

ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕРАПИИ НАТИВНОЙ E. COLI-АСПАРАГИНАЗОЙ В ПРОТОКОЛЕ ALL-MB 2002 У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ СТАНДАРТНОЙ ГРУППЫ РИСКА

М.Ю. Горошкова¹, Ю.В. Румянцева², О.В. Алейникова³, С.А. Дудкин¹, Л.Г. Фечина⁴,
А.В. Шамардина⁵, О.В. Стрелева⁴, К.Л. Кондратчик⁶, Л.М. Минкина⁷, Е.С. Лапотентова³,
Е.В. Инюшкина⁸, О.Б. Козлова⁹, Е.В. Жуковская¹⁰, О.П. Хлебникова⁴, Е.В. Башарова¹⁰,
В.Н. Тимофеева¹¹, Г.П. Павлова¹², В.Д. Злобина¹³, О.А. Утробина¹³, Е.С. Банщикова¹⁴,
К.С. Асланын¹⁵, Е.В. Кондакова¹⁶, Е.В. Целуосова¹⁷, Н.В. Мякова^{2,18}, Т.В. Турובה¹⁹, О.В. Рыскаль²⁰,
О.Ю. Фукс^{2,6}, Н.Ф. Чипсанова²¹, В.В. Лебедев²², С.Р. Варфоломеева², А.И. Карачунский²

¹Городская детская клиническая больница №4, Новокузнецк; ²ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии, Москва; ³РНПЦ детской онкологии и гематологии, Минск, Республика Беларусь; ⁴Центр онкологии и гематологии Областной детской клинической больницы №1, Екатеринбург; ⁵Нижегородская областная детская клиническая больница; ⁶Морозовская детская городская клиническая больница, Москва; ⁷Детская городская клиническая больница, Владивосток; ⁸Московский областной онкологический диспансер, Балашиха; ⁹Областная клиническая больница, Иваново; ¹⁰Челябинская областная детская клиническая больница; ¹¹Ульяновская областная детская клиническая больница; ¹²Республиканская детская клиническая больница МЗСР Чувашской Республики, Чебоксары; ¹³Центральная районная больница, Новосибирск; ¹⁴Республиканская больница №1, Национальный центр медицины, Якутск; ¹⁵Областная детская клиническая больница, Ростов-на-Дону; ¹⁶Сургутская окружная клиническая больница УХМАЮ — Югры; ¹⁷Кировский НИИ гематологии и переливания крови; ¹⁸Республиканская детская клиническая больница, Москва; ¹⁹Областная детская клиническая больница, Архангельск; ²⁰Областная детская клиническая больница, Пермь; ²¹Коми республиканский кардиологический диспансер, Сыктывкар; ²²Детская краевая клиническая больница, Краснодар

В работе представлены результаты мультицентрового рандомизированного исследования эффективности двух дозовых режимов COLI-ASP у детей и подростков, больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) стандартной группы риска (СГР), при лечении по протоколу ALL-MB-2002. Основная цель исследования — выяснить, возможно ли снизить дозу COLI-ASP без потери эффективности терапии. В анализ включены первичные больные с ОЛЛ, зарегистрированные в 36 клиниках России и Беларуси, вошедшие в исследование в период с 01.05.2002 г. по 10.10.2006 г. Из 819 пациентов, включенных в анализ, 414 человек получали COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м² (контрольная группа), а 405 детей — в дозе 5000 ЕД/м² (экспериментальная группа). Статистически значимых различий между пациентами 2 групп по полу, возрасту, исходному лейкоцитозу и размеру селезенки обнаружено не было. Результаты исследования показали отсутствие статистически и клинически значимых различий в показателях выживаемости бессобытийной — БСВ, общей — ОВ и безрецидивной — БРВ и частоте рецидивов при использовании двух дозовых режимов COLI-ASP. Однако летальность в ремиссии больных контрольной группы оказалась в 2 раза выше, чем таковая у пациентов экспериментальной группы ($p=0,02$). При детальном анализе исходов терапии в отдельных подгруппах больных также не выявлено каких-либо различий между контрольной и экспериментальной ветвями исследования. Мультифакторный регрессионный анализ по Коксу показал, что факторами, влияющими на БСВ и БРВ, являются инициальные размеры селезенки, инициальный лейкоцитоз, возраст и ответ на лечение в периоде индукции, но не доза E.Coli аспарагиназы. Нами также обнаружено, что среди пациентов СГР имеется подгруппа больных без факторов риска, для которых уменьшение дозы COLI-ASP может привести к существенному улучшению выживаемости за счет снижения токсичности и летальности в ремиссии.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, дети, L-аспарагиназа, эффективность, токсичность

E. COLI ASPARAGINASE THERAPY OPTIMIZATION IN CHILDREN WITH STANDARD RISK ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA TREATED ACCORDING ALL-MB 2002 PROTOCOL

М.Ю. Goroshkova¹, Yu. V. Rumyantseva², O. V. Aleinikova³, S. A. Dudkin¹, L. G. Fechina⁴, A. V. Shamardina⁵, O. V. Strenева⁴, K. L. Kondratichuk⁶, L. M. Minkina⁷,
E. S. Lapotentova³, E. V. Inyushkina⁸, O. B. Kozlova⁹, E. V. Zhukovskaya¹⁰, O. P. Khlebnikova⁴, E. V. Basharova¹⁰, V. N. Timofeeva¹¹, G. P. Pavlova¹², V. D. Zlobina¹³,
O. A. Utrobina¹³, E. S. Bانشchikova¹⁴, K. S. Aslanyan¹⁵, E. V. Kondakova¹⁶, E. V. Tselousova¹⁷, N. V. Myakova^{2,18}, T. V. Turobova¹⁹, O. V. Ryskal²⁰, O. Yu. Fuks^{2,6},
N. F. Chipsanova²¹, V. V. Lebedev²², S. R. Varfolomeeva², A. I. Karachunsky²

¹Clinical Children Hospital №4, Novokuznetsk, Russia; ²Federal Research Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia; ³Republic Centre for Paediatric Oncology and Haematology, Minsk, Belarus; ⁴Regional Centre for Paediatric Oncology and Haematology, Yekaterinburg, Russia; ⁵Regional Children Hospital, N. Novgorod, Russia; ⁶Morozov Children Clinical Hospital, Moscow, Russia; ⁷Clinical Children Hospital, Vladivostok, Russia; ⁸Moscow District Oncology Dispenser, Balaschicha, Russia; ⁹Regional Clinical Hospital, Ivanovo, Russia; ¹⁰Regional Children Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia; ¹¹Regional Children Clinical Hospital, Ulyanovsk, Russia; ¹²Republic Children Clinical Hospital, Cheboksary, Russia; ¹³Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia; ¹⁴Republic Hospital №1 — National Medicine Centre, Yakutsk, Russia; ¹⁵Regional Children Clinical Hospital, Rostov-on-Don, Russia; ¹⁶Regional Children Clinical Hospital, Surgut, Russia; ¹⁷Kirov Research Centre of Hematology and Transfusiology, Kirov, Russia; ¹⁸Russian Children Clinical Hospital, Moscow, Russia; ¹⁹Regional Children Clinical Hospital, Archangelsk, Russia; ²⁰Regional Children Clinical Hospital, Perm, Russia; ²¹Regional cardiological dispenser, Syktyvkar, Russia; ²²Regional Children Clinical Hospital, Krasnodar, Russia

The paper presents the results of a multicenter randomized study of two-dose COLI-ASP regimens in therapy of consolidation of standard risk-group (SRG) children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia (ALL) treated by the ALL-MB-2002 protocol. The principal aim of the study was to elucidate whether the dose of COLI-ASP might be reduced without losing the efficiency of therapy. The analysis covered primary ALL patients notified at 36 clinics of Russia and Belarus, enrolled for the study in the period of May 1, 2002, to October 10, 2006. Out of 819 patients to be examined, 414 received COLI-ASP in a dose of 10,000 U/m² (a control group), and 405 children took it in a dose of 5,000 U/m² (a study group). No statistically significant differences were found between the patients in gender, age, baseline leukocytosis, and spleen size. The study showed no statistically and clinically significant differences in event-free, overall, and relapse-free survival (EFS, OS, and RFS, respectively) and relapse rates with the use of two-dose COLI-ASP regimens. However, in the control group, the death rate in remission was twice greater than that in the study group ($p = 0.02$). Detailed analysis of the outcomes of therapy in some subgroups revealed no differences between the control and study groups. The Cox multiple regression analysis has indicated that the factors influencing EFS and RFS are the baseline sizes of the spleen, baseline leukocytosis, age, and a response to treatment in the period of induction, rather than the dose of E. coli asparaginase. The authors have also found that among the SRG patients, there is a subgroup of patients without risk factors, in whom the reduction in the COLI-ASP dose may substantially increase survival rates, by lowering toxicity and mortality in remission.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, children, L-asparaginase, efficacy, toxicity

L-аспарагиназа (ASP), получаемая из определенных штаммов кишечной палочки (COLI-ASP), — оригинальный препарат биологического происхождения, используемый в лечении острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у детей с 1970 г. [1, 2]. COLI-ASP катализирует гидролиз L-аспарагина (ASN) до аспартата и аммония, в результате чего создаются низкие уровни ASN в плазме и спинномозговой жидкости. В свою очередь, дефицит ASN ингибирует синтез белка в лейкоэмических клетках и вызывает их гибель. При этом нормальные клетки менее чувствительны к дефициту ASN из-за своей способности синтезировать его путем активации фермента ASN [3]. Вызывая выраженный противоопухолевый эффект, COLI-ASP по своему механизму действия является ферментом, а не «настоящим» цитостатиком и обладает минимальной миелотоксичностью.

Начало интенсивному изучению аспарагиназы положил в 1953 г. J.G. Kidd [4], но первые работы по применению COLI-ASP в лечении лейкозов и лимфом у человека появились в 1967 г. [5]. При этом COLI-ASP применялась вначале только при лечении рецидивов лейкоза [5, 6], затем появились сообщения об успешном использовании ее для лечения первичного ОЛЛ [5].

Первоначально COLI-ASP входила в состав индукционной терапии в виде коротких 2—3-недельных курсов с интервалом в 2—3 дня, что позволило увеличить частоту достижения полных ремиссий с 85—90 до 98% [7]. Так, в индукции ремиссии протоколов группы BFM (Берлин—Франкфурт—Мюнстер) COLI-ASP использовалась в разовой дозе 10 000 ЕД/м² 1 раз в 3 дня в количестве 8 введений [8].

Значительные достижения в оптимизации терапии COLI-ASP были сделаны благодаря исследованиям Онкологического института Дана-Фарбер США (Dana Farber Cancer Institute — DFCI), когда в рамках протокола 77-01 был предложен режим длительного применения COLI-ASP. Разовые дозы препарата, используемые в протоколах DFCI, были высокими и составляли 50 000 ЕД/м² для детей младше 6 лет и 25 000 ЕД/м² — у более старших детей, при этом COLI-ASP вводили еженедельно до достижения кумулятивной дозы доксорубина. Оказалось, что в группе детей, получавших длительную терапию COLI-ASP, 5-летняя бессобытийная выживаемость (БСВ) составила 72%, в то время как в группе детей, не получавших такого лечения, только 47%. Высокую эффективность программы авторы связывали с режимом длительного применения и большой кумулятивной дозой COLI-ASP [9]. Однако рандомизированных исследований различных дозовых режимов COLI-ASP DFCI никогда не проводил.

При использовании высоких разовых доз COLI-ASP отмечаются такие тяжелые побочные эффекты, как упорная рвота, панкреатиты, нарушение белково-синтетической функции печени и неврологические осложнения.

В 1994 г. при фармакокинетическом мониторингировании COLI-ASP фирмы MEDAC в исследованиях группы BFM было показано, что полная деплеция ASN как в плазме, так и в ликворе наблюдалась при применении COLI-ASP в дозах 10 000 ЕД/м², 5000 ЕД/м² и даже 2500 ЕД/м², но при использовании дозы 2500 ЕД/м² терапевтическая активность COLI-ASP в плазме (> 100

ЕД/л) была достигнута лишь у половины пациентов, поэтому в индукции ремиссии протоколов BFM, начиная с 1995 г., COLI-ASP стала применяться в разовой дозе 5000 ЕД/м² [10]. Необходимо отметить, что все фармакокинетические исследования проводились на небольших группах больных без учета различных факторов риска. В подавляющем большинстве случаев глубина и длительность деплеции ASN не сопоставлялись с результатами терапии. Несмотря на это, никаких больших контролируемых мультицентровых исследований различных дозовых режимов ASP в мире до сих пор проведено не было.

В 1991 г. при создании первого отечественного протокола для лечения ОЛЛ у детей «Москва—Берлин-91» (ALL-MB-91) [11,12] был использован анализ результатов исследований терапии ОЛЛ, проводимых основными кооперативными группами мира. Было решено одним из основных терапевтических компонентов в периоде консолидации сделать режим длительного применения COLI-ASP. Первоначально в московском моноцентровом пилотном исследовании в 1991—1992 гг. COLI-ASP использовалась в дозе 25 000 ЕД/м². Однако из-за высокой частоты развития панкреонекрозов и других токсических осложнений доза COLI-ASP была снижена и в консолидации протокола ALL-MB-91 использовался режим еженедельного введения COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м². Длительный режим применения COLI-ASP позволил полностью отказаться от элементов высокодозной химиотерапии (ХТ), при этом в многоцентровом рандомизированном исследовании эффективность нового протокола ALL-MB-91 оказалась такой же, как и модифицированного оригинального протокола ALL-BFM-90m, и между двумя протоколами не наблюдалось различий по показателям выживаемости за 9 лет наблюдения [13].

Целью дальнейшей оптимизации терапии по протоколам серии «Москва—Берлин» в России и Беларуси являлось снижение стоимости ХТ и уменьшение ее токсичности. Сокращение дозы COLI-ASP может значительно снизить токсичность у определенных подгрупп больных, в частности, риск развития панкреатита, осложнений со стороны центральной нервной системы (ЦНС) и, возможно, аллергических реакций без потери эффективности терапии, а также уменьшить затраты на лечение. Поэтому в рандомизированном исследовании ALL-MB-2002 было решено разделить группу пациентов стандартного риска (СГР) на 2 подгруппы и в одной из них снизить дозу COLI-ASP с 10 000 до 5000 ЕД/м², чтобы затем сравнить 2 группы больных по токсическим проявлениям, частоте возникновения рецидивов, БСВ, общей (ОВ) и безрецидивной (БРВ) выживаемости.

В данной статье представлены предварительные результаты этого исследования в контексте исходов терапии как для всех больных, так и для определенных подгрупп пациентов.

Материалы и методы

В анализ включены первичные больные СГР с ОЛЛ, зарегистрированные в 36 клиниках России и Беларуси, вступившие в исследование в период с 01.05.2002 г. по 10.10.2006 г. и рандомизированные на получение одного из 2 режимов COLI-ASP в исследовании ALL-MB-2002.

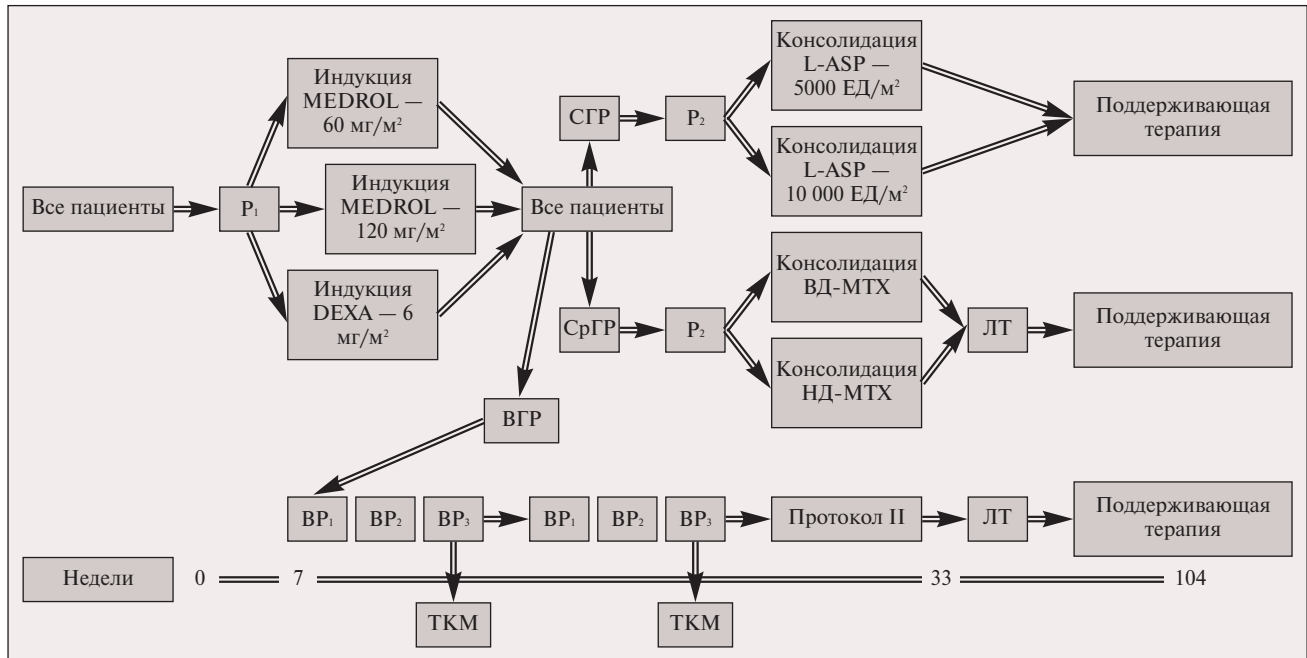


Рис. 1. Общая схема протокола ALL-MB-2002

P₁ — рандомизация 1; P₂ — рандомизация 2; СРГР — группа промежуточного риска; ВГР — группа высокого риска; ВД-MTX — высокие дозы метотрексата (2000 мг/м²); НД-MTX — низкие дозы MTX (30 мг/м²); ЛТ — краниальное облучение; BP₁, BP₂, BP₃ — блоки высокого риска; DEXA — дексаметазон; MEDROL — метилпреднизолон

Критериями включения пациентов в анализ являлись:

- возраст в момент постановки диагноза от 1 года до 18 лет;
- соответствие критериям СРГ (инициальный лейкоцитоз менее $50,0 \times 10^9/\text{л}$; возраст старше 1 года; отсутствие инициального поражения ЦНС; не-Т-клеточная иммунология и/или отсутствие инициального поражения переднего средостения; отсутствие транслокаций t(4;11) и/или t(9;22); достижение ремиссии на 36-й день терапии);
- согласие родителей на рандомизацию;
- полное выполнение этапа консолидации в соответствии с результатами рандомизации.

Диагностика и определение событий

• Всем больным в момент постановки диагноза проводилось стандартное клиническое обследование, включающее подробный осмотр с измерением размеров печени и селезенки (пальпаторно, от края реберной дуги, с использованием сантиметровой линейки), общий и биохимический анализ крови.

• Диагноз ОЛЛ устанавливали на основании морфологического, цитохимического и иммунологического исследования костного мозга пациентов при наличии >25% бластных клеток с лимфобластными цитохимическими и иммунологическими характеристиками опухолевого субстрата.

• Ремиссию диагностировали при наличии в костномозговом пунктате < 5% бластных клеток при полиморфной цитологической карти-

не костного мозга, нормальном общем анализе крови и отсутствии экстрамедуллярных проявлений лейкоза.

• Рецидив регистрировали при наличии >25% бластных клеток в костном мозге или при поражении ЦНС или других экстрамедуллярных проявлениях лейкоза после констатации ремиссии. Пациенту, у которого в костном мозге обнаруживалось >5%, но <25% бластных клеток, проводились повторные исследования костномозгового пунктата.

• Смерть в ремиссии — смерть от различных причин при отсутствии признаков ОЛЛ.

• Вторая опухоль — развитие второго онкологического заболевания после окончания лечения или на фоне ХТ по поводу ОЛЛ.

• Пациента считали «потерянным» для наблюдения (lost to follow-up — LFU) при отсутствии информации о нем в течение 6 мес и более.

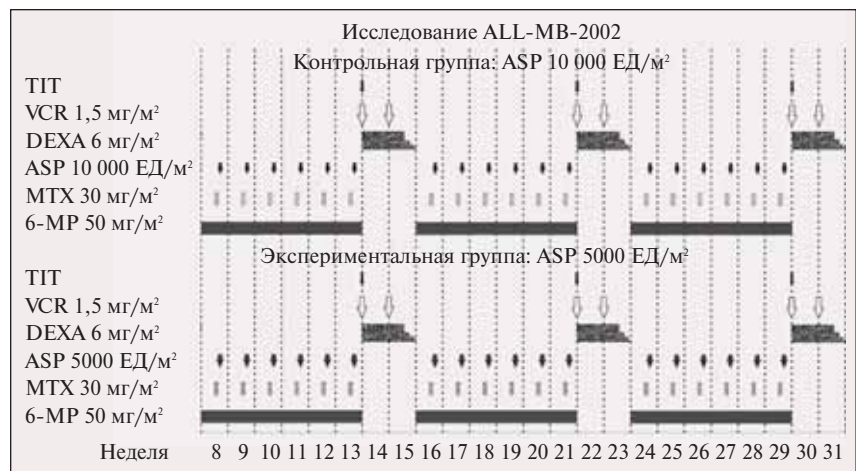


Рис. 2. Схема терапии консолидации для пациентов СРГ (6-MP — 6-меркаптопурин)

Таблица 1. Включение рандомизированных больных в анализ по принципу *Treatment received*

Показатель	Всего	COLI-ASP 10 000 ЕД/м ²	COLI-ASP 5000 ЕД/м ²	p
Рандомизированные больные	861	436	425	
Переход на высокие дозы MTX — 2 г/м ²	19	12	7	0,356
Переход на PEG-ASP	9	8	1	0,0382
Изменение дозы COLI-ASP с 5000 на 10 000 ЕД/м ²	12	0	12	—
с 10 000 на 5000 ЕД/м ²	2	2	0	—
Рандомизированные больные, включенные в анализ результатов	819	414	405	

Необходимо отметить, что определение точного иммунофенотипического варианта ОЛЛ методом проточной цитофлуориметрии в исследовании ALL-MB-2002 еще не являлось строго обязательным для всех больных. В ряде случаев при отсутствии технической возможности проведения проточной цитофлуориметрии для стратификации пациента в СГР, помимо соответствия другим клиническим критериям, было достаточным отсутствие рентгенологических признаков поражения переднего средостения.

Терапия больных СГР

Схема протокола ALL-MB-2002 представлена на рис. 1. Согласно этому протоколу, выбор терапии ОЛЛ определяется группой риска. Для больных СГР и СрГР лечение состоит из фаз индукции ремиссии, постиндукционной консолидирующей терапии и поддерживающей терапии. Все больные в момент регистрации в исследовании независимо от группы риска рандомизировались на один из режимов стероидной терапии в индукции (DEXA в дозе 6 мг/м² в сутки и MEDROL в дозе 60 или 120 мг/м² в сутки). Индукционная терапия в СГР продолжалась с 1-й по 7-ю неделю и включала 6 еженедельных введений винкристина (VCR) в дозе 1,5 мг/м² и интратекальной терапии, однократное применение рубомицина (DNR) в дозе 45 мг/м² и ежедневный прием соответствующего глюкокортикоида в зависимости от рукава рандомизации. После достижения ремиссии больные получали один из режимов консолидирующей терапии с COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м² (контрольная группа) или 5000 ЕД/м² (экспериментальная группа). Схема терапии консолидации представлена на рис. 2. Консолидация состоит из 3 фаз: S₁, S₂ и S₃. Каждая фаза представляет собой

6-недельную терапию 6-МР ежедневно и еженедельными введениями MTX и COLI-ASP с последующей 2-недельной реиндукцией (DEXA + VCR + интратекальное введение 3 препаратов). COLI ASP вводили внутримышечно 1 раз в неделю через сутки после введения MTX. В качестве COLI-ASP использовалась COLI-ASP фирмы MEDAC («Аспарагиназа медак», Германия).

В случае возникновения аллергических реакций и невозможности дальнейшего применения COLI-ASP применялась пегилированная ASP (PEG-ASP) в дозе 1000 ЕД/м² 1 раз в неделю. При развитии аллергических реакций на PEG-ASP препарат отменяли совсем, если было введено 12 доз ASP и более в пересчете на COLI-ASP, или пациенту проводили терапию с использованием высокодозового метотрексата (ВД-MTX), если больной получил менее 12 введений COLI-ASP.

После завершения консолидации пациентам назначалось в течение 1,5 года стандартное поддерживающее лечение (6-МР и MTX), прерываемое каждые 6 нед реиндукционными курсами VCR и DEXA. Если в связи с невозможностью дальнейшего применения COLI-ASP пациента переводили на терапию ВД-MTX, продолжительность поддерживающей терапии удлинялась таким образом, чтобы общая длительность лечения составила не менее 2 лет.

Таблица 2. Включение пациентов в исследование и результаты рандомизации

Показатель	Число больных
Всего пациентов СГР	900
Смерть в индукции	31
Отказ от рандомизации	8
Рандомизированные пациенты	861
COLI-ASP 10 000 ЕД/м ²	436
COLI-ASP 5000 ЕД/м ²	425

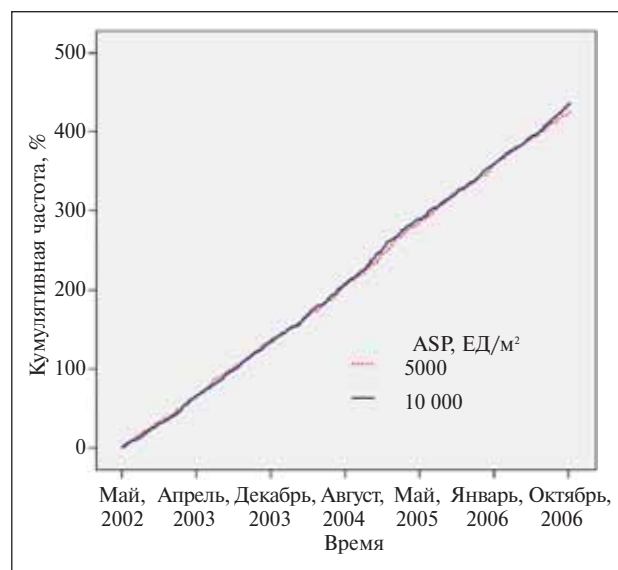
Рис. 3 Набор пациентов СГР на различные рукава рандомизации с ASP 10 000 и 5000 ЕД/м²

Таблица 3. Клинические характеристики больных и исходы лечения

Рукав рандомизации	Число больных			БСВ, %			БРВ, %		
	10 000*	5000**	pFisher	10 000*	5000**	plog-rank	10 000*	5000**	plog-rank
Всего	414	405		79±2	79±3	0,45	84±2	82±3	0,74
Пол									
мальчики	228	211	0,40	74±4	80±4	0,05	80±4	82±4	0,42
девочки	186	194		84±3	78±4	0,32	89±3	82±4	0,15
Возраст									
> 1 года и < 10 лет	327	311	0,50	82±3	81±3	0,87	87±3	85±3	0,54
≥10 лет	87	94		68±6	68±10	0,24	74±6	69±10	0,70
Инициальный лейкоцитоз/мм ³									
<10 тыс.	270	255		79±3	82±3	0,37	85±3	85±3	0,94
≥10 и < 20 тыс.	72	90		78±6	76±6	0,75	83±5	78±7	0,96
≥20 и <30 тыс.	33	35		85±6	73±9	0,57	91±5	78±9	0,47
≥30 тыс.	39	25		71±9	70±1	0,96	75±9	70±11	0,62
Селезенка									
<4 см	307	311	0,42	81±3	82±3	0,34	87±2	85±3	0,84
≥4 см	107	94		71±6	69±6	0,64	76±6	70±8	0,27
Ответ на 8-й день									
<1000/мкл	390	384	0,58	80±2	79±3	0,74	86±2	82±3	0,26
≥1000/мкл	17	13		49±1	76±1	0,17	49±13	82±12	0,073
Ответ на 15-й день									
<10%	339	326	0,47	81±3	81±3	0,39	87±3	84±3	0,58
≥10%	71	78		71±6	69±6	0,86	73±6	75±6	0,75
Стероид в индукции									
DEXA-6	184	182	0,89	80±3	79±4	0,39	86±3	81±4	0,80
MEDROL-60	201	178	0,21	77±4	79±4	0,62	82±4	82±4	0,996
MEDROL-120	28	42	0,08	80±8	79±7	0,82	86±8	83±6	0,59
Клиники									
1-я группа	158	183	0,047	79±4	79±4	0,78	80±4	80±4	0,71
2-я группа	256	222		79±3	80±4	0,53	88±3	85±3	0,42
Инициальный лейкоцитоз***, мм ³ и селезенка <4 см									
<30 000	237	252	0,08	85±3	85±3	0,30	90±3	86±3	0,72
<20 000	219	229	0,53	84±3	87±3	0,10	89±3	88±3	0,63
<10 000	172	177	0,93	82±4	88±4	0,044	87±4	90±3	0,42

*10 000 — COLI-ASP 10 000 ЕД/м²; **5000 — COLI-ASP 5000 ЕД/м²; ***— только больные с доказанным не-Т-клеточным иммунофенотипом.

Анализ результатов

Анализ результатов лечения и выживаемости в настоящей работе был проведен по принципу Treatment

received analysis, т.е. в статистическую обработку были включены только больные, полностью получившие все необходимое лечение в соответствии с рукавом рандоми-

Таблица 4. Результаты терапии в зависимости от дозы COLI-ASP

Показатель	Контрольная группа (10 000 ЕД/м ²)		Экспериментальная группа (5000 ЕД/м ²)		p
	абс.	%	абс.	%	
Общее число больных в анализе	414	100	405	100	—
Смерть в ремиссии	26	6,3	12	3,0	0,0299
Рецидив	45	10,9	50	12,3	0,5150
изолированный костномозговой	20	4,8	27	6,7	0,2941
изолированный ЦНС	11	2,7	6	1,5	0,3277
комбинированный костномозговой + ЦНС	6	1,4	14	3,5	0,0720
Другие	8	1,9	3	0,7	0,2237
Вторая опухоль	0	0	2	0,5	0,2442
LFU	16	3,9	18	4,4	0,7281
ППР	327	79,0	323	79,8	0,7962

зации (табл. 1). База данных исследования для анализа была «заморожена» на 1.08.2008 г.

Результаты терапии ОЛЛ оценивали по частоте достижения полных ремиссий, количеству рецидивов, летальных исходов в полной ремиссии и числу пациентов, находящихся в полной продолжительной ремиссии (ППР), а также по показателям ОВ, БСВ и БРВ, рассчитанным по методу Каплана — Майера. При оценке БСВ событиями считались смерть в ремиссии, рецидив, вторая опухоль. Поскольку в анализ включены только пациенты, достигшие ремиссии к 36-му дню лечения и получавшие консолидирующую терапию в зависимости от рукава рандомизации, такие события, как смерть в индукции и отсутствие ответа на терапию, у них не зарегистрированы.

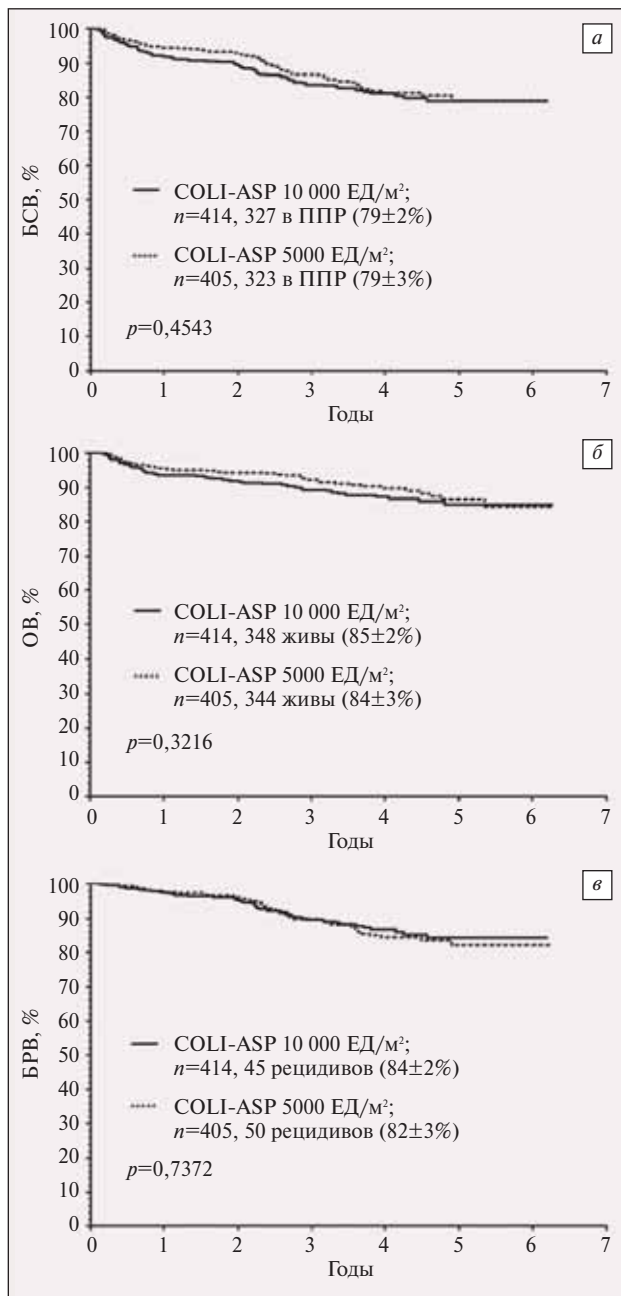


Рис. 4. Выживаемость пациентов СГР в исследовании ALL-MB-2002 в зависимости от рукава рандомизации: а — БСВ; б — ОВ; в — БРВ

При оценке ОВ событием являлась только смерть больного по любой причине, при оценке БРВ — только регистрация рецидива ОЛЛ.

Оценка раннего ответа на терапию проводилась по числу бластных клеток в периферической крови на 8-й день терапии и в костном мозге — на 15-й день терапии.

Анализ токсичности в данной работе основан на регистрации регулярных сообщений из центров о случаях возникновения аллергии, панкреатитов и тромбозов, потребовавших принятия решения об изменении терапии.

Сравнение групп пациентов по категориальным признакам проводили с помощью таблиц сопряженности с применением критерия Фишера (более точного, чем критерий χ^2). Для сравнения кривых выживаемости использовали непараметрический log-rank-критерий. Для оценки влияния различных факторов на выживаемость был проведен мультифакторный регрессионный анализ по Коксу методом обратного включения прогностических факторов по Вальду. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программ Microsoft Access, Paradox, GraphPad Prism 3.0, STATISTICA 7.0. Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

Результаты рандомизации и включения больных в анализ представлены в табл. 1 и 2 и показаны на рис. 3. Всего в рамках мультицентрового исследования за указанный период времени к СГР были отнесены 900 пациентов. Ряд больных были исключены из исследования по следующим причинам: 31 пациент умер в индукции, в 8 случаях зарегистрирован отказ от рандомизации. Оставшиеся пациенты ($n=861$) перед началом консолидации были рандомизированы (см. табл. 2).

Из 861 рандомизированных больных СГР 19 (2,2%) были переведены на терапию ВД-MTX, а 9 (1,0%) из-за развития аллергических реакций получали терапию PEG-ASP. В некоторых случаях лечащие врачи самостоятельно принимали решение об изменении дозы COLI-ASP. На рис. 3 графически представлен кумулятивный набор рандомизированных больных в исследовании, и можно наблюдать, как проходила рандомизация за определенные промежутки времени. Видно, что кумулятивный набор больных в 2 рукавах рандомизации представлен прямыми линиями, практически полностью совпадающими друг с другом. Из 819 пациентов (95% всех рандомизированных больных), включенных в анализ (см. табл. 1), 414 человек получали COLI-ASP в дозе 10 000 EД/м² (контрольная группа), а 405 детей — в дозе 5000 EД/м² (экспериментальная группа).

Инициальные характеристики больных представлены в табл. 3. Статистически значимых различий между пациентами по полу, возрасту, исходному лейкоцитозу и размеру селезенки не обнаружено. Контрольная и экспериментальная группы также не различались между собой в зависимости от стероидного препарата, используемого в индукции, и числа пациентов, имевших ранний ответ на терапию (количество бластных клеток в крови на 8-й день $<1000/\text{мм}^3$ и в костном мозге на 15-й день терапии — менее 10%).

Таблица 5. Результаты мультифакторного регрессионного анализа по Коксу ($n=819$)

Показатель	БСВ		БРВ	
	статистика Вальда	p	статистика Вальда	p
Шаг 1 обратного анализа Вальда				
Пол	0,437	0,508	1,269	0,260
Инициальный лейкоцитоз	1,742	0,187	3,331	0,068
Селезенка	1,439	0,230	2,935	0,087
Печень	0,816	0,366	1,097	0,295
Ответ на 8-й день (< или > 1000 бластных клеток в крови)	4,460	0,035	6,785	0,009
Ответ на 15-й день (< или > 10% бластных клеток в костном мозге)	8,082	0,004	10,623	0,001
Возраст	9,676	0,002	17,571	0,000
Клиники (1-я и 2-я группы)	0,609	0,435	2,131	0,144
Стероид в индукции	0,430	0,512	0,121	0,727
Режим ASP в консолидации	0,564	0,453	0,245	0,621
Шаги 7-й для БСВ и 6-й для БРВ				
Инициальный лейкоцитоз	—	—	3,564	0,059
Селезенка	7,857	0,005	9,620	0,002
Ответ на 8-й день (< или > 1000 бластных клеток в крови)	6,162	0,013	6,334	0,012
Ответ на 15-й день (< или > 10% бластных клеток в костном мозге)	7,759	0,005	12,015	0,001
Возраст	8,495	0,004	17,891	0,000

Примечание. $p < 0,05$ означает независимое достоверное влияние конкретного фактора на выживаемость. При этом чем больше статистика Вальда для данного фактора, тем сильнее его влияние на выживаемость. Показаны результаты первого и последнего шагов обратного включения значимых факторов по Вальду.

В табл. 4 представлены общие результаты терапии в двух исследуемых группах. На момент анализа (01.08.2008 г.) в ППР находились 327 (79,0%) больных контрольной группы и 323 (79,8%) — экспериментальной. Медиана наблюдения составила 3,8 года (25—75% — 2,8—4,8 года). Статистически и клинически значимых различий по числу рецидивов (10,9% — в контрольной группе и 12,3% — в экспериментальной; $p=0,52$) и их распределению между двумя группами больных не обнаружено. Однако дети, получавшие COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м², умирали в ремиссии в 2 раза чаще, чем больные экспериментальной группы (6,3 и 3,0% соответственно, $p=0,03$). Основной причиной летальности среди больных обеих исследуемых групп явился сепсис (но не тяжелый панкреатит).

При анализе выживаемости по методу Каплана—Майера как статистически, так и клинически значимых различий между группами не обнаружено. Кривые выживаемости пациентов в зависимости от дозы COLI-ASP представлены на рис. 4. 6-летние кривые БСВ и ОВ оказались абсолютно идентичными: в обоих рукавах исследования можно наблюдать достижение плато и кривые

двух групп на 6-м году наблюдения полностью совпали. БСВ для больных обеих рукавов рандомизации составила $79 \pm 2 - 3\%$, $p=0,45$ (см. рис. 4, а), а ОВ 85 ± 2 и $84 \pm 3\%$, $p=0,32$ (см. рис. 4, б). БРВ в контрольной группе за 6 лет наблюдения составила $84 \pm 2\%$, а в экспериментальной — $82 \pm 3\%$, $p=0,72$.

В табл. 3 представлены не только клинические характеристики больных, но и исходы терапии в зависимости от различных факторов в виде БСВ и БРВ. Никаких достоверных и клинически значимых различий между пациентами двух исследуемых групп в зависимости от пола, возраста, инициального лейкоцитоза, режима стероидной терапии в индукции и раннего ответа на лечение обнаружить не удалось. Однако сохраняется некоторая «незрелость» результатов среди подростков и в подгруппах с небольшим числом больных (инициальный лейкоцитоз в интервале от 10 до 20 тыс./мкл, количество бластных клеток в периферической крови на 8-й день >1000/мкл) в виде большого разброса и отсутствия плато. Для оценки выраженности мультицентрового эффекта был также проведен анализ внутри группы клиник, длительно участвующих в мультицент-

Таблица 6. Результаты терапии в зависимости от дозы COLI-ASP у больных с отсутствием факторов риска*

Показатель	Контрольная группа (10 000 ЕД/м ²)		Экспериментальная группа (5000 ЕД/м ²)		p
	абс.	%	абс.	%	
Всего больных	172	100	177	100	—
Смерть в ремиссии	11	6,4	2	1,1	0,0105
Рецидив	13	7,6	11	6,2	0,6758
Вторая опухоль	0	0	1	0,6	1,0000
LFU	7	4,1	9	5,1	0,7993
ППР	141	82,0	154	87,0	0,2364

*Пациенты СГР с инициальным числом лейкоцитов < $10,0 \times 10^9/\text{л}$, увеличением селезенки < 4 см и при наличии доказанного не-Т-клеточного иммунофенотипа бластных клеток.

ровом исследовании и имеющих большой опыт ведения таких пациентов (1-я группа), и среди всех остальных клиник — участников исследования (2-я группа). Видно, что различий между контрольной и экспериментальной группами не было ни в том, ни в другом случае. Летальность в ремиссии в клиниках 1-й группы составила 1,3% для контрольного и 1,1% для экспериментального рукавов исследования ($p=1,00$), частота рецидивов — 15,8 и 14,2% соответственно ($p=0,76$). Среди больных, получающих терапию в клиниках 2-й группы, летальность в ремиссии оказалась выше, но составила 9,4% для контрольного и 4,5% — для экспериментального рукавов рандомизации ($p=0,068$), а часто-

та рецидивов оказалась даже ниже, чем таковая в клиниках 1-й группы, составив 7,8% для пациентов контрольной ветви и 10,8% — для больных экспериментальной ветвей ($p=0,27$).

Мультифакторный анализ по Коксу с использованием метода исключения Вальда показал (табл. 5), что факторами, независимо влияющими на прогноз в СГР, являются размеры селезенки, ранний ответ на терапию, возраст и инициальный лейкоцитоз (только в отношении БРВ). Остальные факторы в данном исследовании, включая режим применения COLI-ASP в консолидации и принадлежность клиники к 1-й группе, существенного влияния на выживаемость не оказывали.

В табл. 6 и на рис. 5 представлен сравнительный анализ результатов лечения в контрольном и экспериментальном рукавах исследования только для больных без факторов риска, т.е. для пациентов с инициальным лейкоцитозом $<10\,000/\text{мм}^3$, с размером селезенки <4 см и доказанным не-Т-клеточным иммунофенотипом. Отмечено, что при абсолютно идентичном числе рецидивов в контрольной и экспериментальной ветвях исследования внутри данной подгруппы пациентов летальность в ремиссии у больных, принимавших COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м², оказалась в 5 раз выше, чем у пациентов, принимавших COLI-ASP в дозе 5000 ЕД/м². Это привело к достоверному улучшению БСВ и ОВ в экспериментальном рукаве исследования внутри данной подгруппы больных.

Анализ токсичности был проведен по спонтанным сообщениям из центров. Никаких статистически значимых различий по частоте токсических эффектов в экспериментальной и контрольной группах больных не выявлено. Однако при анализе причин, потребовавших изменения режима введения препарата (снижение дозы, отмена, смена препарата), пациентов, получавших COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м², по сравнению с группой больных, получавших COLI-ASP в дозе 5000 ЕД/м², достоверно чаще (1,8% против 0,2%, $p=0,04$) приходилось переводить на лечение с PEG-ASP за счет увеличения числа аллергических реакций (см. табл. 2). Статистически значимой разницы в частоте развития тяжелых панкреатитов между двумя исследуемыми группами не выявлено (1,6 и 1,1% соответственно, $p=0,59$).

Заключение

В настоящей работе представлены результаты мультицентрового рандомизированного исследования двух дозовых режимов COLI-ASP в терапии консолидации детей и подростков, больных ОЛЛ, отнесенных к СГР, при лечении по протоколу ALL-MB-2002. Основной идеей данного исследования было выяснение вопроса о том, возможно ли снизить дозу COLI-ASP без потери эффективности терапии.

Результаты исследования показали отсутствие статистически и клинически значимых различий в показателях выживаемости (БСВ, ОВ, БРВ) и частоте рецидивов при использовании двух дозовых режимов COLI-ASP. При этом как для контрольного, так и для экспериментального рукавов исследования при построении кривых выживаемости по методу Каплана — Майера можно наблюдать формирование плато и на 6-м году исследования они полностью совпада-

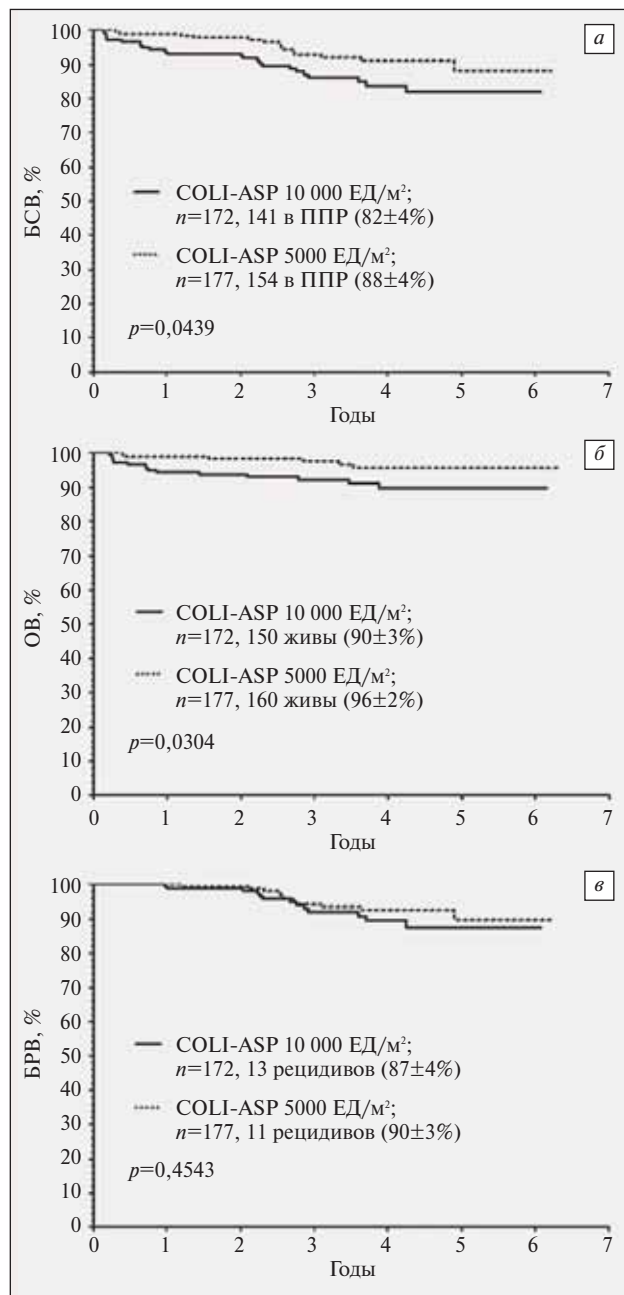


Рис. 5. Выживаемость пациентов СГР с инициальным числом лейкоцитов $<10,0 \times 10^9/\text{л}$, увеличением селезенки <4 см и при наличии доказанного не-Т-клеточного иммунофенотипа бластных клеток в исследовании ALL-MB-2002:
а — БСВ; б — ОВ; в — БРВ

ли. Однако летальность в ремиссии у больных контрольной группы оказалась в 2 раза выше, чем таковая у пациентов экспериментальной группы ($p=0,02070$). Детальный анализ исходов терапии в отдельных подгруппах больных также не обнаружил каких-либо различий между контрольной и экспериментальной ветвями исследования (см. табл. 3). Мультифакторный регрессионный анализ по Коксу показал, что как на БСВ, так и на БРВ влияют инициальные размеры селезенки, инициальный лейкоцитоз, возраст и ответ на лечение в периоде индукции, но никак не доза COLI-ASP.

Одной из потенциальных проблем исследования, проводимого в России, могло быть влияние различного опыта и условий лечения детей в клиниках, участвующих в данном исследовании (так называемый мультицентровый эффект). Для этого мы выделили клиники, длительно участвующие в многоцентровых исследованиях и имеющие максимальный опыт лечения таких больных (1-я группа), и провели отдельный сравнительный анализ результатов терапии в них и во всех остальных. Несмотря на то что летальность в ремиссии среди пациентов клиник 1-й группы действительно оказалась ниже, чем в клиниках 2-й группы, мы не обнаружили никаких различий между контрольным и экспериментальным рукавами исследования по отдельности как среди больных клиник 1-й группы, так и среди всех остальных. Однако если в клиниках 1-й группы частота как рецидивов, так и смертей в ремиссии между двумя рукавами рандомизации была практически идентичной, то в остальных клиниках наблюдалось статистически недостоверное повышение частоты рецидивов на рукаве с COLI-ASP 5000 ЕД/м² и клинически и статистически значимое увеличение летальности в ремиссии у больных, получавших COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м². Мультифакторный регрессионный анализ по Коксу также продемонстрировал, что мультицентровый эффект не оказывает никакого влияния ни на БСВ, ни на БРВ.

К сожалению, у нас не было возможности параллельно провести фармакокинетический мониторинг активности ASP и уровня деплеции ASN. Однако наше мультицентровое исследование основано на предшествующих работах по фармакокинетике ASP, опубликованных E. Ahlke и соавт. в 1997 г. [10]. Оно полностью подтвердило положения данной работы о возможности сокращения дозы COLI-ASP до 5000 ЕД/м² без снижения эффективности лечения. Необходимо отметить, что любые работы по фармакокинетике, предлагающие новые режимы ХТ, должны обязательно проверяться в последующих больших многоцентровых контролируемых исследованиях.

Мы также обнаружили, что среди пациентов СГР, определенных по критериям ALL-MB-2002, имеется подгруппа больных без факторов риска, для которых уменьшение дозы COLI-ASP может привести к существенному улучшению выживаемости за счет снижения токсичности и летальности в ремиссии. Результаты проведенного исследования показывают, что использование COLI-ASP в дозе 5000 ЕД/м² у пациентов СГР с минимальными факторами риска способно привести к значительному улучшению эффективности терапии вследствие уменьшения ее токсичности и стоимости. Это может служить основой для рестратификации СГР.

Необходимо отметить, что результаты данной работы получены при использовании продуцируемой определенным штаммом COLI-ASP, производимой японской фирмой Kyowa Hakko и известной в мире по торговым маркам Leunasa® — в Японии, Paronal® — поставки фирмой Nyscomed в Бенилюкс, Kidrolase® — поставки швейцарской фирмой USAPHARMA во Францию, Испанию и Португалию и, наконец, *E. Coli* Аспарагиназа Медак®, поставляемой немецкой фирмой MEDAC в Германию и в страны Восточной Европы, в том числе и в Россию. Эти данные нельзя экстраполировать на другие ASP, полученные из других источников и даже других бактериальных штаммов кишечной палочки.

Л и т е р а т у р а

1. Riehm H., Gadner H., Henre G. et al. The Berlin childhood acute lymphoblastic leukemia study. *Am J Pediatr Hematol* 1980;2:229—35.
2. Sallan S.E., Hitchcock-Bryan S., Gelber R. et al. Influence of intensive asparaginase in the treatment of childhood non-T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Can Res* 1983;43:5601—7.
3. Broome J.D. Evidence that the COLI-ASParaginase of guinea pig serum is responsible for its antilymphoma effects. *J Exp Med* 1963;118:99—120.
4. Kidd J.G. Regression of transplanted lymphomas induced in vivo by means of normal guinea pig serum. *J Exp Med* 1953;98(6):565—82.
5. Jones B., Holland J.F., Glidewell O. et al. Optimal use of COLI-ASParaginase (NSE-109229) in acute lymphoblastic leukemia. *Med Ped Oncol* 1977;3:387—400.
6. Oettgen H.F., Stephenson P.A., Schwartz M.K. et al. Toxicity of *E. coli* COLI-ASParaginase in man. *Cancer* 1970;25(2):253—78.
7. Pui C.H., Evans W.E., Frankel L.S. et al. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2006;354:166—78.
8. Schrappe M., Reiter A., Zimmermann M. et al. Long-term results of four consecutive trials in childhood ALL performed by the ALL BFM study group from 1981 to 1995. *Leukemia* 2000;14:2205—22.
9. Silverman L.B., Gelber R.D., Declerck L. et al. Results of Dana-Farber Cancer Institute Consortium protocols for children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia (1981—1995). *Leukemia* 2000;14:2247—56.
10. Ahlke E., Nowak-Gottl U., Schulze-Westhoff P. et al. Dose reduction of asparaginase under pharmacokinetic and pharmacodynamic control during induction therapy in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Hematol* 1997;96:675—81.
11. Карачунский А.И., Штакельберг А., Мякова Н.В. и др. Лечение острого лимфобластного лейкоза у детей: 6-летние результаты нерандомизированного моноцентрового исследования с минимальным сроком наблюдения 2 года. *Гематол трансфузиол* 1997;(5):14—8.
12. Мякова Н.В., Карачунский А.И., Штакельберг А. и др. Сравнительный анализ токсичности полихимиотерапии острого лимфобластного лейкоза у детей по протоколам ALL-BFM-90m и ALL-MB-91. *Педиатрия* 1997;(4):29—34.
13. Румянцев Ю.В., Карачунский А.И. Оптимизация терапии острого лимфобластного лейкоза у детей в России и Белоруссии: стратегия Москва-Берлин. *Вопр гематол онкол иммунол педиатр* 2007;6(4):13—21.