

## МИЕЛОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

### Прогнозирование эффективности режима FLAG ± Ida у пациентов с рецидивами и рефрактерным течением острых миелоидных лейкозов

*И.Г. Будаева, Л.Л. Гиршова, Е.Г. Овсянникова, Е.Н. Горюнова, О.В. Кулемина, Д.В. Зайцев, Д.В. Моторин, Р.Ш. Бадаев, Д.Б. Заммоева, В.В. Иванов, К.В. Богданов, О.С. Писоцкая, Ю.В. Миролюбова, Т.С. Никулина, Ю.А. Алексеева, А.Ю. Зарицкий*

ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341

#### РЕФЕРАТ

**Цель.** Оценить эффективность режима FLAG/FLAG-Ida, выявить факторы, влияющие на достижение ремиссии, продолжительность безрецидивной (БРВ) и общей выживаемости (ОВ) у пациентов с рецидивами и рефрактерным течением острого миелобластного лейкоза (ОМЛ).

**Материалы и методы.** В исследование включено 54 пациента (28 мужчин, 26 женщин), медиана возраста составила 37 лет (диапазон 18–70 лет). У 27 (50 %) из 54 пациентов имело место рефрактерное течение ОМЛ, у 27 (50 %) — рецидивы. В качестве индукционной терапии использовались режимы FLAG и FLAG-Ida. Трансплантация костного мозга выполнена 37 (68,5 %) пациентам. Молекулярно-генетическое и цитогенетическое исследование проводилось до терапии и на 28-й день после ее начала. Уровень экспрессии гена *WT1* оценивался на 14–16-й день лечения.

**Результаты.** Полные ремиссии (ПР) достигнуты у 42 (77,8 %) из 54 пациентов. Рефрактерность к терапии наблюдалась у 9 (16,7 %) из 54 пациентов, летальность составила 5,5 % (3/54). Частота достижения ремиссии была выше при рецидивах ОМЛ в сравнении с рефрактерным течением ОМЛ — 85,2 (23/27) и 70,4 % (19/27) соответственно. Пациенты с числом бластных клеток в костном мозге (КМ)  $\geq 10$  % на 14–16-й день терапии имели статистически значимо более низкий уровень достижения ПР (60 %) в сравнении с группой  $< 10$  % бластных клеток в КМ (89,6 %;  $p = 0,024$ ) и меньшую БРВ (медиана 7,6 vs 17,6 мес. соответственно;  $p = 0,03$ ). Медиана БРВ у пациентов со снижением экспрессии гена *WT1*  $< 1$  log на 14–16-й день составила 5 vs 18 мес. у больных без этого снижения ( $p = 0,01$ ). Показатели БРВ различались в группах пациентов с числом бластных клеток в КМ  $< 10$  % на 14–16-й день терапии в зависимости от уровня редукции экспрессии гена *WT1* ( $p = 0,04$ ). Пациенты с МОБ-

## MYELOID TUMORS

### Prediction of FLAG ± Ida Regimen Efficacy in Patients with Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia

*IG Budaeva, LL Girshova, EG Ovsyannikova, EN Goryunova, OV Kulemina, DV Zaitsev, DV Motorin, RSh Badaev, DB Zammoeva, VV Ivanov, KV Bogdanov, OS Pisotskaya, YuV Mirolyubova, TS Nikulina, YuA Alekseeva, AYU Zaritskey*

VA Almazov National Medical Research Center, 2 Akkuratova str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341

#### ABSTRACT

**Aim.** To assess the efficacy of FLAG/FLAG-Ida regimen and to identify factors that influence remission, duration of disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) of patients with relapsed/refractory acute myeloid leukemia (AML).

**Materials & Methods.** The trial included 54 patients (28 men and 26 women), median age was 37 years (range 18–70 years). 27 (50 %) out of 54 patients had refractory AML and 27 (50 %) patients had relapsed AML. FLAG and FLAG-Ida regimens were administered as induction therapy. 37 (68.5 %) patients received bone marrow transplantation. Molecular genetic and cytogenetic examinations were performed prior to therapy and on the 28<sup>th</sup> day after the start of treatment. *WT1* gene expression was evaluated on the 14<sup>th</sup>–16<sup>th</sup> day of treatment.

**Results.** Complete remission (CR) was achieved in 42 (77.8 %) out of 54 patients. Refractoriness to therapy was observed in 9 (16.7 %) out of 54 patients, mortality was 5.5 % (3/54). Remission rate was higher in patients with relapsed AML compared with refractory AML: 85.2 % (23/27) and 70.4 % (19/27), respectively. On the 14<sup>th</sup>–16<sup>th</sup> day of treatment patients with blast cell count  $\geq 10$  % in bone marrow (BM) showed significantly lower CR rate (60 %) compared with the group of patients with  $< 10$  % blast cells in BM (89.6 %;  $p = 0.024$ ) and shorter DFS (median 7.6 vs. 17.6 months, respectively;  $p = 0.03$ ). Median DFS in patients with *WT1* expression reduction to  $< 1$  log on the 14<sup>th</sup>–16<sup>th</sup> day was 5 vs. 18 months in patients without *WT1* expression reduction ( $p = 0.01$ ). DFS varied in groups of patients with blast cell count  $< 10$  % in BM on the 14<sup>th</sup>–16<sup>th</sup> day of treatment based on the level of *WT1* expression reduction ( $p = 0.04$ ). MRD-negative patients (57.1 %) showed significantly longer DFS and OS compared with MRD-positive patients (median DFS was 17.6 vs. 5.2 months, respectively,  $p = 0.02$ ; median OS was 19 vs. 6.9 months,  $p = 0.0002$ ). Median DFS and OS were different

отрицательным статусом (57,1 %) имели статистически значимо более продолжительные БРВ и ОВ в сравнении с больными с МОБ+ (медиана БРВ 17,6 vs 5,2 мес. соответственно,  $p = 0,02$ ; медиана ОВ 19 vs 6,9 мес.,  $p = 0,0002$ ). Медианы БРВ и ОВ различались только в группах низкого и высокого риска по ELN (медиана не достигнута vs 5,2 мес. соответственно,  $p = 0,039$ ; медиана не достигнута vs 10,2 мес.,  $p = 0,039$ ).

**Заключение.** FLAG и FLAG-Ida — эффективные и обладающие приемлимым профилем токсичности режимы лечения пациентов с рецидивами и рефрактерным ОМЛ. Достижение ремиссии не зависит от группы риска и срока развития рецидивов. Число бластных клеток в КМ на 14–16-й день терапии FLAG/FLAG-Ida — прогностический фактор, влияющий на достижение и продолжительность ремиссии. Уровень экспрессии гена *WT1* в раннем постиндукционном периоде служит чувствительным маркером БРВ. Статус МОБ и принадлежность к определенной молекулярно-генетической группе риска (ELN) являются важными прогностическими факторами, влияющими на показатели БРВ и ОВ.

**Ключевые слова:** острый миелобластный лейкоз, рецидив, рефрактерность, режимы FLAG и FLAG-Ida.

**Получено:** 2 ноября 2018 г.

**Принято в печать:** 28 мая 2019 г.

*Для переписки:* Ирина Гармаевна Будаева, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341; тел.: +7(931)351-07-06; e-mail: irina2005179@mail.ru

*Для цитирования:* Будаева И.Г., Гиршова Л.Л., Овсянникова Е.Г. и др. Прогнозирование эффективности режима FLAG ± Ida у пациентов с рецидивами и рефрактерным течением острых миелоидных лейкозов. Клиническая онкогематология. 2019;12(3):289–96.

doi: 10.21320/2500-2139-2019-12-3-289-296

only in ELN low- and high-risk groups (median not reached vs. 5.2 months, respectively,  $p = 0.039$ ; median not reached vs. 10.2 months,  $p = 0.039$ ).

**Conclusion.** FLAG and FLAG-Ida are effective and safe regimens in the treatment of relapsed/refractory AML. Achieving remission depends on neither the risk group nor the time of relapse occurrence. The blast cell count in BM on the 14<sup>th</sup>–16<sup>th</sup> day of FLAG/FLAG-Ida treatment is a prognostic factor determining achievement and duration of remission. *WT1* expression level in the early post-induction period is a sensitive DFS marker. MRD status and molecular genetic risk (ELN) group affiliation are essential prognostic factors determining DFS and OS.

**Keywords:** acute myeloid leukemia, relapse, refractoriness, FLAG and FLAG-Ida regimens.

**Received:** November 2, 2018

**Accepted:** May 28, 2019

*For correspondence:* Irina Garmayeva Budaeva, 2 Akkuratova str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341; Tel.: +7(931)351-07-06; e-mail: irina2005179@mail.ru

*For citation:* Budaeva IG, Girshova LL, Ovsyannikova EG, et al. Prediction of FLAG ± Ida Regimen Efficacy in Patients with Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia. Clinical oncohematology. 2019;12(3):289–96 (In Russ).

doi: 10.21320/2500-2139-2019-12-3-289-296

## ВВЕДЕНИЕ

При применении стандартных режимов химиотерапии у 15–30 % пациентов с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) не удается достичь ремиссии после индукционной терапии и более чем у 50 % пациентов с достигнутым ответом в течение последующих 3 лет развиваются рецидивы заболевания [1–3]. Прогноз у пациентов с рецидивами и рефрактерным течением ОМЛ остается неблагоприятным [4]. Отсутствие ремиссии и развитие рецидивов — показания к аллогенной трансплантации костного мозга (аллоТКМ) [5–10]. По этой причине данная группа пациентов нуждается в проведении индукционной терапии с целью достичь ремиссии [11]. Противоопухолевое лечение данной группы пациентов включает цитостатические препараты, иммунотерапию, таргетные агенты [12, 13]. Режимы химиотерапии при рецидивах и рефрактерных ОМЛ предусматривают применение цитарабина в высоких дозах в комбинации с другими цитостатическими препаратами. В этом плане наибольшую эффективность демонстрируют пуриновые

аналоги (флударабин, кладрибин). Режим полихимиотерапии (ПХТ) FLAG, включающий флударабин, цитарабин, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ), широко используется при рецидивах и рефрактерных ОМЛ.

Комбинация флударабина и цитарабина (FA) впервые использована в рамках клинического исследования при рецидивах и рефрактерном течении ОМЛ [14]. Впоследствии FA применялся у пациентов с ОМЛ *de novo*, миелодиспластическим синдромом (МДС) с включением Г-КСФ (FLAG) и без него [15]. Применение Г-КСФ было обосновано исследованиями, в ходе которых установлено, что введение Г-КСФ до и после цитарабина усиливает его цитостатический эффект вследствие увеличения пула делящихся клеток, более чувствительных к цитостатическому воздействию, и включения Aга-С в структуру ДНК [16, 17]. В дальнейшем к режиму FLAG был добавлен идарубицин (режим FLAG-Ida), однако его применение было ограничено в случаях с предшествующей максимальной кумулятивной кардиотоксичностью, а также при наличии сердечной патологии [18]. Кроме того, показано, что добавление идарубицина у паци-

ентов с рецидивами/рефрактерным ОМЛ не привело к усилению противоопухолевого эффекта [19].

Вероятность достижения второй ремиссии зависит от ряда факторов, связанных как с пациентом (возраст, сопутствующие заболевания), так и с особенностями заболевания (уровень лейкоцитов, тромбоцитов, бластных клеток, группа риска, предшествующий МДС, вторичный ОМЛ и др.) [20, 21]. Стратификация на группы риска по молекулярно-генетической классификации ELN 2017 г. при рецидивах ОМЛ дала противоречивые результаты в разных исследованиях [22, 23]. В ходе многоцентрового исследования, проведенного в 2005 г., разработана прогностическая шкала для пациентов с рецидивами ОМЛ с использованием четырех клинически значимых параметров, влияющих на исход терапии: 1) время от первой ремиссии до рецидива; 2) данные цитогенетического исследования; 3) возраст на момент рецидива; 4) предшествующая аллоТКМ [24]. В результате были определены три прогностические группы. Пациенты благоприятной прогностической группы с большей вероятностью достигали полной ремиссии (ПР), и 5-летняя общая выживаемость (ОВ) составила 50 %. Несмотря на достижение ремиссии в большом числе случаев, 5-летняя ОВ в промежуточной группе была 18 %, в неблагоприятной группе — 4 %. Таким образом, предложенная прогностическая шкала позволяет оценивать исход терапии и долгосрочные результаты лечения пациентов с рецидивами ОМЛ.

В различных исследованиях уровень достижения ремиссии после режимов FLAG и FLAG-Ida составил 56–80 % [25–28]. Кроме того, данные режимы продемонстрировали приемлемый уровень гематологической и негематологической токсичности [29–31]. С учетом высокой эффективности и приемлемым профилем токсичности FLAG/FLAG-Ida может рассматриваться как оптимальный режим индукционной терапии для пациентов, которым в дальнейшем может быть выполнена аллоТКМ [6]. Помимо этого применение FLAG/FLAG-Ida у пациентов с рецидивами после аллоТКМ также показало высокий уровень достижения ПР — не менее 50 % [32, 33].

**Цели исследования** — оценить эффективность режимов FLAG/FLAG-Ida и выявить факторы, влияющие на достижение ремиссии, показатели ОВ и безрецидивной выживаемости (БРВ) пациентов с рецидивами и рефрактерным течением ОМЛ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

За период с 2010 по 2017 г. в ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» под наблюдением находилось 54 пациента (28 мужчин и 26 женщин) с рецидивами (27/54, 50 %) и рефрактерным течением ОМЛ (27/54, 50 %). У 11 (40,7 %) из 27 пациентов был диагностирован ранний рецидив, развившийся в срок до 6 мес. после достижения ПР. В анализ включено 25 (92,6 %) пациентов с первым рецидивом и 2 (7,4 %) — со вторым. Медиана возраста составила 37 лет (диапазон 18–70 лет). Диагноз ОМЛ был установлен на основании стандартных цитологических и молекулярно-генетических исследований. Распределение больных по FAB-вариантам:

M0 — 17, M1 — 7, M2 — 9, M4 — 10, M5 — 7, M6 — 3, M7 — 1. Оценка достижения ремиссии и развития рецидивов проводилась согласно критериям, рекомендованным ELN в 2010 и 2017 гг. [3, 5]. Стратификация по молекулярно-генетическим группам риска осуществлялась до проведения режима FLAG согласно классификации ELN 2017 [5], а также по прогностической шкале, предложенной D. Breems [24].

В качестве индукции первой ремиссии у всех пациентов использовался стандартный режим «7+3» (цитарабин 100 мг/м<sup>2</sup> в 1–7-й день, даунорубин 60 мг/м<sup>2</sup> в 1–3-й день). При отсутствии ремиссии после 1–2 курсов «7+3» или в случае развития рецидивов после достижения ПР пациентам проводился курс ПХТ в режиме FLAG/FLAG-Ida: цитарабин 2000 мг/м<sup>2</sup> в 1–5-й день, флударабин 30 мг/м<sup>2</sup> в 1–5-й день, филграстим 5 мкг/м<sup>2</sup> со дня –1 до восстановления абсолютного числа нейтрофилов (АЧН) ± идарубин 6 мг/м<sup>2</sup> на 3–4-й день. Режим FLAG-Ida применялся только у 5 (9,2 %) из 54 пациентов. В качестве консолидирующей терапии аллоТКМ в последующем выполнена у 37 (68,5 %) больных. Непосредственно после курса FLAG/FLAG-Ida родственная ТКМ (полностью совместимая, гаплоидентичная) проведена 25 из 37 пациентов. Из них 3 пациентам, не достигшим ремиссии после курса FLAG/FLAG-Ida и имеющим сохраненный соматический статус, выполнена родственная аллоТКМ вне ремиссии. До трансплантации после FLAG ± Ida у 12 больных проводилась консолидирующая терапия: у 2 — ПХТ HDAC 1–2 курса (цитарабин по 1500 мг/м<sup>2</sup> 2 раза в сутки в 1, 3 и 5-й дни), у 9 — FLAG/FLAG-Ida 1–3 курса (цитарабин 2000 мг/м<sup>2</sup> в 1–4-й день, флударабин 30 мг/м<sup>2</sup> в 1–4-й день, филграстим 5 мкг/м<sup>2</sup> со дня –1 до восстановления АЧН ± идарубин 6 мг/м<sup>2</sup> во 2–3-й день), у 1 — 2 курса терапии азациитидином (75 мг/м<sup>2</sup> в 1–5-й день).

Для количественной оценки минимальной остаточной болезни (МОБ) или определения уровня экспрессии мРНК транскриптов онкогенов, а также гена *WT1* и референс-гена *ABL* образец кДНК в количестве 100 нг амплифицировали по стандартному протоколу полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием пробирок и набора реактивов для ПЦР Fusion Quant kit for RT-QPCR (Qiagen, Нидерланды) и Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, США) [34–36]. Анализ результатов выполняли по каналу FAM с помощью программного обеспечения к термоциклеру Rotor-Gene 6000 (Corbet Research, Австралия) после построения калибровочных кривых со стандартными разведениями плазмидных ДНК. Проводили количественное и качественное определение генов (*FLT3-ITD/TKD*, *NPM1-A/B/D*, *MLL*, химерный ген *RUNX-RUNX1T1*, *CBFB-MYH11*, *SKIT*, гиперэкспрессия *BAALC*, *WT1*) до терапии FLAG ± Ida, а также на 28-й день после ее начала. Количественная оценка экспрессии гена *WT1* выполнялась в образцах костного мозга, полученных до терапии, на 14-й и 28-й дни от начала индукционного курса одновременно с морфологическим исследованием.

### Статистический анализ

Статистическая обработка данных и построение графиков осуществлялись с использованием компьютерных программ GraphPad Prism 6, IBM SPSS Statistics 22.0. Для выявления порогового уровня использовался

Таблица 1. Стратификация пациентов по группам риска ( $n = 54$ )

Группы риска		Рецидивы ОМЛ, $n = 27$	Рефрактерные ОМЛ, $n = 27$	Всего пациентов
По ELN-2017	Низкий	8 (29,6 %)	3 (11 %)	11/54 (20,4 %)
	Промежуточный	12 (44,4 %)	12 (44,5 %)	24/54 (44,4 %)
	Высокий	7 (26 %)	12 (44,5 %)	19/54 (35,2 %)
По D. Vreems	Низкий	4 (14,8 %)		4/27 (14,8 %)
	Промежуточный	6 (22,2 %)		6/27 (22,2 %)
	Высокий	17 (63 %)		17/27 (63 %)

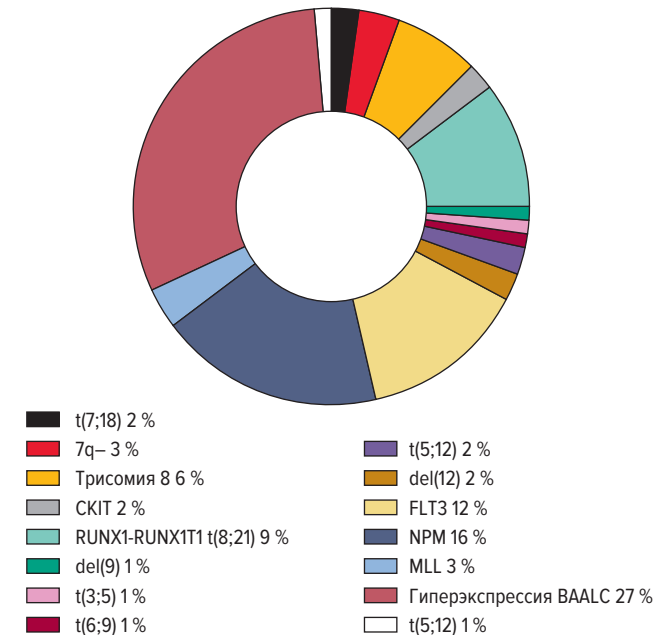


Рис. 1. Частота цитогенетических и молекулярных аномалий у пациентов с рецидивами и рефрактерным течением ОМЛ

Fig. 1. The rate of cytogenetic and molecular abnormalities in patients with relapsed/refractory AML

метод характеристических кривых (ROC-кривых, R version 2.15.0). Оценка значимости различий между количеством исходов в зависимости от факторов прогноза проводилась с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия Пирсона  $\chi^2$ . Статистически значимыми считались значения  $p < 0,05$ . Для построения кривых ОВ у пациентов с рецидивами и рефрактерным ОМЛ продолжительность жизни рассчитывалась от даты рецидива или даты диагноза при рефрактерном течении ОМЛ до даты смерти или выполнения аллотКМ. Для построения кривых БРВ продолжительность жизни рассчитывалась от даты достижения ремиссии до даты рецидива, смерти или выполнения аллотКМ. Построение кривых выживаемости осуществлялось по методу Каплана—Мейера.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно молекулярно-генетической классификации ELN-2017, 20,4 % (11/54) пациентов отнесены к группе низкого риска, 44,4 % (24/54) — промежуточного, 35,2 % (19/54) — высокого. По классификации, предложенной D. Vreems для пациентов с первым рецидивом ОМЛ, 14,8 % (4/27) больных с рецидивами

отнесены к группе низкого риска, 22,2 % (6/27) — промежуточного, 63 % (17/27) — высокого.

Стратификация пациентов по группам риска представлена в табл. 1.

Частота обнаружения цитогенетических и молекулярных аномалий представлена на рис. 1. Гиперэкспрессия гена *WT1* была у 85,5 % пациентов.

ПР достигнута у 42 (77,8 %) из 54 пациентов. Ранняя индукционная летальность составила 5,5 % (3/54). Из 9 пациентов, не достигших ремиссии после курса FLAG/FLAG-Ida, 7 относились к группе с рефрактерным течением ОМЛ (из них 4 — со вторичным ОМЛ), а 2 пациента не достигли ремиссии при рецидиве заболевания.

Частота достижения ремиссии была выше у пациентов с рецидивами в отличие от пациентов с рефрактерным течением ОМЛ (85,2 [23/27] и 70,4 % [19/27] соответственно), однако различия не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ).

В группе пациентов с рецидивами ОМЛ частота достижения ремиссии не зависела от срока развития рецидивов ( $\geq$  и  $<$  6 мес.,  $\geq$  и  $<$  12 мес.) и составила соответственно 87,5 (14/16) и 81,1 % (9/11) ( $p > 0,05$ ), 87,5 (7/8) и 84,2 % (16/19) ( $p > 0,05$ ).

Не отмечено также статистически значимых отличий в достижении ПР в различных молекулярно-генетических группах риска по ELN-2017 (90,9 [10/11], 83,3 [20/24] и 78,9 % [15/19] соответственно;  $p > 0,05$ ) и в группах риска у пациентов с рецидивами (100 [4/4], 83,3 [5/6] и 82,3 % [14/17] соответственно;  $p > 0,05$ ).

У всех пациентов оценивали редукцию опухолевой массы на 14–16-й день ПХТ по количеству бластных клеток в костном мозге и уровню экспрессии гена *WT1*. Значение порогового уровня бластных клеток для прогнозирования достижения ПР определено ROC-анализом и составило 9,7 % (чувствительность 71,4 %, специфичность 71,4 %). Для практического применения был выбран пороговый уровень 10 %. Число бластных клеток в костном мозге 10 % и более на 14–16-й день индукционного курса FLAG  $\pm$  Ida оказывало негативное влияние на достижение ПР (60 vs 89,6 % в группе с числом бластных клеток в костном мозге менее 10 %;  $p = 0,024$ ) (табл. 2).

В общей группе медиана ОВ составила 14,3 мес. (диапазон 0,4–84,6 мес.), БРВ — 12,1 мес. (диапазон 0,2–82,1 мес.) (рис. 2 и 3).

Медианы БРВ и ОВ пациентов в различных молекулярно-генетических группах риска (ELN-2017) различались. Так, в группах низкого и высокого риска медиана не достигнута vs 5,2 мес. ( $p = 0,039$ ) и медиана не достигнута vs 10,2 мес. ( $p = 0,039$ ) соответственно. Медианы БРВ и ОВ пациентов промежуточной группы

**Таблица 2.** Результаты терапии FLAG/FLAG-Ida у пациентов с рецидивами и рефрактерным ОМЛ

Показатель	Полная ремиссия (n/N)	p
Общий ответ	77,8 % (42/54)	
Статус заболевания		
Рефрактерное течение	70,4 % (19/27)	> 0,05
Рецидивы	85,2 % (23/27)	
Срок развития рецидивов		
≥ 6 мес.	87,5 % (14/16)	> 0,05
< 6 мес.	81,1 % (9/11)	
≥ 12 мес.	87,5 % (7/8)	
< 12 мес.	84,2 % (16/19)	
Молекулярно-генетическая группа риска по ELN-2017		
Низкий	90,9 % (10/11)	> 0,05
Промежуточный	83,3 % (20/24)	
Высокий	78,9 % (15/19)	
Группа риска по D. Vreems		
Низкий	100 % (4/4)	> 0,05
Промежуточный	83,3 % (5/6)	
Высокий	82,3 % (14/17)	
Число бластных клеток в костном мозге на 14–16-й день лечения		
≥ 10 %	60 % (9/15)	0,024
< 10 %	89,6 % (26/29)	

риска составили 7,6 и 13,05 мес. соответственно. Отличия от групп благоприятного и неблагоприятного прогноза оказались статистически незначимыми ( $p > 0,05$ ) (рис. 4 и 5).

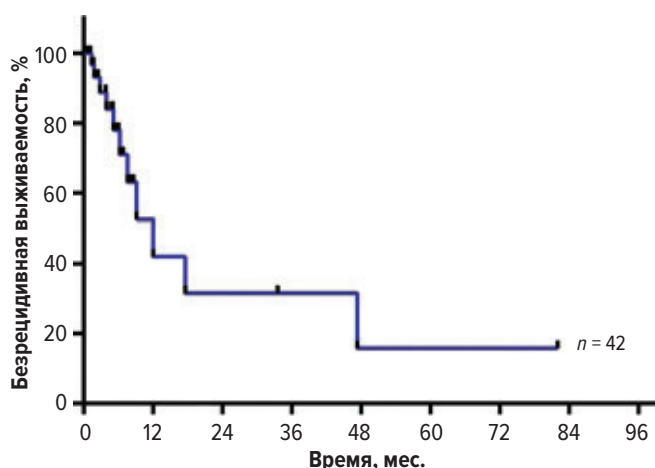
Показатели БРВ и ОВ в группах риска при рецидивах ОМЛ (классификация D. Vreems) не имели статистически значимых отличий (медиана БРВ: 43 мес. vs не достигнута vs 17,6 мес. соответственно; медиана ОВ: 45,35 мес. vs не достигнута vs 19 мес. соответственно;  $p > 0,05$ ).

Параллельно с оценкой морфологического статуса в поздний индукционный период пациентам, достигшим ПР, проводилась оценка статуса МОБ методом количественной ПЦР. МОБ-отрицательный статус был у 57,1 % (24/42) пациентов, МОБ-положительный — у 40,4 % (17/42).

Медианы БРВ и ОВ были статистически значимо более продолжительными в группе пациентов, достигших МОБ-отрицательной ПР ОМЛ (медиана БРВ: 17,6 vs 5,2 мес.,  $p = 0,02$ ; медиана ОВ: 19 vs 6,9 мес.,  $p = 0,0002$ ) (рис. 6 и 7).

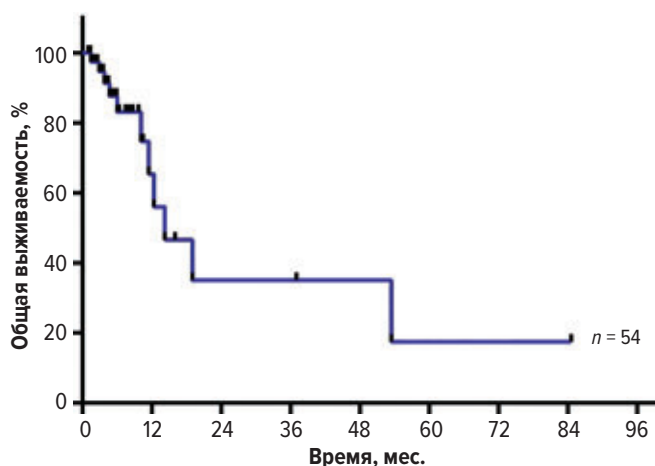
Медиана БРВ в группе пациентов с числом бластных клеток в костном мозге 10 % и более составила 7,6 vs 17,6 мес. в группе пациентов с числом бластных клеток менее 10 % ( $p = 0,03$ ) (рис. 8).

Значимый пороговый уровень *WT1* на 14–16-й день терапии был определен методом ROC-анализа и составил 770,1 копий/ $10^4$  копий *ABL* в абсолютном количестве (чувствительность 73,3 %, специфичность 80 %), в логарифмическом выражении — 1 log (чувствительность 90 %, специфичность 78 %). Сохранение уровня экспрессии гена *WT1* > 770 копий/ $10^4$  копий *ABL* или отсутствие снижения на 1 log и более статистически значимо было предиктором короткой медианы БРВ ( $p = 0,00063$  и  $p = 0,01$  соответственно). Медиана БРВ составила 5 vs 18 мес. ( $p = 0,01$ ) соответственно (рис. 9).



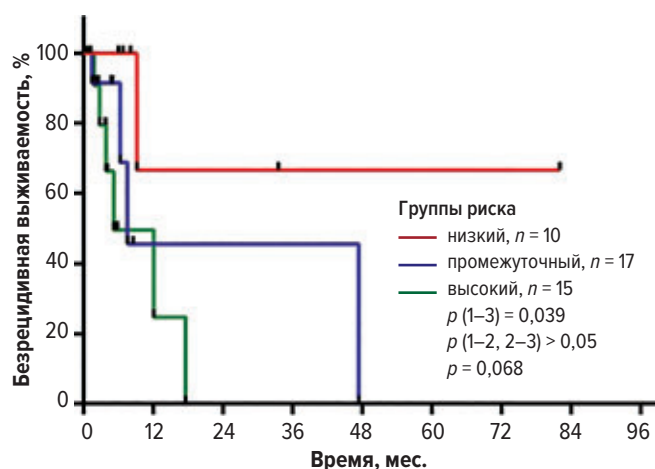
**Рис. 2.** Безрецидивная выживаемость пациентов с рецидивами/рефрактерным ОМЛ

**Fig. 2.** Disease-free survival of patients with relapsed/refractory AML



**Рис. 3.** Общая выживаемость пациентов с рецидивами/рефрактерным ОМЛ

**Fig. 3.** Overall survival of patients with relapsed/refractory AML



**Рис. 4.** Безрецидивная выживаемость в группах риска по ELN-2017

**Fig. 4.** Disease-free survival in ELN-2017 risk groups

При этом в группе пациентов с числом бластных клеток в костном мозге менее 10 % на 14–16-й день ПХТ выявлена статистически значимая разница медианы БРВ в группах с различным уровнем снижения

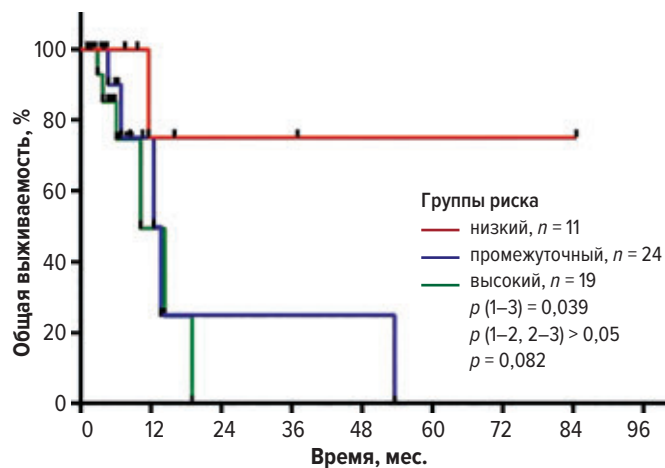


Рис. 5. Общая выживаемость в группах риска по ELN-2017

Fig. 5. Overall survival in ELN-2017 risk groups

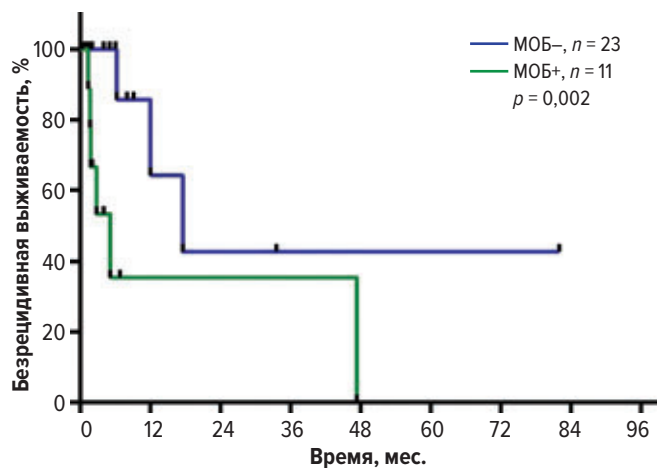


Рис. 6. Безрецидивная выживаемость в группах больных ОМЛ с различным МОБ-статусом

Fig. 6. Disease-free survival of patients with different MRD (МОБ) status

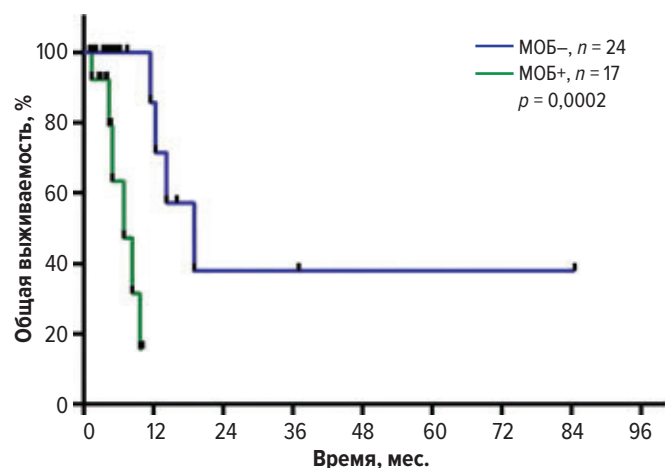


Рис. 7. Общая выживаемость в группах больных ОМЛ с различным МОБ-статусом

Fig. 7. Overall survival of patients with different MRD (МОБ) status

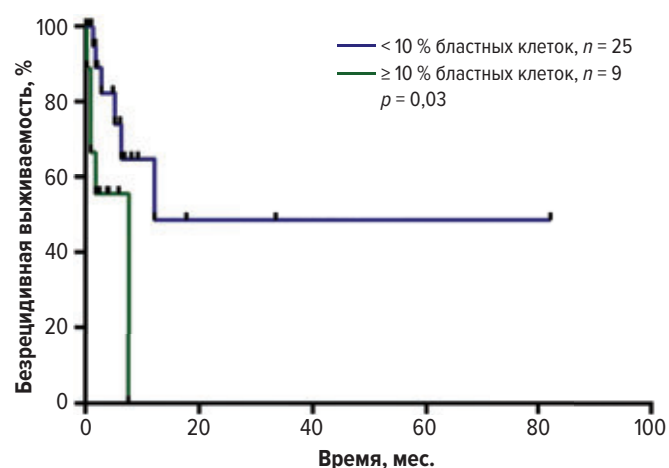


Рис. 8. Безрецидивная выживаемость в группах пациентов с различным числом бластных клеток в костном мозге на 14–16-й день терапии FLAG ± Ida

Fig. 8. Disease-free survival of patients with different blast cell count in bone marrow on the 14<sup>th</sup>–16<sup>th</sup> day of FLAG ± Ida treatment

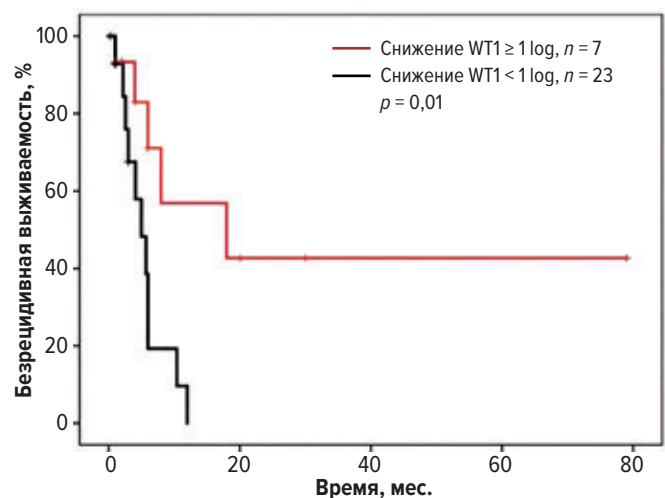


Рис. 9. Безрецидивная выживаемость в группах пациентов с различным уровнем снижения экспрессии гена *WT1* на 14–16-й день терапии FLAG ± Ida

Fig. 9. Disease-free survival of patients with different *WT1* expression reduction on the 14<sup>th</sup>–16<sup>th</sup> day of FLAG ± Ida treatment

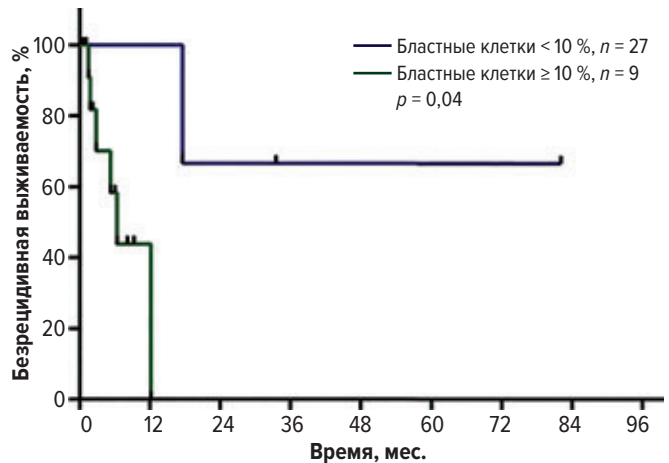
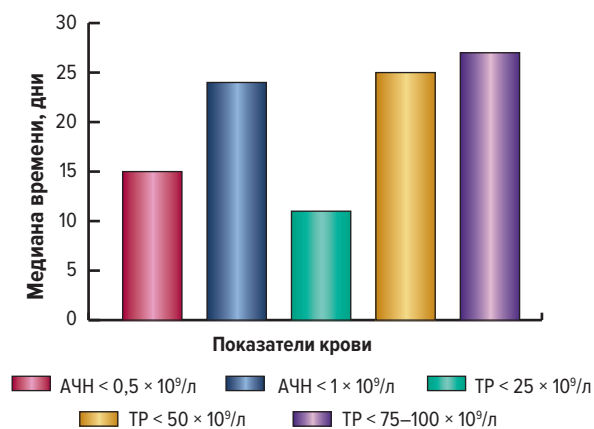


Рис. 10. Безрецидивная выживаемость пациентов с числом бластных клеток в костном мозге менее или более 10 % на 14–16-й день терапии FLAG ± Ida в группах с различным уровнем снижения экспрессии гена *WT1*

Fig. 10. Disease-free survival of patients with blast cell count </> 10% in bone marrow on the 14<sup>th</sup>–16<sup>th</sup> day of FLAG ± Ida treatment in the groups with different *WT1* expression reduction



**Рис. 11.** Медиана сроков восстановления показателей крови  
АЧН — абсолютное число нейтрофилов; TP — тромбоциты.

**Fig. 11.** Median time to hematologic recovery  
АЧН — absolute neutrophil count; TP — thrombocytes.

экспрессии гена *WT1* (6,3 мес. vs медиана не достигнута;  $p = 0,04$ ) (рис. 10).

Таким образом, уровень снижения экспрессии гена *WT1* оказался более чувствительным маркером длительности медианы БРВ по сравнению с числом бластных клеток в костном мозге.

В ходе нашего исследования проведен анализ гематологической токсичности режима FLAG ± Ida. Медиана сроков восстановления АЧН  $\geq 0,5 \times 10^9/\text{л}$  составила 15 дней (диапазон 11–19 дней), АЧН  $\geq 1 \times 10^9/\text{л}$  — 24 дня (диапазон 15–37 дней) (рис. 11). Медиана длительности тромбоцитопении IV степени была 11,5 дня (диапазон 4–28 дней), III степени — 25 дней (диапазон 18–46 дней), I–II степени — 27 дней (диапазон 19–39 дней). Ранняя летальность составила 5,4 % (3 из 55), среди них 1 пациент был со вторым ранним рецидивом, 1 — с первым поздним рецидивом, 1 — с первично-рефрактерным течением ОМЛ. Причиной смерти у всех 3 пациентов послужили фатальные инфекционные осложнения, обусловленные наличием резистентной флоры.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Режим FLAG/FLAG-Ida — эффективный метод лечения пациентов с рецидивами и рефрактерным течением ОМЛ, позволяющий достигать ПР в большом числе случаев, в т. ч. с МОБ-отрицательным статусом, и характеризуется низким уровнем летальности (5,4 %) и восстановлением показателей гемопоэза в приемлемые сроки. Результаты ранее проведенных исследований согласуются с полученными нами данными [33, 37–39].

Частота достижения ремиссии после курса FLAG/FLAG-Ida составила 77,8 %. Ремиссия достигалась чаще у пациентов с рецидивами ОМЛ. В то же время пациенты с первичной рефрактерностью, среди которых большее число составляли больные с предшествующим МДС, вторичным ОМЛ, имели худшие результаты терапии. Частота достижения ремиссий не зависела от принадлежности к молекулярно-генетической группе риска и группе риска при рецидивах. Результаты сопоставимы с исследованиями S.R. Lee и соавт. [19], M. Delia

и соавт. [11], согласно которым достижение ремиссии статистически также не отличалось в различных молекулярно-генетических группах риска. При этом принадлежность к той или иной молекулярно-генетической группе риска по классификации ELN-2017 оказывала влияние на медиану как БРВ, так и ОВ. Стратификация по группам риска больных с рецидивами ОМЛ в соответствии с классификацией, предложенной D. Vreems, в нашем исследовании не влияла на медиану БРВ и ОВ. Данное обстоятельство, вероятно, связано с тем, что в нашей группе большинство пациентов из низкой молекулярно-генетической группы риска были с мутацией *NPM1*, которая входит в число прогностически благоприятных маркеров согласно классификации ELN-2017 и наличие которой не учитывается в классификации D. Vreems. Данная группа пациентов отличалась более длительной медианой БРВ и ОВ.

В ходе нашего исследования установлено, что показатели динамики снижения опухолевого клона в ранний постиндукционный период (уровень бластных клеток в костном мозге, снижение уровня экспрессии гена *WT1* на 14–16-й день) являются важными предикторами как вероятности достижения ПР, так и ожидаемой продолжительности жизни. При этом уровень снижения экспрессии гена *WT1* оказался более чувствительным маркером БРВ в сравнении с числом бластных клеток в костном мозге. Кроме того, установлено, что статус МОБ в поздний постиндукционный период оказывает влияние на медиану как БРВ, так и ОВ.

Согласно российским и международным рекомендациям, отсутствие ремиссии после курсов стандартной индукционной терапии «7+3» и развитие рецидивов ОМЛ в настоящее время служат показанием к выполнению аллоТКМ. Учитывая высокую эффективность и приемлемый профиль токсичности, FLAG/FLAG-Ida может рассматриваться как оптимальный режим индукционной терапии. В нашей группе пациентов возможность проведения аллоТКМ была лимитирована в отдельных случаях отсутствием донора, сопутствующими заболеваниями и возрастом больного. Группа пациентов с рецидивами/рефрактерным ОМЛ оказалась гетерогенной, достижение ответа и его продолжительность зависели от динамики объема опухоли как в ранний, так и поздний индукционный период. Полученные нами данные, а именно выявленные маркеры риска утраты ответа, позволяют выработать стратегию терапии на постиндукционном этапе, в т. ч. планировать оптимальные сроки выполнения и вид аллоТКМ: проведение гаплоидентичной трансплантации в более ранние сроки при отсутствии полностью совместимого родственного донора либо возможность поиска и ожидания совместимого неродственного донора.

## КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Концепция и дизайн:** И.Г. Будаева, Л.Л. Гиршова, А.Ю. Зарицкий.

**Сбор и обработка данных:** И.Г. Будаева, Л.Л. Гиршова.

**Анализ и интерпретация данных:** И.Г. Будаева, Л.Л. Гиршова, Д.В. Зайцев, А.Ю. Зарицкий.

**Подготовка рукописи:** И.Г. Будаева, Л.Л. Гиршова.

**Предоставление материалов исследования:** К.В. Богданов, О.С. Писоцкая, Ю.В. Миролюбова, Т.С. Никулина, В.В. Иванов, Е.Г. Овсянникова, Е.Н. Горюнова, О.В. Кулемина, Д.В. Моторин, Р.Ш. Бадаев, Д.Б. Замоева.

**Окончательное одобрение рукописи:** А.Ю. Зарицкий.

**Административная поддержка:** Ю.А. Алексеева.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L. Genomic classification and prognosis in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2016;374(23):2209–21. doi: 10.1056/NEJMoa1516192.
- Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, et al. Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2003;21(24):4642–9. doi: 10.1200/JCO.2003.04.036.
- Dohner H, Elihu H, Estey EH, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*. 2010;115(3):453–74. doi: 10.1182/blood-2009-07-235358.
- Othus M, Appelbaum FR, Petersdorf SH, et al. Fate of patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia who fail primary induction therapy. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(3):559–64. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.10.025
- Dohner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017;129(4):424–47. doi: 10.1182/blood-2016-08-733196.
- Elihu H, Estey E. Acute myeloid leukemia: 2016 Update on risk-stratification and management. *Am J Hematol*. 2016;91(8):824–46. doi: 10.1002/ajh.24439.
- Biggs JC, Horowitz MM, Gale RP, et al. Bone marrow transplants may cure patients with acute leukemia never achieving remission with chemotherapy. *Blood*. 1992;80(4):1090–3.
- Duval M, Klein JP, He W, et al. Hematopoietic stem-cell transplantation for acute leukemia in relapse or primary induction failure. *J Clin Oncol*. 2010;28(23):3730–8. doi: 10.1200/JCO.2010.28.8852.
- Sureda A. Indications for allo- and auto-SCT for hematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(8):1037–56. doi: 10.1038/bmt.2015.6.
- Araki D, Othus M, Walter RB, et al. Effect of allogeneic hematopoietic cell transplantation in first complete remission on post-relapse complete remission rate and survival in acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2015;100(7):254–6. doi: 10.3324/haematol.2014.
- Delia M, Pastore D, Carluccio P, et al. FLAG-Ida regimen as bridge therapy to allotransplant in refractory/relapsed AML patients. *Clin Lymph Myel Leuk*. 2017;17(11):767–773. doi: 10.1016/j.cml.2017.06.002.
- Estey E, Kornblau S, Pierce S, et al. A stratification system for evaluating and selecting therapies in patients with relapsed or primary refractory acute myelogenous leukemia. *Blood*. 1996;88(2):756.
- Estey EH. Treatment of relapsed and refractory acute myelogenous leukemia. *Leukemia*. 2000;14(3):476–9. doi: 10.1038/sj.leu.2401568.
- Estey E, Plunkett W, Gandhi V, et al. Fludarabine and arabinosylcytosine therapy for refractory and relapsed acute myelogenous leukemia. *Leuk Lymphoma*. 1993;9(4–5):343–50. doi: 10.3109/10428199309148532.
- Estey E, Thall P, Andreeff M, et al. Use of granulocyte colony-stimulating factor before, during, and after fludarabine plus cytarabine induction therapy of newly diagnosed acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndromes; comparison with fludarabine plus cytarabine without granulocyte colony-stimulating factor. *J Clin Oncol*. 1994;12(4):671–8. doi: 10.1200/JCO.1994.12.4.671.
- Gandhi V, Plunkett W. Modulation of arabinosyl nucleoside metabolism by arabinosyl nucleotides in human leukemia cells. *Cancer Res*. 1988;48(2):329–34.
- Gandhi V, Estey E, Keating MJ, et al. Fludarabine potentiates metabolism of cytarabine in patients with acute myelogenous leukemia during therapy. *J Clin Oncol*. 1993;11(1):116–24. doi: 10.1200/JCO.1993.11.116.
- Anderlini P. Idarubicin cardiotoxicity: A retrospective study in acute myeloid leukemia and myelodysplasia. *J Clin Oncol*. 1995;13(11):2827–34. doi: 10.1200/JCO.1995.13.11.2827.
- Lee SR, Yang DH, Ahn JS, et al. The Clinical outcome of FLAG chemotherapy without idarubicin in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *J Korean Med Sci*. 2009;24(3):498–503. doi: 10.3346/jkms.2009.24.3.498.
- Dohner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2015;373(12):1136–52. doi: 10.1056/NEJMra1406184.
- Patel JP, Gonen M, Figueroa ME. Prognostic Relevance of Integrated Genetic Profiling in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2012;366(12):1079–89. doi: 10.1056/NEJMoa1112304.
- Wang LJ, Ding J, Zhu CY, et al. Clinic outcome of FLAG regimen treating patients with refractory and relapse acute myeloid leukemia. *J Exper Hematol*. 2016;24(1):19–24.
- Jun Xu, Ting-Ting Lv, Xiao-Fen Zhou, et al. Efficacy of common salvage chemotherapy regimens in patients with refractory or relapsed acute myeloid leukemia: A retrospective cohort study. *Medicine*. 2018;97(39):e12102. doi: 10.1097/MD.00000000000012102.
- Breems DA, Van Putten WL, Huijgens PC, et al. Prognostic index for adult patients with acute myeloid leukemia in first relapse. *J Clin Oncol*. 2005;23(9):1969–78. doi: 10.1200/jco.2005.06.027.
- Carella AM, Cascavilla N, Greco MM, et al. Treatment of poor risk acute myeloid leukemia with fludarabine, cytarabine and G-CSF (flag regimen): a single center study. *Leuk Lymphoma*. 2001;40(3–4):295–303. doi: 10.3109/10428190109057928.
- Ferrara F, Palmieri S, Pocali B, et al. De novo acute myeloid leukemia with multilineage dysplasia: treatment results and prognostic evaluation from a series of 44 patients treated with fludarabine, cytarabine and G-CSF (FLAG). *Eur J Haematol*. 2002;68(4):203–9. doi: 10.1034/j.1600-0609.2002.01651.x.
- Bao Y, Zhao J, Li Z-Z. Comparison of clinical remission and survival between CLAG and FLAG induction chemotherapy in patients with refractory or relapsed acute myeloid leukemia: a prospective cohort study. *Clin Transl Oncol*. 2018;20(7):870–80. doi: 10.1007/s12094-017-1798-8.
- Ossenkuppele GJ, Graveland WJ, Sonneveld P, et al. The value of fludarabine in addition to ARA-C and G-CSF in the treatment of patients with high-risk myelodysplastic syndromes and AML in elderly patients. *Blood*. 2004;103(8):2908–13. doi: 10.1182/blood-2003-07-2195.
- Jackson G, Taylor P, Smith GM, et al. A multicentre, open, non-comparative phase II study of a combination of fludarabine phosphate, cytarabine and granulocyte colony-stimulating factor in relapsed and refractory acute myeloid leukaemia and de novo refractory anaemia with excess of blasts in transformation. *Br J Haematol*. 2001;112(1):127–37. doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.02551.x.
- Virchis A, Koh M, Rankin P, et al. Fludarabine, cytosine arabinoside, granulocyte-colony stimulating factor with or without idarubicin in the treatment of high risk acute leukaemia or myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*. 2004;124(1):26–32. doi: 10.1046/j.1365-2141.2003.04728.x.
- Farooq MU, Mushtaq F, Farooq A, et al. FLAG vs FLAG-IDA: outcomes in relapsed/refractory acute leukemias. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2019;83(2):1–2. doi: 10.1007/s00280-019-03792-8.
- Heinemann V, Murray D, Walters R, et al. Mitoxantrone-induced DNA damage in leukemia cells is enhanced by treatment with high-dose arabinosylcytosine. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1988;22(3):205–10. doi: 10.1007/BF00273412.
- Loughlin S, Gandhi V, Plunkett W, et al. The effect of 9-beta-D-arabinofuranosyl-2-fluoroadenine and 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine on the cell cycle distribution, topoisomerase II level, mitoxantrone cytotoxicity, and DNA strand break production in K562 human leukemia cells. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1996;38(3):261–8. doi: 10.1007/s002800050480.
- Gabert J, Beillard E, Velden VH, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia – a Europe Against Cancer program. *Leukemia*. 2003;17(12):2318–57. doi: 10.1038/sj.leu.2403135.
- Willasch AM, Gruhn B, Coliva T, et al. Combined usage of Wilms' tumor gene quantitative analysis and multiparameter flow cytometry for minimal residual disease monitoring of acute myeloid leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cells transplantation. *Exp Ther Med*. 2018;15(2):1403–9. doi: 10.3892/etm.2017.5547.
- Богданов К.В., Моторин Д.В., Никулина Т.С. и др. Мониторинг донорского химеризма и минимальной остаточной болезни у онкогематологических больных после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Биомедицинская химия*. 2017;63(6):570–81. doi: 10.18097/PBMC20176306570.
- [Bogdanov KV, Motorin DV, Nikulina TS, et al. Donor chimerism and minimal residual disease monitoring in leukemia patients after allo-HSCT. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2017;63(6):570–81. doi: 10.18097/PBMC20176306570. (In Russ)]
- Pastore D, Specchia G, Carluccio P, et al. FLAG-IDA in the treatment of refractory/relapsed acute myeloid leukemia: single-center experience. *Ann Hematol*. 2003;82(4):231–5. doi: 10.1007/s00277-003-0624-2.
- Montillo M, Mirto S, Petti MC, et al. Fludarabine, cytarabine, and G-CSF (FLAG) for the treatment of poor risk acute myeloid leukemia. *Am J Hematol*. 1998;58(2):105–9. doi: 10.1002/(sici)1096-8652(199806)58:2<105::aid-ajh3>3.0.co;2-w.
- Nokes TJ, Johnson S, Harvey D, et al. FLAG is a useful regimen for poor prognosis adult myeloid leukaemias and myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma*. 1997;27(1–2):93–101. doi: 10.3109/10428199709068275.