Отдельного внимания заслуживает метилирование РНК. Известно, что молекулы РНК могут подвергаться интенсивному метилированию [17]. Более того, показано, что метилирование малых некодирующих РНК на 3'-конце стабилизирует эти молекулы [18]. Заслуживает определенного внимания, что DNMT2 была идентифицирована как метилтрансфераза тРНК [19]. В связи с этим вероятно, что РНК-метилтрансферазы, подобные DNMT,

могут существовать как «считыватели» эпигенетической информации, хотя непосредственных подтверждений этого предположения нет [17].

Недавнее исследование, результаты которого опубликованы в журнале «Nature» группой ученых из Университета Тель-Авива, Медицинского центра им. Шибы и Чикагского университета, показало, что РНК, считавшаяся слепком с участка молекулы ДНК для синтеза белка, нередко появляется с дополнительными модификациями нуклеотидов, которые считаются регуляторным ключом для контроля генетической экспрессии. Это открытие предполагает новый взгляд на различные функции РНК в клеточных процессах и вклад в развитие заболеваний [20].

Число модифицированных нуклеотидов РНК в 10 раз больше, чем число таковых, найденных в ДНК. Молекулы РНК выполняют множество функций, включая хранение генетической информации, а также обладают каталитической, структурной и регуляторной активностью. Это резко отличается от важной, но единой функции ДНК, заключающейся в кодировании генетической информации.

Согласно G. Rechavi, «около 140 различных модификаций РНК значительно повышают ее свойства и обуславливают существование различных ее типов: мРНК, рРНК, тРНК, микроРНК и длинные некодирующие РНК, обеспечивающие разноплановую активность» [19].

Группа профессора G. Rechavi еще 4 года назад начала исследования особой модификации РНК с метильной группой в 6-й позиции аденозина (m^6A). Исследовательская группа показала, что эта модификация является специфичной для уникальных регионов молекул РНК. Ученые также продемонстрировали, что описанная модификация динамична и отвечает на стимулы окружающей среды. Эти открытия дополнили данные группы профессора С. Не.

В новой работе исследователи открыли еще одну динамическую модификацию РНК — метилирование аденозина (рис. 1) в 1-й позиции (m^1A). Необходимо отметить, что ранее была показана локализация этой модификации в «сигнальной» позиции около участка начала трансляции белка и связь с повышенным синтезом белков. Регулировать экспрессию белков, необходимых для ключевых биологических процессов, позволяют клеткам тысячи генов с этой модификацией [20].

АЗАЦИТИДИН

Азацитидин (2'-дезоксидезокси-5-азацитидин; Baxter Oncology, GmbH/Celgene International, Sarl, Швейцария/Германия) — аналог пиримидинового нуклеозида цитидина. Он был синтезирован около 40 лет тому назад.

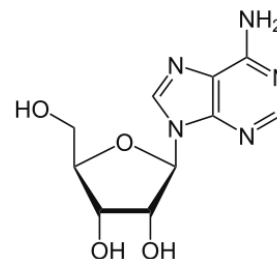


Рис. 1. Строение аденозина

Fig. 1. Adenosine structure

Противоопухолевые эффекты данного препарата связаны с двойным механизмом действия. Он встраивается не только в молекулу ДНК, приводя к ее гипометилированию [20], но и в молекулу РНК. Гипометилирование обуславливает экспрессию генов онкосупрессоров и восстановление дифференцировки клеток. Вероятно, азациитидин вызывает цитостатический эффект вне зависимости от фазы клеточного цикла, не только путем снижения уровня РНК в клетках, но и путем ингибирования последствий транскрипции метилированной ДНК.

В результате исследования на культурах опухолевых клеток была выявлена антиметаболическая активность азациитидина, а также высокая эффективность при ОМЛ.

В России азациитидин зарегистрирован для лечения взрослых больных, которым не может быть выполнена трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Препарат показан при:

- МДС с высокой или промежуточной-2 степенью риска в соответствии со шкалой IPSS (международная прогностическая система);
- ОМЛ;
- хроническом миеломоноцитарном лейкозе без признаков МДС.

ДЕЦИТАБИН

Был синтезирован и другой нуклеозидный аналог — децитабин, обладающий свойствами гипометилирования ДНК (производитель Pharmachemie, B.V., Нидерланды; Janssen Pharmaceutica, N.V., Бельгия; ООО «Джонсон & Джонсон», Россия). Структура азациитидина и децитабина представлена на рис. 2.

Метаанализ сравнения децитабина и азациитидина [21, 22] при МДС продемонстрировал статистически значимые высокие показатели общей выживаемости у азациитидина: отношение рисков (ОР) 0,63; 95%-й доверительный интервал (95% ДИ) 0,46–0,85 ($p = 0,003$). Однако не было отмечено различий по показателю времени трансформации МДС в ОМЛ или до смерти больных (ОР 0,85; 95% ДИ 0,59–1,23; $p = 0,406$), ответа на лечение (ОР 0,716; 95% ДИ 0,372–1,375; $p = 0,31$ в когорте больных, не ответивших на лечение) либо летальных исходов, связанных с лечением (ОР 1,026; 95% ДИ 0,01–102,118; $p = 0,991$).

К настоящему времени проводится сравнительное исследование децитабина и азациитидина у больных с промежуточным-1 риском, нуждающихся в трансфузиях эритроцитов. В него будет включено 40 пациентов с МДС

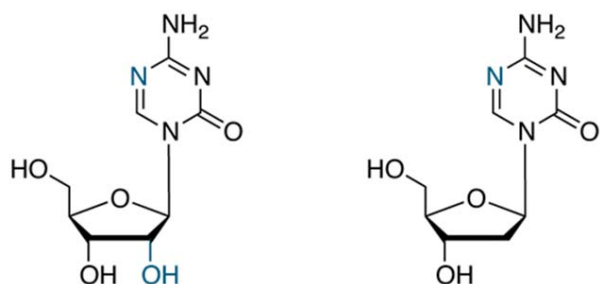


Рис. 2. Структура азациитидина и децитабина

Fig. 2. Azacitidine and decitabine structures

[23], получающие азациитидин 75 мг/м² с 1-го по 3-й день, азациитидин 75 мг/м² с 1-го по 5-й день, децитабин 20 мг/м² с 1-го по 3-й день и оптимальную поддерживающую терапию (группа контроля). Таким образом, сформированы четыре группы пациентов.

В России децитабин зарегистрирован для терапии МДС всех типов. Препарат показан взрослым пациентам, которые ранее не получали лечения, а также при впервые диагностированном первичном или вторичном (по классификации ВОЗ) ОМЛ у взрослых пациентов в возрасте 65 лет и старше.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Азациитидин: общая клиническая характеристика

Преимущество азациитидина перед малыми дозами цитарабина (LDaraC — Low Doses araC) у больных МДС высокого риска по показателям общей выживаемости (ОВ) и переносимости было продемонстрировано Р. Фенаух и соавт. (рис. 3) [23]. С этой целью в III фазу исследования AZA-001 было включено 94 пациента, которые были рандомизированы в группы азациитидина ($n = 45$) и LDaraC ($n = 49$).

У больных, получавших азациитидин, был статистически значимо более частый и продолжительный гематологический ответ, кроме того, отмечалось уменьшение частоты гемотрансфузий эритроцитов. В группе азациитидина отмечены лучшие показатели ОВ в сравнении с группой LDaraC при неблагоприятном цитогенетическом прогнозе: $-7/\text{del}(7q-)$, а также при рефрактерной анемии с избытком бластов (РАИБ) и РАИБ-Т (по ФАБ-классификации). При анализе результатов лечения через 1 год частота цитопении III–IV степени и продолжительность госпитализации в группе азациитидина оказались меньше, чем в группе LDaraC.

Следует отметить, что в классификации ВОЗ 2001 г. вариант МДС РАИБ-Т стал рассматриваться в рамках ОМЛ. Таким образом, на основании III фазы исследования AZA-001 азациитидин может быть рекомендован для лечения ОМЛ с 20–30 % бластных клеток в костном мозге.

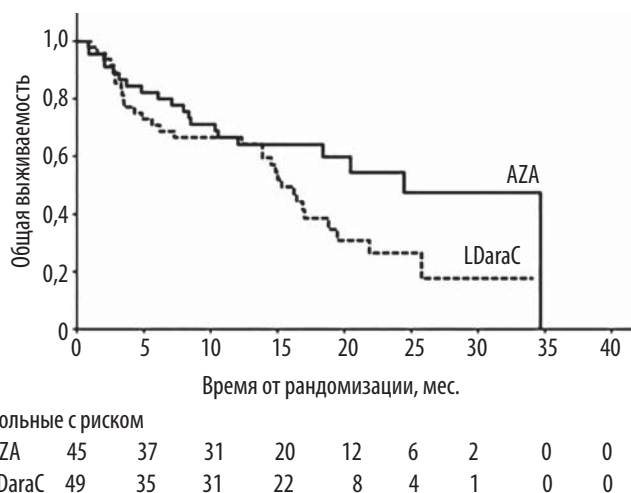
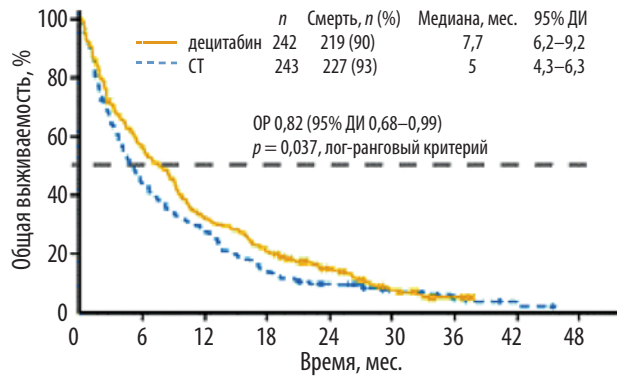


Рис. 3. Общая выживаемость пациентов, получавших азациитидин (AZA) и малые дозы цитарабина (LDaraC) (цит. по [23])

Fig. 3. The overall survival rates of patients treated with azacitidine (AZA) and low-dose cytarabine (LDaraC) [23]



Больные с риском								
Децитабин	242	137	78	50	28	11	2	0
СТ	243	107	68	35	20	10	4	2

Рис. 4. Общая выживаемость пациентов, получавших децитабин и стандартную терапию (цит. по [26])
95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ОР — отношение рисков; СТ — стандартная терапия.

Fig. 4. The overall survival rates of patients treated with decitabine and standard therapy [26]
95% ДИ — 95% confidence interval; ОР — hazard ratio; СТ — conventional care.

Децитабин: общая клиническая характеристика

Представляет интерес исследование Н.К. Al-Ali и соавт. [24] по применению гипометилирующих препаратов у пожилых пациентов с ОМЛ. Решение об использовании интенсивной или неинтенсивной противоопухолевой терапии у больных ОМЛ старше 60 лет требует взвешенного подхода, основанного на состоянии пациента, обусловленного самим заболеванием и сопутствующей патологией. У некоторых пожилых больных ОМЛ частота общего ответа при интенсивном лечении может составить 45–55 %. Однако при невозможности его проведения предпочтение отдается только наилучшей поддерживающей терапии (НПТ). В ряде случаев возможно назначение LDaraC. Однако медиана

выживаемости в подобных наблюдениях составляет лишь 4 мес. [25]. В этой когорте пожилых представляется оправданным назначение гипометилирующих препаратов (азациитидина или децитабина).

Так, в исследовании DACO-016 по изучению эффективности и безопасности децитабина (20 мг/м² в 1–5-й день каждые 4 нед.), а также LDaraC (20 мг/м² в 1–10-й день каждые 4 нед.) или НПТ было включено 485 пациентов [26]. Анализ результатов не продемонстрировал преимущества децитабина по показателю медианы ОВ в сравнении с общей группой (7,7 и 5 мес.); различия в медиане ОВ (рис. 4) в группе децитабина при сравнении с LDaraC оказались статистически значимыми (p = 0,037). Наиболее частые и выраженные нежелательные явления — тромбоцитопения и анемия.

Децитабин был зарегистрирован Европейским агентством по лекарственным средствам (ЕМА) в 2012 г. [27]. В то же время Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA), а также Комитет по контролю за онкологическими препаратами (ODAC) не рекомендовали лечение ОМЛ децитabiном у лиц 65 лет и старше, которые не относятся к кандидатам для проведения индукционной химиотерапии [28].

Прогностические системы при МДС

Следует отметить, что в перечисленных выше исследованиях указывалась терапия, заранее не адаптированная к группам риска больных. К современным прогностическим системам относится revised IPSS score (IPSS-R), опубликованная в 2012 г. [29, 30], адаптированная J. Schanz и соавт. (рис. 5).

Общая прогностическая шкала MDACC представлена в табл. 1 [31]. Важное значение общей шкалы MDACC заключается в том, что она позволяет оценить прогноз всех больных МДС в любой период времени течения заболевания без необходимости оценки по классификации ВОЗ.

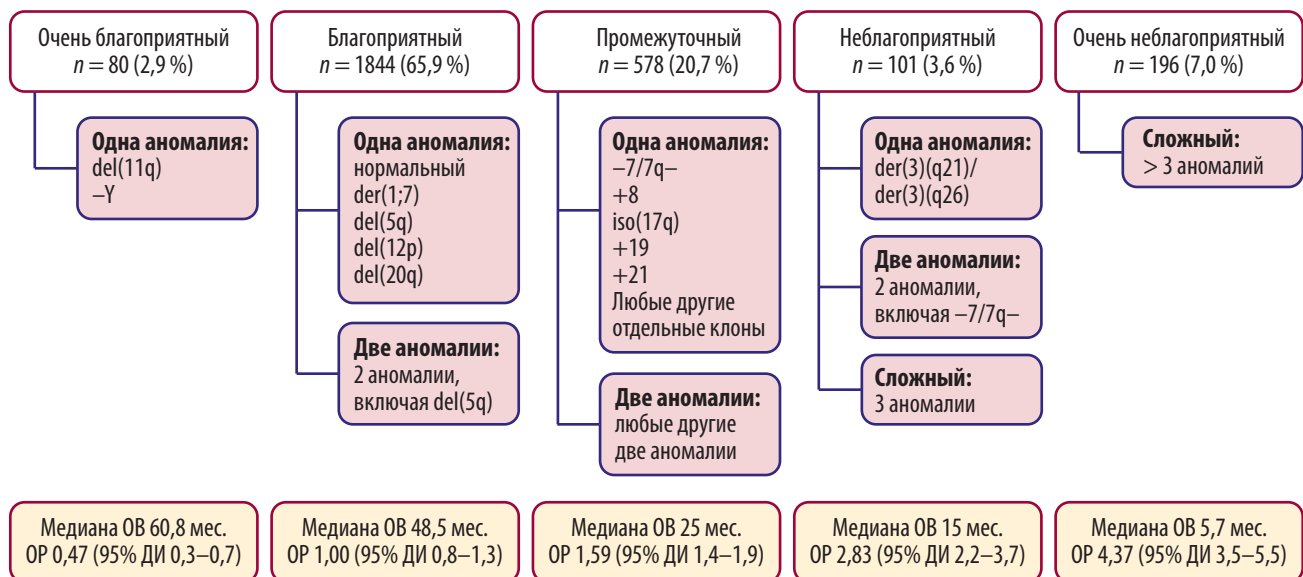


Рис. 5. Цитогенетическая классификация миелодиспластических синдромов (цит. по [30])
95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ОВ — общая выживаемость; ОР — отношение рисков.

Fig. 5. The cytogenetic classification of myelodysplastic syndromes [30]
95% ДИ — 95% confidence interval; ОВ — overall survival; ОР — hazard ratio.

Таблица 1. Прогностическое значение общей шкалы MDACC (цит. по [31])

Факторы прогноза	Баллы
Общее состояние ≥ 2 баллов по шкале ECOG	2
Возраст, лет	60–64 — 1 > 64 — 2
Число тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	< 30 — 3 30–49 — 2 50–199 — 1
Уровень гемоглобина < 120 г/л	2
Число бластных клеток в костном мозге, %	5–10 — 1 11–19 — 2
Число лейкоцитов в крови > $20 \times 10^9/\text{л}$	2
Аномалии хромосомы 7 или ≥ 3 аномалий	3
Предшествующие трансфузии эритроцитов	1

При суммировании баллов по общей шкалы MDACC прогноз у больных МДС следующий:

- 0–4 балла: медиана ОВ — 54 мес., 3-летняя ОВ — 63 %;
- 5–6 баллов: медиана ОВ — 23–30 мес., 3-летняя ОВ — 30–40 %;
- 7–8 баллов: медиана ОВ — 13 мес., 3-летняя ОВ — 13–19 %;
- ≥ 9 баллов: медиана ОВ — 5–10 мес., 3-летняя ОВ — 2 %.

Лечение больных с впервые диагностированным МДС низкого риска

Терапия этой когорты пациентов основана на наличии показаний к проведению гемотрансфузий. Новая стратегия при МДС низкого риска заключается в раннем начале лечения. В настоящее время проводится исследование сверхмалых доз гипометилирующих средств, направленное на подтверждение этого положения [32].

Следует признать, что и на сегодня гематологи используют прогностическую систему IPSS, которая не утратила своей значимости. Ниже изложены рекомендации для различных групп больных (рис. 6) [33].

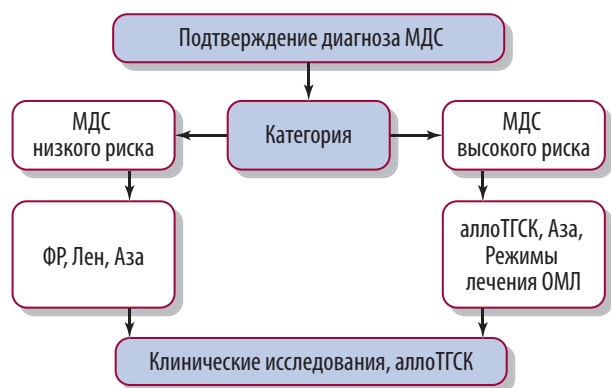


Рис. 6. Алгоритм лечения больных с миелодиспластическими синдромами (цит. по [33])
 Аза — азануклеозиды; аллоТГСК — аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; Лен — леналидомид; МДС — миелодиспластический синдром; ОМЛ — острый миелоидный лейкоз; ФР — факторы роста.

Fig. 6. The algorithm of treatment of patients with myelodysplastic syndromes [33]
 Аза — azanucleosides; аллоТГСК — allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; Лен — lenalidomide; МДС — myelodysplastic syndrome; ОМЛ — acute myeloid leukemia; ФР — growth factors.

После подтверждения диагноза больных разделяют на две категории: низкого и высокого риска. При низком риске назначают факторы роста, леналидомид и азануклеозиды, т. е. гипометилирующие препараты. В целом лечение имеет последовательный характер: при отсутствии ответа на ростовые факторы возможно использование леналидомида или азануклеозидов. В случае отсутствия эффекта от всех трех режимов лечения больных следует расценивать как кандидатов на аллоТГСК или участников клинических исследований. При МДС высокого риска применяются аллоТГСК, программы лечения ОМЛ или азануклеозиды. Прогноз при отсутствии ответа на эту противоопухолевую терапию неблагоприятный, особенно после лечения азануклеозидами. В связи с этим настоятельно рекомендуется решение вопроса о выполнении аллоТГСК.

К настоящему времени в России одобрено к клиническому применению два азануклеозиды: азациитидин (для п/к введения) и децитабин (для в/в введения). При МДС проводились клинические исследования с различными режимами введения азациитидина. Так, осуществлялось сравнение 5- и 7-дневной схем использования препарата: 5 дней введения, 2 дня перерыва в выходные дни, затем еще 2 дня введения (режим 5–2–2), а также режим 5–2–5 (т. е. 10-дневный). Частота гематологического улучшения составила 44–56 %. Независимость от трансфузий достигнута в 50–64 % наблюдений. Отмечалась тенденция к меньшей токсичности и более высокой эффективности при 5-дневной схеме [34]. В настоящее время закончена I фаза исследования производного азациитидина для приема внутрь [35].

Имеются ограниченные данные о применении децитабина у больных МДС низкого и промежуточного риска. В рандомизированном исследовании II фазы в первой группе препарат вводился подкожно в течение 3 дней, во второй — в течение 7 дней ежемесячно. Различий по показателям эффективности и токсичности не было. У 60 % пациентов была достигнута трансфузионная независимость [36].

Возможности лечения рецидивов и рефрактерных форм МДС низкого риска

Лечение МДС низкого риска осуществляется последовательно. Как правило, терапия начинается с применения факторов роста, затем используются леналидомид или азануклеозиды. При неудаче лечения больные рассматриваются в качестве кандидатов для клинических исследований или аллоТГСК. Препаратов, зарегистрированных при неэффективном применении азануклеозидов, не существует. Ряд лекарственных средств изучается в клинических исследованиях: азациитидин и децитабин для приема внутрь, модуляторы сигнального пути трансформирующего фактора роста- β (ACE-536 и ACE-011), аналоги рецептора тромбопоэтина, ингибиторы протеасомы, антагонисты Toll-подобного сигнального пути [37].

Лечение больных с впервые диагностированным МДС высокого риска

Возможности противоопухолевого лечения МДС высокого риска значительно изменились за последние 10 лет. Рандомизированное исследование AZA-001 [38] было представлено несколькими сравниваемыми группами: азациитидин и стандартная терапия (НПТ, LDaraC, цитарабин-антрациклиновые программы). В исследование было включено 358 больных. Медиана возраста составила 69 лет. Медиана выживаемости оказалась

значительно лучше в группе азацитидина в сравнении с другими лечебными подходами: 24,5 и 15 мес. соответственно ($p = 0,0001$) (рис. 7).

Трансформация в ОМЛ была значительно ниже. Статистически значимо меньше была потребность в трансфузиях эритроцитов и частота инфекций. Преимущество в выживаемости не зависело от возраста (включая пациентов старше 75 лет), числа бластных клеток в костном мозге (включая больных с 20–30 %) и кариотипа.

В первом рандомизированном исследовании сравнивали децитабин (15 мг/м² в/в капельно в течение 3 ч с 1-го по 3-й день каждые 6 нед.) и НПТ. Преимущество децитабина по показателям ОВ не было. Однако частота полных ремиссий (ПР) составила 9 %, а общего ответа — 17 %. W. Blum и соавт. продемонстрировали высокую эффективность 10-дневного режима использования препарата при ОМЛ у пожилых больных [39]. Частота ПР составила 47 % после 3 циклов терапии; медиана ОВ и безрецидивной выживаемости (БРВ) — 55 и 46 нед. соответственно (рис. 8).

Биологические факторы ответа на лечение азануклеозидами

В эру активных исследований биомаркеров в качестве факторов эффективности терапии азануклеозидами изучение их свойств сконцентрировано на механизмах метилирования ДНК. Недавно был осуществлен анализ метилирования, обнаруживший 167 различных метилированных регионов. Определенный интерес представляют регионы, располагающиеся вне промоторных областей генов, а также два вероятных биомаркера. Уровень miR29b и мутации TET2 связаны в эксперименте с эффективностью децитабина и азацитидина соответственно. Экспрессию уровня DNMT1 регулирует miR29b. TET2 представляет собой белок, вовлеченный в преобразование 5mC в 5OHmC и может опосредованно участвовать в метилировании ДНК. Участие ни одного из этих двух биомаркеров не подтверждено в клинических исследованиях [32].

Группа ученых из Франции сообщила, что предшествующее лечение LDaraC, число бластных клеток в

костном мозге более 15 % и аномальный кариотип относятся к факторам, определяющим низкую частоту ответа на лечение азацитидином [40]. Неудовлетворительное общее состояние, промежуточный или неблагоприятный кариотип, наличие бластных клеток в крови и трансфузии более 4 доз эритроцитов за 8 нед. связаны с худшей выживаемостью. В ближайшем будущем комбинация генетических и клинических факторов прогноза сможет улучшить результаты противоопухолевого лечения.

Возможности лечения рецидивов и рефрактерных форм МДС высокого риска, включая неудачи терапии гипометилирующими препаратами

Поскольку гипометилирующие препараты относятся к стандартной терапии первой линии у больных МДС высокого риска, был проведен ряд исследований их комбинаций с другими лекарственными средствами. К ним относились ингибиторы гистондеацетилазы и леналидомид. Ни одна из них не продемонстрировала преимущество перед монотерапией гипометилирующими средствами. К настоящему времени разрабатывается препарат SGI-110, относящийся ко второму поколению гипометилирующих агентов. Он представляет собой динуклеотидную форму децитабина.

Следует отметить, что зарегистрированных препаратов для пациентов с МДС высокого риска с неудачей терапии гипометилирующими препаратами и рецидивами после цитарабин-антрациклиновых программ или алло-ТГСК не существует. Медиана выживаемости в этой когорте пациентов составляет 4–6 мес. [41].

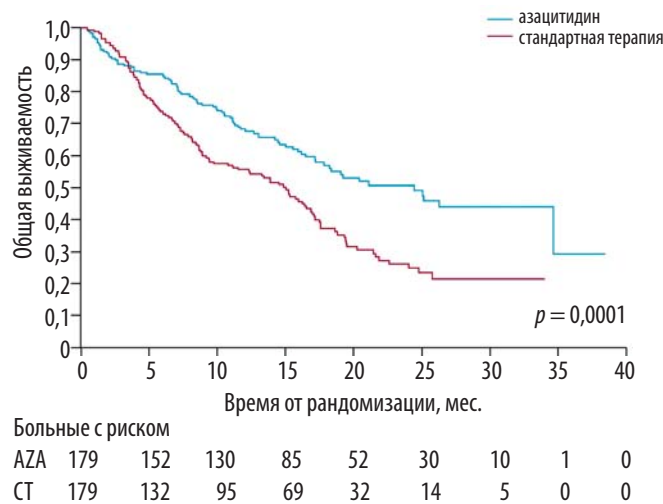


Рис. 7. Общая выживаемость пациентов, получавших азацитидин и стандартную терапию (цит. по [38])
AZA — азацитидин; CT — стандартная терапия.

Fig. 7. The overall survival rates of patients treated with azacitidine and standard therapy [38]
AZA — azacitidine; CT — conventional care

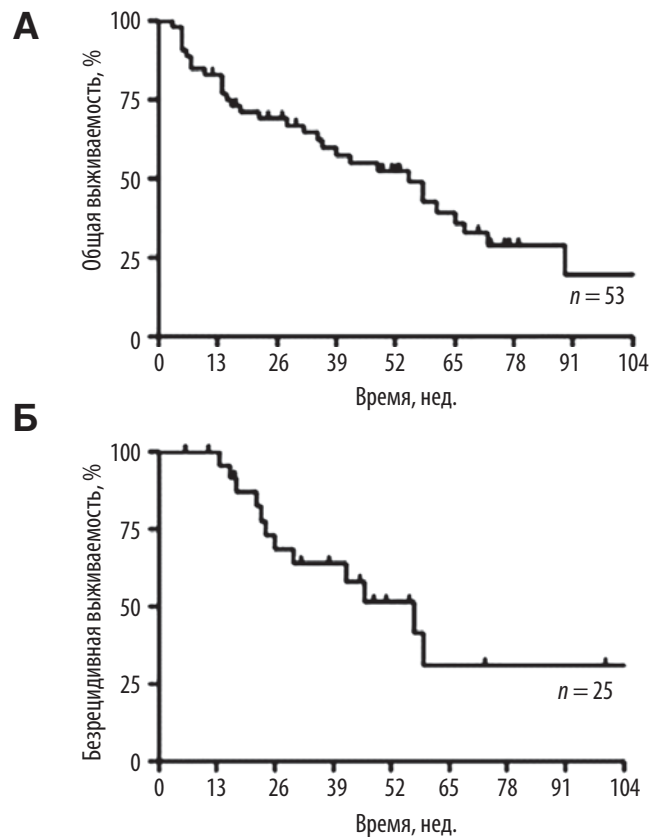


Рис. 8. Общая (А) и безрецидивная (Б) выживаемости при лечении децитабином пожилых больных острыми миелоидными лейкозами (цит. по [39])

Fig. 8. The overall (A) and relapse-free (B) survival rates of elderly AML patients treated with decitabine [39]

Механизмы резистентности к гипометилирующим препаратам остаются неизвестными. Препарат ригосертиб не продемонстрировал улучшения ОВ в сравнении с НПТ. Сверхмалые дозы клофарабина могут быть терапевтической опцией при неудаче применения гипометилирующих препаратов у больных с диплоидным кариотипом. Определенные надежды возлагаются на разработку таргетных препаратов, действующих на Flt-3, RAS, IDH1 и IDH2 [42].

Азануклеозиды при ОМЛ

Следует принимать во внимание группу риска, к которой относится больной (особенно цитогенетическую), когда планируется лечение гипометилирующими препаратами.

Несомненный интерес вызывает многоцентровое рандомизированное исследование III фазы по оценке эффективности и безопасности азацитидина в сравнении со стандартной терапией у 488 пациентов в возрасте 65 лет

и старше с впервые диагностированным ОМЛ с числом бластных клеток в костном мозге более 30 %. В группу стандартной терапии (стандартная индукционная терапия, LDaraС и НПТ) включено 247 пациентов, в группу азацитидина — 241.

Медиана ОВ была выше в группе азацитидина в сравнении со стандартной терапией — 10,4 (95% ДИ 8,0–12,7 мес.) и 6,5 мес. (95% ДИ 5,0–8,6 мес.) соответственно ($p = 0,1009$). Показатели 1-летней ОВ в группах азацитидина и стандартной химиотерапии составили 46,5 и 34,2 % соответственно (рис. 9, А).

При исключении из статистического анализа цензурированных пациентов медиана ОВ составила 12,1 мес. в группе азацитидина и 6,9 мес. в группе стандартной терапии (рис. 9, Б). При использовании этого анализа ожидаемая 1-летняя ОВ была лучше в группе азацитидина ($p = 0,0190$). Азацитидин может рассматриваться в качестве важного лечебного подхода в этой когорте больных [43].

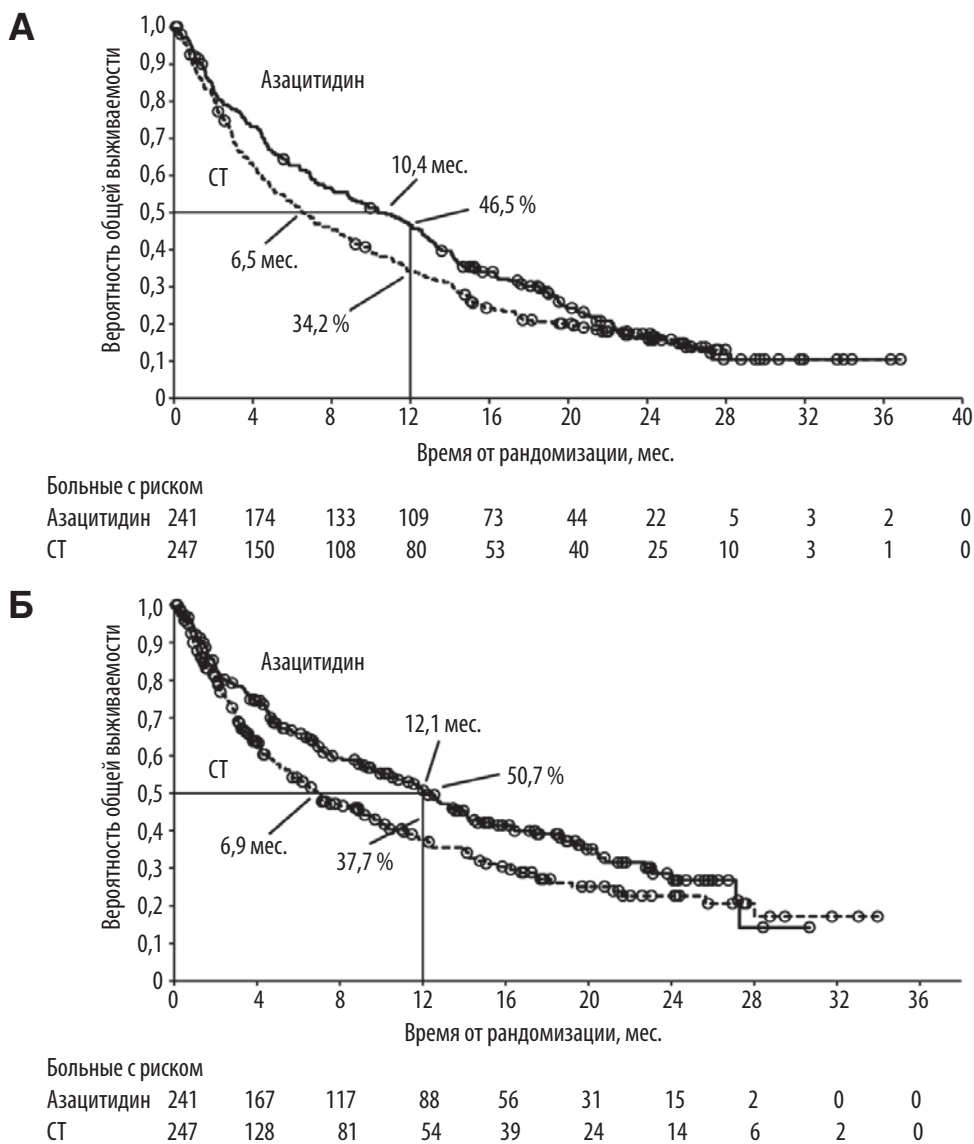


Рис. 9. Общая выживаемость в группах на 1 год наблюдения (цит. по [43]):

А — получавших азацитидин и стандартную терапию (СТ; общая когорта пациентов); Б — получавших азацитидин и СТ (без цензурированных больных ОМЛ)

Fig. 9. The 1-year overall survival rates in groups [43]:

А — patients treated with azacitidine and standard therapy (CT; general patient cohort); Б — patients treated with azacitidine and standard therapy (without censored AML patients)

В другое крупное исследование эффективности и безопасности азациитидина при ОМЛ было включено 302 пациента (Австрийский регистр) [44]. Данная когорта была представлена 172 больными с числом бластных клеток в костном мозге более 30 %, остальные пациенты с числом бластных клеток в костном мозге 20–30 % были исключены из исследования AZA-001. Несмотря на неблагоприятные характеристики больных, результаты оказались обнадеживающими: частота общего ответа во всей когорте составила 48 %, а при оценке согласно критериям MDS-IWG-2006 — 72 %. Медиана ОВ была 9,6 мес. (95% ДИ 8,53–10,7 мес.). Относительно удовлетворительные показатели медианы ОВ отмечались во всех группах: при стабилизации — 8,1 мес., при гематологическом улучшении — 9,7 мес., в то время

как при отсутствии ответа — 3,2 мес. Возраст и число бластных клеток в костном мозге к началу лечения не влияли на ОВ (рис. 10 и 11). Результаты многофакторного анализа продемонстрировали, что уровень лактатдегидрогеназы более 225 ЕД/л, статус по шкале ECOG ≥ 2 баллов, индекс коморбидности ≥ 3 , моносомный кариотип (рис. 12) перед началом и в процессе лечения были независимыми прогностическими факторами, влияющими на ОВ. Таким образом, азациитидин эффективен у больных ОМЛ, в т. ч. с уровнем бластных клеток в костном мозге более 30 %, т. е. в настоящее время это использование не по прямому показанию (off-label).

Любое гематологическое улучшение статистически значимо улучшало ОВ (медиана 16,1 vs 4,5 мес.) (рис. 13).

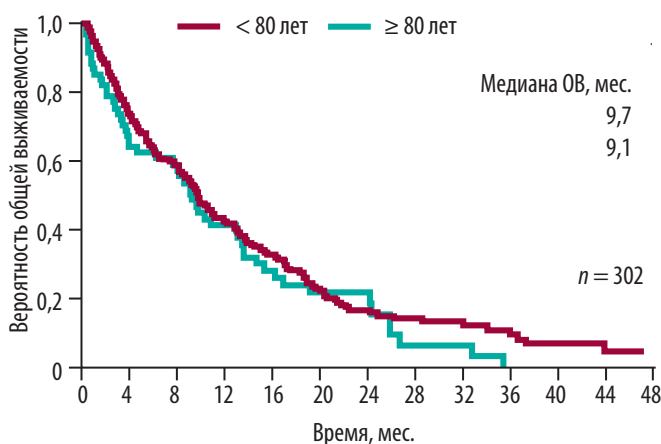


Рис. 10. Австрийский регистр: общая выживаемость (ОВ) больных, получавших лечение азациитидином в различных возрастных группах. Возраст (< 80 лет, $n = 239$) и (≥ 80 лет, $n = 63$) не оказывал влияния на ОВ (цит. по [44])

Fig. 10. Austrian Register: the overall survival (OS) of patients treated with azacitidine in different age groups. The age (< 80 years, $n = 239$ and ≥ 80 years, $n = 63$) did not affect the OS [44]

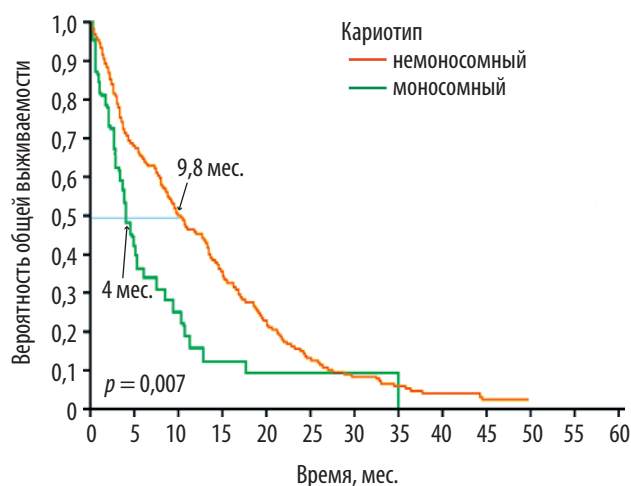


Рис. 12. Австрийский регистр: общая выживаемость больных, получавших лечение азациитидином, в группах с моносомным ($n = 32$) и немонасомным ($n = 236$) кариотипами. Стрелками указаны медианы (цит. по [44])

Fig. 12. Austrian Register: the overall survival of patients treated with azacitidine in groups with monosomal ($n = 32$) and non-monosomal ($n = 236$) karyotypes. Medians are indicated by arrows [44]

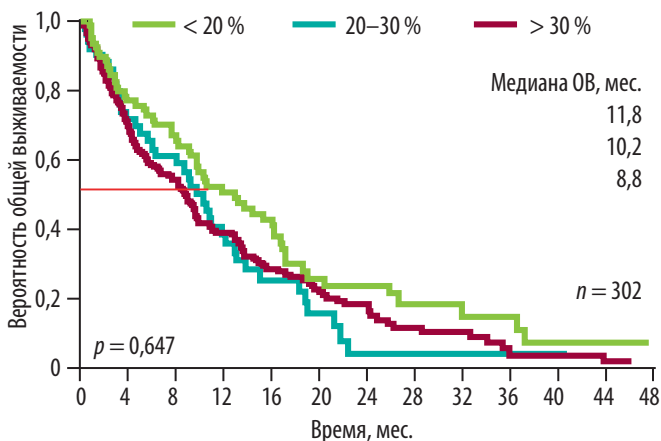


Рис. 11. Австрийский регистр: общая выживаемость (ОВ) больных, получавших лечение азациитидином, с различным числом бластных клеток в костном мозге. Показатели ОВ при лечении азациитидином не зависели от числа бластных клеток в костном мозге. Число больных с уровнем бластных клеток < 20 ($n = 50$), 20–30 ($n = 80$), > 30 % ($n = 172$) (цит. по [44])

Fig. 11. Austrian Register: the overall survival (OS) of patients treated with azacitidine, with different blast cell counts in the bone marrow. The OS on the background of azacitidine treatment did not depend on the blast cell count. The number of patients with the blast cell count: < 20 ($n = 50$), 20–30 ($n = 80$), > 30 % ($n = 172$) [44]

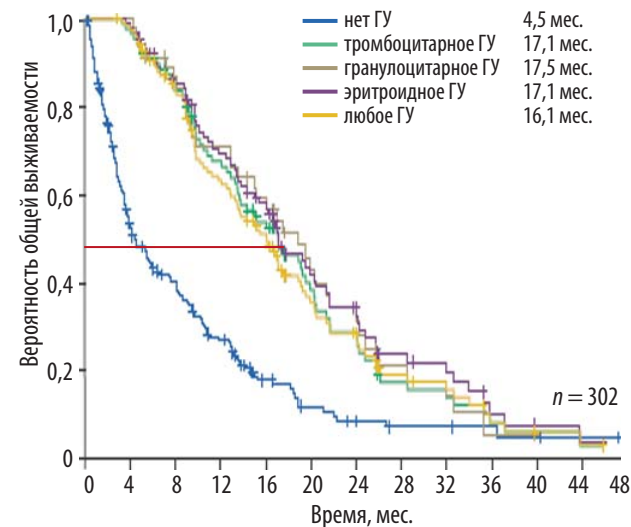


Рис. 13. Австрийский регистр: общая выживаемость больных при различных вариантах гематологического улучшения (тромбоцитарное, гранулоцитарное, эритроидное). Число больных без гематологического улучшения (ГУ) — 120 (цит. по [44])

Fig. 13. Austrian Register: the overall survival of patients with different types of hematological improvement (platelet, granulocyte, and erythroid). The number of patients without any hematological improvement (ГУ) is 120 [44]

В ретроспективное одноцентровое исследование [45] было включено 65 пациентов с ОМЛ, ранее получавших поддерживающее лечение, с числом бластных клеток в костном мозге 30 % и более. Азациитидин (AZA) и малые дозы цитарабина (LDaraC) назначались 27 и 38 пациентам соответственно. Медиана возраста составила 71 год. AZA и LDaraC представляли собой первую линию терапии в 12 (44 %) и 17 (45 %) наблюдениях соответственно. Общий ответ на лечение был низким и одинаковым. Наиболее частые негематологические нежелательные явления — фебрильная нейтропения, пневмония и кровотечения. Ожидаемая 1-летняя ОВ составила 15 (95% ДИ 8–22 %) и 13 % (95% ДИ 7–19 %) соответственно в группах AZA и LDaraC без статистически значимых различий. При многофакторном анализе ($n = 65$) независимыми факторами неблагоприятного прогноза низкой ОВ были предшествующее лечение (ОР 2,27; 95% ДИ 1,00–5,22; $p = 0,05$) и неблагоприятные цитогенетические аномалии (ОР 2,50; 95% ДИ 1,20–5,22; $p = 0,02$).

В то время как показания к применению гипометилирующих препаратов при МДС достаточно точно сформулированы, остаются открытыми вопросы об их использовании не по прямым показаниям (off-label).

К ним относится лечение азациитидином:

- больных МДС низкого риска;
- больных со вторичным МДС;
- на постиндукционном этапе при ОМЛ;
- перед этапом трансплантации костного мозга при МДС;
- после этапа трансплантации костного мозга при МДС и ОМЛ.

АЗАЦИТИДИН ПРИ аллоТГСК У БОЛЬНЫХ МДС И ОМЛ

Особый интерес представляет применение азациитидина не по прямым показаниям при выполнении аллоТГСК у пациентов с МДС и ОМЛ.

Применение азациитидина на предтрансплантационном этапе

Эффективность аллоТГСК при МДС и ОМЛ зависит от ряда факторов, ведущим из которых является статус заболевания ко времени использования этого метода лечения. Выполнение аллоТГСК вне ремиссии заболевания сопряжено с высоким риском рецидива. На предтрансплантационном этапе общепринятая стратегия лечения больных ОМЛ и МДС заключается в максимальном уменьшении опухолевой массы (бластной метаплазии костного мозга) и попытке достижения ремиссии заболевания с помощью индукционной химиотерапии, что коррелирует с низким риском рецидива. Вместе с тем проведение химиотерапии зачастую связано с высокой токсичностью, особенно в группе пациентов пожилого возраста, что может привести к отсрочке выполнения ТГСК или, в ряде случаев, делает ее осуществление невозможным. Кроме того, большинство больных ОМЛ и МДС, являющихся потенциальными кандидатами на аллоТГСК, старше 60 лет, имеют много сопутствующих заболеваний, неблагоприятный цитогенетический и молекулярный профили заболевания. Возможности использования стандартных по интенсивности режимов химиотерапии на предтрансплантационном этапе в этой группе пациентов ограничены.

В этой связи альтернативным видом индукционной терапии перед ТГСК служат гипометилирующие пре-

параты. Основным преимуществом гипометилирующей терапии является более безопасный спектр токсичности и, соответственно, более хорошая переносимость по сравнению со стандартной химиотерапией, а также достаточно высокая эффективность при вариантах с неблагоприятным/сложным кариотипом. Основная цель такой терапии заключается в контроле над заболеванием во время поиска донора.

Применение азациитидина до аллоТГСК изучалось в ряде ретроспективных и проспективных клинических исследований у пациентов с МДС и ОМЛ. В задачи этих исследований входило изучение влияния азациитидина перед аллоТГСК на посттрансплантационные результаты. Так, в исследовании T. Field и соавт. [46] у 54 пациентов с МДС или хроническим миеломоноцитарным лейкозом (ХММЛ) проведен анализ посттрансплантационных результатов при использовании азациитидина до трансплантации. Перед выполнением аллоТГСК гипометилирующая терапия была проведена 30 из 54 включенных в исследование больных (диапазон числа курсов азациитидина составил 1–7, медиана — 4). За период поиска совместимого донора трансформация ХММЛ в ОМЛ была зарегистрирована у 33 % пациентов, не получавших азациитидин, что потребовало проведения индукционной химиотерапии у 42 % больных, и у 20 % пациентов на фоне гипометилирующей терапии (проведение только химиотерапии потребовалось лишь у 13 %). Показатели 1-летней ОВ, БРВ и риск развития рецидивов при использовании гипометилирующей терапии составили 47, 41 и 20 %, без таковой — 60, 51 и 32 % соответственно ($p > 0,5$). Таким образом, результаты после проведения аллоТГСК оказались сопоставимыми в обеих группах. Тем не менее на предтрансплантационном этапе при использовании терапии азациитидином у меньшего числа пациентов наблюдалась трансформация ХММЛ в ОМЛ и индукционная химиотерапия потребовалась меньшему количеству больных. Азациитидин, по всей вероятности, обеспечивал контроль над заболеванием в период ожидания трансплантации.

Сходные результаты были получены в другом ретроспективном исследовании A.T. Gerds и соавт., инициированном в группе больных МДС и ОМЛ [47]. На предтрансплантационном этапе 35 больным проводилась терапия азациитидином в дозе 75 мг/м² в 1–7-й день каждые 28 дней. Медиана количества циклов составила 3 (диапазон 1–11 циклов). Другие 33 пациента перед трансплантацией получали стандартную химиотерапию, разработанную для ОМЛ (схема «7+3», топотекан в комбинации с цитарабином и др.). Результаты после аллоТГСК были сопоставимыми независимо от того, получали пациенты перед трансплантацией азациитидин или стандартную химиотерапию. В группах сравнения не было выявлено различий в показателях 1-летней ОВ (ОР 0,87; 95% ДИ 0,44–1,69) и БРВ (ОР 0,72; 95% ДИ 0,38–1,38), а также летальности, не связанной с рецидивами. Частота развития рецидивов после аллоТГСК в течение 1 года наблюдения при терапии азациитидином была значимо ниже по сравнению со стандартной химиотерапией ОМЛ ($p = 0,04$). Отмечена тенденция к значимо меньшему риску развития реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) III–IV степени при терапии азациитидином по сравнению с химиотерапией. Аналогичные результаты были получены в исследовании Французской

группы по изучению МДС (Groupe-Francophone des Myelodysplasies) у 163 больных, которым на предтрансплантационном этапе проводилось лечение азациитидином, стандартная химиотерапия или их комбинация. Показатели 3-летней ОВ в группах сравнения значительно не различались и составили 40, 37 и 36 % соответственно [48].

Таким образом, гипометилирующие препараты могут рассматриваться в качестве обнадеживающего лечебного подхода для больных ОМЛ и МДС из группы высокого риска на предтрансплантационном этапе в силу более безопасного спектра токсичности, эффективности при неблагоприятном цитогенетическом и молекулярном прогнозе заболевания, а также с учетом данных ряда исследований, свидетельствующих об их потенциально сопоставимой эффективности со стандартной химиотерапией.

Применение азациитидина после аллоТГСК

Рецидивы на посттрансплантационном этапе выступают в качестве основной причины неудач аллоТГСК. Частота рецидивов у больных МДС и ОМЛ с неблагоприятным кариотипом может достигать 40 %. Рецидивы в течение первых 100 дней после трансплантации характеризуются крайне неблагоприятным прогнозом. Гипометилирующая терапия представляется обнадеживающим лечебным подходом для этой крайне неблагоприятной категории больных. Помимо этого перспективным направлением изучения азануклеозидов является их применение в качестве поддерживающей терапии после аллоТГСК с целью снизить риск развития острой и хронической РТПХ, а также в лечении минимальной остаточной болезни.

В исследовании I фазы по поиску оптимального дозового режима, оценке эффективности и безопасности азациитидина использовался в лечении больных ОМЛ ($n = 37$) и МДС промежуточного-2 и высокого риска ($n = 8$) после аллоТГСК. Исследуемый дозовый диапазон препарата составил 8–40 мг/м² в течение 5 дней на протяжении 4 курсов. Терапия начиналась в ранний срок после выполнения аллоТГСК с целью предупредить ранние рецидивы (в среднем на +40-й день). В исследовании была продемонстрирована эффективность азациитидина в лечении ОМЛ и МДС в посттрансплантационный период с приемлемым профилем токсичности на фоне интенсивной предшествующей терапии. Оптимальный дозовый режим, по мнению исследователей, составил 32 мг/м² с введением препарата в течение 5 дней. Было высказано предположение о целесообразности проведения большего числа курсов терапии. Хроническая РТПХ отмечена у 37 % пациентов, при этом число курсов азациитидина было обратно пропорционально риску развития РТПХ. При медиане наблюдения 20,5 мес. медиана ОВ составила 30,8 мес., медиана БРВ — 18,2 мес. [49].

В другом исследовании E. Jabbou и соавт. также изучали эффективность и безопасность азациитидина (дозовый диапазон 16–40 мг/м² в течение 5 дней) при его использовании в рамках поддерживающей терапии и в лечении рецидивов ОМЛ после аллоТГСК. Результаты оказались обнадеживающими. Терапия рецидивов ($n = 9$) в среднем начиналась через 8 мес. (диапазон 2–26 мес.) после аллоТГСК и позволила получить ПР у 33 % больных, частичные ремиссии (ЧР) — у 22 %. Поддерживающая терапия азациитидином ($n = 8$) в среднем

начиналась через 2 мес. после аллоТГСК и позволила у всех пациентов значительно увеличить длительность ПР. В целом при медиане наблюдения после аллоТГСК 16 мес. показатели 2-летней БРВ составили 30 % [50].

Обнадеживающие результаты в лечении посттрансплантационных рецидивов были получены в ряде исследований при использовании гипометилирующих препаратов в комбинации с инфузиями донорских лимфоцитов (ИДЛ). Так, в проспективном исследовании II фазы AZARELA (NCT00795548) у 30 пациентов с рецидивами ОМЛ ($n = 28$) и МДС ($n = 2$), развившимися после аллоТГСК, проводилась терапия азациитидином (100 мг/м²/сут в 1–5-й день каждые 28 дней) с последующими ИДЛ (от $1–5 \times 10^6$ до $1–5 \times 10^8$ CD3+ кл./кг) после каждого второго цикла азациитидина. Общий ответ был достигнут у 30 % больных, ПР — у 23 %, ЧР — у 7 %. В ПР 5 пациентов оставались в среднем 777 дней (диапазон 461–888 дней) [51].

В другом пилотном исследовании комбинация азациитидина с ИДЛ в лечении рецидивов после аллоТГСК у больных ОМЛ ($n = 28$) и ХММЛ ($n = 2$) обеспечила многообещающую эффективность с незначительной частотой развития РТПХ на фоне интенсивной предшествующей терапии при преимущественно неблагоприятном цитогенетическом прогнозе [52]. Так, у 42 % из включенных в исследование пациентов были диагностированы цитогенетические аномалии неблагоприятного прогноза, у 54 % больных ранее уже были предварительные неудачи ИДЛ. Азациитидин использовался в дозе 100 мг в 1–3-й день с ИДЛ на 10-й день 21-дневного цикла. На фоне терапии у 16 % больных была достигнута стойкая полная клинико-гематологическая ремиссия, у 50 % — временный контроль над заболеванием (стабильный смешанный химеризм), у 31 % больных удалось выполнить вторую аллоТГСК. Неэффективность лечения отмечена у 35 % пациентов. Первичная острая РТПХ после терапии азациитидином в комбинации с ИДЛ наблюдалась лишь у 2 пациентов. Полученные в ходе исследования результаты также свидетельствуют о вероятности усиления иммуногенности лейкозных клеток при использовании азациитидина наряду с обеспечением более мощной ИДЛ-опосредованной реакции цитотоксических Т-лимфоцитов на опухолевые клетки.

Биологический механизм действия азануклеозидов после аллоТГСК

Важной особенностью терапии гипометилирующими препаратами на посттрансплантационном этапе является ее способность снижать риск развития РТПХ и усиливать реакцию «трансплантат против лейкоза» (РТПЛ). Так, азациитидин может увеличивать уровень Т-регуляторных клеток CD4+ (Т-супрессоры; клетки CD25+FOXP3+), которые играют ключевую роль в развитии иммунологической толерантности в посттрансплантационный период, снижая степень острой и хронической РТПХ. Посредством гипометилирования азациитидин повышает экспрессию гена *FOXP3*, ответственного за развитие Т-регуляторных клеток и их супрессорную функцию, что приводит к значимому увеличению пула циркулирующих регуляторных Т-клеток и, как следствие, снижению риска развития и выраженности РТПХ [53, 54].

Кроме того, отмечено стимулирующее действие азациитидина на пул цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+, играющих ведущую роль в РТПЛ. Азациитидин по-

средством гипометилирования увеличивает экспрессию целого ряда антигенов, экспрессирующихся лейкозными клетками (белка WT-1, раково-тестикулярного антигена, меланома-ассоциированного антигена), тем самым обеспечивая опухолеспецифический ответ цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+ [54, 55].

В исследовании I–II фазы (ISRCTN36825171) в группе больных ОМЛ высокого и промежуточного цитогенетического риска после выполнения аллотГГСК с режимом кондиционирования пониженной интенсивности проводилась поддерживающая терапия азацитидином. Препарат назначался на 42-й день после аллотГГСК при удовлетворительных показателях гемограммы в режиме 36 мг/м² в течение 5 дней. Курс повторялся каждые 28 дней, общая продолжительность лечения составила 1 год. На фоне терапии азацитидином в среднем к 3-му циклу было зарегистрировано значительное увеличение уровня Т-регуляторных клеток CD4+. Было также отмечено, что стимулирующее действие препарата на данные клетки нарастало с 3-го по 6-й цикл, а в дальнейшем фактически отсутствовало. На основании этого исследования возникает вопрос о возможной целесообразности проведения поддерживающей терапии азацитидином в течение 6 мес. Кроме того, выявлено стимулирующее действие азацитидина на пул Т-клеток CD8+, играющих ведущую роль в РТПЛ. При использовании азацитидина отмечалась значимо меньшая частота развития острой и хронической РТПХ. Результаты исследования свидетельствуют о безопасном профиле токсичности при терапии азацитидином в посттрансплантационный период, а также способности препарата потенцировать РТПЛ без увеличения риска развития тяжелых форм РТПХ [54].

Азацитидин в лечении минимальной остаточной болезни и профилактике рецидивов ОМЛ и МДС после аллотГГСК

Перспективным направлением изучения гипометилирующих препаратов является их использование в лечении минимальной остаточной болезни на посттрансплантационном этапе, что может улучшить прогноз заболевания пациентов с ОМЛ и МДС высокого риска, обеспечить более дифференцированный подход к терапии и избежать чрезмерной токсичности проводимого лечения [56].

Результаты ряда исследований демонстрируют эффективность азацитидина в лечении минимальной остаточной болезни и профилактике рецидивов у больных ОМЛ и МДС после аллотГГСК. Так, в проспективном исследовании II фазы RELAZA оценка риска развития рецидива проводилась на основании определения степени донорского химеризма (ДХ) в пуле клеток CD34+. Появление смешанного химеризма в клетках CD34+ расценивалось в качестве фактора высокого риска рецидива. В исследовании U. Platzbecker и соавт. включено 20 больных с CD34+ ОМЛ или МДС после аллотГГСК в полной клинико-гематологической ремиссии со смешанным химеризмом в клетках CD34+ (ДХ < 80 %). Среднее значение ДХ составило 25 % (диапазон 0–79 %). Терапия азацитидином в среднем начиналась через 160 дней после аллотГГСК. После 4 курсов терапии азацитидином в дозе 75 мг/м² в 1–7-й день 28-дневного цикла максимальный ответ (ДХ > 80 %) был достигнут у 50 % больных, минимальный ответ (ДХ < 80 %, но без рецидива) — у 30 % [57].

В качестве маркеров минимальной остаточной болезни могут быть использованы хромосомные aberrации, мутации ряда генов, определяемые при молекулярно-генетическом исследовании. Обнадеживающие результаты были продемонстрированы в исследовании K. Sockel и соавт. при использовании азацитидина в посттрансплантационный период у больных ОМЛ с мутациями гена *NPM1* [58].

НОВЫЕ КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ С ВКЛЮЧЕНИЕМ АЗАНУКЛЕОЗИДОВ [59]

Клиническое исследование препарата ASTX727 для приема внутрь в комбинации с децитабином для приема внутрь + E7727, представляющее собой соединение, изменяющее метаболизм децитабина, направлено на определение оптимальных доз обоих препаратов, в т. ч. на основании их концентрации в крови. Первоначально децитабин будет назначаться внутрь, далее возможен переход на в/в форму препарата.

Препарат гласдегид (PF-04449913) или плацебо в комбинации с азацитидином назначаются больным с МДС промежуточного-2 или высокого риска, ОМЛ с 20–30 % бластных клеток и мультилинейной дисплазией, а также ХММЛ, ранее не получавшим лечение. Гласдегид — препарат с потенциальной противоопухолевой активностью, ингибирующий сигнальный путь Hedgehog.

Исследование III фазы INSPIRE (International Study of Phase III Intravenous Rigosertib) посвящено изучению ригосертиба. Ригосертиб представляет собой синтетический бензилстирилсульфон — противоопухолевый препарат. Планируется сравнение эффективности препарата в группе очень высокого риска и в других группах (по шкале IPSS-R), суммарно у 225 больных, ранее получавших азацитидин или децитабин не более 9 мес.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, МДС представляют гетерогенную группу заболеваний, сопровождающуюся неэффективным кроветворением и повышенной вероятностью трансформации в ОМЛ. МДС — заболевания пожилых, однако могут наблюдаться и в более раннем возрасте. Пожилой возраст и сопутствующие заболевания затрудняют лечение. Разработаны прогностические системы, учитывающие множество характеристик больного — от числа бластных клеток в костном мозге до общего состояния. До настоящего времени «золотым стандартом» среди различных прогностических систем остается международная шкала IPSS. Однако в последние годы разработаны более универсальные прогностические системы. Выбор противоопухолевого лечения определяется принадлежностью пациента к определенной группе риска МДС и ОМЛ. Гипометилирующие агенты можно отнести к распространенным препаратам из-за универсальности их применения: от МДС низкого риска (при отсутствии эффекта от других программ лечения) до высокого с числом бластных клеток даже более 30 %, т. е. ОМЛ.

ОМЛ — это не менее разнородная группа опухолей системы крови, в т. ч. по иммунофенотипическому и молекулярно-генетическому профилям. Более глубокое понимание биологии ОМЛ и разработка новых направлений терапии стали возможны благодаря эволюции совре-

менных диагностических методик в области иммунологии, молекулярной биологии, в т. ч. исследования экспрессии профиля генов, технологии секвенирования. Создание новых перспективных направлений терапии (иммунотерапия, ингибиторы различных сигнальных путей, регуляторы эпигенетической транскрипции ДНК) позволит улучшить результаты лечения этой категории больных.

Следует признать, что одной из ключевых проблем терапии азануклеозидами остается преодоление развившейся к ним резистентности или рецидивов после их применения. В настоящее время проводится ряд исследований, направленных на решение этих проблем.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: все авторы.

Предоставление материалов исследования: все авторы.

Анализ и интерпретация данных: все авторы.

Подготовка рукописи: все авторы.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Уоддингтон К.Х. Основные биологические концепции. В кн.: На пути к теоретической биологии. Часть I. Прологомены. М.: Мир, 1970. С. 11–38. [Waddington CH. Basic Ideas of Biology. In: Waddington CH, ed. Towards a Theoretical Biology. Vol. 1. Edinburgh: Edinburgh University Press, 1968–72. (Russ. ed.: Waddington CH. Osnovnye biologicheskie kontseptsii. In: Waddington CH, ed. Na puti k teoreticheskoi biologii. Chast' I. Prolegomeny. Moscow: Mir Publ.; 1970. pp. 11–38.)]
- Huntly BJP, Johnson PWM. Targeting Epigenetic Readers in Hematologic Malignancies: A Good BET? *The Hematologist*. 2012;9(2):5–7.
- Daser A, Rabbits TH. Extending the repertoire of the mixed-lineage leukemia gene MLL in leukemogenesis. *Genes & Dev*. 2004;18:965–74. doi: 10.1101/gad.1195504.
- Ansorge WJ. Next-generation DNA sequencing techniques. *New Biotechnol*. 2009;25(4):195–203. doi: 10.1016/j.nbt.2008.12.009.
- Foley SB, Rios JJ, Mgbemena V. Use of Whole Genome Sequencing for Diagnosis and Discovery in the Cancer Genetics Clinic. *EBioMedicine*. 2014;2(1):74–81. doi: 10.1016/j.ebiom.2014.12.003.
- Wojdacz TK, Moller TH, Thestrup BB, et al. Limitations and advantages of MS-HRM and bisulfite sequencing for single locus methylation studies. *Exp Rev Mol Diagn*. 2010;10(5):575–80. doi: 10.1586/erm.10.46.
- Reinders J, Paszkowski J. Bisulfite methylation profiling of large genomes. *Epigenomics*. 2010;2(2):209–20. doi: 10.2217/epi.10.6.
- Thompson CB. Targeting Metabolic Inputs into Epigenetic Regulations of Acute Leukemia. *Blood*. 2013;122(21):SCI-26.
- Зиновкина Л.А., Зиновкин Р.А. Метилирование ДНК, митохондрии и программируемое старение. *Биохимия*. 2015;80(12):1830–7. [Zinovkina LA, Zinovkin RA. DNA methylation, mitochondria, and programmed aging. *Biokhimiya*. 2015;80(12):1830–7. (In Russ.)]
- Vanyushin BF, Kiryanov GI, Kudryashova IB, Belozersky AN. DNA & methylase in loach embryos (*Misgurnus fossilis*). *FEBS Lett*. 1971;15(4):313–6. doi: 10.1016/0014-5793(71)80646-4.
- Vanyushin BF, Kirnos MD. The nucleotide composition and pyrimidine clusters in DNA from beef heart mitochondria. *FEBS Lett*. 1974;39(2):195–9. doi: 10.1016/0014-5793(74)80049-99.
- Vanyushin BF, Kirnos MD. The structure of animal mitochondrial DNA (base composition, pyrimidine clusters, character of methylation). *Mol Cell Biochem*. 1977;14(1–3):31–6. doi: 10.1007/bf01734162.
- Byun HM, Panni T, Motta V, et al. Effects of airborne pollutants on mitochondrial DNA methylation. *Part Fibre Toxicol*. 2013;10(1):18. doi: 10.1186/1743-8977-10-18.
- Sun C, Reimers LL, Burk RD. Methylation of HPV16 genome CpG sites is associated with cervix precancer and cancer. *Gynecol Oncol*. 2011;121(1):59–63. doi: 10.1016/j.ygyno.2011.01.013.
- Vanyushin BF, Nemirovsky LE, Klimenko VV, et al. The 5-methylcytosine in DNA of rats. *Gerontologia*. 1973;19(3):138–52. doi: 10.1159/000211967.
- Биология и медицина. Метилирование РНК. [Электронный документ] Доступно по: <http://medbiol.ru/medbiol/epigenetica/001a1613.htm>. Ссылка активна на 14.05.2013. [Biologiya i meditsina. Metilirovanie RNK. (Biology and Medicine. RNA Methylation) [Internet]. Available from: <http://medbiol.ru/medbiol/epigenetica/001a1613.htm>. (accessed 14.05.2013) (In Russ.)]
- Yu B, Yang Z, Li J, et al. Methylation as a crucial step in plant microRNA biogenesis. *Science*. 2005;307(5711):932–5. doi: 10.1126/science.1107130.
- Goll MG, Kirpekar E, Maggert KA, et al. Methylation of tRNA^{Asp} by the DNA methyltransferase homolog Dnmt2. *Science*. 2006;311(5759):395–8. doi: 10.1126/science.1120976.
- Dominissini D, Nachtergaele S, Moshitch-Moshkovitz S, et al. The dynamic N1-methyladenosine methylome in eukaryotic messenger RNA. *Nature*. 2016;530(7591):441–6. doi: 10.1038/nature16998.
- Christman J. 5-Azacytidine and 5-aza-2'-deoxycytidine as inhibitors of DNA methylation: mechanistic studies and their implications for cancer therapy. *Oncogene*. 2002;21(35):5483–95. doi: 10.1038/sj.onc.1205699.
- Kumar A, List A. F, Hozo I, et al. Decitabine versus 5-azacytidine for the treatment of myelodysplastic syndrome: adjusted indirect meta-analysis. *Haematologica*. 2010;95(2):340–2. doi: 10.3324/haematol.2009.017764.
- Phase II Decitabine (DAC) Versus Azacitidine (AZA) in Myelodysplastic Syndrome (MDS). [Internet] Available from: <http://www.druglib.com/trial/80/NCT02269280.html>. (accessed 15.05.2016).
- Fenaux P, Gattermann N, Seymour JF, et al. Prolonged survival with improved tolerability in higher-risk myelodysplastic syndromes: azacitidine compared with low dose ara-C. *Br J Haematol*. 2010;149(2):244–9. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08082.x.
- Al-Ali HK, Jaekel N, Niederwieser D. The role of hypomethylating agents in the treatment of elderly patients with AML. *J Geriatr Oncol*. 2014;5(1):89–105. doi: 10.1016/j.jgo.2013.08.004.
- Burnett AK, Milligan D, Prentice AG, et al. A comparison of low-dose cytarabine and hydroxyurea with or without all-trans retinoic acid for acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome in patients not considered fit for intensive treatment. *Cancer*. 2007;109(6):1114–24. doi: 10.1002/cncr.22496.
- Kantarjian HM, Thomas XG, Dmoszynska A, et al. Multicenter, randomized, open-label, phase III trial of decitabine versus patient choice, with physician advice, of either supportive care or low-dose cytarabine for the treatment of older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2012;30(21):2670–7. doi: 10.1200/jco.2011.38.9429.
- European Medicines Agency: assessment report on Dacogen 19 July 2012. [Internet] Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002221/WC500133571.pdf2012. (accessed 17.05.2016).
- Minutes for the February 9 2012 meeting of the FDA Oncologic Drugs Advisory Committee. [Internet] Available from: <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/OncologicDrugsAdvisoryCommittee/UCM293710.pdf>2012. (accessed 19.05.2016).
- Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120(12):2454–65. doi: 10.1182/blood-2012-03-420489.
- Schanz J, Tuechler H, Sole F, et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. *J Clin Oncol*. 2012;30(8):820–9. doi: 10.1200/jco.2011.35.6394.
- Kantarjian H, O'Brien S, Ravandi F, et al. Proposal for a new risk model in myelodysplastic syndrome that accounts for events not considered in the original International Prognostic Scoring System. *Cancer*. 2008;113(6):1351–61. doi: 10.1002/cncr.23697.
- Garcia-Manero G. Myelodysplastic syndromes: 2015 Update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. 2015;90(9):831–41. doi: 10.1002/ajh.24102.
- Garcia-Manero G, Fenaux P. Hypomethylating agents and other novel strategies in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2011;29(10):516–23. doi: 10.1200/jco.2010.31.0854.
- Lyons RM, Cosgriff TM, Modi SS, et al. Hematologic response to three alternative dosing schedules of azacitidine in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2009;27(11):1850–6. doi: 10.1200/jco.2008.17.1058.
- Garcia-Manero G, Gore SD, Cogle C, et al. Phase I study of oral azacitidine in myelodysplastic syndromes, chronic myelomonocytic leukemia, and acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2011;29(18):2521–7. doi: 10.1200/jco.2010.34.4226.
- Garcia-Manero G, Jabbour E, Borthakur G, et al. Randomized open-label phase II study of decitabine in patients with low- or intermediate-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2013;31(20):2548–53. doi: 10.1200/jco.2012.44.6823.
- Wei Y, Dimicoli S, Bueso-Ramos C, et al. Toll-like receptor alterations in myelodysplastic syndrome. *Leukemia*. 2013;27(9):1832–40. doi: 10.1038/leu.2013.180.
- Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: A randomized, open-label, phase III study. *Lancet Oncol*. 2009;10(3):223–32. doi: 10.1016/s1470-2045(09)70003-8.

39. Blum W, Garzon R, Klisovic RB, et al. Clinical response and miR-29b predictive significance in older AML patients treated with a 10-day schedule of decitabine. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(16):7473–8. doi: 10.1073/pnas.1002650107.
40. Itzykson R, Thepot S, Quesnel B, et al. Prognostic factors for response and overall survival in 282 patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated with azacitidine. *Blood*. 2011;117(2):403–11. doi: 10.1182/blood-2010-06-289280.
41. Jabbour E, Garcia-Manero G, Batty N, et al. Outcome of patients with myelodysplastic syndrome after failure of decitabine therapy. *Cancer*. 2010;116(16):3830–4. doi: 10.1002/cncr.25247.
42. Montalban-Bravo G, Garcia-Manero G. Novel drugs for older patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2015;29(4):760–9. doi: 10.1038/leu.2014.244.
43. Dombret H, Seymour JF, Butrym A, et al. International phase 3 study of azacitidine vs conventional care regimens in older patients with newly diagnosed AML with > 30% blasts. *Blood*. 2015;126(3):291–9. doi: 10.1182/blood-2015-01-621664.
44. Pleyer L, Burgstaller S, Girschikofsky M, et al. Azacitidine in 302 patients with WHO-defined acute myeloid leukemia: results from the Austrian Azacitidine Registry of the AGMT-Study Group. *Ann Hematol*. 2014;93(11):1825–38. doi: 10.1007/s00277-014-2126-9.
45. Radujkovic A, Dietrich S, Bochtler T, et al. Azacitidine and low-dose cytarabine in palliative patients with acute myeloid leukemia and high bone marrow blast counts – a retrospective single-center experience. *Eur J Haematol*. 2014;93(2):112–7. doi: 10.1111/ejh.12308.
46. Field T, Perkins J, Huang Y, et al. 5-Azacitidine for myelodysplasia before allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2010;45(2):255–60. doi: 10.1038/bmt.2009.134.
47. Gerds AT, Gooley TA, Estey EH, et al. Pretransplantation Therapy with Azacitidine vs Induction Chemotherapy and Posttransplantation Outcome in Patients with MDS. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;18(8):1211–8. doi: 10.1016/j.bbmt.2012.01.009.
48. Damaj G, Duhamel A, Robin M, et al. Impact of azacitidine before allogeneic stem-cell transplantation for myelodysplastic syndromes: a study by the Societe Francaise de Greffe de Moelle et de Therapie-Cellulaire and the Groupe-Francophone des Myelodysplasies. *J Clin Oncol*. 2012;30(36):4533–40. doi: 10.1200/jco.2012.44.3499.
49. de Lima M, Giralt S, Thall PF, et al. Maintenance therapy with low-dose azacitidine after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for recurrent acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome: a dose and schedule finding study. *Cancer*. 2010;116(23):5420–31. doi: 10.1002/cncr.25500.
50. Jabbour E, Giralt S, Kantarjian H, et al. Low-dose azacitidine after allogeneic stem cell transplantation for acute leukemia. *Cancer*. 2009;115(9):1899–905. doi: 10.1002/cncr.24198.
51. Schroeder T, Czibere A, Platzbecker U, et al. Azacitidine and donor lymphocyte infusions as first salvage therapy for relapse of AML or MDS after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia*. 2013 27(6), 1229–35. doi: 10.1038/leu.2013.7.
52. Lubbert M, Bertz H, Wasch R, et al. Efficacy of a 3-day, low-dose treatment with 5-azacitidine followed by donor lymphocyte infusions in older patients with acute myeloid leukemia or chronic myelomonocytic leukemia relapsed after allografting. *Bone Marrow Transplant*. 2010;45:627–32. doi: 10.1038/bmt.2009.222.
53. Sanchez-Abarca LI, Gutierrez-Cosio S, Santamaria C, et al. Immunomodulatory effect of 5-azacytidine (5-azaC): potential role in the transplantation setting. *Blood*. 2010;115(1):107–21. doi: 10.1182/blood-2009-03-210393.
54. Goodyear O, Agathangelou A, Novitzky-Basso, et al. Induction of a CD8+ T-cell response to the MAGE cancer testis antigen by combined treatment with azacitidine and sodium valproate in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplasia. *Blood*. 2010;116(11):1908–18. doi: 10.1182/blood-2009-11-249474.
55. Atanackovich D, Luetkens T, Kloth B, et al. Cancer-testis antigen expression and its epigenetic modulation in acute myeloid leukemia. *Am J Hematol*. 2011;86(11):918–22. doi: 10.1002/ajh.22141.
56. Kroger N, Bacher U, Bader P, et al. NCI first international workshop on the biology, prevention, and treatment of relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: report from the committee on disease-specific methods and strategies for monitoring relapse following allogeneic stem cell transplantation: II. Chronic leukemias, myeloproliferative neoplasms, and lymphoid malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16(10):1325–46. doi: 10.1016/j.bbmt.2010.06.008.
57. Platzbecker U, Wermke M, Radke J, et al. Azacitidine for treatment of imminent relapse in MDS or AML patients after allogeneic HSCT: results of the RELAZA trial. *Leukemia*. 2012;26(3):381–9. doi: 10.1038/leu.2011.234.
58. Sockel K, Wermke M, Radke J, et al. Minimal Residual Disease-Directed Preemptive Treatment With Azacitidine In Patients With NPM1-Mutant Acute Myeloid Leukemia And Molecular Relapse. *Haematologica*. 2011;96(10):1568–70. doi: 10.3324/haematol.2011.044388.
59. The MDS Foundation. New MDS Clinical Trials. [Internet] Available from: <http://www.mds-foundation.org/clinical-trial-announcements/#New-MDS-Clinical-Trials>. (accessed 17.05.2016).

