

Многоликий p53: разнообразие форм, функций, опухолюсупрессирующих и онкогенных активностей

Б. П. Копнин [1], П. Б. Копнин [2], Н. В. Хромова [1], Л. С. Агапова [1]

РЕФЕРАТ

Multifaced p53: variety of forms, functions, tumor-suppressive and oncogenic activities

Б. П. Копнин [1], П. Б. Копнин [2], Н. В. Хромова [1], Л. С. Агапова [1]

Summary:

Dysfunction of p53 protein is one of the most universal molecular alterations in various human neoplasias. Frequent involvement of p53 abnormalities in development of different types of tumors is due to its several activities preventing and/or inhibiting tumor growth. Alongside with tumor-suppressive functions p53 possesses some activities which can stimulate tumor progression. Such dualisms, as well as the big variety of normal and pathological forms of p53 proteins, complicate the use of p53 as a prognostic marker or a target for therapeutic interventions. Nevertheless, some recent results give hopes for development of new effective methods of a prediction and therapy of oncological diseases which will be based on hi-tech and more exact methods of the analysis and modulation of p53 functions.

Keywords:

p53 tumor suppressor, transcription factors, mutagenesis, tumor progression.

[1] Institute of Carcinogenesis, Blokhin Memorial Russian Cancer Research Center, RAMS, Moscow; [2] Engelhardt Institute of Molecular Biology, RAS, Moscow

Контакты: bkopnin@mail.ru

Изменения функции белка p53 являются одним из наиболее универсальных молекулярных изменений в клетках различных новообразований. Широкая вовлеченность аномалий p53 в развитие разных типов опухолей обусловлена выполнением этим белком ряда функций, предотвращающих и/или ингибирующих опухолевый рост. Наряду с этим он обладает некоторыми активностями, которые могут стимулировать опухолевую прогрессию. Это, как и многообразие нормальных и патологических форм белков p53, затрудняет использование p53 в качестве прогностического маркера и мишени терапевтических воздействий. Тем не менее в последние годы получен ряд результатов, позволяющих надеяться на разработку новых эффективных способов предсказания клинического течения и терапии новообразований, основанных на высокотехнологичных и более точных методах анализа p53 и модуляции его активности.

Ключевые слова

опухолевый супрессор p53, транскрипционные факторы, мутагенез, опухолевая прогрессия

ВВЕДЕНИЕ

Огромный интерес онкологов к белку p53 обусловлен тем, что нарушение его функции является наиболее универсальным молекулярным изменением в различных новообразованиях человека. Дисфункция p53 обнаруживается в значительной части опухолей более чем 60 разных типов, в том числе при различных формах лейкозов и лимфом. В большинстве этих случаев нарушения функционирования p53 обусловлены соматическими мутациями его гена *TP53*, произошедшими либо в клетках, из которых впоследствии возникли неопластические клоны, либо уже в опухолевых клетках в ходе прогрессии новообразования. Герминальные (т. е. произошедшие в половых клетках и передающиеся по наследству) мутации гена *TP53*, приводящие к синтезу неполноценного белка во всех клетках организма, вызывают синдром Ли—Фраумени, заключающийся во врож-

денной предрасположенности к развитию в молодом возрасте различных новообразований, в первую очередь сарком, рака молочной железы, лимфолейкоза. Нередко синдром Ли—Фраумени характеризуется возникновением первично-множественных опухолей.

К середине 1990-х годов сформировалась довольно стройная система представлений, согласно которым p53 за счет ряда своих активностей предохраняет организм от накопления в нем потенциально опасных аномальных клеток с различными повреждениями генома. Потеря или ослабление этой функции в тех или иных клетках организма резко увеличивает вероятность их злокачественного перерождения и развития из них новообразований. Нарушение функционирования p53, происходящее в ходе опухолевой прогрессии, может придавать неопластическим клеткам дополнительные селективные преимущества, в частности повышен-

[1] НИИ канцерогенеза, ГУ РОНЦ им. Н.Н.Блохина, РАМН, Москва;

[2] Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта, РАН, Москва

ную приспособляемость к меняющимся условиям микроокружения и устойчивость к различным терапевтическим воздействиям.

Однако продолжающиеся накапливаться данные значительно усложнили эти представления. Так, обнаружено, что ген *TP53* помимо основной полноразмерной формы белка p53 кодирует ряд его укороченных изоформ, отличающихся по биологическим активностям от «классического» белка p53. Выяснилось также, что в дополнение к своим защитным функциям p53 участвует в регуляции миграции и морфогенетических реакций по крайней мере некоторых типов клеток, и потеря этих его активностей может, наоборот, оказывать ингибирующее действие на развитие опухолей. Существенную модуляцию функциональной активности p53 и его молекул-мишеней могут осуществлять различные изоформы белков p63 и p73, кодируемые генами *TP63*, *TP73*, имеющими высокую степень гомологии с *TP53*. Все это вносит дополнительные трудности в использование p53 в качестве маркера для прогнозирования течения онкологических заболеваний или мишени терапевтических воздействий. Ниже кратко рассмотрен ряд аспектов этой все усложняющейся картины.

СТРОЕНИЕ, ФОРМЫ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ АКТИВНОСТИ БЕЛКОВ p53

Полноразмерный белок p53 человека состоит из 393 аминокислотных остатков (а.о.), кодируемых 10 экзонами гена *TP53* (всего в составе гена *TP53*, простирающегося на ~20 тысяч пар оснований на коротком плече хромосомы 17, 11 экзонов, но 1-й экзон кодирует нетранслируемую мРНК). В полипептидной цепи p53 принято выделять несколько структурно-функциональных доменов: N-концевой трансактивационный, подразделяющийся на 2 субдомена (а.о. 1–42 и 43–62), пролинбогатый (а.о. 63–94), центральный ДНК-связывающий (а.о. 94–292), олигомеризационный (а.о. 325–356) и С-концевой регуляторный (а.о. 363–393).¹⁻³ Трансактивационный домен связывает целый ряд белков: белок Mdm2, осуществляющий негативную регуляцию p53; компоненты инициальных транскрипционных комплексов; ацетилтрансферазы p300 и CBP, ацетилирующие не только гистоны, но и С-конец самого p53, что вызывает его активацию; и т.д. Проллинбогатый домен содержит SH3-связывающий мотив (РХХР), взаимодействующий со многими регуляторными белками. ДНК-связывающий домен специфически связывается с двуцепочечной ДНК регулируемых генов, так называемыми p53-респонсивными элементами, состоящими из расположенных друг за другом последовательностей с обобщенной структурой типа PuPuC(A/T)(A/T)GPyPyPu (Pu — пурин, Py — пиримидин) (один p53-респонсивный элемент связывается с четырьмя ДНК-связывающими доменами p53, функционирующего в виде тетрамерного комплекса). При этом аффинность связывания p53 с разными респонсивными элементами варьирует в зависимости от их конкретной нуклеотидной последовательности (например, с генами, контролирующими клеточный цикл, p53, как правило, связывается лучше, чем с генами, индуцирующими апоптоз). Олигомеризационный домен ответственен за образование димерных и тетрамерных комплексов молекул p53. С-концевой домен может осуществлять негативную регуляцию функции p53, препятствуя связыванию ДНК-связывающего домена со специфической последовательностью регулируемого гена.

Значительное число сайтов белка p53 может подвергаться различным пост-трансляционным модификациям (фосфорилирование, ацетилирование и др.), в результате чего конформация (пространственная структура) и, как следствие, активность его молекул могут претерпевать зна-

чительные изменения.¹⁻⁴ Так, при фосфорилировании и ацетилировании определенных сайтов N- и С-концевых участков молекул p53 ДНК-связывающие домены их тетрамерных комплексов приобретают способность связываться с p53-респонсивными элементами, что, в свою очередь, обеспечивает взаимодействие базовых факторов транскрипции с N-концевыми участками p53 и стимуляцию транскрипции мРНК генов-мишеней. При приобретении других конформационных состояний p53 проявляет совершенно иные активности, в частности, он способен подавлять транскрипцию других групп генов-мишеней, стимулировать репарацию ДНК и подавлять репликацию ДНК вирусов.

Недавно выяснилось, что p53 может синтезироваться в виде различных изоформ,³ что вносит еще большее разнообразие в его возможные активности. Дело в том, что транскрипция гена *TP53* может начинаться не только с сайта, расположенного перед 1-м экзоном, но и с внутреннего сайта в 4-м интроне, в результате чего будет образовываться укороченный белок, начинающийся со 133-го кодона (изоформа Δ133p53). Кроме того, 9-й интрон может подвергаться альтернативному сплайсингу, давая три изоформы, две из которых (p53β, p53γ) не содержат олигомеризационного домена. В результате этого, а также альтернативной инициации трансляции или альтернативного сплайсинга в интроне 2, ген *TP53* может кодировать по меньшей мере 9 разных изоформ, различающихся по своим активностям. Экспрессия этих вариантных форм p53 имеет тканеспецифический характер, что, несомненно, определяет различия в активности ряда p53-регулируемых сигнальных путей в клетках разной дифференцировки.³ Следует заметить, что существует два нормальных аллельных варианта человеческого гена *TP53*, белковые продукты которых отличаются по 72-му кодону (содержат в этом положении либо пролин [72P], либо аргинин [72R]), и, как следствие, имеют некоторые различия трехмерной структуры и биологической активности.⁵ Встречаемость таких аллелей варьирует в зависимости от этнической принадлежности. Так, частота аллеля 72P составляет 60% у афроамериканцев и 30–35% у белого населения США.

В дополнение к гену *TP53* в геноме человека присутствуют 2 гена — *TP63* и *TP73*, белковые продукты которых имеют высокую степень сходства с белком p53 (вместе они составляют семейство белков p53).^{3,6,7} В отличие от p53, который экспрессируется в клетках практически всех тканей, его гомологи продуцируются только в части клеточных типов. При этом, подобно *TP53*, гены *TP63* и *TP73* кодируют по несколько белков (35 изоформ p73 и не менее 6 изоформ p63), различающихся по структуре и способности активировать гены-мишени. Так, некоторые их формы (так называемые TA-формы p63 и p73) способны повышать транскрипцию примерно половины из p53-регулируемых генов и большую группу других, не регулируемых p53 генов, тогда как ΔN-формы p63 и p73, наоборот, подавляют активность многих p53-, p63- и p73-респонсивных генов, конкурируя с p53 и TA-формами p63/p73 за связывание с генами-мишенями.^{6,7}

АКТИВНОСТИ p53, ПРЕДОТВРАЩАЮЩИЕ И/ИЛИ ИНГИБИРУЮЩИЕ ОПУХОЛЕВЫЙ РОСТ

p53 играет важную защитную роль. Его нормальное функционирование резко уменьшает вероятность накопления в организме аномальных клеток с различными изменениями генома, в том числе и теми, которые способствуют неопластической трансформации клеток и/или прогрессии возникших опухолевых клонов. Такая охранная функция белка p53 обусловлена несколькими его активностями, основанными,

прежде всего, на способности регулировать транскрипцию большой группы генов, белковые продукты которых выполняют ряд физиологических функций (рис. 1, а). Во-первых, стимулируя синтез белков, участвующих в детоксикации активных форм кислорода (АФК), р53 предохраняет клетки от оксидативного стресса и вызываемого им мутагенеза.⁸ Во-вторых, функционируя как транскрипционный фактор и, кроме того, вступая в различные белок-белковые взаимодействия, р53 осуществляет позитивную регуляцию различных систем репарации поврежденной ДНК.⁹ В-третьих, в результате участия в контроле репликации центриолей полноценное функционирование р53 предотвращает амплификацию centrosom и многополюсные митозы, что обеспечивает правильное распределение хромосом по дочерним клеткам во время митоза.¹⁰ И, наконец, в четвертых, при различных внешних повреждающих воздействиях и/или внутриклеточных стрессах молекулы р53 вследствие определенных посттрансляционных модификаций (фосфорилирование Ser15, Ser20, Ser33, Ser46, Thr81, Ser315; ацетилирование Lys373, Lys382; и др.)^{1,4,11} приобретают так называемую «стрессовую» конформацию и, как следствие, повышенную стабильность (внутриклеточное содержание такого р53 резко увеличивается) и более выраженную способность изменять активность генов, продукты которых останавливают клеточный цикл или индуцируют апоптоз (рис. 1, б). Апоптоз, кроме того, индуцируется транспортом стабилизированного белка р53 в митохондрии, что приводит к повышению проницаемости их мембран и усиленному выходу из них апоптогенных молекул — цитохрома С и др.¹² Таким образом, клетки, в которых уже возникли или могут возникнуть перестройки генома или другие аномалии, либо погибают, либо останавливают свое размножение для репарации повреждений. При этом в эмбриональных стволовых клетках «стрессовый» р53 индуцирует также репрессию гена *NANOG* и, как следствие, утрату ими способности к самоподдержанию и дифференцировке.¹³

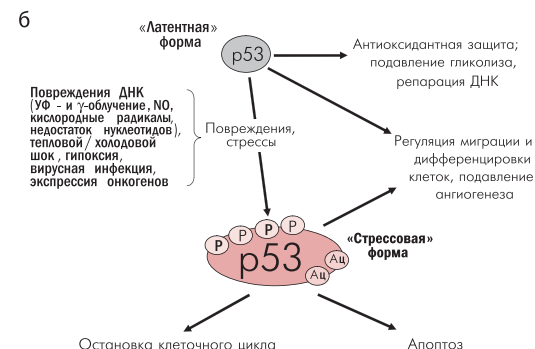
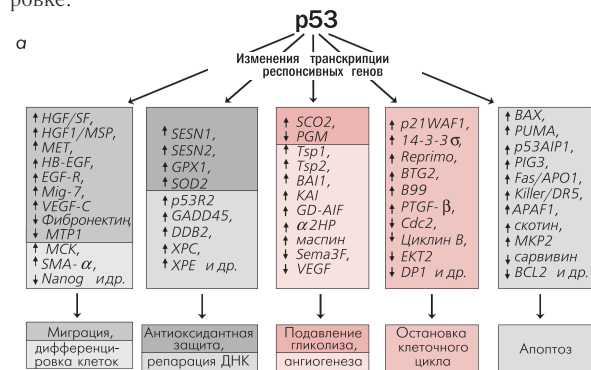


Рис. 1. Гены-мишени (а) и алгоритм функционирования (б) р53. Объяснения в тексте.

Выбор между этими двумя возможными реакциями клетки на активацию р53 (остановка клеточного цикла или апоптоз) зависит от множества факторов:^{1,14} а) гистогенетического типа клеток (например, в нормальных фибробластах, как правило, наблюдается остановка клеточного цикла, тогда как в лимфоцитах — апоптоз); б) функциональной активности сигнального пути pRb-E2F (в фибробластах с инактивированным pRb или гиперэкспрессированными Мус, E2F наблюдается не остановка в G₁, а апоптоз); в) степени активации р53 (с увеличением уровня его экспрессии повышается вероятность апоптоза); г) преимущественной экспрессией определенных изоформ р53, различающихся по способности активировать проапоптотические гены и, как следствие, индуцировать апоптоз; д) присутствия в клетке транскрипционных кофакторов (ASPP1/2, p63/p73 и др.), увеличивающих способность р53 избирательно активировать проапоптотические гены. Еще одним фактором, определяющим выбор между остановкой клеточного цикла и апоптозом, является характер модификации самих молекул р53. Так, р53, фосфорилированный по Ser15/20 и ацетилированный по С-концу, способен активировать ген p21^{Waf1/Cip1} и вызывать остановку клеточного цикла в G₁, тогда как дополнительное фосфорилирование по Ser46 придает ему способность активировать наряду с геном p21^{Waf1/Cip1} и ген белка p53AIP1, а в этом случае уже наблюдается апоптоз. Причем вероятность фосфорилирования Ser46 повышается с увеличением интенсивности повреждений ДНК.

Опухольсупрессирующие активности р53 не ограничиваются поддержанием целостности генома и подавлением размножения/элиминацией потенциально опасных аномальных клеток. Так, благодаря способности репрессировать ген *hTERT*,¹⁵ кодирующий каталитическую субъединицу теломеразы, и ряду других активностей р53 препятствует иммортализации клеток, т. е. приобретению ими способности делиться неограниченное число раз. Регулируя синтез ряда белков с ангиогенными и антиангиогенными активностями (рис. 1), р53 ингибирует образование в опухолевых узелках кровеносных сосудов, снабжающих неопластические и стромальные клетки кислородом и питательными веществами. Кроме того, его активность необходима для нормальной дифференцировки некоторых типов клеток¹⁶ и блокирования гликолиза¹⁷ (переход от аэробного дыхания к гликолизу — характерная черта опухолевых клеток, позволяющая им не только решать энергетические проблемы в условиях гипоксии, но и ингибировать апоптоз.^{18,19}

Неудивительно поэтому, что инактивация функции р53 резко увеличивает вероятность развития опухолей.^{20,21} Практически у всех трансгенных мышей с нокаутом обоих аллелей гена *p53* (*p53*^{-/-}), приводящим к полному отсутствию белка р53 во всех клетках организма, в возрасте 2—10 мес развиваются злокачественные новообразования — в основном В- и Т-клеточные лимфомы (70—80%) и, кроме того, различные саркомы и герминальные опухоли. У мышей с нокаутом только одного аллеля (*p53*^{+/-}) и пониженным содержанием белка р53 во всех клетках также повышен риск возникновения опухолей, но они развиваются позже и не у всех животных (~75% мышей в возрасте 9—18 мес). При этом существенно меняется спектр возникающих новообразований — основными формами (~60%) являются саркомы (остеосаркомы, фибросаркомы, рабдомиосаркомы, лейио-осаркомы, гемангиосаркомы, анапластические саркомы). Также развиваются опухоли мозга, аденокарциномы легкого, гепатокарциномы, а развития лимфом — основной формы новообразований у мышей *p53*^{-/-} — не отмечается.²¹ Следует подчеркнуть, что у трансгенных мышей с дополнительной копией гена *p53* (*p53*^{+/+/+}) и повышенным син-

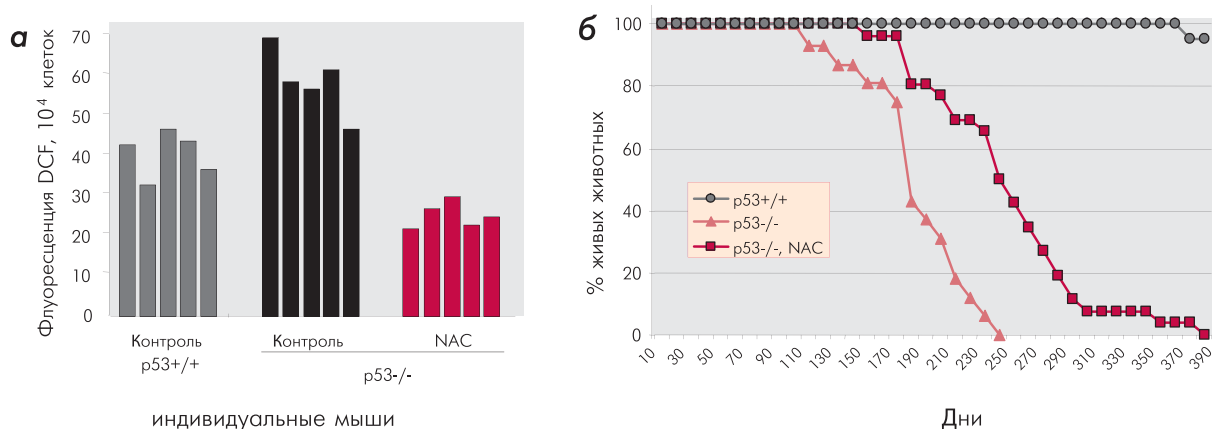


Рис. 2. Влияние изменений внутриклеточного уровня активных форм кислорода (АФК) на возникновение лимфом и продолжительность жизни мышей C57Bl с гомозиготным нокаутом гена p53.

а — изменения внутриклеточного уровня АФК, измеряемого по флюоресценции 2'-7'-дихлордигидрофлюоресцеиндиацетата (DCF), в клетках селезенки мышей с гомозиготным нокаутом p53 (p53^{-/-}), не получавших (контроль) и получавших антиоксидант N-ацетил-L-аспартат (NAC, 1 г/кг/сут с питьевой водой). Показан уровень АФК у каждой из проанализированных мышей.

б — продолжительность жизни p53^{-/-} мышей, получавших NAC (19 животных) несколько увеличилась по сравнению с контрольными p53^{-/-} мышами (17 животных), но была значительно меньше, чем у мышей дикого типа (p53^{+/+}). При вскрытии у всех 36 p53^{-/-} мышей были обнаружены лимфомы (тимомы и другие формы).

тезом белка во всех клетках организма риск развития опухолей, индуцируемых химическими канцерогенами, наоборот, ниже, чем у мышей дикого типа (p53^{+/+}).²²

Очевидно, ни одна из указанных биологических активностей p53 сама по себе не может обеспечить мощный опухолю- супрессирующий эффект его полноценного функционирования. Так, значительное подавление апоптогенной активности p53 в результате нокаута гена *PUMA* практически не увеличивало вероятность развития опухолей.^{23,24} Не наблюдалось увеличения частоты опухолей и у животных с нокаутом гена *p21Cip1/Waf1* — ключевого медиатора ингибирующего эффекта p53 на клеточный цикл.²⁵ Мы обнаружили, что нивелирование эффекта инактивации p53 на внутриклеточный уровень АФК путем применения антиоксиданта N-ацетил-L-аспартата (NAC) лишь несколько замедляет развитие лимфом у мышей p53^{-/-}, но не влияет на частоту их возникновения (рис. 2).

В отличие от инактивации p53, нокаут генов, кодирующих другие члены семейства p53 — p63 и p73, не увеличивает у мышей риск развития новообразований.²⁶ При нокауте обоих аллелей гена *p63* наблюдается резкое уменьшение пула эпителиальных стволовых клеток и пренатальная или постнатальная гибель эмбрионов вследствие полного отсутствия кожи и других эпителиальных тканей. При нокауте гена *p73* рождаются мыши с дефектами вомеро-назального органа (такие мыши не воспринимают сигналы от феромонов), нарушениями слуха, зрения и др., у которых, однако, продолжительность жизни не уменьшена. Более того, поскольку как и p63, p73 преимущественно экспрессируются в виде транскрипционно-неактивных ΔN-форм, ингибирующих транскрипционную активность p53 и его гомологов (Δp63 главным образом в стволовых и недифференцированных эпителиальных клетках, а Δp73 в незрелых эпителиоцитах и клетках нейрогенного происхождения), предполагается, что они обладают онкогенным, а не опухолюсупрессирующим потенциалом.²⁷ В пользу такой точки зрения свидетельствует и повышение уровня экспрессии ΔN-форм p63 и p73 в части новообразований человека.

АКТИВНОСТИ p53, СПОСОБНЫЕ СТИМУЛИРОВАТЬ ОПУХОЛЕВУЮ ПРОГРЕССИЮ

Еще одной большой группой генов-мишеней p53, являются гены, продукты которых регулируют морфологическое стро-

ение и двигательную активность клеток. Так, p53 способен активировать транскрипцию генов ряда митогенных/мотогенных факторов: обоих представителей семейства рассеивающих (Scatter) факторов (*HGF/SF* и *HGF1/MSP*), ген одного из членов семейства эпидермальных факторов роста (*HB-EGF*, кодирует гепаринсвязывающий EGF) и их рецепторов (*HGF/SF-R (Met)*, *EGF-R*; рис. 1). Кроме того, p53 регулирует экспрессию хемокина фракталкина, гладкомышечного α-актина, матриксных металлопротеаз и др. Физиологическое значение такой регуляции пока не совсем понятно (предполагается, что она может играть существенную роль в процессах дифференцировки клеток и воспаления),^{28,29} но очевидно, что ее нарушения могут оказывать заметное воздействие на прогрессию опухолей. Дело в том, что важнейшим свойством многих типов неопластических клеток является повышенная миграционная способность, лежащая в основе инвазии (проникновения в окружающие нормальные ткани) и метастазирования (образование вторичных очагов опухолевого роста). Ранее мы обнаружили, что потеря экспрессии p53 приводит к существенному снижению миграционной способности самых разных типов клеток — нормальных фибробластов, кератиноцитов, макрофагов, клеток рака легкого и ободочной кишки. С другой стороны, повышение активности p53, вызываемое, в частности, рядом стрессов, наоборот, увеличивает миграционную способность клеток.³⁰

Ключевым механизмом воздействия p53 на двигательную способность разных типов клеток является модификация функциональной активности белка Rac1, представителя Rho-семейства малых ГТФаз, ответственного за протрузию

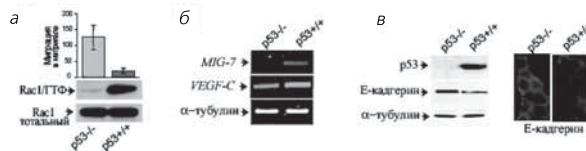


Рис. 3. Влияние гомозиготного нокаута гена *TP53* в клетках рака ободочной кишки человека линии HCT116 на: **а** — внутриклеточное содержание функционально активных ГТФ-связанных форм белка Rac1 и инвазивную способность клеток *in vitro* (миграция через покрытые матриксом фильтры с диаметром пор 8 мкм); **б** — уровень мРНК, кодируемых генами *MIG-7* и *VEGF-C* (измерялся с помощью полуколичественной ОТ-ПЦР, уравнивание нанесенных проб контролировалось по уровню мРНК α-тубулина); **в** — внутриклеточное содержание белка E-кадгерина (Вестерн-блот анализ) и выраженность межклеточных контактов, содержащих E-кадгерин (иммунофлюоресцентный анализ). Объяснения в тексте.

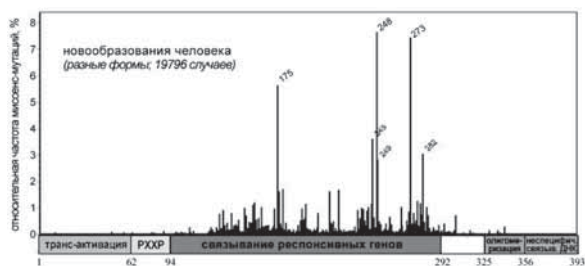


Рис. 4. Суммарное распределение мутаций по кодам p53 во всех исследованных новообразованиях человека (по базе данных Международного агентства по изучению рака – IARC <http://www.iarc.fr/p53/>).

ламеллоподий и направленное движение клетки.³⁰ При этом p53 не регулирует синтез и содержание белка Rac1 в клетке, но резко увеличивает его ГТФ-связанную функционально активную фракцию (рис. 3, а), по-видимому, за счет более эффективного проведения сигналов от рецепторов митогенов/мотогенов к фосфоинозитид-3-киназам (PI3K), осуществляющим позитивную регуляцию функции белка Rac1.³⁰ Механизмы такой активности p53 пока изучены довольно плохо. Не исключено, что существенную роль в ней может играть недавно обнаруженная нами способность p53 транскрипционно активировать ген *MIG-7* (Migratory protein 7; рис. 3, б), белковый продукт которого стимулирует мотогенный эффект HGF/SF и других факторов.³¹ Интересно, что экспрессируясь во многих типах опухолевых клеток, белок Mig-7 обнаруживается только в одном типе нормальных клеток организма — цитотрофобластах плаценты, обладающих, подобно неопластическим клеткам, способностью к инвазии и стимуляции образования сети кровоснабжающих сосудоподобных структур, которые в отличие от истинных сосудов не содержат эндотелиальных клеток (так называемая «васкулогенная микрия»).³²⁻³⁴

В эпителиальных клетках p53-зависимая регуляция миграционной способности включает также модуляцию экспрессии на поверхности клетки белка Е-кадгерина, образующего межклеточные контакты. Как известно, подавление экспрессии Е-кадгерина и связанное с ним разрушение межклеточных контактов — важнейший элемент так называемой эпителиально-мезенхимальной транзиции, ответственной за повышение миграционной способности и инвазию раковых клеток.^{35,36} p53, подобно ряду классических онкогенов (*RAS* и др.), уменьшает содержание белка Е-кадгерина, а инактивация p53 в опухолевых клетках может приводить к восстановлению межклеточных контактов, сопровождающемуся уменьшением инвазивной способности (рис. 3, в).

И, наконец, регулируя активность гена *VEGF-C* (рис. 3, б), p53 может стимулировать размножение и миграцию не только некоторых типов опухолевых клеток, но и лимфатического эндотелия, индуцируя таким образом лимфангиогенез в опухоли и региональных лимфоузлах. В результате могут увеличиваться скорость лимфотока, дренаж опухолевых клеток и, как следствие, лимфогенное метастазирование.^{37,38}

ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТЕЙ p53 В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

В значительной части (35–60 %) опухолей более чем 60 различных типов, в том числе в наиболее распространенных, обнаруживаются мутации гена *TP53*.³⁹⁻⁴² В клетках лейкозов и лимфом частота мутаций *TP53* несколько ниже — ~10 и ~30% соответственно. В отличие от других опухолевых супрессоров, для которых характерны мутации, прекращающие синтез белка (делеции, образование стоп-кодонов, сдвиг ко-

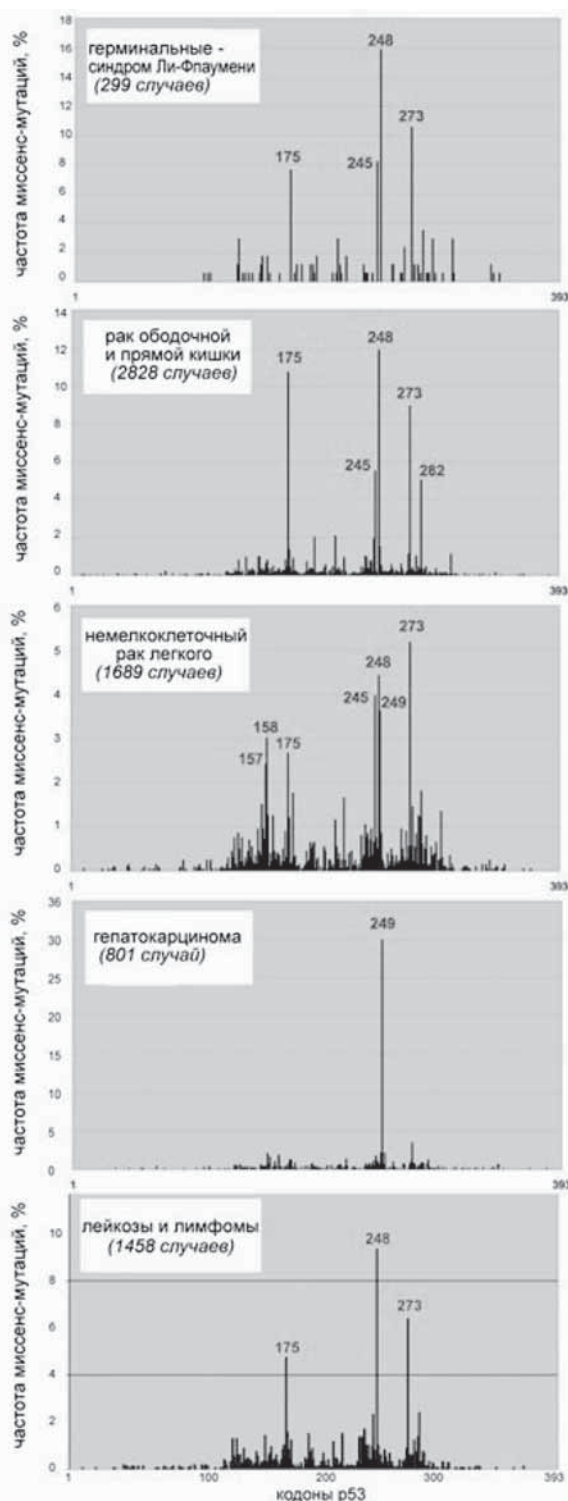


Рис. 5. Различия в распределении мутаций по кодам p53 при разных формах опухолей (по базе данных <http://p53.free.fr/>).

дирующей рамки, нарушения сплайсинга мРНК), подавляющее большинство (более 90 %) мутаций *TP53* представляет собой миссенс-мутации, приводящие к замене одной из аминокислот в белковой молекуле на другую. Еще одной особенностью мутаций *p53* в опухолевых клетках является то, что они в отличие от мутаций других опухолевых супрессоров часто являются гетерозиготными, т. е. поражают только один из двух аллелей гена.

Мутации обнаруживаются в разных участках молекулы p53, но чаще всего в его эволюционно консервативном ДНК-связывающем домене, причем с наибольшей частотой в кодонах 175, 245, 248, 249, 273 и 282 (так называемые горячие точки; рис. 4). Интересно, что спектр мутаций несколько меняется в зависимости от типа опухоли. Например, в гепатокарциномах, вызываемых канцерогеном афлатоксином В1, преимущественно выявляются мутации кодона 249, а в раках легкого довольно часто обнаруживаются не характерные для других новообразований мутации в кодонах 157 и 158 (рис. 5). Такие различия могут отражать последствия воздействия определенных канцерогенных факторов. Так, афлатоксин В1 специфически связывается с кодоном 249 *TP53*, а связывающийся с ДНК метаболит канцерогенного компонента табачного дыма бенз(а)пирена имеет исключительно высокую аффинность к кодонам 157 и 158.⁴²

Терминальные (произошедшие в половой клетке и передающиеся по наследству) мутации в одном из аллелей гена *p53* вызывают, как уже упоминалось, синдром Ли—Фраумени, заключающийся во врожденном предрасположении к развитию в молодом возрасте различных новообразований, в первую очередь сарком, рака молочной железы, лимфолейкоза. При этом распределение таких мутаций по разным кодам p53 не сильно отличается от распределения соматических мутаций при спорадических опухолях (рис. 4, 5).

Характерные для опухолевых клеток миссенс-мутации приводят к резкому изменению конформации молекулы белка p53, что в значительной степени затрагивает все вышеуказанные его активности: происходит потеря или ослабление способности связывать и активировать гены с p53-респонсивными элементами, репрессировать другие специфические гены-мишени, ингибировать репликацию ДНК и стимулировать репарацию ДНК.^{2,41,43,44} Причем, так как p53 образует тетрамерные комплексы, мутации в одном аллеле гена *TP53* вызывают инактивацию и продукта второго, неповрежденного аллеля. Дело в том, что коэкспрессирующиеся нормальный и мутантный белки p53 образуют неактивные гетеромерные комплексы. Таким образом, мутантный белок ингибирует функции нормального белка p53 по доминантно-негативному механизму.^{2,41} По-видимому, именно эта особенность мутантных p53 в значительной мере ответственна за их онкогенный потенциал. В пользу этого свидетельствует тот факт, что введение в клетки короткого полипептида, соответствующего олигомеризационному домену p53, нарушает образование полноценных тетрамерных комплексов p53 и вызывает опухолевую трансформацию. Необходимо заметить, что помимо утраты нормальных функций p53 мутантные p53 с аминокислотными заменами в горячих точках (кодона 175, 248 и др.) приобретают новые свойства, не присущие белку p53 дикого типа.^{41,43,44} Так, описано приобретение мутантными p53 способности активировать промоторы протоонкогенов *MYC* и *ERB1*, антиапоптотического гена *BCL1* из семейства *Bcl2*, гена *MDR1*, детерминирующего множественную лекарственную устойчивость клеток и т. д. При этом степень проявления таких активностей мутантных p53 зависит как от конкретной аминокислотной замены, так и клеточного контекста (гистогенетического типа клеток, экспрессии других транскрипционных факторов и т. д.). Предполагается, что вновь приобретенные активности мутантных p53 обусловлены способностью некоторых их форм ингибировать по доминантно-негативному механизму активность других членов семейства p53 — белков p63 и p73, или взаимодействовать с другими транскрипционными факторами, с которыми нормальный p53 не связывается, и модифицировать экспрессию регулируемых ими генов.^{41,43,44}

Мутации — не единственный путь нарушения функции белка p53 в опухолевых клетках. Так, для нейробластом и части случаев рака молочной железы (10–20 %) характерно нарушение транспорта p53 из цитоплазмы в ядро, где он проявляет свою функциональную активность. В части случаев остеосаркомы наблюдается амплификация гена белка Mdm2, который связывает и инактивирует белок p53. При раке шейки матки, ассоциированном с вирусами папиллом человека, происходит связывание p53 с вирусным онкобелком E6, что вызывает деградацию белка p53 и т. д.

Характерные для опухолевых клеток аномалии p53 отменяют или ослабляют все важнейшие функции опухолевого супрессора p53.^{1,4,45} Его инактивация ведет к: а) менее эффективному функционированию внутриклеточных сигнальных систем, останавливающих при повреждении клеточный цикл в G₁- и G₂-фазах; б) подавлению индукции апоптоза; в) уменьшению эффективности репарации ДНК; г) более эффективной адаптации к гипоксии и стимуляции ангиогенеза; д) ослаблению контроля над структурой теломера; е) ингибированию дифференцировки. Особо следует отметить возникновение в клетках с инактивированным p53 сильной генетической нестабильности, являющейся мотором дальнейшей опухолевой прогрессии. Потеря функциональной активности p53 значительно увеличивает темп появления размножающихся клеток с самыми разными генетическими аномалиями: измененным числом и перестройками хромосом, генными мутациями, амплификацией отдельных участков генома. Таким образом, мутации и другие изменения активности p53 вызывают одновременное появление целого набора характерных свойств неопластической клетки. Это, очевидно, и является объяснением такой частой встречаемости аномалий p53 в самых разных новообразованиях, в которых они могут являться как инициальным событием (синдром Ли—Фраумени) или детерминировать начальные этапы канцерогенеза, так и возникать и отбираться уже в ходе роста опухоли, обеспечивая приобретение новых агрессивных свойств и устойчивости к терапии. При этом одновременно может происходить инактивация и вышеописанных проонкогенных активностей p53, приводящая к ослаблению выраженности других злокачественных свойств клеток, в частности, их инвазивной активности. Очевидно, что в ходе опухолевой прогрессии эти неблагоприятные для развития опухолей последствия могут компенсироваться другими изменениями генома, восстанавливающими или даже увеличивающими проявления утрачиваемого признака.

p53 КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР И МИШЕНЬ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Участие функциональной инактивации p53 в ключевых этапах канцерогенеза и изменениях реакции неопластических клеток на различные стрессовые/повреждающие воздействия породило надежды на использование анализа статуса p53 в прикладных целях — для прогнозирования течения заболевания и/или ответа на химиотерапию. Кроме того, предпринимаются попытки разработать новые методы таргетной терапии, основанные на восстановлении/усилении нормальной функции p53.

К сожалению, результативность таких исследований пока оставляет желать лучшего, что связано с рядом обстоятельств, как объективных (существование множества изоформ p53, сложность их регуляции и многогранность выполняемых ими функций), так и субъективных (неадекватность использованных методов анализа статуса p53 во многих работах). Последнее, главным образом, связано с широким ис-

пользованием иммуногистохимического окрашивания как единственного метода анализа. Работы с использованием такого подхода, во множестве проводившиеся в 1990-х годах, основывались на оказавшейся впоследствии ложной предпосылке, что позитивная реакция с антителами на p53 свидетельствует о присутствии мутантного p53, который, как правило, более стабилен, чем белок дикого типа. Однако проведенное позже прямое сопоставление результатов секвенирования гена *TP53* и иммуногистохимического анализа продемонстрировало отсутствие корреляции между содержанием белка p53 и мутациями его гена (позитивная окраска может быть обусловлена стрессиндуцированной стабилизацией белка дикого типа, а инактивирующие мутации *TP53* могут уменьшать или не изменять содержание белка).⁴⁶ Кроме того, недавно выяснилось, что использованные в этих работах антитела (DO1 и др.) не способны реагировать с рядом изоформ белка p53.³ Другая часто встречающаяся неадекватность методов детекции мутантного p53 заключалась в секвенировании только его центрального корового домена, что не позволяло выявить реже встречающиеся мутации других участков гена (неправильная классификация 10–20% случаев).⁴⁶ И, наконец, работы не учитывали активность природного ингибитора p53 — белка Mdm2, связанную с полиморфизмом его гена у разных индивидуумов (впоследствии выяснилось, что присутствие определенных аллелей гена *MDM2* сильно влияет на возраст, в котором у пациентов с синдромом Ли—Фраумени возникают опухоли).⁴⁷ В результате более 500 опубликованных статей, в 400 из которых использовался иммуногистохимический анализ, содержали весьма противоречивые сведения о влиянии статуса p53 на прогноз заболевания.⁴⁶

Тем не менее секвенирование полной последовательности гена *TP53* позволило выявить ряд закономерностей, которые могут быть использованы для прогнозирования болезни. Так, показано, что мутации *TP53* могут быть неблагоприятным прогностическим фактором при раке молочной железы, мочевого пузыря, опухолях головы и шеи^{46,48} (полный список таких публикаций содержится на вебсайте IARC <http://www.iarc.fr/p53/>). Менее выражена прогностическая значимость мутаций *TP53* при раке легкого, пищевода, толстой кишки, а при опухолях мозга исследователи либо не нашли никаких корреляций, либо, наоборот, отметили более благоприятное течение заболеваний при мутациях *TP53*.⁴⁶ Значение мутаций *TP53* для прогнозирования течения различных форм лейкозов изучено недостаточно, хотя имеются единичные работы об их неблагоприятном характере.^{46,49,50}

В значительной степени неблагоприятный прогноз при мутациях *TP53* связан с меньшей эффективностью терапии. Так, опухоли молочной железы с мутантным *TP53* хуже отвечают на доксорубин, 5-фторурацил, тамоксифен.^{46,48} При

этом существенное значение может иметь то обстоятельство, в каком из полиморфных по кодону 72 аллельных вариантов гена *TP53* произошла мутация. Например, показано, что опухоли головы и шеи с мутацией *TP53* в аллеле 72R менее чувствительны к цисплатину, чем опухоли с точно такой же мутацией *TP53* в аллеле 72P, так как мутантный белок p53/72R эффективнее ингибирует функцию белка p73, ответственную за индукцию апоптоза при воздействии цисплатина.⁵¹ Следует заметить, однако, что значение такого полиморфизма *TP53* не универсально. Так, недавно появилось сообщение, что чувствительность к терапии В-клеточного хронического лимфолейкоза не зависит от полиморфизма p53 в кодоне 72.⁵²

Существенным представляется также вопрос о значении конкретной аминокислотной замены в мутантном p53. Во многих работах продемонстрировано, что мутации в разных кодонах в различной степени инактивируют транскрипционную функцию p53 и, кроме того, придают ему разные новые активности. Зависимость прогноза от типа мутации p53 пока изучена довольно плохо, но, тем не менее, уже сейчас ясно, что мутации, нарушающие контакты p53 с ДНК (L2 и L3 петли ДНК-связывающего домена) оказывают более неблагоприятный эффект на чувствительность различных новообразований к химиотерапии.⁴⁶ Безусловно, быстрое развитие и удешевление технологий секвенирования ДНК позволит в скором времени оценить прогностическое значение большинства часто встречающихся мутаций p53.

Исходя из ключевой роли нарушений функции p53 в развитии различных новообразований, многие исследователи предпринимают попытки разработать новые терапевтические подходы, основанные на восстановлении/усилении активности белка p53 в опухолевых клетках. Следует отметить ряд успешных попыток, в которых путем скрининга больших химических библиотек были выявлены низкомолекулярные соединения (PRIMA и др.), способные восстанавливать конформацию и/или активность мутантных p53 и реактивировать, таким образом, опухоль-супрессирующие функции p53.^{53,54} Найдены также соединения (нутлин и др.), блокирующие взаимодействие p53 с его природным ингибитором — белком Mdm2, что обеспечивает усиление функции белка p53 в опухолевых клетках, не несущих мутаций гена *TP53*.⁵⁵ Кроме того, разработан оригинальный подход, позволяющий снизить токсичность радиотерапии для нормальных клеток организма путем временного выключения в них функции p53 с помощью низкомолекулярного соединения пифитрина.⁵⁶ Многие из этих агентов находятся на разных стадиях предклинических и клинических испытаний, и хочется надеяться, что в скором времени в клиниках появятся новые таргетные препараты, существенно расширяющие возможности терапии новообразований путем модификаций функции мутантного или нормального p53.

ЛИТЕРАТУРА

1. Peller S., Rotter V. TP53 in hematological cancer. Harris S.L., Levine A.J. The p53 pathway: positive and negative feedback loops. *Oncogene* 2005; 24(17):2899–908.
2. Joerger A.C., Fersht A.R. Structure-function-rescue: the diverse nature of common p53 cancer mutants. *Oncogene* 2007; 26(15):2226–42.
3. Bourdon J.C. p53 and its isoforms in cancer. *Br J Cancer* 2007; 97(3):277–82.
4. Levine A.J., Hu W., Feng Z. The P53 pathway: what questions remain to be explored? *Cell Death Differ.* 2006; 6(1):1027–36.
5. Pietsch E.C., Humbey O., Murphy M.E. Polymorphisms in the p53 pathway. *Oncogene* 2006; 25(11):1602–11.
6. Stieve T. The p53 family in differentiation and tumorigenesis. *Nat Rev Cancer* 2007; 7(3):165–8.
7. Deyoung M.P., Ellisen L.W. p63 and p73 in human cancer: defining the network. *Oncogene* 2007; 26(36):5169–83.
8. Sablina A.A., Budanov A.V., Ilyinskaya G.V. et al. The antioxidant function of the p53 tumor suppressor. *Nat Med.* 2005; 11(12):1306–13.
9. Sengupta S., Harris C.C. p53: traffic cop at the crossroads of DNA repair and recombination. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005; 6(1):44–55.
10. Tarapore P., Fukasawa K. Loss of p53 and centrosome hyperamplification. *Oncogene* 2002; 21(40):6234–40.
11. Horn H.F., Vousden K.H. Coping with stress: multiple ways to activate p53. *Oncogene* 2007; 26(9):1306–16.
12. Moll U.M., Wolff S., Speidel D., Deppert W. Transcription-independent pro-apoptotic functions of p53. *Curr Opin Cell Biol.* 2005; 17(6):631–6.
13. Xu Y., Lin T., Chao C., Saito S. et al. p53 induces differentiation of mouse embryonic stem cells by suppressing Nanog expression. *Nat Cell Biol.* 2005; 7(2):165–71.
14. Aylon Y., Oren M. Living with p53, dying of p53. *Cell* 2007; 130(4):597–600.
15. Shats I., Milyavsky M., Tang X. et al. p53-dependent down-regulation of telomerase is mediated by p21waf1. *J Biol Chem.* 2004; 279(49):50976–85.
16. Teodoro J.G., Evans S.K., Green M.R. Inhibition of tumor angiogenesis by p53: a new role for the guardian of the genome. *J Mol Med.* 2007; 85(11):1175–86.

17. Bensaad K., Vousden K.H. p53: new roles in metabolism. *Trends Cell Biol.* 2007; 17(6):286–91.
18. Kim, J.W., Dang C.V. Multifaceted roles of glycolytic enzymes. *Trends Biochem. Sci.* 2005; 30(3):142–150.
19. Bonnet S., Archer S.L., Allalunis-Turner J. et al. A mitochondria-k(+) channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer growth. *Cancer Cell* 2007; 11(1): 37–51.
20. Donehower L.A., Harvey M., Slagle B.L. et al. Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours. *Nature* 1992; 356(6366):215–21.
21. Jacks T., Remington L., Williams B.O. et al. Tumor spectrum analysis in p53-mutant mice. *Curr Biol.* 1994; 4(1):1–7.
22. Garcia-Cao I., Garcia-Cao M., Martin-Caballero J. et al. «Super p53» mice exhibit enhanced DNA damage response, are tumor resistant and age normally. *EMBO J.* 2002; 21(22):6225–35.
23. Villunger A., Michalak E.M., Coultas L. et al. p53- and drug-induced apoptotic responses mediated by BH3-only proteins puma and noxa. *Science* 2003; 302(5647):1036–8.
24. Jeffers J.R., Parganas E., Lee Y. et al. Puma is an essential mediator of p53-dependent and -independent apoptotic pathways. *Cancer Cell* 2003; 4(4):321–8.
25. Philipp-Staheli J., Kim K.H., Liggitt D. et al. Distinct roles for p53, p27Kip1, and p21Cip1 during tumor development. *Oncogene* 2004; 23(4):905–13.
26. Yang A., McKeon F. P63 and P73: P53 mimics, menaces and more. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2000; 1(3):199–207.
27. Deyoung M.P., Ellisen L.W. p63 and p73 in human cancer: defining the network. *Oncogene* 2007; 26(36):5169–83.
28. Stiewe T. The p53 family in differentiation and tumorigenesis. *Nat Rev Cancer* 2007; 7(3):165–8.
29. Komarova E.A., Krivokrysenko V., Wang K. et al. p53 is a suppressor of inflammatory response in mice. *FASEB J.* 2005; 19(8):1030–2.
30. Sablina A.A., Chumakov P.M., Kopnin B.P. Tumor suppressor p53 and its homologue p73alpha affect cell migration. *J Biol Chem.* 2003; 278(30):27362–71.
31. Crouch S., Spidel C.S., Lindsey J.S. HGF and ligation of alphavbeta5 integrin induce a novel, cancer cell-specific gene expression required for cell scattering. *Exp Cell Res.* 2004; 292(2):274–87.
32. Phillips T.M., Lindsey J.S. Carcinoma cell-specific Mig-7: a new potential marker for circulating and migrating cancer cells. *Oncol Rep.* 2005; 13(1):37–44.
33. Petty A.P., Garman K.L., Winn V.D. et al. Overexpression of carcinoma and embryonic cytotrophoblast cell-specific Mig-7 induces invasion and vessel-like structure formation. *Am J Pathol.* 2007; 170(5):1763–80.
34. Robertson G.P. Mig-7 linked to vasculogenic mimicry. *Am J Pathol.* 2007; 170(5):1454–6.
35. Guarino M., Rubino B., Ballabio G. The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology. *Pathology* 2007; 39(3):305–18.
36. Huber M.A., Kraut N., Beug H. Molecular requirements for epithelial-mesenchymal transition during tumor progression. *Curr Opin Cell Biol.* 2005; 17(5):548–58.
37. Nathanson S.D. Preclinical models of regional lymph node tumor metastasis. *Cancer Treat Res.* 2007; 135:129–56.
38. Sundar S.S., Ganesan T.S. Role of lymphangiogenesis in cancer. *J Clin Oncol.* 2007; 25(27):4298–307.
39. Soussi T. p53 alterations in human cancer: more questions than answers. *Oncogene* 2007; 26(15):2145–56.
40. Soussi T., Wiman K.G. Shaping genetic alterations in human cancer: the p53 mutation paradigm. *Cancer Cell* 2007; 12(4):303–12.
41. Soussi T. Analysis of p53 gene alterations in cancer: a critical view. In: 25 Years of p53 Research, Ed. by P.Hainaut and K.G.Wiman. Springer, Dordrecht-Berlin-Heidelberg-New York, 2005, pp. 255–292.
42. Shi H., Calvez F.L., Olivier M., Hainaut P. Patterns of TP53 mutations in human cancer: interplay between mutagenesis, DNA repair, and selection. In: 25 Years of p53 Research, Ed. by P.Hainaut and K.G.Wiman. Springer, Dordrecht-Berlin-Heidelberg-New York, 2005, pp. 293–320.
43. Strano S., Dell'Orso S., Di Agostino S. et al. Mutant p53: an oncogenic transcription factor. *Oncogene* 2007; 26(15):2212–9.
44. Li Y., Prives C. Are interactions with p63 and p73 involved in mutant p53 gain of oncogenic function? *Oncogene* 2007; 26(15):2220–5.
45. Vousden K.H., Lane D.P. p53 in health and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007; 8(4):275–83.
46. Olivier M., Hainaut P., Borresen-Dale A.-L. Prognostic and predictive value of TP53 mutations in human cancer. In: 25 Years of p53 Research, Ed. by P.Hainaut and K.G.Wiman. Springer, Dordrecht-Berlin-Heidelberg-New York, 2005, pp. 321–338.
47. Bond G.L., Levine A.J. A single nucleotide polymorphism in the p53 pathway interacts with gender, environmental stresses and tumor genetics to influence cancer in humans. *Oncogene* 2007; 26(9):1317–23.
48. Petitjean A., Achatz M.I., Borresen-Dale A.L. et al. TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogene* 2007; 26(15):2157–65.
49. Peller S., Rotter V. TP53 in hematological cancer: low incidence of mutations with significant clinical relevance. *Hum Mutat.* 2003; 21(3):277–84.
50. Thornton P.D., Gruszka-Westwood A.M., Hamoudi R.A. et al. Characterisation of TP53 abnormalities in chronic lymphocytic leukaemia. *Hematol J.* 2004; 5(1):47–54.
51. Bergamaschi D., Gasco M., Hiller L. et al. p53 polymorphism influences response in cancer chemotherapy via modulation of p73-dependent apoptosis. *Cancer Cell* 2003; 3(4):387–402.
52. Sturm I., Bosanquet A.G., Hummel M. et al. In B-CLL, the codon 72 polymorphic variants of p53 are not related to drug resistance and disease prognosis. *BMC Cancer* 2005; 5:105.
53. Selivanova G., Wiman K.G. Reactivation of mutant p53: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Oncogene* 2007; 26(15):2243–54.
54. Bouchet B.P., de Fromental C.C., Puisieux A., Galmarini C.M. p53 as a target for anti-cancer drug development *Crit Rev Oncol Hematol.* 2006; 58(3):190–207.
55. Vassilev L.T. MDM2 inhibitors for cancer therapy. *Trends Mol Med.* 2007; 13(1):23–31.
56. Gudkov A.V., Komarova E.A. Dangerous habits of a security guard: the two faces of p53 as a drug target. *Hum Mol Genet.* 2007; 16(1):R67–72.

Элиминация некоторых противоопухолевых препаратов при проведении гемодиализа и гемофильтрации

Е.Г. Громова, И.А. Курмуков

Elimination of antineoplastic drugs during hemodialysis and hemofiltration.

E.G. Gromova, I.A. Kurmukov

Keywords:

antineoplastic drugs, acute renal failure, chronic renal failure, elimination, renal replacement therapy, hemodialysis, hemofiltration

N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow

Контакты: e_gromova05@mail.ru

Ключевые слова

противоопухолевые препараты, острая почечная недостаточность, хроническая почечная недостаточность, элиминация, заместительная почечная терапия, гемодиализ, гемофильтрация

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия в мире отмечается неуклонный рост числа больных, нуждающихся в заместительной почечной терапии (ЗПТ), в том числе гемодиализе (ГД) и гемофильтрации (ГФ).

Острая почечная недостаточность (ОПН), требующая ЗПТ, развивается у 5–6–10% пациентов общего профиля, поступающих в отделения интенсивной терапии,¹ с летальностью 60,3–71,6%² и последующей диализной зависимостью у 13,8% выписанных больных.³

Проспективное 56-недельное исследование, проведенное в Национальном институте рака, включавшее 975 онкологических больных, выявило развитие ОПН у 32% больных, поступающих в отделения интенсивной терапии (соотношение солидных опухолей и гематологических заболеваний составило 3/1). Более 30% из числа этих пациентов нуждаются в ЗПТ. Полное восстановление функции почек отмечено у 82%, частичное — у 12%, диализная зависимость — у 6% выписанных из клиники больных.⁴ Доля ОПН в структуре причин летальности онкологических больных не превышает 51,3%.⁵ Сопоставимость результатов лечения ОПН в общей популяции и у онкологических больных подтверждает обоснованность отказа последним в ЗПТ.

Группа пациентов общей популяции с терминальной хронической почечной недостаточностью (тХПН), требующей программного ГД, ежегодно увеличивается примерно на 6% и к настоящей

му времени составляет около 2 млн человек. Продолжительность жизни этих пациентов возрастает благодаря совершенствованию диализных технологий и поддерживающей терапии. Онкологическая патология, по данным международного многоцентрового исследования (1980–1994 гг.) на базе клиник США, Европы, Австралии и Новой Зеландии, развивается у 3% пациентов, длительно находившихся на программном ГД по поводу тХПН.⁶ Летальность от прогрессирующего онкологического заболевания занимает лишь 13-е место в общем списке причин смерти этих больных и составляет 5,3% в Японии и 9% в Европе,⁷ что свидетельствует в пользу активной тактики противоопухолевого лечения данной категории пациентов.

Почечная недостаточность любого генеза, как правило, является основанием для редукции дозы лекарственных препаратов в соответствии со степенью снижения клиренса креатинина, в особенности для лекарственных средств с преимущественным почечным путем экскреции.^{8–10} Риск развития токсических эффектов у онкологических больных, нуждающихся в химиотерапии по поводу опухолевого заболевания и страдающих сопутствующей почечной недостаточностью, возрастает многократно.¹¹ Исходная почечная недостаточность может усугубляться в результате нефротоксического действия химиотерапевтических препаратов, реализующегося посредством различных механизмов. Так, адриамицин, митоминин, памидронат оказывают прямое

повреждающее действие на клубочки; цисплатин, метотрексат, ифосфамид, золедронат повреждают почечные канальцы; митомицин, фторурацил, гемцитабин являются нередкой причиной развития гемолитико-уремического синдрома.

Одним из важнейших аспектов эффективного лечения является обеспечение необходимой сывороточной концентрации лекарственных препаратов. При проведении ЗПТ степень элиминации многих медикаментозных средств через полупроницаемую мембрану диализатора или гемофильтра неизвестна либо недостаточно изучена. Поэтому пациентам с сопутствующей ХПН нередко отказывают в проведении химиотерапии из опасения усиления токсических эффектов, и в мировой литературе имеются лишь отдельные сообщения об эффективном противоопухолевом лечении этих больных.¹²⁻¹⁵

Так, описаны случаи успешного проведения химиотерапии в сочетании с ЗПТ пациентам с гематологическими заболеваниями (множественной миеломой, лимфомой Бёркитта, В-клеточной лимфомой и острым миелоидным лейкозом),¹⁶ раком легкого,^{17,18} пищевода,¹⁹ яичников.²⁰

При всем многообразии применяемых в настоящее время экстракорпоральных методов лечения органной недостаточности золотым стандартом коррекции азотемии и водно-электролитных нарушений является ГД. ГД позволяет элиминировать из кровотока избыток безбелковой части плазмы и водорастворимые низко- и средномолекулярные соединения с молекулярной массой до 500–1000 Д (жирорастворимые соединения, как правило, быстро проникают в ткани и уровень свободной фракции, доступной диализу, невысок).

При назначении химиотерапии препаратами с высокой способностью к элиминации во время ГД для обеспечения адекватного терапевтического эффекта необходима разработка методики их введения (корректирующее увеличение лекарственной дозы, определение времени и очередности химиотерапии и ЗПТ, и т.п.).

Эти вопросы долгое время оставались неразработанными.

В 1990 г. Н. Sauer²¹ исследовал принципиальную возможность удаления из организма 20 противоопухолевых препаратов на экспериментальной модели ГД. Плазму человека инкубировали с цитотоксическим препаратом и затем диализировали *in vitro*. Цитотоксичность оценивали на биологических тест-системах до и после ГД. Изученные лекарственные препараты в зависимости от их способности диализоваться *in vitro* распределены следующим образом.

Высокая способность к удалению во время ГД: метотрексат, фторурацил, цитарабин, дактиномицин, митомицин, 4-гидроксифторфосфамид, ифосфамид, мелфалан, дакарбазин, цисплатин.

Умеренная способность к удалению во время ГД: доксорубин, эпирубинин, кармустин.

Не удаляются во время ГД: даунорубин, винкристин, виндезин, этопозид, тенипозид, митоксантрон.

Молекулы большого размера (с молекулярной массой более 1000 Д), превышающих величину пор полупроницаемой мембраны диализатора или гемофильтра, практически не подвержены диализу,²² поэтому одним из немногих параметров, определяющих способность медикаментов к диализу как *in vitro*, так и *in vivo*, является степень связывания препарата с белками плазмы. Свободная от связи с белком фракция препарата может существенно возрастать при уремии, а также при выраженной гипопроотеин- и гипоальбуминемии,²³ нередко имеющих место у онкологических больных. Уровень свободной фракции лекарственных средств зависит также от рН крови, гипербилирубинемии, концентрации свободных жирных кислот, наличия в плазме гепарина и ряда других лекарственных препаратов.^{24,25}

Однако в системе *in vitro* невозможно обеспечить ряд важнейших параметров, влияющих на «диализабельность» препаратов *in vivo*, в частности объем распределения и скорость метаболизма.

Объем распределения определяется прежде всего связыванием с белками плазмы и с эритроцитами, а также скоростью перехода препарата из тканей в плазму. Более короткий период полужизни, как правило, чаще ассоциирован с большей способностью препарата к диализу.²⁶ Исходный лекарственный препарат и его метаболиты могут иметь различную «диализабельность». В случае быстрого распада препарата до неактивных метаболитов проведение ЗПТ с целью элиминации последних из кровотока нецелесообразно.

Ниже приведены данные¹² о возможности выведения некоторых противоопухолевых агентов во время ГД.

ЭЛИМИНАЦИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СРЕДСТВ

Цисплатин

Цисплатин (ЦП) является препаратом выбора при лечении ряда опухолевых заболеваний, и нередко необходимость его назначения безальтернативна. У пациентов с нормальной функцией почек ЦП быстро выделяется из плазмы и обнаруживается в моче. Динамика концентрации в плазме крови метаболитов ЦП имеет вид двухфазной кривой с относительно быстрым начальным клиренсом (период полужизни 25,5–49 мин) и последующим чрезвычайно медленным выделением из циркуляции (с периодом полужизни 58,5–73 ч). Несмотря на раннее обнаружение ЦП в моче, лишь половина дозы ЦП выделяется с мочой в течение 6 сут после введения. Больным с тХПН успешно применяли ЦП в различных комбинациях курсов химиотерапии и ГД и анализировали фармакокинетические параметры. Так, A. Gouyette et al²⁷ назначали начальную дозу 12 мг, исследовали концентрацию препарата, и назначали следующую дозу (50 мг) через неделю. N. Tanabe et al²⁸ вводили 30 мг ЦП в течение часа, ГД начинали через 30 мин после завершения введения ЦП. V. Ribrag et al²⁹ назначали тест-дозу 7,5 мг/м², спустя 30 мин от начала введения начинали ГД; терапевтическую дозу 63 мг/м² вводили через неделю. M. Tomita et al¹² начинали ГД спустя 30 мин после завершения 30-минутного введения ЦП в дозе 30 мг/м². Независимо от дизайна комбинации ЦП и ГД для кривых выведения общей и свободной фракции препарата были характерны наличие α - и β -фаз, аналогичных таковым у пациентов с неизменной функцией почек. Ввиду быстрого и прочного связывания ЦП с белками периферической крови элиминация ЦП посредством ЗПТ повышается при сокращении интервала между введением препарата и началом ГД. При 48-часовом интервале между введением ЦП и началом ГД препарат из организма практически не удаляется.³⁰

Поскольку фармакологические эффекты ЦП связаны не только с коротким по времени действием быстро проникающих в ткани фракций, но и с циркулирующими в кровотоке дериватами, у больных с сопутствующей тХПН целесообразны снижение дозы препарата не менее чем на 50%, и немедленное (непосредственно после введения препарата) проведение ГД.

Карбоплатин

Платина, высвобождаемая из карбоплатина (КП), необратимо связывается с белками плазмы и медленно высвобождается с периодом полужизни не менее 5 дней. У пациентов с нормальной функцией почек большая часть КП остается связанной с тканевыми белками в течение 24 ч, 65% введен-

ного препарата экскретируется с мочой на протяжении 12 ч, в том числе 32% — в неизмененном виде.³¹

При наличии почечной недостаточности белково-несвязанная фракция КП может вызывать выраженную гематологическую токсичность.³²

Фармакокинетике КП у пациентов, получающих ГД, посвящен ряд исследований.^{33–36} Временные комбинации КП и ГД были различны. М. Watanabe и S. Suzuki^{33,36} полагают, что площадь под кривой КП возрастает соответственно интервалу времени между введением КП и ГД. У пациентов с нарушенной функцией почек период полужизни КП составляет 13–16 ч.³⁷ У пациентов с почечной недостаточностью фармакокинетику КП можно регулировать интервалами между введением препарата и ГД.^{31,36} Рекомендуется 16-часовой интервал между химиотерапией КП и ГД.

Этопозид

Токсичность этопозиды (ЭП) определяется концентрацией препарата и длительностью его экспозиции. 95% введенного лекарственного средства связывается с тканевыми белками. При внутривенном введении больным с нормальной функцией почек препарат имеет 2-фазную кривую выведения, и 40% препарата элиминируется почечным путем с периодом полужизни от 4 до 11 ч.³⁸

У больных с почечной недостаточностью период полужизни ЭП существенно возрастает и коррелирует с клиренсом креатинина.³⁹ Фармакокинетика ЭП в условиях ГД описана во многих исследованиях.^{36,40–42} Исследователи единодушны во мнении, что препарат не выводится при ГД.

Фторурацил

Фторурацил (ФУ) имеет 2 пути элиминации. До 80% от назначенной дозы метаболизируется в печени с помощью фермента дигидропиримидиндегидрогеназы до дигидрофторурацила;⁴³ почечный путь экскреции составляет менее 20%.

ФУ не выводится во время ГД. Соответственно, режим и доза введения препарата у больных, получающих ЗПТ, не корректируются.⁴⁴

Циклофосфамид

При нормальной функции почек более 25% неизмененного циклофосфамида (ЦФ), а также его метаболиты выводятся почками.⁴⁵ У пациента со сниженным на 90% почечным клиренсом длительная экспозиция в организме биоактивных метаболитов ЦФ, в частности, 4-гидроксидифосфамида/альдофосфамида, приводит к увеличению на 30% площади под его фармакокинетической кривой.⁴⁶

Несмотря на более чем 40-летний опыт применения ЦФ в клинической онкологии, данные о его фармакокинетике у больных с сопутствующей почечной недостаточностью достаточно противоречивы.

Так, ряд авторов указывают на отсутствие изменений фармакокинетики и токсических профилей ЦФ в условиях почечной недостаточности.^{47–49} Другие исследователи указывают на снижение клиренса ЦФ^{50,51} и его алкилированных метаболитов в сочетании с усилением токсичности.⁴⁵

J.J. Perry⁵² описывает успешное лечение пациента с тХПН и острым миелоидным лейкозом, перенесшего аллогенную трансплантацию костного мозга, высокие дозы ЦФ (дважды по 60 мг/кг массы тела) и тотальное облучение тела. Фармакокинетический анализ указал на замедление выведение ЦФ и его алкилированных метаболитов в связи с ХПН и на их высокий клиренс в условиях ГД.

Аналогичные результаты получены М. Bischoff et al,⁵³ которые продемонстрировали возможность эффективного ле-

чения пациента с хроническим миелоидным лейкозом и сопутствующей диализзависимой почечной недостаточностью путем трансплантации костного мозга, тотального облучения тела и химиотерапии ЦФ.

В исследованиях М. Haubitz⁵¹ убедительно продемонстрировано, что в случае начала ГД через 7 ч после введения ЦФ в течение первых 3 ч процедуры удаляется более 22% введенного препарата. Поэтому во избежание выведения ЦФ в ранней фазе его распределения и обеспечения эффективной элиминации метаболитов рекомендуется начинать ЗПТ не ранее чем через 12 ч после введения препарата.

Ифосфамид

Ифосфамид (ИФ) успешно применяли у пациентов с диализзависимой ХПН. После процедуры стандартного ГД отмечено снижение ИФ и его метаболитов (хлорацетальдегида и 4-гидроксиифосфамида) на 86,9, 77,2 и 36,2% соответственно и значительное снижение явлений нейротоксичности.⁵⁴ Несмотря на это, большинство авторов рассматривают умеренное или выраженное снижение почечной функции как ограничение к назначению ИФ, считая целесообразным проведение ГД лишь для снижения явлений токсической энцефалопатии.^{55,56}

Паклитаксел

Паклитаксел (ПТ) метаболизируется в печени с помощью цитохрома Р450 и выделяется главным образом с желчью.⁵⁷ лишь менее 10% препарата экскретируется почками.⁵⁸ ГД не изменяет фармакокинетику ПТ.^{33,59} и препарат в дозе, назначаемой больным с нормальной функцией почек, может быть введен пациенту с почечной недостаточностью в недиализный день.⁶⁰

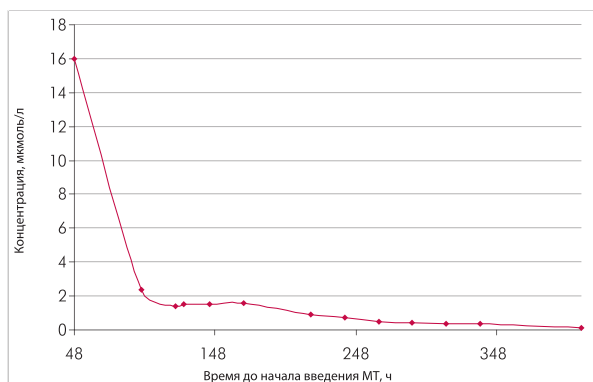
Метотрексат

Основной путь элиминации метотрексата (МТ) — почечный, при этом неизмененный МТ и его основной метаболит 7-ОН-метотрексат выделяются как пассивной клубочковой фильтрацией, так и активной секрецией в проксимальных почечных канальцах, и нормальный клиренс МТ составляет 150 мл/мин.⁶¹ Наиболее существенные и опасные осложнения лечения метотрексатом — гематологическая токсичность и мукозиты. Даже при лечении невысокими дозами (25 мг/м²) может наблюдаться нефротоксичность, обусловленная прямым повреждающим действием МТ на эпителий проксимальных почечных канальцев. При введении высоких доз МТ быстрая почечная экскреция может привести к возникновению чрезвычайно высокой внутриканальцевой концентрации МТ, превышающей уровень насыщения раствора. Это приводит к преципитации препарата в почечных канальцах с развитием внутриканальцевой обструкции, ОПН и закономерному нарушению выведения МТ из организма.⁶² Чем дольше сохраняется в крови повышенный уровень МТ, тем выше вероятность и тяжесть проявления его токсичности.

В условиях *in vitro* МТ демонстрирует высокую способность диализоваться⁶³ благодаря низкому объему распределения и короткому периоду полужизни в плазме крови. Ранее было показано, что ГД с использованием штатных низкопроницаемых диализаторов и перитонеальный диализ малоэффективны для элиминации МТ.^{64,65} Элиминация при карбогемоперфузии непостоянна и малопредсказуема.⁶³ Применение энтеросорбентов способствует удалению не более 10% МТ. Существенная экстракорпоральная элиминация МТ возможна при перфузии крови через специально разработанный сорбент, состоящий из ионообменной смолы с высоким аффинитетом к МТ,⁶⁶ однако значимого клинического использования этот метод не получил. Гораздо

Результаты определения концентрации метотрексата (МТ) в биологических жидкостях пациента И. в ходе гемофильтрации (ГФ)

№ ГФ	Биологическая жидкость	Концентрация МТ, мкмоль/л
1	Кровь до ГФ	1,70
	Кровь после ГФ	1,20
	Фильтрат	0,76
2	Кровь до ГФ	1,60
	Кровь после ГФ	1,20
	Фильтрат	0,55
3	Кровь до ГФ	1,2
	Кровь после ГФ	0,9
	Фильтрат	0,45



Мониторинг концентрации метотрексата (МТ) у пациента И.

перспективнее оказался так называемый high-flux ГД, при котором в качестве диализного применяется фильтр, легко проницаемый для веществ с молекулярной массой в сотни килодалтон.^{67,68}

С 2004 г. в ГУ РОНЦ им. Н.Н.Блохина успешно проведена химиотерапия метотрексатом двум пациентам с декомпенсированной почечной недостаточностью.⁶⁹ Приводим одно из клинических наблюдений.

Пациент И., 62 лет, по поводу позднего рецидива диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы с опухолевым поражением головного мозга получил 7000 мг МТ (3600 г/м²) в виде 4-часовой инфузии. Концентрация МТ в сыворотке крови через 42 ч после начала введения составила 16 мкмоль/л. Пациент получил 100 мг фолината кальция. Дозы и кратность введения фолината кальция в дальнейшем корректировали в зависимости от сывороточной концентрации МТ.

Мониторирование концентрации МТ (рисунок) проводилось на протяжении 17 сут, пока концентрация не оставила менее 0,15 мкмоль/л. Несмотря на гидратацию и алкализацию, у больного с исходно нормальной функцией почек через 48 ч от начала введения МТ развилась олигурическая ОПН с повышением концентрации креатинина и мочевины крови до 626 мкмоль/л и 40,3 ммоль/л соответственно.

Сохранялись периферические отеки. На 4-е сутки появилась бессонница, отмечена дезориентация во времени, месте и собственной личности. Несмотря на введение фолината кальция у больного развились мукозит с поражением слизистой рта и кишечника и тромбоцитопения. В связи с почечной недостаточностью и отечным синдромом с 5-х суток после введения МТ пациенту была начата ЗПТ. Учитывая невысокий уровень азотемии, наличие остаточной функции почек и необходимость проведения ультрафильтрации, выполнили 5 процедур гемофильтрации (ГФ) в интермитти-

рующем режиме на аппарате Aquarius (Edwards, США). Использовали фильтры F-80S и замещающий раствор HF21 (Fresenius, Германия). В качестве сосудистого доступа использовали двухпросветный перфузионный катетер Agrow (Agrow, США), установленный в левую подключичную вену и обеспечивавший кровоток 220 мл/мин. Антикоагуляцию ввиду тромбоцитопении не проводили. Геморрагических либо тромботических осложнений не отмечено.

Определяли концентрацию МТ в крови до начала ГФ и по окончании лечения, а также концентрацию МТ в фильтрате. Последнее позволило рассчитать клиренс МТ во время процедуры и коэффициент просеивания МТ (т. е. отношение концентрации препарата в фильтрате к его концентрации в крови, протекающей через гемофильтр). Некоторые результаты представлены в таблице. Клиренс МТ за процедуру составил 53,6 мл/мин.

При контрольном исследовании головного мозга с помощью магнитно-резонансной томографии выявлен ожидаемый терапевтический эффект в виде значительного уменьшения размеров опухолевых очагов.

Митоксантрон

Препарат связывается с белками плазмы на 78%, подвергается биотрансформации в печени. Большая часть дозы захватывается и связывается в тканях с T_{1/2} 5,8 дня. Препарат не подвержен удалению во время ГД, не требуется коррекции дозы у пациентов, получающих ЗПТ.

Гемцитабин

В единственном сообщении о проведении химиотерапии гемцитабином в дозе 1000 мг/м² пациенту с сопутствующей тХПН рекомендуется соблюдать временной интервал 6–12 ч между введением препарата и началом ГД с целью обеспечения адекватной цитотоксической активности и последующего снижения токсических эффектов метаболитов гемцитабина.⁷¹

Другие противоопухолевые препараты

Ранее в исследованиях *in vitro* была выявлена хорошая диализуемость таких антибиотиков как дактиномицин и митомицин.²¹ Однако в связи с высокой и прочной связью с тканевыми белками и длительным (более 36 ч) периодом полужизни в плазме ГД в условиях *in vivo* неэффективен.⁷²

Удаление с помощью ГД препаратов группы антраклинов (доксорубин, эпирубинин и даунорубинин) и алкалоидов (винкристин, винбластин, виндезин) неэффективно в связи с большим объемом распределения и длительным периодом полужизни этих препаратов.^{72,73}

Данных об элиминации велкейда, идарубина и цитозара при проведении ЗПТ в литературе не найдено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эффективное удаление из организма субстанций с различной молекулярной массой можно моделировать с помощью определенных режимов процедур ЗПТ, путем подбора соответствующих задачам диализаторов, гемофильтров и т. п. Учитывая известные параметры фармакокинетики лекарственных препаратов и располагая методами их дозированной и хорошо прогнозируемой элиминации, во многих случаях возможно успешное противоопухолевое лечение онкологических больных с сопутствующей тяжелой почечной недостаточностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Weisbord S.D., Palevsky P.M. Acute renal failure in the intensive care unit. *Semin Respir Crit Care Med.* 2006; 27(3):262-73.
2. Soubrier S., Leroy O., Devos P. et al. Epidemiology and prognostic factors in critically ill patients treated with hemodiafiltration. *J Crit Care* 2006; 21(1):66-72.
3. Uchino S., Kellum J.A., Bellomo R. et al. Beginning and Ending Supportive Therapy for the Kidney (BEST Kidney) Investigators. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA* 2005; 294(7):813-8.
4. Marcio Soares, Jorge I.F. Salluh, Marilia S. Carvalho et al. Prognosis of critically ill patients with cancer and acute renal dysfunction. *J Clin Oncol.* 2006; 24(24):4003-10.
5. Darmon M., Thi ry G, Ciroidi M et al. Should dialysis be offered to cancer patients with acute kidney injury? *Intensive Care Med.* 2007; 33(5):765-72..
6. Maisonneuve P., Agodoa L., Gellert R. et al. Cancer in patients on dialysis for end-stage renal disease: an international collaborative study. *Lancet* 1999; 354(9173):93-9.
7. Goodkin D.A., Bragg-Gresham J.L., Koenig K.G. et al. Young association of comorbid conditions and mortality in hemodialysis patients in Europe, Japan, and the United States: The Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *J Am Soc Nephrol.* 2003; 14:3270-77.
8. Dettli L. Drug dosage in renal disease. *Clin Pharmacokinet.* 1976; 1:126-34.
9. Giusti D.L., Hayton W.L. Dosage regimen adjustments in renal impairment. *Drug Intel Clin Pharm* 1973; 7:382-7.
10. Czock D., Boesler B., Rasche M., et al. Suggestions for dose adjustment in renal failure patients. *Nieren-Hochdruckkrh.* 2003; 32:74-80.
11. Launay-Vacher V., Deray G. Anticancer drugs and the kidney - chronic renal insufficiency in cancer patients, dosage adjustment and renal toxicity of anticancer drugs. *Eur Kidney Urol Dis.* 2006; 2-5.
12. Tomita M., Aoki Y., Tanaka K. Effect of haemodialysis on the pharmacokinetics of antineoplastic drugs. *Clin Pharmacokinet.* 2004; 43(8):515-27.
13. Sefer S., Degoricija V. About drug dialysability. *Acta Clin Croat.* 2003; 42:257-67.
14. Golper T.A., Marx M.A. Drug dosing adjustments during continuous renal replacement therapies. *Kidneys Int.* 1998; 53(Suppl 66): S165-8.
15. Vincent H.H., Vos M.C., Akcahuseyin E. et al. drug clearance by continuous hemodiafiltration (CAVHD). Analysis of sieving coefficients and mass transfer coefficients of diffusion. *Blood Purif.* 1993; 11:99-107.
16. Boesler B., Czock D., Keller F. et al. Clinical course of haemodialysis patients with malignancies and dose-adjusted chemotherapy. *Nephrol Dial Transpl.* 2005 20(6):1187-91.
17. Mencoboni M., Oliveri L., Vannocci M.O. et al. Docetaxel pharmacokinetics with pre- and post-dialysis administration in hemodialysed patient. *Chemotherapy* 2006; 52:147-50.
18. Watanabe R., Takiguchi Y., Moriya T. et al. Feasibility of combination chemotherapy with cisplatin and etoposide for haemodialysis patients with lung cancer. *Br J Cancer* 2003; 88:25-30.
19. Kurisu A., Hata T., Owada A. Full-dose chemotherapy for esophageal cancer patient under haemodialysis. *Nephron* 2002; 92:960.
20. Chatelut E., Rostaing L., Gualano V. et al. Pharmacokinetics of carboplatin in a patient suffering from advanced ovarian carcinoma with hemodialysis-dependent renal insufficiency. *Nephron* 1994; 66:157-61.
21. Sauer H., Fuger K., Blumenstein M. Modulation of cytotoxicity of cytostatic drugs by hemodialysis in vitro and in vivo. *Cancer Treatment Rev.* 1990; 17:293-300.
22. Keller F., Wilms H., Schultze G. et al. Effect of plasma protein binding, volume of distribution, characteristics of drugs and molecular weight on the fraction of drugs eliminated by hemodialysis. *Clin Nephrol.* 1983; 19:205-10.
23. McNamara P.J., Lalka D., Gibaldi M. Endogenous accumulation products and serum protein binding in uremia. *J Lab Clin Med.* 1981; 98:730-40.
24. Gulyassy P.E., Depner T.A. Impaired binding of drugs and endogenous ligands in renal disease. *Am J Med.* 1983; 2:578-601.
25. Bugge J.F. Pharmacokinetics and drug dosing adjustments during continuous venovenous hemofiltration or hemodiafiltration in critically ill patients. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2001; 45:929-34.
26. Winchester J.F. Evolution of artificial organs/extracorporeal removal of drugs. *Artif Organs* 1986; 10:316-23.
27. Gouyette A., Lemoine R., Adhemar J.P. et al. Kinetics of cisplatin in an anuric patient undergoing hemofiltration dialysis. *Cancer Treat Rep.* 1981; 65:665-8.
28. Tanabe N., Goto M., Morita H. et al. Pharmacokinetics of cis-diammine-dichloroplatin in a hemodialysis patient. *Cancer Invest.* 1991; 9:629-35.
29. Ribrag V., Droz J.P., Morizet J. et al. Test dose administration of cisplatin in an anephric patient: a case report. *Ann Oncol.* 1993; 4:679-82.
30. Gorodetsky R., Vexler A., Bar-Khaim Y. et al. Plasma platinum elimination in a hemodialysis patient treated with cisplatin. *Ther Drug Monit.* 1995; 17:203-6.
31. Calvert A.H., Newell D.R., Gumbrell L.A. et al. Carboplatin dosage: prospective evaluation of a simple formula based on renal function. *J Clin Oncol.* 1989; 7:1748-56.
32. Egorin M.J., Van Echo D.A., Tipping S.J. et al. Pharmacokinetics and dosage reduction of cis-diammine (1,1-cyclobutanedicarboxylato) platinum in patients with impaired renal function. *Cancer Res.* 1984; 44:5432-8.
33. Watanabe M., Aoki Y., Tomita M. et al. Paclitaxel and carboplatin combination chemotherapy in a hemodialysis patient with advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2002; 84: 335-8.
34. Motzer R.J., Niedzwiecki D., Isaacs M. et al. Carboplatin-based chemotherapy with pharmacokinetic analysis for patients with hemodialysis-dependent renal insufficiency. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1990; 27:234-8.
35. Yanagawa H., Takishita Y., Bando H. et al. Carboplatin-based chemotherapy in patients undergoing hemodialysis. *Anticancer Res.* 1996; 16:533-5.
36. Suzuki S., Koide M., Sakamoto S. et al. Pharmacokinetics of carboplatin and etoposide in a hemodialysis patient with Merkel-cell carcinoma. *Nephrol Dial Transpl.* 1997; 12:137-40.
37. Harland S.J., Newell D.R., Siddik Z.H. et al. Pharmacokinetics of cis-diammine-1,1-cyclobutanedicarboxylate platinum (II) in patients with normal and impaired renal function. *Cancer Res.* 1984; 44:1693-7.
38. Evans W.E., Sinkul J.A., Crom W.R. et al. Pharmacokinetics of teniposide (VM 26) and etoposide (VP 16-213) in children with cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1982; 7:147-50.
39. D'Incalci M., Rossi C., Zucchetti M. et al. Pharmacokinetics of etoposide in patients with abnormal renal and hepatic function. *Cancer Res.* 1986; 46:2566-71.
40. Miyaoka K., Matsubara T., Matsumoto T. et al. Pharmacokinetic study of etoposide in aged patient with non Hodgkin lymphoma receiving hemodialysis. *Gan To Kagaku Ryoho* 1991; 18:2325-8.
41. English M.W., Lovis S.P., Peng B. et al. Pharmacokinetically guided dosing of carboplatin and etoposide during peritoneal dialysis and haemodialysis. *Br J Cancer* 1996; 73:776-80.
42. Holthuis J.J., Van der Vyver F.L., van Oort W.J. et al. Pharmacokinetic evaluation of increasing dosage of etoposide in a chronic hemodialysis patient. *Cancer Treat Rep.* 1985; 69:1279-82.
43. Heggie G.D., Sommadossi J.P., Cross D.S. et al. Clinical pharmacokinetics of 5-fluoruracil and its metabolites in plasma, urine and bile. *Cancer Res.* 1987; 47:2203-6.
44. Rengelshausen J., Hull W.E., Schwenger V. et al. Pharmacokinetics of 5-fluoruracil and its catabolites determined by 19F nuclear magnetic resonance spectroscopy for a patient on chronic hemodialysis. *Am J Kidney Dis.* 2002; 39:E10.
45. Bagley C.M., Bostick F.W., De Vita V.T. Clinical pharmacology of cyclophosphamide. *Cancer Res.* 1973; 33:226-33.
46. Chen T.L., Kennedy M.J., Anderson L.W. Nonlinear pharmacokinetics of cyclophosphamide and 4-hydroxy-cyclophosphamide/aldophosphamide in patients with metastatic breast cancer receiving high dose chemotherapy following by autologous bone marrow transplantation. *Drug Metab Dispos.* 1997; 25:544-51.
47. Grochow L.B., Colvin M. Clinical pharmacokinetics of cyclophosphamide. *Clin Pharmacokinet.* 1979; 4:380-94.
48. Moore M.J. Clinical pharmacokinetics of cyclophosphamide. *Clin Pharmacokinet.* 1991; 20:194-208.
49. Bramwell V., Calvert R.T., Edwards G. The disposition of cyclophosphamide in a group of myeloma patients. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1979; 3:253-9.
50. Juma F.F., Rogers H.J., Trounce J.R. Effect of renal insufficiency on the pharmacokinetics of cyclophosphamide and some of its metabolites. *Eur J Clin Pharmacol.* 1981; 19:443-51.
51. Haubitz M., Bohnstengel F., Brunkhorst R. et al. Cyclophosphamide pharmacokinetics and dose requirement in patients with renal insufficiency. *Kidney Int.* 2002; 61:1495-501.
52. Perry J.J., Fleming R.A., Rocco M.V. et al. Administration and pharmacokinetics of high-dose of cyclophosphamide with hemodialysis support for allogeneic bone marrow transplantation in acute leukemia and end-stage renal disease. *Bone Marrow Transplant.* 1999; 23:839-42.
53. Bischoff M.E., Blau W., Wagner T. et al. Total body irradiation and cyclophosphamide is a conditioning regimen for unrelated bone marrow transplantation in a patient with a chronic myelogenous leukemia and renal failure on hemodialysis. *Bone Marrow Transplant.* 1998; 22:591-3.
54. Carlson L., Goren M.P., Bush D.A. et al. Toxicity, pharmacokinetics, and *in vitro* hemodialysis clearance of ifosfamide and metabolites in anephric pediatric patient with Wilms' tumor. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1998; 41:140-6.
55. Skinner R., Sharkey I.M., Pearson A.D. et al. Ifosfamide, mesna and nephrotoxicity in children. *J Clin Oncol.* 1993; 11:173-90.
56. Rossi R., Godde A., Kleibrand A. et al. Unilateral nephrectomy and cisplatin as risk factors of ifosfamide-induced nephrotoxicity: analysis of 120 patients. *J Clin Oncol.* 1994; 12:159-65.
57. Cresteil T., Monsarrat B., Alvinier P. et al. Taxol metabolism by human liver microsomes: identification of cytochrome P450 isozymes involved in its biotransformation. *Cancer Res.* 1994; 54: 386-92.
58. Longnecker S.M., Donehower R.C., Cates A.E. et al. High performance liquid chromatographic assay for Taxol in human plasma and urine and pharmacokinetics in a phase I trial. *Cancer Treat Rep.* 1987; 71:53-9.
59. Woo M.H., Gregoric D., Shearer P.D. et al. Pharmacokinetics of paclitaxel in an anephric patient. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1999; 43:92-6.
60. Jeybalan N., Hirte H.W., Moens F. Treatment of advanced ovarian carcinoma with carboplatin and paclitaxel in a patient with renal failure. *Int J Gynecol Cancer* 2000; 10:463-8.
61. Kamen B.A., Cole P.D., Bertino J.R. Folate antagonists. In: Holland, Frei, eds. *Cancer Medicine*. London, BC Decker Inc. 2003. p.727.
62. Jacobs S.A., Stoller R.G., Chabner B.A. et al. 7-Hydroxymethotrexate as a urinary metabolite in human subjects and rhesus monkeys receiving high dose methotrexate. *J Clin Invest.* 1976;57:534-8.
63. Molina R., Fabian C., Cowley B. Jr. Use of charcoal hemoperfusion with sequential hemodial-

ysis to reduce serum methotrexate levels in a patient with acute renal insufficiency. *Am J Med.* 1987; 82(2): 350–2.

64. Ahmad S., Shen F., Bleyer W.A. Methotrexate-induced renal failure and ineffectiveness of peritoneal dialysis. *Arch Intern Med.* 1978; 138:1146–7.

65. Hande K.R., Balow J.E., Drake J.C. et al. Methotrexate and hemodialysis. *Ann Intern Med.* 1977; 87:495–6.

66. Greil J., Wyss P.A., Ludwig K. et al. Continuous plasma resin perfusion for detoxification of methotrexate. *Eur J Pediatr.* 1997; 156(7):533–6.

67. Wall S.M., Johansen M.J., Molony D.A. et al. Effective clearance of methotrexate using high-flux

hemodialysis membranes. *Am J Kidney Dis.* 1996; 28(6):846–54.

68. Saland J.M., Leavey P.J., Bash R.O. et al. Effective removal of methotrexate by high-flux hemodialysis. *Pediatr Nephrol.* 2002; 17(10):825–9.

69. Курмуков И.А., Иванов А.В., Громова Е.Г. и др. Гемофильтрация может обеспечить элиминацию метотрексата в условиях тяжелой острой почечной недостаточности. *Вестн РЖУ им. Н.Н.Блохина РАМН* 2006; 17(4):52–5.

70. Boros L., Cacek T., Pine R.B. et al. Distribution characteristics of mitoxantrone in a patient undergoing hemodialysis. *Cancer Chem Pharmacol.* 1992; 31(1):57–60.

71. Kiani A., Kohne C.H., Franz T. et al. Pharmacokinetics of gemcitabine in a patient with end-stage renal disease: effective clearance of its main metabolite by standard hemodialysis treatment. *Cancer Chem Pharmacol.* 2003; 51(3):266–70.

72. Seiffart G. Drugs in renal failure: dosing guidelines for frequently used drugs in end-stage renal disease and dialysis patients. *Blood Purif.* 1985; 3:140–68.

73. Benner W., Aronoff G.R., Morrison G. et al. Drug prescribing in renal failure: dosing guidelines for adults. *Am J Kidney Dis.* 1983; 3:155–93.



Эпигенетические нарушения при острых лейкозах

И. А. Демидова

Epigenetic aberrations in acute leukemias

I. A. Demidova

Keywords:

epigenetics, DNA methylation, histone acetylation, acute leukemia

Hematology Research Center, Moscow

Контакты: dema@blood.ru

Ключевые слова

эпигенетика, метилирование ДНК, ацетилирование гистонов, острый лейкоз

ВВЕДЕНИЕ

Острые лейкозы представляют собой весьма разнородную группу злокачественных заболеваний крови, основной характеристикой которых является клональная экспансия генетически измененных предшественников гемопоэза. Ведущую роль в развитии заболевания играет нарушение баланса между пролиферацией и дифференцировкой клеток, приводящее к уничтожению основ нормального кроветворения. Изучение хромосомных aberrаций, ведущих к повреждению нормальной экспрессии генов при острых лейкозах, позволило выявить, что изменения обнаруживаются как на генетическом, так и на эпигенетическом уровне, т.е. на уровне регуляции считывания генетической информации с участием белковых и нуклеотидных структур, присутствующих в клетке. При этом если значение генетических aberrаций при этих заболеваниях в настоящее время достаточно хорошо изучено, эпигене-

тические нарушения, ассоциированные с развитием лейкоемического фенотипа, стали предметом пристального внимания лишь в последнее время.

ЧТО ТАКОЕ ЭПИГЕНЕТИКА?

По современному определению, к эпигенетически обусловленным относят все унаследованные клеткой в процессе деления (митоза или мейоза) особенности регуляции экспрессии генов, не связанные непосредственно с изменением кода ДНК.¹ Эпигенетическое воздействие на генную экспрессию реализуется за счет процессов, влияющих на степень конденсации хроматина — структуры-носителя генетической информации в клетке, состоящей из ДНК и особых белков-гистонов. При уменьшении конденсации хроматина освобождается доступ факторов транскрипции к ДНК и становится возможной экспрессия генов, т.е. последовательное образование РНК (транскрипция) и белка (трансляция). Ведущими процес-

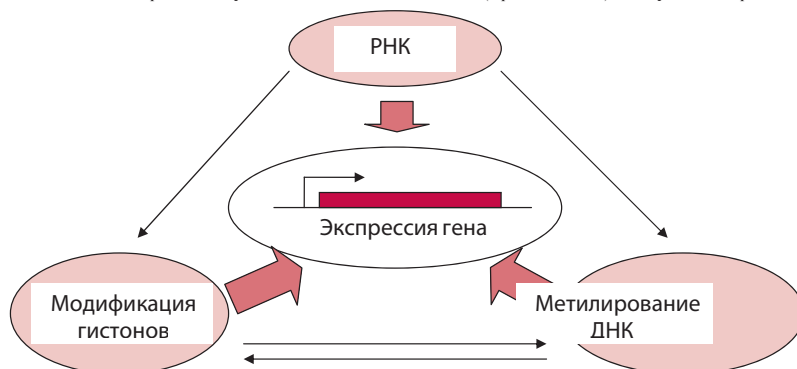


Рис. 1. Взаимосвязь механизмов эпигенетической регуляции.

сами, регулирующими структуру хроматина, являются метилирование ДНК, ферментная модификация белков-гистонов и РНК-ассоциированное подавление транскрипции и трансляции.² Исследования последнего времени выявили устойчивую связь между всеми тремя компонентами эпигенетической регуляции и их способность к взаимной активации (рис. 1). Оказалось, что нарушение в одной из систем неизбежно приводит к повреждению механизмов двух других, и, таким образом, вызывает неадекватную экспрессию или, наоборот подавление функционирования огромного количества генов. В связи с обнаружением различных видов нарушений этих процессов появилась новая концепция развития целого ряда заболеваний — эпигенетическая, возникли термины «эпигенетические болезни» и «эпигенетическая терапия».

СТРУКТУРА ХРОМАТИНА

Для лучшего понимания процессов считывания генетической информации и их регуляции следует вспомнить, что генетический материал в клетке существует в виде хроматина — структуры, состоящей из ДНК и белков-гистонов. Структурной единицей хроматина является нуклеосома, в состав которой входят часть спирали ДНК размером 146 пар нуклеотидов (п. н.), совершающая виток в 1,7 раза вокруг белковой структуры — октамера, состоящей из гистонов. Нуклеосомы связаны между собой участком ДНК около 50 п. н.³ Хроматин образует динамическую структуру, позволяющую компактно расположить в ядре клетки около 2 м ДНК, сохранив при этом ее способность к функционированию. Для осуществления процесса транскрипции (образования РНК) белкам-транскрипционным факторам необходим доступ к регуляторным последовательностям ДНК. Доступ регулируется двумя взаимосвязанными процессами: метилированием ДНК и ацетилированием (и другими ферментными модифи-



Рис. 2. Изменение структуры хроматина в процессе метилирования ДНК и ацетилирования гистонов.

кациями) гистонов, которые будут рассмотрены ниже. Схематически процесс изображен на рис. 2.

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК

Метилированием называется присоединение группы CH_3 к атому углерода в 5 позиции азотистого основания цитозина, одного из четырех нуклеотидов, составляющих структуру цепи ДНК (рис. 3). Процесс метилирования является одним из фундаментальных процессов эпигенетического подавления экспрессии генов, закрепленным в процессе эволюции.^{4,5} Образование метилцитозина ведет к конденсации хроматина, препятствует присоединению транскрипционных факторов к своим мишеням на ДНК и таким образом ингибирует считывание информации. В процессе естественного развития метилирование является ведущим механизмом

осуществления последовательной тканеспецифической экспрессии генов и правильного развития эмбриона, инактивации одной X-хромосомы у женщин и осуществления механизма импринтинга, позволяющего «замалчивать» один из родительских генов в диплоидном наборе хромосом.

Метилированию в норме подвергается от 2 до 7% всех цитозиновых остатков ДНК клетки. При этом в 70% случаев цитозин метилируется в составе динуклеотидов C-G (CpG). CpG участки, как правило, представляют собой фрагменты ДНК длиной более 500 п. н. и базируются в зонах инициации считывания информации — промоторах — более чем 40% генов млекопитающих.^{6,7}

Метилирование осуществляется с помощью ферментов ДНК-метилтрансфераз (DNMT). Метилтрансферазы можно условно разделить на две группы — метилирующие ДНК *de novo*, т. е. в тех участках, где ранее не было метилцитозина (DNMT3A и DNMT3B), и «поддерживающие» метилирование в дочерней цепи ДНК, образующейся в процессе репликации (DNMT1), сохраняя таким образом структуру, присущую материнской цепи.

Нарушения метилирования при развитии злокачественных новообразований возникают, как правило, на ранних стадиях. Общий низкий уровень метилирования цитозина (гипометилирование) при этом сочетается с обратным процессом — гиперметилированием CpG участков в промоторах генов-супрессоров опухоли.^{8,9} Тотальное гипометилирование ведет к повышению экспрессии протоонкогенов, генов, кодирующих ростовые факторы, а также целого ряда генов, таких как ген активатора плазминогена урокиназного типа (PLAU), ген гепараназы и кальцийсвязывающего протеина (S100A4), способствующих метастазированию путем проникновения клетки через стенки кровеносных и лимфатических сосудов.¹⁰ Важную роль играет также гипометилирование специфических олигонуклеотидных элементов — ретротранспозонов, имеющих вирусное происхождение. Ретротранспозоны представляют собой обратные транскрипты вирусной РНК, в норме достаточно произвольно встроенные в структуру хозяйской ДНК. Обычно эти элементы метилированы и поэтому неактивны. Зачастую ретротранспозоны встраиваются в регуляторные зоны генов — интроны. Активация этих элементов при опухолевой трансформации ведет к повышению генетической нестабильности и нарушению нормальной экспрессии хозяйских генов.¹¹ Причины гипометилирования ДНК в злокачественных клетках до конца не ясны. Гипотеза, предполагающая причиной общий или частичный дефицит метилирующих ферментов, не объясняет одновременное гиперметилирование промоторов целого ряда генов-супрессоров опухоли. Некоторые исследователи предполагают, что причиной тотального гипометилирования ДНК в злокачественных клетках является образование определенных изоформ фермента ДНК-метилтрансферазы типа DNMT3B. Эта форма фермента, связываясь с CpG участками промоторов генов, не приводит к их метилированию, но при этом препятствует связи этих участков с активными формами метилтрансфераз.^{12,13} В то же время этот тип фермента и, в меньшей степени, DNMT1 способствуют активному метилированию

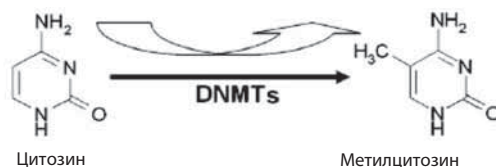


Рис. 3. Процесс метилирования.

и подавлению экспрессии генов-супрессоров опухоли. При острых миелоидных лейкозах (ОМЛ) характерным является высокий уровень экспрессии как DNMT3B, так и DNMT1, что сопровождается гиперметилированием промоторов таких генов — опухолевых супрессоров, как ингибиторы циклинзависимой киназы (*CDKN2A* и *CDKN2B*), ген эстрогенового рецептора I (*ESR1*) и ген ретинобластомы (*RBI*).¹⁴ В последние годы появились данные целого ряда исследований, доказывающих, что ДНК-метилтрансферазы участвуют в образовании белковых комплексов, подавляющих транскрипцию, которые возникают при участии химерных протеинов, таких как PML/RARA и AML/ETO.^{1,15-17}

Открытие роли метилирования в онкогенезе привело к широкому внедрению ингибиторов ДНК-метилтрансфераз. Наиболее известным из этих препаратов является 5-аза-2'-деокситидин (Дакоген), который, встраиваясь в цепочку ДНК вместо цитозина, образует прочную ковалентную связь с ДНК-метилтрансферазами, препятствуя таким образом метилированию и снимая блок с репрессированного ранее гена.¹⁸

МОДИФИКАЦИИ ГИСТОНОВ

Следующим важнейшим механизмом эпигенетической регуляции является ферментная модификация основных белков хроматина — гистонов. Гистоны образуют ядро нуклеосомы, вокруг которого формируется виток спирали ДНК. Существует 4 вида белков-гистонов. При формировании ядра нуклеосомы они образуют следующие тесно связанные структуры: тетрамер из протеинов H3 и H4 и 2 димера из H2A и H2B.¹⁹ Схематически ядро нуклеосомы представ-

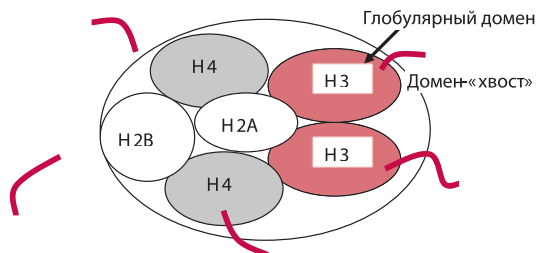


Рис. 4. Модель ядра нуклеосомы (вид сверху): тетрамер H3 и H4 и один из димеров H2A и H2B (второй димер расположен под первым).

лено на рис. 4. Гистон H1 у высших эукариот осуществляет связывание нуклеосом между собой, способствуя конденсации хроматина.²⁰

Структура каждого гистона включает глобулярное ядро, обладающее специфическим мотивом завиток—петля—завиток, осуществляющим димеризацию, и свободный «хвостовой» домен, включающий аминокислоты лизин, аргинин и серин. Этот домен обладает положительным электрическим зарядом и, взаимодействуя с анионными группами цепи ДНК, определяет стабильность структуры нуклеосомы.²¹ Ацетилирование или метилирование свободной аминогруппы лизина приводит к изменению общего заряда белка и, соответственно, изменению структуры хроматина — освобождается доступ транскрипционных факторов к ДНК (рис. 3). Такие же изменения происходят при фосфорилировании гидроксильного остатка серина. В целом в настоящее время известно более 50 позиций в аминокислотной структуре гистонов, которые могут быть подвержены ферментной модификации (метилированию, ацетилированию, фосфорилированию, АДФ-рибозилированию и т. д.).²² Оказалось, что каждое из этих изменений является своеобразным знаком для привлечения различных регуляторных комплексов, каждый из кото-

рых определяет особенности транскрипции. Таким образом, сочетание различных модификационных процессов создает так называемый «гистоновый код», во многом определяющий сущность и порядок считывания генетической информации. Оказалось, что информационные возможности гистонного кода едва ли не больше возможностей классического кода ДНК.^{23,24}

Процессы ацетилирования и деацетилирования, наиболее изученные к настоящему времени, осуществляются специфическими группами ферментов — гистонацетилазами (или ацетилтрансферазами), или HAT, и гистондеацетилазами, или HDAC. Гистонацетилазы работают, как правило, в составе больших комплексов, которые зачастую способны изменять их активность. Интересно, что целый ряд известных транскрипционных факторов, таких как CBP и p300, TAF_{II}250, SRC-1, имеют последовательности, гомологичные структуре HAT, и обладают способностью к самостоятельному ацетилированию гистонов. Антагонисты ацетилаз — деацетилазы составляют 3 класса, различающиеся по своей структуре и в некоторой степени по функции. Классической функцией HDAC является репрессия транскрипции с помощью удаления ацетиловой группы с лизиновых остатков и, соответственно, конденсации структуры нуклеосомы.²⁵ Однако в последнее время появились данные, что в ряде случаев деацетилирование необходимо для успешного функционирования транскрипционно активных генов.¹⁷ Эти данные подтверждают необычайную сложность и зачастую парадоксальность гистонного кода.

Участие гистондеацетилаз в лейкемогенезе хорошо изучено на классических примерах острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ) и ОМЛ, несущих транслокацию t(8;21) или сопровождающихся аномалиями хромосомы 16.

При ОПЛ в 95% случаев образуется транслокация t(15;17), ведущая к появлению химерного белка PML/RARA. В норме продукт одного из генов-участников транслокации — ядерный рецептор RARA образует комплекс с корепрессорами (SMRT, N-CoR, Sin3a) и гистондеацетилазой HDAC, блокирующий транскрипцию регулируемых генов. Этот комплекс разрушается при присоединении естественного лиганда RARA — ретиноевой кислоты, и транскрипция становится возможна. При образовании химерного протеина PML/RARA репрессорирующий комплекс не реагирует на ретиноевую кислоту в физиологических концентрациях. Осуществляемое гистондеацетилазой HDAC деацетилирование гистонов служит также сигналом для активации других ферментов: гистоновых метилтрансфераз и

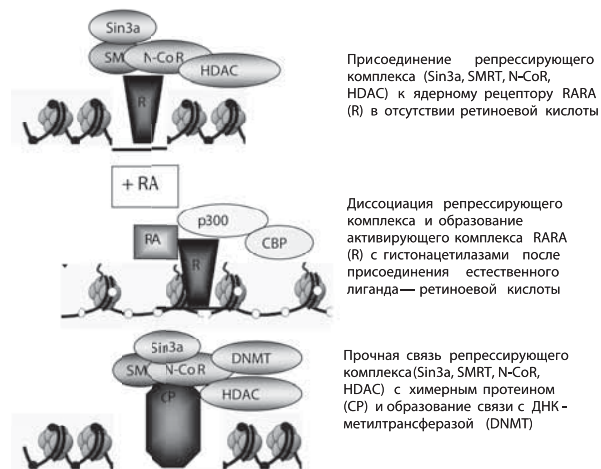


Рис. 5. Процесс нормального функционирования ядерного рецептора RARA и ингибирование транскрипции химерным протеином PML/RARA.

ДНК-метилтрансфераз, также включающихся в репрессирующий комплекс (рис. 5). Таким образом осуществляется взаимодействие между двумя механизмами эпигенетической регуляции: модификацией структуры гистонов и метилированием ДНК. Фармакологические концентрации ретиноевой кислоты, в тысячи раз превышающие физиологические, способны вызвать диссоциацию репрессирующего комплекса и запустить механизм дифференцировки.¹ Одновременно ретиноевая кислота приводит к активации «лиганда смерти» — TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand — индуцирующий апоптоз лиганд, связанный с фактором некроза опухоли), являющегося ключевым компонентом механизма апоптоза.²⁶ Полностью трансретиноевая кислота (АТРА) как «дифференцирующий агент» в терапии ОПЛ представляет собой типичный пример препарата с эпигенетическим действием: не изменяя структуру ДНК, она приводит к разрушению репрессирующего комплекса, деацетилирующего гистоны регуляторных элементов генов, ответственных за дифференцировку клеток.

Несмотря на достигнутые успехи в понимании механизма лейкемогенеза при ОПЛ остается ряд вопросов, требующих дальнейших исследований: взаимодействует ли химерный онкоген при действии АТРА абсолютно с тем же активирующим комплексом, что и нормальный ядерный рецептор; какова роль доменов, принадлежащих гену *PML*; значение экспрессии реципрокного химерного протеина и т.д.

В незначительном числе случаев ОПЛ, сопровождающихся образованием транслокации *t(11;17) (PLZF/RARA)* и *t(11;17) NUPA/RARA*, химерные протеины образуют более прочную связь с репрессирующим комплексом за счет дополнительных сайтов в структуре второго участника химерного белка — продукта генов *PLZF* или *NUPA*. Эта связь не разрушается в присутствии высоких концентраций ретиноевой кислоты именно за счет дополнительных связей репрессирующего комплекса. Следует отметить, что в эксперименте *in vitro* комбинация АТРА и ингибиторов гистондеацетилаз, разрушающих дополнительные связи химерных протеинов, позволяет добиться дифференцировки лейкемических клеток.²⁷

При ОМЛ, сопровождающихся *t(8;21)* или аномалиями хромосомы 16 с вовлечением генов *ETO (MTG8)*, *AML1 (RUNX1)* и *CBFβ*, происходит нарушение образования нормального транскрипционного комплекса CBF. Этот комплекс состоит из продуктов генов *c/EBPα*, *AML1 (RUNX1)* и *CBFβ* и обладает гистонацетилазной активностью, потенцируя экспрессию большой группы генов, отвечающих за нормальную дифференцировку гемопоэтических клеток. При возникновении генетических aberrаций, изменяющих нормальную структуру любого из белков комплекса CBF, нарушается его связь с фактором-гистонацетилазой *r300*, коактиватором и ядерным рецептором *TIF2*. При транслокации *t(8;21)* ведущую роль в нарушении комплекса играет та часть химерного протеина *AML/ETO*, которая считывается со второго участника транслокации — гена *ETO (MTG8)*. В норме этот ген экспрессирует белок, участвующий в репрессирующем комплексе и связывающий уже известные нам гистондеацетилазу *HDAC1* и корепрессоры *N-CoR* и *Sin3α*. За счет доменов белка *ETO*, осуществляющих эти связи, химерный протеин *AML/ETO* приобретает функции репрессора транскрипции и подавляет гены, в норме активирующиеся *AML1*.²⁸ В последнее время исследуется огромное количество химических соединений, обладающих функцией ингибиторов гистондеацетилаз, однако большинство из них пока проходит первую или вторую фазу клинических испытаний.²⁹

Весьма сложными нарушениями сопровождаются повреждения нормального функционирования гена *MLL*, кодирующего протеин, который обладает в том числе и гистонметилтрансферазной активностью. Основной функцией этого белка является участие в огромном транскрипционном комплексе, в состав которого входит по меньшей мере 29 других белков, вовлеченных как в ацетилирование, так и в деацетилирование гистонов, в метилирование гистонов и ДНК.³⁰ Этот комплекс осуществляет регуляцию транскрипции генов гомеобокса, участвующих в эмбриональном развитии и экспрессирующихся в ранних предшественниках гемопоэза. В различных транслокациях с участием *MLL* (которых известно около 60 для всех видов лейкемии) образуются химерные протеины, потерявшие метилтрансферазную активность за счет отсутствия соответствующего домена в составе химерных генов. Скорее всего, механизм лейкемогенеза связан в данной ситуации с нарушением функционального баланса образующегося транскрипционного комплекса, а также, несомненно, зависит от функций, привнесенных вторым участником транслокации.¹⁶

РНК-АССОЦИИРОВАННОЕ ПОДАВЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Роль РНК в подавлении экспрессии генов в последнее время привлекает все большее внимание исследователей. Оказалось, что РНК-индуцированная ингибция может осуществляться на различных этапах считывания генетической информации. В основе этого процесса лежит феномен интерференции — способность двухцепочечной РНК к эффективному ингибированию экспрессии генов. Двухцепочечная молекула РНК расщепляется на фрагменты длиной 21–25 нуклеотидов, образуя так называемую siRNA (small interfering RNA — малая интерферирующая РНК).³¹ Такие молекулы РНК способны образовывать комплексы с протеинами (RISC; RNA induced silencing complex — связанный с РНК нейтрализующий комплекс) и вызывать деградацию матричной РНК, т. е. останавливать генную экспрессию на посттранскрипционном уровне — не допуская синтеза белка после успешного образования РНК.³² Ранее этот механизм считался более характерным для клеток растений, однако в последнее время появились данные, что посттранскрипционная ингибция возникает и в клетках млекопитающих.³¹ РНК участвует также в подавлении экспрессии генов на уровне транскрипции, вызывая РНК-зависимое метилирование ДНК. Образующиеся из двухцепочечной РНК короткие фрагменты имеют структуру, гомологичную промотерам ряда генов и способны индуцировать метилирование этих промотеров, присоединяясь к ним и активируя ДНК-метилтрансферазы.³³ Более того, siRNA способны вызывать метилирование гистонов, подтверждая тем самым взаимосвязь механизмов эпигенетической регуляции между собой, хотя пока до конца не ясен порядок этих событий и их взаимозависимость.³⁴ Вполне возможно, что возникающее первоначально метилирование лизина в структуре гистона H3 ведет в дальнейшем к активации ДНК-метилтрансфераз.³⁵ Не совсем ясен пока и механизм доставки siRNA к геномной ДНК.

В настоящее время рассматривается несколько возможных вариантов участия siRNA в ингибировании экспрессии генов. Первый механизм — прямое связывание РНК со специфическим транспортным белком Argonaute 2 (возможно в комплексе с гистондеацетилазами) и непосредственное связывание структуры с комплементарной последовательностью в промотере гена с дальнейшим включением механизма деацетилирования гистонов и остановкой транскрипции. Два других механизма предполагают связывание siRNA с из-

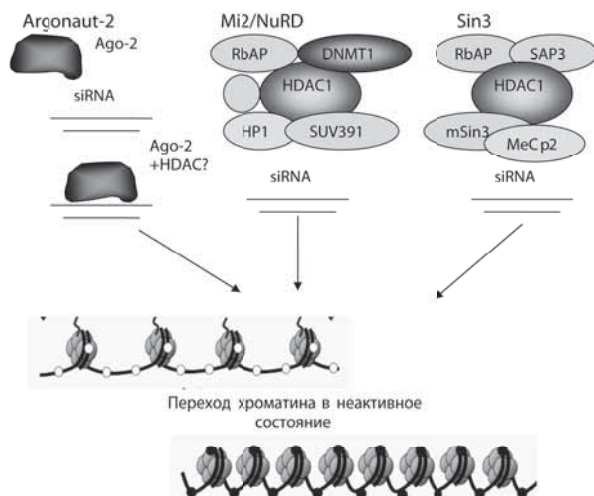


Рис. 6. Возможные механизмы РНК-ассоциированной ингибции экспрессии генов.

вестными репрессирующими комплексами — Mi2/NuRD и Sin3. Первый из них включает гистондеацетилазы (HDAC 1, 2) и ДНК-метилтрансферазу (DNMT1), т. е. обладает способностью к метилированию ДНК и деацетилированию гистонов. Второй имеет в своем составе гистондеацетилазы (HDAC 1, 2).³⁵

Схематически все три механизма изображены на рис 6.

Следует отметить, что пока нет достоверных данных о роли РНК-опосредованного механизма ингибции генной экспрессии непосредственно в лейкемогенезе, однако исследование этого феномена будет иметь огромное значение для понимания взаимосвязи различных видов эпигенетической регуляции между собой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение эпигенетической регуляции в последние годы позволило не только добиться выдающихся успехов в понимании механизмов канцерогенеза в целом и лейкемогенеза в частности, но и открыть новую область в лечении злокачественных заболеваний — эпигенетическую терапию. Если генетические нарушения не могут быть скорректированы с помощью влияния извне и ведут к необратимой потере функции поврежденного гена, нарушения эпигенетической регуляции потенциально обратимы, что позволяет рассчитывать на коррекцию имеющихся дефектов с помощью правильно подобранного терапевтического воздействия. Применение так называемой направленной терапии, веществ, модифицирующих действие гистондеацетилаз и ДНК-метилтрансфераз, синтетических siRNA сделает возможными изменение цикла жизни злокачественной клетки, возврат ее к нормальной дифференцировке и естественному апоптозу, что, несомненно, приведет к возникновению качественно нового этапа в лечении онкологических заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Altucci L., Clarke N., Nebbioso A. et al. Acute myeloid leukemia: Therapeutic impact of epigenetic drugs. *Int J Biochem Cell Biol.* 2005; 37:1752–62.
2. Egger G., Liang G., Aparicio A., Jones P.A. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 2004; 429:457–63.
3. Kornberg R.D., Lorch U. Twenty-five years of nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome. *Cell* 1999; 98:285–94.
4. Holiday R., Pugh J.E. DNA modification mechanism and gene activity during development. *Science* 1975; 187: 226–32.
5. Riggs A.D. X inactivation, differentiation and DNA methylation. *Cytogenet Cell Genet* 1975; 14:9–25.
6. Takai D., Jones P.A. Comprehensive analysis of CpG islands in human chromosomes 21 and 22. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:3740–5.
7. Monk M. Epigenetic programming of different gene expression in development and evolution. *Dev Genet.* 1995; 17:188–97.
8. Baylin S.B., Esteller M., Rountree M.R. et al. Aberrant patterns of DNA methylation, chromatin formation and gene expression in cancer. *Hum Mol Genet.* 2001; 10:687–92.
9. Laird P.W. Cancer epigenetic. *Hum Mol Genet.* 2005; 14:65–76.
10. Luczak M.W., Jagodzinski P.P. The role of DNA methylation in cancer development. *Fol Hist Cytogen.* 2006; 44:143–54.
11. Carnell A.N., Goodman J.I. The long (LINEs) and short (SINEs) of it: altered methylation as a precursor of toxicity. *Toxicol Sci.* 2003; 75:229–35.
12. Saito Y., Kanai Y., Sakamoto M. et al. Expression of mRNA of DNA methyltransferases and meth-

- yl-GpC-binding proteins and DNA methylation status on GpC islands and pericentromeric satellite regions during human hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 2001; 33(3):561–8.
13. Weisenberger D.J., Velicescu M., Cheng J.C. et al. Role of DNA-methyltransferase variant DNMT3b3 in DNA methylation. *Mol Cancer Res.* 2004; 2:62–7.
14. Melki J.R., Vincent P.C., Clark S.J. Concurrent DNA hypermethylation of multiple genes in acute myeloid leukemia. *Cancer Res.* 1999; 59:3730–40.
15. Liu S., Shen T., Huynh L. Interplay of RUNX1/MTG8 and DNA methyltransferase 1 in acute myeloid leukemia. *Cancer Res.* 2005; 65:1277–84.
16. Di Croce L. Chromatin modifying activity of leukemia associated fusion proteins. *Human Mol Genet.* 2005; 14:77–84.
17. Ducasse M., Brown M. Epigenetic aberrations and cancer. *Mol Cancer* 2006; 5:60–70.
18. Christmas J.K. 5-Azacytidine and 5-aza-2-deoxycytidine as inhibitors of DNA methylation: mechanistic studies and their implications for cancer therapy. *Oncogene* 2002; 21:5483–95.
19. Luger K., Madeer A.W., Richmond R.K. et al. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 resolution. *Nature* 1997; 389:251–60.
20. Francis N.J., Kingdon R.E., Woodcock C.L. Chromatin compaction by a Polycomb group protein complex. *Science* 2004; 306:1574–7.
21. Hayes J.J., Clark D.J., Wolffe A.P. Histone contributions to the structure of DNA in the nucleosome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:6829–33.
22. Jenuwein T. The epigenetic magic of histone lysine methylation. *Febs J.* 2006; 273:3121–35.
23. Jenuwein T., Allis C.D. Translating the histone code. *Science* 2001; 293:1074–80.
24. Strahl B.D., Allis C.D. The language of covalent histone modifications. *Nature* 2000; 403:41–5.

25. Gregoret I.V., Lee Y.M., Goodson H.V. Molecular evolution of histone deacetylase family: functional implications of phylogenetic analysis. *J Mol Biol.* 2004; 338:17–31.
26. Clarke N., Nebbioso A., Altucci L., Gronmeyer H. TRAIL: at the center of drugable anti-tumor pathways. *Cell Cycle* 2005; 4(7):914–8.
27. Lin R.G., Nagy L., Inoue S. et al. Role of histone deacetylase complex in acute promyelocytic leukemia. *Nature* 1991; 391:811–4.
28. Hiebert S.W., Reed-Inderbitzin E.F., Amann J. et al. The t(8;21) fusion protein contacts co-repressors and histone deacetylases to repress the transcription of the p14ARF tumor repressor. *Blood Cells Mol Dis.* 2003; 30:177–83.
29. Marks P.A., Miller T., Richon V.M. Histone deacetylases. *Curr Opin Pharmacol.* 2003; 3:344–51.
30. Nakamura T., Mori T., Tada S. et al. ALL-1 is a histone methyltransferase that assembles a supercomplex of proteins involved in transcriptional regulations. *Mol Cell.* 2002; 10(5):1119–28.
31. Elbashir S.M., Lendeckel W., Tuschl T. RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs. *Genes Dev.* 2001; 15:188–200.
32. Zeng Y., Cullen B.R. RNA interference in human cells is restricted to the cytoplasm. *RNA* 2002; 8:855–60.
33. Morris K.V., Chan S.W., Jacobsen S.E., Looney D.J. Small interference RNA-induced transcriptional gene silencing in human cells. *Science* 2004; 305(5688):1289–92.
34. Kawasaki H., Taira K. Induction of DNA methylation and gene silencing in human cells. *Nature* 2004; 431(7005):211–7.
35. Kawasaki H., Taira K., Morris K.V. siRNA induced transcriptional gene silencing in mammalian cells. *Cell Cycle* 2005; 4:442–8.

Возможности лечения миелодиспластических синдромов и роль эпигенетической терапии

А.Д. Ширин

Possibilities for the treatment of myelodysplastic syndromes and the role of epigenetic therapy.

A.D. Shirin

Keywords:

myelodysplastic syndromes, MDS, epigenetic therapy, azacitidine, vidaza, decitabine, dacogen, valproic acid

N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow

Контакты: shirin-crc@mtu-net.ru

Ключевые слова

миелодиспластические синдромы, МДС, эпигенетическая терапия, азацитидин, видаза, децитабин, дакоген, вальпроевая кислота

ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ТЕРАПИИ МДС

С момента создания ФАБ-классификации миелодиспластических синдромов (МДС) прошло 25 лет.¹ За этот достаточно продолжительный период времени во многих областях онкогематологии наблюдался существенный прогресс как в понимании биологии заболеваний, так и в лечении. Вместе с тем терапия МДС остается сложной и нерешенной проблемой. Только с 2004г. в арсенале врачей появились препараты, официально одобренные к применению при МДС организацией FDA (Food and Drug Administration) в США: 5-азацитидин (Видаза), децитабин (Дакоген) и леналидомид (Ревлимид). Один из них, Дакоген, с 2006г. зарегистрирован и в России (владелец прав на распространение — компания Янссен Фармацевтика Н.В.).

Как и в отношении других гемобластозов, взгляды на лечение МДС постоянно претерпевают изменения, что связано с тенденцией к индивидуализации терапии (на основании факторов прогноза), появлением новых лекарственных средств и результатов использования уже изученных агентов в разных режимах и комбинациях, а также в силу того, что многие препараты обладают полифункциональной активностью. В связи с этим классифицировать методы лечения достаточно сложно.

Традиционно в работах, посвященных проблеме лечения МДС, обозначались следующие разделы: химиотерапия, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), использование индукторов дифференцировки. Зачастую к отдельным группам относили симптоматическое

лечение, гормонотерапию, использование ростовых факторов и модификаторов биологических реакций (последняя преимущественно включала в себя интерфероны). В дальнейшем с появлением целого ряда новых препаратов и направлений в лечении в публикациях и на конференциях стали выделять одноименные группы. Так, в разделе «новые направления исследований» А.Ф. Лист² перечисляет следующие группы: ингибиторы метилирования ДНК, аминотиолы, ингибиторы топоизомеразы, ингибиторы фансилтрансферазы (FTIs), ингибиторы ангиогенеза, ингибиторы рецептора тирозинкиназы (SU5416 и SU6668), талидомид и его аналоги, триоксид мышьяка. На Международном симпозиуме по МДС в 2005 г. в группе «новые препараты» помимо перечисленных рассматривались вальпроевая кислота (в том числе в сочетании с полностью трансретиневой кислотой — ATRA), индуктор апоптоза — эксисулинд (exisulind), золедроновая кислота (в качестве ингибитора пролиферации и дифференцировки клеток, составляющих субстрат ювенильного миело-моноцитарного лейкоза — ЮММЛ или JMML), депсипептид (ингибитор гистондеацетилазы) и некоторые другие агенты. Безусловно, подобная градация не в полной мере характеризует свойства лекарственных средств и в большей степени направлена на упрощение понимания используемых методов лечения. Этими препаратами не ограничивается весь перечень средств, которые исследуются при МДС, что отражает во многом поисковый характер клинических испытаний и неудовлетворительные результаты лечения.

Таблица 1. Шкала IPSS оценки прогностических признаков МДС, 1997

Признак	Число баллов
Число бластных клеток в костном мозге	
< 5	0
5–10	0,5
11–20	1,5
21–30	2,0
Кариотип	
Благоприятный (нормальный кариотип, 5q-, 20q-, -Y)	0
Неблагоприятный (3 аномалии и аномалии хромосомы 7)	1,0
Промежуточный (остальные аномалии)	0,5
Характер цитопении	
0/1-ростковая	0
2/3-ростковая	0,5

Примечание. Цитопенией считается уровень гемоглобина менее 10 г/дл, нейтрофилов — менее $1,8 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов — менее $100 \times 10^9/\text{л}$.

Настолько многосторонние попытки поиска эффективной терапии МДС объясняются особенностями биологии и патогенеза, гетерогенностью вариантов болезни и сложностью выбора «мишени» для таргетной терапии.

В литературе описывается множество событий, наблюдающихся в опухолевой клетке и иммунной системе, однако их последовательность и значение в формировании МДС окончательно не определены. Общепринято мнение о первичном поражении кроветворной стволовой клетки с развитием неопластического клона/клонов. Характерной чертой является тенденция к формированию блока дифференцировки на уровне бластных клеток с последующим развитием острого лейкоза. Частота трансформации в острый лейкоз (ОЛ) существенно варьирует и зависит от ряда факторов, одним из которых является вариант заболевания. Поскольку важным признаком в классификации МДС является число бластных клеток в крови и/или в костном мозге, условно выделяют ранние варианты (с числом бластных клеток в костном мозге менее 5%) и продвинутое, или поздние, ($\geq 5\%$ бластов в костном мозге). В случаях с увеличенным числом бластов вероятность трансформации в ОЛ достоверно выше.

В связи с гетерогенностью вариантов МДС, неоднородностью популяции больных (например, по возрасту, общему состоянию, выраженности цитопении и необходимости в гемотрансфузиях, уровню эндогенного эритропоэтина) возникает вопрос о выборе оптимальной терапии. Одним из основных факторов для решения этой задачи является определение прогностической группы (группы риска), к которой относится конкретный больной. Со времени создания классификации МДС разработано несколько систем прогноза, получивших широкое распространение. В большинстве случаев, согласно этим системам, выделялись 3 группы прогноза — благоприятная, промежуточная и неблагоприятная. На протяжении последних 10 лет общепринятой является Международная числовая система оценки прогноза МДС (International Prognostic Scoring System — IPSS)³ (табл. 1).

Каждый прогностический признак оценивается в баллах. В соответствии с суммарным числом баллов больных объединяют в 4 группы: низкого (0 баллов), промежуточного-1 (0,5–1,0 балл), промежуточного-2 (1,5–2,0 балла) и высокого (2,5 балла и выше) риска. Общая выживаемость (ОВ) и вероятность трансформации в ОЛ в разных прогностических группах представлена в табл. 2.

Многие исследователи разделяют больных на 2 группы: с принципиально благоприятным прогнозом (с низким и промежуточным-1 риском) и неблагоприятным (с высоким и промежуточным-2 риском). В связи с тем что цитогенетическое исследование может быть недоступным или неинформативным, предлагается использовать какую-либо из ранее

Таблица 2. Прогностическое значение групп риска по шкале IPSS*

Группы риска	Медиана ОВ, годы	Сроки трансформации МДС в острый лейкоз у 25% больных, годы
Низкий	5,7	9,4
Промежуточный-1	3,5	3,3
Промежуточный-2	1,2	1,1
Высокий	0,4	0,2

*IPSS была разработана на основании анализа больных только первичными МДС, не получавших интенсивную химиотерапию (допускалось предшествующее лечение малыми дозами химиопрепаратов для приема внутрь и ростовыми факторами). Из анализа были исключены случаи пролиферативного варианта хронического миеломоноцитарного лейкоза (ХММЛ с числом лейкоцитов в анализе крови более $12 \times 10^9/\text{л}$). Приемлемость градации IPSS для пациентов со вторичными МДС достаточно спорная. Большинство исследователей единодушно относят случаи МДС, развившиеся после предшествующей химиотерапии и/или лучевой терапии по поводу других заболеваний (например, МДС после химиолучевого лечения рака молочной железы или других опухолей) к прогностически крайне неблагоприятной группе.

предложенных прогностических систем или крайне упрощенное разделение больных на 2 группы, при котором учитывается только число бластных клеток в костном мозге и/или крови, с благоприятным (менее 10% бластов) и неблагоприятным (10% бластов и более) прогнозом.

В 2007 г. обсуждалось создание новой числовой прогностической системы на основе ВОЗ-классификации МДС (WHO classification-based prognostic scoring system — WPSS) в том числе из-за того, что при разработке IPSS учитывались ФАБ-варианты МДС, включая рефрактерную анемию с избытком бластов в стадии трансформации (РАИБ-Т).⁴ Помимо хорошо известных прогностических признаков WPSS включает фактор необходимости проведения гемотрансфузий. WPSS выделяет 5 прогностических групп. Несмотря на новые предложения, «золотым стандартом» по-прежнему остается IPSS.⁵

Поскольку далее будут рассмотрены различные методы лечения и их эффективность, следует отметить, что предложения для использования унифицированной объективной оценки ответа на терапию и соответствующие критерии были опубликованы только в 2000 г. Международной рабочей группой (IWG).⁶ Они включают влияние лечения на естественное течение болезни, гематологическое улучшение, цитогенетический ответ и оценку качества жизни. В табл. 3 эти признаки объединены в группы, более удобные для восприятия.

В 2006 г. были опубликованы обновленные критерии ответа на терапию.⁷ Изменения относились, в частности, к критериям ПР, ЧР, ГУ. Введено понятие полной костномозговой ремиссии. Критерии ответа на терапию были адаптированы к классификации ВОЗ и к результатам лечения МДС новыми препаратами (Видаза, Дакоген, Ревлимид). Во многих современных публикациях встречается оценка результатов лечения в соответствии с критериями IWG от 2000 г., т. к. крупные международные исследования были начаты еще до поправок, внесенных в 2006 г.

Таблица 3. Терминология оценки результатов лечения МДС (по данным IWG)

Морфологические критерии	Полная ремиссия (ПР); частичная ремиссии (ЧР); стабилизация заболевания; неудача лечения; рецидив после ПР или ЧР; прогрессирование заболевания; трансформация в ОМЛ; гематологическое улучшение (ГУ) эритропоза, гранулоцитопоза, тромбоцитопоза (большое или малое)
Цитогенетические критерии	Большой (полный) цитогенетический ответ Малый (неполный) цитогенетический ответ
Отдаленные результаты терапии	Общая выживаемость; бессобытийная выживаемость; выживаемость, свободная от прогрессирования; безрецидивная выживаемость; причинно-специфические смертельные исходы (смерть, обусловленная осложнениями МДС)
Качество жизни	Определяется стандартными методами анкетирования

ПРИМЕНЕНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ И МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ

Использование полихимиотерапии, аналогичной таковой при острых миелоидных лейкозах (ОМЛ), позволяет получить высокую частоту ПР — 50–70%. Однако продолжительность ремиссий относительно короткая (как правило менее 1,5 года), а лечение сопровождается высокой токсичностью и ранней летальностью (до 30%). Однозначные данные о достоверном увеличении продолжительности жизни больных или об уменьшении вероятности трансформации в ОЛ в определенных группах больных МДС отсутствуют. В разных исследованиях авторы сообщают о статистически значимых положительных результатах в разных прогностических группах.

В связи с высокой токсичностью стандартных и интенсивных программ терапии вполне логичны исследования химиопрепаратов в малых дозах. Тем не менее и это направление оказалось малоэффективным. Наиболее демонстративным является использование малых доз цитарабина. Частота ПР составляет 15–20% без увеличения выживаемости. Более обнадеживающие результаты получены при использовании топотекана (Гикамтин) — ингибитора топоизомеразы I. Лечение малыми дозами мелфалана, идарубицина также не получило широкого распространения. В 2007 г. были опубликованы результаты II фазы многоцентрового исследования нового алкилирующего агента — Клоретазина (Cloretazine) у пациентов старше 60 лет с впервые выявленными ОМЛ и МДС высокой группы риска. Частота ответа у больных с первичным ОМЛ, вторичным ОМЛ и МДС составила 50, 11 и 40% соответственно. Однако в общей группе медиана ОВ составила 3 мес, к окончанию 1 года наблюдения выживаемость составила 14%. В группе больных с ПР эти показатели составили 5 мес и 28%.⁸ Следует отметить, что в исследование были включены только 15 больных МДС.

Определенные надежды возлагаются на новый нуклеозидный аналог (аналог аденозина) — клофарабин (clofarabine, Clolar, Clofarex).⁹ Применение клофарабина у пожилых больных ОМЛ позволяет получить ПР в 59% случаев.¹⁰ У пациентов с ОМЛ старше 70 лет сообщается о частоте ПР 44%.¹¹ При МДС промежуточного и неблагоприятного прогноза получено до 67% ПР,¹² однако пока число пациентов невелико для однозначных выводов.

Необходимо подчеркнуть, что единственным методом лечения, позволяющим существенно увеличить продолжительность жизни больных МДС, является аллогенная ТГСК. Длительная безрецидивная выживаемость у больных с благоприятным прогнозом достигает 60–70%, а с неблагоприятным — менее 50% (частота рецидивов 35–40%).¹³ Однако применение аллогенной трансплантации не всегда возможно в связи с пожилым возрастом большинства больных и отсутствием идентичного родственного донора. Наибольшая эффективность достигается в тех случаях, когда донором является полностью HLA-совместимый (HLA-идентичный) сиблинг. Аллогенная ТГСК также позволяет получить наилучшие результаты по сравнению с другими методами лечения при вторичных МДС и ОМЛ. После достижения ПР при невозможности проведения аллогенной ТГСК может осуществляться аутологичная при проведении клинических исследований.

Продолжает изучаться терапия, направленная на индукцию дифференцировки опухолевых клеток. К этой группе относят производные витамина D₃, витамина А, гексаметилен бисацетамид, некоторые авторы включают и интерфероны. Монотерапия данными препаратами оказалась менее успешной, чем ожидалось. ПР почти не достигаются. В настоящее время проводятся исследования ком-

бинаций индукторов дифференцировки и препаратов из других групп.

Лечение цитокинами (в основном эритропоэтином и гранулоцитарным колониестимулирующим фактором — Г-КСФ) можно отнести и к группе индукторов дифференцировки, и к симптоматической терапии, и к ингибиторам апоптоза. Использование Г-КСФ и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) в монорежиме не рекомендуется из-за отсутствия данных об увеличении выживаемости и о предупреждении развития инфекций в тех случаях, когда они назначаются только с целью коррекции числа нейтрофилов. Использование этих препаратов допускается в комплексной терапии рецидивирующих или резистентных бактериальных инфекций при нейтропении.

Применение эритропоэстимулирующих препаратов (ЭСП или ESAs — эритропоэстимулирующих агентов) при МДС заслуживает отдельного внимания. Для эпоэтина (ЭПО) альфа/бета и дарбэпоэтина альфа имеются официальные показания к применению при опухолях немиелоидной природы, однако препараты этой группы фигурируют практически во всех литературных обзорах МДС, а также в рекомендациях по лечению. Дискуссия по этому вопросу между разными медицинскими организациями и FDA продолжается. В конце 1990-х годов в качестве достаточно эффективной терапии сообщалось о начальной дозе ЭПО 150 МЕ/кг 3 раза в неделю подкожно не менее 4–8 нед,¹⁴ что в среднем не превышает 40 000 МЕ в неделю. В дальнейшем было продемонстрировано, что увеличение дозы препарата в процессе лечения с 40 000 до 60 000 МЕ увеличивает общую эффективность с 12,6 до 27,1% при проведении первой оценки через 6 нед, а повторной (после увеличения дозы) — через 12 нед. Помимо этого, исследования показали, что эффективность может быть выше при увеличении длительности терапии. Имеются данные и о большем эффекте при назначении ЭПО в начальной дозе 80 000 МЕ в неделю в течение 4 нед с последующим снижением дозы до 40 000 МЕ в неделю. До 2007 г. Национальное общество комплексного изучения рака США (National Comprehensive Cancer Network — NCCN) рекомендовало использовать ЭПО по 150–300 МЕ/кг ежедневно подкожно в течение 2–3 мес. У больных с наличием кольцевых сидеробластов рекомендована терапия ЭПО по 150–300 МЕ/кг в день в комбинации с Г-КСФ по 0,3–3 мкг/кг в день. На настоящий момент в рекомендациях NCCN фигурирует доза ЭПО 40 000–60 000 МЕ 1–3 раза в неделю подкожно с оценкой ответа через 6–8 нед. Кроме того, имеются рекомендации по терапии дарбэпоэтином альфа (Аранесп): 150–300 мкг/нед подкожно. При числе кольцевых сидеробластов 15% и более используют ЭПО в прежней дозе или дарбэпоэтин альфа по указанной выше схеме в комбинации с Г-КСФ по 1–2 мкг/кг в день 1–3 раза в неделю подкожно. Практически все исследователи считают необходимым определять уровень эндогенного ЭПО до начала лечения. При уровне эндогенного ЭПО свыше 500 ед/л лечение эритропоэтином не показано, большая эффективность наблюдается при уровне эндогенного эритропоэтина до 200 ед/л.

Угнетение апоптоза клеток костного мозга направлено на улучшение показателей гемопоэза (уменьшение выраженности цитопении) без уничтожения неопластических клеток так такового. К препаратам этой группы относят этиол (Амифостин), который также индуцирует пролиферацию предшественников миелопоэза, пентоксифиллин, ингибирующий секрецию ФНО- α , инфликсимаб (infliximab, Remicade) — моноклональные антитела к ФНО- α , этанерцепт (etanercept, Enbrel) — растворимый рецептор

ФНО- α . Некоторые авторы включают в эту группу циклоспорин А (ЦСА).

Эффективностью иммуносупрессивных препаратов, ЦСА и антигемоцитарного глобулина (АТГ) широко освещена в литературе. Препараты демонстрируют наибольшую активность при гипопластическом варианте МДС, при отсутствии увеличения числа бластных клеток в костном мозге, нормальном кариотипе, наличии лимфоидных узелков (очаговых скоплений лимфоидных клеток), наличии клона клеток, составляющих субстрат пароксизмальной ночной гемоглобинурии, и у HLA-DR-15-позитивных больных.¹⁵⁻¹⁷

К ингибиторам фарнесилтрансферазы относятся типифарниб (Zarnestra, R115777) и лонафарниб (Sarasar, SCH66336). Фарнесилтрансфераза является ферментом, участвующим в превращении белка RAS в его активную форму, что приводит к увеличению клеточной пролиферации. Действие препаратов этой группы направлено на подавление синтеза активной формы белка RAS. Результаты II фазы исследования типифарниба у больных МДС ($n = 82$) промежуточного-1 и более высокого риска продемонстрировали ответ на лечение в 32% случаев, включая 15% ПР (11 пациентов), 17% ГУ (14), 45% стабилизацию заболевания (37%).¹⁸

Ряд препаратов обладает свойством ингибирования ангиогенеза. Этот механизм действия и иммуномодулирующий эффект рассматриваются в качестве основных у талидомида (thalidomide, Thalidomid). По данным II фазы клинического исследования препарата, улучшение показателей гемопоэза отмечено у 25 из 48 больных МДС.¹⁹ В другом исследовании общий эффект получен в 49% случаев. В среднем, по данным разных исследований, частота ликвидации зависимости от гемотрансфузий достигает 25% (у пациентов с необходимостью их проведения и благоприятным прогнозом). У 18% пациентов, не ответивших на лечение ЭПО, уменьшается необходимость в гемотрансфузиях. Цитогенетический ответ и ПР не были получены, улучшение гемопоэза отмечено у 16 из 83 больных.²⁰ Ингибирование ангиогенеза достигается и при использовании моноклональных антител к VEGF (rhMab VEGF) — препарата бевацизумаб (bevacizumab, Avastin). На сегодняшний день имеются ограниченные данные о его эффективности при МДС.

Единственным препаратом этой группы, зарегистрированным FDA для лечения МДС, является леналидомид (CC-5013, Ревлимид) — производное талидомида. Препарат характеризуется отсутствием нейротоксичности, большей активностью по сравнению с талидомидом в обеспечении сигнального пути ЭПО и превосходит талидомид более чем в 100 раз в отношении уменьшения синтеза ФНО- α . Основным механизмом действия считается иммуномодулирующий эффект. Леналидомид индуцирует Т-клеточную пролиферацию, продукцию интерлейкина-2 (ИЛ-2) и интерферона-гамма. Препарат *in vitro* ингибирует пролиферацию неопластических гемопоэтических клеток, особенно с делецией хромосомы 5. Он способен вызывать «арест» клеточного цикла и/или индукцию апоптоза разных клеточных культур: Namalwa (лимфома Бёркитта с делецией хромосомы 5), KG-1 (ОМЛ с делецией хромосомы 5) и Loucy (острый лимфобластный лейкоз с del 5q).²¹ Леналидомид показан для лечения пациентов с анемией, требующей проведения гемотрансфузий, и хромосомной аномалией 5q- или без дополнительных цитогенетических аномалий, особенно при низком и промежуточном-1 риске по шкале IPSS.

В исследовании II фазы леналидомида у 148 больных с делецией 5q с низким и промежуточным-1 риском и необходимостью в гемотрансфузиях уменьшение трансфузионной зависимости в 2 и более раза отмечено у 112 (76%) больных,

ликвидация трансфузионной зависимости — у 99 (67%). Медиана срока до получения эффекта составила 4,6 нед, а медиана продолжительности периода отсутствия необходимости в гемотрансфузиях не была достигнута при медиане наблюдения 104 нед. Дисплазия клеток костного мозга перестала определяться у 38% больных, нормализация числа бластных клеток (<5%) — у 74%. Полный цитогенетический ответ получен у 45% больных.²² Результаты II фазы исследования леналидомида при МДС показали возможность получения 44% полных цитогенетических ремиссий. У больных с отсутствием делеции 5q из групп низкого и промежуточного-1 риска была получена меньшая частота ответа на лечение. По окончательным данным, опубликованным в 2008 г., в другом многоцентровом исследовании II фазы, включавшем больных низкого и промежуточного-1 риска с необходимостью в гемотрансфузиях и отсутствием 5q-, трансфузионная зависимость была ликвидирована у 56 (26%) пациентов, медиана продолжительности этого эффекта составила 41 нед при медиане срока до наступления эффекта 4,8 нед. У 37 из 214 больных не менее чем в 2 раза сократилась потребность в гемотрансфузиях. Общий эффект составил 43%.²³ Наиболее частыми нежелательными явлениями III–IV степени были нейтропения (30%) и тромбоцитопения (25%).

Как показало исследование Groupe Francophone des Myelodysplasies, у больных с del(5q) отмечены меньшая частота гематологического улучшения со стороны эритропоэза при терапии ЭСП по сравнению с больными с другими хромосомными аномалиями и меньшая продолжительность ответа на терапию. На основании объединенных результатов четырех крупных исследований леналидомида (MDS-001, MDS-002, MDS-003 и PK-002), из 168 больных с del(5q) у 71% отмечены необходимость в трансфузиях двух и более доз эритроцитов в месяц и неудача терапии ЭСП. При использовании леналидомида у этой категории больных в 114 случаях (68%) достигнута независимость от проведения гемотрансфузий, а общая частота трансфузионного ответа (уменьшение числа гемотрансфузий и отсутствие необходимости в них) — в 76%. Различия в частоте случаев трансфузионной независимости в разных группах риска IPSS и при разных цитогенетических результатах исследований отсутствовали. Медиана продолжительности трансфузионной независимости составила 2,2 года. Цитогенетический ответ был получен у 75% больных, а частота ПР составила 48%.²⁴

Доклинические исследования триоксида мышьяка (Trisepox) при МДС продемонстрировали его проапоптотические, дифференцирующие и антиангиогенные свойства. Общая эффективность препарата составляет около 30%, имеются сообщения о достижении ПР (единичные случаи). Эффективность трисеноска продолжает изучаться, в том числе в комбинации с вальпроевой кислотой.

Накапливается опыт терапии МДС бортезомибом (Велкейд), используемым для лечения множественной миеломы и относящимся к группе ингибиторов протеасом. В исследовании приняли участие 32 больных, 12 были в процессе лечения. ПР не отмечено, но улучшение показателей гемограммы наблюдалось у 7 (35%) из оставшихся 20 оцененных больных.²⁵

При выборе терапии больных МДС периодически возникает вопрос о целесообразности脾эктомии. Имеются отдельные работы об успешном применении хирургического метода лечения, однако они ограничиваются описанием небольших групп пациентов, зачастую со спленомегалией и ЮММЛ или хроническим миеломоноцитарным лейкозом (ХММЛ). Однако имеются и более пессимистические сообщения. Например, в публикации 2003 г. сотрудников Mayo Clinic (США) сообщается о проведении 12 операций боль-

ным ХММЛ. Показанием к хирургическому лечению были рефрактерное течение тромбоцитопении и/или механические осложнения, связанные со спленомегалией. 3 из 12 больных умерли в результате непосредственных осложнений спленэктомии, еще 4 — в более позднем послеоперационном периоде. Увеличение числа тромбоцитов отмечено у 4 из 11 больных с наличием тромбоцитопении.²⁶ В целом спленэктомия рассматривается как опасный и сопряженный с осложнениями вид лечения цитопении при МДС и не рекомендуется.²⁷ Помимо этого, в крупных обзорах литературы и руководствах по терапии МДС вопрос проведения спленэктомии практически не рассматривается.

К сопроводительной терапии при МДС относят гемотрансфузии эритроцитов и тромбоцитов, антимикробную терапию, в том числе в комбинации с Г-КСФ или ГМ-КСФ, использование комплексонов железа, лечение осложнений специфической терапии. К сопроводительной терапии зачастую относят применение ЭСП, в том числе в сочетании с Г-КСФ. Следует учитывать, что у больных, которым требуется проведение трансфузий эритроцитов, имеется риск развития гемосидероза. В связи с этим после 20–30 гемотрансфузий или при уровне сывороточного ферритина свыше 2500 мкг/л рекомендуется лечение комплексами железа (хелатарами): препараты для парентерального введения (дефероксамин, Десферал) или для приема внутрь (деферазирокс, Эксиджад).

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ

Особое место в терапии МДС занимает эпигенетическая терапия. Под термином «эпигенетические» понимаются наследуемые изменения в клетках, которые не связаны с повреждением нуклеотидной последовательности генов и являются обратимыми. Физиологически в процессе дифференцировки стволовой кроветворной клетки наблюдается процесс активации генов, отвечающих за формирование зрелых клеток и подавление функции (переход в «молчащее» состояние) генов, участвующих в более ранних этапах развития. Созревающие клетки, способные к делению, передают дочерним клеткам информацию своего этапа развития и своего роста кроветворения. Экспрессия генов во время клеточной репродукции происходит минуя изменения последовательности и набора нуклеотидов ДНК и обусловлена механизмами «эпигенетического контроля». Каждая клетка организма содержит полный геном человека, однако далеко не все гены в каждой клетке находятся в задействованном состоянии. Известно, что в каждой клетке активны около 300 из 40 000 генов, что не означает нарушения структуры «молчащих» генов. Патофизиологическим примером может служить «молчание» генов-супрессоров опухолевого роста и кодируемых ими белков, которое предотвращает программную клеточную гибель и приводит к неконтролируемой пролиферации.

Существует две теории, объясняющие эпигенетически обусловленное «молчание» экспрессии генов: теория деацетилирования гистонов и теория метилирования ДНК.²⁸

В каждой клетке ДНК связана с протеинами, большая часть которых представлена гистонами, играющими роль каркаса для формирования хроматина (рис. 1). Гистоны обладают положительным электрическим зарядом и по строению напоминают катушки, вокруг которых формируются витки отрицательно заряженной цепи ДНК. Комплексы ДНК и гистонов формируют нуклеосомы — основу организационной структуры хромосом, т. е. «ядро» нуклеосом представлено гистонами, вокруг которого ДНК образует 2 витка.²⁹ Нукле-



Рис. 1. Схематическое изображение структуры хроматина и формирования хромосомы

осомы в хромосоме могут конденсироваться за счет процесса деацетилирования, которое заключается в удалении группы CH_3CO , прикрепленной к гистонам, что создает большее притяжение между гистонами и отрицательно заряженными витками ДНК. В результате нуклеосомы начинают образовывать компактные группы. Гены, находящиеся в конденсированном хроматине (гетерохроматине), пребывают в «молчащем» состоянии и никогда не экспрессируются, в отличие от генов, находящихся в менее конденсированном хроматине (эухроматине), которые могут экспрессироваться.²⁹ Образование менее конденсированной структуры хроматина достигается ацетилированием гистонов (присоединением группы CH_3CO). Ацетилирование нейтрализует положительный заряд гистонов, опосредуя эффект, противоположный деацетилированию. После осуществления транскрипции хроматин может быть вновь подвергнут деацетилированию и, следовательно, вернуться в состояние компактной структуры (рис. 2). Процессы ацетилирования осуществляются с помощью фермента гистонацетилазы, а деацетилирования — гистондеацетилазы (HDAC). В связи с этим одним из направлений эпигенетической терапии МДС является использование ингибиторов HDAC с целью экспрессии (перевода в активное состояние) генов, отвечающих за опухолевую супрессию.

К ингибиторам HDAC относят вальпроевую кислоту (VPA, препарат Депакин), которая применяется в невро-

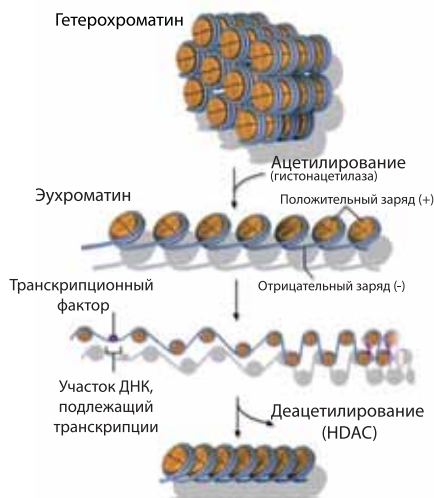


Рис. 2. Ацетилирование и деацетилирование эухроматина

логии в качестве противосудорожного препарата. Недавно были выявлены ее проапоптотические и дифференцирующие свойства, что послужило основанием к проведению исследований при МДС. Использование этого препарата в комбинации с другими агентами получает все большую распространенность. Представителями этой группы препаратов также являются фенилбутират, депсипептид, Золинза (vorinostat, suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA, Zolinza) и ряд других. В 2006 г. Золинза была одобрена FDA для лечения Т-клеточной лимфомы кожи (cutaneous T-cell lymphoma) и в настоящее время проходит I фазу клинического исследования при лейкозах и МДС.³⁰ Использование ингибиторов HDAC рассматривается в качестве нового направления лечения онкологических заболеваний — эпигенетической терапии. Как отметил профессор J.-P. Issa (M. D. Anderson Cancer Center), занимающийся проблемами эпигенетики, «потребовалось 15 лет для внедрения идеи лечения рака, основанной не на уничтожении клеток, а на изменении картины экспрессии генов».²⁸

К другому направлению эпигенетической терапии МДС относят использование гипометилирующих агентов. Применительно к ДНК, метильная группа (CH_3) присоединяется только к цитозинсодержащему нуклеотиду (в 5 позиции цитозинового кольца), непосредственно за которым расположен гуанинсодержащий нуклеотид (у человека и млекопитающих). Эта пара нуклеотидов известна как CpG-динуклеотид. Аббревиатура означает цитозин (C) + фосфатная группа (p — phosphate group) + гуанин (G). Реакцию метилирования катализируют ДНК-метилтрансферазы, представляющие собой группу ферментов. CpG-динуклеотиды в структуре ДНК встречаются неравномерно. Участки с повышенным содержанием CpG-динуклеотидов называют CpG-островками. CpG-островки обнаруживаются преимущественно в промоторных регионах генов и рядом с ними. Вероятно, метилирование CpG-динуклеотидов обеспечивает супрессию нежелательной транскрипции генов («молчание» генов).³¹ Нормальный процесс метилирования и поддержания метилированного состояния обеспечивается ферментом ДНК-метилтрансферазой-1 (DNMT-1). Во время реплика-

ции «старая» цепочка ДНК сохраняет метилированность, а «новая» на ранних этапах формирования находится в неметилированном состоянии. В связи с этим вновь образованная молекула ДНК обозначается как «гемиметилированная». DNMT-1 характеризуется высоким аффинитетом к гемиметилированной ДНК, вызывая ее метилирование. Другие ДНК-метилтрансферазы (DNMT-3a и DNMT-3b), вероятно, участвуют в метилировании ранее неметилированных участков ДНК (метилирование *de novo*).

Чтобы произошла транскрипция какого-либо гена, необходимо взаимодействие транскрипционных факторов и РНК-полимеразы с промотором данного гена. Метилирование CpG-островков в области промотора препятствует воздействию транскрипционных факторов и дальнейшему «считыванию» информации с ДНК. В случае, когда CpG-островки находятся в метилированном состоянии, они обладают способностью к аттракции метилцитозинсвязывающих белков (methylcytosine binding proteins — MBPs). На настоящий момент идентифицировано 5 белков, играющих роль в процессе метилирования ДНК у млекопитающих: MeCP2, MBD1, MBD2, MBD3 и MBD4. MBPs способны непосредственно ингибировать транскрипцию и, что особенно важно, увеличивать содержание HDAC в этом участке ДНК. HDAC, как описывалось выше, приводят к деацетилированию хроматина, превращая его в более компактную субстанцию, что также уменьшает доступ транскрипционных факторов к тому или иному гену, препятствуя его экспрессии (рис. 3).^{32,33} Примером служит aberrантное метилирование CpG-островков в промоторных регионах генов, отвечающих за опухолевую супрессию.

При МДС часто обнаруживается «молчание» генов, которое превалирует у пациентов с поздними вариантами заболевания (с увеличенным числом бластов).³⁴ Метилированию (гиперметилированию) одного из таких генов (*p15INK4B*) у

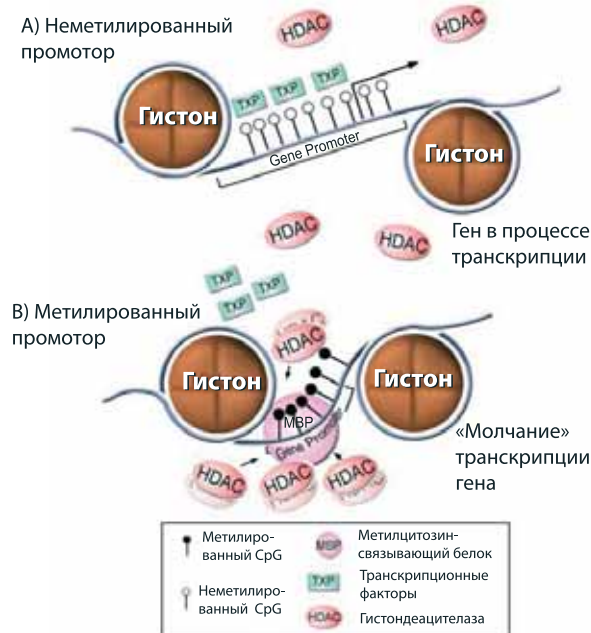


Рис. 3. Влияние метилирования CpG островков на доступность транскрипционных факторов к промоторам генов

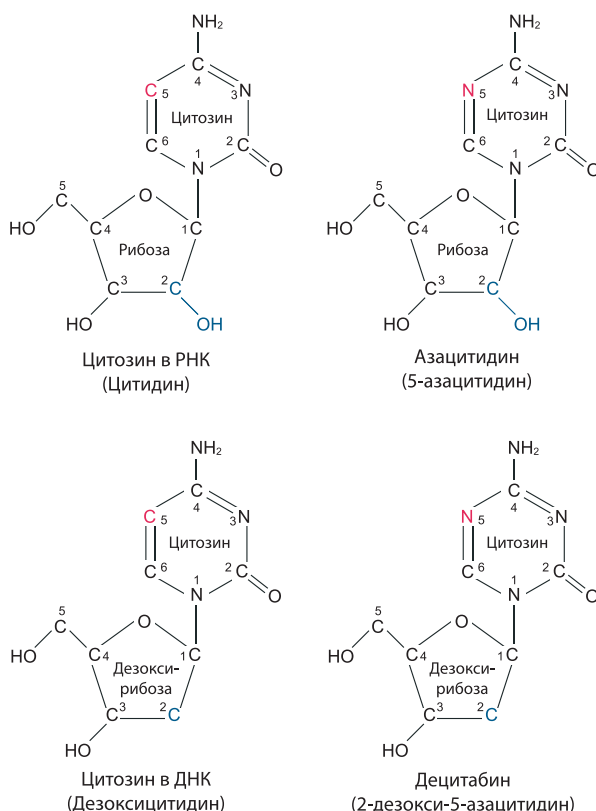


Рис. 4. Химическая структура цитозина, азацитидина (5-азацитидин, видаза), децитабина (2-деокси-5-азацитидин, дакоген)

больных МДС уделяется повышенное внимание. Этот ген кодирует белок — ингибитор 2В циклинзависимой киназы (cyclindependent kinase inhibitor 2B; CDKN2B), играющий важную роль в регуляции клеточного цикла в миелоидном ростке кроветворения. Метилирование гена *p15INK4B* является в среднем у 26–63% всех больных МДС.^{35,36} К другим генам, часто находящимся в метилированном состоянии, относят *CDH1* и *CDH13*, кодирующие белки, участвующие в клеточной адгезии, и некоторые другие гены.

Открытие процесса гиперметилирования генов послужило основанием к проведению клинических исследований децитабина (2'-дезоксид-5-азациитидин, 5-аза-2'-дезоксидцитидин, Дакоген) и азациитидина (5-азациитидин, Видаза) — ингибиторов ДНК-метилтрансфераз. Оба препарата являются аниметаболитами и по своему строению приближаются к цитидину (нуклеозиду, содержащему цитозин) (рис. 4). Напоминая нормальный нуклеозид, децитабин и азациитидин замещают собой цитозин. Азациитидин встраивается в молекулу РНК, а децитабин — в ДНК. Известно, что азациитидин после ряда внутриклеточных процессов может превращаться в децитабин и затем встраиваться в ДНК (около 10% активного вещества). Какой из двух механизмов действия азациитидина является ведущим, пока неизвестно. Активность децитабина *in vitro* до 10 раз выше, чем азациитидина.

Гипометилирующий эффект этих препаратов реализуется через атом азота (N), которым замещен атом углерода (C) в 5 положении цитозинового кольца (рис. 4), что делает невозможным присоединение метильной группы к этому участку аналога цитозина. Поскольку метилирование опосредуется ферментом DNMT, этот фермент остается постоянно связанным с молекулой ДНК (рис. 5). Расходование DNMT за счет образования необратимой прочной ковалентной связи с децитабином в составе ДНК вызывает уменьшение внутриклеточных запасов фермента. В подверженной воздействию гипометилирующих агентов клетке происходят последующие циклы репликации ДНК (синтеза новой молекулы ДНК на основе уже существующей) с постепенным уменьшением выраженности метилирования, т.е. действие децитабина и азациитидина осуществляется во время S-фазы клеточного цикла. В результате достигается гипометилирование «молчащих» генов с восстановлением их функций. Реактивация генов с образованием соответствующих белков (в том числе в бластах) позволяет продолжить клеточную дифференцировку до зрелых клеточных элементов. В связи с этим эффектом азациитидин и децитабин также рассматривают в качестве индукторов дифференцировки.

Дифференцирующий эффект препаратов достигается при их применении в относительно низких дозах. Высокие дозы могут вызывать структурную нестабильность и повреждение ДНК, нарушение синтеза «новой» ДНК с последующей клеточной смертью и утратой гипометилирующих свойств, т.е. выступать в качестве химиопрепаратов с цитотоксическим эффектом.³⁷

Азациитидин и децитабин были впервые синтезированы F. Sörm et al^{38,39} в Чехословакии в 1964 г., однако поиск «те-

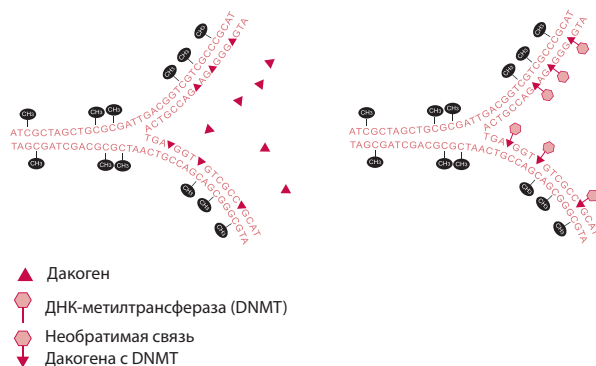


Рис. 5. Механизм гипометилирующего действия децитабина

рапевтической ниши» занял долгие годы. Азациитидин (Видаза) является первым препаратом, который был одобрен FDA к применению при МДС в 2004 г., в 2006 г. было получено одобрение на использование децитабина (Дакогена).

Cancer and Leukemia Group B (CALGB) было проведено множество исследований азациитидина при МДС, которые были начаты в 1984 г. В одном из первых (II–III фазы) препарат назначался при РАИБ и РАИБ-Т в дозе 75 мг/м² в день в виде длительной внутривенной инфузии в течение 7 дней каждые 4 нед. Общий эффект составил 49% (ПР — 12%, ЧР — 25%, ГУ — 12%). Из-за миелосупрессивного эффекта доза препарата была снижена у 33% больных. Наиболее частыми нежелательными явлениями были тошнота и/или рвота (63%).⁴⁰

Согласно данным многоцентрового рандомизированного контролируемого исследования CALB III фазы (CALGB 9921), общий эффект у больных МДС (n = 191), получавших лечение азациитидином в дозе 75 мг/м² в день подкожно в течение 7 дней каждые 4 нед (99 пациентов), составил 60% (ПР — 7%, ЧР — 16%, ГУ — 37%). При отсутствии эффекта после двух циклов терапии дозу препарата увеличивали на 33%. В контрольной группе (92 больных МДС) при проведении симптоматической терапии общий эффект составил 5% (p < 0,001). Непосредственный эффект лечения не зависел от ФАБ-варианта МДС. У больных, леченных азациитидином, отмечалась достоверно бо́льшая продолжительность периода до трансформации в ОЛ или до смерти (медианы составили 21 и 13 мес (p = 0,007) по сравнению с контролем соответственно). Трансформация в ОМЛ произошла у 15% из группы, получавшей лечение азациитидином, и у 38% из группы сопроводительной терапии (p = 0,001). ОВ пациентов из группы, получавшей азациитидин с самого начала проведения протокола, достоверно превосходила таковую в контрольных группах. Исследование также показало лучшие результаты оценки качества жизни при терапии азациитидином по сравнению с сопроводительным лечением.⁴¹

Следует отметить, что в исследованиях CALGB использовались собственные критерии оценки лечения, отличающиеся от IWG. В дальнейшем (2006 г.) в связи с созданием классификации ВОЗ, критериев оценки лечения IWG и не-

Таблица 4. Результаты основных предрегистрационных клинических исследований Дакогена (обобщающие данные, представленные H.I. Saba et al,⁴⁹ H. Kantarjian et al⁵⁰ и www.mgipharma.com)

Номер исследования	Число больных	Схема лечения	Результаты лечения, абс.
D-0007	Всего: 170 Получающие децитабин: 89 Контрольная группа (сопроводительная терапия): 81	15 мг/м ² в/в в течение 3 ч каждые 8 ч (45мг/м ² /сут) в течение 3 сут. Циклы возобновлялись каждые 6 нед. Среднее количество циклов — 3 (1–23)	Децитабин: ПР — 8, ЧР — 7, (суммарно 17%), ГУ — 12 (суммарно 30%). Сопроводительная терапия: ПР + ЧР — 0
РСН 95-11	66	15 мг/м ² в/в в течение 4 ч каждые 8 ч (45мг/м ² /сут) в течение 3 сут. Циклы возобновлялись каждые 6 нед. Минимально 2 цикла, максимально 6 циклов	ПР — 14, ЧР — 3, ГУ — 8, стабилизация — 17, прогрессирование — 9, ранние смерти — 4, не оценено — 11
РСН 97-19	Всего: 98 Без рецидива (ранее не получавшие лечения): 87 С рецидивом: 11	15 мг/м ² в/в в течение 4 ч каждые 8 ч (45мг/м ² /сут) в течение 3 сут. Циклы возобновлялись каждые 6 нед	Без рецидива: ПР — 19, ЧР — 4, ГУ — 13, стабилизация — 16, прогрессирование — 9, ранние смерти — 3, не оценено — 23

обходимостью унифицирования полученных данных в разных исследованиях азациитидина был проведен статистический анализ результатов терапии 309 больных из разных исследований.⁴² Пациентам вводили азациитидин подкожно или внутривенно в дозе 75 мг/м² в день в течение семи дней, циклы проводились каждые 28 дней. ПР были получены у 10–17% больных, ЧР наблюдались у единичных больных, ГУ — у 23–36%. У 75% больных ответ на лечение был констатирован после четырех циклов. Максимальный миелосупрессивный эффект наблюдался в среднем через 2–3 нед после окончания цикла терапии. В тех случаях, когда больные первоначально получали азациитидин, частота независимости от трансфузий эритроцитов составила 45%, а ее продолжительность — 9 мес (протокол 9221). Отдельные больные перестали нуждаться в трансфузиях тромбоцитов. Таким образом, данный вид лечения оказывал влияние на естественное течение МДС даже без эрадикации опухолевого клона, что согласуется с представлениями о смысле эпигенетической терапии.

Недавно были опубликованы результаты одного из последних исследований III фазы азациитидина при МДС высокого риска.⁴³ Препарат сравнивали с традиционной курсовой химиотерапией в разных режимах, малыми дозами цитарабина и только сопроводительной терапией. Были получены следующие достоверные различия: 2-летняя ОВ составила 50,8% при лечении азациитидином и 26,2% при проведении других видов терапии (медианы выживаемости в этих группах — 24,4 и 15,4 мес). Медиана числа циклов лечения азациитидином составила 9.

Видаза показана для лечения следующих вариантов МДС: рефрактерная анемия (РА) или рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами (РАКС) (если они сопровождаются нейтропенией или тромбоцитопенией или требуют проведения гемотрансфузий), рефрактерная анемия с избытком бластов (РАИБ), рефрактерная анемия с избытком бластов в трансформации (РАИБ-Т) и хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММЛ).

Наиболее частыми нежелательными явлениями, зарегистрированными в процессе лечения 220 больных МДС и ОМЛ при подкожном введении азациитидина, были тошнота (70,5%), анемия (69,5%), тромбоцитопения (65,5%), рвота (54,1%), лихорадка (51,8%), лейкопения (48%). Остальные нежелательные явления встречались с меньшей частотой.

Ввиду регистрации децитабина в России представляется целесообразным рассмотреть его свойства более детально. Об антилейкемической активности децитабина в доклинических испытаниях на мышах впервые сообщалось в 1968 г., однако одна из первых публикаций об успешном опыте применения препарата при ОЛ у человека появилась существенно позже (I фаза клинических исследований у детей).⁴⁴ Дальнейший интерес к препарату был вызван данными о его большей дифференцирующей активности, чем при использовании цитарабина. В ранних исследованиях децитабина у больных с гемобластомами и солидными опухолями наибольшая эффективность препарата отмечалась при ОМЛ, МДС и хроническом миелолейкозе. Так, в исследовании P.W. Wijetpans et al⁴⁵ была использована длительная (72-часовая) инфузия малых доз децитабина 29 пожилым больным МДС высокой группы риска. Ответ на лечение был получен у 15 (54%) больных, среди которых у 8 была достигнута ПР. Актуальная медиана выживаемости составила 46 нед.

В 2000 г. в Европе были подведены итоги II фазы многоцентрового исследования децитабина у пожилых больных МДС высокого риска.⁴⁶ Препарат получали 66 больных (медиана возраста — 68 лет) по 45 мг/м² в день в течение трех дней. Циклы терапии возобновлялись каждые 6 нед. В

том случае, если была получена ПР, проводилось еще 2 цикла терапии. При достижении ЧР, стабилизации или ГУ проводилось до шести циклов лечения. Частота общего ответа составила 49% (ПР — 20%, ЧР — 4%, ГУ — 24%, стабилизация — 18%). При распределении больных по шкале IPSS у 64% больных, ответивших на лечение, была высокая степень риска, у 48% — промежуточная-2, у 25% — промежуточная-1. Авторы работы отметили высокую частоту увеличения числа тромбоцитов (у 66% больных), причем у 36% число тромбоцитов возросло свыше 100 × 10⁹/л, у 30% — не менее чем на 50% и свыше 30 × 10⁹/л, что зачастую наблюдалось уже после одного цикла терапии. Актуальная медиана продолжительности ответа составила 31 нед (39 и 36 нед в случаях ЧР и ПР соответственно). Актуальная медиана выживаемости от момента установления диагноза и от начала лечения составила 33 и 15 мес соответственно. Медиана выживаемости, свободной от прогрессирования, составила 25 нед. Миелосупрессия наблюдалась относительно часто и в 7% случаев являлась причиной смертельных осложнений в результате панцитопении и инфекций.

В 2004 г. группа ученых из M.D. Anderson Cancer Center представила результаты I фазы клинических исследований децитабина при гемобластозах.⁴⁷ В исследование были включены больные ОМЛ и МДС (44 пациента), хроническим миелолейкозом (5), острым лимфобластным лейкозом (1), которые получали децитабин в дозах 5, 10, 15 и 20 мг/м² внутривенно в течение 1 ч ежедневно 5 дней подряд в неделю в течение двух недель. Кроме того, было выделено 2 группы, получавшие децитабин по 15 мг/м² в течение 15 и 20 дней. Терапия переносилась удовлетворительно, основным нежелательным явлением была миелосупрессия. Ответ на лечение наблюдался при использовании всех дозовых режимов, однако наилучшие результаты были получены при назначении децитабина по 15 мг/м² в течение 10 дней.

Полученные результаты исследований в США и Европе позволили сделать вывод не только о привлекательности терапии децитабином, но и о целесообразности применения более низких доз препарата. Рассматривая историю использования децитабина только при МДС, мы не затрагиваем ряд важных исследований, например работы A. Pinto et al, в том числе по определению оптимальных доз препарата при МДС, поскольку они были выполнены на «модели» других заболеваний, включая ОМЛ. Подробно с историческими аспектами доклинического и клинического применения децитабина можно ознакомиться в публикации D. de Vos и W. van Overveld.⁴⁸

После регистрации децитабина (Дакогена) FDA компания MGI Pharma, Inc. (владелец прав на торговую марку) разместила на своем сайте www.mgipharma.com информацию, обосновывающую одобрение клинического применения этого препарата. Она базировалась на результатах контролируемого исследования III фазы (D-0007), двух исследований II фазы (PCN 95-11 и PCN 97-19), а также нескольких исследований I–II фазы (табл. 4).

В исследовании D-0007 при сравнении медиан продолжительности жизни до трансформации в ОМЛ или до смерти были получены достоверные различия (в группе, получавшей децитабин, — 340 дней, в группе сопроводительной терапии — 219 дней). Достоверные различия были между объединенной группой промежуточного-2/высокого риска при лечении децитабином и при проведении сопроводительной терапии по показателю вероятности лейкемической трансформации или смерти (при статистическом анализе в качестве события рассматривались одновременно 2 показателя). Медианы этого показателя составили 12,0 и 6,8 мес. 23% больных, леченных децитабином, перестали нуждаться

ся в трансфузиях эритроцитов. Кроме того, были получены достоверные различия в улучшении качества жизни при использовании децитабина по сравнению с контрольной группой. В исследованиях PCN 95-11 и PCN 97-19 медианы ОВ составили 14,8 и 15,4 мес соответственно. Таким образом, как и в исследованиях азациитидина, были продемонстрированы увеличение продолжительности жизни больных, увеличение времени до эволюции в ОМЛ и улучшение качества жизни.

Ввиду некоторых регистрационных различий лекарственных препаратов в России и США ниже приведены некоторые аспекты использования дакогена в англоязычном оригинальном варианте и в русскоязычном варианте. Кроме того, представляется целесообразным общее ознакомление с препаратом.

В предписывающей информации к дакогену на русском языке указано, что препарат показан для лечения МДС всех типов. В американской аннотации указано: «Дакоген показан для лечения больных МДС, включая ранее получавших и не получавших терапию, с первичными и вторичными МДС всех ФАБ-вариантов (РА, РАКС, РАИБ, РАИБ-Т и ХММЛ), а также при промежуточном-1, промежуточном-2 и высоком риске по градации IPSS».

В показаниях к дакогену отсутствует группа низкого риска по IPSS, но препарат в некоторых случаях может быть использован у этой категории больных (например, согласно рекомендациям NCCN), в том числе в качестве терапии первой линии. В данной ситуации можно провести аналогию с ЭСП, которые не одобрены к применению при МДС, но рекомендуются практически всеми специалистами.

Рекомендуемая доза составляет 15 мг/м² путем непрерывной трехчасовой внутривенной инфузии каждые 8 ч в течение 3 дней. Перед введением Дакогена следует провести премедикацию противорвотными препаратами в стандартных дозах. Циклы повторяются каждые 6 нед. Рекомендуется провести минимум 4 цикла лечения, но для достижения частичного или полного эффекта может потребоваться более длительное лечение. Лечение можно продолжать настолько долго, насколько сохраняется терапевтический эффект. Коррекция дозы или отсрочка очередного введения Дакогена определяется результатами общего клинического анализа крови, биохимическими показателями, наличием инфекции.

В аннотации приведены НЯ на основании указанных выше трех основных исследований Дакогена. Поскольку в исследование D-0007 (III фаза) было включено максимальное число больных, мы приводим только его результаты. К наиболее частым (>25% случаев) НЯ Дакогена относились: нейтропения (90%), тромбоцитопения (89%), анемия (82%), лихорадка (53%), недомогание (48%), тошнота (42%), кашель (40%), петехии (39%), запоры (35%), диарея (34%), гипергликемия (33%), фебрильная нейтропения (29%), бессонница (28%), головная боль (28%), лейкопения (28%). НЯ III и IV степени выраженности с частотой более 5% были представлены фебрильной нейтропенией и пневмонией.

Несомненный интерес представляет собой серия публикаций Н.М. Kantarjian et al,⁵¹ посвященных исследованию децитабина у больных МДС с неблагоприятным прогнозом и ХММЛ, получавших препарат в суммарной курсовой дозе 100 мг/м² каждые 4 нед в трех разных режимах: 20 мг/м² в/в ежедневно в течение пяти дней; 20 мг/м² п/к ежедневно в течение пяти дней; 10 мг/м² в/в ежедневно в течение 10 дней. В исследование включали больных старше 16 лет с промежуточным и высоким риском по шкале IPSS. Диагноз МДС устанавливался на основании ФАБ-классификации. Одним из основных критериев исключения из исследования была

предшествующая интенсивная терапия цитарабином (1 г/м² и выше). Всем больным планировалось проведение не менее трех курсов лечения. К числу не ответивших на терапию относились больные, неэффективно леченные после трех курсов, при развитии токсичности, не позволявшей продолжить лечение, эволюцию в ОМЛ и отказ больного от продолжения участия в исследовании. Следует отметить, что сопроводительная терапия допускала еженедельное п/к введение ЭПО в дозе 40 000 ед. при необходимости проведения гемотрансфузий или при уровне гемоглобина менее 100 г/л. В общей группе (77 больных МДС и 18 больных ХММЛ) согласно обновленным критериям IWG общий ответ составил 73% (ПР — 34%, ЧР — 1%, костномозговая ремиссия — 11%, костномозговая ремиссия с ГУ — 14%, ГУ 1-ростковое — 9%, ГУ 2- или 3-ростковое — 4%). Частота ПР в зависимости от групп IPSS была следующей: 47% при промежуточном-1 риске, 27% при промежуточном-2 риске и 36% при высоком риске. Наилучший показатель частоты ПР был получен в группе с 5-дневным в/в введением децитабина и достоверно отличался от остальных двух групп: 39% (n = 64), 21% (n = 14) и 24% (n = 18) соответственно при медиане наблюдения 10 мес. У 17% больных произошла трансформация в ОМЛ и 31 больной умер. Ни один из смертельных исходов не был связан непосредственно с применением децитабина. Расчетный показатель ОВ к 18 мес составил 56%, выживаемости до трансформации в ОМЛ или до смерти — 51%, а выживаемости только до трансформации в ОМЛ — 27%. Медиана ОВ составила 19 мес. В группе больных ХММЛ у 9 больных (50%) была получена ПР, общий ответ составил 67%, расчетная ОВ к 18 мес — 57%.

К 2007 г. в исследование было включено 115 больных. У 80 (70%) пациентов был получен ответ на терапию в соответствии с обновленными критериями IWG: ПР — у 40 (35%) больных, ЧР — у 2 (2%), костномозговая ремиссия с или без ГУ — у 26 (23%), ГУ — у 12 (10%). Выраженность цитопении уменьшилась у 50% больных. Медиана продолжительности ремиссии составила 20 мес, а медиана выживаемости — 22 мес. Летальность к 6 нед терапии находилась в пределах 3%, к 3 мес — в пределах 7%. Многофакторный анализ показал, что к неблагоприятным прогностическим факторам достижения ПР относились: МДС по сравнению с ХММЛ, длительное течение МДС (неблагоприятного прогноза) до начала лечения и предшествующее лечение МДС. В отношении выживаемости независимыми неблагоприятными факторами были: аномалия хромосом 5 и/или 7, пожилой возраст и предшествующее лечение МДС (за исключением ростовых факторов).⁵²

В связи с наилучшими результатами 5-дневной схемы применения децитабина по 20 мг/м² в сутки в виде 1-часовой в/в инфузии на конференции ASH (Американское гематологическое общество) в 2007 г. были представлены дальнейшие результаты ранее описанного исследования.⁵³ Лечение по 5-дневной схеме с в/в введением препарата проводилось 93 больным (медиана возраста — 65 лет), ПР были получены в 39% случаев, частота общего ответа составила 81%. Больные, получавшие предшествующее лечение, и случаи вторичного МДС были исключены из анализа эффективности терапии в зависимости от принадлежности к группам риска IPSS. Общий ответ на лечение по группам IPSS был следующим: в промежуточной-1 — 71% (9 ПР, 1 костномозговая ремиссия), в промежуточной-2 — 70% (9 ПР, 6 ГУ, 4 костномозговых ремиссий), в группе высокого риска — 62% (ПР — 4, ГУ — 3, костномозговая ремиссия — 1). Среди больных, исключенных из групп IPSS, — 72% (ПР — 14, ЧР — 1, ГУ — 6, костномозговые ремиссии — 7). Медиана числа циклов терапии составила 8, а медиана времени до по-

Таблица 5. Результаты комбинированной эпигенетической терапии по данным I–II фазы исследований у больных МДС и ОМЛ (цитировано с изменениями⁵⁶)

Показатель	Азациитидин + фенилбутират ⁵⁷	Азациитидин + вальпроевая кислота + ATRB ⁵⁸	Азациитидин + вальпроевая кислота + ATRA у ранее нелеченных больных ⁵⁸	Децитабин + вальпроевая кислота ⁵⁹	Децитабин + вальпроевая кислота у ранее нелеченных больных ⁵⁹
Число больных	29	53	33	53	10
ПР, абс. (%)	4 (14)	12 (22)	11 (33)	10 (19)	4 (40)
ЧР, абс. (%)	1 (3)	3 (6)	3 (9)	2 (4)	1 (10)
ГУ, абс. (%)	6 (21)	7 (13)	3 (9)	—	—
Общий ответ, абс. (%)	11 (38)	22 (41)	17 (51)	12 (23)	5 (50)

Примечание. ATRA (all-trans retinoic acid — полностью транс-ретиноевая кислота); прочерк — градация ответа ГУ в исследовании отсутствовала.

лучения ответа — 2,3 мес. Медиана продолжительности ПР была 14 мес (от 3 до 16+ мес); медиана времени до трансформации в ОМЛ или до смерти составила 15 мес; медиана времени только до трансформации в ОМЛ — 30 мес; медиана выживаемости — 20 мес при показателях 1- и 2-летней ОВ 61 и 41% соответственно.

В другое многоцентровое исследование 5-дневной схемы лечения децитабином по 20 мг/м² в виде в/в инфузии, повторяющейся каждые 4 нед, были включены 99 больных (медиана возраста 72 года), принадлежащих к промежуточной-1, -2 и высокой группам риска IPSS.⁵⁴ Частота общего ответа составила 43%; больные получили в среднем 5 циклов лечения децитабином (от 1 до 17). Медиана выживаемости не достигнута. На момент публикации работы 62 больных продолжали находиться под наблюдением. Наиболее частыми НЯ были слабость, лихорадка, запоры, тошнота и нейтропения. Привлекательность применения децитабина по этой схеме (исследование продолжается) заключается в возможности проведения терапии в амбулаторном режиме, а также в более высоких результатах по сравнению со стандартными рекомендациями.

Исследования Дакогена направлены не только на поиск оптимального дозового режима, но и на сравнение с другими методами лечения. Недавно были опубликованы результаты оценки эффективности терапии децитабином и разных программ лечения ОМЛ.⁵⁵ Частота ПР в этих группах составила 43 и 46%, частота смертельных исходов к 3 мес наблюдения — 23 и 73% ($p = 0,001$). Достоверно более высокая ОВ была также получена при терапии децитабином (медианы ОВ — 22 и 12 мес, 2-летняя ОВ — 47 и 24%). У больных моложе 60 лет 2-летняя ОВ в анализируемых группах составила 63 и 32%, а в группе старше 60 лет — 40 и 20%.

Сравнительные исследования децитабина и азациитидина пока не проводились.

В настоящее время при МДС продолжают исследования комбинаций гипометилирующих препаратов и ингибиторов HDAC (гистондеацетилазы). Результаты исследований I–II фазы этих исследований представлены в табл. 5.

В исследованиях азациитидина и децитабина в комбинации с вальпроевой кислотой был получен более быстрый ответ на терапию. Медиана числа циклов до получения эффекта составила 1 (от 1 до 3) в отличие от монотерапии азациитидином, при которой этот показатель составил 4–6 циклов.

Открытие и успешное применение почти любого препарата в онкогематологии, механизм действия которого может быть направлен на какой-либо этап патогенеза МДС, сопровождается попытками его использования при этом заболевании. Можно с уверенностью утверждать, что эпигенетическая терапия заняла прочные позиции в лечении МДС. На сегодняшний день проводится поиск оптимальной дозы, кратности введения, пути введения, продолжительности каждой инфузии, длительности цикла терапии и длительности интервала между циклами лечения децитабином, возможности применения эпигенетической терапии при ОМЛ

(в этой статье мы не затрагиваем последний вопрос). Ожидается рассмотрение FDA регистрации по применению при МДС пероральной формы видазы. При всем разнообразии выбора методов лечения и отдельных препаратов следует иметь в виду, что официально одобренным к лечению МДС в России является пока только децитабин (Дакоген).

СОВРЕМЕННАЯ ТЕРАПИЯ В РАЗЛИЧНЫХ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ ГРУППАХ

Одними из наиболее значимых и обоснованных, использующих обширную информацию, представляются регулярно обновляющиеся (3 версии за 2007 г., последняя — v.2 датирована 2008 г.) рекомендации по лечению МДС в Руководстве по клинической практике в онкологии (Clinical Practice Guidelines in Oncology) NCCN. Не останавливаясь на первых алгоритмах терапии МДС и некоторых частных вопросах, рассмотрим эволюцию взглядов на лечение МДС перед регистрацией FDA трех препаратов (азациитидин, децитабин и леналидомид) и после. Все версии алгоритма до 2007 г. основаны на дифференцированном подходе в зависимости от групп прогноза IPSS, возраста и общего состояния больных. В версиях за 2007 г. возраст и общее состояние не учитываются как определяющие.

В 2004 г. NCCN выделяло лечение «высокой» и «низкой» интенсивности, а также сопроводительную терапию. Лечение «высокой» интенсивности включало схемы «интенсивной» терапии ОМЛ с использованием идарубина, цитарабина, флударабина, топотекана, более интенсивную химиотерапию по сравнению с используемой при *de novo* ОМЛ, схемы лечения резистентных форм ОМЛ, в том числе в сочетании с ингибиторами множественной лекарственной устойчивости, ТГСК (аллогенную трансплантацию от сиблинга, включающую подготовительные этапы — режимы кондиционирования стандартной и сниженной интенсивности или трансплантацию от совместимого неродственного донора, а также аутологичную ТГСК в рамках клинических испытаний). При лечении «высокой» интенсивности не рекомендуется проведение стандартной индукционной терапии по программам лечения ОМЛ ввиду меньшей вероятности достижения ремиссии и низкими показателями безрецидивной выживаемости по сравнению с *de novo* ОМЛ. Лечение «низкой» интенсивности включало применение химиопрепаратов в монорежиме или в малых дозах и нехимиотерапевтических средств — модификаторов биологических реакций (ингибирующих апоптоз и ангиогенез, индуцирующих дифференцировку опухолевых клеток, иммуносупрессантов). К сопроводительному лечению относились гемостатическую терапию, ЭПО, Г-КСФ или ГМ-КСФ, комплексоны железа, антифибринолитические средства, противомикробную терапию, лечение колоннестимуляторами при определенных показаниях. Практически для всех групп больных предлагается лечение различной степени интенсивности, которое указано в предпочтительной последовательности.

В первую очередь больные разделялись на группы принципиально благоприятного прогноза (низкий и промежуточный-1 риск по IPSS) и неблагоприятного (высокий и промежуточный-2 риск по IPSS).

Больным в группе низкого и промежуточного-1 риска (согласно градации IPSS) предлагалось наблюдение за стабильностью симптомов МДС и отсутствием прогрессирования ежемесячно на протяжении 3 мес, затем при стабильном течении — каждые 2–4 мес. Кроме того, при стабильном течении МДС больным старше 60 лет рекомендовалось сопроводительное лечение или терапия «низкой» интенсивности (здесь и далее виды лечения указаны в порядке предпочтительности); при неудовлетворительном общем состоянии (III, IV степени по шкале ECOG) — сопроводительная терапия; больным в возрасте не старше 60 лет и удовлетворительном общем состоянии (I, II степени по шкале ECOG) — клинические исследования или терапия «низкой» интенсивности, или сопроводительная терапия, или ТГСК только в группе промежуточного-1 риска. При нестабильном течении болезни (снижение показателей гемограммы, увеличение потребности в гемотранфузиях) рекомендовалось повторное исследование костного мозга, включая цитогенетическое исследование. В том случае, если у больного сохранялась принадлежность к низкой и промежуточной-1 группе риска, то при возрасте старше 60 лет и неудовлетворительном общем состоянии рекомендовалось сопроводительное лечение или терапия «низкой» интенсивности; больным в возрасте 60 лет и моложе при удовлетворительном общем состоянии — терапия «низкой» интенсивности или «высокой» интенсивности или сопроводительное лечение. При ухудшении прогноза (на промежуточный-2 и высокий риск) лечебная тактика рассматривалась в соответствующем разделе.

Больным в группе промежуточного-2 и высокого риска в возрасте 60 лет и моложе при удовлетворительном общем состоянии рекомендована терапия «высокой» интенсивности или «низкой» интенсивности или сопроводительное лечение; в возрасте старше 60 лет при удовлетворительном общем состоянии и адекватном состоянии для проведения индукционной терапии для ОМЛ — терапия «низкой» интенсивности или «высокой» интенсивности или сопроводительное лечение; при неудовлетворительном общем состоянии — сопроводительное лечение; при сопутствующих заболеваниях, препятствующих проведению высокодозной терапии, — сопроводительное лечение или клинические исследования

Через 4 года в Clinical Practice Guidelines in Oncology — v.2.2008 разделение больных по прогностическим группам и термины «лечение высокой, низкой интенсивности и сопроводительная терапия» остались прежними. Однако современный подход к лечению основан не только на выделении основных прогностических групп (что является базовым принципом), но в значительной степени определяется факторами прогноза ответа на разные виды лечения. Для отдельных групп больных перечислены не только виды терапии в порядке предпочтительности, но и указаны препараты для терапии 1-й и 2-й линий. ЭСП в определенной группе больных с низким и промежуточным-1 прогнозом рассматриваются не только в рамках сопроводительного лечения, но и самостоятельного направления терапии первой линии. Как и ранее, в качестве первого этапа после установления диагноза выступает наблюдение за течением МДС.

Больным в группе низкого и промежуточного-1 риска с клинически значимой цитопенией проводится симптоматическая терапия в дополнение к основному лечению, при наличии $\text{del}(5q) \pm$ другие цитогенетические аномалии показан леналидомид; при отсутствии ответа на лечение больного следует отнести к одной из групп, указанных ниже. При уровне эндогенного ЭПО 500 ед/л и ниже показан эпоэтин $\pm$ Г-КСФ или дарбэпоэтин; при отсутствии эффекта предлагается лечение азациитидином/децитабином или проведение клинических исследований; при отсутствии эффекта — клинические исследования или решение вопроса об аллогенной ТГСК для селектированных больных с промежуточным-1 риском. При уровне эндогенного ЭПО выше 500 ед/л и высокой вероятности ответа на лечение иммуносупрессивными препаратами показано лечение АТГ или ЦСА; при отсутствии эффекта предлагается лечение азациитидином/децитабином или проведение клинических исследований; при отсутствии эффекта — клинические исследования или решение вопроса об аллогенной ТГСК подходящим для данной процедуры больным с промежуточным-1 риском. При низкой вероятности ответа на лечение иммуносупрессивными препаратами показано лечение азациитидином/децитабином или проведение клинических исследований; при отсутствии эффекта — клинические исследования или решение вопроса об аллогенной ТГСК подходящим для данной процедуры больным с промежуточным-1 риском. При тромбоцитопении, нейтропении — лечение азациитидином/децитабином или проведение клинических исследований; при отсутствии эффекта — лечение иммуносупрессивными препаратами или клинические исследования или решение вопроса об аллогенной ТГСК подходящим для данной процедуры больным с промежуточным-1 риском.

Больным в группе промежуточного-2 и высокого риска, которых можно считать кандидатами на проведение интенсивной терапии при наличии донора рекомендуется аллогенная ТГСК, при отсутствии донора — терапия «высокой» интенсивности или лечение азациитидином/децитабином, или проведение клинических исследований. В том случае, если больного нельзя рассматривать в качестве кандидата на проведение интенсивной терапии, рекомендуются лечение азациитидином/децитабином или проведение клинических исследований, или сопроводительная терапия.

Таким образом, за последние годы произошли существенные изменения в лечебной тактике МДС, что во многом определяется появлением новых эффективных препаратов. Основная концепция терапии МДС — получение и сохранение продолжительной ПР, однако достижение этой цели далеко не всегда возможно без развития серьезных осложнений. В результате зачастую лечебные мероприятия направлены на решение задачи улучшения качества жизни. На протяжении почти 20 лет в терапии МДС сохранялся принцип: у больных с условно благоприятным прогнозом — улучшение показателей гемограммы и улучшение качества жизни, у больных с условно неблагоприятным прогнозом — эти же цели и увеличение продолжительности жизни. В последнее время относительно небольшая частота нежелательных явлений позволяет использовать препараты с помощью которых достигаются ПР, увеличивается выживаемость и уменьшается риск эволюции МДС в ОЛ у больных во всех группах риска. Одним из таких препаратов, который стал доступен и отечественным онкогематологам, является Дакоген.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., et al. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol.* 1982; 51:189–99.
2. List A.F. New approaches to the treatment of myelodysplasia. *The Oncologist* 2002; 7 (suppl. 1): 39–49.
3. Greenberg P., Cox C., LeBeau M.M., et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*, 1997; 89: 2079–88.
4. Malcovati L. WPSS, a dynamic prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res.* 2007; 31(suppl. 1): S13–S14.
5. Valent P., Horny H-P., Bennett J.M., et al. Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: consensus statements and report from a working conference. *Leuk Res.* 2007; 31:727–36.
6. Cheson B.D., Bennett J.M., Kantarjian H., et al. Report of an international working group to standardize response criteria for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2000; 96:3671–4.
7. Cheson B.D., Greenberg P.L., Bennett J.M., et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood* 2002; 108:419–25.
8. Giles F., Rizzieri D., Karp J., et al. Cloretazine (VNP40101M), a novel sulfonylhydrazine alkylating agent, in patients age 60 Years or older with previously untreated acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2007; 25:25–31.
9. Giles F.J., Keating A., Goldstone A.H., et al. Acute Myeloid Leukemia. *Hematology* 2002:73–110.
10. Burnett A.K., Russell N., Kell J.W., et al. A phase 2 evaluation of single agent clofarabine as first line treatment for older patients with AML who are not considered fit for intensive chemotherapy. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2004; 104:abstr 869.
11. Burnett A.K., Baccarani M., Johnson P., et al. Clofarabine in previously untreated elderly (>65 yrs) AML patients with an unfavorable cytogenetic profile who are considered unfit for standard intensive chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*, 2006 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition). Vol 24, No 18S (June 20 Supplement), 2006: 6513.
12. Faderl S., Gandhi V., O'Brien S., et al. Clofarabine Is Active in Myelodysplastic Syndrome (MDS). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2006 108:abstract 2660.
13. Silver R.T., Bennett J.M., Goldman J.M., et al. The third international congress on myeloproliferative and myelodysplastic syndromes. *Leuk. Res.* 2007; 31:11–17.
14. Verhoef G., Demuyneck H., Vandenbergh P., et al. The role of growth factors in myelodysplastic syndromes: biological and clinical factors. In: *Acute leukemias VII. Experimental approaches and novel therapies.* Hiddemann et al. (eds). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1998. p.333–42.
15. Saunthararajah Y., Nakamura R., Nam Jun-Mo, et al. HLA-DR15 (DR2) is overrepresented in myelodysplastic syndrome and aplastic anemia and predicts a response to immunosuppression in myelodysplastic syndrome. *Blood* 2002; 100:1570–4.
16. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Myelodysplastic Syndromes. V.1.2007. www.nccn.org.
17. В.Г. Савченко, Е.Н. Паровичникова, А.В. Кохно и др. Эффективность лечения циклоспорином А больных миелодиспластическими синдромами в зависимости от формы заболевания. *Соврем онкол.* 2001; 3(2):55–6.
18. Fenaux P., Raza A., Mufti G.J. et al. A multicenter phase 2 study of the farnesyltransferase inhibitor tipifarnib in intermediate- to high-risk myelodysplastic syndrome. *Blood* 2007; 109:4158–63.
19. Bouscary D., Dubois S., Mahe B., et al. Results of a phase II study of treatment of the cytopo-
20. Raza A., Meyer P., Dutt D., et al. Thalidomide produces transfusion independence in long-standing refractory anemias of patients with myelodysplastic syndromes. *Blood* 2001; 98:958–65.
21. Gandhi A.K., Schafer P.H., Naziruddin S., et al. Lenalidomide inhibits proliferation of chromosome 5 mutant hematopoietic tumor cells and interferes with adaptor protein complex assembly and phosphorylation. *Leuk Res.* 2006; 30:849–58.
22. List A., Dewald G., Bennett J., et al. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. *N Engl J Med.* 2006; 355:1456–65.
23. Raza A., Reeves J.A., Feldman E.J., et al. Phase II study of lenalidomide in transfusion-dependent, low- and intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with karyotypes other than deletion 5q. *Blood* 2008; 111:86–93.
24. List A.F. Active treatment – improving outcomes in del 5q patients. *Leuk Res.* 2007; 31(suppl. 1):S9.
25. Lisak L., Tahir S., Ahmed U., et al. Hematologic responses to proteasome inhibitor bortezomib in patients with myelodysplastic syndromes (MDS). *Leuk Res.* 2003; 27(suppl. 1):S116–7.
26. Steensma D.P., Tefferi A., Li C.Y. Splenic histopathological patterns in chronic myelomonocytic leukemia with clinical correlations: reinforcement of the heterogeneity of the syndrome. *Leuk Res.* 2003; 27:775–82.
27. Besa E.C., Woermann U. Myelodysplastic Syndrome. Last Updated: June 27, 2006. www.emedicine.com.
28. Mack G.S. Epigenetic Cancer Therapy Makes Headway. *J Natl Cancer Inst.* 2006; 98(20):1443–4.
29. Fox S.I. (ed) *Human Physiology*. 8th edition. Boston, Mass: McGraw-Hill Science Engineering; 2004.
30. Garcia-Manero G., Yang H., Bueso-Ramos C., et al. Phase I study of the histone deacetylase inhibitor vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) in patients with advanced leukemias and myelodysplastic syndromes. *Blood First Edition Paper*, prepublished online October 25, 2007; DOI 10.1182/blood-2007-06-098061.
31. Herman J.G., Baylin S.B. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Eng J Med.* 2003; 349:2042–54.
32. Jones P.A., Baylin S.B. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet.* 2002; 3(6):415–28.
33. Goffin J., Eisenhauer E. DNA methyltransferase inhibitors – state of the art. *Ann Oncol.* 2002; 13:1699–716.
34. List A.F., Vardiman J., Issa J-P., DeWitte T.M. Myelodysplastic syndromes. *Hematology* 2004; 297–317.
35. Aoki E., Uchida T., Ohashi H., et al. Methylation status of the p15INK4B gene in hematopoietic progenitors and peripheral blood cells in myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2000; 14(4):586–93.
36. Daskalakis M., Nguyen T.T., Guldborg P., et al. Expression of a hypermethylated and silenced P15/INK4B gene in a subgroup of the MDS patients is restored by treatment with the methylation inhibitor 5-aza-2'-deoxycytidine. *Leuk Res.* 2001; 25(suppl. 1):S16–S17.
37. Issa J-P., Garcia-Manero G., Giles F.J., et al. Phase 1 study of low-dose prolonged exposure schedules of the hypomethylating agent 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine) in hematopoietic malignancies. *Blood* 2004; 103(5):1635–40.
38. Piskala A., Srm F. Nucleic acids components and their analogues. II. Synthesis of 1-glycosyl derivatives of 5-azauracil and 5-azacytosine. *Coll Czech Chem Commun.* 1964; 29:2060–76.
39. Pliml J., Srm F. Synthesis of 2'-deoxy-D-ribofuranosyl-5-azacytosine. *Coll Czech Chem Commun.* 1964; 29:2576–7.
40. Silverman L.R., Holland J.F., Weinberg R.S., et al. Effects of treatment with 5-azacytidine on the in vivo and in vitro hematopoiesis in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1993; 7(suppl. 1):21–9.
41. Silverman L.R., Demakos E.P., Peterson B.L., et al. Randomized controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome: a study of the Cancer and Leukemia Group B. *J Clin Oncol.* 2002; 20:2429–40.
42. Lewis R. Silverman, McKenzie D.R., et al. Further analysis of trials with azacitidine in patients with myelodysplastic syndrome: studies 8421, 8921, and 9221 by the Cancer and Leukemia Group B. *J Clin Oncol.* 2006; 24:3895–903.
43. Pharmion Corporation 08/02/2007. Web site: <http://www.pharmion.com>.
44. Rivard G.E., Momparler R.L., Demers J., et al. Phase I study on 5-aza-2'-deoxycytidine in children with acute leukemia. *Leuk Res.* 1981; 5:453–62.
45. Wijermans P.W., Krulder J.W., Huijgens P.C., Neve P. Continuous infusion of low-dose 5-Aza-2'-deoxycytidine in elderly patients with high-risk myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 1997; 11:1–5.
46. Wijermans P., L bbert M., Verhoef G., et al. Low-dose 5-aza-2'-deoxycytidine, a DNA hypomethylating agent, for the treatment of high-risk myelodysplastic syndrome: a multicenter phase II study in elderly patients. *J Clin Oncol.* 2000; 18:956–62.
47. Issa J.J., Garcia-Manero G., Giles F.J., et al. Phase 1 study of low-dose prolonged exposure schedules of the hypomethylating agent 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine) in hematopoietic malignancies. *Blood* 2004; 103:1635–40.
48. de Vos D., van Overveld W. Decitabine: a historical review of the development of an epigenetic drug. *Ann Hematol.* 2005; 84:3–8.
49. Saba H.I., Lubbert M., Wijermans P.W. Response rates of phase 2 and phase 3 trials of decitabine (DAC) in patients with myelodysplastic syndromes (MDS). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2005; 106:abstr. 2515.
50. Kantarjian H., Issa J-P. J., Rosenfeld C.S. Decitabine improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2006; 106:1794–803.
51. Kantarjian H., Oki Y., Garcia-Manero G., et al. Results of a randomized study of 3 schedules of low-dose decitabine in higher-risk myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2007; 109:52–7.
52. Kantarjian H.M., O'Brien S., Shan J., et al. Update of the decitabine experience in higher risk myelodysplastic syndrome and analysis of prognostic factors associated with outcome. *Cancer* 2007; 109:265–73.
53. Kantarjian H., Garcia-Manero G., O'Brien S., et al. Survival and efficacy of decitabine in myelodysplastic syndromes (MDS), analysis of the 5-day IV dosing regimen. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2007; 110:abstr. 115.
54. Steensma D.P., Baer M.R., Slack J.L., et al. Preliminary results of a phase II Study of decitabine administered daily for 5 days every 4 weeks to adults with myelodysplastic syndrome (MDS). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2007; 110:abstr. 1450.
55. Kantarjian H., O'Brien S., Huang X., et al. Survival advantage with decitabine versus intensive chemotherapy in patients with higher risk myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2007; 109:1133–7.
56. Garcia-Manero G. Modifying the epigenome as a therapeutic strategy in myelodysplasia. *ASH, Atlanta, Georgia. December 8-11, 2007. Education Program Book.* p. 405–11.
57. Maslak P., Chanel S., Camacho L.H. et al. Pilot study of combination transcriptional modulation therapy with sodium phenylbutyrate and 5-azacytidine in patients with acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2006; 20:212–7.
58. Soriano A.O., Yang H., Faderl S., et al. Safety and clinical activity of the combination of 5-azacytidine, valproic acid and all-trans retinoic acid in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Blood*. Prepublished June 27, 2007, as DOI 10.1182/blood-2007-03-07857.
59. Garcia-Manero G., Kantarjian H.M., Sanchez-Gonzalez B., et al. Phase 1/2 study of the combination of 5-aza-2'-deoxycytidine with valproic acid in patients with leukemia. *Blood* 2006; 108:3271–9.

Эпигенетическая терапия индукции ремиссии у детей, больных острым миелоидным лейкозом

А.В. Попа [1], Е.В. Горохова [2], И.Н. Серебрякова [1], Л.Г. Фечина [4], О.П. Хлебникова [4], Н.Н. Тупицын [3], К.С. Саркисян [5], В.В. Лебедев [6], М.Г. Божьева [1], И.Е. Гаврилова [1], Е.В. Инюшкина [2], Б.В. Курдюков [1], Р.С. Равшанова [1], С.А. Маякова [1], Г.Л. Менткевич [1]

РЕФЕРАТ

Epigenetic therapy of induction remission in children with acute myeloid leukemia

A.V. Popa [1], E.V. Gorokhova [2], I.N. Serebryakova [3], L.G. Fetchina [4], O.P. Chlebnikova [4], N.N. Tupitsyn [3], K.S. Sarkisyan [5], V.V. Lebedev [6], M.G. Bogeve [1], I.E. Gavrilova [1], E.V. Inyushkina [2], B.V. Kurdyukov [1], R.S. Ravshanova [1], S.A. Mayakova [1], G.L. Mentkevich [1]

Summary:

Treatment results of AML patients are not satisfactory which pushes further research of different treatment strategies apart from conventional regimens. We presume that combination of chemotherapy and epigenetic treatment might improve the results in pediatric acute myeloid leukemia (AML).

In this study 21 children with AML were enrolled between October 2006 and December 2007. Mean age was 8.4 ± 1.1 (varied from 2 month to 16). There were more boys — 13 (61.9%) then girls 9 (38.1%). Standard risk had got 4 (19%) children, 8 (42.9%) were intermediate risk and 9 (38.1%) — high risk patients. Standard cytogenetics was performed in 15 patients. Their treatment was carried out according to SRI-COH AML 2007 protocol. Combination of epigenetic treatment (ATRA + valproic acid) with chemotherapy was used during all stages of treatment in high and intermediate risk groups but only during maintenance stage in standard risk group.

Response was assessed on day 15 after induction course AIE. Complete response (M-1) was observed in all 4 children of standard risk group, in 7 out of 8 children of intermediate risk group and in 5 out of 9 in high risk patients. Partial response (M-2) was noticed in 1 patient of intermediate risk group and there were no responded (M-3) in 4 high risk patients. After HAM cycle with epigenetic treatment 20 patients achieved complete remission, one patient died from invasive aspergillosis during severe neutropenia after induction course. Epigenetic treatment did not lead to any severe complications: 2 patients of standard risk experienced headaches during ATRA intake within maintenance treatment. One patient enrolled in high risk with M-3 response at day 15 experienced ATRA syndrome on day 30 after starting of the treatment. It presented with respiratory distress, joint pains, reduced diuresis.

We conclude that combination of chemotherapy with epigenetic treatment lead to complete remissions in 20 out of 21 patients with AML without any extra toxicity and these results allow us to go on with this study.

Keywords:

acute myeloid leukemia, epigenetic therapy, valproic acid, all trans retinoid acid (ATRA)

[1] Children institute of hematology/oncology, Blokhin's cancer research center; [2] Moscow region oncology hospital; [3] Institute of clinical oncology, Blokhin's cancer research center; [4] Center of children hematology and oncology, Ekaterinburg region children hospital; [5] Rostov-na-Donu region children hospital; [6] Krasnodar region children hospital

Контакты: apopa@list.ru

Результаты лечения детей, больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ), в настоящее время недостаточно удовлетворительны, что заставляет искать новые возможности лечения, помимо уже известной химиотерапии. Мы полагаем, что сочетание эпигенетической и химиотерапии может улучшить результаты лечения этой группы пациентов. С октября 2006 г. по декабрь 2007 г. в исследование был включен 21 больной ОМЛ в возрасте от 2 мес до 16 лет (8.4 ± 1.1 года), из них 13 (61,9%) мальчиков и 8 (38,1%) девочек. В группу стандартного риска были включены 4 (19%) ребенка, среднего — 8 (42,9%), высокого — 9 (38,1%). Стандартный хромосомный анализ был проведен у 15 пациентов. Лечение детей проводилось по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2007. Больным из группы стандартного риска эпигенетическая терапия, состоявшая из сочетания вальпроевой кислоты (ВК) и полностью транс-ретиноевой кислоты (АТРА) добавлялась только в период поддерживающего лечения, пациентам из средней и высокой групп риска ВК и АТРА были включены во все этапы лечения.

При оценке ответа на лечение к 15-му дню от начала индукции ремиссии АИЕ полный ответ (М-1) достигнут у всех четырех пациентов со стандартным риском, у семи из восьми — со средним и у пяти из девяти — с высоким. Частичный ответ (М-2) был отмечен только у одного ребенка со средним риском и не было ответа на терапию (М-3) у четырех детей, включенных в группу высокого риска. После проведения курса НАМ в сочетании с эпигенетической терапией у 20 больных была достигнута полная ремиссия, один больной из высокой группы риска умер от инвазивного аспергиллеза в период аплазии после окончания курса индукции ремиссии. Не было отмечено выраженной токсичности, связанной с эпигенетическим лечением. У двух больных со стандартным риском отмечались головные боли при приеме весаноида во время первого курса поддерживающей терапии. У одного пациента с высоким риском и М-3 ответом на 15-й день к 30-му дню от начала лечения отмечался синдром ретиноевой кислоты, проявлявшийся дыхательной недостаточностью, болями в суставах, задержкой жидкости. Таким образом, сочетание химио- и эпигенетической терапии у больных с высоким риском позволило достичь ремиссии у 20 из 21 ребенка с ОМЛ, включенных в протокол, без возрастания токсичности лечения. Полученные результаты позволяют продолжить данное исследование.

Ключевые слова

острый миелоидный лейкоз, эпигенетическая терапия, вальпроевая кислота, полностью транс-ретиноевая кислота

[1] НИИ детской онкологии и гематологии ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН; [2] Московский областной онкологический диспансер, Балашиха; [3] НИИ клинической онкологии ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН; [4] Центр детской онкологии и гематологии областной детской клинической больницы, Екатеринбург; [5] Детская областная клиническая больница, Ростов-на-Дону; [6] Государственное учреждение здравоохранения Детская краевая клиническая больница департамента здравоохранения Краснодарского края

ВВЕДЕНИЕ

До недавнего времени вопрос о прогнозе при остром миелоидном лейкозе (ОМЛ) у детей не был столь актуален, как сейчас. С интенсификацией терапии за последние 20 лет достигнуты существенные успехи в лечении детского ОМЛ, но небольшое число наблюдений и наличие различных вариантов не позволяют анализировать результаты лечения всей группы этих лейкозов. Степень гетерогенности ОМЛ наглядно отражена в новой классификации ВОЗ (2001).

Анализ результатов лечения детей с ОМЛ в ведущих странах показал, что количество полных ремиссий и выживаемость больных ОМЛ существенно возросли.¹ Большинство неудач в лечении пациентов с ОМЛ связано с развитием рефрактерности опухолевых клеток к проводимой инициальной химиотерапии и возникновением рецидивов.

В решении этих проблем немаловажную роль может сыграть эпигенетическая терапия. Химические модификации ДНК и гистоновых белков формируют сложную регуляторную сеть, которая модулирует структуру хроматина и функцию генома. Хроматин должен рассматриваться как динамический полимер, который может индексировать геном и усиливать сигналы внешней среды, определяя в конечном итоге, какие гены будут экспрессироваться, а какие нет, при этом сами гены остаются неизменными. Вместе эти регуляторные механизмы наделяют хроматин функцией, организующей геном, известной как эпигенетика. Эпигенетическая модификация специфических контрольных регионов хроматина, отвечающих за клеточную пролиферацию, играет важную роль в патогенезе ОМЛ. Химические реакции метилирования, фосфорилирования или ацетилирования гистонов протекают непрерывно, а превалирование одной из них оказывает влияние на жизнедеятельность клетки. Нарушение гистондеацетилазной активности (ГДАЦ) приводит к гиперметилированию гистона и локальной ремодуляции (компактизации) хроматина, вследствие чего происходит ингибция экспрессии генов, воздействующих на развитие клетки.² Под эпигенетической терапией подразумевается внешнее воздействие на регуляцию хроматина с лечебной целью.

Недавно было установлено, что вальпроевая кислота (ВК), известный противосудорожный препарат, является ингибитором ГДАЦ, приводящим к гиперацетилированию N-концов гистонов, придавая им положительный заряд.³ Наличие положительного заряда N-концов гистонов приводит к превращению гетерохроматина (компактная форма) в эухроматин (менее компактная форма) в котором обычно отмечается более высокая экспрессия генов, в результате чего происходит индукция апоптотических белков и дифференцировка бластов при ОМЛ.^{4,5} Антипролиферативный эффект ВК был продемонстрирован на клеточных линиях ОМЛ и на моделях животных с нейробластомой и раком грудной железы.⁵⁻⁷ A.Kuendgen et al⁷ показали высокую активность ВК в сочетании с ретиноевой кислотой у больных со вторичным ОМЛ и миелодиспластическим синдромом. F.R. Schlenk et al⁸ у больных ОМЛ старше 61 года показали эффективность терапии ВК и полностью транс-ретиноевой кислотой (АТРА). В этом исследовании было показано, что лечение только ВК оказывало существенно меньший эффект, чем в комбинации с АТРА.

Мы полагаем, что сочетание эпигенетической и химиотерапии может улучшить результаты лечения детей с ОМЛ.

С 2002 по 2006 г. в условиях НИИ ДОГ ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, МООД (г. Балашиха), городской больницы г. Воронежа проводилось лечение больных согласно протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2002. В исследование включены 50 детей с ОМЛ, 3-летняя бессобытийная выживаемость

(БСВ) составила $29,8 \pm 8,5\%$. Столь неудовлетворительный результат лечения, в первую очередь, обусловлен большим количеством больных средней и высокой групп риска, БСВ которых была значительно хуже, чем у больных стандартной группы риска: стандартная — $75 \pm 15,3\%$ ($n = 9$), средняя продолжительность наблюдения $36,05 \pm 4,8$ мес; средняя — $18,5 \pm 15,0\%$ ($n = 17$), средняя продолжительность наблюдения $27,7 \pm 4,3$ мес; высокая — $20,3 \pm 8,8\%$ ($n = 24$), средняя продолжительность наблюдения $11,5 \pm 3,3$ мес ($p = 0,0007$). Полная ремиссия была достигнута у 83% больных, причем среди пациентов, вошедших в группу высокого риска, лишь у 67%.

Увеличение числа полных ремиссий в результате терапии индукции является одной из главных задач лечения детей с ОМЛ. По нашему мнению, добавление эпигенетической терапии к химиотерапии может увеличить число полных ремиссий, а следовательно, и выживаемость. Создан протокол лечения, в котором помимо химиотерапии больные получают эпигенетическую терапию.

ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разделение детей с ОМЛ на группы риска впервые стало проводиться в 1980-х гг. группой BFM (Berlin—Frankfurt—Munster). На основании результатов лечения больных ОМЛ по протоколам AML BFM 83 и AML BFM 87 пациенты были разделены на группы стандартного, среднего и высокого риска. Стратификация основывалась на данных морфотокимического исследования бластных клеток костного мозга, количества лейкоцитов, наличия палочек Ауэра в миелоблестах.⁹ В дальнейшем многие исследователи представили данные о более высокой выживаемости детей с ОМЛ с $t(8;21)$, $inv(16)$ или $t(16;16)$.^{10,11} К абсолютно неблагоприятной группе относились пациенты с -7, -5 или делециями длинного плеча этих хромосом.^{11,12} Больных с другими хромосомными нарушениями в разных исследованиях относили к промежуточной, либо высокой группе риска в зависимости от протокола.¹³⁻¹⁶

Следует отметить, что выявление пациентов со стандартным риском невозможно без хромосомного анализа. В противном случае больной должен быть отнесен к группе среднего риска.

Таблица 1. Характеристика детей с ОМЛ

Морфологический вариант	Группа риска		
	стандартная	средняя	высокая
M0			1
M1	2	2	
M2	1	3	2
M4	1	3	
M5			5
M7			1
Всего	4	8	9
Хромосомные аномалии			
46,xy,t(8;21)(q22;q22),del(7)(q22)		1	
inv(16) или t(16;16)(p13;q22)	2		
46,xx,t[11;del(16)(q22)](q13;p13)	1		
46,xx,t(5;6)(q31;q15)	1		
46,xx,t(2;11)		1	
46,xx,t(1;7)		1	
46,xx,t(1;22)(p13;q13)			1
46,xy,t(6;9)(p23;q34)			1
47,xy,+8,t(11;16)(q13;p13)			1
46,xy,t(3;12)(q26;p13)			1
46,xy или 46,xx		2	
45,xy,-7			2
Всего	4	5	6

Учитывая вышеизложенное и отсутствие возможности проведения исследования кариотипа в некоторых клиниках-участниках нашего протокола, мы стратифицировали больных на группы риска, основываясь на данных морфоцитохимии и кариотипа. К группе **стандартного риска** относились дети с ОМЛ, t(8;21), inv(16) или t(16;16), морфологические варианты не учитывались; **среднего риска** — больные с морфологическими вариантами М1, М2 и М4 по FAB-классификации, с нормальным кариотипом или с утратой одной из половых хромосом, трисомией 8, перестройками 11q23; **высокого риска** — ОМЛ с морфологическими вариантами М0, М5, М6, М7, ОМЛ с мультилинейной дисплазией без предшествующего миелодиспластического синдрома и с предшествующим миелодиспластическим синдромом; морфологическими вариантами М1, М2, М4 в сочетании с утратами хромосом 5 (-5) или 7 (-7), делециями длинного плеча этих хромосом (5q- или 7q-), транслокациями t(6;9)(p23;q34), t(9;22)(q34;q11), перестройками с участием длинных плеч хромосомы 3, со сложным кариотипом (три и более хромосомные аномалии, исключая t(8;21), inv(16) или t(16;16)).¹⁶ Кроме того, в эту группу мы переводили пациентов из групп со стандартным и средним риском, у которых в миелограмме на 15-й день от начала индукции ремиссии было обнаружено более 25% бластов.

С октября 2006 г. по декабрь 2007 г. в исследование был включен 21 больной ОМЛ в возрасте от 2 мес до 16 лет ($8,4 \pm 1,1$ года), из них 13 (61,9%) мальчиков и 8 (38,1%) девочек. В группу стандартного риска были включены 4 (19%) ребенка, среднего — 8 (42,9%), высокого — 9 (38,1%). Стандартный хромосомный анализ был проведен у 15 пациентов. Цитогенетические и морфологические характеристики больных, включенных в разные группы риска, представлены в табл. 1.

У шести пациентов цитогенетическое исследование не проводилось по техническим причинам. Из них у трех был выявлен М5 FAB морфологический вариант (отнесены к группе высокого риска), у двух — М4 без атипичной эозинофилии в пунктате костного мозга (отнесены к группе среднего риска) и у одного ребенка был выявлен М2 FAB-вариант, и он также был отнесен к группе среднего риска. Один ребенок с морфологическим вариантом М1 и t(5;6)(q31;q15) получал лечение для группы стандартного риска в связи с невозможностью проведения больших объемов инфузионной терапии из-за сердечной недостаточности II степени и оперативной коррекции порока сердца (дефект межжелудочковой перегородки, стеноз легочной артерии), проведенной за 6 мес до установления диагноза ОМЛ.

Лечение детей проводилось по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2007. Больные со стандартным риском получили индукцию ремиссии АИЕ длительностью 8 дней, состоящую из цитозинарабинозида (Ага-С 100 мг/м² 1–2-й дни и 100 мг/м² каждые 12 ч 3–8-й дни), идарубицина (IDA 12 мг/м² 3–8-й дни) и вепезида (VP-16 150 мг/м² 5–8-й дни). С 21-го дня от окончания индукции ремиссии начиналась консолидация ремиссии. В терапию консолидации ремиссии включены следующие химиопрепараты: Ага-С (75 мг/м² 4 курса по 4 дня с трехдневным перерывом, рубомицин/даунорубин (30 мг/м² 1 раз в неделю), 6-меркаптопурин (6-МП 60 мг/м² ежедневно 28 дней). По окончании курса консолидации и восстановлении абсолютного уровня гранулоцитов более $0,5 \times 10^9/\text{л}$ и тромбоцитов более $100 \times 10^9/\text{л}$ проводились 2 курса интенсификации hAE с интервалом в 2 нед — высокие дозы Ага-С (1000 мг/м² каждые 12 ч 1–3-й дни) и VP-16 (125 мг/м² 2–5-й дни). Поддерживающее лечение состояло из ежемесячных четырехдневных курсов Ага-С, ежедневного приема 6-МП и эпигенетической терапии:

ВК — депакина-хроно (25 мг/кг) ежедневно и весаноид — АТРА (25 мг/м²) каждые 14 дней с 14-дневным перерывом. Поддерживающая терапия продолжалась до 78 нед от начала индукции ремиссии. Облучение ЦНС проводилось больным с t(16;16) или inv(16) без инициального поражения ЦНС (СОД = 12 Гр, РОД = 2 Гр).

Больные со средним и высоким риском ОМЛ с целью индукции ремиссии получали следующее лечение: АИЕ (Ага-С 100 мг/м² 1–2-й дни и 100 мг/м² каждые 12 ч 3–8-й дни, IDA 12 мг/м² 3–8-й дни и VP-16 150 мг/м² 5–8-й дни) + НАМ (Ага-С 3000 мг/м² каждые 12 ч 1–3-й дни и митоксантрон 12 мг/м²/сут 3–4-й дни). Для пациентов, инициально включенных в группу среднего и высокого риска и уровнем бластов более 25% на 15-й день от начала режима АИЕ, терапия индукции ремиссии проводилась в timing режиме: курс НАМ начинался на 15-й день от начала курса АИЕ. Режим timing не соблюдался только при констатации тяжелой инфекции. При количестве бластов в пунктате костного мозга менее 25% курс химиотерапии НАМ начинался на 21-й день от окончания курса АИЕ. С первого дня лечения, пациенты со средним и высоким риском получали ВК (депакин-хроно) 25 мг/кг ежедневно и весаноид (АТРА) 25 мг/м² 1–43-й дни.

Консолидация ремиссии начиналась на 21-й день от окончания индукции и была представлена курсом FLAG — флу-дара (30 мг/м² 1–5-й дни), Ага-С (2000 мг/м² 1–5-й дни), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ 5 мкг/кг 0–6-й дни) с непрерывным приемом ВК (депакина-хроно) 25 мг/кг и весаноида 25 мг/м² 1–14-й дни.

После восстановления уровня гранулоцитов и тромбоцитов проводился курс ранней интенсификации hAE: высокие дозы Ага-С (3000 мг/м² каждые 12 ч 1–3-й дни) и VP-16 (125 мг/м² 2–5-й дни), ежедневный прием ВК (депакин-хроно) 25 мг/кг и АТРА 25 мг/м² 1–14-й дни.

Поддерживающая терапия была такой же, как у пациентов со стандартным риском. Только для детей, включенных в группу высокого риска, планировалось проведение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) от полностью совместимого родственного донора.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При оценке ответа на лечение к 15 дню от начала индукции ремиссии АИЕ полный ответ (М-1) достигнут у всех 4 пациентов со стандартным риском, у 7 из 8 — со средним риском и у 5 из 9 — с высоким риском. Частичный ответ (М-2) был отмечен только у одного ребенка со средним риском и не было ответа на терапию (М-3) у 4 детей, включенных в группу высокого риска (табл. 2). После проведения курса НАМ в сочетании с эпигенетической терапией у 20 больных была достигнута полная ремиссия. У одного ребенка (№20) период послеиндуктивной аплазии осложнился инвазивным аспергиллезом, что явилось причиной смерти пациента до восстановления костного мозга.

Не было отмечено выраженной токсичности, связанной с эпигенетическим лечением. У двух больных со стандартным риском отмечались головные боли при приеме ве-

Таблица 2. Ответ на лечение детей с ОМЛ к 15-му дню от начала терапии индукции (n = 21)

Показатели пункта костного мозга	Группа риска			Всего
	стандартная	средняя	высокая	
М-1 (<5% бластов)	4	7	5	16
М-2 (5,1–25% бластов)		1		1
М-3 (>25% бластов)			4	4
Всего	4	8	9	21

саноида во время первого курса поддерживающей терапии. У одного пациента (№2, табл. 3) с высоким риском и М-3 ответом на 15 день к 30 дню от начала лечения отмечался синдром ретиновой кислоты, проявлявшийся дыхательной недостаточностью, болями в суставах, задержкой жидкости. При морфологическом исследовании пунктата костного мозга больного в период клинических проявлений синдрома ретиновой кислоты было выявлено большое количество промиелоцитов, что указывало на возможное «дозревание» опухолевых клеток и их естественную гибель. У 5 пациентов развился системный аспергиллез (поражение легких, кожи, хрящей носа), в связи с чем после индукции ремиссии лечение двух детей пришлось прекратить. Одному больному (№14, табл. 3) была проведена алло-ТГСК от полностью HLA идентичного родственного донора. У остальных пациентов, относившихся к группе высокого риска, HLA идентичных родственных доноров не было. Срок наблюдения за больными составил от 2 до 14 мес. Статус пациентов в настоящее время представлен в табл. 3.

ОБСУЖДЕНИЕ

Большое число неудач в лечении ОМЛ привело к поиску новых способов лечения этого заболевания. Первым препаратом, с помощью которого при остром промиелоцитарном лейкозе удалось заставить опухолевую клетку «дозреть» и погибнуть, был ATRA.^{17,18} S.Tohda et al¹⁹ в исследовании механизма воздействия ATRA на культуру клеток ОМЛ доказали, что ATRA ингибирует рост бластов и повышает их чувствительность к химиопрепаратам. В двух различных клинических работах не было выявлено увеличения выживаемости больных ОМЛ при добавлении к терапии ATRA.^{20,21} Следовательно, в исследовании *in vivo* данные, полученные *in vitro*, о воздействии ATRA на бластные клетки при ОМЛ, не подтвердились.

Длительное применение ВК в качестве противосудорожного средства у больных эпилепсией приводило к развитию лейкопении, тромбоцитопении и анемии, у части пациентов развивался миелодиспластический синдром, который самостоятельно исчезал после прекращения приема пре-

парата. На основании этих данных был поставлен вопрос о возможном воздействии ВК на гемопоэз и апоптоз гемопоэтических клеток. M.R.Trus et al²² исследовали воздействие ВК и ATRA на клеточную линию ОМЛ OCI/AML-2, состоящую из бластных элементов миелоидного ряда без признаков, характерных для промиелоцитов. В клетках этой линии и бластных клетках, полученных от шести больных ОМЛ, сочетанное воздействие ВК и ATRA индуцировало экспрессию гена p21 и снижало экспрессию гена p53. Этот эффект не был отмечен при воздействии только ATRA и был существенно меньше при воздействии только ВК.

До сих пор сочетание ВК и ATRA без применения химиотерапии использовали при лечении больных пожилого возраста с рефрактерными формами или рецидивами ОМЛ или МДС. При рецидивах ОМЛ полные ремиссии достигались в 25–40% случаев, а при МДС — у 52%.^{23,24} C.Pilatrino et al²⁵ отметили повышение уровня тромбоцитов и независимость от трансфузий эритроцитарной массы у 6 из 11 пожилых людей с ОМЛ или МДС в течение 63–550 дней во время лечения ATRA и ВК.

По нашему мнению, добавление к химиотерапии ВК и ATRA может увеличить число полных ремиссий за счет изменения структуры хроматина резидуальных бластов и повышения их чувствительности к цитостатическим препаратам. В предложенном нами исследовании было решено соединить химиотерапию с эпигенетической терапией в период индукции, консолидации ремиссии, ранней интенсификации и поддерживающего лечения у больных группы среднего и высокого риска. Учитывая достаточно удовлетворительные результаты лечения детей с ОМЛ из группы стандартного риска при использовании протокола НИИ ДОГ ОМЛ 2002,¹ ВК и ATRA были добавлены только к поддерживающей терапии, при этом химиотерапия индукции и консолидации ремиссии для этой группы больных осталась без изменения.

Таким образом, сочетание химио- и эпигенетической терапии у больных с высоким риском позволило достичь ремиссии у 20 из 21 ребенка с ОМЛ, включенного в протокол, без возрастания токсичности лечения. Полученные результаты позволяют продолжить данное исследование.

Таблица 3. Основные сведения о больных, получивших лечение по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2007

Пациент	Возраст, годы	Пол	FAB	Группа риска	Ответ на 15 день	Цитогенетика	Статус, мес
1	2	Д	M1	Стандарт	M-1	46,xx,t(5;6)(q31;q15)	14+
2	15	М	M5	Высокий	M-3	47,xy,+8,t(11;16)(q13;p13)	11+
3	14	Д	M4	Стандарт	M-1	46,xx,t[11;del(16)(q22)](q13;p13)	13+
4	10	М	M5	Высокий	M-3	46,xy,t(3;12)(q26;p13)	10+
5	12	Д	M4	Средний	M-1		5+
6	11	М	M2	Средний	M-1	46,xy,t(8;21)(q22;q22),del(7)(q22)	8+
7	4	М	M2	Стандарт	M-1	47,xy,+21,inv(16)(p13;q22)	8+
8	11	Д	M2	Средний	M-1		4+
9	4	М	M2	Высокий	M-1	45,xy,-7	3+
10	0,25	Д	M7	Высокий	M-1	46,xx,t(1;22)(p13;q13)	2+
11	6	М	M5	Высокий	M-1		4+
12	5	М	M4	Средний	M-1		4+
13	0,2	М	M5	Высокий	M-1		4+
14	14	М	M2	Высокий	M-3	45,xy,-7	4+
15	3	Д	M5	Высокий	M-1		5+
16	12	М	M1	Стандарт	M-1	46,xy,t(16;16)(p13;q22)	3+
17	13	М	M1	Средний	M-2	46 xy	5+
18	16	Д	M1	Средний	M-1	46 xx	3+
19	7	Д	M2	Средний	M-1	46,xx,t(1;7)	3+
20	3	М	M0	Высокий	M-3	46,xy,t(6;9)(p23;q34)	2 умер от инвазивного аспергиллеза в период аплазии
21	16	Д	M4	Средний	M-1	46,xx,t(2;11)	2+

Примечание. У всех больных, кроме 20, достигнута ремиссия. Пациент 20 умер в индукции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попа А.В., Маякова С.А. Лечение острого миелоидного лейкоза у детей. Онкогематология 2006; 1(1-2):63-9.
2. C.D.Allis, T.Jenuwein and D.Reinberg. Epigenetics. N.Y., Cold Spring Harbor; 2007. p. 23-61.
3. Gottlicher M, Minucci S, Zhu P et al. Valproic acid defines a novel class of HDAC inhibitors inducing differentiation of transformed cells. EMBO 2001; 20:6969-78.
4. Phiel CJ, Zhang F, Huang EY et al. Histone deacetylase is a direct target of valproic acid, a potent anticonvulsant, mood stabilizer, and teratogen. J Biol Chem. 2001; 276:36734-41.
5. Cinatl J Jr, Cinatl J, Driever PH et al. Sodium valproate inhibits in vivo growth of human neuroblastoma cells. Anti-Cancer Drugs 1997; 8:958-63.
6. Kawagoe R, Kawagoe H, Sano K. Valproic acid induces apoptosis in human leukemia cells by stimulating both caspase-dependent and -independent apoptotic signaling pathways. Leuk Res. 2002; 26:495-502.
7. Kuendgen A, Strupp C, Aivado M et al. Treatment of myelodysplastic syndromes with valproic acid alone or in combination with all-trans retinoic acid. Blood 2004; 104:1266-9.
8. Schlenk RF, Frohling S, Dohner H et al; AML Study Group Ulm. Phase III study of all-trans retinoic acid in previously untreated patients 61 years or older with acute myeloid leukemia. Leukemia 2004; 18:1798-803.
9. Creutzig U, Ritter J, Schelong G. Identification of two risk groups in childhood acute myelogenous leukemia after therapy intensification in the study AML-BFM-83 as a compared with study AML-BFM-78. Blood 1990; 75: 1932-40.
10. Lange BJ, Gerbing RB, Feusner J et al. Mortality in overweight and underweight children with acute myeloid leukemia. JAMA 2005; 293:203-11.
11. Lowenberg B, Downing JR, Burnett A. Acute myeloid leukemia. N Engl J Med. 1999; 341:1051-62.
12. Chang M, Raimondi SC, Ravindranath Y et al. Prognostic factors in children and adolescents with acute myeloid leukemia (excluding children with Down syndrome and acute promyelocytic leukemia): Univariate and recursive partitioning analysis of patients treated on Pediatric Oncology Group (POG) Study 8821. Leukemia 2000; 14:1201-7.
13. Raimondi SC, Chang MN, Ravindranath Y et al. Chromosomal abnormalities in 478 children with acute myeloid leukemia: Clinical characteristics and treatment outcome in a cooperative Pediatric Oncology Group study- POG 8821. Blood 1999; 94:3707-16.
14. Kalwinsky DK, Raimondi SC, Schell MJ et al. Prognostic importance of cytogenetic subgroups in de novo pediatric acute nonlymphocytic leukemia. J Clin Oncol. 1990; 8:75-83.
15. Rubnitz JE, Raimondi SC, Tong X et al. Favorable impact of the t(9;11) in childhood acute myeloid leukemia. J Clin Oncol. 2002; 20:2302-9.
16. Harrison C, Moorman A, Hills R et al. Cytogenetics of childhood AML from UK Medical Research Council Treatment Trials, AML10 12. Blood 2003; 102.
17. Tallman MS, Andersen JW, Schiffer CA, et al. All-trans-retinoic acid in acute promyelocytic leukemia. N Engl J Med. 1997; 337:1021-8.
18. Warrell Jr RP, Maslak P, Eardley A, et al. Treatment of acute promyelocytic leukemia with all trans retinoic acid: an update of the New York experience. Leukemia 1994; 8:929-33.
19. Tohda S, Curtis JE, McCulloch EA, Minden MD. Comparison of the effects of all-trans and cis-retinoic acid on the blast stem cells of acute myeloblastic leukemia in culture. Leukemia 1992; 6: 656-61.
20. Estey EH, Thall PF, Pierce S, et al. Randomized phase II study of fludarabine+cytosine arabinoside + idarubicin ± all-trans retinoic acid ± granulocyte colony-stimulating factor in poor prognosis newly diagnosed acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. Blood 1999; 93:2478-84.
21. Bolanos-Meade J, Karp JE, Guo C, et al. Timed sequential therapy of acute myelogenous leukemia in adults: a phase II study of retinoids in combination with the sequential administration of cytosine arabinoside, idarubicin and etoposide. Leuk Res. 2003; 27:313-21.
22. Trus MR, Yang L, Suarez Saiz F, et al. The histone deacetylase inhibitor valproic acid alters sensitivity towards all trans retinoic acid in acute myeloid leukemia cells. Leukemia 2005; 19:1161-8.
23. Raffoux E., Chaibi P., Dombret H., Laurent D. Treatment of elderly acute myeloid leukemia with valproic acid and all-trans retinoic acid. Hematologica 2005; 90(7):986-8.
24. Kuendgen A., Strupp S., Fox F., et al. Results of a phase 2 study of valproic acid alone or in combination with all-trans retinoic acid in 75 patients with myelodysplastic syndrome and relapsed or refractory acute myeloid leukemia. Ann Hematol. 2005; 84(suppl 1):61-6.
25. Pilatino C., Cilloni D., Messa E., et al. Increase in platelet count in older, poor-risk patients with acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome treated with valproic acid in all-trans retinoic acid. Cancer 2005; 104(1):101-9.

Благодарности

Авторы статьи выражают благодарность главн.н.с., д-ру мед. наук Е.В. Флейшман и с.н.с., канд. мед. наук О.И. Соко-вой — сотрудникам лаборатории цитогенетики НИИ канцерогенеза ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН за проделанную работу по исследованию кариотипа у детей с ОМЛ.

Саркома Капоши у больной, длительно
получавшей кортикостероидную терапию

М.В. Косинова [1], А.Д. Мозес [1], В.Б. Мордовкин [2]

**The case report of Kaposi sarcoma
after the long-term therapy with
corticosteroids**

M.V. Kosinova [1], A.D. Mozes [1], V.B. Mordovkin [2]

Summary:

We present a case report of 54 years old female patient who received long-continued treatment with corticosteroids for immune thrombocytopenia. Advanced Kaposi sarcoma was diagnosed during immunosuppressive therapy, and was the cause of death.

Keywords:

Kaposi sarcoma, immunosuppressive therapy, corticosteroid therapy

[1] Regional Clinical Hospital, Kemerovo; [2] Regional bureau of pathology, Kemerovo

РЕФЕРАТ

Приводится описание больной 54 лет, получавшей длительное время кортикостероидную терапию по поводу иммунной тромбоцитопении. На фоне иммуносупрессии развилась генерализованная саркома Капоши, которая привела к летальному исходу.

Ключевые слова

саркома Капоши, иммуносупрессивная терапия, кортикостероидная терапия

ВВЕДЕНИЕ

Саркома Капоши (СК) впервые описана в 1872 г. венгерским дерматологом М.Кароши как «идиопатическая множественная пигментная саркома кожи». В настоящее время СК считается многоочаговой злокачественной опухолью, развивающейся из адвентиция кровеносных и лимфатических сосудов.²

В международной классификации болезней СК отнесена к классу новообразований мезотелиальной и мягких тканей (С. 46).³

В последние годы высказывается мнение, что различные формы СК являются вариантами единого патологического процесса, который обусловлен человеческим герпес-вирусом 8 типа (HHV-8).⁴⁻¹² Пути передачи данного типа вируса герпеса еще не установлены. Однако возможен половой путь передачи HHV-8, вирус может также передаваться через трансплантируемый орган.^{9,10} В связи с высокой частотой носительства HHV-8 высказывается предположение, что клиническое проявление СК может являться следствием реактивации данного вируса под воздействием иммуносупрессивных факторов.¹¹ На фоне снижения иммунитета, вызванного ретровирусами или другими иммуносупрессивными факторами, активируются онкогенные вирусы, персистирующие в организме, к которым относятся и вирусы группы

herpes, в том числе HHV-8. Эти процессы, очевидно, ответственны за цепной механизм нарушений регуляции межклеточных взаимодействий с активацией ангиогенеза и ингибированием апоптоза активированных эндотелиальных клеток.⁴

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ САРКОМЫ
КАПОШИ

Выделяют четыре формы СК:^{4,5,7,8}

- 1) классическая (идиопатическая);
- 2) эндемическая (африканская);
- 3) эпидемическая (связанная с ВИЧ-инфекцией);
- 4) иммуносупрессивная (ятрогенная).

Идиопатический тип СК встречается преимущественно у жителей Восточной Европы, включая Россию, а также у жителей Средиземноморья. Развивается чаще у лиц старше 50 лет. Мужчины болеют в 9–15 раз чаще женщин.⁸

Заболевание протекает остро, подостро и хронически.

Острая форма отличается бурным началом и прогрессирующим течением. Выражена общая интоксикация. Температура тела повышена до высоких значений. Характерны генерализованные кожные проявления — множественные узелковые или опухолевые элементы в области конечностей и лица, а также увеличение лимфатических узлов, поражение внутренних ор-

ганов. Продолжительность жизни при ней составляет от 2 мес до 2 лет.

При подострой форме клинические проявления менее выражены, процесс прогрессирует медленнее. Наиболее частая — хроническая — форма СК характеризуется относительно доброкачественным течением, ей присущи ограниченный характер поражения и длительное течение (в среднем 6—10 лет, а иногда и до 15—20 лет).⁴

Эндемический тип СК встречается у жителей Центральной Африки. На сегодняшний день наряду со СПИД-ассоциированным типом является самым частым злокачественным новообразованием в Африке. Хотя в основном эндемический тип СК встречается у взрослых, им нередко страдают дети. Вне зависимости от возраста этот тип СК чаще возникает у мужчин.⁸

Эпидемический тип СК развивается в более молодом (в среднем в 37,7 года) возрасте, чем идиопатическая СК, и в 95% случаев сопровождается кожными проявлениями. Частота СПИД-ассоциированного типа СК нарастает по мере увеличения количества ВИЧ-инфицированных.⁹

Иммуносупрессивный тип СК обусловлен длительным воздействием цитостатиков и/или кортикостероидов (КС), используемых для предотвращения отторжения трансплантатов или при лечении лимфопролиферативных и системных аутоиммунных заболеваний.^{4,6,8} Описаны случаи развития СК у больных с апластической анемией, идиопатической тромбоцитопенической пурпурой (ИТП), множественной миеломой, бронхиальной астмой, нефротическим синдромом и др.^{6,7,13} Частота иммуносупрессивного типа СК в группах пациентов, длительно получавших иммуносупрессивную терапию, составляет 0,4—5,3%. Иммуносупрессивный тип СК при применении КС для предотвращения реакции отторжения развивается в среднем через 12,5 мес после проведенной трансплантации.⁹ В последнее время регистрируется резкое возрастание количества случаев ятрогенной СК, возникшей на фоне иммуносупрессии, в том числе после трансплантации органов. По некоторым данным, около 30% реципиентов почек погибают от генерализованной СК.¹⁴ Средний возраст пациентов с иммуносупрессивной СК — 43 года, а соотношение мужчин и женщин составляет 2:1.^{5,8} Течение заболевания при этом типе СК бывает хроническим, но более агрессивным, чем при классическом типе. Кожные поражения, вначале довольно ограниченные, в дальнейшем могут принять распространенный характер с поражением внутренних органов, что приводит к летальному исходу. Поражение внутренних органов обычно протекает бессимптомно и обнаруживается только на секции. Вероятность вовлечения внутренних органов составляет 40%.⁵

Типичным клиническим проявлением СК является характерный кожный синдром. Выделяют пятнистую, папулезную и опухолевую стадии СК.⁸ В начале появляются симметричные высыпания на коже стоп и голеней в виде ангиоматозных пятен неправильной формы красно-фиолетового и красно-коричневого цвета, а также папул, которые превращаются в бляшки и узлы. На поверхности очагов могут быть телеангиэктазии, геморрагии, изъязвления, гиперкератозы, участки пигментации или рубцовой атрофии. Кожа в области очагов уплотнена, отечна, синюшна. В терминальной стадии в процесс вовлекаются лимфоузлы, отмечается поражение слизистых оболочек и внутренних органов. А.А. Каламкарян и соавт.¹⁵ на основании длительных клинических наблюдений выделили особый висцеральный тип СК, для которого характерно поражение внутренних органов при отсутствии или минимальных проявлениях на коже. Первое упоминание о висцеральных поражениях при СК относится к 1872 г. и принадлежит самому М. Капоши. У одного из умерших на аутоп-

сии признаки заболевания были обнаружены не только на коже, но и в гортани, печени, пилорическом отделе желудка, тонкой кишке, в лимфатических узлах. Вопрос о частоте поражения внутренних органов при СК остается до настоящего времени открытым, хотя считается, что эта частота составляет около 10%. Чаще всего очаги СК возникают в пищеварительном тракте, дыхательных путях, поверхностных и глубоких лимфатических узлах, особенно ретроперитонеальных и мезентериальных. Значительно реже обнаруживаются поражения почек, печени, надпочечников, яичек, головного и спинного мозга, еще реже — сердца и эндокринных желез. Примерно в половине случаев узлы СК могут изъязвляться, что бывает причиной желудочного или кишечного кровотечения. В клинической практике висцеральные очаги СК обычно выявляются только посмертно.¹⁵ В литературе имеются единичные описания случаев СК с висцеральными поражениями без кожных проявлений. Л.В. Кузнецова и Б.Ф. Шмагин¹⁶ сообщили о больном, погибшем при явлениях легочной недостаточности, кровохарканья и коллапса. На аутопсии в печени, легких, сердце, головном мозге были обнаружены опухолевые узлы, гистологически — типичная картина СК.

Как о наиболее интересных, следует упомянуть о СК, протекавшей под маской неспецифического язвенного колита,¹⁷ а также два случая наблюдения СК легких.¹⁸

ДИАГНОСТИКА САРКОМЫ КАПОШИ

Ранняя диагностика СК довольно трудна. Верификация диагноза СК основана только на результатах гистологического исследования.^{4,8} Патоморфология СК при всех клинических вариантах однотипна и основана на сочетании трех кардинальных признаков:⁸

- 1) хаотичный незавершенный ангиогенез;
- 2) пролиферация веретенообразных клеток с маркерными признаками эндотелия;
- 3) иммуноклеточная мононуклеарная инфильтрация кровеносных и лимфатических сосудов.

Длительная иммуносупрессивная терапия связана с высоким риском развития злокачественной опухоли, в том числе СК. В литературе имеются немногочисленные описания случаев развития СК у больных, длительно получающих терапию КС.^{13,19,20} Приводим собственное клиническое наблюдение.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Больная Л., 1952 года рождения, еврейка, заболела в июне 2000 г., когда появился рецидивирующий кожный геморрагический синдром (синяки, петехии), в анализах крови стало отмечаться снижение числа тромбоцитов до $38,0 \times 10^9/\text{л}$. В феврале 2003 г. впервые обратилась к гематологу КОКБ (г. Кемерово), был выставлен диагноз: ИТП, хроническая форма. В костномозговом пунктате — мегакарициты со слабой отшнуровкой тромбоцитов, уровень антитромбоцитарных антител (АТ) не исследовался. Анализ крови на ВИЧ отрицательный, маркеры вирусных гепатитов В и С отрицательные. АТ к ДНК, криоглобулины и волчаночный антикоагулянт не выявлены, проба Кумбса отрицательная. АТ (Ig G) к ЦМВ 1:200, АТ (Ig M) к ЦМВ отрицательные.

С 25.03.03 была начата КСТ, получала преднизолон в суточной дозе 80 мг в течение 2 мес. На фоне лечения уменьшились проявления геморрагического синдрома, но сохранялась глубокая тромбоцитопения (таблица). Появились осложнения: синдром Кушинга, артериальная гипертензия и нарушение толерантности к углеводам. Повторный курс терапии КС с августа по октябрь 2003 г. Ввиду резистентности к КС 16.09.03 больной была выполнена лапароскопическая спленэктомия. Гистологическое исследование селезенки: склеротические изменения в исследуемых фрагментах, редукция фолликулов, синусы красной пульпы расширены, заполнены эритроцитами. После спленэктомии сохранялся незначительный кожный

Динамика показателей общего клинического анализа крови в течение заболевания

Показатель	25.03.03	06.05.03	15.09.03	24.12.03	04.08.05	17.01.06	16.02.06
Эритроциты, $10^{12}/л$	4,46	3,17	3,5	4,3	3,09	1,56	1,77
Гемоглобин, г/л	122	90	91	131	96	52	60
Ретикулоциты, %/00	26	20	20	24	73	92	79
Тромбоциты, $10^9/л$	8,6	3,17	21,0	51,6	8,0	64,0	12,0
Лейкоциты, $10^9/л$	3,5	4,1	8,6	5,2	7,2	11,7	18,4
Базофилы, %				1			
Эозинофилы, %	1		1				
Нейтрофилы:							
Миелоциты, %			1			3	
Юные, %					2		1
Палочкоядерные, %	2	6	7	5	11	8	11
Сегментоядерные, %	57	46	56	37	28	34	26
Бластные клетки					3 (?)		
Лимфоциты, %	37	46	33	45	44	41	45
Моноциты, %	3	2	2	12	12	14	18
СОЭ, мм/ч	7	1	5	6	36	5	15

геморрагический синдром, периодические скудные носовые кровотечения, уровень тромбоцитов колебался от 24,0 до $83,0 \times 10^9/л$, иммуносупрессивная терапия не проводилась. В августе 2005 г. состояние больной ухудшилось: рецидивировали носовые кровотечения, число тромбоцитов снизилось до $8,0 \times 10^9/л$, появились анемия с ретикулоцитозом, гипербилирубинемия ($38,0$ мкмоль/л) за счет непрямого (26,0). Большой проведенно два курса пульс-терапии дексаметазоном с умеренным клиническим эффектом. С октября 2005 г. получала преднизолон по 60 мг/сут.

При проведении повторного исследования костного мозга в миелограмме от ноября 2005 г.: костномозговой пунктат умеренноклеточный, среди элементов нейтрофильного ряда отмечается преобладание менее зрелых форм, эритроидный росток гиперплазирован за счет полихроматофильных и оксифильных нормоцитов, тип кроветворения нормобластический, мегакариоциты не найдены. С учетом состояния диагностической базы нашей клиники проведение иммунофенотипирования костного мозга не представлялось возможным.

В ноябре 2005 года появилась возможность проведения дообследования на предмет наличия антитромбоцитарных и антиэритроцитарных АТ: АТ не выявлены.

С учетом ведущего и прогрессирующего геморрагического синдрома, анемии с ретикулоцитозом и гиперплазией эритроидного ростка, гипербилирубинемии, несмотря на отсутствие антител, больной был установлен диагноз: двухростковая аутоиммунная цитопения (синдром Evans—Fisher), и продолжено лечение преднизолоном со снижением по стандартной схеме до полной отмены.

В связи с прогрессированием геморрагического синдрома 16.01.06 больная была госпитализирована в отделение гематологии КОКБ.

При поступлении состояние больной было тяжелым. Кожные покровы бледные, множественные петехии, экхимозы и синяки на коже, подкожные сливные гематомы на предплечьях и голенях багрово-синюшного цвета. Склеры субиктеричны. Пальпируются шейные и подмышечные лимфоузлы размерами до 0,5 см в диаметре. Стопы и голени отечны. В легких выслушивается везикулярное дыхание. Сердечные тоны ритмичные, тахикардия до 127 уд/мин. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень, селезенка не пальпируются.

Багрово-синюшные очаги на коже верхних и нижних конечностей были расценены как подкожные гематомы на фоне геморрагического синдрома при тромбоцитопении, по этой причине не была проведена биопсия кожи.

Ввиду нарастающей анемии, выраженного геморрагического синдрома проводилась сопроводительная терапия компонентами крови (эритроциты и тромбоциты, свежемороженая плазма). На фоне лечения отмечалось усугубление геморрагического синдрома, появление множественных свежих геморрагических высыпаний на коже и слизистых, десневых и носовых кровотечений. С 15.02.06 отмечались появление и нарастание одышки, повышение температуры тела до субфебрильных значений, ослабление дыхания в нижних отделах легких с двух сторон, снижение АД до 80/40 мм рт. ст. Назначена антибактериальная терапия, продолжена заместительная гемокомпенсация и симптоматическая терапия.

На рентгенограмме органов грудной клетки от 18.02.06 выявлен двусторонний плеврит, жидкость на уровне пятого ребра слева, третьего ребра справа.

Несмотря на проводимую интенсивную терапию, состояние больной прогрессивно ухудшалось, нарастал геморрагический синдром, 19.02.06 развилась мозговая кома. 20.02.06 констатирована смерть.

Результаты патологоанатомического исследования

Женщина повышенного питания, лунообразное лицо, на коже туловища и конечностей мелко- и крупнопятнистые, местами сливающиеся в обширные поля кровоизлияния ярко-красного цвета (кожа на гистологическое исследование не взята). В плевральной полости справа 1500 мл красной жидкости без свертывания. В легких — отек, крупноочаговые кровоизлияния темно-красного, почти чёрного цвета. Клетчатка переднего средостения имbibирована кровью. В желудке детгеобразная жидкость (150 мл), на слизистой во всех отделах многочисленные мелкие (0,3 см) поверхностные дефекты, дно их черного цвета, на слизистой кардиального отдела лентовидные кровоизлияния. В тонкой и толстой кишке содержимое сегментарно окрашено кровью. Лимфатические узлы по ходу абдоминальной аорты множественные единичные и группами, самый крупный до 2 см, на разрезе мясистые светло-вишнёвые. Костный мозг грудины на распиле красный мажущийся, костный мозг бедра желеобразный ярко-красный. В правом полушарии мозжечка лентовидное кровоизлияние.

Гистологическое исследование

В легких на фоне отека и застойного полнокровия имеется гемосидероз. Сосуды многочисленные, преимущественно венозного типа, резко расширены, содержат кровь. Часть сосудов неправильной формы, анастомозируют между собой. В части сосудов тромбы, в части — облитерация просвета. На периферии отдельных бронхов встречаются образования округлой формы из мелких сосудов капиллярного типа, сформированных вытянутыми веретенообразными клетками, складывающимися в пучки, строма образования из мелких вытянутых клеток (рис. 3). Лимфатические узлы — большая часть ткани замещена пролиферирующей ангиоматозной тканью из сосудов капиллярного типа, в очагах пролиферации — отложения гемосидерина (рис. 4). Костный мозг бедра, грудины — резорбция костной ткани, диффузно-очаговая пролиферация клеточной массы из относительно мономорфных клеток с узким ободком зоны цитоплазмы с округлым ядром, незначительная примесь эритроцитов (рис. 5).

Патологоанатомический диагноз

Основной. Генерализованная иммуносупрессивная форма саркомы Капоши с поражением легких, печени, желудка, перибронхиальных, парааортальных лимфоузлов.

Осложнения. Геморрагический синдром тяжелой степени. Подкожные кровоизлияния на туловище и конечностях. Кровоизлияние в паренхиму лёгких. Гемоторакс справа. Эрозивно-язвенный гастрит, кровь в просвете желудка, кишечника. Субарахноидальное кровоизлияние в правом полушарии мозжечка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Саркома Капоши — злокачественная опухоль, исходящая из кровеносных и лимфатических сосудов, является типичным проявлением вторичного иммунодефицита. Приведенный нами клинический случай относится к иммуносупрессивному типу СК.

Особенностью наблюдения является развитие генерализованной СК у пациентки с отрицательным анализом крови на ВИЧ, длительно получавшей терапию КС.

Ретроспективно анализируя данный клинический случай, необходимо отметить, что, невзирая на редкость патологии, нами был допущен ряд ошибок в ходе диагностического поиска. Во-первых, мы пренебрегли данными иммунологического исследования. Отсутствие антиэритроцитарных и антитромбоцитарных АТ должно было направить нас на поиск других причин цитопении и проведение трепанобиопсии подвздошной кости с иммуногистохимическим исследованием. Отсутствие этих данных не позволяет нам однозначно трактовать изменения в костном мозге.

Во-вторых, не была взята биопсия кожи. Вероятнее всего, кожный синдром в виде ангиоматозных пятен красно-фиолетового цвета был обусловлен не столько глубокой тромбоцитопенией, сколько специфическим саркомным поражением.

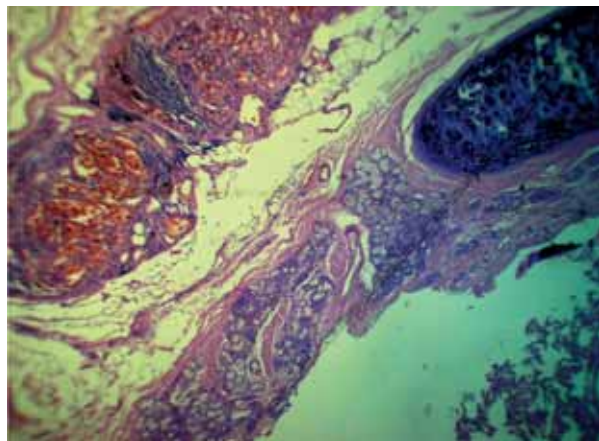


Рисунок 1. Опухолевые узелки в легочной ткани

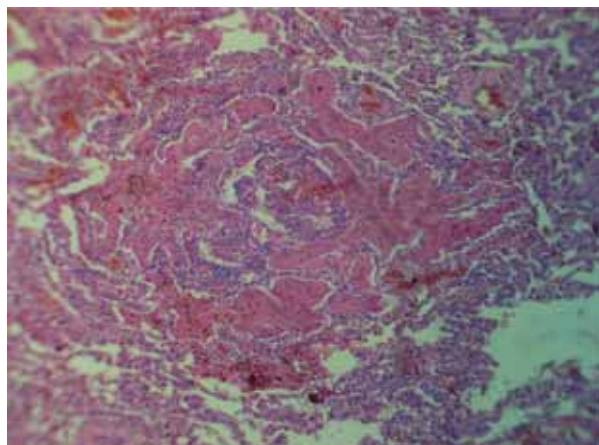


Рисунок 2. Ангиоматозный очаг в легком

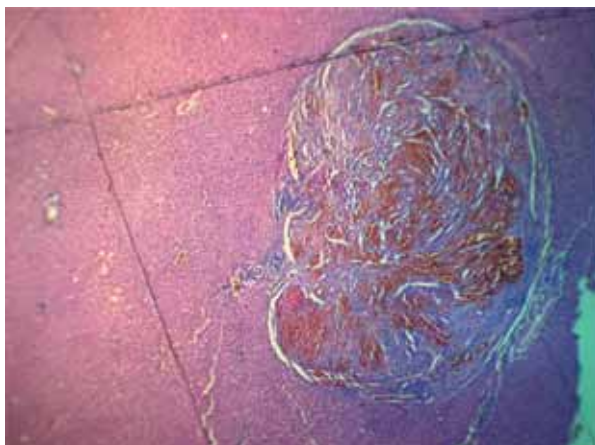


Рисунок 3. Метастатический очаг СК в печеночном портальном тракте

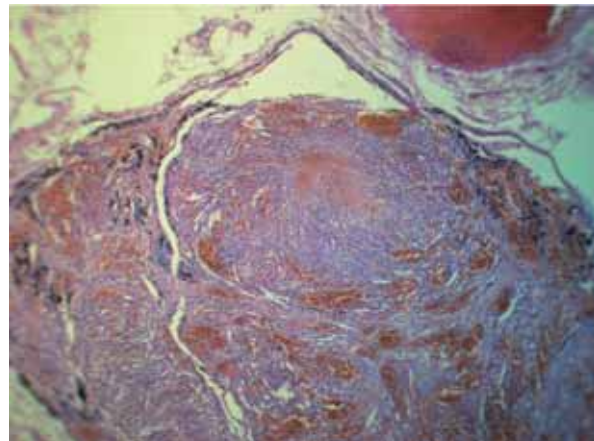


Рисунок 4. Опухолевый процесс в перибронхиальном лимфатическом узле

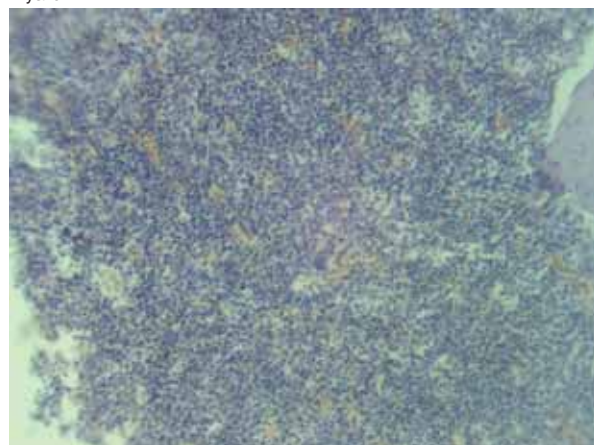


Рисунок 5. Картина костного мозга грудины

ЛИТЕРАТУРА

1. Kaposi M. Idiopathisches multiples pigmentsarcom der haut. Arch Dermatol Syph. 1872; 4:265–73.
2. Фицпатрик Т., Джонсон Р., Вулф К. и др. Дерматология: атлас-справочник. Пер.с англ. М., Практика; 1999.с. 1088.
3. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем; 10-й пересмотр. Т. 1. Женева, ВОЗ; 1995. с. 200.
4. Молочков А.В., Гурцевич В.Э., Сергеев Ю.В., Молочков В.А. Новый взгляд на подходы к диагностике и лечению саркомы Капоши. Вестн РАМН 2005; (5):43–7.
5. Юцковский А.Д., Фёдорова Е.Б., Пенкин Е.Г., Богуславская О.В. Ятрогенная саркома Капоши. Клин дерматол и венерол. 2004; (1):50–2.
6. Якубович А.И., Злобина Т.И., Калягин А.Н. и др. Случай развития иммуносупрессивной саркомы Капоши у больного гранулематозом Вегенера. Клин дерматол и венерол. 2005; (1):11–4.
7. Молочков А.В., Чернова В.А., Ватазин А.В. и др. Серопозитивность к HHV-8-фактор риска развития саркомы Капоши у реципиентов почечного трансплантата. Рос журн кож и вен бол. 2002; (6):4–7.
8. Молочков А.В., Карташова М.Г., Шаталова О.А. Саркома Капоши: современные подходы к диагностике и лечению. Consilium medicum 2005; Приложение (Дерматология):3–7.
9. Молочков А.В., Кадырова Е.Л., Карташова М.Г. и др. К обнаружению вируса герпеса человека 8-го типа в тканях урогенитального тракта при идиопатической саркоме Капоши. Рос журн кож и вен бол. 2001; (6):7–10.
10. Penn I. De novo cancers in organ allograft recipients. Curr Opin Organ Transplantant. 1998; (3):188–96.
11. Regamey N., Tamm M., Wernli M. Transmission of human herpesvirus 8 infection from renal-transplantant donors to recipients. N Engl J Med. 1998; 339:1358–63.
12. Новикова Н.В., Чистякова И.А., Резайкина А.В. Саркома Капоши: современные данные о патогенезе, клинике и терапии. Вестн дерматол и венерол. 2002; (3):44–6.
13. Шаталова О.А., Молочков А.В. Сопутствующие заболевания у пациентов с иммуносупрессивным типом саркомы Капоши. 1-й Рос. конгресс дерматовенерологов. С.-Пб., 2003; 1:140–1.
14. Newstead C. Assessment of risk of cancer after transplantation. Lancet 1998; 351:610–1.
15. Каламкьян А.А., Акимов В.Г., Казанцева И.А. Саркома Капоши. Новосибирск, 1986.
16. Кузнецова Л.В., Шмагин Б.Ф. Случай СК. В кн.: Сборник работ научно-практической конференции терапевтов. М., 1965. с.34–5.
17. Блохин А.В. Саркома Капоши толстой кишки, протекавшая под маской неспецифического язвенного колита. Клин мед. 1990; (9):100–2.
18. Когосов Ю.А., Радионов Б.В., Коновалова Е.П. и др. Клин хир. 1990; (10):58–9.
19. Hudhall S, Rady P, Tying S, Fish J. Hydrocortisone activation of human herpesvirus 8 viral DNA replication and gene expression *in vitro*. Transplantation 1999; 67:648–52.
20. Vincent T, Moss K, Colaco B, Venables P. Kaposi sarcoma in two patients following low-dose corticosteroid treatment for rheumatological disease. Rheumatology 2000; 39:1294–6.



Синдром Рихтера с первичным поражением
кожи у больного хроническим лимфолейкозом

М. А. Волкова [1], М. Ю. Кичигина [1], Д. Ш. Османов [1], А. М. Ковригина [1],
Н. А. Пробатова [1], А. И. Павловская [1], М. А. Френкель [1],
Н. Н. Тупицын [1], Е. Н. Шолохова [1], А. И. Карселадзе [1], Е. А. Никитин [2],
А. В. Пивник [3], В. А. Тумаков [4], Р. А. Махмудов [4]

Richter syndrome with primary cutaneous presentation in a patient with chronic lymphocytic leukemia

M.A. Volkova [1], M.Yu. Kitchigina [1], E.A. Osmanov [1],
A.M. Kovrigina [1], N.A. Probatova [1], A.A. Pavlovskaya [1],
M.A. Frenkel [1], N.N. Tupitsyn [1], E.N. Sholokhova [1],
A.I. Karseladze [1], E.A. Nikitin [2], A.V. Pivnik [3],
V.A. Tumakov [4], R.A. Mahmudov [4]

Summary:

It is a case report of the patient with chronic lymphocytic leukemia (CLL) who received treatment with alkylating agents, purine analogs, anthracyclines, rituximab, glucocorticoids, and after 4 years of the disease developed Richter syndrome with primary presentation in the skin.

Keywords:

chronic lymphocytic leukemia, skin, Richter syndrome

[1] N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow; [2] Research Hematology Center, Moscow; [3] N.I. Pirogov National Medico-Surgical Center, Moscow; [4] Regional Hospital, Ivanovo

Контакты: volkova@org.ru

РЕФЕРАТ

Приводится описание больного, у которого в возрасте 48 лет диагностирован хронический лимфолейкоз. Периодически получал различные курсы химиотерапии, включающие алкилирующие препараты, пуриновые аналоги (флударабин), антрациклины (митоксантрон), моноклональные антитела (мабтера), кортикостероидные гормоны (дексаметазон). На 4-м году заболевания у больного появились опухолевые образования на коже головы, туловища и конечностей, слизистой носа и ротоглотки. При гистологическом и иммуногистохимическом исследованиях диагностировано развитие диффузной В-крупноклеточной лимфомы — синдром Рихтера.

Ключевые слова

хронический лимфолейкоз, кожа, синдром Рихтера

ВВЕДЕНИЕ

Специфическое поражение кожи при хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ) встречается редко. L. Cerroni et al.¹ предполагающие, судя по имеющимся публикациям, наибольшим количеством наблюдений, сообщают о 42 больных ХЛЛ, исследованных по поводу специфического поражения кожи в дерматологической клинике за 25 лет (с 1969 по 1994 г.). K. Agnew et al.² среди 750 больных ХЛЛ, наблюдавшихся ими за 30-летний период, отметили разнообразные кожные образования у 40 пациентов, однако, лишь у трех из них поражения кожи имели характер лимфоидных инфильтратов со специфической для ХЛЛ иммуногистохимической картиной.

Описываемые разными авторами специфические поражения кожи разнообразны по внешнему виду — это папулы, пятна, узелки или довольно большие опухолевые образования. Они могут быть локальными или носить генерализованный характер, располагаясь на голове и шее, туловище и конечностях. Некоторые авторы указывают, что наиболее характерными места-

ми локализации специфических поражений кожи являются области сосков, мошонки и ушные раковины.³ В старых учебниках дерматологии эти области указывались как наиболее характерные в тех случаях, когда кожные поражения развивались в самом начале ХЛЛ.⁴

Иногда специфические поражения кожи появляются на месте рубцов, оставшихся после перенесенного *herpes simplex* или, чаще, *herpes zoster*.¹ Изъязвления для поражений кожи при ХЛЛ нехарактерны.

В отдельных наблюдениях специфические поражения кожи появляются в самом начале развития ХЛЛ и являются первым поводом для обращения больного к врачу. Морфологическое и иммуногистохимическое исследования в этих случаях, как правило, выявляют мономорфные инфильтративные образования, состоящие из малых CD5- и CD19-позитивных лимфоцитов, экспрессирующих на поверхности иммуноглобулины с рестрикцией легкой цепи. Во всех исследованных случаях с помощью полимеразной цепной реакции удалось подтвердить принадлежность лимфоцитов, образующих кожные инфильтраты, и лимфоци-

[1] ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН; [2] Гематологический научный центр РАМН; [3] Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова; [4] ОГУЗ Ивановская областная клиническая больница

тов костного мозга данного больного к одному клону.^{3,5} Как правило, в инфильтратах обнаруживается и небольшое количество Т-лимфоцитов. Т-клеточная инфильтрация в этих случаях является поликлоновой, ее можно расценивать как реактивную, являющуюся отражением местной иммунной реакции в ответ на возникновение опухоли.¹

Иногда, однако, в описанных случаях специфическое поражение кожи при ХЛЛ имело морфологические черты крупноклеточной лимфомы. Кожа могла быть единственной локализацией лимфомы или сочетаться с поражением крупноклеточной лимфомой других органов и тканей — лимфоузлов, селезенки, печени.

Развитие диффузной крупноклеточной лимфомы у больного ХЛЛ, описанное впервые М. Richter⁶ в 1928 г. и впоследствии названное его именем — синдром Рихтера,⁷ является исходом ХЛЛ, по разным данным, у 2–6% больных.^{8–10} Развитие синдрома Рихтера обычно характеризуется появлением общих симптомов — повышением температуры и потерей массы тела, проливными потами, слабостью и быстрым увеличением одного или, чаще, группы лимфоузлов, селезенки, печени. Появление кожных инфильтратов как проявление синдрома Рихтера является исключительно редким и, насколько нам известно, сообщения об этом ограничиваются несколькими публикациями.^{1,2,8,11–14} Так, L. Robertson и et al,⁸ опубликовавшие наибольшее количество наблюдений синдрома Рихтера у больных ХЛЛ, отметили кожные поражения всего у 2 из 39 больных. L. Cerroni et al¹ диагностировали синдром Рихтера у 2 из 42 больных ХЛЛ, обратившихся в дерматологическую клинику по поводу поражения кожи.

Приводим собственное наблюдение развития синдрома Рихтера с поражением кожи у больного ХЛЛ. Оно является единственным в нашей практике среди сотен больных, наблюдавшихся по поводу ХЛЛ.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Больной П., 52 лет, обратился в РОНЦ им. Н.Н.Блохина в ноябре 2005 г. по поводу появления бугристых образований на коже головы, туловища и конечностей и быстрого увеличения их размеров и количества.

Из анамнеза известно, что в июле 2001 г. при обращении к врачу по месту жительства по поводу острого респираторного заболевания у больного был диагностирован ХЛЛ. Количество лейкоцитов в то время составляло $19 \times 10^9/\text{л}$, из них лимфоцитов — 67%. В миелограмме лимфоциты составляли 68,2%. Поскольку уровень гемоглобина, количество эритроцитов и тромбоцитов были нормальными, лечение больному назначено не было. В феврале 2002 г. количество лейкоцитов в крови достигло $49 \times 10^9/\text{л}$, из них лимфоцитов — 86%. Содержание гемоглобина, число эритроцитов и тромбоцитов оставались нормальными, размеры лимфоузлов — лишь незначительно увеличенными. Лечение не получал.

В мае 2002 г. количество лейкоцитов в крови увеличилось до $62 \times 10^9/\text{л}$, из них лимфоцитов — 92%. Больной консультирован в Гематологическом научном центре РАМН. Было рекомендовано лечение по схеме СОР с последующей поддерживающей терапией циклофосфаном или хлорбутином. Больной получил 6 курсов СОР, после чего 1–2 раза в неделю получал циклофосфан по 300 мг. Состояние оставалось удовлетворительным до февраля 2003 г., но отмечалось постепенное увеличение размеров лимфоузлов в шейно-надключичных, подмышечных и паховых областях, стала пальпироваться селезенка. При иммунофенотипировании клеток крови и костномозгового пунктата (РОНЦ РАМН, 20.02.03) был подтвержден диагноз ХЛЛ (в крови CD19+CD5+лимфоциты составляли 61,9%, CD19+CD23+ — 47%, CD38+ — 15,1%, в костномозговом пунктате CD19+ CD19+CD5+ лимфоциты составляли 79,8%, CD19+ CD23+ — 45,3%, CD38+ — 15,3%).

В феврале 2003 г. больной вновь консультирован в Гематологическом научном центре РАМН, где ему было рекомендовано лечение по схеме R-MFCD: ритуксимаб (мабтера), митоксантрон, флударабин, циклофосфан, дексаметазон. В течение года получил всего 6 циклов терапии указанными препаратами: 3 с мабтерой и 3 без



Рис. 1. Картина поражения кожи головы до лечения



Рис. 2. Тот же участок кожи головы после лечения

мабтеры. После этого с декабря 2004 г. до мая 2005 г. получал лишь лечение циклофосфаном. В мае 2005 г. в связи с вновь отмеченным увеличением количества лейкоцитов и лимфоцитов в крови начато лечение флударабином в сочетании с мабтерой. Всего получил 3 курса такой терапии, последний — в сентябре 2005 г.

В июне 2005 г. больной впервые отметил появление на слизистой рта и на коже по всему телу разнообразных по форме, размерам и цвету образований. Некоторые из них носили характер пятен без четких границ, но чаще это были разные по величине плотные бугристые красновато-синюшные опухолевидные образования. Они несколько уменьшались в размерах во время курса терапии, но через несколько дней после окончания лечения приобретали прежние или даже более значительные размеры. В сентябре появилось опухолевидное образование в полости носа, затрудняющее носовое дыхание.

Больной обратился в РОНЦ и 17.11.05 был госпитализирован в отделение химиотерапии гемобластозов.

При поступлении общее состояние удовлетворительное, активен. Голос изменен в связи с практически полным отсутствием носового дыхания. На коже головы, туловища и конечностей — множественные выпуклые, округлые красновато-синюшные опухолевые образования размерами от горошины до крупного грецкого ореха (рис. 1), некоторые имеют нечеткие края и диаметр до 7–8 см. На слизистой рта и в углах глаз имеются мелкие образования такого же вида. На переднебоковой поверхности правой голени под кожей пальпируется плотное образование размерами 12 × 7 см. Кожа над ним не изменена, температура кожи не повышена.

Отмечается увеличение периферических лимфоузлов — затылочных, подчелюстных, шейных, подбородочных, их размеры от 2 × 1,5 до 2 × 3 см. Паховые лимфоузлы увеличены значительно и образуют конгломераты — справа 8 × 10 см, слева 4 × 5 см, плотной консистенции. Печень не пальпируется, пальпируется край селезенки в положении на правом боку.

При рентгенографии и компьютерной томографии органов грудной клетки обнаружены множественные увеличенные лимфоузлы в корневых зонах обоих легких. При ультразвуковом исследовании подтверждено увеличение периферических

лимфоузлов и селезенки, которая имеет размеры $16,3 \times 9,2$ см, обнаружены увеличенные лимфоузлы в брюшной полости по ходу мезентеральных сосудов диаметром до 2×3 см.

При **ультразвуковом исследовании мягких тканей** правой голени обнаружено образование пониженной эхогенности, распространяющееся практически от коленного до голеностопного суставов. Вокруг голеностопного сустава признаки отека мягких тканей. При доплерографии в обнаруженном образовании определяется интенсивный кровоток.

Анализ крови от 18.11.05: гемоглобин — 127 г/л, эр. — $4,64 \times 10^{12}$ /л, л. — $8,12 \times 10^9$ /л, тр. — 111×10^9 /л, пал. — 6%, сегм. — 42%, эоз. — 3%, лимф. — 39%, мон. — 10%.

При **биохимическом анализе крови** постоянно отмечалось некоторое увеличение содержания глюкозы — 6,6–6,7 ммоль/л (норма до 6,1), общего билирубина — 23–25 мкмоль/л (норма до 20), снижение уровня общего белка — 61–62 г/л (норма 66–87) и постоянно повышенный уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ) — от 625 до 734 ед/л (норма до 450).

Миелограмма от 18.11.05. Костный мозг умеренноклеточный, гранулоцитарный и эритроидный ростки сужены (сумма гранулоцитов — 53,6%, сумма клеток эритроидного ряда — 12,6%), лимфоциты, преимущественно зрелые формы, составляют 31,4%. Иммунофенотип характерен для В-ХЛЛ: CD19+CD23+ — 45,6%, CD19+CD5+ — 49%. Обращало внимание высокое содержание лимфоцитов, экспрессирующих антиген CD38 — 62,9%.

При **цитогенетическом исследовании** (метод FISH) в 52% клеток обнаружена делеция 11q, в 23% клеток — делеция 17p.

При **определении мутационного статуса генов** вариабельного региона тяжелых цепей иммуноглобулинов выявлена клональная перестройка VH генов третьего семейства. Вариабельный регион кодирован генами VH3-64, D3-3, JH6. При сопоставлении имеющейся у больного и герминальной последовательности гена VH3-64 степень гомологии составила 96,9%. Это свидетельствует о наличии соматических мутаций VH генов (при отсутствии таких мутаций степень гомологии исследуемого и зародышевого генов составляет 99–100%).

При **трепанобиопсии подвздошной кости** обнаружен гиперклеточный костный мозг за счет интерстициального разрастания лимфоидных клеток типа малых лимфоцитов и многочисленных пролимфоцитов.

При **иммуноцитологическом исследовании биоптата кожи** обнаружен выраженный полиморфно-клеточный лимфоидный инфильтрат. Мелкие лимфоидные клетки представлены Т-лимфоцитами, среди которых преимущественно встречаются CD8-положительные клетки. Опухолевый инфильтрат представлен В-клетками с иммунофенотипом CD19+CD20+CD21+CD5+CD10–CD23–. По сравнению с клетками костного мозга клетки опухолевого инфильтрата в коже отличаются крупными размерами и отсутствием антигенов CD23 и CD21. Экспрессия маркера CD38 сохраняется на большинстве клеток. В-клеточный иммунофенотип опухолевых клеток, слабая экспрессия антигена CD20, типичная для ХЛЛ, экспрессия антигена CD5 в сочетании с утратой антигена CD23 позволили расценить изменения в дерме как проявление развития у больного ХЛЛ крупноклеточной В-клеточной лимфомы.

При **гистологическом исследовании биоптата кожи** во всех отделах дермы и гиподерме обнаружен массивный инфильтрат из лимфоидных клеток типа малых лимфоцитов и пролимфоцитов, увеличено количество парaimмунобластов, расположенных дискретно. При иммуногистохимическом исследовании обнаружена экспрессия лимфоидными клетками инфильтрата антигенов CD45, CD20, IgM, Bcl2, очаговая экспрессия CD23, слабая экспрессия CD21. Ki 67 экспрессируют 20–25% клеток. Указанные морфологические и иммуногистохимические данные также позволили трактовать обнаруженные изменения как начальные проявления развития синдрома Рихтера — крупноклеточной лимфомы.

Больному проводилось лечение по схеме DHAP (цисплатин 200 мг, высокие дозы цитарабина — 8000 мг, дексаметазон 80 мг) EMVP (метотрексат 2000 мг, этопозид, винкристин, преднизолон), MINE (месна, ифосфomid, митоксантрон, этопозид), высокие дозы метотрексата в монорежиме. Применение каждой из указанных схем давало лишь кратковременный эффект (не более чем на 2–3 дня) уменьшения размеров опухолевых образований (рис. 2).

При повторном исследовании миелограммы 09.03.06 среди лимфоидных элементов определялись в небольшом количестве

(6%) крупные монструозные клетки неправильных очертаний. Форма ядер этих клеток складчатая, структура хроматина нежная. В ядрах определяется по одной крупной нуклеоле. Окраска цитоплазмы этих клеток умеренно или выражено базофильна, в части клеток имеется вакуолизация. Зернистость не определяется. Эти клетки были расценены как клетки крупноклеточной лимфомы.

Несмотря на постоянно проводимое лечение, состояние больного постепенно ухудшалось, присоединились подъемы температуры, проливные поты, нарастала слабость. Больной был выписан из клиники в марте 2006 г. и вскоре умер в больнице по месту жительства в момент кровотечения из одного из опухолевых образований. Вскрытие не производилось по требованию родственников.

ОБСУЖДЕНИЕ

Представленное наблюдение касается больного, у которого в возрасте 48 лет был диагностирован ХЛЛ, по поводу чего он получал многократные курсы терапии, включающие алкилирующие препараты, пуриновые аналоги, антрациклины и моноклональные антитела. Через 4 года у больного развился синдром Рихтера с поражением кожи. Лечение оказалось неэффективным.

Как известно, средний возраст заболевших ХЛЛ, по данным разных авторов, составляет 65–69 лет. При общей редкости синдрома Рихтера некоторые авторы отмечают более частое его развитие у молодых пациентов.

Так, в исследовании, включившем 1011 больных ХЛЛ, общая частота синдрома Рихтера составила 2,2%, при этом у больных моложе 55 лет он встречался в 5 раз чаще, чем у больных более старших возрастных групп: 5,9 и 1,2% соответственно ($p < 0,00001$).¹⁵

У нашего больного в трепанате костного мозга при поступлении в отделение химиотерапии гемобластозов РОНЦ (через 4 года от начала заболевания) обнаружено большое количество пролимфоцитов, что обычно не встречается у больных с благоприятным течением ХЛЛ и является плохим прогностическим признаком. Поскольку до поступления в РОНЦ больному трепанобиопсия костного мозга не делалась, неизвестно, были ли пролимфоциты в трепанате в начале болезни или появились на более позднем этапе уже как признак изменения характера заболевания.

Роль увеличения количества пролимфоцитов в прогнозе ХЛЛ показана в работе Y. Ma et al.¹⁶ Периодически исследуя костномозговые пунктаты больных ХЛЛ, авторы отметили, что у ряда пациентов с течением времени среди большого числа типичных лимфоцитов обнаруживаются отдельные крупные, имеющие нуклеолы клетки, превышающие размеры обычного лимфоцита в 2 раза, а иногда и размеры встречающихся при ХЛЛ пролимфоцитов. Проведенный анализ показал, что в тех случаях, когда таких клеток было более 7%, продолжительность жизни больных была достоверно более короткой, чем у остальных. Проанализировав на большом количестве наблюдений значение различных признаков для прогноза ХЛЛ, авторы отметили, что продолжительность жизни 78 больных, у которых число крупных клеток превышало 7%, была такой же, как продолжительность жизни 29 больных с синдромом Рихтера в исследуемой группе.

У нашего больного имелись хромосомные aberrации, ассоциированные с плохим прогнозом: делеция 11q и делеция 17p, обуславливающая частичную утрату гена *Trp53*, обеспечивающего стабильность клеточного генома.

Из хромосомных aberrаций, свойственных ХЛЛ, наиболее значимыми для развития синдрома Рихтера, по всей вероятности, являются трисомия хромосомы 12 (+12) и делеция длинного плеча хромосомы 11 (11q-). E. Matutes et al.,¹⁷ обследовав 544 больных ХЛЛ, обнаружили трисомию 12 у 53% больных с крупными клетками в костном мозге и только у 9,7% ($p < 0,001$) без таких клеток. У нашего больного

не было трисомии 12, но была делеция 11q — в 52% исследованных клеток. Значение делеции 11q23 при ХЛЛ хорошо известно. Больные с этой хромосомной абберацией часто рассматриваются как больные «опухолевой формой ХЛЛ», поскольку для них характерно значительное увеличение лимфоузлов, особенно в брюшной полости и медиастинальных, а по нашим наблюдениям, также в подчелюстных и шейно-надключичных областях. Y.Zhu et al,¹⁸ обследовав 161 больного различными лимфопролиферативными заболеваниями, диагностировали синдром Рихтера у трех больных ХЛЛ, и у всех была обнаружена делеция 11q23.

Некоторые авторы отмечают, что делеция 11q23 встречается почти исключительно у больных ХЛЛ, у которых гены *IgVH* не имеют признаков соматических гипермутаций,¹⁹ но у нашего больного исследование мутационного статуса этих генов обнаружило наличие таких мутаций.

Следует подчеркнуть, что у нашего больного имелись две неблагоприятные хромосомные аномалии — делеция 11q и делеция 17p. Как известно, одновременно различные нарушения кариотипа при синдроме Рихтера встречаются значительно чаще, чем при ХЛЛ.^{16,20} Значение комбинированных нарушений кариотипа для развития синдрома Рихтера подтверждается работой E.Matutes et al,¹⁷ обнаруживших, что в группе больных с трисомией 12 и одновременно другими хромосомными абберациями крупные клетки с атипичной морфологией встречались у 70% больных, в то время как у больных с трисомией 12 как единственной хромосомной абберацией — лишь в 40%.

Как уже упоминалось, до развития синдрома Рихтера с мая 2002 г. до июня 2005 г. наш больной неоднократно получал лечение комбинацией различных препаратов: 6 циклов ЦОП, после чего поддерживающую терапию циклофосфаном на протяжении 6–7 мес, затем 3 цикла, включающие мабтеру, митоксантрон, флударабин, циклофосфан, дексаметазон, и 3 цикла такой же терапии без мабтеры, затем на протяжении 2–3 мес поддерживающую терапию циклофосфаном, после чего 3 курса лечения сочетанием мабтеры и флударабина. Кожные изменения впервые появились у больного еще во время первого курса лечения мабтерой и флударабином.

В некоторых наблюдениях отмечается увеличение частоты синдрома Рихтера при увеличении интенсивности, числа курсов и числа различных режимов химиотерапии. Так, в MD Anderson Cancer Center с 1972 по 1992 г. наблюдались 1374 больных ХЛЛ. Синдром Рихтера развился у 39 из них, что составило 2,8%.⁸ В последующие 10 лет, с 1992 по 2002 г., в этом же центре наблюдались 2147 больных ХЛЛ, синдром Рихтера развился у 105 из них, что составило 4,9%. Частота синдрома Рихтера была значительно выше у больных, получивших по поводу ХЛЛ более двух различных режимов химиотерапии.¹⁵ Безусловно, оценивая роль предыдущего лечения в развитии синдрома Рихтера, нельзя не учитывать, что 2–3 и более различных режимов терапии получают больные с прогрессирующим и плохо поддающимся лечению ХЛЛ, при котором вообще чаще наблюдается развитие синдрома Рихтера.

Некоторые исследователи в последние годы отмечают более частое развитие синдрома Рихтера у больных, получавших для лечения ХЛЛ пуриновые аналоги. Так, в публикации S. Tabuteau et al²⁰ сообщается, что синдром Рихтера наблюдался у 6% (37 из 620) больных, получавших флударабин, что было достоверно выше частоты развития этого синдрома в группе больных, леченных комбинациями препаратов, не содержащими флударабина. Еще более высокую частоту синдрома Рихтера у больных, леченных флударабином, отметили P. Thornton et al²¹ за 10 лет, с 1990 по 2000 г., лечение флударабином или флударабином в сочета-

нии с другими препаратами (чаще всего с циклофосфаном и митоксантроном) получил 101 больной. Синдром Рихтера развился у 12 (12%) из них. Это одна из наиболее высоких из известных нам по публикациям частота развития синдрома Рихтера при ХЛЛ. Ни у кого из 12 больных не было поражения кожи. Нужно отметить, что лишь один из этих больных получал флударабин в качестве первого лечебного средства, остальные — как вторую или третью линию терапии после лечения хлорамбуцилом, преднизолоном, антрациклинами. У 6 из 12 больных синдром Рихтера развился в течение четырех месяцев после окончания лечения флударабином. Такое же быстрое развитие синдрома Рихтера после лечения больных ХЛЛ и фолликулярной лимфомой комбинацией флударабина, циклофосфана и мабтеры наблюдали Y.Cohen et al.²²

Тем не менее роль пуриновых аналогов и моноклональных антител в развитии синдрома Рихтера на основании приведенных работ нельзя признать доказанной, поскольку имеются и противоположные данные. Так, L. Robertson et al¹⁸ сообщают о развитии синдрома Рихтера у 22 (3,4%) из 649 больных ХЛЛ, получавших пуриновые аналоги, и у 17 (2,3%) из 725 больных, леченных только алкилирующими препаратами, что не составляет статистически достоверной разницы. Не было разницы и в интервале от начала лечения до развития синдрома Рихтера при различных лечебных программах. Lepotrier et al²³ в результате проведенного большого рандомизированного исследования также не отметили разницы в частоте развития синдрома Рихтера у больных ХЛЛ, леченных и не леченных пуриновыми аналогами. T. Robak et al,²⁴ проанализировав частоту вторых опухолей и синдрома Рихтера у 1487 больных ХЛЛ, из которых 251 больной получал только кладрибин, 913 — алкилирующие препараты и 323 — то и другое, не отметили достоверной разницы в частоте как вторых опухолей, так и синдрома Рихтера в этих группах: синдром Рихтера развился у 1% больных, леченных кладрибином, у 0,9% получавших алкилирующие препараты и у 0,6% больных, получавших оба режима терапии. Такие же результаты получены B. Cheson et al,²⁵ проанализировавшими частоту вторых опухолей и синдрома Рихтера у 2014 больных ХЛЛ.

Патогенез синдрома Рихтера не совсем понятен до настоящего времени. Определенное значение в его развитии придают вирусу Эпштейна–Барр (ВЭБ). Это лимфотропный вирус, которым инфицировано более 90% населения земного шара.²⁶ Показано, что ВЭБ вызывает пролиферацию В-лимфоцитов *in vitro*, блокируя пути апоптоза этих клеток путем повышения экспрессии белка BCL-2.²⁷ Клетки, инфицированные ВЭБ, оказываются менее зависимыми от действия иммунных факторов и поэтому могут дольше выживать.²⁸ У больных с синдромом Рихтера, инфицированных ВЭБ, отмечаются особенно быстрое течение и резистентность к терапии.²⁹ Повышенная пролиферация клеток, инфицированных ВЭБ, способствует возникновению в них генных аббераций.

Известно, что диффузная крупноклеточная лимфома при синдроме Рихтера развивается из того же клона, что и ХЛЛ у 2/3 больных.¹⁹ В остальных случаях синдрома Рихтера обнаруживается различная клоновая принадлежность ХЛЛ и диффузной крупноклеточной лимфомы. Недавними исследованиями³⁰ подтвержден установленный ранее факт:³¹ истинная трансформация ХЛЛ в диффузную крупноклеточную лимфому, т. е. развитие лимфомы из лимфоцитов того же клона, который составляет субстрат ХЛЛ, обнаружена у больных, у которых *IgVH* гены не подверглись соматическим мутациям. В тех же случаях, когда развитие крупноклеточной лимфомы происходит у больных с мутировавшими *IgVH*

генами, как это имело место у нашего больного, лимфома развивается из другого клеточного клона, чем ХЛЛ. В этих случаях появление крупноклеточной лимфомы следует рассценивать как развитие второй опухоли у больного с дефектом иммунной системы. Несомненно, что интенсивное лечение, особенно содержащее пуриновые аналоги, вызывающие длительное угнетение Т-клеточного звена иммунитета, может способствовать развитию вторых опухолей, особенно у больных с наличием хромосомных aberrаций, отражающих нестабильность клеточного генома.

Если кожные поражения развиваются как первое проявление ХЛЛ, они, как правило, хорошо поддаются лечению препаратами, используемыми для терапии ХЛЛ и лимфом низкой степени злокачественности. E. Robak et al¹¹ описали больного, у которого поводом для обращения к врачу было появление на коже плотных инфильтратов. Обследование больного показало, что у него имеется ХЛЛ, а морфологическое и иммунологическое исследования установили специфический характер кожных инфильтратов и принадлежность лимфоцитов из инфильтратов и лимфоцитов костного мозга больного к одному клону. Лечение кладрибином привело к нормализации картины крови и исчезновению кожных инфильтратов. Описано успешное использование местного ультрафиолетового облучения для терапии специфического поражения кожи при ХЛЛ.³²

Изредка описываемые кожные Т-клеточные опухоли (грибовидный микоз, синдром Сезари), развившиеся у больных с ХЛЛ, как правило, протекают и поддаются лечению так же, как у больных без ХЛЛ.³³⁻³⁵

В то же время лечение синдрома Рихтера остается трудной проблемой независимо от места локализации развившейся крупноклеточной лимфомы. Как правило, ремиссии удается получить редко, и продолжительность жизни больных со времени развития синдрома Рихтера исчисляется пятью—восемью месяцами. L. Robertson et al,⁸ применяя интенсивные режимы терапии (CHOP-BLEO, MACOP-B, ANAP, PFA) для лечения 39 больных с синдромом Рихтера, получили эффект у 16 (42%) больных, причем у 10 больных были достигнуты полные ремиссии. Однако медиана продолжительности жизни со времени развития синдрома Рихтера составила всего 5 мес. Лишь трое больных прожили более 1 года, и у всех синдром Рихтера был диагностирован как первое проявление болезни, и ранее они никакого лечения не получали. В наблюдениях T. Nap et al³⁶ один из трех больных с синдромом Рихтера прожил более трех лет. У него синдром Рихтера также явился первым поводом для обращения к врачу и ранее по поводу ХЛЛ он никакого лечения не получал. В наблюдениях L. Robertson et al⁸ наибольшая продолжительность жизни при синдроме Рихтера достигнута у больных, для лечения которых был использован флударабин: 17 мес в среднем, в то время как у больных, получавших лечение без флударабина, — 5 мес. Учитывая это, в MD Anderson Cancer Center была разработана лечебная схема, содержащая флударабин, цитозин-арабинозид, циклофосфан, цисплатин и гранулоцитарно-макрофагальный колони-

естимулирующий фактор (ГМ-КСФ). Однако эта лечебная схема оказалась не только токсичной, но и малоэффективной: полная ремиссия достигнута лишь у одного из 16 больных.³⁷ Несколько лучшие результаты получены при применении разработанной в MD Anderson Cancer Center схемы, которую авторы назвали hyper-CVAD: высокие дозы циклофосфана, винкристин, липосомальная форма даунорубицина, дексаметазон, мабтера и ГМ-КСФ. Ремиссии достигнуты у 43% больных, в том числе у 27% (8 из 30) — полные. Средняя продолжительность ремиссий составила 8,5 мес, 9 больных прожили 12 мес, но 18% больных умерли от осложнений, связанных с лечением.^{38,39}

Опыт трансплантации стволовых кроветворных клеток (СКК) при синдроме Рихтера пока небольшой. J. Rodriguez et al⁴⁰ опубликовали данные о восьми больных с синдромом Рихтера, которым была произведена аллогенная трансплантация СКК, в том числе двум больным — от неродственного донора. Средняя продолжительность ХЛЛ до развития синдрома Рихтера составляла 48 мес. Все больные по поводу ХЛЛ, а затем в связи с развитием синдрома Рихтера получили по 2—5 различных, в том числе и содержащих флударабин, лечебных курсов. В течение первых 30 дней после трансплантации 5 из 8 больных умерли от инфекционных осложнений. Ко времени публикации 3 больных, в том числе 2 получивших трансплантацию от неродственного донора, находились в полной ремиссии в течение 14, 47 и 67 мес. В очень интересном наблюдении I. Espanol et al⁴¹ больному по поводу ХЛЛ была выполнена аллогенная трансплантация СКК. Через 4 мес у него развился рецидив ХЛЛ и одновременно была диагностирована диффузная крупноклеточная лимфома. После полного прекращения иммуносупрессивной терапии и проведения нескольких инфузий донорских лимфоцитов достигнута полная ремиссия и ХЛЛ, и лимфомы, которая ко времени публикации продолжалась 18 мес.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, синдром Рихтера остается заболеванием, патогенез которого выяснен не полностью, а терапия не разработана.

Несмотря на то что мы не получили положительного эффекта в попытках лечения нашего больного, мы сочли возможным поделиться редким наблюдением о развитии синдрома Рихтера с поражением кожи. Наличие большого числа клеток, экспрессирующих антиген CD38, неблагоприятные хромосомные aberrации — прогностические признаки, предвещающие плохой прогноз при ХЛЛ. Однако в данном наблюдении нельзя исключить и роли многочисленных курсов комбинированной терапии в развитии второй опухоли у больного с ХЛЛ — крупноклеточной лимфомы с метастазами в костный мозг. Это наблюдение показывает важность соблюдения трудного баланса между стремлением получить максимальный эффект от лечения, особенно у сравнительно молодого больного с плохим прогнозом, и неблагоприятным влиянием самой терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cerroni L, Zenahlik P, Hoffer G et al. Specific cutaneous infiltrates of B-cell chronic lymphocytic leukemia: a clinicopathologic and prognostic study of 42 patients. *Am J Surg Pathol.* 1996; 20:1000–10.
2. Agnew KL, Ruchlemer R, Catovsky D et al. Clinical and laboratory investigations cutaneous findings in chronic lymphocytic leukemia. *Br J Dermatol.* 2004; 150:1129–35.
3. Cerroni L, Hoffer G, Back B et al. Specific cutaneous infiltrates of B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) at sites typical for *Borrelia burgdorferi* infection. *J Clin Pathol.* 2002; 29:142–7.
4. Artz L, Tappeiner J Atlas der Haut und Geschlechtskrankheiten. Wien, Urban und Schwarzenberg; 1953.
5. Robak E, Robak T, Biernat W et al. Successful treatment of leukemia cutis with cladribine in a patient with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Br J Dermatol.* 2002; 147:775–80.
6. Richter MN. Generalized reticular-cell sarcoma of lymph nodes associated with lymphatic leukemia. *Am J Pathol.* 1928; 4:285–92.
7. Lohrhalary P, Boiron M, Ripault J et al. Chronic lymphoid leukemia secondarily associated with a malignant reticulopathy: Richter's syndrome. *Nouv Rev Fr Hematol.* 1964; 78:621–44.
8. Robertson LE, Pugh W, O'Brien S et al. Richter's syndrome: a report on 39 patients. *J Clin Oncol.* 1993; 11:1985–9.
9. Morrison VA, Rai KR, Peterson BL et al. Transformation to Richter's syndrome or prolymphocytic

leukemia (PLL): an Intergroup study (CALGB9011). *Blood* 1999; 94:539a.

10. Mauro FR, Foa R, Giannarelli D et al. Clinical characteristics and outcome of young chronic lymphocytic leukemia patients: a single institution study of 204 cases. *Blood* 1999; 94:448–54.
11. Robak E, Gora-Tybor J, Kordek R et al. Richter syndrome first manifesting as cutaneous B-cell lymphoma clonally distinct from primary B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Br J Dermatol*. 2005; 153:833–7.
12. Ratnavel R, Dunn-Walters DK, Boursier L et al. B-cell lymphoma associated with chronic lymphatic leukemia: two cases with contrasting aggressive and indolent behaviour. *Br J Dermatol*. 1999; 140:708–14.
13. Zarco C, Lahuerta-Palacios JJ, Borrego L et al. Centroblastic transformation of chronic lymphocytic leukemia with primary skin involvement — cutaneous presentation of Richter syndrome. *Clin Exp Dermatol*. 1993; 18:263–7.
14. Fraiata S, Bademer C, Rousselot P et al. Cutaneous transformation of chronic lymphoid leukemia into immunoblastic lymphoma. Cutaneous manifestation of Richter's syndrome. *Ann Dermatol Venerol*. 1995; 122:530–3.
15. Tsimberidou A-M, Keating MJ. Richter Syndrome. Biology, incidence, and therapeutic strategies. *Cancer* 2005; 103:216–28.
16. Ma Y, Mansour A, Bakele BN et al. The clinical significance of ladge cells in bone marrow in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2004; 100:2167–75.
17. Matutes E, Oscier D, Garcia-Marco J et al. Trisomy 12 defines a group of CLL with atypical morphology: correlation between cytogenetic, clinical and laboratory features in 544 patients. *Br J Haematol*. 1996; 92:382–8.
18. Zhu Y, Monni O, Franssila K et al. Deletions at 11q23 in different lymphoma subtypes. *Haematologica* 2000; 85:908–12.
19. Krober A, Seiler T, Benner A et al. VH mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002; 100:1410–6.
20. Tabuteau S, Fernandez J, Garidi R et al. Richter's syndrome in B-CLL: report of 37 cases. *Blood* 1999; 94:306b.
21. Thornton PD, Bellas C, Santon A et al. Richter's transformation of chronic lymphocytic leukemia. The possible role of fludarabine and the Epstein-Barr virus in its pathogenesis. *Leukemia Res*. 2005; 29:389–95.
22. Cohen Y, Da'as N, Libster D et al. Large-cell transformation of chronic lymphocytic leukemia and follicular lymphoma during or soon after treatment with fludarabine-rituximab-containing regimens: natural history or therapy-related complication. *Eur J Haematol*. 2002; 68:80–3.
23. Leparrier M, Chervet S, Cazin B et al. Randomized comparison of fludarabine, CAP, and CHOP in 938 previously untreated stage B and C chronic lymphocytic leukemia patients. *Blood* 2001; 98:2319–25.
24. Robak T, Blonski JZ, Gora-Tybor J et al. Second malignancies and Richter syndrome in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with cladribine. *Eur J Cancer* 2004; 40:383–9.
25. Cheson BD, Vena DA, Barrett J et al. Second malignancies as a consequence of nucleoside analog therapy for chronic lymphoid leukemia. *J Clin Oncol*. 1999; 17:2454–60.
26. Gratama JW, Ernberg Y. Molecular epidemiology of Epstein-Barr virus infection. *Adv Cancer Res*. 1995; 67:197–255.
27. Fagard R, Mouas H, Dusanter-Fourt Y et al. Resistance to fludarabine-induced apoptosis in Epstein-Barr virus infected B cells. *Oncogene* 2002; 21:4473–80.
28. Thompson MP, Kurzrock R. Epstein-Barr virus and cancer. *Clin Cancer Res*. 2004; 10:803–21.
29. Ansell SM, Li CY, Lloyd RV et al. Epstein-Barr virus infection in Richter transformation. *Am J Hematol*. 1999; 60:99–104.
30. Timar B, Fulop Z, Csermus B et al. Relationship between the mutational status of VH genes and pathogenesis of diffuse large B-cell lymphoma in Richter's syndrome. *Leukemia* 2004; 18:326–30.
31. Cherepakhin V, Bair SM, Meisenholder GW, Kipps TJ. Common clonal origin of chronic lymphocytic leukemia and high-grade lymphoma of Richter syndrome. *Blood* 1993; 82:3140–7.
32. Porter WM, Sidwell RU, Catovsky D et al. Cutaneous presentation of chronic lymphatic leukemia and response to ultraviolet B phototherapy. *Br J Dermatol*. 2001; 144:1086–99.
33. Hull PR, Saxena A. Mycosis fungoides and chronic lymphocytic leukemia — composite T-cell and B-cell lymphomas presenting in the skin. *Br J Dermatol*. 2000; 143:439–44.
34. Grange F, Avril M-F, Esteve E et al. Co-existent cutaneous T-cell lymphoma and B-cell malignancy. *J Am Acad Dermatol*. 1994; 31:724–31.
35. Daenen S, van Voorst Vader PC, Blomm N et al. Clonal chronic lymphocytic leukemia-like B-lymphocytes in the blood of patients with cutaneous T-cell disorders. *Br J Haematol*. 1993; 85:307–12.
36. Han T, Barcos M, Gomez GA et al. Clinical, immunological and cytogenetics studies in chronic lymphocytic leukemia with large cell lymphoma transformation (Richter's syndrome). *Proc Am Soc Clin Oncol*. 1988; 7:185.
37. Dabaja BS, O'Brien SM, Kantarjian HM et al. Fractionated cyclophosphamide, vincristine, liposomal daunorubicin, and dexametasone regimen in Richter's syndrome. *Leuk Lymphoma* 2001; 42:329–37.
38. Tsimberidou AM, O'Brien SM, Cortes JE et al. Phase II study of fludarabine, cutarabine, cyclophosphamide, cisplatin and GM-CSF in patients with Richter's syndrome or refractory lymphoproliferative disorders. *Leuk Lymphoma* 2002; 43:767–72.
39. Tsimberidou AM, Kantarjian HM, Cortes J et al. Fractionated cyclophosphamide, vincristine, liposomal daunorubicin, and dexametasone plus rituximab and granulocyte-macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) alternating with methotrexate and cytarabine plus rituximab and GM-CSF in patients with Richter syndrome or fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2003; 97:1711–20.
40. Radriguez J, Keating MJ, O'Brien S et al. Allogenic haematopoietic transplantation for Richter's syndrome. *Br J Haematol*. 2000; 110:897–9.
41. Espanol Y, Bichler T, Ferra C et al. Richter's syndrome after allogenic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia successfully treated by withdrawal of immunosuppression, and donor lymphocyte infusion. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31:215–8.



Свертывание крови: биохимические основы

М.А. Пантелеев, Ф.И. Атауллаханов

Blood coagulation: basical biochemistry

М.А. Panteleev, F.I. Ataullakhanov

Summary:

Blood coagulation is a composite net of biochemical reactions activated by blood vessels integrity abnormalities. The goal of blood coagulation is the controlled local liquid-jelly transition results in arrest of bleeding. Any abnormalities in this fragile balance lead to severe consequences connected with thrombosis or bleeding. The aim of the first part of our review is to introduce to current opinion about blood coagulation biochemistry. The mechanisms of its regulation will be considered in the next second part. We will discuss the attempts of applying into practice these fundamental conceptions in the third part of the review.

Keywords:

hemostasis, thrombosis, blood coagulation, thrombin, fibrinogen

Hematology Research Center, Moscow

Контакты: mpanteleev@yandex.ru

РЕФЕРАТ

Свертывание крови представляет собой сложную сеть биохимических реакций, активирующуюся при нарушении целостности сосудистой системы. Целью работы свертывания является управляемый локальный переход плазмы крови из жидкого состояния в желеобразное и, как результат, остановка кровотечения. Любые нарушения в тонком балансе этой системы ведут к тяжелым последствиям, связанным с тромбозами или с кровоточивостью. Задачей данной, первой части нашего обзора является познакомить читателя с современными представлениями о биохимии свертывания. Во второй части будут рассмотрены механизмы его регуляции, а в третьей будет рассказано о попытках применить эти фундаментальные концепции к решению практических проблем диагностики и терапии нарушений гемостаза.

Ключевые слова

гемостаз, тромбоз, свертывание крови, тромбин, фибриноген

ВВЕДЕНИЕ

Около полумиллиарда лет назад на нашей планете начали появляться многоклеточные животные, отдаленными потомками которых являются современные млекопитающие. Одним из последствий достижений многоклеточности было увеличение размеров организма. Новые организмы больших размеров нуждались в эффективных системах доставки питательных веществ и кислорода, а также удаления продуктов обмена веществ. Решением этой проблемы стало создание жидкой внутренней среды, которая была способна растворять необходимые вещества и быстро доносить их до каждой клетки организма.¹

К сожалению, у текучести жидкой среды есть и обратная сторона: то, что способно течь, способно также вытекать. Поэтому, как только жидкое содержимое «кровеносной» системы древнего организма стало заметно отличаться от «забортной» морской воды, у него возникла новая проблема — быстрой и надежной остановки кровотечения, проблема **гемостаза** (от греческого *haimatos* — кровь, *stasis* — остановка).

Судя по устройству современных беспозвоночных, ранние многоклеточные не имели специализированного гемостаза.² Состав их «крови» мало отличался от морской воды, скорости и давления в кровеносной системе были низкими, а сама система была очень просто устроена. Организмы с открытой системой кровообращения не боялись тромбозов (сосуды немногочисленны и широки, вместо создания многочисленных капилляров внутренние органы просто омываются снаружи протекающей гемолимфой) и потому не нуждались в сложной системе ингибирования гемостаза. Возникающие дырки затыкались агрегатами универсальных клеток гемоцитов, они же амебоциты. Такой агрегат имел скорее иммунный, нежели гемостатический характер. Кровь тогда была не слишком ценной с точки зрения восполнения ее потери, но второе опасное свойство текучей среды — способность моментально разносить по организму не только питательные вещества, но и проникающие в рану микробы — заставляло организмы в первую очередь озаботиться иммунной защитой. И именно с тех времен, с первого амебоцитарного агрегата, система иммунитета и систе-

ма гемостаза всегда работали рука об руку. Наблюдаемая в настоящее время в условиях реанимации тесная связь воспаления и свертывания — это того давнего сотрудничества.³

По мере усложнения организмов их кровеносная система также усложнялась, одновременно совершенствовалась и система гемостаза. У современных млекопитающих, включая человека, кровь течет с высокими скоростями и давлениями. Она также является очень сложно структурированной и сравнительно тяжело восполнимой средой. Необходимость ее защиты постепенно привела к развитию известного нам гемостаза, чрезвычайно сложной, многоуровневой системы, способной быстро и эффективно предотвращать кровотечения.⁴ Наличие многочисленных мелких сосудов превращает тромбоз в грозную проблему, и закупорка всего лишь нескольких может привести к смерти: это привело к возникновению сложной системы регуляции процессов гемостаза. Помимо клеточной системы защиты, трансформировавшейся в современный тромбоцитарный гемостаз, возникла плазменная система свертывания — разветвленный каскад биохимических реакций, результатом работы которого является полимеризация белка фибрина и появление идеальной затычки для раны вследствие желирования плазмы крови. Именно каскад свертывания будет находиться в фокусе внимания данного обзора.

В последние десятилетия усилия исследователей привели к значительному прогрессу в исследовании гемостаза человека и особенно — в исследовании системы свертывания. Последние новые белки и последние значимые реакции в этой системе были открыты в начале 90-х годов XX века. За последние пятнадцать лет, несмотря на активные усилия исследователей, новых компонентов открыто не было. С учетом того, насколько интенсивно развивается современная биология, пятнадцать лет — это колоссальный срок. И казалось бы, систему свертывания можно спокойно сдавать в архив как хорошо изученную.

Но есть одна проблема: знание устройства системы совершенно не означает понимания ее функционирования. Когда мы имеем дело с многими десятками белков, сложным образом в сотнях реакций взаимодействующих друг с другом, со стенками сосуда и с клетками крови, и все это происходит в реальном сосуде в присутствии быстрого потока крови, то наши способности проанализировать такую систему оказываются совершенно недостаточными. И лучше всего это иллюстрируется тем фактом, что наши современные методы диагностики нарушений свертывания и их лечения весьма несовершенны. Именно по этой причине в последние годы наблюдается интенсивный всплеск числа работ, посвященных именно проблеме понимания принципов функционирования системы свертывания, а не только ее устройства.^{5,6} Целью нашего обзора является освещение текущего состояния дел в данной области. В настоящей, первой части обзора, будет рассмотрено устройство системы свертывания. Вторая часть сосредоточится на современном прогрессе в понимании его регуляции. Третья часть будет посвящена попыткам использовать это понимание для успешной диагностики и терапии нарушений свертывания.

СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА

Устройство системы гемостаза удобнее всего объяснить с помощью наглядной аналогии. Представьте себе древний акведук, снабжающий водой целый город, и представьте себя на месте начальника бригады рабочих, ответственных за поддержание этого акведука в рабочем состоянии. Не бригады ремонта (полноценный ремонт есть вещь сложная и небывшая), а скорее аварийной бригады, задачей которой является быстрое залатывание повреждений. В распоряжении

рабочих есть простейшие строительные инструменты и материалы. Как действовать в случае аварии?

Если задать этот вопрос в аудитории студентов, то слушатели обычно предлагают три варианта.

Самый простой способ — перекрыть поток воды и спокойно заниматься ремонтом. Такой механизм выглядит самым разумным и простым, и он действительно используется в организме. Это так называемый **сосудистый гемостаз**, обусловленный вазоконстрикцией, сужением сосуда, которое ведет к остановке кровотока. Механизм сосудистого гемостаза заключается в сокращении мышц оболочки сосуда под действием активаторов — серотонина и тромбоксана A₂, секретируемых активированными тромбоцитами. Но такой способ имеет серьезные ограничения. Он применим лишь тогда, когда «акведук» не слишком важный или когда есть дублирующий. Ведь поток крови в сосудах часто нельзя прерывать ни на минуту, не говоря уже о днях, требуемых для восстановления тканей. Впрочем, даже в том случае, когда этот механизм нельзя использовать на все 100%, его можно применять для частичного перекрытия сосуда, что уменьшит потерю крови и облегчит работу по заделке дыры.

Можно было бы попытаться залепить отверстие, не выключая потока, но давление будет все время вымывать любую замазку, которую рабочие будут пытаться приложить. Поэтому второй подход заключается в том, чтобы завалить поврежденное дно акведука грудой камней (или чего-то еще, в зависимости от воображения слушателей), которые создадут пробку. Такая пробка будет в принципе проницаема для воды, но поток и напор заметно снизятся, так что щели между камнями можно будет спокойно замазать цементом. Аналогом этого подхода в организме можно назвать **тромбоцитарный гемостаз**. В крови присутствуют специализированные клетки крови, тромбоциты, способные к активации. Будучи активированы, они приклеиваются к поврежденным тканям и друг к другу, формируя агрегаты, перекрывающие путь потере крови. Плазма крови может просачиваться через этот тромб, но клетки крови пройти уже не могут. К тому же, щели между тромбоцитами быстро заполняются фибриновым гелем. Биохимия тромбоцитарного гемостаза очень сложна и ее изучение далеко от завершения. Тромбоциты несут на поверхности сотни рецепторов, регулирующих их активацию, и секретируют при активации десятки веществ, влияющих на остальные системы гемостаза. Например, как указано выше, именно секретируемые тромбоцитами вещества вызывают сужение сосудов.

Наконец, в некоторых случаях можно все-таки просто закрыть отверстие в акведке цементной замазкой. Это допустимо, если отверстие небольшое или если поток воды не слишком силен и позволит заплате затвердеть раньше, чем она будет размыта. В организме данный подход реализован в **плазменной системе свертывания**. Эта система использует для остановки кровотечения тот же принцип, который домохозяйки используют при приготвлении холодца; такой же подход используется в современных одноразовых детских подгузниках. Физическая основа идеи заключается в превращении жидкости в гель — особую форму коллоидной системы, в которой пористая сеть пронизывает жидкость на микроскопическом уровне. Трехмерная сеть, создаваемая полимеризующимися молекулами белка фибрина, способна удерживать в своих ячейках жидкость, многократно превосходящую ее по массе.

Итак, мы придумали три основных подхода к заделке повреждения — перекрытие (или ослабление) потока, грубое затыкание дырки достаточно крупными объектами, нечувствительными к размывающей силе потока, или замазывание ее неким клеем, который во время своего форми-

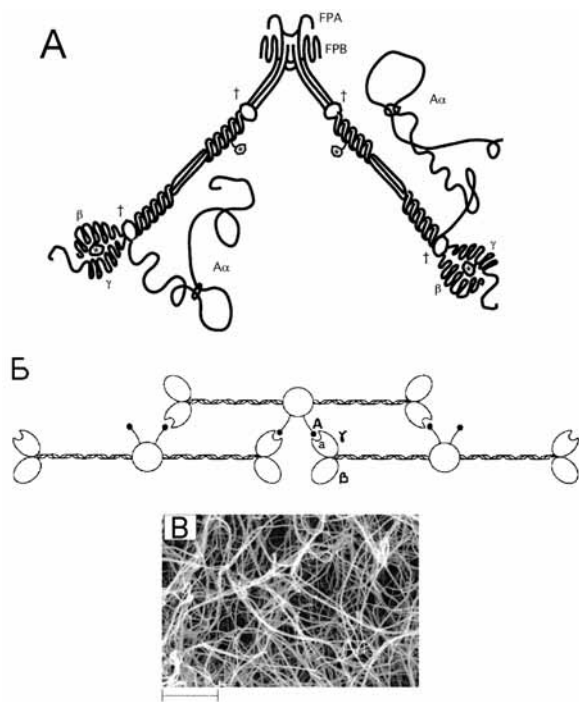


Рис. 2. Фибриноген и фибриновый сгусток. А — Схематическое устройство молекулы сфибриногена. Основа молекулы составлена из трех пар полипептидных цепей, α , β и γ , расположенных зеркально. FPA и FPB — фибринопептиды А и В. * — Карбогидратные кластеры. † — дисульфидные кольца. Воспроизведено из.⁷⁰ Б — механизм сборки фибринового волокна: мономеры связываются «внахлест», по механизму «конец-к-середине». Воспроизведено из.⁷¹ В — электронная микрофотография фибринового сгустка. Отрезок в левом нижнем углу показывает масштаб — 5 мкм. Воспроизведено из.⁷²

кулу. Две молекулы могут формировать A:a связи и строить фибриновую нить (рис. 2Б). Когда на этих нитях обрезаны фибринопептиды В, две нити могут латерально агрегировать, склеиваясь по B:b связям, и формировать фибриновое волокно. Это волокно дополнительно укрепляется поперечным сшивками, производимыми фактором XIIIa (белки свертывания называются *факторами* и нумеруются римскими цифрами в порядке официального открытия; однако, для важнейших и старейших белков, таких, как тромбин и фибриноген, в литературе используются собственные имена, а не номера; индекс «а» означает активную форму, а его отсутствие — неактивный предшественник), который также активируется тромбином. Волокна могут разветвляться, образуя трехмерную сеть фибринового сгустка, изображенную на рис. 2, В.

Реакция полимеризации фибрина достаточно сложна, и до сих пор многие ее детали непонятны. В первую очередь, это связано с тем, что, как и большинство реакций полимеризации, это не одна, а бесконечное множество реакций: каждый олигомер фибрина может прореагировать с любым другим олигомером. Однако, для наших целей дальнейшее погружение в этот вопрос излишне. Достаточно знать, что эта реакция происходит быстро, полностью и необратимо, когда концентрация фибрина превышает некоторый уровень.¹³ А это значит, что вопрос об управлении свертыванием сводится к вопросу об управлении тромбином.

Тромбин — сериновая протеиназа

Поднимемся по схеме свертывания на шаг выше и перейдем к тромбину, ферменту, который производит разрезы на молекуле фибриногена и превращает его в фибрин. **Тромбин** принадлежит к семейству сериновых **протеиназ**, ферментов, способных осуществлять протеолиз — расщепление

пептидных связей в белках. Их отличают от других протеиназ по наличию функционально необходимой аминокислоты серина в активном сайте. Таким образом, тромбин является близким родственником пищеварительных ферментов трипсина и химотрипсина (а также эластазы и ферментов комплемента и фибринолиза).^{2,4}

Все сериновые протеиназы, включая пищеварительные, синтезируются в неактивном виде: это необходимая мера предосторожности, так как тот же химотрипсин или трипсин может запросто разрушить клетку, в которой он синтезировался. В этой форме, называемой **зимогеном** (предшественником фермента), белок свернут так, что активный сайт его закрыт и недоступен для других белков. Зимоген не обладает никакой активностью и может спокойно находиться в клетке или в крови. Чтобы его активировать, необходимо расщепить пептидную связь, удерживающую ту часть белка, которая закрывает активный сайт. После этого разрезания белок может начинать свою работу. Собственно, активация сериновой протеиназы очень напоминает превращение фибриногена в фибрин.

Весь каскад свертывания крови построен на этом принципе, и появление тромбина — классический пример. Он синтезируется в виде **протромбина**, неактивного зимогена, который может быть превращен в тромбин посредством разрезания двух пептидных связей в молекуле. Как видно из рис. 1 (на котором протромбин обозначен своим номенклатурным названием — **фактор II**), эта реакция катализируется другой сериновой протеиназой, фактором Ха. После разрезания «лишняя» часть протромбина отваливается, а оставшийся активный фермент тромбин начинает расщеплять фибриноген.

Активация каскада свертывания

Фибрин получается из фибриногена в результате частичного протеолиза фибриногена тромбином. Тромбин получается из протромбина в результате похожего процесса с участием **фактора Ха**. Как видно из схемы, эта цепочка продолжается выше: фактор X активируется фактором IXa, фактор IX — фактором XIa. Эта система активирующих друг друга ферментов, собственно, и называется каскадом. Но где-то необходимо поставить точку и разобраться, как же активируется самая первая сериновая протеиназа?

Главный «вход» в каскаде свертывания находится в середине, как раз на уровне фактора X. Эта система реакций, отвечающих за срабатывание системы свертывания называется **внешним путем свертывания**, или **путем тканевого фактора**.¹⁴ Основными компонентами этого пути являются два белка — **фактор VIIa** и **тканевый фактор**.

Фактор VIIa — сериновая протеиназа, близкая по своему строению к фактору Ха. Ее основная функция заключается в активации фактора X. Однако, фактор VIIa сам по себе практически не обладает ферментативной активностью, даже в «активированном» виде. Его активный сайт несовершенен, и благодаря этому фактор VIIa может присутствовать в крови в активированной форме: в отличие от других протеиназ свертывания, он не может причинить никакого вреда. Следует отметить, что не весь фактор VIIa присутствует в крови в активной форме; активировано лишь около 1—2% от общего количества.

Чтобы обрести полную ферментативную активность, фактору VIIa необходим кофактор, и в данной роли выступает белок тканевый фактор. Этот трансмембранный белок присутствует в мембранах почти всех клеток организма, за исключением эндотелия сосудов и клеток крови. Так он надежно изолирован от крови, но малейшее повреждение при-

водит к его обнажению и контакту с кровью. Связывание фактора VIIa с тканевым фактором приводит к изменению конформации фактора VIIa, и фактор VIIa приобретает способность расщеплять и активировать фактор X. Комплекс фактора VIIa и тканевого фактора называется комплексом «внешней теназы».

Таким образом, система свертывания решает проблему распознавания повреждения благодаря тканевому фактору. Его присутствие делает любые ткани организма мощными активаторами свертывания, и кровь остается жидкой только благодаря тому, что в норме она всегда защищена тончайшей защитной оболочкой эндотелия. Любое нарушение целостности сосуда означает нарушение этой оболочки и контакт крови с субэндотелием, ведущий к связыванию фактора VIIa и тканевого фактора.

Кроме тканевого фактора, кофактором фактора VIIa может быть отрицательно заряженная фосфолипидная поверхность. В ее присутствии фактор VIIa может активировать фактор X, хотя и очень медленно. В организме такой поверхностью могут быть мембраны активированных тромбоцитов.¹⁵ Скорее всего, физиологическая роль этой реакции совершенно ничтожна. Однако, десять лет назад было высказано предположение, что она может играть ключевую роль в терапевтическом эффекте рекомбинантного активированного фактора VIIa (препарат НовоСэвен).¹⁵

Ингибиторы свертывания

Рассмотренные части системы свертывания, включающие в себя фибриноген, протромбин, факторы VIIa, X и тканевый фактор, уже вполне составляют систему, способную решить задачу свертывания. В отсутствие повреждения свертывания в такой системе не будет (тканевый фактор недоступен), но любое соскабливание эндотелия обнажает тканевый фактор и вызывает цепочку, ведущую к свертыванию.

Достаточно ли этих реакций? Какие еще реакции нам нужны? Простейшие оценки показывают, что каскад реакций сам по себе будет неустойчивым.¹⁶ Да, без тканевого фактора реакции не запустятся, но ведь в реальности не бывает абсолютов. Одна молекула тканевого фактора в такой системе сможет со временем активировать неограниченное количество молекул фактора X, в конечном итоге приведя к свертыванию всей плазмы. Каскад реакций без **ингибиторов** можно уподобить камню на вершине горы: он находится в равновесии, но оно неустойчиво. Малейший сдвиг вызовет лавину.

Для предотвращения неконтролируемой активации в крови присутствуют ингибиторы сериновых протеиназ свертывания. Этих ингибиторов много, некоторые из них специализированы, в то время как другие (α_2 -макрोगлобулин) работают как универсальные «ингибиторы-мусорщики», подавляющие активность любой сериновой протеиназы. Основными ингибиторами свертывания являются **антитромбин III** и **ингибитор пути тканевого фактора (tissue factor pathway inhibitor** или **TFPI**).

Антитромбин III, ингибитор из семейства серпинов, ингибирует тромбин и факторы Ха, IXa, XIa посредством прямого связывания и блокирования их активных сайтов.^{17,18} Единственный фермент, на который он не оказывает почти никакого действия — это фактор VIIa. Для этого фермента существует специализированный ингибитор, TFPI.¹⁹ Он, в отличие от антитромбина, имеет несколько доменов для связывания. Он способен связать фактор VIIa одним из доменов только тогда, когда другой домен связывает фактор Ха. То., этот необычный ингибитор работает только тогда, когда фактор X уже хотя бы частично, но активирован. Важное замечание — TFPI действует только на фак-

тор VIIa, связанный с тканевым фактором (так что в итоге получается четверичный комплекс белков). Свободный VIIa может циркулировать в кровотоке часами практически беспрепятственно.

Кроме описанных ингибиторов с прямым «связывающим» механизмом действия, предназначенных для инактивации сериновых протеиназ, в системе свертывания существует система реакций пути протеина C, занимающихся деградацией кофакторов свертывания. Она будет рассмотрена отдельно.

Кофакторы и мембранно-зависимые реакции

Фактор Ха сам по себе очень плохо активирует протромбин. Для того, чтобы эта реакция шла с высокой скоростью, ему необходимы **кофакторы** — фактор Va и отрицательно заряженная фосфолипидная поверхность.²⁰ По-видимому, эта поверхность в организме предоставляется активированными тромбоцитами, микрочастицами и липопротеинами плазмы.²¹⁻²⁴ При активации системы свертывания происходит активация тромбоцитов (об этом феномене мы еще поговорим подробнее), и в результате тромбоциты экспрессируют на внешнем слое своей мембраны отрицательно заряженный фосфолипид фосфатидилсерин и специальные белки, улучшающие связывание кофакторов свертывания.²¹ Факторы Ха и Va связываются с мембранами тромбоцитов через мостики, образованные ионами кальция, и формируют ферментативный комплекс, протромбиназу, способный активировать протромбин на пять порядков быстрее, чем одиночный фактор Ха.^{20,21}

Фактор Va представляет собой белок-кофактор, получающийся из фактора V путем частичного расщепления под действием тромбина.²⁵ Как видим, круг замыкается. Фактор Ха изначально активирует небольшое количество протромбина в тромбин, который активирует фактор V. Затем фактор Va увеличивает скорость активации протромбина фактором Ха, а продукт этой реакции, тромбин, опять активирует фактор V. Это называется петлей положительной обратной связи: продукт реакции стимулирует свое собственное производство.

Вторая важная петля положительной обратной связи в свертывании крови связана с активацией фактора X. Помимо того, что этот фактор активируется комплексом внешней теназы, он активируется фактором IXa, который, в свою очередь, может активироваться внешней теназой. Однако, эта реакция сама по себе тоже протекает крайне медленно. Она ускоряется благодаря формированию комплекса факторами IXa и VIIa на поверхности активированных тромбоцитов, который во многом аналогичен комплексу протромбиназы.²⁶ Этот комплекс, который, как и внешняя теназа, активирует фактор X, называют «внутренней теназой». Факторы V и VIII являются гомологичными и оба активируются тромбином.

Отступление: доменная структура фактора VIII

Детальное рассмотрение внутримолекулярного устройства факторов свертывания лежит за пределами целей данного обзора. Тем не менее два исключения из этого правила (помимо уже сделанного выше исключения для фибриногена) будут здесь сделаны, так как знакомство с этим устройством весьма полезно для понимания обсуждаемых нами реакций. Нельзя, чтобы по прочтении текста образ белка в сознании читателя представлял собой лишь квадратик или кружок на реакционной схеме (рис. 1) с подходящими к нему и выходящими из него стрелочками. Кроме того, в некоторых случаях аспекты устройства белка имеют большое практическое значение.



Рис. 3. Доменная структура фактора VIII. Номера под схемой указывают аминокислотные остатки, являющиеся границами доменов. Домен В изображен не в масштабе. Указаны приблизительные положения свободных остатков цистеина (SH), сульфатированных остатков тирозина (SO₂) и предположительного сайт связывания кальция (Ca²⁺). Воспроизведено из [27]

К этим случаям относится **фактор VIII**. Этот белок-прокофактор синтезируется в виде одной полипептидной цепи, изображенной на рис. 3. В этой цепи выделяют три домена «А», один домен «В» и два домена «С», а также менее крупные «вставочные» домены. В кровотоке фактор VIII присутствует в виде димера: изображенная цепочка разрезается на границе между доменами В и А3, но молекула не разваливается, так как получившиеся цепи остаются связаны нековалентными связями. Внутри фрагмента В могут быть дополнительные разрезы, не влияющие на активность белка. При активации в молекуле делается еще несколько разрезов. Тромбин расщепляет фактор VIII около аргининового остатка под номером 372 (Arg372, между А1 и А2), в Arg740 (А2–В) и в Arg1689 на конце белка. При этом домен В уходит, а оставшийся гетеротример из А1, А2 и А3–С1–С2 может выполнять свою кофакторную функцию.²⁷

В настоящий момент структура фактора VIII/VIIIa активно изучается и многие из описанных выше деталей обрели некоторый смысл. Например, выяснено, что разрез в Arg1689 жизненно важен для отсоединения активированного фактора VIII от фактора фон Виллебранда, в комплексе с которым он циркулирует в кровотоке. Если сделать точечную мутацию в этом месте, то разрезание не происходит, и фактор VIIIa не может отсоединиться от переносчика и выполнить свои функции. Это ведет к фенотипу типа гемофилии. Среди доменов выявлены те, которые отвечают за связывание с факторами IXa, X, Ха, тромбоцитами.

Самую большую загадку представляет собой огромный домен В, который отрезается и теряется в процессе активации (а иногда и до нее) и из-за этого не играет роли в активности фактора VIIIa. Тем не менее, именно этот домен в начале 2000-х годов послужил причиной довольно большого шума в фармацевтической промышленности. Когда рекомбинантный фактор VIII без фрагмента В начал использоваться в качестве лекарства при гемофилии, выяснилось, что два основных метода определения активности этого фактора (хромогенный тест и тест, основанный на времени свертывания) дают результаты, различающиеся на 30–50%. Это привело к большим проблемам по причине неясности того, какому методу верить при оценке физиологичности и как стандартизовать второй метод. Причины расхождения выясняются и обсуждаются до сих пор, равно как и роль домена В. А на практике решением проблемы с калибровкой стало использование специального отдельного стандарта для рекомбинантного фактора.²⁸

Прочие петли положительной обратной связи

Несмотря на то, что фактор IX активируется внешней теназой, он активируется еще одним ферментом свертывания, **фактором XIa**.²⁹ Этот фактор, в свою очередь, активируется тромбином.³⁰ [30]. Это — самая длинная из петель положительной обратной связи в свертывании крови, она ведет с самого низа каскада на самый его верх. Судя по относительно мягкому фенотипу гемофилии С, дефицита фактора XI, по сравнению с тяжелыми гемофилиями А и В, роль этой положительной связи не так существенна, как роль активации фактора VIII. Тем не менее она достаточно важна, чтобы ее нарушение вело к клинически значимым проявлениям.

Наконец, надо упомянуть еще об одной петле положительной обратной связи, связанной с активацией фактора VII. Фактор VIIa, способный активировать факторы IX и X, составляет всего лишь 1% от неактивного фактора VII. Этот зимоген может активироваться многими ферментами, но основными считаются фактор Ха и тромбин.³¹

Путь протенина С

В свертывании крови есть не только положительные, но и отрицательные обратные связи. С одной из них мы уже столкнулись выше: TFPI не может ингибировать внешнюю теназу сам по себе, необходимо присутствие фактора Ха. Так фактор Ха, продукт работы внешней теназы, способствует ее ингибированию. Другой важнейшей отрицательной обратной связью в свертывании является **путь протенина С**.³²

Протенин С — предшественник сериновой протеиназы, очень похожей на факторы IX, X, VII и протромбин. Он активируется тромбином, как и фактор XI. Однако при активации получившаяся сериновая протеиназа использует свою ферментативную активность не для того, чтобы активировать другие белки, а для того, чтобы их инактивировать. Активированный протенин С производит несколько протеолитических расщеплений в факторах свертывания Va и VIIIa, заставляя их полностью терять свою кофакторную активность. Таким образом, тромбин, продукт каскада свертывания ингибирует свое собственное производство.

Путь протенина С регулируется несколькими важными кофакторами, в их числе **протенин S**, **эндотелиальный рецептор протенина С** и **тромбомодулин**. Протенин S является кофактором активированного протенина С в инактивации факторов Va и VIIIa. Два других белка являются важными мембранными белками, в большом количестве экспрессируемыми в эндотелии. Они связывают протенин С и тромбин, соответственно, увеличивая протекание активации протенина С тромбином на поверхности эндотелия с большой скоростью.

Контактная активация свертывания

До сих пор мы говорили только об одном способе активации свертывания — пути тканевого фактора. Однако, исторически первым был обнаружен другой, так называемый **контактный путь свертывания**.³³ Благодаря ему, свертывание может активироваться при контакте с любой чужеродной поверхностью. Этот путь не показан на рис. 1. Основные белки этого пути — фактор XII, калликреин и высокомолекулярный кининоген. Фактор XII является очень необычной сериновой протеиназой: он способен активировать сам себя при контакте с отрицательно заряженными поверхностями. Затем, его производство усиливается благодаря сложным петлям положительной обратной связи с участием двух других белков контактной системы.³⁴ Нарботанный фактор XIIa активирует фактор XI, тем самым подсаждаясь к самой верхушке каскада свертывания.

Интересно то, что вся контактная система не имеет выраженного физиологического значения. Люди с дефицитами факторов контактной активации не имеют ни малейшей тенденции к кровоточивости; фактически, тот человек, в крови которого был впервые найден дефицит фактора XII и в честь которого он был назван фактором Хагемана, умер от тромбозов. Факторы контактного пути участвуют во множестве процессов, включая воспалительные, фибринолиз и другие, но их физиологическое значение не очень ясно.³³ В последнее время есть тенденция вообще не упоминать об этой системе в обзорах по свертыванию, как о не имеющей к нему отношения. Однако, это не совсем справедливо, так как этот путь может иметь большое значение в патологических

ситуациях, а также активировать свертывание при использовании различных имплантируемых приборов или приборов экстракорпорального кровообращения (аппарат искусственной почки).

Тромбоциты и их роль в свертывании

Как было упомянуто выше, ключевые реакции свертывания протекают на поверхности мембран активированных тромбоцитов. Эта не единственная форма участия тромбоцитов в плазменном свертывании, и потому на этих клетках стоит остановиться подробнее.

Тромбоциты представляют собой маленькие безъядерные клеточные фрагменты, циркулирующие в кровотоке и чутко реагирующие на повреждения сосуда. Иногда, особенно в старой литературе, их называют клетками, но в последнее время выяснение деталей их формирования привело к отходу от этой тенденции. Это именно фрагменты, большие и сложно структурированные везикулы, генерируемые мегакариоцитами в костном мозге. У них есть две известных функции: формирование тромбоцитарного агрегата и участие в формировании фибринового сгустка. На второй мы и сосредоточимся.

Особенностью тромбоцита является его способность к активации — быстро и (как правило) необратимо переходу в новое состояние. Стимулом активации может служить практически любое возмущение окружающей среды, вплоть до простого механического напряжения. Однако, основными физиологическими активаторами считаются коллаген (главный белок внеклеточного матрикса, он выполняет в плазменной системе задачу, очень похожую на задачу тканевого фактора), тромбин (уже знакомый нам белок плазменной системы свертывания), АДФ (аденозиндифосфат появляющийся из разрушенных клеток сосуда или секретируемый самими тромбоцитами) и тромбоксан А₂ (вторичный активатор, секретируемый тромбоцитами; его дополнительная функция заключается в стимуляции вазоконстрикции).²¹

Будучи активированы, тромбоциты становятся способными прикрепляться к поврежденной сосудистой стенке (т. н. процесс адгезии) и друг к другу (т. н. процесс агрегации), формируя пробку, перекрывающую повреждение. Кроме того, они участвуют в плазменном свертывании двумя основными способами — экспонирование прокоагулянтной мембраны и секреция α -гранул.

Экспонирование прокоагулянтной мембраны. В нормальном состоянии мембрана тромбоцитов не поддерживает реакций свертывания. Отрицательно заряженные фосфолипиды, в первую очередь фосфатидилсерин, сосредоточены на внутреннем слое мембраны, а фосфатидилхолин внешнего слоя связывает факторы свертывания гораздо хуже. Несмотря на то что некоторые факторы свертывания могут связываться хорошо и с неактивированными тромбоцитами, это все равно не приводит к формированию активных ферментативных комплексов.³⁵

Активация тромбоцита приводит к активации фермента скрамблазы, который начинает быстро, специфично, двусторонне и АДФ-независимо перебрасывать отрицательно заряженные фосфолипиды из одного слоя в другой.³⁶ В результате происходит установление термодинамического равновесия, где концентрация фосфатидилсерина в обоих слоях выравнивается. Кроме того, при активации имеет место экспрессия и/или стимуляция многих трансмембранных белков внешнего слоя, и они приобретают способность специфически связывать факторы свертывания, ускоряя реакции с их участием.

Точная природа мест связывания для факторов свертывания пока не установлена, но можно предположить, что они представляют собой сложные комплексы фосфолипидов

и белков.³⁷ Для некоторых белков свертывания, в т. ч. протромбина, эти белки обнаружены и охарактеризованы, но таких белков немного.³⁸

Активация тромбоцитов имеет несколько градаций, и экспрессия прокоагулянтной поверхности является одной из высших.^{21,23} Только тромбин или коллаген могут вызывать такой сильный ответ. Более слабые активаторы, особенно АДФ, могут участвовать в работе сильных активаторов, но самостоятельно не способны вызвать появление фосфатидилсерина. Эти сведения пока остаются феноменологическими — конкретные пути реакций, ведущих к ответу тромбоцитов, пока неясны.

В последние годы в прокоагулянтном ответе тромбоцитов была обнаружена необычная неоднородность.³⁹ С точки зрения адгезии и агрегации, все активированные тромбоциты, по-видимому, равноправны. Однако по экспрессии фосфатидилсерина тромбоциты делятся на две субпопуляции, различающиеся по этому показателю на несколько порядков. Таким образом, реально в свертывании участвует лишь несколько процентов активированных тромбоцитов, остальные же по своим прокоагулянтным качествам не отличаются от неактивированных.⁴⁰ Механизмы формирования такой гетерогенности и ее физиологическое значение пока неясны. Предположительно, именно с тромбоцитами этой субпопуляции может связываться фактор VIIa, чтобы активировать фактор X, и поэтому именно она может быть ответственна за фармацевтическую эффективность рекомбинантного фактора VIIa.⁴¹

Секреция α -гранул. Тромбоциты содержат несколько типов гранул, содержимое которых секретируется в процессе активации. Главными для свертывания являются α -гранулы, содержащие высокомолекулярные белки, такие как фактор V, фибриноген и другие. Значимость этой секреции для большинства белков до сих пор не вполне понятна, за исключением фактора V. Он содержится в α -гранулах в относительно большом количестве (около 20% от плазменного пула), и при агрегации тромбоцитов его концентрация может очень сильно возрастать.⁴² Что еще более существенно, этот кофактор в тромбоцитах уже находится в частично активированной форме, которая может сразу ускорить скорость работы фактора Xa, без дополнительной активации тромбином.⁴³ Есть клинические данные, что люди с дефицитом плазменного фактора V, но с нормальным тромбоцитарным фактором V не имеют склонности к кровоточивости. Напротив, люди могут проявлять тенденцию к геморрагии, имея нормальный плазменный уровень фактора V, если их тромбоцитарный фактор V дефектен.⁴⁴

Недавно было показано, что по концентрации α -гранулярных белков после активации тромбоциты также неодинаковы. Можно выделить субпопуляцию (ту же самую, с повышенным фосфатидилсерином), на поверхности мембран тромбоцитов которой появляется плотный слой α -гранулярных белков. Эти тромбоциты получили название «укутанных».³⁹

Тромбоциты также секретируют или экспрессируют другие белки, например, фактор XI. Однако, их содержание там невелико и локализация неясна.⁴⁴

Отступление: тромбин — переключаемый фермент

Настало время для второго обещанного отступления — знакомства со структурой тромбина. Несмотря на то, что тромбин был самым первым ферментом свертывания, который мы рассмотрели, говорить сразу же о его структуре было неуместно без предварительного изучения многочисленных и разнообразных реакций, где он участвует. Теперь же, полностью погрузившись в устройство свертывания, мы можем поближе взглянуть на этот удивительный фермент.

Как мы видели, на него замкнуты практически все петли обратной связи в системе, как положительные, так и отрицательные. При этом интересно отметить, что активность тромбина по отношению к своим субстратам непостоянна. Она может переключаться с помощью кофакторов, таких, как тромбомодулин. В отсутствие кофакторов тромбин прокоагулянтен: он расщепляет фибриноген, факторы XI, V, VIII, активирует тромбоциты. Активация протеина С идет очень медленно. Однако, при связывании тромбомодулина кинетика реакций драматически изменяется — расщепление фибриногена и других факторов во много раз замедляется, а протеина С — ускоряется на несколько порядков. Можно сказать, что тромбин существует в двух формах — про- и антикоагулянтной.

Подобное «переключение» достаточно распространено в системе свертывания. Правда, для большинства факторов оно имеет характер скорее «включения-выключения». Именно оно лежит в основе механизма запуска свертывания: фактор VIIa, «испорченный» фермент, включается при связывании тканевого фактора. Точно так же, факторы IXa и Xa, хоть и не полностью «испорченные», все же способны на много порядков увеличивать свою эффективность при связывании кофакторов факторов VIIIa и Va. Поскольку тромбин является самым важным и хорошо изученным ферментом свертывания, попробуем немного поближе взглянуть на него и на устройство таких переключений.

На рис. 4 показана трехмерная структура тромбина. Характерной чертой всех сериновых протеиназ является присутствие остатка аминокислоты серина в активном центре, играющей принципиальную роль в атаке расщепляемой пептидной связи. Кроме того, в структуре тромбина есть дополнительные детали, обеспечивающие его специфичность и позволяющие ему, в отличие от его родственника химотрипсина, резать не все подряд, а только нужные белки в нужном месте. Вокруг активного сайта над поверхностью глобулы выдаются **экзосайты** — петли и участки аминокислотной цепочки. Гидрофобные петля-60 и γ -петля способны взаимодействовать с гидрофобными остатками молекулы субстрата. Тромбин также имеет два анионсвязывающих экзосайта, называемых экзосайтами I и II. Эти заряженные участки мо-

гут связываться с отрицательно заряженными участками на молекулах субстратов и кофакторов тромбина.

Основные прокоагулянтные реакции с участием тромбина (расщепление фибриногена, факторов V и VIII) протекают без кофакторов. Любопытно, что во всех этих реакциях активно задействованы экзосайты I и II. Тромбомодулин связывает тромбин через экзосайт I, а некоторые его формы могут также взаимодействовать с экзосайтом II. В результате прокоагулянтные реакции оказываются просто-напросто невозможными по причине блокирования сайта. Фибриноген и факторы свертывания не могут протиснуться к активному сайту, вход в который перегорожен тромбомодулином.

Итак, прокоагулянтные функции тромбина заблокированы. Как теперь усилить антикоагулянтные?

Первый из механизмов заключается в простом физическом приближении. Тромбин связывается с тромбомодулином, а протеин С — с эндотелиальным рецептором протеина С. В результате, два белка, ранее вынужденные искать друг друга в трехмерном пространстве, оказываются рядом и с большой вероятностью могут прореагировать. Второй механизм заключается в том, что связанные белки располагаются относительно друг друга правильным образом, способствующим увеличению скорости реакции. Наконец, третьим и самым важным механизмом является так называемая аллостерическая регуляция — так называется механизм регуляции активности фермента через изменение конформации его молекулы, которое индуцируется связыванием молекулы вещества-регулятора в т. н. аллостерическом центре, пространственно удаленном от активного центра. Так связывание тромбомодулина приводит к конформационным изменениям в молекуле тромбина, которые увеличивают эффективность расщепления протеина С. Взяте вместе, эти механизмы и дают наблюдаемое увеличение скорости реакции в 10 000 раз.

Существование тромбина в двух формах, про- и антикоагулянтной, есть лишь самый знаменитый пример его переключения. Подход, разобранный на примере тромбомодулина, активно используется для переключения тромбина на разные задачи. Используемый в антикоагулянтной терапии гепарин и его физиологический аналог гепаран сульфат работают точно так же, связывая экзосайт II (блокада прокоагулянтных реакций) и аллостерически меняя структуру тромбина (повышение эффективности связывания антитромбина III). Фибрин связывает тромбин через экзосайт I (блокада прокоагулянтных реакций, в свое время именно этот эффект привел к тому, что фибрин назвали антитромбином I) и стимулирует активацию фактора XIII. Тромбоцитарный гликопротеин Ib α связывает тромбин через экзосайт I и располагает оптимальным образом для расщепления рецептора PAR-1 (и активации тромбоцита), а также для активации фактора XI.

Таким образом, тромбин выглядит не просто переключаемым белком, а белком, переключаемым во множество режимов. В зависимости от концентраций разных кофакторов и от эффективности связывания он будет преимущественно находиться в одном из режимов. В настоящий момент, теория конкуренции кофакторов как одного из ключевых элементов в регуляции свертывания в целом, является популярной и активно развиваемой.⁴⁵

Взаимодействие свертывания с другими системами

Система свертывания активно взаимодействует со многими системами организма и играет жизненно важную роль в ряде процессов, имеющих как прямое, так и достаточно отдаленное отношение к вопросу остановки кровотечения. Ввиду ограниченности объема, в данном разделе мы дадим лишь

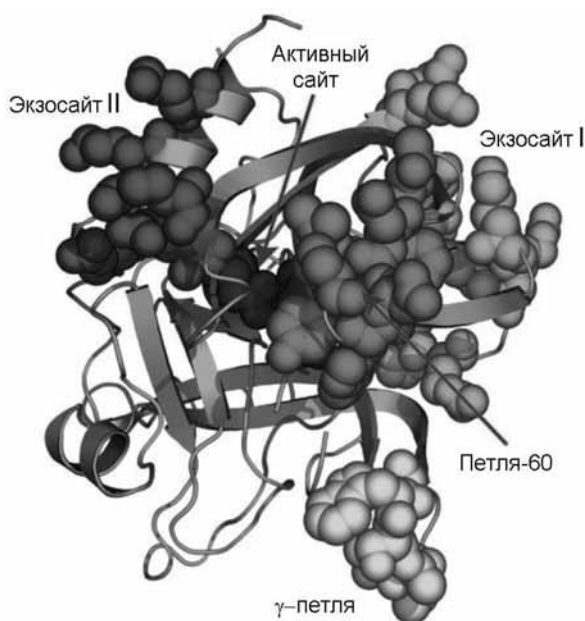


Рис. 4. Структура тромбина. Показаны активный сайт и экзосайты, ответственные за связывание тромбина с субстратами и кофакторами: экзосайты I и II, петля-60, γ -петля. Воспроизведено из.⁴⁵

самые общие сведения и ссылки на обзоры, где эти вопросы рассмотрены более подробно.

Самой тесной и прямой является связь системы свертывания с **фибринолизом**. Фактически, фибринолиз — разрушение фибринового сгустка по мере восстановления поврежденной ткани — часто рассматривают как еще одно звено гемостаза, неразрывно связанное с сосудистым, тромбоцитарным и плазменным. Основной белок системы фибринолиза, плазмин, выполняет собственно расщепление фибриновой сети. Будучи сериновой протеиназой, родственной протеиназам свертывания, плазмин формируется из неактивного предшественника плазминогена под действием одного из двух активаторов плазминогена, тканевого или урокиназного. В норме эти реакции идут очень медленно, но они многократно ускоряются под воздействием фибрина. Таким образом, конечный этап функционирования системы свертывания является запускающим сигналом для системы фибринолиза. Рассматривать систему фибринолиза с ее многочисленными реакциями и плохо пока изученной регуляцией здесь невозможно, но необходимо отметить, что эта система пересекается с системой свертывания еще как минимум в двух существенных местах. Во-первых, плазминоген может активироваться факторами контактной активации.³³ Во-вторых, тромбин способен активировать белок, называемый тромбинактивируемый ингибитор фибринолиза. Этот белок затем начинает модифицировать фибрин, делая ускорение реакций фибринолиза менее эффективным. Более подробно ознакомиться с системой фибринолиза можно в работах.^{46,47}

Как отмечалось в самом начале, система свертывания имеет также многочисленные и древние родственные связи с иммунитетом. По-видимому, обе эти системы развились из защитной системы ранних многоклеточных организмов, и до сих пор их активация и функционирование тесно связаны. Связи между этими системами проходят на нескольких уровнях: эндотелий, тромбоциты, сериновые протеиназы.⁴⁸ Так, воспалительные процессы ведут к активации клеток эндотелия и моноцитов, вызывая появление на них тканевого фактора и активацию свертывания.⁴⁹ Тромбоциты секретируют многочисленные провоспалительные вещества, помимо прокоагулянтных. Тромбоциты могут активироваться системой комплемента; они также могут вызывать ее активацию.³³ Сериновые протеиназы свертывания, в первую очередь тромбин и фактор Ха, связываются с протеиназо-активируемыми рецепторами на эндотелии и клетках иммунной системы, вызывая в них воспалительные ответы.^{48,50}

Особое место в связи с иммунитетом занимает контактная система свертывания, роль которой в гемостазе непонятна. Зато было обнаружено, что активация контактной системы играет большую роль в иммунитете. Активация кининогена ведет не только к появлению белка, улучшающего активацию фактора XII, но и отщеплению от кининогена пептида брадикинина, являющегося важным регулятором воспаления. У людей с отсутствием факторов контактной активации обнаружены нарушения в движении клеток иммунной системы к очагу воспаления.³³

Помимо приведенных выше ссылок, свежие данные о проблеме связи свертывания и иммунитета можно найти в обзоре.^{3,51-53}

В самое последнее время было сделано несколько ключевых открытий, выявивших роль свертывания в ангиогенезе. Важнейшую роль в этом сыграли исследования на мышах, у которых были модифицированы гены, ответственные за факторы свертывания. Оказалось, что ряд факторов свертывания (тканевый фактор, фактор Va, тромбин) играют ключевую роль в развитии сосудистой системы на эмбрио-

нальной стадии; помимо того, система фибринолиза регулирует ангиогенез во взрослом состоянии, управляя разрушением межклеточного матрикса и миграцией гладкомышечных и эндотелиальных клеток.^{54,55}

Эта сигнализация свертывания в ангиогенезе имеет колоссальное значение для практических приложений, в первую очередь, для лечения раковых заболеваний. Хорошо известно, что раковые заболевания почти всегда ведут к патологической гиперкоагуляции, усиливаемой почти всеми видами противоопухолевой терапии. Эта гиперкоагуляция является второй по значимости среди причин смертности при раке. Тромбоз, наблюдаемый при опухолевых заболеваниях, получил название синдрома Труссо. Однако, верно и обратное: свертывание играет центральную роль в развитии опухоли и метастазов.⁵⁶ Тканевый фактор запускает несколько путей, которые могут как включать в себя активацию собственно свертывания, так и не включать. Механизмы регуляции опухоли процессами свертывания и возможное терапевтическое воздействие на опухоль через антисвертывающую терапию обсуждаются в работах.⁵⁷⁻⁵⁹

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Свертывание крови является жизненно важным механизмом, обеспечивающим целостность сосудистой системы в случае повреждения, а также выполняющим ряд иных функций. Оно играет ключевую роль в физиологических и патологических условиях, и нарушения свертывания являются одной из лидирующих причин смертности в мире.

В настоящей части нашего обзора мы сосредоточились на самой первой и основополагающей задаче — биохимическом устройстве каскада свертывания. Система плазменного свертывания на настоящий момент изучена очень хорошо. В ней уже лет пятнадцать не открывали новых белков, что для современной биохимии составляет целую вечность. Можно сказать, с точки зрения открытия новых участников процесса это истоптанное поле: измерены концентрации всех участников, померены константы реакций. Конечно, нельзя исключить вероятность открытия чего-то нового, но нет ни одного явления, которое мы не могли бы объяснить при помощи имеющихся сведений о системе. Скорее уж, наоборот, система выглядит гораздо сложнее, чем нужно!

Почему система свертывания построена в виде каскада? Зачем нужны петли положительной обратной связи — активации факторов V, VII, VIII, XI, XIII, тромбоцитов? Ведь по существу это означает, что реакция, которую можно было бы сразу сделать быстрой (никаких физико-химических запретов на это нет), сначала «портится», а потом «исправляется» путем добавления кофакторов. Фактор VII, который мог бы сразу присутствовать в 100% активной форме, циркулирует в кровотоке активным лишь на 1% и только при запуске свертывания начинает активироваться дальше. Зачем нужен большой и сложный путь протеина С, когда ингибирование факторов Va и VIIIa можно было бы осуществить гораздо более простым способом (например, спонтанной потерей активности, как это реализовано на самом деле для фактора VIIIa)? Если уж делать путь протеина С, то зачем делать активацию протеина С тромбином безумно медленной, а потом использовать тромбомодулин, чтобы ее ускорить?

Сложность и запутанность каскада свертывания с бесчисленными положительными и отрицательными обратными связями делает понимание его функционирования крайне сложной задачей. А без понимания не может быть ни осмысленной диагностики, ни систематически успешного лечения. Самый простой и жизненно важный вопрос — как подавить

острое патологическое свертывание, не нарушая нормального гемостаза, пока остается без ответа.

Именно поэтому сейчас исследователи от вопроса «Как устроено свертывание?» постепенно переходят к вопросам «Почему свертывание устроено именно так?», «Как оно ра-

ботает?», «Какую функцию выполняет этот элемент каскада?», и, наконец, к самому главному вопросу «Как нам нужно воздействовать на свертывание, чтобы добиться желаемого эффекта?» Этим задачам и будут посвящены вторая и третья части нашего обзора.

Благодарности

Мы глубоко признательны А.Н. Баландиной, М.А. Волковой, А.С. Горбатенко, Я.Н. Котовой, Е.И. Синауридзе и А.М. Шибеко за чтение рукописи и ценную критику. Работа была поддержана грантами Российского фонда фундаментальных исследований № 07-04-00146 и № 06-04-48426, а также грантом Федерального агентства по науке и инновациям МК-7062.2006.4.

Приложение: компоненты свертывания крови

Таблица 1. Белки-факторы свертывания крови

Название	Описание ^a
Фибриноген (фактор I) ^{22,60,61}	Плазменный гликопротеин (мол. масса 340 кД), представляющий собой сложный гексамер из трех парных полипептидных цепей. Это ключевой компонент гемостаза, непосредственно реализующий свертывание. В реакции, катализируемой тромбином, фибриноген превращается в фибрин, который полимеризуется и тем самым желирует плазму. Фибриноген также выполняет функцию "мостика" при агрегации тромбоцитов, связывая их через поверхностные белки, гликопротеины IIb/IIIa. Средняя плазменная концентрация 9 мкМ (~3 мг/мл). Секретируется из α -гранул тромбоцитов в количестве 140 мкг/10 ⁹ тромбоцитов. Синтезируется преимущественно в печени. Недостаточность функции фибриногена обозначается терминами а-, гипо-, дис-, или гиподисфибриногемия, а также фибриногенопения, имеющими несколько разный смысл. Она может быть наследственной (редкое аутомомно-рецессивное или аутомомно-доминантное заболевание) или приобретенной (коагулопатия потребления при ДВС-синдроме, поражение печени, аутоантитела). Полный дефицит ведет к тяжелым кровотечениям. Повышенный фибриноген является фактором риска для тромбоза и разнообразных сердечно-сосудистых патологий. Термин "фибриноген" был введен Вирховым (Пруссия, 1856) для гипотетического предшественника нерастворимой субстанции сгустка, незадолго до того названной "фибрином" (Мюллер, 1832). Белок фибриноген был впервые выделен Хаммарстеном (Уппсала, 1880).
Протромбин (фактор II) ^{20,62}	Плазменный α 1-глобулин (мол. масса 72 кД), предшественник сериновой протеиназы. Под действием ферментативного комплекса протромбиназы, состоящего из факторов Ха и Va, связанных с фосфолипидной поверхностью в присутствии кальция, превращается в активную сериновую протеиназу тромбин. Тромбин является основным регулятором свертывания, расщепляющим фибриноген, активирующим факторы V, VIII, XI, XIII и тромбоциты, активирующим в комплексе с тромбомодулином белок C и выполняющим еще ряд физиологических функций. Тромбин теряет активность при связывании с антитромбином III и другими ингибиторами в плазме. Средняя плазменная концентрация протромбина 1400 нМ. Синтезируется в печени витамин К-зависимым образом. Недостаточность функции протромбина может называться гипо- или диспротромбинемией, в современной литературе есть также тенденция называть ее просто дефицитом протромбина или дефицитом фактора II. Гипопротромбинемия может быть наследственной (редкое аутомомно-рецессивное заболевание) или приобретенной (коагулопатия, поражение печени, дефицит витамина К, редко аутоантитела). Частичный дефицит ведет к тяжелым кровотечениям, полный дефицит у человека не наблюдался. У мышей нокаут гена протромбина ведет к нарушению ангиогенеза и частичной летальности на эмбриональной стадии. Повышенная функция протромбина (мутация, беременность) увеличивает риск тромбозов. Существование протромбина было впервые предсказано Бухананом (Шотландия, 1836). Впоследствии тромбин был перестроен Шмидтом (Эстония, 1861), предсказавшим его ферментативную природу. Наличие протромбина в плазме было впервые экспериментально доказано Пекельхарингом (Утрехт, 1891). Высокоочищенный протромбин был впервые получен Сигерсом (США, 1938).
Тканевый фактор (тромбопластин, фактор III) ^{15,57}	Трансмембранный гликопротеин (мол. масса 44 кД). Представляет собой кофактор, связывающий фактор VIIa из плазмы, формируя комплекс внешней теназы и активируя факторы IX и X. Комплекс внешней теназы ингибируется ингибитором пути тканевого фактора в сложной фактор Ха-зависимой реакции. В норме тканевый фактор присутствует во всех тканях, кроме эндотелия и клеток крови. Таким образом, он изолируется от крови, а его экспонирование или экспрессирование является ключевым механизмом запуска свертывания. Оно может быть результатом физического повреждения, воспалительного процесса или химического воздействия. Наличие и значимость тканевого фактора в клетках крови и плазме до сих пор являются спорными. Тканевый фактор также играет жизненно важную роль в процессах ангиогенеза. Синтезируется в клетках тканей. Ни частичный, ни полный дефицит тканевого фактора у человека не описаны. У мышей нокаут гена тканевого фактора ведет к нарушению ангиогенеза и летальности на эмбриональной стадии. Ускорение свертывания крови поврежденной тканью было известно с древних времен. Идея о существовании конкретного вещества, ответственного за это, была предложена Раушенбахом (1883), и развита Моравцем (1905). Термин "тромбопластин" был введен Хоуэллом (1912), который правильно предположил, что стимулятор свертывания представляет собой смесь белка и фосфолипида. Термин "тканевый фактор" для белковой части активатора свертывания был предложен Немерсоном (США, 1968), который впоследствии открыл фактор VII-зависимый механизм активации свертывания (1976) и выделил тканевый фактор (1982).
Фактор IV ⁶³	Кальций. Термин "фактор IV" вышел из употребления.
Фактор V (проакцелерин, АК-глобулин) ^{20,25,43}	Плазменный β -глобулин (мол. масса 330 кД), прокофактор, гомолог фактора VIII. Активируется тромбином и, в меньшей степени, фактором Ха. Фактор Va способен связываться с фактором Ха на фосфолипидных мембранах в присутствии ионов кальция, формируя комплекс протромбиназы, который активирует протромбин в тромбин. Фактор Va теряет активность в результате протеолитического расщепления активированным протеином C. Средняя плазменная концентрация 20 нМ. Секретируется в частично активной форме из α -гранул тромбоцитов при их активации в количестве 4.4 мкг/10 ⁹ тромбоцитов. Синтезируется в печени. Дефицит фактора V называют парагемофилией (гипопротромбинемия, болезнь Оурена), это редкое аутомомно-доминантное заболевание. Приобретенный дефицит наблюдается при поражениях печени, может возникать в результате выработки аутоантител. Сопровождается умеренными кровотечениями. Полный дефицит у человека не наблюдался. У мышей нокаут гена фактора V ведет к нарушению ангиогенеза и частичной летальности на эмбриональной стадии. Открыт Оуреном (Норвегия, 1944). Выделен и охарактеризован Нешеймом (США, 1979).
Фактор VI ⁶³	Активированный фактор V, т.е. фактор Va. Термин вышел из употребления. Термин "фактор VI" был введен Оуреном, открывателем фактора V, но не был поддержан международным стандартизационным комитетом, который взамен рекомендовал обозначать активированные факторы тем же номером, что и неактивированные, но с добавлением буквы "а". Несмотря на то, что термин "фактор VI" давно не употребляется, этот номер не был позднее использован для другого фактора.
Фактор VII (проконвертин) ^{15,31}	Плазменный α -глобулин (мол. масса 63 кД), предшественник сериновой протеиназы. Под действием факторов IXa, Ха, IIa превращается в активную форму, фактор VIIa. Однако, этот активный фермент способен расщеплять свои субстраты, факторы IX и X, только в присутствии кофактора, тканевого фактора или фосфолипидных мембран. "Псевдоактивный" фактор VIIa почти не ингибируется плазменными ингибиторами, и является единственным ферментом свертывания, циркулирующим в кровотоке в активной форме в значительном количестве. В нормальном состоянии, концентрации факторов VIIa и VII в неактивированной плазме составляют 0.1 и 10 нМ, соответственно. Синтезируется в печени витамин К-зависимым образом. Фактор VII может также активироваться фактором XIIa и калликреином. Вероятно, эти реакции не имеют физиологического значения. Однако, они являются важными при проведении экспериментов in vitro, так как охлаждение плазмы подавляет активность ингибиторов контактной системы. В результате активируются факторы контактной фазы и фактор VII. Именно из-за этого феномена холодной активации плазму, предназначенную для исследований свертывания, категорически запрещено хранить в холодильнике. Дефицит фактора VIIa, гипопротромбинемия, может быть наследственной (редкое аутомомно-рецессивное заболевание) или приобретенной (поражение печени, дефицит витамина К, аутоантитела). Степень тяжести кровотечений варьирует. Открыт Оуеном (США, 1947).

Название	Описание ^a
Фактор VIII (антигемофильный глобулин) ^{26,27}	Плазменный $\beta 2$ -глобулин (мол. масса 293 кД), прокофактор, гомолог фактора V. Активируется тромбином и, в меньшей степени, фактором Ха. Фактор VIII способен связываться с фактором IXa на фосфолипидных мембранах в присутствии кальция, формируя комплекс внутренней теназы, который активирует фактор X в Ха. Фактор VIII нестабилен и спонтанно теряет активность в результате диссоциации на субъединицы, а также протромботического расщепления активированным протромбином С, факторами IXa и Ха. Средняя плазменная концентрация 0.7 нМ, циркулирует в комплексе с фактором фон Виллебранда, который диссоциирует при активации. Синтезируется в печени. Наследственный дефицит функции фактора VIII, гемофилия А (классическая гемофилия), является одним из самых распространенных наследственных заболеваний свертывания. Сопровождается тяжелыми кровотечениями и спонтанными кровоизлияниями в суставах. Наследуется рецессивно, сцеплена с X-хромосомой. Гемофилия также может быть приобретенной (развитие аутоантител к фактору VIII наиболее часто среди факторов свертывания). Открыт Патеком (1936-37). В 30-е и 40-е годы были получены грубо очищенные препараты фактора VIII, но его существование и сама природа гемофилии были предметом ожесточенных дебатов еще несколько десятилетий. Возможно, эти разногласия являются причиной того, что фактору был присвоен достаточно "поздний" номер, несмотря на то, что гемофилия была известна гораздо раньше, чем редкие заболевания, позволившие обнаружить фактор V или VII.
Фактор IX (фактор Кристмаса) ^{26,27}	Плазменный $\alpha 1$ -глобулин (мол. масса 57 кД), предшественник сериновой протеиназы. Превращается в активную сериновую протеиназу под действием фактора Xa или внешней теназы. Фактор IXa активирует фактор X. Он также может формировать с фактором VIIIa мембранно-связанный комплекс внутренней теназы, в котором скорость активации фактора X увеличивается на порядки. Фактор IXa ингибируется антитромбином III. Средняя плазменная концентрация фактора IX — 90 нМ. Синтезируется в печени витамином К-зависимым образом. Наследственный дефицит функции фактора IX, гемофилия В, является вторым по распространенности среди гемофилий. Сопровождается тяжелыми кровотечениями и спонтанными кровоизлияниями в суставах. Наследуется рецессивно, сцеплена с X-хромосомой. Гемофилия также может быть приобретенной (аутоантитела). Существование второго вида гемофилии было впервые обнаружено Павловски (Буэнос-Айрес, 1947), но окончательно доказано и изучено тремя независимыми группами исследователей в 1952. Дефицит фактора был назван "болезнью Кристмаса" по имени первого пациента одной из этих групп.
Фактор X (фактор Стюарта-Прауэра) ^{29,26}	Плазменный $\alpha 1$ -глобулин (мол. масса 60 кД), предшественник сериновой протеиназы. Превращается в активную сериновую протеиназу под действием внутренней или внешней теназы. Фактор Xa активирует протромбин, а также может формировать с фактором VIIIa мембранно-связанный комплекс протромбиназы, в котором скорость активации протромбина увеличивается на порядки. Фактор Xa ингибируется антитромбином III и другими ингибиторами плазмы. Средняя плазменная концентрация фактора X — 200 нМ. Синтезируется в печени витамином К-зависимым образом. Дефицит фактора X может быть наследственным (редкое аутосомно-рецессивное заболевание) или приобретенным (поражение печени, дефицит витамина К). Степень тяжести кровотечений варьирует. Фактор X был обнаружен Дюжертом (Швейцария, 1955), спустя два года Худжи и соавторы (США, 1957) подтвердили, что это новый фактор, отличный от фактора VII.
Фактор XI (плазменный предшественник тромбопластина) ^{29,30}	Плазменный γ -глобулин (мол. масса 160 кД), предшественник сериновой протеиназы. Превращается в активную сериновую протеиназу под действием фактора XIIa или тромбина. Фактор XIa активирует фактор IX. Ингибируется антитромбином III и другими ингибиторами плазмы. Средняя плазменная концентрация фактора XI — 30 нМ. Также содержится в тромбоцитах. Синтезируется в печени. Наследственный дефицит фактора XI, гемофилия С, является третьей по распространенности среди гемофилий. Сопровождается умеренными кровотечениями. Наследуется аутосомно-рецессивно, также может быть приобретенной (коагулопатия, аутоантитела в редких случаях). Открыт Розенталем (США, 1953).
Фактор XII (фактор Хагемана) ^{33,34}	Плазменный β -глобулин (мол. масса 80 кД), предшественник сериновой протеиназы. Превращается в активную сериновую протеиназу аутокаталитическим образом при контакте с отрицательно заряженной поверхностью, а также под действием калликреина. Фактор XIIa активирует фактор XI, а также ряд факторов контактного пути и фибринолиза. Средняя плазменная концентрация фактора XII — 450 нМ. Синтезируется в печени. Дефицит фактора XII, синдром Хагемана, — редкое аутосомно-рецессивное наследственное заболевание, не проявляется клинически. Фактор XII был открыт Раттнгоффом и Колопи (США, 1955).
Фактор XIII (фибрин-стабилизирующий фактор) ^{64,65}	Плазменный β -глобулин (мол. масса 320 кД), предшественник фермента трансамидазы (трансглутаминазы). Активируется тромбином, и в активной форме образует поперечные сшивки между молекулами фибрина, укрепляя сгусток. Плазменная концентрация 100 нМ, синтезируется в мегакариocyтах. Дефицит наследуется аутосомно-рецессивно, сопровождается кровотечениями, медленным и нарушенным заживлением ран (остаются шрамы). Приобретенный дефицит наблюдался редко. Появление аутоантител наблюдалось при лечении изониазидом, пенициллином, фенитоином, массивных трансфузиях. Фактор XIII был открыт Роббинсом (1944). Через четыре года было показано, что он является белком (Лаки и Лоранд, 1948), и еще через тринадцать лет он был очищен (Лоуи, 1961).
Прекалликреин (фактор Флетчера) ^{33,34}	Плазменный β -глобулин (мол. масса 90 кД), предшественник сериновой протеиназы. Активируется фактором XIIa, в активной форме активирует фактор XII, отщепляет брадикинин от высокомолекулярного кининогена, активирует плазминоген и компонент C1 комплемента. Плазменная концентрация 340 нМ, синтезируется в печени. Дефицит не проявляется клинически. Существование нового фактора в системе контактной активации было обнаружено Хатаузем (1965). Вюэппер (1973) показал идентичность этого фактора прекалликреину. Ввиду того, что это вещество не имело явной физиологической роли в свертывании и было известно раньше, римская цифра ему присвоена не была.
Высокомолекулярный кининоген (фактор Фитцджеральда) ^{33,34}	Плазменный α -глобулин (мол. масса 160 кД), предшественник кофактора. Активируется калликреином, в активной форме является кофактором активации фактора XII калликреином. Активация также отщепляет от высокомолекулярного кининогена сигнальный пептид брадикинина. Плазменная концентрация 500 нМ. Секретируется из ?-гранул тромбоцитов при их активации в количестве 0.6 мкг/10 ⁹ тромбоцитов. Синтезируется в печени. Дефицит не проявляется клинически. Существование "кофактора контактной активации" было обнаружено Шиффманом (1960), но его работы были проигнорированы из-за отсутствия пациентов с дефицитом этого кофактора. Семьи с дефицитом были независимо обнаружены несколькими группами в 1975–76 гг. Вюэппер (1975) показал, что это вещество идентично высокомолекулярному кининогену.
Фактор фон Виллебранда ⁶⁶	Плазменный гликопротеин. Циркулирует в кровотоке в виде мультимерных комплексов, для одной субъединицы мол. масса 260 кД. Фактор фон Виллебранда выполняет две важные роли в двух разных звеньях гемостаза, являясь носителем для фактора VIII и посредником при адгезии тромбоцитов к collagenу в месте повреждения. Плазменная концентрация 10 мкг/мл. Секретируется из α -гранул тромбоцитов при их активации в количестве 0.34 мкг/10 ⁹ тромбоцитов. Синтезируется эндотелием и некоторыми другими тканями. Болезнь фон Виллебранда, наследственный или приобретенный дефицит фактора, является самым распространенным нарушением свертывания у людей. Наследственные нарушения, не обязательно ведущие к клиническим проявлениям, обнаруживаются у 1–3% населения. Ведет к кровоточивости разной степени тяжести. Приобретенный дефицит фактора фон Виллебранда (аутоантитела) также встречается довольно часто по сравнению с другими факторами свертывания. Болезнь фон Виллебранда получила свое название в честь финского исследователя, обнаружившего это наследственное заболевание у одной семьи с Аландских островов (1926) и посвятившего много лет ее изучению. Впоследствии было выяснено, что эта болезнь наблюдалась неоднократно до него, но ее путали с обычной гемофилией. Когда в 70-х годах XX века химическая природа недостающего фактора прояснилась, он был также назван в честь первооткрывателя заболевания.
Антитромбин I ⁶³	Фибрин. Термин вышел из употребления. В 1962 Сигерс классифицировал все виды антитромбиновой активности в плазме, включив туда фибрин под названием "антитромбин I", так как фибрин способен связывать тромбин. Из этой классификации в современной литературе сохранился только антитромбин III.
Антитромбин III ^{17,18}	Ингибитор сериновых протеиназ (мол. масса 160 кД). Антитромбин III необратимо связывает и ингибирует тромбин, а также прочие сериновые протеиназы свертывания, за исключением VIIa. Наряду с ингибитором пути тканевого фактора, является важнейшим и жизненно необходимым регулятором системы свертывания. Плазменная концентрация 3400 нМ. Синтезируется в печени. Недостаточность функции антитромбина III (встречается редко) ведет к тромбозу, полный дефицит у человека неизвестен. У мышей нокаут гена ведет к летальности на эмбриональной стадии. Первым, кто заметил антисвертывающую активность сыворотки, был Буханан (1845). На протяжении более чем ста лет после его существования и природа этой активности были предметом дискуссий, пока Брамбел (1957) не выделил белок-антитромбин из плазмы. Современное название "антитромбин III" было дано Сигерсом (1962), который классифицировал антитромбиновую активность плазмы, выделив шесть типов "антитромбинов". Из них в современной классификации сохранился только антитромбин III.

Название	Описание ^a
Ингибитор пути тканевого фактора (tissue factor pathway inhibitor или TFPI) ¹⁹	Ингибитор сериновых протеиназ (мол. масса 40 кД). Необратимо ингибирует комплекс фактора VIIa и тканевого фактора в сложной Ха-зависимой реакции. Синтезируется эндотелием. Нормальная плазменная концентрация 2,5 нМ. Распределен в сосуде следующим образом: 80–85% связано с эндотелием, 10% циркулирует в плазме и связано с липопротеинами, около 3% обнаружено в тромбоцитах. Частичный и полный дефицит TFPI в клинике не обнаружен. Диагностика затруднена тем, что плазменный TFPI составляет лишь малую и нерепрезентативную часть полного пула ингибитора. Концентрация TFPI снижается на 25% при приеме оральных контрацептивов, незначительно снижена у новорожденных. Повышается при беременности, может повышаться в преклонном возрасте, предположительно, в результате повреждения эндотелия. Может повышаться до 5 и более раз при длительной гепаринотерапии. Как минимум одна группа сообщала, что пониженные концентрации и некоторые мутации TFPI связаны с повышенным риском тромбоза, но эти данные не подтверждались другими группами. У мышей нокаут гена TFPI ведет к летальности на эмбриональной стадии. Вплоть до 1983 года, было известно два механизма ингибирования свертывания — ингибирование сериновых протеиназ тромбином и разрушение факторов V и VIII активированным протеином С. Третьим и последним жизненно важным механизмом стал TFPI. Принципиальное деказательство существования такого ингибитора было получено группой Рапапорта (США, 1983). Выяснение роли различных формов ингибитора и механизма его действия было осуществлено группой Броуза (1989). Общепринятого русскоязычного сокращения не существует, в равной степени используются термины TFPI и ИПТФ.
Прочие прямые ингибиторы сериновых протеиназ ^{17,18}	Помимо антитромбина III и TFPI, плазма крови содержит ряд ингибиторов, способных подавлять активность сериновых протеиназ крови, как-то: α_2 -макроглобулин, α_1 -антиплазмин, α_2 -антитрипсин, С1 ингибитор, кофактор гепарина II, ингибитор протеина С. Их плазменные концентрации составляют 3000, 1100, 40000, 1700, 1400, 90 нМ, соответственно. Кроме того, α_2 -макроглобулин, α_1 -антиплазмин, α_2 -антитрипсин, С1 ингибитор секретируются из α -гранул тромбоцитов при их активации в количестве 2,0, 0,06, 0,4 и 0,6 мкг/10 ⁹ тромбоцитов, соответственно. Каждый из этих ингибиторов поодиночке обладает невысокой эффективностью по сравнению с антитромбином, но их суммарный вклад весьма значителен. Для тромбина он может достигать 40–50%, а для фактора XIa — 60–70%.
Протеин C ^{32,67}	Плазменный белок (мол. масса 62 кД), предшественник сериновой протеиназы. Активируется тромбином, реакция на четыре порядка ускоряется тромбомодулином. После активации может расщеплять и инактивировать факторы Va и VIIIa, эта реакция ускоряется протеином S. Синтезируется в печени витамин К-зависимым образом. Наследственный дефицит протеина С ведет к повышенному риску тромбозов. Гомозиготный дефицит ведет к ДВС у новорожденных. У мышей нокаут гена ведет к развитию ДВС после 12 дней эмбрионального развития и смерти не позднее 24 часов после рождения. Наличие некоего ингибитора, появляющегося при добавлении тромбина к протромбиновому комплексу, было обнаружено в группе Сигерса (США, 1960). Он был назван аутопротромбин II-A. Протеин С был открыт Стенфлю (США, 1976) в хроматографической фракции С, от которой происходит его название. Он оказался предшественником аутопротромбина II-A (Сигерс, США, 1976).
Тромбомодулин ^{32,67}	Интегральный мембранный белок, экспрессированный на поверхности эндотелия (мол. масса 74 кД). Является кофактором тромбина при активации протеина С. Недостаточная экспрессия тромбомодулина ведет к тромбозу, полный дефицит у человека не описан. У мышей нокаут гена ведет к летальности на 10 день эмбрионального развития. Открыт Эсмоном (США, 1981).
Протеин S ³²	Плазменный гликопротеин (мол. масса 70 кД). Действует как кофактор активированного протеина С при инактивации факторов Va и VIIIa. По некоторым сведениям, обладает самостоятельным ингибирующим действием по отношению к внутренней теназе и протромбиназе. Плазменная концентрация 350 нМ, но значительная часть находится в комплексе с белком комплемента C4b и не обладает кофакторной активностью. Синтезируется в печени витамином К-зависимым образом. По своей химической природе протеин S является родственником зимогенов сериновых протеаз (факторы II, X, VII, протеин С и других), в ходе эволюции потерявшим активный сайт. Предположительно, именно это родство позволяет ему самостоятельно ингибировать протромбиназу и теназу: будучи похож на фактор IXa и Xa, он может вытеснять их из комплексов. Дефицит протеина S — редкое наследственное заболевание, ведущее к тромбозу. Как и с прочими витамином К-зависимыми белками, дефицит протеина S наблюдается при поражениях печени, дефиците витамина К, терапии варфарином и т.п. Однако, в этих случаях наблюдаются обычно анти-коагулянтные нарушения из-за сопутствующих дефицитов прокоагулянтных факторов. Открыт ДиСиплио (США, 1977), назван по месту открытия (город Сиэтл, Seattle).

^a В большинстве случаев концентрации факторов свертывания приведены по.^{7,11} Количество факторов, содержащихся в тромбоцитах, приведены по.⁴⁴ Дефициты факторов свертывания описаны преимущественно по.^{7,63,68} Сведения об открытии и первом выделении факторов взяты из.⁶³

Таблица 2. Небелковые компоненты системы свертывания

Название	Описание ^a
Тромбоциты ^{21,23,36,39}	Небольшие (2–4 мкм диаметром) дискообразные клеточные фрагменты, играющие критически важную роль в гемостазе и тромбозе. Тромбоциты выполняют две функции: 1) формирование тромбоцитарного агрегата, первичной пробки, закрывающей место повреждения сосуда; 2) ускорение плазменного свертывания путем секреции факторов свертывания и экспрессии прокоагулянтной мембраны для сборки ферментативных комплексов. Нормальная плазменная концентрация 150 000–300 000 в 1 мкл. Уменьшение количества тромбоцитов ведет к желудочно-кишечным кровотечениям, увеличению времени первичного гемостаза и появлению характерных подкожных кровоизлияний — пурпуре. Тромбоцитопения имеет чаще всего иммунологические причины. Разнообразные наследственные и приобретенные нарушения функции тромбоцита также могут приводить к кровоточивости. Повышенное производство тромбоцитов ведет к увеличению их нормальной концентрации, тромбоцитозу. В связи с неточностью описаний, отсутствием фотографической техники и запутанностью терминологии ранней микроскопии, время первого наблюдения тромбоцитов неизвестно. Чаще всего, их открытие приписывается Донне (Париж, 1842), однако есть данные, что их наблюдал еще сам создатель микроскопа, ван Левенгук (Нидерланды, 1677). Термин "кровяные пластинки", который до сих пор является предпочтительным в англоязычной литературе ("blood platelets"), был введен Биццоццо (Турин, 1881), который также сыграл ведущую роль в выявлении их связи с гемостазом. Это впоследствии привело к появлению термина "тромбоцит" (Декхюйзен, 1901), который в русском языке стал основным, а в англоязычной литературе используется исключительно для ядерных клеток-тромбоцитов у не-млекопитающих ("thrombocytes"). Кроме того, в русской литературе для тромбоцитов может употребляться термин "бляшка Биццоццо".
Кальций, фактор IV ^{63,69}	Двухвалентный катион (атомная масса 40,078), участвующий в связывании витамином К-зависимых факторов свертывания с фосфолипидами. Является абсолютно необходимым для протекания ключевых реакций свертывания. Хелатирующие вещества (связывающие кальций — такие как цитрат натрия и этилендиаминтетрауксусная кислота) широко используются в качестве антикоагулянтов при взятии крови. Нормальная плазменная концентрация кальция 2,0–2,5 мМ. Кальций играет жизненно важную роль в многочисленных процессах, и его концентрация в плазме поддерживает организм постоянной с высокой точностью. Временное падение плазменной концентрации кальция может возникать при массивных переливаниях препаратов крови, содержащих хелатирующие агенты в качестве антикоагулянтов. Связь свертывания крови и кальция впервые заметил Хаммарстен (Уппсала, 1875), но долгое время его необходимость была неясна и даже оспаривалась, в том числе самим "отцом свертывания крови" Шмидтом. Она была убедительно показана Артусом (Франция, 1890). Механизм участия кальция в свертывании был выяснен только много позже в связи с прояснением устройства витамин К-зависимых белков в 1974 г.
Витамин K ⁶³	Жирорастворимый витамин, участвующий в посттрансляционной модификации факторов свертывания II, VII, IX, X, XI, а также протеинов С и S. Является кофактором фермента витамин К-зависимой карбоксилазы, который превращает остатки глутаминовой кислоты в свежесинтезированных молекулах зимогенов в остатки γ -карбоксиглутаминовой. Через эти остатки факторы свертывания могут взаимодействовать с кальцием и связываться с фосфолипидами через кальциевые мостики. Всего известны три формы витамина К. Его важность в свертывании была использована при создании оральных антикоагулянтов (таких, как дикумарол и варфарин), подавляющих синтез работоспособных факторов свертывания. Присутствует в многочисленных продуктах питания, а также синтезируется кишечными бактериями, поэтому его недостаток встречается крайне редко, например, при экзотических диетах. Был открыт Дамом (Дания, 1934), который обнаружил, что цыплята при определенной диете страдают от кровотечения. Свое название получил от датского "витамин свертывания" — Koagulations-Vitamin. Химическая природа витамина была выявлена Дойзи (США, 1940), который разделил с Дамом Нобелевскую премию в 1943. Механизм действия витамина К на свертывание крови был выяснен Стенфлю и соавторами (США, 1974).

^a Сведения об открытии компонентов приведены преимущественно по.⁶³.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bishopric NH. Evolution of the heart from bacteria to man. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1047:13–29.
2. Iwanaga S, Kawabata S. Evolution and phylogeny of defense molecules associated with innate immunity in horseshoe crab. *Front Biosci.* 1998; 3:D973–D984.
3. Opal SM, Esmon CT. Bench-to-bedside review: functional relationships between coagulation and the innate immune response and their respective roles in the pathogenesis of sepsis. *Crit Care* 2003; 7(1):23–38.
4. Davidson CJ, Tuddenham EG, McVey JH. 450 million years of hemostasis. *J Thromb Haemost.* 2003; 1(7):1487–94.
5. Ataullakhanov FI, Panteliev MA. Mathematical modeling and computer simulation in blood coagulation. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2005; 34(2-3):60–70.
6. Hoffman M, Monroe DM. Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2007; 21(1):1–11.
7. Шмидт Р, Тевс Г. Физиология человека (том 2). М.: Мир; 1996.
8. Falati S, Gross P, Merrill-Skoloff G, et al. Real-time in vivo imaging of platelets, tissue factor and fibrin during arterial thrombus formation in the mouse. *Nat Med.* 2002; 8(10):1175–81.
9. Beltrami E, Jesty J. The role of membrane patch size and flow in regulating a proteolytic feedback threshold on a membrane: possible application in blood coagulation. *Math Biosci.* 2001; 172(1):1–13.
10. Lowe GD. Virchow's triad revisited: abnormal flow. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2003; 33(5-6):455–457.
11. Бутенас С, Манн КГ. Свертывание крови. *Биохимия* 2002; 67(1):5–15.
12. Blomback B. Fibrinogen and fibrin - proteins with complex roles in hemostasis and thrombosis. *Thromb Res.* 1996; 83(1):1–75.
13. Marx G, Blankenfeld A. Kinetic and mechanical parameters of pure and cryoprecipitate fibrin. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1993; 4(1):73–8.
14. Lawson JH, Kalafatis M, Stram S, Mann KG. A model for the tissue factor pathway to thrombin. I. An empirical study. *J Biol Chem.* 1994; 269(37):23357–66.
15. Monroe DM, Key NS. The tissue factor-factor VIIa complex: procoagulant activity, regulation, and multitasking. *J Thromb Haemost.* 2007; 5(6):1097–105.
16. Семенов ВВ, Ханин МА. Нелинейные эффекты в кинетике свертывания крови. *Биофизика* 1990; 35(1):139–41.
17. Ellis V, Scully M, MacGregor I, Kakkar V. Inhibition of human factor Xa by various plasma protease inhibitors. *Biochim Biophys Acta* 1982; 701(1):24–31.
18. Ellis V, Scully MF, Kakkar VV. Inhibition of prothrombinase complex by plasma proteinase inhibitors. *Biochemistry* 1984; 23(24):5882–7.
19. Bajaj MS, Birktoft JJ, Steer SA, Bajaj SP. Structure and biology of tissue factor pathway inhibitor. *Thromb Haemost.* 2001; 86:959–72.
20. Rosing J, Tans G, Govers-Riemsag JW, et al. The role of phospholipids and factor Va in the prothrombinase complex. *J Biol Chem.* 1980; 255(1):274–83.
21. Heemsker JW, Bevers EM, Lindhout T. Platelet activation and blood coagulation. *Thromb Haemost.* 2002; 88(2):186–93.
22. Bajaj SP, Harmony JA, Martinez-Carrion M, Castellino FJ. Human plasma lipoproteins as accelerators of prothrombin activation. *J Biol Chem.* 1976; 251(17):5233–6.
23. Sims PJ, Wiedmer T, Esmon CT, et al. Assembly of the platelet prothrombinase complex is linked to vesiculation of the platelet plasma membrane. Studies in Scott syndrome: an isolated defect in platelet procoagulant activity. *J Biol Chem.* 1989; 264(29):17049–57.
24. Sinauridze EI, Kireev DA, Popenko NY, et al. Platelet microparticle membranes have 50- to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. *Thromb Haemost.* 2007; 97(3):425–34.
25. Monkovic DD, Tracy PB. Activation of human factor V by factor Xa and thrombin. *Biochemistry* 1990; 29(5):1118–28.
26. van Dieijen G, Tans G, Rosing J, Hemker HC. The role of phospholipid and factor VIIIa in the activation of bovine factor X. *J Biol Chem.* 1981; 256(7):3433–42.
27. Fay PJ. Activation of factor VIII and mechanisms of cofactor action. *Blood Rev.* 2004; 18(1):1–15.
28. Ingerslev J, Jankowski MA, Weston SB, Charles LA. Collaborative field study on the utility of a BDD factor VIII concentrate standard in the estimation of BDDr Factor VIII:C activity in hemophilic plasma using one-stage clotting assays. *J Thromb Haemost.* 2004; 2(4):623–8.
29. Gailani D, Ho D, Sun MF, Cheng Q, Walsh PN. Model for a factor IX activation complex on blood platelets: dimeric conformation of factor XIa is essential. *Blood* 2001; 97(10):3117–22.
30. Gailani D, Broze GJ, Jr. Factor XI activation in a revised model of blood coagulation. *Science* 1991; 253(5022):909–12.
31. Butenas S, Mann KG. Kinetics of human factor VII activation. *Biochemistry* 1996; 35(6):1904–10.
32. Walker FJ, Fay PJ. Regulation of blood coagulation by the protein C system. *FASEB J.* 1992; 6(8):2561–7.
33. Colman RW, Schmaier AH. Contact system: a vascular biology modulator with anticoagulant, profibrinolytic, antiadhesive, and proinflammatory attributes. *Blood* 1997; 90:3819–43.
34. Pokhilko AV, Ataullakhanov FI. Contact activation of blood coagulation: trigger properties and hysteresis. Kinetic recognition of foreign surfaces upon contact activation of blood coagulation: a hypothesis. *J Theor Biol.* 1998; 191(2):213–9.
35. Tracy PB, Nesheim ME, Mann KG. Coordinate binding of factor Va and factor Xa to the unstimulated platelet. *J Biol Chem.* 1981; 256(2):743–51.
36. Sahu SK, Gummadi SN, Manoj N, Aradhyam GK. Phospholipid scramblases: an overview. *Arch Biochem Biophys.* 2007; 462(1):103–14.
37. Nesheim ME, Furmaniak-Kazmierczak E, Henin C, Cote G. On the existence of platelet receptors for factor V(a) and factor VIII(a). *Thromb Haemost.* 1993; 70(1):80–6.
38. Byzova TV, Plow EF. Networking in the hemostatic system. Integrin α IIb β 3 binds prothrombin and influences its activation. *J Biol Chem.* 1997; 272(43):27183–8.
39. Dale GL. Coated-platelets: an emerging component of the procoagulant response. *J Thromb Haemost.* 2005; 3(10):2185–92.
40. Panteliev MA, Ananyeva NM, Greco NJ, et al. Two subpopulations of thrombin-activated platelets differ in their binding of the components of the intrinsic factor X-activating complex. *J Thromb Haemost.* 2005; 3(11):2545–53.
41. Kjalke M, Kjellef S, Rojkaer R. Preferential localization of recombinant factor VIIa to platelets activated with a combination of thrombin and a glycoprotein VI receptor agonist. *J Thromb Haemost.* 2007; 5(4):774–80.
42. Chesney CM, Pifer D, Colman RW. Subcellular localization and secretion of factor V from human platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78(8):5180–4.
43. Monkovic DD, Tracy PB. Functional characterization of human platelet-released factor V and its activation by factor Xa and thrombin. *J Biol Chem.* 1990; 265(28):17132–40.
44. Colman RW. Hemostasis and thrombosis basic principles and clinical practice. 3rd ed. Philadelphia, Lippincott; 1993.
45. Crawley JT, Zanardelli S, Chion CK, Lane DA. The central role of thrombin in hemostasis. *J Thromb Haemost.* 2007; 5(Suppl 1):95–101.
46. Cesarman-Maus G, Hajjar KA. Molecular mechanisms of fibrinolysis. *Br J Haematol.* 2005; 129(3):307–21.
47. Nesheim M. Thrombin and fibrinolysis. *Chest* 2003; 124(3 Suppl):33S–39S.
48. Strukova S. Blood coagulation-dependent inflammation. Coagulation-dependent inflammation and inflammation-dependent thrombosis. *Front Biosci.* 2006; 11:59–80.
49. Ryan J, Geczy C. Coagulation and the expression of cell-mediated immunity. *Immunol Cell Biol.* 1987; 65(Pt 2):127–39.
50. Cirino G, Vergnolle N. Proteinase-activated receptors (PARs): crossroads between innate immunity and coagulation. *Curr Opin Pharmacol.* 2006; 6(4):428–34.
51. Shrivastava S, McVey JH, Dorling A. The interface between coagulation and immunity. *Am J Transplant.* 2007; 7(3):499–506.
52. Esmon CT. Coagulation and inflammation. *J Endotoxin Res.* 2003; 9(3):192–8.
53. Esmon CT. The impact of the inflammatory response on coagulation. *Thromb Res.* 2004; 114(5-6):321–7.
54. Brodsky SV. Coagulation, fibrinolysis and angiogenesis: new insights from knockout mice. *Exp Nephrol.* 2002; 10(5-6):299–306.
55. Moser M, Patterson C. Thrombin and vascular development: a sticky subject. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23(6):922–30.
56. Mousa SA. Role of current and emerging antithrombotics in thrombosis and cancer. *Drugs Today (Barc)* 2006; 42(5):331–50.
57. Belting M, Ahamed J, Ruf W. Signaling of the tissue factor coagulation pathway in angiogenesis and cancer. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25(8):1545–50.
58. Rak J, Klement P, Yu J. Genetic determinants of cancer coagulopathy, angiogenesis and disease progression. *Vnitř Lek.* 2006; 52(Suppl 1):135–8.
59. Korte W. Changes of the coagulation and fibrinolysis system in malignancy: their possible impact on future diagnostic and therapeutic procedures. *Clin Chem Lab Med.* 2000; 38(8):679–92.
60. Mossessow MW. Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost* 2005; 3(8):1894–1904.
61. Asselta R, Duga S, Tenchini ML. The molecular basis of quantitative fibrinogen disorders. *J Thromb Haemost.* 2006; 4(10):2115–29.
62. Hemker HC, Al Dieri R, De Smedt E, Beguin S. Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system. *Thromb Haemost.* 2006; 96(5):553–61.
63. Owen CA. A History of Blood Coagulation. Rochester: Mayo Foundation, 2001.
64. Lorand L. Factor XIII and the clotting of fibrinogen: from basic research to medicine. *J Thromb Haemost.* 2005; 3(7):1337–48.
65. Ichinose A. Extracellular transglutaminase: factor XIII. *Prog Exp Tumor Res* 2005; 38:192–208.
66. Ruggeri ZM. Von Willebrand factor: looking back and looking forward. *Thromb Haemost.* 2007; 98(1):55–62.
67. Esmon NL, DeBault LE, Esmon CT. Proteolytic formation and properties of gamma-carboxyglutamic acid-domainless protein C. *J Biol Chem.* 1983; 258:5548–53.
68. Hogan KA, Weiler H, Lord ST. Mouse models in coagulation. *Thromb Haemost.* 2002; 87(4):563–74.
69. Friedman Z, Hanley WB, Radde IC. Ionized calcium in exchange transfusion with THAM-buffered ACD blood. *Can Med Assoc J.* 1972; 107(8):742–5.
70. Fuss C, Palmaz JC, Sprague EA. Fibrinogen: structure, function, and surface interactions. *J Vasc Interv Radiol.* 2001; 12(6):677–82.
71. Pratt KP, Cote HC, Chung DW, Stenkamp RE, Davie EW. The primary fibrin polymerization pocket: three-dimensional structure of a 30-kDa C-terminal gamma chain fragment complexed with the peptide Gly-Pro-Arg-Pro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94(14):7176–81.
72. Mills JD, Ariens RA, Mansfield MW, Grant PJ. Altered fibrin clot structure in the healthy relatives of patients with premature coronary artery disease. *Circulation* 2002; 106(15):1938–42.

*Работа посвящается памяти
профессора Зиновия Соломоновича
Баркагана — Учителя и создателя
школы клинической гемостазиологии
на Алтае и в России.*

*Публикуемые материалы
получены при его участии и
под его руководством.*

Modern aspects of pathogenesis, diagnostics and treatment of dis- seminated intravascular coagulation

A.P. Momot, A.N. Mamaev

SUMMARY:

The article contains the modern data about etiology, pathogenesis, diagnostics and the modern approach of DIC therapy. Moreover the typical mistakes of treatment of acute and subacute DIC are analyzed that occur in medical practice. The analysis of clinical and laboratory manifestations in 102 patients with DIC revealed high efficacy of the therapy with using high dosages of fresh frozen plasma. The clinical manifestations of MODS were not acute as result of the therapy. The diagnostic and predicted role of some laboratory indices (platelets, antithrombin III, plasminogen) was found in the research work. The indices showed the efficacy of the therapy.

Keywords:

Disseminated intravascular coagulation, DIC, hemorrhagic syndrome, multiple organ dysfunction, fresh frozen plasma

Altai department of Hematological Scientific Centre of the Russian Medical Academy, Barnaul

Контакты: momot@ob.ru

Современные аспекты патогенеза, диагностики и терапии ДВС-синдрома

А. П. Момот, А. Н. Мамаев

РЕФЕРАТ

В статье представлены современные данные об этиологии, патогенезе, диагностике и современных методах терапии ДВС-синдрома, анализируются типичные ошибки лечения острого и подострого вариантов этого синдрома, часто встречающегося в клинической практике при критических и неотложных состояниях. Ретроспективный анализ клинических и лабораторных данных у 102 больных с острым и подострым ДВС-синдромом различной этиологии показал наряду с традиционным лечением более высокую эффективность высокодозной терапии свежезамороженной плазмой, что нашло свое отражение в снижении выраженности и частоты развития клинических проявлений — полиорганной недостаточности и геморрагического синдрома. Продемонстрирована диагностическая и прогностическая роль ряда лабораторных показателей системы гемостаза (количества тромбоцитов, активности антитромбина III и плазминогена), позволяющих отслеживать эффективность проводимой терапии.

Ключевые слова

ДВС-синдром, геморрагический синдром, полиорганная недостаточность, свежезамороженная плазма, антитромбин III

ВВЕДЕНИЕ

Термин «ДВС-синдром» (синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови), впервые предложен в 1950 г. Дональдом МакКеем. Он обозначает неспецифический общепатологический процесс, связанный с поступлением в кровоток активаторов свертывания крови и агрегации тромбоцитов, диссеминированным микросвертыванием крови, активацией и истощением плазменных протеолитических систем, потреблением физиологических антикоагулянтов и факторов свертывания крови, образованием в зоне микроциркуляции микросгустков и агрегатов клеток крови, следствием чего является развитие блокады микроциркуляции в органах-мишенях, гипоксии, дистрофии и глубокой дисфункции этих органов. Данные нарушения сопровождаются интоксикацией организма продуктами тканевого распада, вторичной эндогенной бактери-

емией и развитием тяжелого тромбогеморрагического синдрома.¹⁻¹⁶

Менее четко очерчен хронический ДВС-синдром, при котором длительная волнообразно-текущая фибриная сопровождается персистирующей тромбоэмзией, выраженной дисфункцией органов-мишеней при минимальной и зачастую моноорганной геморрагической симптоматике с одновременным возникновением тромбозов магистральных вен.

Частота ДВС-синдрома при различных видах патологии неодинакова, но он всегда возникает при всех критических и терминальных состояниях, и в настоящее время описано более 150 заболеваний, закономерно сопровождающихся его развитием.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОСТРОГО И ПОДОСТРОГО ДВС-СИНДРОМА

- Инфекционно-септический.
- бактериальные;

- вирусные;
- токсически-шоковые (в том числе при аборте).
- Травматический и при деструкциях тканей.
- ожоговый;
- синдром сдавления;
- массивная травма;
- при некрозе тканей и органов (острая дистрофия печени, некротический панкреатит, острый инфаркт миокарда, опухолевый распад и др.);
- при остром внутрисосудистом гемолизе, в том числе при переливаниях несовместимой крови;
- при травматичных операциях;
- при массивных гемотрансфузиях;
- при острой лучевой болезни.
- Акушерский и гинекологический.
- при эмболии околоплодными водами (особенно инфицированными);
- при ранней отслойке и предлежании плаценты;
- при атонии и массаже матки;
- при внутриутробной гибели плода и его ретенции;
- при эклампсии.
- Шоковый (при всех терминальных состояниях).
- При гемобластозах, в первую очередь при остром промиелоцитарном лейкозе.
- В процессе интенсивной химиотерапии.
- При трансплантации органов.

В особые группы острых ДВС-синдромов должны быть выделены злокачественная пурпура новорожденных и симметричная периферическая гангрена.

Причинами хронического (затяжного) ДВС-синдрома чаще всего служат следующие виды патологии:

- хронический сепсис, включая затяжной септический эндокардит;
- хронические иммунные и иммунокомплексные болезни;
- хронические вирусные заболевания (гепатит, ВИЧ и др.);
- опухолевые процессы — рак, лимфомы, лейкозы и др.

Хронические формы ДВС-синдрома имеют волнообразное (с точки зрения нарушений гемостаза) течение и легко могут трансформироваться в острые или подострые варианты при утяжелении процесса в случае распада опухоли, диссеминации инфекции, присоединении органной недостаточности, кровопотери и др.

Установлено, что инфекции и септицемия занимают первое место среди причин ДВС-синдрома и на их долю приходится более 50% всех случаев этой патологии. В это число входит большинство ДВС-синдромов при акушерской патологии (осложненные бактериемией аборт и роды, эмболия инфицированными околоплодными водами, преждевременная отслойка плаценты, внутриутробная гибель плода, эклампсия и др.). К частым причинам ДВС-синдрома относят все виды шока (травматический, геморрагический, ожоговый, кардиогенный и др.). Следует отметить, что важен не только генез шока, но и его тяжесть. Риск развития ДВС возрастает при травмах и травматичных хирургических вмешательствах, больших кровопотерях, массивных трансфузиях крови, нестабильной гемодинамике. Практически все терминальные состояния и острый внутрисосудистый гемолиз сопровождаются этим синдромом, наличие которого зачастую определяет течение и исход болезни.^{7-9,11-13,15-21}

ПАТОГЕНЕЗ ДВС-СИНДРОМА

Основные звенья патогенеза ДВС-синдрома представлены на рис. 1:

- начальная активация гемокоагуляционного каскада (прежде всего за счет активации ф. VII) и тромбоцитов эндогенными факторами — тканевым фактором (тромбопластином), лейкоцитарными протеазами, продуктами распада тканей, опухолевыми прокоагулянтами;
- персистирующая тромбинемия и активация фибринолиза, с повышением уровня маркеров этих сдвигов в циркулирующей крови, в том числе растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), комплекса тромбин-антитромбин III (ТАТ) и D-димера;
- истощение системы физиологических антикоагулянтов со значительным снижением содержания в плазме антитромбина III (АТ III), протейна С, плазминогена и повышением уровня тромбомодулина в плазме крови;
- системное поражение сосудистого эндотелия и снижение его антитромботического потенциала;
- образование микросгустков крови и блокада микроциркуляции в органах-мишенях с развитием дистрофических и деструктивных нарушений в них. Основными мишенями являются мозг, надпочечники, почки, печень, желудок и кишечник (субсиндром полиорганной недостаточности);
- активация фибринолиза в зоне блокады микроциркуляции и истощение его резервов в общей циркуляции;
- потребление факторов гемокоагуляции и тромбоцитопения (и тромбоцитопатия) потребления, приводящие к системной кровоточивости и терминальной гипокоагуляции вплоть до полной несвертываемости крови (геморрагическая фаза синдрома);
- нарушение барьерной функции слизистой оболочки желудка и кишечника с трансформацией асептического ДВС-синдрома в септический;
- вторичная тяжелая эндогенная интоксикация.

Расшифровка основных механизмов формирования ДВС-синдрома, начиная с работ М.С. Мачабели,^{1-3,6,9,11,20,22} позволила сформулировать современную концепцию его патогенеза и патогенетической терапии (см. ниже), определила ошибочность ряда практиковавшихся ранее подходов к

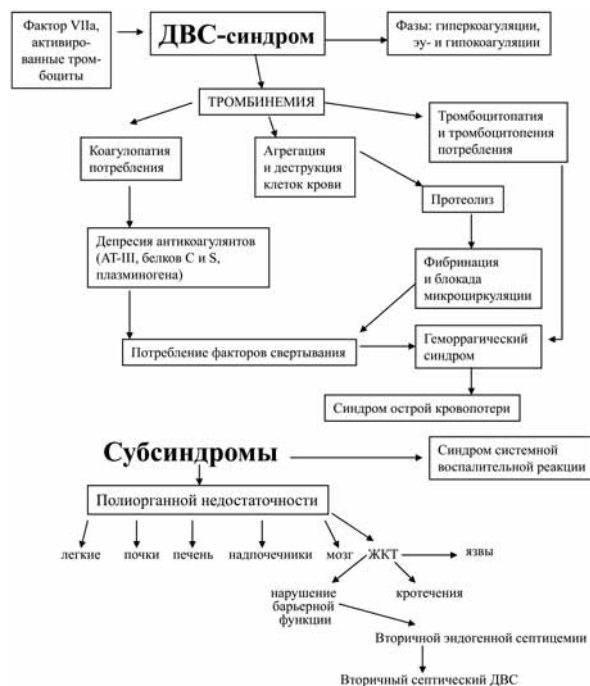


Рис. 1. Схема патогенеза ДВС-синдрома

лечению этого вида патологии — трансфузий фибриногена, введений ингибиторов фибринолиза, способствующих тромбообразованию в магистральных сосудах и усугублению блокады микроциркуляции в жизненно важных органах.

Для ДВС-синдрома характерен ряд глубоких органических нарушений, обозначаемых как «субсиндромы»,^{6-8,12,15,20,23} поскольку все они вторичны. Поэтому их нельзя ставить, как это делают многие патологи и клиницисты, в основу диагноза, обозначая весь процесс как «полиорганную недостаточность». Следует отметить главный источник такой ошибочной диагностики — просмотр в патоморфологических препаратах отложений фибрина в микрососудах органов. Связано это с тем, что зачастую такие исследования проводятся с запозданием, когда произошел уже трупный фибринолиз, а также с тем, что отложения фибрина плохо выявляются обычной окраской (по Гимза или гематоксилином), но четко обнаруживаются при окраске по Пикро-Маллори I и II, что с высокой степенью доказательности показано в трудах Д.Д. Зербино и Л.П. Лукасевич.²²

ВАЖНЕЙШИЕ СУБСИНДРОМЫ ПРИ ДВС

1. Трансформация асептического ДВС-синдрома в септический — закономерность, впервые установленная в трудах З.С. Баркагана

По данным нашей клиники, эта трансформация чаще всего связана либо с инфицированием мест повреждения тканей, либо с нарушением барьерной функции слизистой оболочки кишечника и массивным проникновением его микрофлоры в кровь. Развитие этого грозного осложнения четко выявляется подъемами температуры тела с ознобами, нарастанием лейкоцитоза и сдвига лейкоцитарной формулы влево, ускорением СОЭ, увеличением содержания в сыворотке крови острофазных белков (С-реактивного) и интерлейкинов.

Субсиндром поражения желудка и кишечника включает в себя три различных проявления:

- 1) образование кровоточащих эрозий и язв (так называемые шоковые или гипоксические язвы), возникающие нередко при остром инфаркте миокарда и многих других видах шока;
- 2) диффузную кровоточивость слизистой оболочки — пропитывание ее кровью и пропотевание последней в полость кишечника;
- 3) нарушение барьерной функции слизистой оболочки и появление волны бактериемии с трансформацией асептических форм ДВС в септико-токсические его формы (см. выше).

2. Тромбоцитопения и тромбоцитопатия потребления — нарушение, которое играет существенную роль в развитии тяжелого терминального геморрагического синдрома. Купированию таких кровотечений способствует комбинация криоплазменной терапии с трансфузиями концентрата тромбоцитов.¹⁴

3. Субсиндром легочной (дыхательной) недостаточности. Этот субсиндром возникает зачастую очень рано — в дебюте ДВС-синдрома — и требует немедленного подключения управляемой вентиляции легких, при необходимости раздельного для правого и левого легкого.

4. Синдром острой почечной (ОПН) и/или гепаторенальной недостаточности, зачастую требующей подключения к терапии гемодиализа и этапного плазмафеза.²⁴

5. Субсиндромы поражения и недостаточности других органов — надпочечников (нестабильная гемодинамика), мозга, сердца и др.

Эти нарушения в разных сочетаниях формируют так называемый синдром полиорганной недостаточности, спектр проявлений которого требует гибкого использования в комплексной терапии различных методов коррекции.

ДИАГНОСТИКА ДВС-СИНДРОМА

Предположить наличие ДВС-синдрома можно на основе клинической ситуации, с выявлением всех возможных условий и видов патологии, в том числе и критических состояний, при которых развитие этого синдрома является закономерным. Диагностика же этого синдрома основана на учете клинических проявлений и данных лабораторного обследования больных. Данное заключение согласуется с мнением ряда ведущих специалистов в этой области.^{3,9-10,12-13,19,25-26}

Эти ориентиры имеют самостоятельное значение и взаимно дополняют друг друга. Так, например, острый ДВС-синдром нередко дебютирует с профузного кровотечения, сопровождается шок любой этиологии, быстро приводит к полиорганной недостаточности (ПОН), и эти ситуации нуждаются не в лабораторном подтверждении диагноза и неоправданной потере времени, а в скорейшем начале патогенетической терапии. Роль лабораторной диагностики при этом представляется важной для уточнения тяжести и этапа развития данного синдрома — по степени потребления основных компонентов системы гемостаза — тромбоцитов, фибриногена, физиологических антикоагулянтов — АТ III и протеина С, а также в подборе и оценке эффективности проводимой терапии. Тем не менее в отдельных случаях при подостром течении ДВС-синдрома роль лабораторной диагностики по известным критериям (см. ниже) представляется определяющей, особенно в тех случаях, когда клинические его признаки (ПОН, кровоточивость) еще мало выражены или запаздывают.

Основной причиной развития острого ДВС-синдрома являются системные микроциркуляторные расстройства, приводящие к дисфункции органов с интенсивным кровоснабжением, а это наиболее жизненно важные органы и системы: ЦНС, сердце, легкие, печень, почки, эндокринные железы. Вначале эти изменения могут носить компенсированный характер, затем в зависимости от динамики патологического процесса субкомпенсированный и декомпенсированный характер.^{15,16}

В последнем случае нередко критичные для жизни изменения первоначально затрагивают один орган или систему, а при декомпенсированных расстройствах — несколько

Таблица 1. Связь выраженности органной недостаточности с исходами при ДВС-синдроме

Недостаточность Органов	Число больных	Число летальных исходов	
		абс.	%
Моноорганная	70	4	5,7
Два органа	48	10	20,8
Три органа и более	34	24	70,6

Таблица 2. Критерии оценки пороговых значений для идентификации ПОН — SOFA и Marshall (MODS). Цит. по²⁷

Орган/система	Показатель	Marshall (1995)	SOFA (1996)
Легкие	PO ₂ /FIO ₂	< 300	< 400
Печень	Билирубин	> 20 мкмоль/л	> 20 мкмоль/л
Почки	Креатинин	> 100 мкмоль/л	> 100 мкмоль/л
Сердечно-сосудистая система	ЧСС, ЦВД (центральное венозное давление), САД (среднее артериальное давление)	Индекс, вычисляемый по формуле $\frac{ЧСС \times ЦВД}{САД}$	САД < 70 мм рт. ст.
		более 10	
Система гемостаза	Тромбоциты	< 120 × 10 ⁹ /л	< 100 × 10 ⁹ /л
ЦНС	Шкала Глазго	< 15	< 15

Таблица 3. Клинико-лабораторные ориентиры в оценке степени тяжести ПОН (SOFA)

Острая недостаточность	Показатель	Баллы			
		1	2	3	4
Легких	PO ₂ /FiO ₂	399–300	299–200	199–100	< 100
Печени	Билирубин общий	20–32	33–101	102–204	> 204
Сердечно-сосудистой системы	САД<70 мм рт.ст. при эфekte допамина, мкг/кг/мин	0	< 5	5–15	> 15
Коагулопатия	Тромбоциты	150–100	99–50	49–20	< 20
Почек	Креатинин	110–170	171–299	300–440	> 440
ЦНС	Шкала Глазго	13–14	10–12	6–9	< 6

Примечание. Если выраженность дисфункции по нескольким системам соответствует 1 баллу, но не выше, можно говорить о субкомпенсированной ПОН, дополнительное наличие даже в одном случае достоверной дисфункции в 3–4 балла позволяет судить о декомпенсированной ПОН.

Таблица 4. Ориентиры для расчета показателя полиорганной недостаточности в оценке степени тяжести ПОН по Marshall et al⁷

Орган/система	Баллы				
	0	1	2	3	4
Легкие (PO ₂ /FiO ₂)	> 300	226–300	151–225	76–150	< 75
Почки (креатинин)	< 1,13	1,14–2,26	2,27–3,96	3,97–5,65	> 5,66
Печень (билирубин)	< 1,17	1,18–3,5	3,6–7	7–14	> 14
Сердечно-сосудистая система					
ЧСС × ЦВД	< 10,0	10,1–15,0	15,1–20,0	20,1–30,0	> 30,0
САД					
Система гемостаза (тромбоциты) × 10 ⁹ /л	> 120	81–120	51–80	21–50	< 20
ЦНС (шкала Глазго)	15	13–14	10–12	7–9	< 6

органов. Вероятность летального исхода обычно превышает 50%. В табл. 1 приведены наблюдения нашего центра, полученные у больных с острым и подострым ДВС-синдромом различной этиологии. Отметим, что третья группа представлена пациентами с тяжелыми ожогами и другими несовместимыми с жизнью травмами, а также с генерализованным сепсисом.

Таблица 5. Частота нарушений в системе гемостаза у больных с острым и подострым ДВС-синдромом

Методы исследования и выявленные сдвиги	Число больных	
	абс.	%
Активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ)		
- нормальные показатели	6	5,4
- гипокоагуляция	84	82,1
- гиперкоагуляция	12	12,5
Протромбиновое время		
- нормальные показатели	82	80,1
- гипокоагуляция	9	8,7
- гиперкоагуляция	11	11,2
Тромбиновое время		
- нормальные показатели	78	76,1
- гипокоагуляция	12	11,8
- гиперкоагуляция	12	11,8
Количество тромбоцитов в крови		
- нормальные показатели	22	21,6
- ниже нормы	79	77,5
- выше нормы	1	0,9
Концентрация фибриногена (по Клауссу)		
- нормальные показатели	33	32,6
- гипофибриногенемия	6	5,8
- гиперфибриногенемия	63	61,6
Уровень растворимого фибрина в плазме (по орто-фенантролиновому тесту)		
- нормальные показатели	12	11,7
- выше нормы	90	88,3
Уровень D-димера в плазме		
- нормальные показатели	19	18,6
- выше нормы	83	81,4
Активность антитромбина III (анализ с использованием хромогенного субстрата)		
- нормальные показатели	13	12,9
- ниже нормы	89	87,1
- выше нормы	0	0
Скрининг нарушений в системе протеина С, нормализованное отношение (НО)		
- нормальные показатели	29	28,4
- ниже нормы	73	71,6
- выше нормы	0	0
Уровень плазминогена (анализ с использованием хромогенного субстрата)		
- нормальные показатели	20	19,6
- ниже нормы	82	80,4
- выше нормы	0	0

В Северной Америке и в Европе в настоящее время широко используются критерии полиорганной недостаточности (ПОН), приведенные в табл. 2.

Вычисление показателя SOFA основано на работе Vincent et Coll, опубликованной в 1996 г.⁸ При этом критерии SOFA (Sepsis organ failure assessment) позволяют определить степень органной дисфункции в баллах (табл. 3).

Расчет показателя ПОН (Multiple Organ Dysfunction Score — MODS) может быть выполнен с использованием табл. 4.

Основными и ранними лабораторными маркерами ДВС-синдрома (табл. 5 и 6), являются не только и не столько фазовые сдвиги общих параметров коагулограммы, сколько наличие персистирующей тромбинемии, нарастание содержания в плазме так называемого растворимого фибрина или растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), прогрессирование клеточных маркеров ДВС, в первую очередь спонтанной гиперагрегации тромбоцитов и тромбоцитопении потребления, снижение уровня физиологических антикоагулянтов — АТ III и протеина С и плазминогена.^{1,14,20-21,26,28}

Данные табл. 5 подтверждают приведенный выше тезис, согласно которому преобладающее значение в лабораторной диагностике ДВС-синдрома имеет не выявление гиперили гипокоагуляционного сдвигов и гипофибриногенемии (которая характерна лишь для молниеносных форм патологии и терминальной фазы глубокой несвертываемости крови), а обнаружение тромбоцитопении, высокого уровня маркеров тромбинемии (растворимого фибрина и D-димера) и, что особенно важно, потребления физиологических антикоагулянтов, степень снижения которых наряду с тромбоцитопенией и выраженностью клинических проявлений отражает тяжесть ДВС-синдрома.

Таблица 6. Показатели коагулограммы ($\bar{X} \pm m$) у больных с ДВС-синдромом и тромбофилией²¹

Группа больных	Число больных	Антитромбин III, %	Скрининг нарушений в системе протеина С, нормализованное отношение	Уровень плазминогена, %	Растворимый фибрин в плазме, мкг/мл	Концентрация фибриногена, г/л	Количество тромбозов в крови, $\times 10^3$ /л	Гиперкоагуляция по АПТВ, % наблюдений
Больные с острым ДВС-синдромом (группа 1)	102	73,0 $\pm$ 2,7	0,65 $\pm$ 0,03	59,8 $\pm$ 1,9	12,3 $\pm$ 0,7	4,8 $\pm$ 0,1	108,1 $\pm$ 11,6	17
Больные с тромбофилией в острый период тромбоза (группа 2)	33	94,1 $\pm$ 4,2	0,78 $\pm$ 0,04	107,1 $\pm$ 4,3	8,4 $\pm$ 1,2	4,1 $\pm$ 0,2	240,4 $\pm$ 13,0	13
Больные с гиперкоагуляционным синдромом при злокачественных новообразованиях (группа 3)	32	97,9 $\pm$ 1,2	0,91 $\pm$ 0,03	105,5 $\pm$ 2,4	13,4 $\pm$ 1,1	4,1 $\pm$ 0,1	264,0 $\pm$ 12,0	28
Достоверность различий между группами больных: P_{1-2}		< 0,001	< 0,02	< 0,001	> 0,1	< 0,01	< 0,001	-
P_{1-3}		< 0,001	< 0,001	< 0,001	> 0,1	< 0,001	< 0,001	-
Норма (контроль)	80	100,1 $\pm$ 1,5	1,1 $\pm$ 0,02	100,1 $\pm$ 1,3	3,0 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,1	232,1 $\pm$ 3,7	0

С другой стороны, следует подчеркнуть, что увеличение в крови концентрации свидетелей активации свертывания крови и фибринолиза (растворимого фибрина и D-димера) не может рассматриваться в качестве независимого критерия развития ДВС-синдрома, поскольку эти маркеры закономерно появляются в кровотоке и при других видах внутрисосудистого свертывания крови (гиперкоагуляционные состояния, гематогенные тромбофилии, тромбозы магистральных артерий и вен). Проведенный нами сравнительный анализ, результаты которого представлены в табл. 6, наглядно демонстрирует информативность тех или иных сдвигов коагулограммы для дифференциальной диагностики острого и подострого ДВС-синдрома с тромбозами (или склонностью к тромбозам) сосудов различной локализации.

В дополнение к сказанному отметим, что при лабораторной диагностике и мониторинговании острых и подострых ДВС-синдромов всегда следует учитывать возможное влияние на результаты исследований гепаринемии (при анализе крови, полученной посредством катетера или при терапии гепарином), гемодилюции, наблюдающейся при массивной инфузионной терапии, гиперцитратемии и ряда плазмозаместителей, особенно реополиглюкина. Выраженная гипокоагуляция и ложная гипопфибриногенемия могут быть временными и связанными с перечисленными выше лекарственными воздействиями, поэтому забор крови на исследование следует производить не ранее чем через 1 ч после окончания объемных трансфузий.²⁶

Таким образом, ситуационно-клинические данные служат основой диагностики ДВС-синдрома, тогда как исследование системы гемостаза в большинстве случаев подтверждает диагноз и имеет существенное значение для оценки тяжести и эволюции этого процесса, эффективности его терапии. При остром ДВС-синдроме фаза начальной гиперкоагуляции очень кратковременна, ее продолжительность часто измеряется лишь минутами, и зачастую не улавливается, поскольку в этой фазе часто вообще не удается получить кровь на анализ из-за тромбирования сосуда, подвергшегося пункции, его запустевания (шок), тромбирования иглы или немедленного образования сгустка в пробирке с набранной кровью, несмотря на смешивание последней с цитратом натрия. Лишь при хроническом ДВС-синдроме эта фаза гиперкоагуляции уже не призрачна, а может длиться часами и днями, сочетаться с тромбозами магистральных вен. В последующем в коагулограмме доминируют, как известно, тромбозопения, депрессия физиологических антикоагулянтов и коагулопатия потребления с разнонаправленными сдвигами коагуляционных тестов, нарастанием в крови тромбинемии, РФМК и D-димера (признаки интенсивности свертывания крови и фибринолиза), а затем — развитием выраженной гипокоагуляции, вплоть до полной несверты-

ваемости крови, отсутствием сгустков в крови, вытекающей из матки, кишечника, носа и ран. Хирургические вмешательства (релапаротомия и др.) на этом этапе крайне опасны, так как осложняются появлением дополнительных источников кровопотери, усилением гипоксии, гемодинамических нарушений (шока) и органной недостаточности. В этих условиях мы по мере возможности избегаем выполнения операций по удалению одного из кровотокающих органов (например, матки) до купирования геморрагического синдрома и стабилизации гемодинамики. Этот маневр в настоящее время стал вполне реализуемым в связи с обогащением клиники новыми гемостатическими препаратами.

ПРИНЦИПЫ ЛЕЧЕНИЯ

Терапия острого и подострого ДВС-синдрома включает в себя следующие основные воздействия:

- Этиотропные, направленные на быстрое и возможно более раннее устранение причины ДВС-синдрома, в том числе методами хирургической коррекции, антибактериальной терапии и, при необходимости, этапным плазмаферезом. Эффективное и раннее лечение основного (фонового) патологического процесса;
- Ранние и повторные трансфузии больших количеств свежзамороженной плазмы — СЗП (не менее 800–1000 мл/сут, а в наиболее тяжелых случаях, например, при краш-синдроме, плазму вводят одновременно в несколько вен, доводя общий суточный ее объем до нескольких литров с учетом объема кровов- и плазмопотери) для замещения убыли физиологических антикоагулянтов, плазминогена и факторов свертывания. Терапия СЗП впервые предложенная и апробированная в нашей клинике, в настоящее время является общепринятым базисным методом патогенетической терапии острого и подострого ДВС-синдрома.^{6,14,17-18,20,23,29-31}

Методика трансфузий СЗП

Быстро внутривенно методом «быстрой капли» вводят в 1–3 приема до 1–2 л СЗП под контролем центрального венозного давления. Общая суточная доза варьирует в зависимости от клинической ситуации в пределах 800–4000 мл, но не менее 15–20 мл/кг массы тела.

Эффективность терапии СЗП зависит от времени начала ее введения — чем раньше оно начато, тем эффект лечения выше. Это требует правильной организации обеспечения реанимационных отделений запасами СЗП. Перед введением СЗП должна быть разморожена и подогрета до 38 ... 40 °С. Введение холодной СЗП строго противопоказано, поскольку последнее усиливает явления шока, системных нарушений кровотока и гемостаза.^{23,26, 29-31}

На согревание плазмы должно быть затрачено возможно меньше времени, для чего используется либо разминание мешков с плазмой руками в проточной горячей воде, либо специальные размораживатели, доводящие за 10–20 мин температуру плазмы до необходимой.

К одной дозе СЗП (около 250 мл) можно добавлять 500–1000 ед гепарина (при отсутствии прямой угрозы усиления кровотечения).

Поскольку СЗП является объемным кровезаменителем, ее количество должно быть учтено при расчете общего количества вводимых жидкостей (полиглюкина, крахмала и др.).

Переливания СЗП должны всегда предшествовать трансфузиям эритроцитарной массы (если для последних имеются показания), в этом случае соотношение объемов этих сред должно быть не менее 3:1. Это связано с тем, что компоненты красной крови, не разбавленные плазмой и плазмозамещающими растворами, увеличивают блокаду микроциркуляции в органах-мишенях и способствуют углублению сладжа эритроцитов и синдрома ПОН.

Менее интенсивная терапия СЗП не дает достаточного терапевтического эффекта и не снижает в достаточной степени летальности больных.

Для предупреждения цитратной интоксикации и гипокальциемии при переливании СЗП показано введение 5–10 мл 10% раствора хлорида кальция на каждые 400–500 мл плазмы.

При некоторых видах ДВС-синдрома (злокачественной пурпуре новорожденных и ряде других) целесообразно внутривенное введение концентрата протеина С (цепротина). Показано также применение активированного протеина С (зигрис) при тяжелом сепсисе.^{32,33}

Эти воздействия существенно повышают эффективность терапии септических больных, в крови которых уровень протеина С значительно снижен.

Плазмаферез при ДВС-синдроме

Показаниями для проведения дискретного (этапного) плазмафереза являются тяжелая эндогенная интоксикация, острая почечная недостаточность, гепаторенальный синдром. При краш-синдроме, ожоговом и септическом шоке плазмаферез способствует стабилизации гемодинамики и вместе с гемодиализом является средством профилактики и терапии острой почечной недостаточности. Он проводится ежедневно с удалением за сеанс до 500 мл плазмы.²⁴

Гепарин при ДВС-синдроме

В настоящее время при лечении острого и подострого ДВС-синдромов большинство авторов не прибегает к рекомендовавшейся ранее гепаринотерапии (путем длительных инфузий под контролем АЧТВ). В больших рандомизированных исследованиях показано, что гепаринизация в таких условиях нередко усиливает тенденцию к кровоточивости, не оказывая существенного влияния на течение и исходы острого и подострого ДВС-синдрома. Вместе с тем гепарин усиливает и ускоряет снижение содержания в крови антитромбина III и потенцирует агрегацию тромбоцитов.³⁴

Поэтому гепарин используется в малых дозах (внутривенно по 1–2 тыс. МЕ на каждые 400–500 мл плазмы) лишь для прикрытия трансфузий СЗП (см. выше).¹⁴

В отличие от этого, обычный или низкомолекулярный гепарин в профилактических или лечебных дозах является основой лечения хронического ДВС-синдрома, протекающего с персистирующей гиперкоагуляцией, тромбинемией, блокадой микроциркуляции в органах и тромбозами магистральных сосудов, в частности, в онкологической практике³⁵ и ортопедии.³⁶

Этот прием важен еще и потому, что хронический ДВС-синдром часто сочетается с тромбозами магистральных вен и тромбозом легочной артерии.

По показаниям при наличии деструктивных изменений в органах и сепсисе к базисной терапии добавляют введения антипротеаз.

Купирование кровотечений

В терминальной фазе несвертываемости крови и массивных кровотечений в комплексную терапию включаются трансфузии концентрата тромбоцитов. При этом показано введение 4–6 доз концентрата тромбоцитов, при необходимости полученных от нескольких доноров.¹¹

При неэффективности других средств лечения и продолжения угрожающего жизни кровотечения, по нашим предварительным наблюдениям, весьма перспективно применение рекомбинантного фактора VIIa (препарат НовоСэвен) в дозах от 60 до 90 мкг/кг. При необходимости такие введения повторяют с периодичностью 3 ч до полной остановки кровотечения. В нашем центре имеется более 20 случаев успешного купирования с помощью этого препарата тяжелейших кровотечений при терминальных ДВС-синдромах у онкогематологических больных и при акушерском ДВС, обусловленном легочной эмболией околоплодными водами, преждевременной отслойкой плаценты, а также в случае ряда других жизнеугрожающих состояний.^{37–40}

Если эти данные подтвердятся в дальнейших наблюдениях и будут сформулированы соответствующие показания и рекомендации, в руках клиницистов окажется новый мощный рычаг лечения терминальных ДВС-синдромов. В настоящее время этот препарат официально показан для лечения кровотечений при врожденных расстройств гемостаза (ингибиторной форме гемофилии А и В, дефиците фактора VII, тромбастении Гланцмана с наличием антител к GpIIb/IIIa тромбоцитов), но практика его нелицензионного использования интенсивно расширяется в мире для оказания помощи при акушерских кровотечениях, геморрагических инсультах, при профилактике и лечении кровотечений у онкологических и кардиологических больных.^{41–45}

Нужно признать, что имеющиеся в литературе отзывы об эффективности гемостатических эффектов и наличии тромботических осложнений НовоСэвена при негематологических заболеваниях пока достаточно противоречивы, что объясняется отсутствием результатов многоцентровых рандомизированных плацебо-контролируемых исследований по этой теме.

Оценка эффективности терапии ДВС-синдрома проводится по отслеживанию динамики состояния больного и коррекции нарушений по ряду лабораторных тестов.

В числе клинических критериев основные: купирование геморрагического синдрома, обратное развитие органических нарушений.

Лабораторные критерии: динамика активности АТ III, тромбинемии (по уровню РФМК и D-димера), количество тромбоцитов в крови и фибриногена.

Для иллюстрации вышесказанного мы ретроспективно сравнили эффективность заместительной терапии различными дозами СЗП 102 больных (в возрасте от 15 до 68 лет) по данным случайной сплошной выборки (на протяжении 14 мес) в 7 клиниках г. Барнаула при остром и подостром ДВС-синдроме с учетом исходов этого процесса (табл. 7 и 8). В частности, учитывались основные клинические проявления ДВС-синдрома (нарушения функции жизненно важных органов, кровоточивость) показатели летальности, оценивалась динамика активности физиологических антикоагуля-

Таблица 7. Данные о распределении обследованных групп больных по этиологии ДВС-синдрома (n = 102)

Группа больных	Число наблюдений
1. Инфекционно-септический ДВС-синдром, в т. ч. при:	68
- сепсисе	16
- пневмонии	38
- пиелонефрите и паранефрите	10
- инфицированной травме	2
- острым эндометрите	2
2. Акушерский ДВС-синдром, в т. ч. при:	13
- эклампсии	5
- антенатальной гибели плода	8
3. ДВС-синдром при ожоговой болезни в стадии ожогового шока и токсемии	13
4. Послеоперационный и посттравматический ДВС-синдром	8

Таблица 8. Прогностическое значение трансфузий разных доз СЗП у больных с острым и подострым ДВС-синдромом

Исход	Трансфузии СЗП, мл/сут	
	300–750 (n = 62)	800–2000 (n = 40)
Благоприятный	47 (75,8)	36 (90,0)
Летальный	15 (24,2)	4 (10,0)

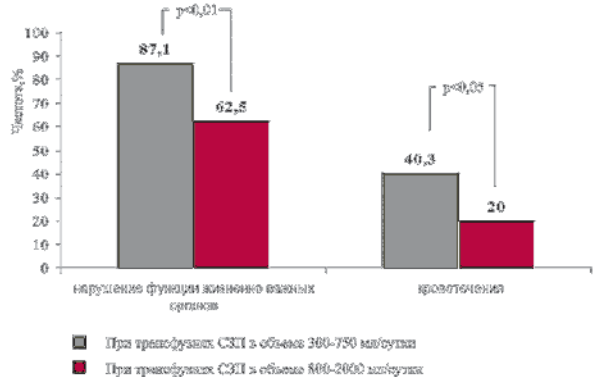
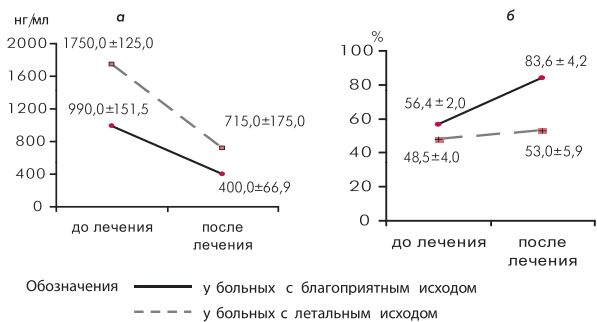
Примечание. Данные представлены как число больных (в скобках — процент).

тов, а также уровня плазминогена и D-димера по методам, описанным в отечественном руководстве по диагностике нарушений гемостаза.²¹

Анализ частоты основных клинических проявлений у этих больных при разной интенсивности терапии СЗП представлен на рис. 2, из которого видно, что при переливаниях СЗП в объеме 300–750 мл/сут у больных достоверно чаще развивались полиорганная недостаточность и кровотечения, что свидетельствовало о более тяжелом течении ДВС-синдрома. Это подтверждает и учет исходов заболевания (табл. 8).

В наших наблюдениях в группе больных с ДВС-синдромом, получавших заниженные дозы СЗП, летальность оказалась в 2,4 раза большей, в сравнении с группой, где помимо влияния всех привходящих факторов (тяжесть состояния, раннее начало лечения, адекватность антибиотикотерапии, особенности оперативного вмешательства), проводилась адекватная по объему криоплазменная терапия ($p < 0,05$).

Представляла интерес динамика изученных нами параметров гемостаза в период до и после проведенного лечения (через 6–9 дней от начала комплексной терапии, включавшей трансфузии разных объемов СЗП). В соответствии с полученными данными (табл. 9), исходные нарушения были примерно одинаковы в обеих группах наблюдений, но у пациентов, получавших 300–750 мл СЗП в сутки, активность АТ III повысилась в среднем лишь на 17,3% и оставалась сниженной у 29% больных, тогда как после ежедневных трансфузий СЗП в объеме 800–2000 мл/сут эта активность увеличилась в среднем на 40,2% и достигла уровня нормальных значений. Такая же

**Рис. 2.** Частота основных клинических проявлений у больных с ДВС-синдромом, получавших различные дозы СЗП**Рис. 3.** Динамика уровня D-димера (а) и плазминогена (б) у больных с острым и подострым ДВС-синдромом при различном исходе

закономерность наблюдалась нами и по положительным сдвигам нарушений в системе протеина С и уровня плазминогена. Анализируя изменения содержания в плазме крови D-димера, мы не обнаружили статистически значимых различий между сравниваемыми группами больных.

Для оценки значения параметров коагулограммы при мониторинге эффективности лечения ДВС-синдрома мы провели соответствующий анализ отдельно по группам выживших (n = 83) и умерших (n = 19) больных. Данные этого сравнительного исследования представлены в табл. 10.

В соответствии с представленными данными, существенное различие между этими двумя подгруппами до начала лечения было определено по уровню D-димера. У пациентов с наступившим в последующем летальным исходом среднее значение этого показателя было в 1,8 раза выше в сравнении с выздоровевшими больными ($p < 0,001$).

Как видно из таблицы, активность АТ III, компонентов системы протеина С и уровень плазминогена до начала лечения у выживших и умерших больных были сходными и характеризовались значительным снижением этих показателей

Таблица 9. Динамика основных параметров системы гемостаза в зависимости от интенсивности трансфузий СЗП при острым и подострым ДВС-синдромом

Параметры гемостаза	Доза СЗП до начала лечения, мл/сут		p_{1-3}	Доза СЗП после 6–9 дней терапии при объемах, мл/сут		p_{2-4}
	300–750 (1)	800–2000 (2)		300–750 (3)	800–2000 (4)	
АТ III, %	61,3 ± 3,4	59,2 ± 3,7	< 0,01	78,6 ± 4,1	99,4 ± 4,2	< 0,001
	$p_{1-2} > 0,5$			$p_{3-4} < 0,001$		
Нарушения в системе протеина С, НО	0,63 ± 0,03	0,59 ± 0,02	< 0,2	0,70 ± 0,04	0,81 ± 0,03	< 0,001
	$p_{1-2} < 0,2$			$p_{3-4} < 0,05$		
Плазминоген, %	55,4 ± 1,9	53,7 ± 2,0	< 0,05	68,1 ± 5,8	98,9 ± 6,3	< 0,001
	$p_{1-2} > 0,5$			$p_{3-4} < 0,001$		
D-димер, нг/мл	975,5 ± 85,0	1150,0 ± 110,0	< 0,001	550,0 ± 50,0	435,5 ± 55,0	< 0,001
	$p_{1-2} < 0,5$			$p_{3-4} < 0,2$		

Таблица 10. Динамика активности АТ III, системы протеина С, уровня плазминогена и D-димера у больных с ДВС-синдромом при различных исходах

Показатель	Этап обследования		$p_{1,2}$
	до начала трансфузий СЗП (1)	через 6–9 дней от начала лечения (2)	
При благоприятном исходе (А)			
АТ III, %	61,0 ± 2,9***	92,7 ± 2,6*	< 0,001
Нарушения в системе протеина С, НО	0,63 ± 0,02***	0,80 ± 0,02***	< 0,001
Плазминоген, %	56,4 ± 2,0***	83,6 ± 4,2***	< 0,001
D-димер, нг/мл	990,0 ± 151,5***	400,0 ? 66,9*	< 0,001
При летальном исходе (Б)			
АТ III, %	58,1 ± 3,6***	66,3 ± 5,0***	< 0,2
p_{A-B}	> 0,5	< 0,001	
Нарушения в системе протеина С, НО	0,60 ± 0,03***	0,61 ± 0,03***	> 0,5
p_{A-B}	> 0,5	< 0,001	
Плазминоген, %	48,5 ± 4,0***	53,0 ? 5,9***	< 0,5
p_{A-B}	< 0,1	< 0,001	
D-димер, нг/мл	1750,0 ± 125,0***	715,0 ± 75,0***	< 0,001
p_{A-B}	< 0,001	< 0,01	

Примечание. Достоверность различий по сравнению с контролем:

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

по сравнению с нормальными значениями. После проведения комплексной терапии у больных с благоприятным исходом произошла нормализация этих показателей. Уровень D-димера при этом достоверно снизился в 2,5 раза. Напротив, у умерших больных оставались низкими как активность физиологических антикоагулянтов, так и уровень плазминогена, тогда как содержание D-димера в плазме снизилось в 2,4 раза, т. е. в той же мере, что и у выживших больных. Это, на наш взгляд, может свидетельствовать о недостаточном восстановлении (деблокаде) микроциркуляции в органах-мишенях.

Дисперсионный анализ, проведенный с помощью статистических программ ANOVA показал, что активность АТ III и компонентов системы протеина С, а также уровень плазминогена достоверно ($p < 0,001$) отличались по динамике в группах выживших и умерших больных, что свидетельствует об определенном прогностическом значении динамики этих тестов при ДВС-синдроме.

Учитывая роль фибринолитической системы в деблокаде микроциркуляции при ДВС-синдроме,⁴⁶ мы отдельно сопоставили динамику уровней плазминогена и D-димера у обследованных больных с различными исходами.

Результаты этого анализа представлены графически на рис. 3.

Полученные данные свидетельствуют, что до начала трансфузионной терапии ДВС-синдрома имело место снижение уровня плазминогена на фоне высокого содержания D-димера. Это говорит, по-видимому, о том, что при ДВС-синдроме происходит диссоциация между локальным фибринолизом (с накоплением плазминогена в местах отложения фибрина) и активностью плазминогена в циркулирующей крови. Убыль плазминогена в исследованной нами венозной крови больных, вероятно, связана с его вовлечением в лизис фибриновых отложений в сосудах, о чем говорит закономерное повышение концентрации одного из основных продуктов деградации фибрина — D-димера. Из наших данных следует также, что при эффективной терапии больных с ДВС-синдромом происходит повышение уровня плазминогена и снижение D-димера в плазме, свидетельствующее (наряду с нарастанием активности физиологических антикоагулянтов) о деблокаде микроциркуляции в органах-мишенях и общем благоприятном сдвиге в системе гемостаза. Напротив, у умерших больных, несмотря на проводимое лечение, сохранялся низкий уровень плазминогена, сочетающийся со снижением уровня D-димера, что говорит о низкой интенсивности лизиса фибрина в микрососудах. У всех этих больных

отмечалась также прогрессирующая полиорганная недостаточность, что позволяет рассматривать указанную дискордантность показателей признаком неблагоприятного течения заболевания.

Вместе с тем необходимо отметить, что в ряде случаев при тяжелых ДВС-синдромах, связанных с большой кровью и плазмотерией (краш-синдром, ожоги, синдром массивных гемотрансфузий, злокачественная пурпура новорожденных и др.), когда больным вводятся большие объемы плазмозаместителей, трансфузии СЗП менее эффективны для повышения концентрации АТ III и протеина С и купирования ДВС-синдрома. Кроме того, трансфузии плазмы проблематичны у пациентов при перегрузке гемоциркуляции, сопровождающейся острой почечной недостаточностью и при отсутствии значительных по объему кровотечений. Для снижения вероятности интерстициального отека легких при значительной трансфузионной нагрузке СЗП и высоком центральном венозном давлении (в том числе при острой почечной недостаточности) перспективным представляется использование СЗП (в дозе 10–12 мл/кг/сут) в комбинации с выделенным из плазмы концентратом АТ III («Антитромбин III человеческий», зарегистрирован в России фирмой «Бакстер»). Данный препарат, как и ряд аналогичных, в течение многих лет с успехом используется в мировой практике для коррекции уровня АТ III в клинических случаях первичного или вторичного дефицита этого физиологического антикоагулянта.^{47–49}

В последнее время появились и отечественные публикации по этой теме.^{50,51}

Получаемые преимущества при комбинации СЗП с препаратом антитромбина III при заместительной терапии острого и подострого ДВС-синдрома:

- снижение трансфузионной нагрузки на сосудистое русло;
- повышение эффективности заместительной терапии СЗП за счет более полного восполнения дефицита про- и антикоагулянтов в отличие от изолированных трансфузий концентрата АТ III.
- уменьшение риска вирусного инфицирования в связи со снижением числа доноров плазмы;
- ускорение оказания помощи (концентрат АТ III не требует размораживания);
- данный подход более экономичен в сравнении с использованием для заместительной терапии только концентрата АТ III.

В нашем центре комплекс СЗП с АТ III с хорошим эффектом был апробирован у двух больных с тяжелым грампо-

ложительным сепсисом. В настоящее время специалистами региона решается вопрос о расширенном применении этой технологии при различных видах ДВС-синдрома.

В заключение можно отметить, что своевременная диагностика острого и подострого ДВС-синдрома, раннее под-

ключение этиотропной и патогенетической терапии с учетом вида патологии и особенностей течения болезни являются обязательным условием эффективной борьбы с этим тяжелым осложнением, характерным для критических и неотложных состояний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мачабели М.С. Коагулопатические синдромы. М., Медицина; 1970.
2. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. М., Медицина; 1980.
3. Кузник Б.И., Михайлов В.Д., Альфонсов В.В. Тромбогеморрагический синдром в онкогематологии. Томск, Изд-во Томского университета; 1983.
4. Баркаган З.С. Руководство по гематологии. Под ред. А.И.Воробьева. М., Медицина; 1985. Т. 2. с. 201–48.
5. Баркаган З.С. Общие принципы исследования системы гемостаза и анализ новых методов выявления внутрисосудистого свертывания крови. Тер арх. 1988; (5):104–10.
6. Баркаган З.С. Тромбогеморрагический синдром. БМЭ, 3-е изд. 1988. с. 527–30.
7. Marschall J.C., Deborah J., Christou, N.V., et al. Multiple Organ Dysfunction Score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome. Crit Care Med. 1995; 23:1638–52.
8. Vincent J.L., Coll M. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ Dysfunction failure. Intensive Care Med. 1996; 22:707–10.
9. Лычев В.Г. Диагностика и лечение диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. Н. Новгород, Мед. книга – НГМА; 1998.
10. Васильев С.А., Воробьев А.И., Городецкий В.М. Протокол диагностики и лечения острого ДВС синдрома. Пробл гематол и перелив крови 1999; (3):40–4.
11. Воробьев А.И., Городецкий В.М., Шулюто Е.М., Васильев С.А. Острая массивная кровопотеря. М., ГЭОТАР-МЕД; 2001.
12. Taylor F., Toh C., Hoots W., et al. Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation on behalf of the Scientific Subcommittee on Disseminated Intravascular Coagulation of the International Society of Thrombosis and Haemostasis. Thromb. Haemost. 2001; 86:1327–30.
13. Bakhtiari K., Meijers J., de Jonge M., Levi M. Prospective validation of the International Society of Thrombosis and Haemostasis scoring system for disseminated intravascular coagulation. Crit Care Med. 2004; 43:2416–21.
14. Баркаган З.С. Гемостаз. В кн.: Руководство по гематологии в 3 тт. Т. 3. Под редакцией А.И. Воробьева. 3-е изд., перераб. и доп. М., Ньюдиамед; 2005. с. 9–147.
15. Marsh R., Nadel E.S., Brown D.F. Multisystem organ failure. J Emerg Med. 2005; 29(3):331–4.
16. Rangel-Frausto M.S. Sepsis: still going strong. Arch Med Res. 2005; 36(6):672–81.
17. Баркаган З.С., Лычев В.Г., Бишевский К.М. Современные проблемы диагностики и патогенетической терапии синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. Тер арх. 1979; (9):11–8.
18. Баркаган З.С., Лычев В.Г., Бишевский К.М. и др. Значение активации и истощения противосвертывающих механизмов и некоторых факторов повреждения эндотелия в эволюции и терапии ДВС-синдрома. В кн.: Теоретические и практические вопросы гематологии и переливания крови. Мат. научн. сессии. Минск, 1982. с. 17–8.
19. Баркаган З.С., Лычев В.Г. Распознавание синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания: методология и экспертная оценка. Лаб дело 1989; (7):30–5.
20. Баркаган З.С. Патогенез, диагностика и принципы терапии ДВС-синдрома. Materia Medica 1997; 1(13):5–14.
21. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М., Изд-во Ньюдиамед; 2001.
22. Зербино Д.Д., Лукасевич Л.Л. Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови: Факты и концепции. М., Медицина; 1989.
23. Баркаган З.С. Узловые вопросы комплексной терапии острого и подострого ДВС-синдрома. Вестн интенсив тер 1992; 1(1):11–7.
24. Воробьев П.А. Прерывистый лечебный плазмаферез. М., Ньюдиамед-АО; 1998.
25. Воробьева Н.А. ДВС-синдром что нового в старой проблеме? Архангельск, Северный государственный медицинский университет; 2006.
26. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. СПб., ФормаТ; 2006.
27. Сидоренко С.В., Яковлев С.В. Инфекции в интенсивной терапии. 2-е изд., перераб. и доп. М., Изд-во "Бионика"; 2003.
28. Баркаган З.С., Тамарин И.В. Оценка степени повреждения эритроцитов при диссеминированном внутрисосудистом свертывании крови. Лаб дело 1988; (4):35–9.
29. Баркаган З.С. Проблемы терапии синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания. Тер арх. 1983; (12):124–5.
30. Баркаган З.С. К обоснованию криотрансфузионной терапии тромбозов, ДВС-синдромов, терминальных состояний. В кн.: Новое в гематологии и трансфузиологии. Тез. докл. II съезда гематологов и трансфузиологов Узбекистана. Ташкент, 1983. с. 223–5.
31. Баркаган З.С. Лечение синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. В кн.: Справочник практического врача. Под ред. А.И. Воробьева. М., Медицина; 1990. Т.1. с. 71–4.
32. Higgins T.L., Steingrub J.S., Tereso G.J. Drotrecogin alfa (activated) in sepsis: initial experience with patient selection, cost, and clinical outcomes. J Intensive Care Med. 2005; 20(6):339–45.
33. Nguyen H.B., Corbett S.W., Menes K. Early goal-directed therapy, corticosteroid, and recombinant human activated protein C for the treatment of severe sepsis and septic shock in the emergency department. Acad Emerg Med. 2006; 13(1):109–13.
34. Летягин С. Гемостаз и геморрагические заболевания Пер. с англ. М., Аир-Арт; 2004.
35. Баркаган З.С., Шилова А.Н., Ходоренко С.А. и др. Обоснование новой методологии антитромботической профилактики у оперированных онкологических больных пожилого возраста. Материалы межрегиональной научно-практической конференции 6-7 июня 2003 года «Актуальные вопросы онкогастроэнтерологии». Том 1. Барнаул, 2003. с. 20–1.
36. Hirsh J. Prevention venous thromboembolism in major orthopedic surgery. BC Decker Inc., Hamilton-London, 2004.
37. Баркаган З.С., Мамаев А.Н., Морозова Л.И., Мамаева И.Н. Опыт успешного применения рекомбинантного активированного фактора VII в терапии острого ДВС-синдрома. Омский научный вестник 2005; 30(1):86–7.
38. Баркаган З.С., Мамаев А.Н., Ходоренко С.А. и др. Опыт применения препарата НовоСевен в терапии терминальных кровотечений. Омский научный вестник 2005; 30(1):86–7.
39. Баркаган З.С., Морозова Л.И., Мамаев А.Н., Мамаева И.В. Органосберегающая технология в терапии терминальных актуальных кровотечений. Трудный пациент 2006; 4(2):13–5.
40. Баркаган З.С. Ходоренко С.А., Мамаев А.Н. и др. Опыт применения рекомбинантного фактора VIIa в терапии и профилактике интра- и послеоперационных кровотечений у онкологических больных. Тромбоз, гемостаз и реология 2006; 1(25):69–71.
41. Плющ О.П., Андреев Ю.Н., Городецкий В.М. и др. Рекомбинантный активированный фактор VII в клинической практике. Пособие для врачей гематологов. М., Изд-во ООО «МАКС-Пресс»; 2004.
42. Price G., Kaplan J., Skowronski. Use of recombinant factor VIIa to treat life-threatening non-surgical bleeding in a post-partum patient. Br J Anesth. 2004; 93(Suppl 2):298–300.
43. Ahonen J., Jokela R. Recombinant factor VIIa for life-threatening post-partum haemorrhage. Br J Anesth. 2005; 94:592–5.
44. Дементьева И.И., Еременко А.А., Чарная М.А. и др. Использование рекомбинантного активированного фактора VIIa в хирургической практике. Пособие для врачей. М., Изд-во ООО «Макс Пресс»; 2006.
45. Hardy J.-F. Recombinant activated factor VII is and effective in the management of critical bleeding. Con. J. Compilation, 2007 LMS Group, Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine. Abstr. Of the 8th Annual NATA Symposium. V. 9, Suppl. 1. Abstr. S14. P. 9–10.
46. Баркаган З.С., Шойхет Я.Н. Обоснование, тактика применения и эффективность криоплазменно-антиферментной терапии при сепсисе и инфекционно-деструктивных процессах. Гематол и трансфузиол. 1989; (10):8–12.
47. Blauhut B., Neccek S., Vinazzer H., Bergmann H. Substitution therapy with an antithrombin III concentrate in shock and DIC. Thromb Res. 1982; 27:271–8.
48. Baudo F., Caimi T.M., de Cataldo F., et al. Antithrombin III (ATIII) replacement therapy in patients with sepsis and or postsurgical complications: a controlled double-blind, randomized, multicenter study. Intensive Care Med. 1998; 24:336–42.
49. Kienast J., Juers M., Wiedermann C., et al. KyberSept investigators. Treatment effects of high-dose antithrombin without contaminant heparin in patients with severe sepsis with or without disseminated intravascular coagulation. J Thromb Haemost. 2006; 4:90–7.
50. Воробьева Н.А. Е.Л. Непорада, О.В. Турндаевская, Г.Н.Мельникова. Место концентрата антитромбина III в интенсивной терапии ДВС-синдрома. Анест и реаниматол. 2007; (2):42–4.
51. Ройтман Е.В. Самсонова Н.Н. Воробьева Н.А. Применение препарата «Антитромбин III» при критических состояниях. Результаты кооперативного исследования Материалы 3-й Всероссийской научной конференции «Клиническая гемостазиология в сердечно-сосудистой хирургии (с международным участием) Москва, 1–3.02.2007 г. с. 201–2.

Клиническое применение препарата рекомбинантного активированного VII фактора свертывания крови по незарегистрированным показаниям

И.А. Курмуков

Recombinant VIIa factor in off-label clinical practice

I.A. Kurmukov

Keywords:

rVIIa, off-label use, bleeding, haemostasis

N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow

Контакты: i_a_kurmukov@list.ru

Ключевые слова

rVIIa, применение по незарегистрированным показаниям, кровотечение, гемостаз

ВВЕДЕНИЕ

Рекомбинантный активированный VII фактор свертывания (далее — rVIIa) поступил в клиническую практику в 1983 г.¹ и был первоначально зарегистрирован в Европе и США для применения при кровотечениях у больных с ингибиторной формой гемофилии А и В. В последующем зарегистрированные показания к применению были расширены. С 2005 г. препарат разрешен для лечения кровотечений и их профилактики при хирургических вмешательствах (или других инвазивных процедурах) у больных с врожденной гемофилией с уровнем ингибиторов к факторам коагуляции VIII или IX более 5 БЕ (Bethesda Units; BU высокий уровень ингибирующего фактора ответственен за недостаточный эффект заместительной терапии VIII или IX факторами при гемофилии А и В соответственно); врожденной гемофилией с выраженной реакцией на введение факторов VIII или IX в анамнезе; приобретенной гемофилией; врожденным дефицитом VII фактора; тромбастенией Гланцманна с наличием антител к гликопротеинам $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GP IIb—IIIa) тромбоцитов и/или HLA и резистентностью к переливанию тромбоцитов в прошлом или в настоящее время.² Иные показания к применению препарата официально ни в одной стране не зарегистрированы.

В состав препарата входит активированный рекомбинантный коагулирующий VII фактор с молекулярной массой 50 кД, произведенный методом генной инженерии с использованием

в качестве клетки-хозяина клеток почек новорожденных хомячков. В норме около 1 % всего присутствующего в плазме проконвертина (VII фактора свертывания) находится в активированной форме (VIIa). При повреждении сосудистой стенки VIIa фактор взаимодействует с тканевым фактором (TF). Комплекс TF-VIIa переводит IX и X факторы свертывания в активную форму — IXa и Xa. Активированные IX и X факторы свертывания в присутствии ионов кальция способствуют превращению небольших количеств протромбина в тромбин. Тромбин в месте повреждения сосудистой стенки активирует тромбоциты, а также V и VIII факторы свертывания (вызывающие, в свою очередь, превращение фибриногена в фибрин и образование строма гемостатического сгустка). Таков эффект физиологических концентраций VIIa, составляющих около 4 нг/мл плазмы. Применение препарата rVIIa в фармакологических дозах приводит к повышению концентрации VIIa фактора в плазме на три порядка. Несмотря на два десятилетия пристального изучения, молекулярный механизм действия суперфизиологических концентраций активированного VII фактора свертывания до конца не ясен. Точно установлено, что в фармакологических концентрациях фактор VIIa активирует фактор X непосредственно на поверхности активированных тромбоцитов, находящихся в зоне повреждения, независимо от образования комплекса TF-VIIa.³ Результатом становится превращение протромбина в тромбин даже без участия TF и в гораздо больших количе-

ствах. В любом случае в присутствии TF или в присутствии активированных тромбоцитов действие рекомбинантного активированного VII фактора свертывания ограничивается почти исключительно местом локального повреждения эндотелия, что теоретически позволяет применять препарат rVIIa фактора в больших дозах без значительного риска тромбоцистических осложнений. У взрослых пациентов время полувыведения рекомбинантного активированного VII фактора свертывания составляет от 2,6 до 2,84 ч и не зависит от применяемой дозы.⁴ Это диктует необходимость повторного введения препарата каждые 2,5 ч. У детей время полувыведения препарата значительно меньше, всего 1,32 ч и приблизительно соответствует клиренсу 1 мл/мин на 1 кг массы.⁵

НЕРАНДОМИЗИРОВАННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОТДЕЛЬНЫЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Уже в ближайшее время после начала клинического использования препарата rVIIa фактора появились сообщения о его применении по показаниям, отсутствовавшим в регистрационных документах и официальной инструкции. К настоящему времени объем публикаций, посвященных применению препарата rVIIa фактора у больных, не страдающих ни гемофилией, ни тромбоастенией Гланцмана, ни врожденным дефицитом VII фактора свертывания значительно превышает количество публикаций по его применению по зарегистрированным показаниям⁶ и только по цитируемым в PubMed источникам перевалил за четыре тысячи. Подавляющее большинство этих публикаций составляют описания единичных или небольших серий наблюдений, как правило, успешного применения rVIIa для остановки кровотечений в самых различных клинических ситуациях. Большое число таких описаний в англоязычной литературе собрано, например, в систематическом обзоре M. Levi et al,⁷ похожие сообщения стали регулярно появляться и в отечественных медицинских изданиях. Факты высокой гемостатической эффективности препарата rVIIa фактора в самых различных клинических ситуациях хорошо документированы.

При глубокой тромбоцитопении (5–30 тысяч клеток в 1 мкл) после однократного применения препарата rVIIa фактора в дозе 50–100 мкг/кг время кровотечения уменьшалось у 50% пациентов; у большинства удавалось контролировать развившееся кровотечение повторными введениями препарата.^{8,9} L.Neilmann et al¹⁰ описали случай успешного применения препарата rVIIa фактора для остановки массивного маточного кровотечения, развившегося после хирургического родоразрешения. Препарат в дозе 90 мкг/кг ввели молодой пациентке, не имевшей ранее какой-либо патологии гемостаза, через 6 ч после родоразрешения и 3 ч после релапаротомии и безуспешной попытки хирургического гемостаза уже на фоне развившегося геморрагического шока, тромбоцитопении и активного фибринолиза. Через 20 мин кровотечение прекратилось. Повторная релапаротомия и вскрытие матки подтвердили отсутствие продолжающегося кровотечения. Авторы приводят ссылки на 3 описания похожих клинических случаев и одну серию, включавшую 7 наблюдений кровотечений после хирургического родоразрешения. Эффективная разовая кровоостанавливающая доза рекомбинантного активированного VII фактора свертывания крови составляла от 16,7 до 120 мкг/кг; одной пациентке для остановки кровотечения потребовалось 9 введений по 90 мкг/кг препарата rVIIa.

Препарат rVIIa фактора успешно применялся для лечения кровотечений у больных циррозом печени, в том числе при кровотечениях из вен пищевода.¹¹ Однократное применение препарата rVIIa фактора в дозе 80 мкг/кг позволило

контролировать кровотечение в течение 12 ч у 5 из 10 больных с алкогольным циррозом (при неэффективности иных терапевтических методов гемостаза).¹² Высокая эффективность гемостатического эффекта была отмечена у 74% пациентов, получивших препарат rVIIa фактора профилактически перед лапароскопической биопсией печени.¹³

В многочисленных публикациях отмечено уменьшение кровопотери, а иногда и остановка кровотечений при назначении препарата rVIIa фактора больным с передозировкой непрямых антикоагулянтов,¹⁴ тяжелой почечной недостаточностью,¹⁵ ожогами,¹⁶ легочным кровотечением,¹⁷ кровотечениями после хирургических вмешательств на сердце и сосудах¹⁸ и при многих других состояниях, что послужило поводом для проведения в дальнейшем рандомизированных исследований.

РАНДОМИЗИРОВАННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Примечательно, что пока еще в немногочисленных рандомизированных плацебо-контролируемых исследованиях положительные эффекты применения rFVIIa вне зарегистрированных показаний вовсе не очевидны (таблица). Хорошо воспроизводится непосредственный гемостатический эффект (приблизительно в 70–80%), но не конечные цели исследований (значительное уменьшение гемотрансфузий и повышение выживаемости). В результате одних исследований ожидаемых различий в общем объеме кровопотери или потребности в гемотрансфузиях, длительности лечения и летальности, не выявлено вовсе. В других, например при тяжелой травме,¹⁹ различия удается выявить только при анализе отдельных подгрупп (в цитируемом исследовании — при выделении для анализа подгруппы пациентов, переживших 48 ч после травмы). Лишь в двух исследованиях применения препарата rVIIa фактора было показано существенное преимущество в сравнении с плацебо, причем в обоих случаях у пациентов изначально не было массивной кровопотери. В одном из них препарат применили для профилактики операционного кровотечения при простатэктомии,²⁰ показав высокую эффективность и безопасность. В другом определяли эффективность применения rVIIa фактора при внутримозговом кровоизлиянии нетравматического генеза (спонтанной внутримозговой гематоме). Заметим, что исследование по применению препарата rVIIa фактора при геморрагическом инсульте в настоящее время является единственным примером последовательного и систематического исследования действия препарата rVIIa у пациентов, не страдающих гемофилией или тромбоастенией. Около 20 лет назад было показано, что при геморрагическом инсульте критическое значение для выживания и последующей реабилитации имеет не только локализация, но и объем кровоизлияния. В связи с этим важным компонентом консервативной терапии при спонтанной внутримозговой гематоме становится ранняя и максимально эффективная гемостатическая терапия. В небольшом по объему исследовании I фазы (изучение безопасности различных доз rFVIIa).^{21,22} больные со спонтанными внутримозговыми гематомами (всего 88 пациентов) получали rFVIIa в дозе от 5 до 160 мкг/кг. Отсутствие значительной частоты осложнений при использовании rFVIIa в исследованиях I фазы послужило основанием для проведения исследования II фазы (изучение эффективности rFVIIa). Рандомизированное плацебо-контролируемое исследование эффективности различных доз rFVIIa у больных геморрагическим инсультом включило уже 399 пациентов. Препарат вводился в первые 3–4 ч после развития кровоизлияния в дозе 40 мкг/кг (108 пациентов), 80 мкг/кг (92 пациента) или 160 мкг/кг (103 пациента); контрольную группу составили 96 пациентов. В ис-

следовании оценивалось изменение объема внутричерепной гематомы в первые сутки после инсульта; клинические данные анализировались через 90 дней от момента развития инсульта. Серьезные тромботические осложнения в 3,5 раза чаще возникли у больных, получивших rFVIIa (7% в исследуемых группах и 2% в контрольной группе; $p = 0,12$). Однако было продемонстрировано и относительное уменьшение объема внутримозгового кровоизлияния, и уменьшение летальности в первые 90 дней (18% в исследуемых группах и 29% в контрольной группе; $p = 0,02$), и значимое улучшение функциональных результатов лечения пациентов, получавших препарат rFVIIa фактора.²³ Полученные результаты позволили инициировать и провести масштабное клиническое исследование III фазы (завершено в 2007 г.), первое такое исследование применения препарата rFVIIa фактора в ситуации, не предусмотренной инструкцией к его применению. Публикация результатов ожидается в ближайшее время.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Не вызывает сомнений тот факт, что рекомбинантный активированный VII фактор свертывания крови (препарат НовоСэвен) эффективен и безопасен при использовании по официально зарегистрированным показаниям (у больных гемофилией и т. п.). Несмотря на то что в большинстве рандомизированных контролируемых исследований не получено существенных доказательных результатов эффективности применения «по незарегистрированным показаниям» (например, увеличения выживаемости), очевидный фармакологический эффект препарата побуждает некоторых врачей применять его в случаях неконтролируемых кровотечений и у пациентов, не страдающих гемофилией. Действительно, применение лекарства по незарегистрированным показаниям вне рамок клинических исследований законом прямо не запрещено. Просто врач, назначающий лекарство в ситуациях, не оговоренных инструкцией к его применению, принимает на себя юридическую и моральную ответственность за возможные неблагоприятные последствия такого приме-

нения. Иногда введение препарата rFVIIa фактора может спасти жизнь пациента, уже одним этим принося большое эмоциональное удовлетворение медицинскому персоналу, принимавшему участие в лечении. Вероятно, таким эмоциональным подъемом отчасти и продиктовано стремление описать клинический случай на страницах медицинского журнала или в сборнике в виде тезисов. К сожалению, случаи безуспешного применения лекарств, тем более по незарегистрированным показаниям описываются куда менее охотно. С точки зрения современных принципов доказательности в медицине рекомендовать использование препарата rFVIIa фактора вне рамок клинических испытаний можно только после подтверждения его эффективности и безопасности в соответствующих исследованиях III фазы.²⁴ Публикация же в медицинских журналах значительного числа небольших серий и единичных клинических наблюдений успешного применения rFVIIa для профилактики или лечения кровотечений у больных, не страдающих гемофилией, тромбастенией Гланцмана или доказанным дефицитом VII фактора свертывания, может восприниматься читающими врачами не столько как действительное доказательство эффективности и безопасности этого препарата при кровотечениях самой различной этиологии, сколько как назойливая реклама.²⁵ Маркетинговая составляющая этих публикаций очевидна, научные недостатки: отсутствие контрольной группы (альтернативного лечения), недостаточная статистическая мощность, селекция, низкая мотивировка публикации неудач и т. п., также хорошо известны. Но и сбрасывать со счетов 70–80% непосредственный гемостатический эффект применения препарата rFVIIa фактора также нельзя. Необходимость упорядочения применения препарата rFVIIa фактора по незарегистрированным показаниям уже привела к формированию по крайней мере двух «стандартов лечения», вышедших за подписью ведущих специалистов по интенсивной терапии и основанных на результатах нерандомизированных исследований и клинических наблюдений.^{26,27} Уточнение же показаний к клиническому применению, доз и кратности введения препарата rFVIIa фактора станет, по видимому, предметом дальнейших исследований.

Некоторые рандомизированные контролируемые исследования эффективности применения препарата rFVIIa фактора вне зарегистрированных показаний

Год	Область применения	Численность групп, дозы и кратность применения	Результаты
2007 ²⁸	Плановые хирургические вмешательства на позвоночнике	1. Плацебо, $n = 13$ 2. rFVIIa фактор в дозе 30 мкг/кг $\times 3$, $n = 12$ 3. rFVIIa фактор в дозе 60 мкг/кг $\times 3$, $n = 12$ 4. rFVIIa фактор в дозе 160 мкг/кг $\times 3$, $n = 12$	Выявлено уменьшение интраоперационной кровопотери и потребности в интраоперационной гемотрансфузии. Различий в периоперационной кровопотере не выявлено
2005 ²⁹	Резекция печени	1. Плацебо, $n = 63$ 2. rFVIIa фактор в дозе 20 мкг/кг $\times 2$, $n = 63$ 3. rFVIIa фактор в дозе 80 мкг/кг $\times 2$, $n = 59$	Различий в объеме переливаемой донорской крови и частоте трансфузий не выявлено
2002 ³⁰	Трансплантация печени	1. Плацебо, $n = 19$ 2. rFVIIa фактор в дозе 20 мкг/кг $\times 1$, $n = 18$ 3. rFVIIa фактор в дозе 40 мкг/кг $\times 1$, $n = 23$ 4. rFVIIa фактор в дозе 80 мкг/кг $\times 1$, $n = 22$	Различий в объеме переливаемой донорской крови и частоте трансфузий не выявлено
2004 ³¹	Трансплантация печени	1. Плацебо каждые 2 ч, $n = 61$ 2. rFVIIa фактор в дозе 60 мкг/кг каждые 2 ч, $n = 62$ 3. rFVIIa фактор в дозе 120 мкг/кг каждые 2 ч, $n = 56$	Различий в объеме переливаемой донорской крови и объеме кровопотери не выявлено
2003 ³⁰	Простатэктомия	1. Плацебо, $n = 12$ 2. rFVIIa фактор в дозе 20 мкг/кг $\times 1$, $n = 8$ 3. rFVIIa фактор в дозе 40 мкг/кг $\times 1$, $n = 16$	В группах исследования средняя кровопотеря, объем и частота гемотрансфузий ниже, чем в контрольной группе
2005 ²³	Нетравматический геморрагический инсульт	1. Плацебо, $n = 96$ 2. rFVIIa фактор в дозе 40 мкг/кг $\times 1$, $n = 108$ 3. rFVIIa фактор в дозе 80 мкг/кг $\times 1$, $n = 92$ 4. rFVIIa фактор в дозе 160 мкг/кг $\times 1$, $n = 103$	В группах исследования размеры кровоизлияния меньше, выживаемость и функциональное восстановление выше, чем в контрольной группе
2004 ³²	Пищеводно-желудочные кровотечения	1. Плацебо, $n = 121$ 2. rFVIIa фактор в дозе 100 мкг/кг $\times 8$, $n = 121$	Различий в частоте гемотрансфузий, эффективности гемостаза и летальности не выявлено
2005 ³³	Реконструктивная хирургия при переломах костей таза	1. Плацебо $\times 1-2$, $n = 24$ 2. rFVIIa фактор в дозе 90 мкг/кг $\times 1-2$, $n = 24$	Различий в объеме интра- и послеоперационной кровопотери, потребности в гемотрансфузиях, длительности лечения, частоте повторных вмешательств не выявлено
2005 ¹⁹	Тупая травма	1. Плацебо, $n = 74$ 2. rFVIIa фактор в дозе 200 мкг/кг + 100 мкг/кг $\times 2$, $n = 69$	Различий в объеме гемотрансфузий, частоте массивных гемотрансфузий, летальности, длительности ИВЛ и длительности пребывания в реанимационном отделении не выявлено

Год	Область применения	Численность групп, дозы и кратность применения	Результаты
2005 ¹⁹	Проникающие ранения	1. Плацебо, n = 64 2. rVIIa фактор в дозе 200 мкг/кг +100 мкг/кг × 2, n = 70	То же
2005 ²⁴	Высокодозная химиотерапия с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток	1. Плацебо, n = 23 2. rVIIa фактор в дозе 40 мкг/кг × 6, n = 20 3. rVIIa фактор в дозе 80 мкг/кг × 6, n = 26 4. rVIIa фактор в дозе 160 мкг/кг × 6, n = 31	Различий не выявлено
2005 ³⁵	Геморрагическая лихорадка Денге	1. Плацебо, n = 9 2. rVIIa фактор в дозе 100 мкг/кг × 2, n = 16	Различий в частоте и объеме гемотрансфузий, длительности лечения и летальности не выявлено

ЛИТЕРАТУРА

- Hedner U, Kisiel W. Use of human factor VIIa in the treatment of two hemophilia A patients with high-titer inhibitors. *J Clinical Invest.* 1983; 71:1836–41.
- www.novonordisk.com
- Lisman T., Groot De Ph.G.E. Mechanism of action of recombinant factor VIIa. *J Thromb Haemost.*; 1:1138–9.
- Lindley CM, Sawyer WT, Macik BG, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant factor VIIa. *Clin Pharmacol Ther.* 1994; 55:638–48.
- Erhardtsen E. Pharmacokinetics of recombinant activated factor VII (rFVIIa). *Semin Thromb Hemost.* 2000; 26:385–91.
- Hoots W.K. Challenges in the therapeutic use of a «so-called» universal hemostatic agent: recombinant factor VIIa. *Hematology* 2006; 2006:426–31.
- Levi M, Peters M, Buller HR. Efficacy and safety of recombinant factor VIIa for treatment of severe bleeding: a systematic review. *Crit Care Med.* 2005; 33:883–90.
- Vidarsson B, Onundarson PT. Recombinant factor VIIa for bleeding in refractory thrombocytopenia. *Thromb Haemost.* 2000; 83:634–5.
- Goodnough LT. Experiences with recombinant human factor VIIa in patients with thrombocytopenia. *Semin Hematol.* 2004; 41:25–9.
- Heilmann L., Wild C., Hohnacki B., Pollow K. Successful Treatment of Life-threatening Bleeding after Cesarean Section with Recombinant Activated Factor VII. *Clin Appl Thromb Hemost* 2006; 12:227–9.
- Ejlertsen E, Melsen T, Ingerslev J, Andreasen RB, Vilstrup H. Recombinant activated factor VII (rFVIIa) acutely normalizes prothrombin time in patients with cirrhosis during bleeding from oesophageal varices. *Scand J Gastroenterol.* 2001; 36:1081–5.
- Caldwell SH, Chang C, Macik BG. Recombinant activated factor VII (rFVIIa) as a hemostatic agent in liver disease: a break from convention in need of controlled trials. *Hepatology* 2004; 39:592–8.
- Bernstein DE, Jeffers L, Erhardtsen E, et al. Recombinant factor VIIa corrects prothrombin time in cirrhotic patients: a preliminary study. *Gastroenterology* 1997; 113:1930–7.
- Deveraux RA, Kessler CM. Reversal of warfarin-induced excessive anticoagulation with recombinant human factor VIIa concentrate. *Ann Intern Med.* 2002; 137:884–8.
- Moisesescu E, Ardelean L, Simion I, et al. Recombinant factor VIIa treatment of bleeding

associated with acute renal failure. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2000; 11:575–7.

- Bianchi A, Jackson D, Maitz P, Thanakrishnan G. Treatment of bleeding with recombinant factor VIIa in a patient with extensive burns. *Thromb Haemost.* 2004; 91:203–4.
- Henke D, Falk RJ, Gabriel DA. Successful treatment of diffuse alveolar hemorrhage with activated factor VII. *Ann Intern Med.* 2004; 140:493–4.
- Tobias JD, Berkenbosch JW, Russo P. Recombinant factor VIIa to treat bleeding after cardiac surgery in an infant. *Pediatr Crit Care Med.* 2003; 4:49–51.
- Boffard KD, Riou B, Warren B, et al. Recombinant factor VIIa as adjunctive therapy for bleeding control in severely injured trauma patients: two parallel randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trials. *J Trauma* 2005; 59:8–18.
- Friederich PW, Henny CP, Messelink EJ, et al. Effect of recombinant activated factor VII on perioperative blood loss in patients undergoing retropubic prostatectomy: a double-blind placebo-controlled randomised trial. *Lancet* 2003; 361:201–5.
- Mayer SA, Brun NC, Broderick J, et al; Europe/Australasia NovoSeven ICH Trial Investigators. Safety and feasibility of recombinant factor VIIa for acute intracerebral hemorrhage. *Stroke* 2005; 36:74–9.
- Mayer SA, Brun NC, Begtrup K, et al; Recombinant Activated Factor VII Intracerebral Hemorrhage Trial Investigators. Recombinant activated factor VII for acute intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med.* 2005; 352:777–85.
- Mayer SA, Brun NC, Broderick J, et al; United States NovoSeven ICH Trial Investigators. Recombinant activated factor VII for acute intracerebral hemorrhage: US phase IIA trial. *Neurocrit Care* 2006; 4:206–14.
- Guidelines for the Management of Spontaneous Intracerebral Hemorrhage in Adults. 2007 Update. A Guideline From the American Heart Association, American Stroke Association Stroke Council, High Blood Pressure Research Council, and the Quality of Care and Outcomes in Research Interdisciplinary Working Group. Broderick J, Connolly S, Feldmann E, Hanley D, Kase C, Krieger D, Mayberg M, Morgenstern L., Ogilvy CS, Vespa P, Zuccarello M. *Stroke* published online May 3, 2007; <http://stroke.ahajournals.org>
- Dzik W.H. Off-label reports of new biologics: exciting new therapy or dubious research? Examples from recombinant activated factor VII. *Intensive Care Med.* 2006; 21:54–9.
- Cohen S, Diringer M, Dubois R, et al. Evidence and consensus-based recommendations

for the use of recombinant activated human factor VII (rVIIa) therapy. University Health Consortium and Society for the Advancement of Blood Management. Available at: www.uhc.edu. Accessed May 2005.

- Vincent J-L, Rossaint R, Riou B, et al. Recommendations on the use of recombinant activated factor VII as an adjunctive treatment for massive bleeding – a European Perspective. *Crit Care* 2006; 10:R120.
- Sachs B, Delacy D, Green J, et al. Recombinant activated factor VII in spinal surgery: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial. *Spine* 2007; 32(21): 2285–93.
- Lodge JP, Jonas S, Oussoultzoglou E, et al. Recombinant coagulation factor VIIa in major liver resection: a randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *Anesthesiology* 2005; 102:269–75.
- Planinsic RM, Testa G, Sukru E, et al. Safety and efficacy of single bolus dose of recombinant factor VIIa in patients undergoing orthotopic liver transplantation: a randomized multi-center study (abstract). *Hepatology* 2002; 36:660a.
- Lodge JP, Jonas S, Jones RM, et al. Recombinant coagulation factor VIIa (rFVIIa) on transfusion reduction in orthotopic liver transplantation (OLT)—a randomized, double-blind, placebo-controlled trial (abstract). *Transplantation* 2004; 78(Suppl 1):93.
- Bosch J, Thabut D, Bendtsen F, et al. Recombinant factor VIIa for upper gastrointestinal bleeding in patient with cirrhosis: a randomized, double-blind trial. *Gastroenterology* 2004; 127:1123–30.
- Raobaikady R, Redman J, Ball JA, et al. Use of activated recombinant coagulation factor VII in patients undergoing reconstruction surgery for traumatic fracture of pelvis or pelvis and acetabulum: a doubleblind, randomized, placebo-controlled trial. *Br J Anaesth.* 2005; 94:586–91.
- Pihusch M, Bacigalupo A, Szer J, et al. Recombinant activated factor VII in treatment of bleeding complications following hematopoietic stem cell transplantation. *J Thromb Haemost.* 2005; 3:1935–44.
- Chuansumrit A, Wangruangsatid S, Lektrakul Y, et al; Dengue Study Group. Control of bleeding in children with Dengue hemorrhagic fever using recombinant activated factor VII: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2005; 16(8):549–55.
- Anonymous. A more uniform measurement of factor VIII inhibitors. *Thromb Diath Haemorrh* 1975; 34:869–72.

Современные тенденции терапии
хронического лимфолейкоза

Подготовила канд. мед.
наук Ю.А. Алексеева

По материалам международного симпозиума «Открытия и инновации в лечении гемобластозов»,
Рим, Италия 11–12 мая 2007 г.

В работе представлен обзор материалов международного симпозиума «Открытия и инновации в лечении гемобластозов», проходившего 11–12 мая 2007 г. в Риме, Италия. Доклады были посвящены факторам прогноза при ХЛЛ, определению оптимальной тактики лечения, в том числе и в старшей возрастной группе, стандартам и перспективам.

Симпозиум «Открытия и инновации в лечении гемобластозов» проходил в Риме, Италия 11–12 мая 2007 г. В центре внимания была проблема лечения хронического лимфолейкоза: анализ предшествующего опыта и современные тенденции. Несмотря на то, что медиана выживаемости при ХЛЛ составляет 10 лет, индивидуальный прогноз вариабельный и определяется клиническими, иммунологическими и генетическими факторами. F.Bosch, Испания в своем докладе подчеркнул необходимость проведения риск-адаптированной терапии ХЛЛ. Совокупность ряда факторов позволяет выделить группы пациентов высокого и низкого риска раннего прогрессирования (таблица).

Фактор риска	Низкий риск (ОВ > 15 лет)	Высокий риск (ОВ < 5 лет)
Клиническая стадия	A по Binet; O, I по Rai	B, C по Binet; II–IV по Rai
Уровень лимфоцитоза	Низкий	Высокий
Инфильтрация костного мозга	Лимфоцитарная инфильтрация костного мозга выражена умеренно, подавление других ростков кроветворения отсутствует	Диффузная инфильтрация костного мозга
Морфология	Типичная	Атипичная
Время удвоения абсолютного количества лимфоцитов	>12 мес	≤12 мес
Абдоминальные лимфоузлы при компьютерной томографии	Не увеличены	Увеличены
Цитогенетика	Нормальный кариотип, del13q	+12, del17p, del11q
ЛДГ, β2-микроглобулин	Нормальные уровни	Повышенные уровни
IgVH мутация	вариант с мутациями IgVH генов	вариант без мутаций IgVH генов
CD38 ZAP-70	<30% <20%	≥30% ≥20%

Примечание. ОВ – общая выживаемость.

Все большее значение при прогнозировании течения ХЛЛ приобретают молекулярно-генетические факторы (мутационный статус, цитогенетические нарушения). Стадия заболевания, тип инфильтрации костного мозга, время удвоения лейкоцитов, ЛДГ коррелируют с массой опухоли и меняются со временем, генетические же маркеры могут быть определены уже в дебюте болезни. Работами H.Dochner показана наибольшая общая выживаемость пациентов с делецией 13 хромосомы, средние показатели выживаемости опреде-

ляются при трисомии 12 хромосомы, крайне неблагоприятно влияют делеции 11 и 17 хромосом. Определение транслокаций del 13q, +12, del 17p, del 11q является крайне желательным перед началом лечения.

К настоящему времени доказана патогенетическая роль гена TP53 в развитии неблагоприятных форм хронического лимфолейкоза. Локализуясь на 17 хромосоме, ген выполняет функцию контроля клеточного цикла, запуска апоптоза в клетках с поврежденной ДНК. Блок этого механизма след-

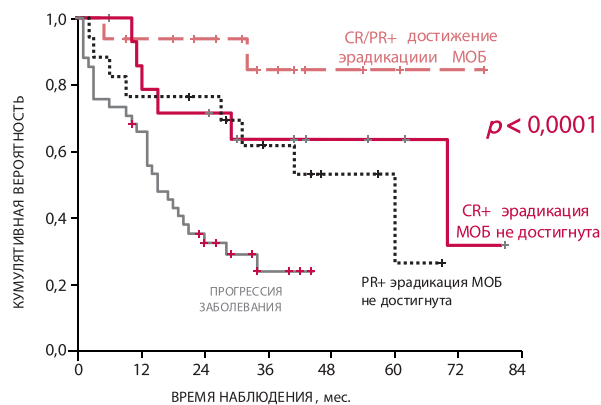
ствие делеции 17 хромосомы и подавление работы гена *TP53* способствует неконтролируемому делению клеток с поврежденным геномом. Выявление гиперэкспрессии белка p53 ассоциируется со снижением чувствительности клеток к действию цитостатиков (флударабин) и ритуксимаба.

Длительное время стандартом в лечении хронического лимфолейкоза было назначение хлорбутина. Применение этого вида терапии носило паллиативный характер и существенно не сказывалось на длительности жизни и главным образом, позволяло контролировать симптомы заболевания (лимфоцитоз, размеры лимфатических узлов). Даже появление флударабина на этапе применения его в виде монохимиотерапии не привело к росту общей выживаемости пациентов. Комбинация же флударабина с циклофосфаном (FC) или митоксантроном привела к увеличению частоты полных ответов и оказала влияние на длительность выживания пациентов. Очевидно, что на сегодняшний день доказана эффективность режима FC в первой линии терапии ХЛЛ. По данным исследования GCLLSG CLL4, общий ответ в этом случае наблюдается в 94,5%, полные ремиссии развиваются в 23,8% случаев.

Проведенные клинические исследования убедительно показывают улучшение показателей клинической эффективности (общая и бессобытийная выживаемость, частота полного и частичного ответов) при использовании в терапии хронического лимфолейкоза моноклональных антител — ритуксимаба (мабтера) и алемтузумаба (кэмпас).

Алемтузумаб — гуманизированное моноклональное антитело, направленное на CD-52 антиген. Этот антиген представлен на лимфоцитах различных стадий дифференцировки, исключая плазматические клетки, моноциты, макрофагах и эозинофилах. Высоко экспрессируется на лимфоцитах при ХЛЛ. Действие моноклонального антитела осуществляется с участием системы комплемента. Кэмпас является активно изучаемым препаратом. Клинические исследования препарата не ограничиваются применением при хроническом лимфолейкозе. Активно изучается роль алемтузумаба в лечении Т-клеточных лимфопролиферативных заболеваний, при аллогенных трансплантатах стволовых клеток крови для контроля реакции трансплантат против хозяина, в терапии апластической анемии, иммунных цитопений, васкулитов. Персистирующая Т-клеточная деплеция, развивающаяся после применения алемтузумаба, приводит к повышенному риску вирусных инфекций. Возможность повышения частоты развития вторых опухолей требует изучения, особая осторожность существует относительно EBV (вирус Эпштейна—Барр)-ассоциированных лимфопролиферативных заболеваний. Восстановление естественных киллеров происходит за 4–6 нед, а сниженное количество CD4-позитивных клеток может выявляться в течение нескольких месяцев. Механизм действия кэмпаса и вызываемая препаратом лимфопения заставляет предполагать эффективность препарата при лечении иммунной тромбоцитопении, анемии, синдроме Фишера—Эванса, антифосфолипидном синдроме, пароксизмальной ночной гемоглобинурии. На сегодняшний день имеется лишь единичный опыт применения кэмпаса при этих состояниях. Большинство наблюдений свидетельствуют о наступлении положительного эффекта в период от 1 нед до 9 мес, но высока и частота наблюдающихся рецидивов в сроки от 2 до 14 мес. Насколько оптимален этот терапевтический подход, покажет время.

При лечении хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) применение алемтузумаба позволяет получать полные молекулярно-генетические ремиссии даже при наличии резистентности к флударабину, достижение ремиссии достоверно увеличивает общую выживаемость (рисунок).



Зависимость общей выживаемости от достижения эрадикации минимальной остаточной болезни (МОБ) после терапии кэмпасом (Moreton et al. J Clin Oncol. 2005; 23:2971–9)

Клинические исследования, ранее проведенные группами М. Keating, А. Osterborg, показали высокую клиническую эффективность алемтузумаба при хроническом лимфолейкозе, рефрактерном к лечению флударабином и при Т-клеточном пролимфоцитарном лейкозе. Р. Hillmen представил на симпозиуме результаты исследования CAM 307. В исследовании проводилось сравнение использования монотерапии хлорбутином и алемтузумабом в двух группах у пациентов, которые не получали ранее лечения. Выживаемость без прогрессии оценивалась у 297 пациентов с медианой возраста 60 лет. Группы были сопоставимы по факторам риска. Алемтузумаб назначался в первой группе в дозе 30 мг внутривенно три раза в неделю в течение 12 нед, во второй группе применялся хлорбутин в дозе 40 мг/м² с интервалом 28 дней продолжительностью до 12 мес. Общий ответ в группе алемтузумаба составил 83% (полные ремиссии — 24%), в группе хлорбутина 55% (полные ремиссии — 2%). Достигнуты достоверные различия 3-летней беспрогрессивной выживаемости, наиболее выраженные у пациентов с делецией 11q или 17p. Исследование показало приемлемый профиль токсичности. При применении алемтузумаба чаще наблюдалась нейтропения — 46% против 28% в группе хлорбутина ($p=0,002$). Общая частота инфекций была сравнима, за исключением преобладания в группе алемтузумаба случаев активации цитомегаловирусной инфекции. Хотелось бы обратить внимание, что риск инфекционных осложнений при нейтропении, по-видимому, нивелируется снижением частоты инфекций у пациентов, достигших максимального противоопухолевого ответа 14).

По данным Moreton, эффективность алемтузумаба при ХЛЛ выше в случае отсутствия лимфоаденопатии. Полные ремиссии в этом случае достигаются у 71%, частичные — у 19% пациентов. При наличии лимфоаденопатии, превышающей 5 см в диаметре, полных ремиссий не наблюдается, а частичные достигаются только у 18%.

По мнению Robin Foà (Италия), следующим шагом вперед является включение алемтузумаба в режимы комбинированной терапии. Представляется, что Flu-CAM (флударабин 30 мг/м² 1–3-й день, алемтузумаб 30 мг/м² 3 раза в неделю) — одна из наиболее перспективных комбинаций в силу синергизма действия. В исследовании второй фазы были включены 36 пациентов с рецидивирующим и рефрактерным ХЛЛ. Средний возраст в изучаемой группе составил 61,5 года. У 53% пациентов достигнута частичная, а у 30% — полная ремиссии. Третья фаза данного исследования продолжается. Иницированы также исследования других комбинаций: Cam-Dexa (CLL20), FC-Cam (CLL-2L,

NIGUARDA). При комбинации FC с ритуксимабом и алектумазумабом у 44 пациентов, ранее получавших несколько линий терапии и признаками прогрессии заболевания, достигнуто 27% полных и 38% частичных ремиссий, причем среди полных ремиссий в 92% случаев наблюдалась эрадикация минимальной остаточной болезни. Пациенты, достигшие эрадикации минимальной остаточной болезни, имеют наилучшие показатели общей и бессобытийной выживаемости.

Вероятно, подобные режимы займут свое место в терапии ХЛЛ, особенно в группе пациентов молодого возраста, нуждающихся в ранней агрессивной терапии. Однако окончательные выводы о преимуществах и приемлемости токсичности не сделаны. Не подлежит сомнению необходимость адаптированной к возрасту терапии.

Выступление Valentin Goede (Германия) на симпозиуме было посвящено трудностям лечения пациентов старше 65 лет и имеющих сопутствующую патологию. Риск возникновения ХЛЛ увеличивается с возрастом, аналогичную динамику имеет ряд заболеваний сердечно-сосудистой системы, обмена веществ, вторые опухоли. К 75 годам сопутствующие заболевания имеют 95% пациентов, причем, у 40% больных их не менее пяти. При этом процент включения пожилых пациентов в клинические исследования невелик (при лейкемии он не превышает 20%), что затрудняет перенесение оптимистичных результатов клинических исследований в эту возрастную группу на практике. Наличие более двух серьезных сопутствующих заболеваний является дополнительным фак-

тором риска смерти у больных ХЛЛ. Анализ летальности, связанной и не связанной с прогрессией ХЛЛ, позволяет оптимизировать терапевтический подход. Задача не из легких: минимизировать токсичность, стремясь получить наилучший противоопухолевый ответ. С этой целью предпринимаются попытки проведения возрастной коррекции дозы в режиме FC. Так, возможно снижение дозы флударабина до 15 мг/м² 1–4-й день и циклофосфана до 200 мг/м² 1–4-й день. При этом частота достижения положительного ответа составляет 85%. В 20% наблюдается развитие миелотоксичности III–IV степени и в 5% — инфекций III–IV степени. Органная токсичность не превышает 5%. К снижению токсичности приводит применение монотерапии флударабином по 30 мг/м² в 1, 3, 5-й дни, а также назначение эритропоэтина, гранулоцитарных колониестимулирующих факторов, оптимизация терапии сопутствующих заболеваний. Появление флударабина для перорального применения делает возможным амбулаторное проведение режима FC. Доказана его эквивалентность внутривенному способу введения, подчеркнул в докладе Bruno Caizin, Франция.

При подведении итогов симпозиума «Открытия и инновации в лечении гемобластозов» прозвучали вопросы, которые еще предстоит решить. Это и прогностическая стратификация, применение новых моноклональных антител, таргетных молекул, мониторинг минимальной резидуальной болезни, более ранние сроки начала лечения, определение места консолидирующей и поддерживающей терапии.



Материалы XII международного рабочего совещания, посвященного ХЛЛ (Лондон, сентябрь 2007)

Подготовили д-р мед. наук проф.
М. А. Волкова,
канд. мед. наук Т. Е. Бялик

14–16 сентября 2007 г. в Лондоне состоялось XII Международное рабочее совещание, посвященное хроническому лимфолейкозу (ХЛЛ) — XII International Workshop on CLL. Рабочие совещания происходят каждые 2 года, основные доклады делают ведущие ученые, занимающиеся изучением патогенеза ХЛЛ. Кроме того, всегда докладываются результаты исследований по лечению ХЛЛ.

В докладе Н. Veelken из Фрайбургского медицинского центра (Германия) было показано, что в то время как наличие моноаллельной делеции 13q является прогностически благоприятным фактором, и продолжительность жизни больных с 13q- превышает продолжительность жизни больных с нормальным кариотипом, при биаллельной делеции 13q благоприятный прогноз утрачивается, и больные с делецией 13q на обеих хромосомах нуждаются в лечении через короткое время после начала заболевания.

В докладе С. Haffelach et al из Мюнхенской лаборатории по изучению лейкозов были доложены результаты применения разработанной в настоящее время техники культивирования лимфоцитов больных ХЛЛ, позволяющей изучать хромосомные изменения стандартным цитогенетическим методом. При сравнительном изучении кариотипа 506 больных ХЛЛ методом стандартной цитогенетики и методом FISH хромосомные aberrации были обнаружены у 83% больных при использовании стандартного метода и 78,4% при использовании FISH. При использовании FISH у 60,4% обследованных была обнаружена 1 aberrация, у 14,8% — 2, а 3 и более aberrаций обнаружено менее чем у 5% больных. В то же время при использовании стандартного цитогенетического метода, когда исследуются делящиеся клетки, одна делеция была обнаружена лишь у 38,2% обследованных, у остальных — 2–5 и более. Методом стандартного анализа были обнаружены aberrации у 31,5%

больных, у которых метод FISH не позволил выявить какие-либо изменения. В то же время у 12% больных без хромосомных aberrаций при стандартном анализе с помощью FISH были обнаружены изменения. У 5,4% больных были выявлены реципрокные транслокации (что считалось абсолютно нехарактерным для ХЛЛ) с участием локуса IgH в районе 14q32. Делеция 13q в 7,6% оказалась результатом транслокации. У пациентов с делецией 17p с высокой степенью достоверности ($p < 0,0001$) обнаружено больше хромосомных aberrаций, чем у не имеющих делеции 17p. Сопоставление числа и характера хромосомных aberrаций с мутационным статусом IgVH генов показало, что комплексные хромосомные aberrации с высокой степенью достоверности встречаются чаще при отсутствии соматических мутаций IgVH генов и при наличии экспрессии CD38.

В докладе D. Oscier et al (Великобритания) были доложены некоторые данные многоцентрового исследования CLL4. Анализ результатов этого исследования позволил уточнить, при каком уровне определенного признака при ХЛЛ он выступает в качестве прогностического. Было установлено, что для утраты p53, которая возникает при делеции 17p, прогностическим является 20% клеток с этим признаком. При таком уровне наблюдается низкая чувствительность к терапии, короткая беспрогрессивная и общая выживаемость ($p < 0,00005$), при меньшем количестве клеток с данной aberrацией прогностическое значение утрачивается. В то же время для делеции 11q прогностическим является обнаружение 5% клеток с данной делецией. Этот уровень сочетается с малой чувствительностью к терапии, короткой беспрогрессивной и общей выживаемостью ($p = 0,001$). Подтверждено благоприятное прогностическое значение делеции 13q не показано, что при делеции обоих аллелей благоприятное прогностическое значение утрачивается.

Вновь подтверждено, что отсутствие мутаций генов тяжелых цепей иммуноглобулинов лимфоцитов, составляющих субстрат опухоли, с высокой степенью достоверности предвещает короткую беспрогрессивную и общую выживаемость ($p < 0,00001$ и $p = 0,002$ соответственно).

Показано, что экспрессия CD38 имеет отрицательное прогностическое значение при 7% клеток, положительных по этому признаку, а для ZAP70 такой границей является 10%. Отрицательное прогностическое значение повышение уровня b2M начинается с 3,5 мг/л.

Все указанные признаки являются прогностическими и при многофакторном анализе.

Доклад N. Chiorazzi (институт медицинских исследований, Нью-Йорк, США) был посвящен анализу и сопоставлению иммунных и аутоиммунных реакций в норме и при ХЛЛ. Были представлены данные, показывающие, что В-клеточные рецепторы нормальных лимфоцитов с немутировавшими IgV генами являются низкоаффинными и реагируют со многими антигенами, в том числе аутоантигенами. В-клеточные рецепторы лимфоцитов с мутировавшими IgV генами являются более специфичными и реагируют с ограниченным числом антигенов. Лимфоциты при ХЛЛ участвуют в тех же реакциях иммунитета, что и нормальные В-лимфоциты, но отличаются от нормальных степенью своей реактивности.

Доклад от группы F. Caligaris-Cappio (лаборатория лимфоидных опухолей миланского института онкологии, Италия) был также посвящен сопоставлению поведения нормальных лимфоцитов и лимфоцитов при В-ХЛЛ. Показано, что в лейкоэмических лимфоцитах используются преимущественно определенные IgVH гены. Это ведет к тому, что лишь ограниченная часть антигенов может быть распознана лейкоэмическими иммуноглобулинами при

ХЛЛ. В то же время известно, что лишь примерно у половины больных, преимущественно с индолентным течением ХЛЛ, В-клеточные рецепторы лимфоцитов действительно не отвечают на стимулы в лабораторных условиях, в то время как рецепторы лимфоцитов больных с агрессивным течением ХЛЛ могут быть стимулированы *in vitro*, что показывает их способность отвечать на сигналы, определяющие пролиферацию и выживаемость лимфоцитов. Эти данные свидетельствуют о том, что В-клеточный рецептор является «центральным игроком», определяющим судьбу лейкоэмической клетки.

Интересные исследования были представлены в докладе R. Dalla-Favera et al из института генетики рака (Нью-Йорк, США). Они изучают молекулярные изменения при хромосомных aberrациях при ХЛЛ. В районе 13q14, часто делетированном при ХЛЛ, располагаются гены miR-15a/miR-16-1 и dLau2. Полученные к настоящему времени данные показывают, что одновременная утрата обоих генов приводит к развитию у мышей лимфопролиферативного заболевания, что подтверждает предположения о возможной супрессорной роли опухолевого роста активности региона 13q14.

В докладе С.М. Сросе были представлены данные, показывающие, что случаи ХЛЛ с экспрессией и без экспрессии ZAP 70 отличаются по 13 генам в микросателлитных участках РНК.

Клинические аспекты, посвященные непосредственно лечению хронического лимфолейкоза, рассматривались в двух направлениях: иммунотерапия и возможность проведения аутологичной и аллогенной трансплантации стволовых клеток.

В качестве иммунотерапии в настоящее время широко используются 2 моноклональных антитела: ритуксимаб (анти CD20) и алектумумаб (анти CD52).

В докладе группы авторов, работающих под руководством С. Dearden и D. Catovsky, показано, что высокие дозы метилпреднизолон в сочетании с ритуксимабом высоко эффективны у больных, рефрактерных к пуриновым аналогам, имеющих большую опухолевую массу и делецию 11 хромосомы. Лечение получили 14 больных, общий эффект составил 93% со средним временем до прогрессирования — 7 мес. Лишь один пациент не ответил на указанную терапию. Ответ был получен у всех четырех больных, у которых алектумумаб в монорежиме оказался не-

эффективным. На указанную терапию ответили все 5 пациентов с делецией 11q23, среднее время без прогрессирования в этой группе составило 10,5 мес. Эти данные значительно лучше тех, которые имеются в данной клинике при использовании высоких доз метилпреднизолон в монорежиме: только у 43% больных получено улучшение, ни у кого не была достигнута полная ремиссия.

В кооперированном исследовании из Франции была оценена эффективность сочетания флударабина, циклофосфана и мабтеры (режим РФЦ) у больных с делецией 11q23, трисомией 12 и нормальным кариотипом. Эффект получен у всех 15 обследованных больных (13 полных и 2 частичные ремиссии), у 8 больных достигнуты молекулярные ремиссии. В исследовании M.Hrudkova et al из Чешской республики 19 пациентов получили РФЦ, причем, флударабин и циклофосфан назначались внутрь. Общий эффект достигнут в 84% случаев, полные ремиссии были получены у 53% больных, частичные — у 31%. В тех случаях, где определялась делеция 17 хромосомы, ответа не было или достигалась лишь временная стабилизация проявлений болезни. За 18 мес наблюдения у трех больных отмечен рецидив, двое умерли.

В работе группы S.Stilgenbauer (Ульм, Германия) изучалась активность алектумумаба (анти CD52) у больных с мутациями гена *Trp53*. Было показано, что наиболее часто мутации *Trp53* определяются у больных с делецией 17p (делеция одного аллеля и мутация в другом), однако мутации *Trp53* обнаружены и у больных с нормальным кариотипом (у 2 из 15 обследованных), и у больных с делецией 13q (у 5 из 18 обследованных), и у 1 из 7 обследованных с трисомией 12 хромосомы. Наиболее примечательным является факт, что мутации *Trp53* не обнаружены ни у кого из 18 обследованных больных с делецией 11q, если она была единственной хромосомной aberrацией. Алектумумаб оказался эффективным в 30% случаев независимо от наличия мутации *Trp53*. Это показывает его эффективность у больных ХЛЛ, независимо от цитогенетических aberrаций.

В нескольких докладах была показана эффективность монотерапии алектумумабом у пациентов, рефрактерных или с рецидивом после флударабинсодержащих режимов. В докладе F.Bezares et al (Аргентина) 55 таких больных получали алектумумаб по 30 мг 2 раза в неделю в течение двух недель, затем по 1 разу каждые 2 недели

на протяжении 40 нед. Эффект достигнут у 94% больных, у 54% — полные ремиссии. Только трое больных оказались нечувствительными к терапии алектумумабом.

Люмиликсимаб (моноклональное антитело против антигена CD23) — новый препарат для лечения ХЛЛ. При оценке результатов I/II фазы (кооперированные исследования из США) показано, что при применении люмиликсимаба нормализуется уровень лейкоцитов, сокращаются размеры лимфатических узлов и селезенки у 91% больных. В преклинических исследованиях доказан синергизм действия люмиликсимаба с флударабином и ритуксимабом, и в настоящее время проводится рандомизированное исследование для сравнения двух режимов терапии: РФЦ и люмиликсимаб + РФЦ.

Ряд докладов был посвящен аутологичной и аллогенной трансплантации стволовых клеток. В докладе P.Dreger (Германия) были сформулированы основные показания к трансплантации на основании обобщения имеющегося опыта. Аллогенная трансплантация показана следующим категориям больных:

- нечувствительным к режимам, содержащим пуриновые аналоги, или с ранним рецидивом после их применения;
- с рецидивом в течение 24 мес после эффективного лечения режимами, содержащими пуриновые аналоги, или после аутотрансплантации;
- больным с *Trp53* aberrациями.

При использовании современных режимов кондиционирования смертность, связанная с трансплантацией, составляет менее 20%; наибольшая проблема — болезнь «трансплантат против хозяина».

В докладе J.Gribben (Великобритания) было подчеркнуто, что аутологичная трансплантация дает шанс продолжительной ремиссии при низком риске смертности, однако после нее слишком часты рецидивы. Кроме того, этот вид трансплантации эффективен только у больных, у которых сохраняется чувствительность к терапии, используемой как «терапия спасения» (salvage).

Были доложены предварительные результаты рандомизированного исследования из Франции. Исследовалась эффективность аутотрансплантации как консолидирующего режима после достижения полной ремиссии в результате проведения трех циклов СНОР и трех циклов терапии флударабином. Больные были рандомизированы на 2 группы: в 1-й группе боль-

ным проводилась аутотрансплантация, пациенты 2-й группы были оставлены под наблюдением. Из 212 пациентов рандомизированы для аутотрансплантации 87; из них действительно получили аутотрансплантацию 56. В течение 42 мес последующего наблюдения не было зафиксировано ни одного случая миелодиспластического синдрома или вторичного острого лейкоза у больных, перенесших аутотрансплантацию, однако у четырех больных развился синдром Рихтера и у двух — множественная миелома. 34 больных умерли до трансплантации (из них 10 — до рандомизации) от различных причин (прогрессирование болезни, лекарственная токсичность и по причинам, не связанным с ХЛЛ и лечением). Смертность в двух группах (получивших трансплантацию и оставленных под наблюдением) различалась не существенно. Авторы при анализе исследования приходят к выводу, что применение аутотрансплантации дает сходные результаты с использованием флударабина в комбинации с мабтерой и циклофосфаном.

В докладе С. Moreno (Испания) также подчеркнуто, что отсутствие плато в кривых беспрогрессивной и общей выживаемости доказывает, что с помощью аутологичной трансплантации невозможно излечить больных ХЛЛ.

В докладе R. Storb (Сиэтл, США) были доложены результаты аллогенной трансплантации от родственного (52 больных) и неродственного (30 больных) донора. Возраст больных, получивших трансплантацию, составлял от 42 до 72 лет. В течение четырех лет наблюдения частота рецидивов и про-

грессирования составила 32%. Смертность, не связанная с рецидивом, в первые 100 дней после трансплантации составила 9%, в течение четырех лет — 23%. 4-летняя общая выживаемость для получивших трансплантацию от родственного донора составила 50%, беспрогрессивная — 43%, от неродственного донора — 64 и 45% соответственно. Это показывает, что аллогенная трансплантация, в том числе от неродственного донора, с немиелоаблативным режимом кондиционирования дает длительные ремиссии при хорошем состоянии перенесших их больных.

На последнем заседании профессор D. Catovsky прочитал мемориальную лекцию, посвященную памяти выдающегося английского клинициста Дэвида Голтона (David Galton), умершего в 2006 г. Голтон родился в Лондоне в 1922 г., в 1946 г. он закончил свое медицинское образование и затем работал в Royal Marsden Hospital, с 1969 г. как первый глава созданного при этом госпитале отдела по изучению лейкозов. Его учениками являются такие известные ученые, как John Goldman, Daniel Catovsky, Alexander Spiers. Голтон первым опубликовал данные по использованию миелосана, хлорамбуцила и мелфалана при онкологических заболеваниях, положив начало их химиотерапии. В то же время он был блестящим морфологом, поражавшим своих учеников способностью прекрасно помнить морфологические особенности картины крови у своих пациентов. Его наибольший вклад в диагностику и классификацию гематологических заболеваний был внесен его участием в

создании первой FAB-классификации и в ее последующем развитии и совершенствовании.

С 1963 г. он занимался изучением ХЛЛ. Им высказано много соображений о природе заболевания и его особенностях. Например, он выделял два типа лимфоцитов при ХЛЛ, которые обнаруживаются при индолентном и при агрессивном течении болезни. Впоследствии это было подтверждено разным временем удвоения числа лимфоцитов при разных вариантах заболевания. В 1966 г. Голтон опубликовал работу, которую можно считать первым шагом к созданию классификаций стадирования ХЛЛ по Rai и Binet. Созданная им коллекция слайдов с картиной крови при разных вариантах ХЛЛ помогла впоследствии выделить хронический пролимфоцитарный лейкоз и трансформацию ХЛЛ в пролимфоцитарный лейкоз.

Голтон пользовался огромным авторитетом у своих коллег в Англии и во всем мире. В 1986 г. он был награжден званием «Commander of the British Empire» — высшая награда, которая присваивается в Англии деятелям науки и культуры за особые заслуги и достижения. До конца жизни он участвовал в работе многих научных и общественных организаций.

Мемориальная лекция профессора D. Catovsky завершилась вручением супруге и сыновьям профессора Голтона присужденной ему медали Rai-Binet которая была учреждена несколько лет назад и вручается ученым разных стран за наиболее существенный вклад в исследования и терапию ХЛЛ.



7-й международный симпозиум
по лимфоме Ходжкина (Кёльн, ноябрь 2007)

Подготовил д-р мед. наук проф. Н. В. Ильин

3–7 ноября 2007 г. в Кёльне (Германия) проводился 7-й Международный симпозиум по лимфоме Ходжкина (ЛХ), организованный Германской группой по изучению ЛХ (почетный президент — проф. Volker Diehl, председатель группы — проф. Andreas Engert). Это научное событие оказалось самым представительным и значительным за всю историю изучения этого заболевания. В старинный замок Gurzenich собралось более 800 ученых из США, Западной и Восточной Европы, Южной Америки, Азии, Австралии, представивших более 250 сообщений по различным вопросам этиологии, патогенеза, диагностики и лечения ЛХ. Без преувеличения можно сказать, что съехались самые известные специалисты со всего мира: профессора J. Armitage, M. Bjorkholm, G. Canelllos, P. Carde, F. Cavalli, B. Cheson, J. Connors, B. Dorken, R. Fisher, Ch. Gisselbrecht, A. Hagenbeek, M. Hansen, R. Hoppe, S. Horning, P. Mauch, R.-P. Muller, J. Radford, J. Raemaekers, J. Yahalom, A. Younes и др.

Россию представляли д-р мед. наук Е. А. Демина, д-р мед. наук Г. С. Тумян (РОНЦ им. Н. Н. Блохина, Москва) и автор этих строк. Непосредственную поддержку конференции оказали мэрия Кёльна, Немецкое противораковое общество, Karl Musshoff фонд и более 20 фармацевтических компаний.

В основную программу входили симпозиумы по отдаленным последствиям терапии больных, аллогенной трансплантации, ЛХ у детей, роли позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), лечению больных с I–II стадиями, лечению больных с III–IV стадиями, терапии рецидивирующей и рефрактерной ЛХ, новым подходам в лучевой терапии. Были отдельные научные сессии по биологии клеток Рид–Штернберга, роли микроокружения в прогрессии опухоли. На сателлитных симпозиумах фармацевтических компаний рассматривались вопросы профилактики и лечения побочных эффектов химиотерапии, новых стратегий в лечении ЛХ: иммунохимиотерапии, анти-VEGF-терапии, роль прокарбазина, значение гемцитабина в лечении больных, радионуклидотерапии.

На церемонии открытия симпозиума проф. V. Diehl прочитал лекцию, посвященную профессору Bonadonna, о перспективах «молекулярного излечения ЛХ». Кроме того, здесь же за значительные достижения в области изучения и лечения ЛХ получили премии им. проф. Karl Musshoff профессора G. R. Canelllos (США), K. Baumforth (Швеция), A. Ehlers (Германия), O. Favier (Франция), A. Gallamini (Италия), Н. В. Ильин (Россия), Y. Ma (Канада), B. Sanchez-Espiridon (Испания), M. Vockerodt (Великобритания).

Для диагностики и мониторинга эффекта терапии у больных исключительное значение стали уделять ПЭТ, прогностическое значение которой в ряде случаев нивелирует роль общепризнанных исходных прогностических факторов. ПЭТ был посвящен отдельный симпозиум, кроме того, ряд вопросов применения ПЭТ освещались на других секциях, связанных с лечением больных ЛХ. B. Cheson (США) в дополнение к известным предложенным им в 1999 г. критериям оценки ответа на терапию больных лимфомами представил существенные предложения об использовании ПЭТ до и в процессе лечения больных как важного критерия оценки ответа, позволяющего судить о полноте ремиссии, необходимом объеме химиотерапии и необходимости дальнейшего лучевого лечения. В докладах M. Hutchings (Нидерланды), A. Gallamini (Италия), R. Radford (Великобритания) детально анализировалась роль ПЭТ-1 и ПЭТ-2 для ранней и заключительной оценки эффекта терапии. На ранних стадиях ПЭТ позволяет выделить больных, которым достаточно минимального объема химиотерапии ABVD, а также определить относительно химиорезистентных пациентов, которым этот объем должен быть увеличен и дополнен лучевым лечением. При распространенных стадиях данные ПЭТ после двух стандартных циклов BEACOPP позволяют или продолжать эту терапию до общепринятого объема (при ПЭТ–), или интенсифицировать программу (при ПЭТ+) лечения (BEACOPP-14).

На сессии по лучевой терапии (председатель — Y. Yahalom, США)

продемонстрирована необходимость облучения первично пораженных зон у всех больных ранних стадий по новым технологиям. Сюда входят индивидуальные границы полей согласно очагам поражения, внедрение принципов конформной лучевой терапии, в частности, при облучении средостения ограничение суммарных очаговых доз до 30–36 Гр, использование режима мультифракционирования, использование ПЭТ-КТ до лечения.

Представлены данные Европейских групп о целесообразности перехода от концепции облучения первично пораженных зон к облучению пораженных лимфатических узлов только. Впервые прозвучали сообщения о радиоиммунотерапии больных ЛХ с использованием моноклональных антител против CD25, меченных ⁹⁰Y (даклизумаб). В отдельном докладе доктора Rehan (EORTC, GHSG) на основании изучения данных 1005 больных ЛХ I–II стадии, из которых 507 получали химиолучевую лечение, а 498 — только химиотерапию, убедительно продемонстрировано преимущество комбинированной терапии по критериям общей выживаемости.

На сессии по лечению первичных больных ЛХ III–IV стадии (председатели — R. Fisher, США; M. Hadsen, Дания) представлены данные кооперативных групп США, EORTC, GHSG. В частности, Немецкой группой (проф. A. Engert) продемонстрированы на 1196 больных ЛХ III–IV стадии убедительные 10-летние результаты преимущества эскалированного BEACOPP над стандартным по критериям общей и свободной от неудач выживаемости, достигшими при генерализованной ЛХ 86 и 82% соответственно. Американские исследователи (Younes et al) доложили об успешном использовании схемы 6 циклов R-ABVD + лучевая терапия у первичных больных с распространенной классической ЛХ (81 больной) независимо от экспрессии CD20 на опухолевых клетках. У больных с Международным прогностическим индексом (IPI) 0–2 4-летняя выживаемость, свободная от неудач, составила 89%; с IPI > 2 — 77%, что, несомненно, является блестящим результатом для такой категории больных. Резуль-

таты терапии не зависели от экспрессии CD20 на опухолевых клетках. Для подтверждения этих данных с января 2008 г. в США стартует большое кооперированное исследование по сравнению схемы R-ABVD и ABVD у больных ЛХ III–IV стадии с неблагоприятными прогностическими факторами.

По данным В. Cheson, в США схема ABVD широко используется даже при распространенной ЛХ (в Европе — схема BEACOPP), ожидаются отдаленные результаты по схеме Stanford V, которая, возможно, будет конкурировать со схемой BEACOPP у больных ЛХ III–IV стадии.

Целых 2 симпозиума были посвящены отдаленным последствиям лучевой и комбинированной терапии больных ЛХ (председатели — S. Horning, США и van Leeuwen, Нидерланды). Научные коллективы из США, Европы, России имеют колоссальный опыт длительного (20–25 лет) наблюдения за больными. К серьезным поздним неблагоприятным последствиям лечения относятся вторые опухоли, кардиоваскулярные и легочные осложнения, эндокринные нарушения. Повышенный риск вторых солидных опухолей тесно связан с предшествующей лучевой терапией в первые 10 лет наблюдения. Химиотерапия также вносит вклад в повышение частоты развития вторых опухолей, и, прежде всего, рака легкого. Лейкемогенный эффект прокарбазинсодержащих режимов стал ясен уже к 1977 г. Риск вторых опухолей почти в 2 раза выше у лиц молодого возраста (15–24 года на момент терапии ЛХ). Риск рака молочной железы при предшествующей лучевой терапии на этот орган по поводу ЛХ связан с суммарной очаговой дозой более 24 Гр. Таким образом, современные подходы к лечению первичных больных ЛХ должны строиться на принципе оптимального достаточного объема терапии с учетом профилактики возможных поздних побочных эффектов.

На заседании, посвященном вопросам лечения больных рефрактерными и рецидивирующими формами ЛХ, председательствовали немецкие спе-

циалисты N. Schmitz и R. Naumann. Были освещены новые подходы в терапии этой категории больных: применение гемцитабина в схеме химиотерапии ICEV (ифосфамид, гемцитабин, винорельбин, преднизолон) и обобщен опыт германской группы. Так, у больных с рецидивами ЛХ с преобладанием лимфоцитов и выраженной экспрессией CD20 с 1999 г. успешно используют ритуксимаб; у больных классической рецидивирующей ЛХ накапливается опыт анти-VEGF-терапии (авастин) как химиосенсибилизирующего режима. Приведен четвертый промежуточный анализ у 284 больных с рецидивирующей ЛХ с применением высокодозной химиотерапии и аутологичной трансплантации стволовых клеток: 85% больных достигли полной или недоказанной полной ремиссии, и 3-летняя общая выживаемость составила 86%.

На сессии по аллогенной трансплантации (председатель — Ch. Gisselbrecht, Франция) было подчеркнуто, что эта лечебная процедура остается экспериментальным терапевтическим подходом с серьезными осложнениями и неотработанными клиническими показаниями. Тем не менее в мире ежегодно увеличивается количество аллотрансплантаций при ЛХ как после миелоаблативных режимов, так и после режимов кондиционирования с редуцированной миелотоксичностью. На европейском опыте (168 больных) показаны преимущество последнего режима в сочетании с аллотрансплантацией по критериям смертности, не связанной с ЛХ, и увеличение общей выживаемости.

Нельзя не упомянуть и о новых протоколах лечения, представленных различными европейскими группами. Прежде всего следует отметить колоссальную роль и научное значение полученных за 20 лет работы данных Германской группы по изучению ЛХ; всего прослежено за этот период 13 561 больной. Последние протоколы GSHG (HD 16, HD 17 и HD 18) начинаются с 2008 г. HD 16 для больных ЛХ I–II стадии без факторов риска

включает химиотерапию ABVD, ПЭТ и лучевую терапию на пораженные зоны; HD 17 для I–II стадии с факторами риска предполагает сравнение циклов ABVD и EACOPP-14 (без блеомицина) с обязательной лучевой терапией или на пораженные зоны или на пораженные лимфоузлы (рандомизация). HD 18 для больных ЛХ III–IV стадии включает эскалированный BEACOPP, ПЭТ и лучевую терапию только на остаточные лимфоузлы (30 Гр). Больные, имеющие ПЭТ+, будут рандомизированы для проведения или стандартной терапии или ее интенсификации с применением шести циклов эскалированного BEACOPP и ритуксимаба; больные ПЭТ– рандомизируются для проведения двух циклов эскалированного BEACOPP или шести циклов лечения по этой же схеме без ритуксимаба. Последний протокол H10 EORTC/GELA для больных ЛХ I–II стадии с небольшими вариациями повторяет основные вехи протоколов GHSG HD16 и HD17. Британской, Итальянской и Скандинавской группами представлен совместный протокол для больных ЛХ III–IV стадии, в котором лечение после исходной ПЭТ начинают с двух циклов ABVD и после второго ПЭТ больных рандомизируют или для проведения еще четырех циклов ABVD (ПЭТ–), или для интенсификации терапии с помощью BEACOPP-14 (ПЭТ+), лучевую терапию будут получать больные с остаточными опухолевыми массами.

Таким образом, 7-й международный симпозиум по ЛХ явился значительным научным событием в изучении этого заболевания и определил новые направления в его терапии в начале XXI века. Следует отметить преобладающее признание и приоритет европейских школ, прежде всего германской, над североамериканскими группами в плане стратегии развития дальнейших направлений исследований. Ведущие российские научные группы из Москвы и Санкт-Петербурга имеют в настоящее время все необходимое для диагностики и терапии больных ЛХ на современном уровне.

Подготовил канд. мед.
наук А.Д. Ширин

С 20 по 22 ноября 2007 г. в Москве прошел XI Российский онкологический конгресс.

В основной программе конгресса прозвучали 2 лекции, посвященные гемобластозам.

Лечение хронического лимфолейкоза: как не утонуть в море современных возможностей

(проф. М.А. Волкова)

Лекция состояла из трех частей. Первая часть была посвящена рассмотрению возможностей, которые дает современная терапия. Было показано, что продолжительность жизни больных ХЛЛ, получавших лучевую терапию, составляла всего 42–44 мес, при появлении в 1950-х годах алкилирующих препаратов и внедрении в терапию ХЛЛ хлорамбуцила и схем СОР и СНОР она увеличилась до 56–65 мес и оставалась такой до 1980-х годов. Разработка и внедрение в клиническую практику пуриновых аналогов, а затем моноклональных антител знаменует современный этап терапии ХЛЛ.

В настоящее время золотым стандартом лечения ХЛЛ можно считать сочетание флударабина, циклофосфана и мабтеры (ритуксимаб — антитела к антигену CD20). Такая комбинация препаратов позволяет получить 90–95% ремиссий, в том числе 65–70% полных у ранее не леченных больных, а у леченных ранее другими препаратами — 70–75% ремиссий, в том числе 25–30% полных. Медиана продолжительности ремиссий достигает 4–4,5 года, медиана продолжительности жизни превышает 8 лет. Появление моноклональных антител к антигену CD52 (алемтузумаб, кэмпас) открыло возможности получения молекулярных ремиссий при использовании кэмпаса

в сочетании с флударабином или при его применении для консолидации полной ремиссии, полученной при лечении другими препаратами, в частности, комбинацией флударабина, циклофосфана и мабтеры. Лечение комбинацией флударабина и кэмпаса позволяет получить ремиссии у больных с наиболее неблагоприятными прогностическими признаками — с делецией короткого плеча хромосомы 17 (17p-) или длинного плеча хромосомы 11 (11q-).

Во второй части лекции были рассмотрены биологические особенности ХЛЛ, являющиеся прогностическими признаками и определяющие эффективность терапии. Было показано, что наиболее важным прогностическим признаком является мутационный статус генов варибельных регионов иммуноглобулинов тех лимфоцитов, которые составляют субстрат опухоли. Наличие и характер хромосомных аберраций также имеют важное прогностическое значение: при изолированной делеции 13q прогноз наиболее благоприятный (продолжительность жизни 133 мес), при делеции 11q и 17p — наиболее неблагоприятный (продолжительность жизни 79 и 32 мес соответственно).

Третья часть была посвящена показаниям к назначению терапии вообще и различных комбинаций препаратов в зависимости от факторов



прогноза. Так, было продемонстрировано, что при обнаружении у больного делеции 17p наиболее рациональным является лечение кэмпасом или его сочетанием с флударабином, поскольку другие средства не позволяют получить полные продолжительные ремиссии.

В заключительной части были указаны те исследования, которые являются необходимыми при назначении различных препаратов и их комбинаций: определение фракции выброса левого желудочка сердца при назначении антрациклинов, клиренс креатинина перед назначением флударабина, тест на носительство HBs-антигена перед назначением мабтеры, на реактивацию цитомегаловируса перед назначением кэмпаса.

Текст доклада представлен в Материалах XI Российского онкологического конгресса.

Новые подходы к диагностике и лечению множественной миеломы

(канд. мед. наук О.М. Вотякова)

В первой части лекции были представлены современные критерии диагностики, новая международная классификация множественной миеломы (ММ) и международные критерии по оценке эффективности лечения.

Новые критерии диагностики миеломы предложены Международной рабочей группой по ММ в 2003 г. Использование этой диагностической системы

позволяет выделить группу пациентов с активной или симптоматической миеломой, которым необходимо лечение.

Современная международная классификация ММ (International Staging System — ISS) в зависимости от уровня альбумина и β_2 -микроглобулина в сыворотке выделяет три стадии заболевания. Система стадирования ISS применяется при проведении клини-



ческих исследований. Большое значение имеет введение новой классификации в клиническую практику, так как ее использование позволяет оценить прогноз болезни в различных возрастных группах пациентов, независимо от типа терапии (стандартная химиотерапия или высокодозная химиотерапия — ВХТ с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток — ГСК).

Новые Международные критерии оценки эффективности лечения ММ 2006 г. выделяют не только понятия полной, частичной ремиссии и минимального ответа, но и убедительную (stringent) полную ремиссию, достижение которой стало возможным благодаря введению в клиническую практику ВХТ и новых лекарственных агентов. Также введен критерий очень хорошей частичной ремиссии, достижение которой в значительной степени определяет успех лечения и отдаленные результаты.

Вторая часть лекции была посвящена современной тактике ведения больных ММ, включая ВХТ с трансплантацией аутологичных ГСК. Особое внимание было уделено результатам клинических исследований новых лекарственных препаратов (талидомида, леналидомида и велкейда) при ММ. Показана реальная возможность улучшения лечения рецидивов болезни, новые перспективы в лечении первичных больных.

Представлены данные клинических исследований, в которых было показано, что у пожилых больных ММ сочетание МР-терапии с талидомидом, леналидомидом и велкейдом превосходит по эффективности схему МР, которая более 40 лет была стандартной программой лечения. Эффективность МР в комбинации с этими новыми лекарственными средствами составляет от 76 до 88%, а частота полных ремиссий достигает 15,5–32%.

Проведенные клинические испытания также свидетельствуют о высокой эффективности новых индукционных режимов перед ВХТ с включением талидомида, леналидомида и велкейда. Так, при лечении талидомидом и дексаметазоном в 63% случаев удается получить частичную ремиссию. Эта схема в США является стандартной для индукции ремиссии перед ВХТ. Эффективность индукционной терапии леналидомидом с дексаметазоном оказалась еще выше (91% — достижение не менее чем частичной ремиссии), при этом полные ремиссии и очень хорошие ча-

стичные ремиссии получены у половины больных. Сочетание велкейда с дексаметазоном эффективно у 66% первичных больных ММ, у трети больных достигнута полная или очень хорошая частичная ремиссия.

Перспективными представляются новые схемы индукции ремиссии перед ВХТ, включающие велкейд, дексаметазон и антрациклины (адриабластин или пегилированный липосомальный доксорубин — доксил). Как показали клинические исследования, после индукционной терапии сочетанием этих лекарственных агентов удается получить противоопухолевый эффект приблизительно у 90% больных, у трети больных при этом получена полная ремиссия. После ВХТ с трансплантацией аутологичных ГСК полные ремиссии достигнуты у половины больных.

Представлены также данные крупного клинического испытания, проведенного M. Attal et al, в котором была показана высокая эффективность поддерживающей терапии талидомидом после двойной ВХТ с трансплантацией аутологичных ГСК.

Рецидивы при ММ практически неизбежны. Результаты представленных исследований свидетельствуют о реальной возможности улучшения лечения рецидивов болезни. В качестве начальной терапии в этой ситуации во многих странах, кроме России, используют преимущественно талидомид в монорежиме или в сочетании с дексаметазоном. При рецидивах и рефрактерной миеломе терапия талидомидом в монорежиме позволяет получить не менее чем частичную ремиссию у трети больных, а в сочетании с дексаметазоном — в 50–60% случаев. При использовании схем химиотерапии с добавлением талидомида общая эффективность лечения, по данным разных авторов, составляет 50–80%. Однако добавление талидомида к химиотерапии вызывает миелосупрессию и инфекционные осложнения, а также может увеличить риск тромбозов глубоких вен.

Аналог талидомида леналидомид по эффективности не уступает своему предшественнику. Данные двух рандомизированных исследований показали, что сочетание леналидомида с дексаметазоном у больных с рецидивами ММ существенно (приблизительно до 60%) увеличивает частоту достижения частичных ремиссий по сравнению с дексаметазоном, эффективность которого составила приблизительно 20%.

В настоящее время для лечения рецидивов и рефрактерной ММ также с успехом используется велкейд как в монорежиме, так и в сочетании с дексаметазоном. В крупном клиническом исследовании показана эффективность велкейда при рецидивах и рефрактерной миеломе в 35% случаев, включая 10% полных ремиссий. Добавление дексаметазона при недостаточном ответе на терапию велкейдом позволило улучшить результаты лечения до 43–62%. Согласно данным одного из клинических исследований по сравнению велкейда с дексаметазоном в высокой дозе, у больных с рецидивом ММ велкейд оказался эффективнее дексаметазона. Медиана выживаемости, свободной от прогрессирования, составила 6,2 и 3,5 мес, годовичная выживаемость — 80 и 67%, частота полных и частичных ремиссий — 43 и 18% соответственно. В настоящее время проводится большое количество исследований по оценке эффективности сочетания велкейда с химиопрепаратами и дексаметазоном, а также новыми лекарственными агентами при рецидивах ММ. В этих исследованиях показана высокая эффективность сочетания велкейда с мелфаланом (50%), доксилом (73%). Добавление дексаметазона к велкейду и химиопрепаратам повышает частоту достижения ответа до 75–88%. Сочетание велкейда с талидомидом или леналидомидом эффективно приблизительно у 70% больных.

Третья часть лекции была посвящена осложнениям лечения бисфосфонатами и обновленным рекомендациям ASCO 2007 г. по клиническому применению этих лекарственных средств при миеломе. Согласно новым рекомендациям, показание для назначения бисфосфонатов остается прежним. Введение памидроната или золедроновой кислоты показано больным ММ с остеолитическими поражениями или остеопенией каждые 3–4 нед. Впервые обоснована и определена длительность лечения бисфосфонатами, терапию следует продолжать в течение двух лет. Особое внимание в этих рекомендациях уделено вопросам безопасности лечения бисфосфонатами, учитывая увеличение частоты развития побочных эффектов (ухудшение функции почек и остеонекроз челюсти) при использовании этих лекарственных агентов.

Текст доклада представлен в Материалах XI Российского онкологического конгресса.

На пленарном заседании «Интенсификация программ терапии и качество жизни больных злокачественными лимфомами» также был представлен ряд докладов по онкогематологии.

Диагностика лимфом «серой» зоны

(д-р биол. наук А.М. Ковригина)

В своем докладе А.М. Ковригина выделила для обсуждения 2 важных аспекта этой обширной проблемы.

Анапластическая крупноклеточная ALK-негативная лимфома и анапластическая крупноклеточная ALK+ лимфома — биологически различные опухоли лимфоидной ткани, объединенные экспрессией активационного антигена CD30 из семейства рецепторов TNF, анапластической морфологией, но принципиально отличающиеся по основам лимфомагенеза, по клиническому течению и прогнозу заболевания.

По данным, представленным А.М.Ковригиной, анапластическая крупноклеточная лимфома (АКЛ) ALK+составляет 59% от всех исследованных случаев, и более чем в 80% случаев встречается в возрастной группе до 20 лет. ALK-позитивные случаи АКЛ — мелкоклеточный и лимфоцитарный варианты — отмечались, по данным автора, также в группе до 20–25 лет. При АКЛ ALK+ 5-летняя выживаемость составляет 80%, при ALK-негативной — 40%, что присуще периферической Т-клеточной лим-

фоме, неспецифицированной или ангиоиммунобластной лимфоме.

Автор продемонстрировала, что CD30-зависимый апоптоз более присущ АКЛ ALK+, нежели ALK-негативной АКЛ или лимфоме Ходжкина (ЛХ). Объяснением этому феномену может служить блокировка активации семейства транскрипционных факторов NF- κ B за счет супрессии CD30-TRAF-сигнального пути химерным геном ALK-NPM, образующимся в результате t(2;5).

Докладчик неоднократно подчеркивала, что ЛХ и ALK-негативная АКЛ (встречается чаще в старшей возрастной группе) формируют не только морфологическую, но и иммунологическую зону «перекреста» — «серую зону».

Автор считает необходимым включение в дифференциально-диагностическую иммуногистохимическую панель В-линейно ограниченных транскрипционных факторов: BoB.1, PAX 5. Необходимо учитывать, что цитолитические белки, Clusterin, ряд Т-клеточных маркеров, CD15 могут иметь перекрестные реакции при ЛХ и АКЛ.



Второй раздел выступления был посвящен другому не менее значимому аспекту лимфом «серой зоны» — дифференциации ЛХ и первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомы. Эти 2 нозологические формы имеют много общего в профиле экспрессии генов, обладают неоспоримыми признаками активации NF- κ F и, возможно, имеют общую клетку-предшественницу — медуллярную («астероидную») тимическую В-клетку с аксессуарными функциями, с коэкспрессией CD20, CD11c, CD23.

Оптимизация лечения неходжкинских лимфом у лиц молодого возраста

(канд. мед. наук С.В. Семочкин)

В сообщении докладчик привел международные эпидемиологические данные о частоте встречаемости онкологических заболеваний, включая лимфому Ходжкина (ЛХ) и неходжкинские лимфомы (НХЛ) у лиц в возрасте 15–29 лет. Результаты собственного исследования основывались на данных о 88 больных. Пациенты с «не-В-НХЛ» (лимфобластными лимфомами) получали лечение по программе NHL-BFM-90 для не-В-НХЛ, причем все

(n=17, медиана возраста 13,5 года) относились к группе высокого риска (III и IV стадии). Частота полной ремиссии (ПР), смерти в индукции, рефрактерности и рецидивов составили 82, 6, 12 и 17% соответственно (здесь и далее мы не приводим некоторые другие показатели). 6-летняя общая выживаемость (ОВ) и бессобытийная выживаемость (БСВ) составили 59% каждая. Автор обратил внимание на ошибки лечения, с которыми нередко приходит-



ся сталкиваться в повседневной работе, — лечение по схеме СНОР или по другим программ, разработанным для В-НХЛ. С.В.Семочкин акцентировал внимание на трех спорных вопросах: нужна ли локальная лучевая терапия (ЛТ), можно ли отказаться от профилактического краниального облучения, и какова оптимальная длительность поддерживающей терапии. Докладчик привел зарубежные данные об отсутствии влияния на безрецидивную выживаемость (БРВ) проведения ЛТ (M.P. Link et al. N Engl J Med. 1990; 322:1169–74] и высокую частоту медиастинальных рецидивов (47%) после ЛТ на медиастинальные лимфатические узлы [D. Hoelzer et al. Blood 2002; 99:4379–85]. 5-летняя БСВ при проведении и без проведения краниального облучения составила 88 и 82% соответственно [B. Burkhardt. J Clin Oncol. 2006; 24:491–9]. При сравнении трех программ терапии: индукция

+ консолидация; индукция + консолидация + поддерживающая терапия 8 мес; индукция + консолидация + поддерживающая терапия 8 мес + локальная ЛТ через 5 лет ПР сохранялась у 89, 86 и 88% больных соответственно [M.P. Link, et al. N Engl J Med. 1997; 337:1259–66]. Далее автор сообщил результаты терапии пациентов (n = 34, медиана возраста 12,7 года) с лимфомой Беркитта и В-ОЛЛ по протоколу NHL-BFM-90 для В-НХЛ. Частота ПР, смерти в индукции, рефрактерности и рецидивов составили 84, 3, 3 и 9% соответственно. При медиане наблюдения 5,9 года ОВ и БСВ составили 71 и 69% соответственно. Результаты лечения (n = 24, медиана возраста 16,2 года) диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ) были следующими: частота ПР, смерти в индукции, рефрактерности и рецидивов составила 74, 9, 17 и 17% соответственно. При медиане наблюдения 3,7 года ОВ и EFS со-

ставили 61 и 55% соответственно. Затем были представлены осложнения при использовании программы BFM-NHL-90 для В-НХЛ. Для терапии анапластической крупноклеточной лимфомы (АККЛ) также использовался протокол BFM-NHL-90 (n = 12, медиана возраста 13,7 года). Частота ПР, смерти в индукции, рефрактерности и рецидивов составила 92, 8, 0 и 17% соответственно. При медиане наблюдения 7,1 года ОВ и БСВ составили 83 и 75% соответственно. Доза метотрексата в группе высокого риска составила 5 г/м², а в остальных двух группах — 0,5 г/м². Выводы доклада: «Протоколы NHL-BFM-90 являются адекватным терапевтическим подходом для лечения лимфомы Беркитта/В-ОЛЛ, лимфобластных лимфом и АККЛ у подростков и молодых людей. Протоколы NHL-BFM-90 выполнимы в условиях взрослых городских гематологических стационаров».

Лечение рецидивов лимфомы Ходжкина

(проф. В.В. Птушкин)

Во вступительной части сообщения были представлены результаты выживаемости больных лимфомой Ходжкина после возникновения первого рецидива при проведении стандартной полихимиотерапии. При продолжительности первой ПР более 1 года, медиана ОВ составила 4,6 года, а при продолжительности первой ПР менее 1 года — 2,6 года, при отсутствии достижения ПР медиана ОВ — 1,3 года [Longo, 1992]. К 10 годам наблюдения ОВ в этих группах составила 30% и менее 10% соответственно. По данным зарубежных исследователей, использование химиотерапии второй линии у больных с рецидивами и резистентным течением ЛХ позволяет получить ПР в 43–45% случаев (схема В-CAV), 40–53% (схема CEP), 44% (схема CEVD), 40% (схема EVA), 32% (схема Dеха-BEAM). По данным NCI и EBMT (медианы наблюдения 40 и 33 мес соответственно), высокодозная химиотерапия (ВХТ) у больных с первым рецидивом позволяет улучшить результаты: выживаемость, свобод-

ная от прогрессирования, составила 65 (4-летняя) и 44,7% (5-летняя), ОВ — 52% (4-летняя) и 49,4% (5-летняя) в указанных исследованиях. По данным исследования, объединившего трансплантационные центры Минска, Москвы, Санкт-Петербурга и Киева (184 пациента, в 81% случаев в качестве ВДХ проводился BEAM), получены результаты, сопоставимые с указанными выше зарубежными данными. При медиане наблюдения 30 мес к пяти годам наблюдения БРВ составила 69,7%, ОВ — 60%, бессобытийная выживаемость — 41,5%. По данным D.C. Linch (1993), бессобытийная выживаемость больных ЛХ к четырем годам наблюдения при проведении лечения по схемам BEAM и mini BEAM составила 53 и 10% соответственно (p = 0,01). Исследования Германской группы продемонстрировали преимущество ВХТ для ранних и поздних рецидивов и отсутствие положительных результатов при проведении трансплантации у больных с множественными рецидивами (малое число больных, n = 24). Далее было



рассмотрено влияние на результаты ВХТ факторов риска (Б-симптомы, ремиссия менее 1 года, экстранодальные поражения): 3-летняя выживаемость, свободная от прогрессирования, варьировала от 100% (при отсутствии факторов риска) до 0% (при наличии трех факторов риска) [D.Reece, 1995]. Таким образом, «ВХТ с ауто трансплантацией при прогностически неблагоприятных вариантах течения ЛХ позволяет достичь значительной ОВ и БРВ».

Автор продемонстрировал положительные и отрицательные стороны проведения аутологичной ТГСК, затем рассмотрел вопросы аллогенной транс-

плантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). В.В.Птушкин привел результаты токсической смертности при аллогенной ТГСК, которые, по данным американских и европейских исследователей, составили 61 и 43% соответственно. Эти показатели оказались выше, чем при остром лимфобластном лейкозе. Полученные результаты послужили основанием для применения менее интенсивных режимов ВХТ. При использовании режима кондиционирования по схеме FluMel + Campath-1H для больных ЛХ были получены обнадеживающие результаты. Частота ПР составила 83%, а ОВ — 40%. При невозможности ВХТ с алло- и аутологичной ТГСК может проводиться радиотерапия. Как показало исследование роли лучевой терапии [A. Josting et al. J Clin Oncol. 2005; 23:1522], ПР были получены в 77% случаев, но у больных с II–IV стадией только в 12%. Тотальное облучение лимфатических узлов проводилось 12% больных, мантийное — 42%, остальным — локально (8%) или с во-

влеченными полями (37%). 5-летняя ОВ составила 51%, БРВ — 28%. При распространенном процессе и невозможности ВХТ с алло- и аутологичной ТГСК может проводиться монокимиотерапия. Среди препаратов для монокимиотерапии рассматривались гемцитабин, винорельбин, винбластин. Частота ответа при этом лечебном подходе составляет 39–59%, продолжительность ответа — 6–8 мес. В качестве примеров исследовательских протоколов при невозможности ВХТ с алло- и аутологичной ТГСК в лекции сообщалось о схемах: бортезомиб + ICE, 17 AAG (белок теплового шока), MDX-060 (гуманизированные антитела к CD30), MDX-060 + гемцитабин и другие агенты. По данным зарубежных исследователей, могут использоваться отдельные направления иммунотерапии, например, анти-CD30 и анти-CD20. Однако в этих ситуациях эффективность ритуксимаба невысокая.

Выводы автора доклада: «больные с распространенными, особенно

ранними рецидивами ЛХ могут получать ВХТ с аутотрансплантацией стволовых клеток; больные с локальными, особенно поздними рецидивами, могут получать радиотерапию; больные с множественными распространенными рецидивами, в том числе после ВХТ, могут получать монокимиотерапию; резистентные больные, больные с множественными рецидивами могут получать исследовательские протоколы — аллогенную трансплантацию (возможно минитрансплантацию), в том числе после радио/химиотерапии или иммунотерапии».

Докладчику был задан вопрос, какие схемы второй линии можно предложить больному. В.В. Птушкин ответил: «схему DHAP, схемы с ифосфамидом, карбоплатином и этопозидом (ICE), а также схемы на основе гемзара и винорельбина (IGEV). Эти схемы при меньшей токсичности в сравнении с курсом декса-BEAM сопоставимы с ним по эффективности».

Современные стандарты определения качества жизни у больных лимфомами

(проф. А.А. Новик)

Во вступительной части лекции докладчик отметил возрастающий интерес к проблеме качества жизни (КЖ). Число цитированных публикаций, посвященных КЖ в Journal of Clinical Oncology, возросло с 9 в 1983 г. до 572 в 2007 г. Опрос, проведенный среди американских и канадских врачей со стажем работы свыше 10 лет, показал, что 80–88% из них считают важной проблему КЖ. Автор разъяснил значение термина PRO (patient-reported outcome), складывающегося из трех составляющих: субъективные симптомы, КЖ, мнение больного о разных вопросах лечения и КЖ. Определение КЖ включает в себя физический, психологический и социальный статус. Для оценки физического статуса существуют такие шкалы, как ВОЗ, ECOG и проч. Для оценки психологического и социального компонента КЖ разработано более 700 опросников (анкет). На настоящий момент

Профиль качества жизни (SF-36) является «золотым стандартом» интегральной оценки КЖ. При разных заболеваниях происходит различное снижение интегрального показателя КЖ в виде компрессии и деформации его профиля. В качестве примера докладчик продемонстрировал уникальные трехмерные компьютерные изображения меняющегося профиля КЖ больных разными лимфомами. Далее была представлена информация о «модели 7 шагов» — PARADIGM (PRO-monitoring Along with Clinical Assessment During Lymphoma Treatment). В заключение автор отметил: «В современной парадигме оценки ответа на лечение при лимфоме PRO-составляющая является неотъемлемым элементом как в исследованиях, так и в клинической практике. Для оценки PRO-составляющей должны использоваться только стандартные, валидированные в соответствующей



этнолингвистической среде, инструменты (опросники)», а также привел координаты Российского представительства Международного общества исследования качества жизни (ISO-QOL) — www.quality-life.ru.

На вопрос о том, что докладчик использует в своей клинике и работе — объективный ответ или интегральный показатель КЖ, А.А. Новик ответил, что этот вопрос можно перефразировать, как правильно ли утверждение, что нужно лечить больного или болезнь? Информацию о КЖ всегда нужно принимать во внимание.

Результаты лечения неходжкинских лимфом у детей

(д-р мед. наук О.В. Морозова)

Автор представила результаты сравнительного анализа лечения детей с НХЛ в разных возрастных группах. Были рассмотрены результаты использования программы NHL-BFM-95, которые основывались на данных о 224 больных. Основную группу составили подростки младшего возраста, среди лимфом преобладали В-линейные опухоли. Среди «не-В-НХЛ» основную группу составили больные с IV стадией заболевания. Основную прогностическую группу к 33-му дню терапии (предварительная оценка результатов) составили пациенты с промежуточным риском. Результаты лечения детей с не-В-НХЛ: ПР — 98,7%, без эффекта — 1,3%, рецидивы — 10,7%, ПР продолжительностью 2 года и более — 88,2%, умерли — 11,8%. БРВ у детей с «не-В-НХЛ» при лечении по протоколу BFM 90/95 к двум годам наблюдения составила 93%, к пяти годам — 90%. Результаты лечения детей с В-НХЛ: ПР — 87,2%, без эффекта — 12,8%, рецидивы — 7,8%,

ПР продолжительностью 2 года и более — 79,1%, умерли — 20,9%. БРВ у детей с В-НХЛ при лечении по протоколу BFM 90/95 к двум годам наблюдения 92%. Выводы докладчика: «При лечении локализованных стадий НХЛ достаточно 2–4 курсов полихимиотерапии средней интенсивности, длительность которой не превышает 6 мес, без применения локальной лучевой терапии; профилактика поражения ЦНС показана в случае локализации опухоли в области головы и шеи; поддерживающая химиотерапия требуется при лимфобластной морфологии НХЛ. Программа BFM-90/95 является высокоэффективной для лечения детей с В-НХЛ. Основным залогом излечения является достижение раннего полного эффекта, частота рецидивов низка. Основными направлениями в терапевтических исследованиях НХЛ у детей в настоящее время являются поиск альтернативных методов лечения с использованием клеточных технологий при рефрактер-



ных и рецидивных НХЛ и вариантах с плохим прогнозом, включая режимы кондиционирования с редуцированной интенсивностью, генную и НК-клеточную терапию. Дальнейшая разработка и поиск новых возможностей таргетной терапии НХЛ, включая иммунотерапию, радиоиммунотерапию, использование низкомолекулярных препаратов. Совершенствование всех направлений сопроводительной терапии, включая проблемы профилактики и лечения синдрома лизиса опухоли, новые противогрибковые препараты и лечение тяжелых мукозитов».

На сателлитном «Симпозиуме по анемии 2007», организованном при поддержке компании «Янссен-Силаг», рассматривались аспекты лечения анемии у онкологических пациентов на фоне химиотерапии и современные рекомендации EORTC. Была организована ставшая традиционной дискуссия «за» и «против» применения эритропоз-стимулирующих препаратов (ЭСП), а также краткий обзор не-

которых аспектов лечения миелодиспластических синдромов как ЭСП, так и децитабином.

Программа сателлитного симпозиума компании «Амджен» включала в себя лекцию проф. M.S. Аарго (Швейцария), одного из авторов обновленных рекомендаций EORTC по использованию ЭСП у онкологических больных, с подробным одноименным сообщением. Проф. А.А. Масчан

в лекции «Аранесп — новая молекула и новые возможности лечения анемии» детально осветил патогенез анемии у онкологических больных, механизм действия ЭСП, сравнение эпоэтина и дарбэпоэтина, а также исследование синхронного (с 1-го дня химиотерапии) и асинхронного (с 15-го дня химиотерапии) применения дарбэпоэтина, не выявившего различий в эффективности.

49th Annual Meeting of the American Society of Hematology, December 8–11, 2007, Atlanta, Georgia, USA

С 8 по 11 декабря в Атланте проходил 49-й конгресс Американского гематологического общества. Первый конгресс этого общества состоялся в 1958 году, на нем присутствовало 300 гематологов. С тех пор ASH-конгресс стал важнейшим ежегодным событием в жизни мирового гематологического сообщества, на нем присутствует все больше гематологов из разных стран. В этом году в конгрессе участвовали 20 000 человек. Во время многочисленных заседаний на конгрессе обсуждаются ключевые вопросы различных гематологических заболеваний, помимо тезисов ежегодно выпускается том Education Book, содержащий лекции ведущих специалистов мира по различным проблемам гематологии. Мы публикуем лишь некоторые материалы, касающиеся только онкогематологических заболеваний. Насыщенность программы и параллельное проведение заседаний не дают возможности посетить все заседания, вызывающие интерес. Мы останавливаемся на вопросах, которые рассматривались во время тех заседаний, на которых присутствовали наши коллеги.

ОСТРЫЕ ЛЕЙКОЗЫ

Подготовила д-р мед. наук проф. М.А. Волкова

Острые лимфобластные лейкозы (ОЛЛ)

Основное внимание в терапии ОЛЛ в настоящее время сосредоточено на лечении Ph-положительных форм заболевания. Это обусловлено плохими результатами их лечения при использовании как стандартных, так и усиленных (Hyper-CVAD) программ терапии в предыдущие годы и появлением ингибиторов тирозин-киназ (иматиниб, дасатиниб, нилотиниб), высокоэффективных в терапии ХМЛ и некоторых других заболеваний, патогенез которых обусловлен изменениями тирозин-киназной активности.

Лечение Ph-положительных ОЛЛ до появления ингибиторов тирозин-киназ позволяло получить ремиссии более чем у половины пациентов, однако, средняя продолжительность жизни больных из-за быстро наступающих рецидивов колебалась, по данным разных клиник, от 8 до 16 мес. Только в тех случаях, когда в результате интенсивной терапии удавалось получить уменьшение количества Ph-положительных клеток в 1000 раз (на 3 lg) или после проведения аллогенной трансплантации в период первой ремиссии, 2-летняя общая выживаемость составляла 48%. Никто из больных, у которых уменьшение количества Ph-положительных клеток составило менее 3 lg, не прожил двух лет (D. Thomas, Education Book, p. 435). Результаты аллогенной трансплантации тоже нельзя признать хорошими: 5-летняя выживаемость составила 34% среди больных, которым

трансплантация сделана в первой ремиссии, 21% — во второй ремиссии и 9% в группе получивших трансплантацию вне ремиссии.

Появление ингибиторов тирозин-киназ изменило ситуацию. Вначале иматиниб (гливек) был применен в монорежиме в рецидиве и у рефрактерных к химиотерапии больных. Было получено до 29% полных, но кратковременных ремиссий. Поздней иматиниб стал применяться одновременно с такими интенсивными режимами, как Hyper-CVAD, в дозе 600 мг в день на протяжении всего периода лечения, а при хорошей переносимости и в периоде поддерживающего лечения — по 800 мг в день на протяжении 24 мес. В настоящее время еще отсутствуют большие исследования в связи с относительной редкостью этого варианта ОЛЛ, однако, исследования большинства международных кооперативных групп показали эффективность такого режима: частота полных ремиссий составляет от 72 до 96%, общая двухлетняя выживаемость — 43–59%. Во многих случаях после достижения ремиссии при таком режиме терапии удается успешно провести аллогенную трансплантацию. (D. Thomas, Education Book, p. 436–37). Применение иматиниба в дозе 400 мг в день для эрадикации минимальной остаточной болезни после трансплантации оказалось успешным в половине случаев.

Во многих клиниках в настоящее время перед назначением ингибиторов тирозинкиназ проводится

исследование на наличие мутаций ABL-тирозинкиназы. При обнаружении таких мутаций применяются не иматиниб, а другие ингибиторы: нилотиниб и дасатиниб, которые в 30–50 раз активнее иматиниба и оказываются активными при большинстве мутаций ABL-тирозинкиназы. В кооперированном исследовании из Италии дасатиниб назначался по 70 мг 2 раза в день в комбинации с преднизолоном по 60 мг/м² в день для лечения 23 больных с Ph-положительным ОЛЛ. Медиана возраста больных составила 57 лет. Дасатиниб назначался на протяжении 84 дней, преднизолон за 7 дней до начала лечения дасатинибом (префаза, в течение которой делалось цитогенетическое исследование) и его прием продолжался в течение 31 дня. Больные получали профилактику нейтропении. У всех 23 больных к концу лечения была достигнута полная ремиссия, однако у 1 больного после прекращения приема дасатиниба развился рецидив, в связи с которым он погиб, остальные больные остаются в полной ремиссии от 2 до 7 мес наблюдения (Abstract # 7).

Аналогичные высокие результаты получены в MD Anderson Cancer Center (США). Дасатиниб назначался одновременно с Hyper-CVAD или чередовавшимся с циклами Hyper-CVAD циклами высоких доз цитарабина и метотрексата, дасатиниб — по 50 мг 2 раза в день в течение первых 14 дней на протяжении всех 8 циклов лечения. В результате получено 93% полных ремиссий (Abstract # 2814).

Германская кооперативная группа использовала иматиниб для поддерживающего лечения у пожилых больных с Ph-позитивным ОЛЛ, которым по их состоянию невозможно было сделать трансплантацию. Медиана возраста больных 69,5 года, 42% больных остаются в ремиссии на протяжении 28 мес (Abstract # 2817).

В лечении Ph-негативного ОЛЛ новых подходов пока нет. Исследованиями французской кооперативной группы подтверждено, что при лечении взрослых больных (до 35 лет) с Ph-негативным ОЛЛ результаты значительно лучше при использовании детских протоколов лечения за счет более высоких доз L-аспарагиназы, кортикостероидов, метотрексата и 6-меркаптопурина: при использовании детского протокола общая 4-летняя выживаемость составила 90% и безрецидивная — 83%, при лечении по протоколам, принятым для взрослых, 47 и 35% соответственно ($p = 0,05$) (Abstract # 2822).

Вопрос о трансплантации при ОЛЛ остается окончательно не решенным. Аутологичная трансплантация у взрослых дает худшие результаты, чем химиотерапия, и поэтому не должна рекомендоваться взрослым больным. Аллогенная трансплантация от сиблинга должна быть рекомендована пациентам с высоким риском рецидива (неблагоприятными прогностическими признаками). Однако это касается только пациентов моложе 40 лет. У них результаты трансплантации, сделанной в первой ремиссии, оказываются значительно лучше, чем результаты химиотерапии: общая 5-летняя выживаемость при химиотерапии колеблется от 11 до 49 мес в разных сериях наблюдений, при аллогенной трансплантации в первой ремиссии — от 46 до 75 мес, будучи достоверно выше в большинстве наблюдений ($p = 0,04–0,007$) (H.M. Lazarus, S. Liger. Education Book, p. 444–452).

Из MDAnderson Cancer Center опубликованы интересные наблюдения развития вторичных острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) и миелодиспластических синдромов (МДС) у больных с ОЛЛ, получавших Hyper-CVAD. С 1992 по 2007 г. в этом центре Hyper-CVAD получил 641 больной с ранее нелеченным ОЛЛ. У 6 больных развились ОМЛ и у 8 — МДС. Медиана возраста ко времени развития вторичных миелоидных заболеваний составила 52 года с колебаниями от 23 до 66 лет. Лишь у одного больного был Ph-позитивный ОЛЛ. Вторичные лейкозы развились через 11–74

мес (медиана 31 мес) со времени начала терапии ОЛЛ. Цитогенетические изменения в период развития второго заболевания были типичными для вторичных миелоидных лейкозов и МДС: у большинства больных — потери 5 и 7 хромосом. Лечение вторичных лейкозов проводилось в большинстве случаев цитозин-арабинозидом и антрациклинами. Были получены 2 полные и 6 частичных ремиссий. Средняя продолжительность жизни этих больных со времени развития вторичных лейкозов составила 8,3 мес. Пяти пациентам (все с МДС) была сделана аллогенная трансплантация стволовых клеток, 4 из них умерли в течение трех месяцев после процедуры, 1 жив в течение 14 мес. Таким образом, частота развития вторичных миелоидных заболеваний при лечении ОЛЛ Hyper-CVAD составила 2,18%, лечение вторичных лейкозов остается неудовлетворительным.

Острые нелимфобластные лейкозы (ОНЛЛ)

На заседаниях, посвященных ОНЛЛ, и в опубликованных материалах рассматривались главным образом три проблемы: молекулярные изменения при ОНЛЛ, прогностические факторы и их учет при выборе терапии и вопросы терапии в целом.

1) Генетические аберрации при ОНЛЛ в основном являются мутациями. Изменения, возникающие в результате этих мутаций, можно разделить на 2 класса: мутации класса I, в результате которых активируются сигнальные пути, что ведет к увеличению пролиферации и/или выживаемости лейкоэмических предшественников, и мутации класса II, в результате которых активируются транскрипционные факторы или компоненты сопутствующих активационных комплексов, что ведет к нарушению дифференцировки миелоидных предшественников. Например, мутации FLT3 тирозинкиназы или RAS-сигнального пути можно отнести к мутациям класса I, мутации, ведущие к транслокациям (8;21), (16;16) или inv(16), t(15;17), относятся к мутациям второго класса.

В последние годы открыты различные мутации во многих случаях цитогенетически нормальных ОНЛЛ, что позволяет разделить эту группу, всегда рассматривавшуюся как группу с промежуточным прогнозом, на прогностически более определенные подгруппы.

Наиболее частыми среди таких мутаций являются мутации гена нуклеофосмина — ген *NPM1*. Нуклеофосмин — ядерный фосфопротеин, который перемещается между ядром и цитоплазмой и участвует во многих процессах (развитие рибосом, регулирование стабильности генов-супрессоров опухолевого роста, в том числе *TP53*, регулирование активности ретиновой кислоты). По данным разных исследований, у взрослых больных ОНЛЛ с отсутствием цитогенетических аберраций мутации гена *NPM1* встречаются в 45–62% случаев. Мутации гена *NPM1* при ОНЛЛ чаще встречаются у женщин, лейкозы с этой мутацией характеризуются высоким лейкоцитозом со значительным содержанием бластных клеток в костном мозге, высоким числом тромбоцитов и уровнем лактатдегидрогеназы, высокой экспрессией CD33 и низкой CD34 на бластных клетках. Во многих исследованиях показано благоприятное прогностическое значение мутации *NPM1*: большая частота ремиссий, значительный процент больных с длительной общей и беспрогрессивной выживаемостью. Однако это подтверждено не всеми исследованиями.

Второй по частоте мутаций при ОНЛЛ без выявляемых стандартными цитогенетическими методами аберраций являются мутации гена тирозинкиназы *FLT3*. Эта тирозинкиназа играет важную роль в регулировке пролиферации и дифференцировки ранних гемопоэтических предшественников. Мутации в тирозинкиназном домене *FLT3* приводят в конечном результате к активации важнейших сигнальных пролиферативных путей: RAS/MAPK, STAT5, PI3K/AKT. Метаанализ, включивший 1160 случаев ОНЛЛ, среди которых было 833 с *FLT3*-мутациями, показал отрицательное прогностическое значение этой мутации, но она часто сочетается с другими мутациями, поэтому данные иногда оказываются противоречивыми. Например, примерно 40% больных с мутацией гена *NPM1* одновременно имеют мутации *FLT3*, что затрудняет определение прогностического значения каждой из них.

Мутации гена транскрипционного фактора *CEBPA* не столь часты, как мутации *NPM1* и *FLT3*. Этот фактор участвует в дифференцировке мультипотентных миелоидных предшественников. В нескольких работах показана прогностически благоприятная роль мутации этого гена.

Первая мутация, которая при острых миелоидных лейкозах описана как влияющая на прогноз, была му-

тация гена *MLL*. Она встречается при ОНЛЛ в 5–11% случаев, по данным разных авторов. Мутация заключается в tandemном удвоении экзонов с 5 по 11 или 12. Эта мутация ассоциируется с более короткой продолжительностью полных ремиссий, однако при аутологичной трансплантации в первой ремиссии результаты оказались одинаковыми у больных с этой мутацией и без нее. Показано также положительное влияние децитабина в лечении больных с мутацией гена *MLL*.

Описаны также более редкие мутации генов *NRAS* и *WT1* (ген опухоли Вильмса). Они встречаются у 10–15% больных с ОНЛЛ без цитогенетически определяемых изменений. Имеющиеся наблюдения не указывают на прогностическое значение мутации *NRAS*, в небольшом количестве наблюдений с мутацией гена опухоли Вильмса было отмечено отрицательное влияние этой мутации на исход индукционной терапии.

Сейчас ведутся многочисленные исследования по выявлению других мутаций при ОНЛЛ и определению их прогностического значения, в том числе и у больных с известными абберациями кариотипа. Например, уже имеются наблюдения мутации гена *KIT* у больных с *t(8;21)*, которые существенно ухудшают прогноз больных. Как известно, эта транслокация при отсутствии других аббераций является прогностически благоприятной (H. Dohner, Education Book, p. 412–419).

2) При оценке роли различных прогностических факторов главное внимание было обращено на пожилых пациентов с ОНЛЛ, поскольку хорошо известно, что результаты их лечения практически не улучшились за последние 30 лет и это связано не только с частыми сопутствующими заболеваниями, не позволяющими провести в полном объеме необходимую терапию, но и с большей частотой прогностически неблагоприятных признаков ОНЛЛ у этой группы больных.

При анализе данных медицинских страховых документов 2657 больных ОНЛЛ старше 65 лет в США выяснилось, что на протяжении первого года умирает 86% впервые заболевших, на протяжении двух лет — 94%. Только 30% больных этой группы получали внутривенную химиотерапию (44% больных 65–74 лет, 24% больных 75–84 лет и лишь 6% больных старше 85 лет). В то же время продолжительность жизни была больше у леченых пациентов (7 мес против 1 мес у нелеченных). Европейская организация

по изучению и лечению рака (EORTC) провела рандомизированное исследование, в котором больные ОНЛЛ старше 65 лет без существенных нарушений функций органов, связанных с другими заболеваниями, получали даунорубин по 30 мг/м² в течение трех дней, цитозин-арабинозид по 100 мг/м² в день в течение семи дней и винкристин 2 мг однократно или были оставлены под наблюдением. У пациентов, получавших химиотерапию, в 58% были достигнуты полные ремиссии (против 0% в группе наблюдения), меньше случаев ранней смерти (3 из 31 против 18 из 29 больных в группе наблюдения), более длительная медиана общей выживаемости (21 против 11 нед) и больший шанс прожить 2,5 года (17 против 0% в группе наблюдения).

Как показали данные нескольких рандомизированных исследований американской юго-западной онкологической группы (SWOG), включившие 888 больных, плохие результаты терапии больных старших возрастных групп связаны не только сухудшением общего статуса с возрастом (пропорция больных с показателями общего статуса 2 и 3 составляет 15% в группе до 56 лет, 24% в группе 56–65 лет, 26% среди тех, кому от 66 до 75 лет, и 32% в группе старше 75 лет). Вторичные ОНЛЛ достигают 22–24% среди пациентов 56 лет и старше, экспрессия гена множественной лекарственной устойчивости *MDR1* встречается у 33% больных моложе 56 лет и у 57–62% старше 56 лет, прогностически плохой кариотип встречается у 35% больных моложе 56 лет и у 75,5% больных старше этого возраста, а благоприятные транслокации, такие как *t(8;21)*, *inv 16*, наоборот у 17% больных моложе 56 лет и лишь у 4% больных старше 75 лет.

В MD Anderson Cancer Center проанализировали результаты терапии 998 больных старше 65 лет с ОНЛЛ и МДС с высоким риском трансформации, леченных с 1980г. Средний возраст был 71 год, 20% имели МДС высокого риска, у 54% были неблагоприятные цитогенетические изменения и 33% получали раньше химиотерапию по поводу других злокачественных опухолей. 65% этих больных получили интенсивную терапию, включающую высокие дозы цитозин-арабинозида. Полные ремиссии получены у 45% больных, 29% умерли в период индукционной химиотерапии. Медиана общей выживаемости составила 5,4 мес, 1 год прожили 30% и 2 года 16% больных.

Аналогичные результаты получены Германской кооперативной группой, включившей в анализ 361 больно-

го старше 60 лет с первичным ОНЛЛ у 64% из них и вторичным — у 33%. Больные получали идарубин, цитарабин и этопозид в стандартных дозах. Полные ремиссии получены в 43%, медиана общей выживаемости составила 9,9 мес.

Особенно отрицательно влияют на прогноз неблагоприятные цитогенетические изменения. Группа ECOG показала, что среди больных старше 55 лет с благоприятным кариотипом при интенсивных режимах терапии ремиссии удается получить в 72%, при неблагоприятном (комплексные хромосомные абберации) — только в 26%. Аналогичные данные опубликованы CALGB: 635 больных старше 60 лет получали цитарабин и даунорубин, часть из них с этопозидом. Частота полных ремиссий составила 48,5%, 31,5% оказались резистентными к лечению и 20% умерли во время индукционной терапии. У больных с благоприятными хромосомными абберациями ремиссии удалось получить в 77%, с нормальным кариотипом в 57%, а при неблагоприятных кариологических изменениях лишь в 22–25% случаев. 5-летняя выживаемость составила 19,4% у больных с благоприятными хромосомными абберациями и 0% у больных с неблагоприятными.

Проведенные исследования показывают, что стандартное лечение при удовлетворительном общем статусе может и должно назначаться пожилым больным, но многие врачи боятся включать пожилых больных в рандомизированные исследования, лишая таким образом многих из них шанса на получение ремиссии (H. Erba, Education Book, стр. 420–428).

3) В общем направлении лечения ОНЛЛ идут поиски новых лекарственных средств с новым механизмом действия, поскольку очевидно, что современная общепринятая терапия достигла лимита своих возможностей. В настоящее время проводится несколько больших кооперированных исследований по использованию gemtuzumab ozogomicin, представляющего собой конъюгированную молекулу антител к антигену CD33 с цитотоксическим агентом calicheamicin. Ведутся также исследования по эффективности ингибиторов активности FLT3 тирозинкиназы, фарнезилтрансферазы и других протеаз, например, изучается эффективность дасатиниба как ингибитора cKIT тирозин-киназы (A. Barnett, S. Knapper. Education Book, p. 429–434).

ХРОНИЧЕСКИЙ МИЕЛОЛЕЙКОЗ

Подготовили д-р мед. наук проф. А.Ю. Зарицкий, канд. мед. наук Е.Г. Ломаца

Хронический миелолейкоз (ХМЛ) как модель гемобластоза с наиболее успешно изученным патогенезом и высокоэффективной патогенетически направленной терапией продолжает привлекать большое внимание ученых всего мира. Доказательством этому является огромное количество представленных абстрактов, постеров, образовательных программ и сессий, посвященных проблемам ХМЛ, в декабре 2007 г. на конгрессе Американской ассоциации гематологов.

Статус иматиниба как первой линии терапии хронической фазы (ХФ) ХМЛ прочно укрепили результаты клинического исследования IRIS. В данном исследовании к шести годам наблюдения большинство больных (65,8%) продолжают терапию иматинибом. Общая выживаемость (ОВ) на фоне терапии иматинибом остается высокой — 88% в общей группе и 91% при исключении больных, получивших аллотрансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (аллотГСК). Крайне важным является то, что частота трансформации в фазу акселерации (ФА) и бластный криз (БК) с годами постепенно уменьшалась и между 5 и 6 годами наблюдения составила 0%. Частота достижения полного гематологического ответа (ПГО), большого цитогенетического ответа (БЦГО) и полного цитогенетического ответа (ПЦГО) составила 97, 89 и 83% соответственно. Важно, что ПЦГО сохраняется стабильным у 91,5% пациентов. Кроме того, при цитогенетическом рецидиве у части больных сохраняется возможность восстановления ПЦГО (Abstract #25). В данном исследовании частота полного и большого молекулярного ответов (ПМО и БМО) к шести годам терапии иматинибом достигла 41 и 80% соответственно. Высокая эффективность иматиниба у больных в ранней хронической фазе ХМЛ была показана и в других исследованиях (Abstracts #1045; 4554; 4558).

F. Guilhot et al подтвердили важность достижения ПЦГО. Было показано, что ОВ, бессобытийная выживаемость (БВ) и выживаемость без прогрессии в ФА или БК (ВБП) достоверно выше у больных с ПЦГО по сравнению с пациентами, никогда его не достигшими (Abstract #27). Хотя в данном исследовании выявить четкую связь между этими показателями и временем достижения ПЦГО не удалось, в опубликованных ранее, а также пред-

ставленных на данном конгрессе работах была показана значимость своевременного получения ПЦГО, как одного из наиболее важных маркеров скорости элиминации опухолевых клеток.

Время достижения ПЦГО, так же как и ПГО, БЦГО и БМО, лежит в основе деления больных на группы «оптимального», «субоптимального» и «недостаточного» ответов на терапию иматинибом. Актуальность выделения данных групп еще раз подтвердили результаты проведенного исследования J.Cortes et al. Было показано, что к 24 мес лечения частота достижения ПЦГО и БМО наиболее высокая, а вероятность трансформации в ФА или БК наиболее низкая в группе больных с «оптимальным» ответом, которая определяется как достижение ПГО к 3 мес, БЦГО к 6 мес, ПЦГО к 12 мес и БМО к 18 мес. Самой неблагоприятной оказалась группа больных с «недостаточным» ответом, определенным как отсутствие ПГО к 3 мес, БЦГО к 12 мес и ПЦГО к 18 мес терапии иматинибом или утрата ранее достигнутых ответов. Хотя эффективность терапии больных с «субоптимальным» ответом была выше, чем в этой последней группе, она оказалась достоверно хуже по сравнению с группой больных с «оптимальным» ответом (Abstract #1932).

В качестве преодоления резистентности по-прежнему широко обсуждалась целесообразность повышения дозы иматиниба. Улучшение результатов терапии (достижение ПЦГО, БМО и их стабильность) при применении иматиниба в суточной дозе 600–800 мг в группах пациентов как с «субоптимальным», так и с «недостаточным» ответом было показано во многих работах (Abstracts #1035; 1047; 2967). При этом в работе D. Rea et al было показано, что если повышение дозы иматиниба в группе больных с «субоптимальным» цитогенетическим ответом (минимальный или малый ЦГ ответ к 6 мес, БЦГО к 12 мес) было достоверно эффективным, улучшение результатов при применении более высоких доз препарата у пациентов с «субоптимальным» молекулярным ответом (отсутствие БМО к 18 мес) выявлено не было (Abstract #1052).

Одним из способов предотвращения резистентности к терапии иматинибом может быть исходное применение препарата в высоких дозах. Проведенные работы подтверждают целесоо-

бразность такого подхода (Abstracts #26; 1048). При этом в докладах, посвященных этому вопросу, говорилось об очень высокой эффективности стандартных доз иматиниба в ХФ ХМЛ в общей группе пациентов. В связи с этим отмечалось, что нецелесообразно исходное применение препарата в высоких дозах у всех больных, подвергая их более высокому риску осложнений. Приоритетной задачей остается определение группы больных в ХФ ХМЛ с высоким риском резистентности к иматинибу и оценка эффекта применения высоких доз препарата в данной группе пациентов. В этом отношении интересными могут оказаться результаты исследования по применению иматиниба в дозе 800 мг в группе больных с высоким риском прогрессии ХМЛ по критериям Sokal (Abstract #26).

В контексте преодоления резистентности к иматинибу широко обсуждалось и применение новых ингибиторов BCR-ABL тирозинкиназы — нилотиниба и дасатиниба.

Нилотиниб доказал как высокую эффективность, так и низкую токсичность у больных, резистентных к гливеку (Abstracts #735; 1029; 2960). Кроме того, повышение дозы нилотиниба до 1200 мг/день у больных, резистентных к стандартной дозе препарата (800 мг/день), приводило к достижению ПГО и ПЦГО в этой группе пациентов (Abstract #1038).

Еще более привлекательным является терапия нилотинибом у больных в ХФ в качестве первой линии. В этой группе пациентов уже к 3 мес терапии 95%, а к 6 мес 100% больных достигают ПЦГО и сохраняют его к 12 мес терапии. Эти результаты выше по сравнению с ранее полученными данными на фоне лечения иматинибом в суточной дозе как 400 мг, так и 800 мг (Abstract #29). Кроме того, показана высокая частота достижения БМО и ПМО на фоне терапии нилотинибом как в качестве первой линии, так и у больных, резистентных к иматинибу (Abstract #2961).

Эффективность дасатиниба сравнима с результатами терапии нилотинибом как у больных в поздней, так и в ранней ХФ ХМЛ (Abstracts #29; 30; 734; 735). Частота ПЦГО к 3, 6 и 12 мес терапии дасатинибом в качестве первой линии, так же как и у нилотиниба, оказалась очень высокой и составила, соответственно, 79, 94 и 100% (Abstract #30).

Эффективность нилотиниба и дасатиниба у больных в ФА с резистентностью или непереносимостью к иматинибу была показана в работах F. Guilhot et al и P. Coutre et al (Abstracts #470; 471). При медиане наблюдения 14 мес частота ПГО, БЦГО и ПЦГО на фоне терапии дасатинибом, составила 45, 39 и 32% соответственно. Эти же показатели на фоне терапии нилотинибом (в исследование включены больные, получающие терапию в течение не менее 6 мес) составили 26,1, 29,4 и 16% соответственно.

Терапия дасатинибом в наиболее неблагоприятной группе больных — у больных в фазе БК с резистентностью или непереносимостью к иматинибу — оказалась достаточно эффективной. При наблюдении не менее 12 мес на фоне терапии дасатинибом большой гематологический ответ, БЦГО и ПЦГО достигли 34, 33 и 26% соответственно в группе больных с миелоидным БК и 35, 52 и 46% у больных с лимфоидным БК. Однако ответы были нестабильными. Так, медианы ВБП и ОВ у больных с миелоидным и лимфоидным БК составили, соответственно, 6,7 и 11,8 мес, 3 и 5,3 мес. Переносимость терапии в целом была неплохой, хотя задержка жидкости с выпотом в плевральную полость III–IV степени достигала 15 и 6% при миелоидном и лимфоидном БК соответственно. Требуются дальнейшие наблюдения для подтверждения эффективности дасатиниба в этой группе пациентов как в качестве монотерапии, так и в сочетании со стандартной полихимиотерапией.

Нилотиниб и дасатиниб зарегистрированы в США и во многих странах Европы. При этом применение дасатиниба рекомендовано во всех фазах, а нилотиниба — в ХФ и ФА ХМЛ. Препараты разрешены для применения в качестве второй или последующей линии терапии у больных с резистентностью к иматинибу или ее непереносимостью. Сравнительная оценка эффективности и безопасности этих препаратов не проводилась и вопрос о выборе между ними остается открытым. По всей вероятности, частота как гематологической, так и негематологической токсичности на фоне терапии дасатинибом выше по сравнению с нилотинибом. Однако при применении препарата в дозе 100 мг/день заметно улучшается его переносимость без снижения результатов терапии по сравнению с дозой 140 мг/день (Abstract #736). Кроме того, было отмечено, что выбор между нилотинибом и дасатинибом у резистентных к иматинибу пациентов может основываться на ха-

рактере выявленных у больного мутаций гена BCR-ABL.

В клинических и доклинических исследованиях продолжается оценка эффективности и безопасности новой генерации ингибиторов тирозинкиназ, как не подавляющих (босутиниб, INNO-406), так и подавляющих (ингибиторы аврора киназы, PHA 739358, XL228 и др.) T315I мутантные клетки, а также препаратов, блокирующих образование BCR-ABL белка (ингибиторы «белков теплового шока», гомохарингтонин, ингибиторы гистондеацетилаз-LBH589)(N.P. Shah. Education Book, p. 371–375; Abstract #733; 1030; 1032; 1050; 1051).

Интересно, что обсуждались вопросы возможности отмены иматиниба у больных с ПЦГО и/или БМО. Известно, что отмена иматиниба даже у больных с длительным ПМО приводит к молекулярному и цитогенетическому рецидиву. В связи с этим рекомендована продолжительная терапия иматинибом, а его отмена — только при отсутствии эффекта или развитии тяжелых не корригируемых симптоматической терапией побочных реакций. Интересной является работа A. Hochhaus et al: пациенты в ХФ в качестве первой линии получали сочетанную терапию иматинибом с препаратами ИНФ- α и монотерапию последними после достижения ПЦГО и/или БМО. Примечательно, что после отмены иматиниба у большинства больных при медиане наблюдения 1,2 года не только сохранялась ПЦГО и/или БМО, но часть из них впервые достигли ПМО на фоне поддерживающей монотерапии препаратами ИНФ- α . При этом глубина снижения BCR-ABL транскрипта на фоне монотерапии ИНФ- α коррелировала с экспрессией м-РНК миелобластина (протеиназа 3)-мишеней для цитотоксических Т-лимфоцитов, через которых опосредован иммунный антилейкемический эффект препаратов данной группы (Abstract #28). В другом исследовании было показано, что иматиниб резко подавляет экспрессию протеиназы 3, и хотя при сочетанной терапии с ИНФ- α была достигнута высокая частота ПЦГО и БМО, высказаны сомнения в целесообразности такой сочетанной терапии, учитывая способность иматиниба подавлять иммунный ответ на ИНФ- α , а также вероятность усиления токсических эффектов лечения (Abstract #1027).

Несмотря на несомненно более высокую курабельность больных с помощью аллотГСК по сравнению с иматинибом, роль данного метода лечения в ХФ ХМЛ остается неясной (Abstract

#1009). Иматиниб в качестве первой линии терапии у взрослых признан практически всеми учеными. В настоящее время спорным является роль аллотГСК уже в качестве второй линии терапии. Успехи лечения больных второй генерацией ингибиторов BCR-ABL тирозинкиназ (нилотиниб, дасатиниб) постепенно расширяют круг приверженцев консервативной терапии и для больных, резистентных к иматинибу. Тем не менее несомненно, что отсутствие эффекта на иматиниб является неблагоприятным фактором и, хотя на фоне новых ингибиторов BCR-ABL тирозинкиназы можно получить ПЦГО и БМО, их стабильность еще недостаточно изучена. С другой стороны, более широкое применение немиелоаблативных режимов кондиционирования, снижающих риск развития ранних посттрансплантационных осложнений, может повысить привлекательность аллотГСК в группе пациентов, резистентных к иматинибу. В работе R.E. Champlin et al показана высокая эффективность и низкая смертность от осложнений аллотГСК у больных в ХФ ХМЛ. Возможно, применение данного вида аллотГСК является оправданным не только у больных, не достигших ПЦГО на фоне терапии иматинибом, но и у больных с ПЦГО, но без молекулярной ремиссии с целью индукции ПМО. В данном исследовании при сохранении лейкемических клеток после аллотГСК с целью их элиминации использовали терапию иматинибом или донорскими лимфоцитами (Abstract #1028). Целесообразность применения иматиниба после аллотГСК является несколько спорной. В работе D.Bund et al показано, что у больных, получивших аллотГСК, *in vitro* под воздействием иматиниба резко снижается активность донорских Т-лимфоцитов (Abstract #2956). Подавление антилейкемического иммунного ответа, преимущественно опосредованного Т-лимфоцитами, может перевесить значимость циторедуктивного эффекта иматиниба. Требуется дальнейшее наблюдение для выяснения целесообразности применения иматиниба после аллотГСК.

Несмотря на эффективность нилотиниба и дасатиниба у больных в продвинутых фазах ХМЛ, всеми учеными было признано, что аллотГСК по-прежнему является терапией выбора в этой группе пациентов. Консервативная терапия должна использоваться как этап подготовки к аллотГСК. У больных, не подлежащих аллотГСК, необходимы дальнейшие поиски сочетанной терапии ингибиторов тиро-

зинкиназ со стандартными режимами полихимиотерапии или экспериментальными препаратами.

Недостаточная эффективность монотерапии как иматинибом, так и новыми ингибиторами тирозинкиназ, вероятно, обусловлена, BCR-ABL-независимой активацией многих сигнальных путей, обеспечивающих устойчивость лейкоэмической клетки к этой группе препаратов.

Доклад J.P. Radich на конгрессе был посвящен патогенезу БК ХМЛ. Было подчеркнуто, что ХМЛ на этапе БК перестает быть моногенным, т. е. контролируемым только сигналами, активированными геном BCR-ABL. Возникновение новых хромосомных aberrаций (изохромосома 17 со снижением экспрессии p53, трисомия 8 хромосомы с последующей гиперэкспрессией гена *p53*, дополнительная Ph-хромосома), точечных мутаций в генах-супрессорах онкогенной трансформации (*p53*) или в генах, регулирующих процессы транскрипции и трансляции (*CEBPA*, *PP2A*, *GATA2* и др.) характерно для лейкоэмических клеток в бластном кризе (J.P. Radich. Education Book, p.384–391; Abstract #1022).

В настоящее время в стандарты обследования больных ХМЛ для оценки эффекта терапии наряду с цитогенетическим исследованием, прочно вошли и молекулярные методы детекции количества гена BCR-ABL и его мутаций. Хотя проблемы стандартизации методик количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) по-прежнему существуют, целесообразность и значимость регулярного молекулярного мониторинга, особенно после достижения ПЦГО не вызывает сомнений. Прогностическое значение БМО и ПМО на фоне терапии ингибиторами тирозин-

киназ, а также после аллоТГСК несомненно. В докладе S.Branford еще раз было подчеркнуто, что увеличение количества BCR-ABL транскрипта даже при сохранении ПЦГО может быть сигналом возникновения резистентных клонов клеток и дальнейшего цитогенетического или гематологического рецидива. Была показана также значимость молекулярных методик исследования для определения мутантных клонов клеток у резистентных больных.

В кооперированном исследовании T.Ernst et al изучали чувствительность разных методик для детекции мутаций гена BCR-ABL у больных, получающих терапию нилотинибом или дасатинибом. Высокоразрешающая денатурирующая жидкая хроматография (denaturing high-performance liquid chromatography-DHPLC) и количественная аллельспецифичная ПЦР признаны наиболее оптимальными методами для выявления мутаций гена BCR-ABL, особенно в незначительном количестве. Было показано, что при появлении или исходном присутствии небольшого количества T315I мутантных клонов клеток на фоне терапии нилотинибом или дасатинибом даже при сохранении клинического эффекта отмечалось постепенное увеличение данного патологического мутантного клона (Abstract #321). Вероятно, при появлении мутаций гена BCR-ABL, вызывающих резистентность к применяемому ингибитору тирозинкиназы, независимо от наблюдаемого клинического эффекта, препарат должен быть отменен с целью предотвращения дальнейшей селекции резистентных клеток и прогрессии заболевания. Если основным механизмом резистентности к иматинибу у больных в поздней ХФ, вероятно, является появление мутаций в гене

BCR-ABL, у пациентов в ранней ХФ, получающих препарат в качестве первой линии, по-видимому, этот механизм не является значимым. Мутации гена BCR-ABL были выявлены только у небольшого количества больных данной группы (Abstract #1934). Требуется дальнейший поиск истинных причин недостаточного эффекта терапии иматинибом в этой группе пациентов.

Если исследование BCR-ABL транскрипта в динамике может способствовать раннему выявлению резистентных к терапии клонов клеток, то определение вида мутации гена BCR-ABL в этих клетках, безусловно, поможет в подборе оптимальной терапии в этой группе пациентов. S.Branford в своем докладе подчеркнула важность широкого исследования обоих методик при рутинном ведении больных ХМЛ (S. Branford. Education Book, p. 376–383).

Таким образом, усовершенствование методов терапии ХМЛ, оценка их эффективности и поиск причин резистентности к ним остается в центре внимания ученых всего мира. Большинство больных на фоне терапии иматинибом в стандартных дозах своевременно получают цитогенетическую, а часть из них и молекулярную ремиссии. Для остальных пациентов методами выбора терапии остаются увеличение дозы иматиниба, применение ингибиторов тирозинкиназ второй генерации (нилотиниб, дасатиниб), а также широкое использование аллоТГСК. Результаты терапии новыми ингибиторами BCR-ABL тирозинкиназы, а также другими экспериментальными препаратами также оптимистичны, но требуется дальнейшее подтверждение их эффективности при хроническом миелолейкозе.

ХРОНИЧЕСКИЙ ЛИМФОЛЕЙКОЗ

Подготовили канд. мед. наук Ю.А. Алексеева, д-р мед. наук проф. М.А. Волкова

Хроническому лимфолейкозу (ХЛЛ) были посвящены несколько заседаний, на которых обсуждались вопросы патогенеза и терапии. Еще до официального открытия конференции 7 декабря был проведен симпозиум, который назывался «Great Debates in CLL» — большие дебаты по ХЛЛ. На этом симпозиуме доклады были посвящены факторам прогноза при ХЛЛ, определению оптимальной тактики лечения, стандартам лечения и перспективам. В

первом докладе, который был сделан на симпозиуме и посвящен лечению ХЛЛ, председательствующая профессор MD Anderson Cancer Center Susan O'Brien представила данные в пользу использования сочетания флударабина, циклофосфана и мабтеры (режим РФЦ) в качестве первой линии терапии для всех больных, которым показано лечение. Проанализирована группа, состоящая из 93 пациентов. Не менее 50% из них имели III–IV стадию ХЛЛ по Rai. Ме-

диана возраста в исследованных группах составила 74 года. В качестве первой линии терапии были использованы программы флударабин + циклофосфан (ФЦ), эти же препараты в сочетании с ритуксимабом (мабтерой) — схема РФЦ и лечение сочетанием мабтеры и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора — схема Р-ГМ-КСФ. Преимущество имели группы, где были использованы флударабинсодержащие схемы, ча-

стота общего ответа на лечение в них составила 88–89%. Наилучший показатель частоты полных ремиссий был достигнут при назначении режима РФЦ — 52%, в то время как при сочетании флударабина и циклофосфана, но без мабтеры — только 18%, а в группе, получавшей лечение сочетанием мабтеры и колониестимулирующего фактора, всего 6%. Беспрогрессивная выживаемость также была наилучшей в группе, получавшей все три препарата. Попытка замены флударабина пентостатином привела к снижению частоты полных ремиссий до 40%. В 49% наблюдений после курсов с флударабином отмечена миелосупрессия III–IV степени. Ее эффективность удается сократить назначением колониестимулирующих факторов.

Martin Dyer из University of Leicester (Великобритания) возражал Susan O'Brien. С его точки зрения, более оправданным является дифференцированный подход к назначению препаратов первой линии, а выбор должен делаться с учетом возраста и факторов риска. Он считает, что больным с серьезной сопутствующей патологией следует назначать хлорбутин. В наблюдениях из клиники, которую он представляет, этот вариант лечения позволял контролировать симптомы заболевания, но не влиял на продолжительность жизни пациентов. При выборе лечения для больных без серьезной сопутствующей патологии учитывались данные цитогенетического исследования. Больные, не имеющие делеции короткого плеча 17 хромосомы (17p–), получали лечение комбинацией флударабина с циклофосфаном или флударабина, циклофосфана и мабтеры. Больным с делецией 17p– назначался алемтузумаб (кэмпас) в сочетании с метилпреднизолоном. Алемтузумаб — гуманизированное моноклональное антитело против антигена CD52. В настоящее время известно, что больные с делецией 17p– практически нечувствительны к терапии, не включающей кэмпас, ремиссии, получаемые при использовании других препаратов (например, флударабина), оказываются кратковременными. Алемтузумаб и метилпреднизолон обладают способностью индуцировать апоптоз лимфоидных клеток r53-независимым путем, что важно при наличии делеции 17p–, при которой этот путь в значительной степени блокирован. Важно использовать терапию кэмпасом у таких больных рано, с самого начала лечения, чтобы избежать селекции агрессивного клона с 17p– под влиянием другой терапии, к которой клетки этого клона не чувствительны.

В то же время профессор Martin Dyer подтвердил, что в общей группе наилучшие показатели по частоте ремиссий, в том числе полных, достигаются при использовании схемы РФЦ; в их наблюдениях общих ответов и полных ремиссий при назначении РФЦ получено 90 и 70% соответственно, при назначении алемтузумаба (кэмпаса) — 83 и 24%.

В докладах Stephan Stilgenbauer (University of Ulm, Германия) и Mark A. Weiss (Memorial Sloan Kettering Cancer Center, США) обсуждался вопрос о роли прогностических факторов при выборе тактики лечения пациента с ХЛЛ. Продемонстрирована наибольшая общая выживаемость пациентов с делецией 13 хромосомы, средние показатели выживаемости при трисомии 12 хромосомы, крайне неблагоприятно влияют делеции 11 и 17 хромосом (рис. 1).

Однако в настоящее время отсутствуют большие клинические исследования внутри каждой из цитогенетических прогностических групп, позволяющие оценить эффективность различных методов терапии в зависимости от наличия или отсутствия других прогностических признаков: таких, как экспрессия ZAP 70 или CD 38.

Особое внимание было уделено вопросу, который при ХЛЛ привлек внимание лишь в последние годы: эрадикации минимальной резидуальной болезни (получение полной молекулярной ремиссии). Можем ли мы сегодня считать целью терапии достижение эрадикации минимальной резидуальной болезни и таким образом излечить ХЛЛ? Да, считает профессор Martin Dyer. Это делает оправданной консолидирующую и поддерживающую терапию алемтузумабом, поскольку у 20% больных с ремиссией после терапии

алемтузумабом достигается эрадикация минимальной остаточной болезни. В настоящее время план лечения больного ХЛЛ должен включать максимальное уменьшение объема опухоли с помощью флударабин-содержащего режима (предпочтительно РФЦ) и консолидацию алемтузумабом с достижением эрадикации минимальной остаточной болезни. Молодым пациентам следует проводить аутологичную или аллогенную, в том числе от неродственного донора, трансплантацию гемопоэтических клеток.

В то же время прозвучали и возражения против столь активной терапии ХЛЛ. Alessandra Ferrajoli (MD Anderson Cancer Center, США) обратила внимание на высокую частоту инфекционных осложнений при проведении подобного рода режимов и считает возможным их внедрение в широкую клиническую практику только при появлении более надежных методов профилактики цитомегаловирусной инфекции. Высокая частота инфекционных осложнений при ХЛЛ обусловлена гипогаммаглобулинемией, нейтропенией, изменением функции комплемента и Т-клеточной активности, а также ассоциируется с определенными видами терапии. Внедрение флударабин-содержащих программ и алемтузумаба сопряжено с возрастанием частоты оппортунистических инфекций. Использование терапии с высоким риском осложнений в каждодневной практике для лечения резидуальной болезни, по мнению Alessandra Ferrajoli, нецелесообразно.

O. John Byrd (The Ohio State University, США) выступил с докладом о возможностях новых лекарственных средств в лечении ХЛЛ. Лумиликсимаб — химерное моноклональное ан-

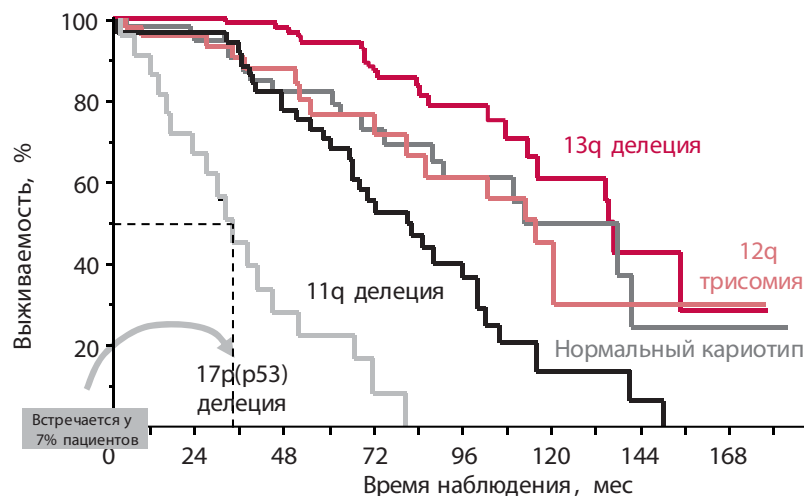


Рис. 1. Общая выживаемость пациентов с ХЛЛ при выявлении цитогенетических нарушений (H.Dohner et al. N Eng J Med. 2000; 343:1910–6)

титело против CD23 антигена, высоко экспрессированного на клетках ХЛЛ. Предварительные результаты III фазы клинического исследования сравнения комбинаций РФЦ и РФЦ с лумиликсимабом у больных с рецидивом ХЛЛ показали сравнимую частоту общего ответа (72 и 73%) и преимущество в частоте полных ремиссий при добавлении лумиликсимаба 25 и 52% соответственно. Синтезированные новые анти-CD-20 молекулы — ofatumumab и veltusumab — обладают, по предварительным данным, большой эффективностью. Активно изучаются препараты из группы ингибиторов ацетилирования гистонов, цитокины (IL-21).

Сегодня на выбор варианта лечения влияет оценка состояния пациента, персональный опыт врача, биология конкретного варианта опухоли (иммунологические, молекулярно-биологические прогностические факторы) и существующие стандарты терапии. Эти стандарты определяются результатами клинических исследований, но в клинические исследования включаются пациенты с лучшим соматическим статусом и предпочтение при их наборе отдается не самой старшей возрастной группе. Однако следует помнить, что ХЛЛ — заболевание, для которого средний возраст составляет 65 лет. Это не позволяет однозначно проецировать данные клинических исследований в широкую клиническую практику и заставляет спорить: для всех ли больных оптимально то, что представляется лучшим?

В нескольких докладах на основных сессиях подчеркивалось, что качество жизни больных ХЛЛ не всегда прямо коррелирует с проявлениями болезни, и нередко больные с минимальными проявлениями ХЛЛ, не нуждающиеся в лечении, испытывают депрессию, связанную с сознанием болезни и вызывающую резкое снижение качества их жизни. Вопреки существующему мнению, чаще депрессия развивается у больных, которым не назначается лечения. Она вызвана беспокойством о возможности «упустить время» для достижения наилучшего результата. Как указывают T.D. Shanafelt и N.E. Kay (Education Book, p. 324–332), наибольшее беспокойство у больного вызывает то, что у него обнаружена болезнь, но «ничего не делается». Авторы подчеркивают, что при возможностях современной терапии ее целью является достижение полной или хотя бы выраженной частичной ремиссии и максимальное продление полученного эффекта. Препаратами выбора даже для больных старше 70 лет во

всех случаях, когда соматический статус больного позволяет надеяться, что его продолжительность жизни превысит 2 года, должны быть схемы РФЦ или РФ, или ФЦ. Хлорамбуцил может быть рекомендован реже, преимущественно тогда, когда больной фактически не нуждается в лечении, но беспокойство, что «ничего не делается».

Преимущества современного «золотого стандарта» терапии ХЛЛ — схемы РФЦ продемонстрировано в совместном исследовании из MD Anderson Cancer Center и University of California. Исследовано 190 больных ХЛЛ и показано, что мутационный статус лейкоэмических лимфоцитов, являющийся наиболее значимым фактором прогноза, при терапии РФЦ не влияет на частоту получаемых ремиссий: независимо от мутационного статуса удается получить 74–75% полных ремиссий. Мутационный статус влиял лишь на длительность получаемых ремиссий, которая была высокой в обеих группах, но продолжительней в группе с мутировавшими генами иммуноглобулинов лейкоэмических лимфоцитов: в группе с мутировавшими генами у 93% больных после терапии РФЦ ремиссия сохранялась на протяжении 5 лет, в то время как в группе с немутировавшими генами лишь у 46% больных. Тем не менее в обеих группах сохранялась высокая продолжительность жизни: 5-летняя общая выживаемость составила 83 и 77% (Abstract # 753).

Эффективность включения мабтеры в схемы терапии ХЛЛ продемонстрирована в пока небольшом кооперированном рандомизированном многоцентровом исследовании NCRI CLL201 из Великобритании. Больные получали либо флударабин, циклофосфан и митоксантрон (ФЦМ), либо те же препараты и мабтеру (ФЦМ-Р). Как частота общего эффекта, так и число полных ремиссий были выше в группе, получавшей мабтеру: общий эффект 57% в группе ФЦМ и 70% в группе ФЦМ-Р, полных ремиссий 13 и 43% соответственно, молекулярных ремиссий 9 и 22% соответственно (Abstract #752).

На конгрессе подчеркивалось, что современная терапия ХЛЛ, будучи высокоэффективной, в то же время является причиной углубления свойственного ХЛЛ дефицита иммунитета и вызванного этим учащения и утяжеления инфекционных осложнений (V.A. Morrison. Education Book, p. 332–338). Однако при проведении профилактики инфекционных осложнений (особенно вирусных инфекций и пневмоцистных пневмоний) исполь-

зование наиболее эффективной терапии РФЦ сопровождается тяжелыми инфекциями только в 2,6% случаев. Инфекции возникают чаще у больных, ранее уже получавших терапию и реже — у первичных больных. Особенно часто наблюдаются инфекции у рефрактерных к флударабину и поэтому леченных кладрибином больных: у 26% первичных больных ХЛЛ, получавших кладрибин, и у 45% больных, которым кладрибин назначался как терапия второй линии при рефрактерности к флударабину.

В нескольких докладах было продемонстрировано, что при проведении консолидирующей терапии класпасом (алемтузумабом) необходима профилактика герпетических и бактериальных инфекций, особенно после терапии, включающей флударабин (Abstracts # 755,756).

В совместном исследовании из Швеции и Австралии было проведено сравнение эффективности относительно высоких доз хлорамбуцила (по 10 мг/м² в течение 10 дней), флударабина (по 25 мг/м² в течение 5 дней) и кладрибина (по 5 мг/м² в течение 5 дней). Всего больные получали по 6 курсов терапии. В исследование был включен 221 больной. Общая эффективность терапии была ниже у получавших хлорамбуцил и практически одинаковой в двух других группах: 62, 70 и 75% соответственно. Среднее время до прогрессирования составило 9 мес при лечении хлорамбуцилом, 10 мес — флударабином и 25 мес при терапии кладрибином. Однако длительность цитопении и частота инфекционных осложнений, в том числе послуживших причиной смерти, были больше среди получавших кладрибин (Abstract # 630).

Одним из вопросов, рассматривавшихся на конгрессе и освещенных в обзоре L.R. Goldin и S.L. Slager (Education Book, p. 339–345) является вопрос о семейном ХЛЛ. По последним опубликованным в США данным, в период 2000–2004 гг. частота ХЛЛ в США составила 3,9 на 100 000 населения со средним возрастом при установлении диагноза 72 года. Из них у 5% имеются кровные родственники, больные ХЛЛ. Наиболее часто ХЛЛ болеют белые (4,14 на 100 000), на втором месте — черные (3,03 на 100 000), за ними следуют выходцы из стран Латинской Америки (1,94 на 100 000), на предпоследнем месте по частоте ХЛЛ находятся коренные жители Америки (американские индейцы — 1,44 на 100 000) и на последнем — выходцы из азиатских стран — 0,84 на 100 000 населения. В отличие от солидных опухо-

лей риск ХЛЛ не возрос у эмигрантов, переселившихся в США из стран с низкой заболеваемостью ХЛЛ. Это подчеркивает роль генетических факторов в возникновении ХЛЛ. Цитогенетические исследования методом FISH показали, что у 12 из 14 больных, имевших больных ХЛЛ родственников, имелась делеция 13q, что значительно превышает частоту этой аберрации среди всей популяции больных ХЛЛ — 50–60% в больших сериях наблюдений. У 3,5% здоровых людей старше 40 лет и у 5,5% старше 65 лет обнаруживается моноклоновый В-лимфоцитоз, иммунологически соответствующий иммунологическому профилю В-ХЛЛ, однако, с числом лимфоцитов, меньше необходимого для диагноза ХЛЛ. У части носителей моноклонового лимфоцитоза обнаружена делеция 13q14. Многолетнее наблюдение за 111 такими индивидуумами показало, что у 42% из них количество лимфоцитов с иммунофенотипом В-ХЛЛ возросло до уровня, необходимого для диагноза ХЛЛ, в среднем за 3,7 года, а 5% этих пациентов потребовалось лечение. Несмотря на настойчивые исследования семейного ХЛЛ, все попытки идентифицировать гены, ответственные за его возникновение, пока не увенчались успехом.

Дополняет представление о моноклоновом лимфоцитозе как об очень ранней стадии ХЛЛ и исследование, проведенное в клинике Mayo в Рочестере (США). В этом исследовании было показано, что время до прогрессирования и необходимости в лечении было достоверно короче при экспрессии на лимфоцитах CD38 (Abstract # 748).

Среди докладов, посвященных биологии ХЛЛ, был интересный доклад о прогностическом значении числа разрушенных клеток (тень Боткина—Гумпрехта) в мазке. Как известно, эти клетки появляются при приготовлении мазка и считаются не имеющими прогностического значения, поскольку отражают свойственную ХЛЛ неустойчивость лейкоэмических лимфоцитов к механическим воздействиям. Однако при исследовании мазков 337 больных оказалось, что число разрушенных клеток коррелировало с выживаемостью больных: выживаемость оказалась достоверно более высокой у больных с более чем 30% разрушенных клеток в мазках (Abstract # 745).

В докладе из MD Anderson Cancer Center на большом числе наблюдений (473 больных) было показано, что наличие комплексных хромосомных

аббераций при стандартном цитогенетическом исследовании является более важным прогностическим фактором для результатов терапии и выживаемости больных, чем данные FISH, иммунный статус и экспрессия ZAP 70 (Abstract # 2065). В наблюдениях из этого же госпиталя показано, что наличие делеции 11q при современной терапии не является больше неблагоприятным прогностическим признаком. У 69 больных из 708 обследованных была обнаружена 11q— без сочетания с 17p—, но нередко в сочетании с другими хромосомными абберациями (делеция 13q— или трисомия 12). Больные получали лечение РФЦ и Р+ГМ-КСФ или РФЦ+кэмпас. Общий эффект получен у 100% больных, получавших РФЦ и РФЦ+кэмпас, и лишь у 33% в группе, получавшей мабтеру в сочетании с колониестимулирующим фактором. Частота полных ремиссий составила 88% в группе леченных РФЦ 100% в группе получавших РФЦ и кэмпас и 0 среди леченных без цитостатических препаратов (группа получавших мабтеру и Г-КСФ). Авторы делают вывод, что при лечении больных с 11q— схема РФЦ в чистом виде или в сочетании с консолидацией кэмпасом должна использоваться обязательно.

НЕХОДЖКИНСКИЕ ЛИМФОМЫ

Подготовил В.А. Доронин

В-клеточные лимфомы

Фолликулярная лимфома

Фолликулярная лимфома (ФЛ) — второй (после диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы, ДВККЛ) наиболее часто встречающийся вариант неходжкинской лимфомы (НХЛ), который составляет 20–25% всех случаев НХЛ в США и Европе. За последние два десятилетия было предложено несколько прогностических моделей заболевания. Наиболее распространены специально разработанный для ФЛ прогностический индекс, получивший название FLIPI (Follicular Lymphoma International Prognostic Index). Он включает пять независимых прогностических факторов (уровень гемоглобина, ЛДГ, стадию по Ann Arbor, количество вовлеченных нодальных зон, возраст) и позволяет разделить больных в зависимости от выживаемости на три категории: низкого, промежуточного и высокого риска. К его недостат-

кам можно отнести то, что он не всегда позволяет определить необходимость начала терапии. Так, например, молодой локализованной ретроперитонеальной массой опухоли и со временем (но не на момент диагностики) повышенным уровнем ЛДГ будут отнесены к группе низкого риска, хотя для большинства клиницистов такая ситуация является основанием для начала терапии. И наоборот, у некоторых пожилых больных с диссеминированной ФЛ без клинических и биологических признаков активности заболевания оправдана выжидательная тактика, несмотря на то что многие из них попадают в группу высокого риска. Тем не менее FLIPI прост для клинического использования и является основой для статистического анализа в подавляющем большинстве клинических исследований.

В последнее десятилетие активно изучаются различные биологические факторы прогноза. Международным

консорциумом LLMP (Leukemia Lymphoma Molecular Profiling Project) было исследовано 286 образцов ФЛ с целью определения профиля экспрессии генов. Исследователями были выделены две основные геномные характеристики, которые независимо влияли на выживаемость больных с ФЛ. Первая, ассоциирующаяся с благоприятным прогнозом, получила название «иммунный ответ 1» и включала экспрессию генов, кодирующих Т-клеточные маркеры, некоторые из которых четко определены на Т-лимфоцитах различных субпопуляций. Вторая — «иммунный ответ 2», где преобладали гены, преимущественно экспрессирующиеся в макрофагах. Она позволила выделить группу пациентов (25%), где медиана выживаемости составляла только 3,9 года. Эти данные позволили различным исследовательским группам изучить иммуногистохимические особенности клеточного микроокружения при ФЛ. Так, группой из Ванкувера было

впервые показано, что большое количество CD68+ макрофагов в клеточном микроокружении является неблагоприятным прогностическим фактором. Другие авторы получили аналогичные результаты, исследуя макрофагальную экспрессию транскрипционного фактора STAT1. (Gilles A.Salles)

Группой из Стэнфордского университета (D. Tan et al) представлен исторический анализ выживаемости при ФЛ за период с 1960 по 2003 г. Всего проанализировано 1334 входящих в базу данных случая ФЛ (1 и 2 градации). Выделено четыре исторические группы больных на момент установления диагноза: 1-я (1960–1975 гг., n = 180), 2-я (1976–1986 гг., n = 426), 3-я (1987–1996 гг., n = 471), 4-я (1997–2003 гг., n = 257). Общая выживаемость (ОВ) для всей когорты пациентов составила 12,6 года. Средний возраст (49 лет), пол (мужчины 54%) и стадия (83% — III–IV) в представленных четырех группах не различались. Медиана ОВ увеличилась с 11,2 года (1-я и 2-я группы 1960–1986 гг.) до 18,4 года (3-я и 4-я группы 1986–2003 гг.). Наибольший прирост был отмечен у больных моложе 60 лет с поздними стадиями заболевания. Несмотря на разницу в терапевтических подходах между 1–2-й и 3–4-й группами, выживаемость без прогрессии (ВБП) была идентичной. Частота гистологической трансформации в крупноклеточную лимфому во всех временных периодах не отличалась, ОВ была существенно выше, если до констатации трансформации лечение не проводилось. Использование ритуксимаба по группам распределялось следующим образом: 1 (1%), 2 (8%), 3 (23%), 4 (42%).

До эры моноклональных антител с целью улучшения результатов лечения использовались различные варианты терапии, включающие комбинации антрациклинов с алкилирующими препаратами, использование интерферонов, пуриновых аналогов, высокодозную терапию. Ни один из этих подходов, несмотря на увеличение продолжительности ответа в каких-то случаях, не влиял на общую выживаемость и не был рекомендован в качестве стандарта терапии. В настоящее время стандартом терапии первой линии, в особенности у молодых пациентов с неблагоприятными факторами прогноза, является иммунохимиотерапия, включающая ритуксимаб, поскольку такой подход позволяет увеличить ВБП и ОВ. Группой авторов (L.Vidal et al) был представлен метаанализ использования ритуксимаба в качестве поддерживающей терапии. Было обработано 226 работ.

Таблица 1. Данные метаанализа результатов использования ритуксимаба в качестве поддерживающей терапии

Автор, год	Число больных	Вариант лимфомы	Индукционная терапия	Ритуксимаб (протокол)
Hainsworth, 2005	90	Ранее леченные ФЛ, ЛМЛ	Ритуксимаб	1 раз в неделю 4 нед каждые 6 мес в течение двух лет
Hochster, 2005	304	Не леченные ФЛ, ЛМЛ	CVP	То же
Hochster, 2007	69	Не леченные ФЛ, ЛМЛ	FC	—
Forstpointer, 2006	195	Рецидив ФЛ, ЛМЗ	FCM+/- ритуксимаб	1 раз в неделю 4 нед 3-й и 9-й месяцы
Ghielmini, 2004	151	Первичные и рецидив ФЛ	Ритуксимаб	1 инфузия каждые 2 мес (всего 4 инфузии)
vanOers, 2006	334	Рецидив ФЛ	CHOP+/- ритуксимаб	1 инфузия каждые 3 мес в течение двух лет

Примечание. ФЛ — фолликулярная лимфома, ЛМЛ — лимфома из малых лимфоцитов, ЛМЗ — лимфома мантийной зоны.

Проанализированы результаты пяти исследований (табл. 1), которые соответствовали критериям включения. 1053 больных рандомизированы в период с 1998 по 2004 г. Медиана наблюдения составляла 26–41 мес. Минимальными требованиями для включения в анализ являлись либо стабилизация заболевания после индукционной терапии (3 исследования), либо частичная ремиссия (2 исследования). Исследователями сделан вывод о статистически достоверном увеличении ОВ у больных с рецидивом или рефрактерной ФЛ при проведении поддерживающей терапии ритуксимабом в сравнении с контрольной группой, где осуществлялось только наблюдение. Однако в группе поддерживающей терапии отмечено большее количество инфекционных осложнений.

В настоящее время в лечении ФЛ активно изучается роль иммуноконъюгатов. А Hagenbeek et al (международное исследование FIT) представили интересные данные по использованию ⁹⁰Y-ibritumomab Tiuxetan (Зевалин) в качестве консолидации первой ремиссии у больных с поздними стадиями ФЛ. Основная концепция исследования заключалась в оценке ВБП у пациентов с минимальной остаточной болезнью (МОБ) после однократного введения Зевалина. С 08.2001 по 01.2005 г. в исследование было включено 414 больных. За период наблюдения в среднем 2,9 года медиана ВБП увеличилась с 13,5 мес (контрольная группа) до 37 мес (Зевалин). Для подгрупп больных с частичной ремиссией (ЧР) или полной ремиссией (ПР) после индукционной терапии медиана ВБП составила 6,3 против 29,7 мес и 29,9 против 54,6 мес соответственно. Результаты исследования свидетельствуют о высокой эффективности препарата: у 87% пациентов достигнута ПР/ПР (недоказанная), ВБП увеличилась приблизительно на 2 года в сравнении с контролем.

Диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома

ДВККЛ — наиболее часто встречающаяся лимфатическая опухоль у взрослых, она составляет почти 40% всех лимфом. Клиническая и морфологическая гетерогенность данной нозологической формы предполагает наличие соответствующих молекулярных механизмов ее развития. Первоначально на основании изучения профиля экспрессии 375 генов были выделены 2 основные группы заболевания: ДВККЛ из клеток герминального центра (ГЦ) и активированных В-клеток (АВК). В дальнейшем исследование клеточного происхождения было сужено до анализа экспрессии 100 и затем 27 генов, которые маркируют опухоль из клеток ГЦ и АВК. Это позволило выделить третью категорию (тип 3/другие), которая по последним данным включает до 40% ранее изученных случаев ДВККЛ. Первоначально было показано, что пациенты с ДВККЛ из клеток ГЦ лучше отвечают на стандартную химиотерапию. Однако в более поздних исследованиях, где использовалась химиотерапия в комбинации с ритуксимабом, прогностические преимущества ДВККЛ из клеток ГЦ не доказаны (Margaret A.Shipp).

В рандомизированном исследовании GELA LNH 98-5 (T.J. Molina et al) проведен иммуногистохимический анализ с целью определения прогностической значимости фенотипа ГЦ при ДВККЛ. В исследовании сравнивались результаты терапии CHOP и R-CHOP. Всего включено 399 пациентов. Тканевые образцы были доступны в 172 случаях. Для выделения группы больных, где фенотип опухоли соответствовал происхождению из клеток ГЦ, анализировалась экспрессия CD10, bcl-6 и ttm-1 антигенов. Окончательный анализ проведен у 101 больного. Основные характеристики пациентов (пол, возраст, стадия, уровень ЛДГ, соматический статус, количество экстра-

Таблица 2. Результаты международных исследований эффективности СНОР и R-СНОР в терапии ДВККЛ

Исследование, медиана наблюдения; терапия	Характеристики исследования	EFS или FFS, %	Общая выживаемость, %
GELA , 7 лет; R-СНОР СНОР	ДВККЛ 60–80 лет Все МПИ	EFS 42 25	53 36
Межгрупповое США , 3 года; R-СНОР СНОР	ДВККЛ >60 лет Все МПИ	FFS 52 39	67 58
MinT , 3 года; R+химиотерапия химиотерапия	ДВККЛ <60 лет МПИ 0–1	EFS 79 59	93 84
RICOVER , 3 года; 6 × СНОР-14, 8 × СНОР-14, 6 × R-СНОР-14, 8 × R-СНОР-14	ДВККЛ 61–80 лет Все МПИ	EFS 47 52 66 63	68 66 78 72

Примечание. EFS — бессобытийная выживаемость, FFS — выживаемость без неудач в лечении.

нодалных очагов, международный прогностический индекс — МПИ, медиана наблюдения 85 мес) в этой группе не отличались от таковых в остальной исследуемой популяции. Терапия СНОР была проведена 49 больным и R-СНОР — 52. 44 случая классифицированы как ДВККЛ из клеток ГЦ. Мультивариантный анализ позволил показать, что на бессобытийную и на общую выживаемость влияет только вариант терапии (СНОР или R-СНОР) и МПИ, но не фенотип лимфомы, характеризующий её принадлежность к ГЦ.

До недавнего времени курс химиотерапии СНОР-21 являлся стандартом в лечении ДВККЛ, 5-летняя выживаемость при его использовании составляла 30–40%. Результаты терапии значительно изменились с внедрением в клиническую практику моноклональных антител, в частности ритуксимаба. Thomas M. Haberman обобщил результаты основных международных клинических исследований с применением иммунохимиотерапии (табл. 2).

В исследовании германской группы DENSE-R-СНОР-14 (M Pfeundschuh et al) наряду с шестью курсами СНОР-14 было выполнено 12 введений ритуксимаба (0, 1, 4, 8, 15, 22, 29, 43, 57, 71, 85 и 99-й дни), что позволило достигнуть высоких плазменных концентраций препарата за более короткий срок. Авторами показано, что при таком режиме терапии увеличивается процент полных ремиссий и общая выживаемость в группе пожилых больных с неблагоприятным прогнозом. ПР достигнута у 81% пациентов в сравнении с R-СНОР-14, где частота ПР только 68%. EFS в течение одного года также отличалась и составляла 74 и 65% соответственно. Той же группой авторов, в рамках исследования

RICOVER-60, показано, что количество циклов R-СНОР (6 или 8) не влияет на результаты терапии. Два дополнительных курса терапии не приводят к увеличению ВБП и ОВ.

Т-клеточные лимфомы

Julie M. Vose были представлены результаты эпидемиологического международного исследования Т-НХЛ в которое были включены 1314 центров из Северной Америки, Европы и Азии. По данным исследования, наиболее часто встречающимися формами Т-НХЛ являются периферическая Т-клеточная лимфома неуточненная и ангиоиммунобластная лимфома, 23 и 18% соответственно от всех Т-НХЛ. Частота встречаемости основных нозологических форм Т-НХЛ в зависимости от географического региона представлена в табл. 3.

Большинство Т-клеточных лимфом имеют плохой прогноз. Включение в схему лечения антрациклинов не влияет на результаты терапии, что диктует необходимость поиска альтернативных терапевтических возможностей.

Nam H. Dang представил обзор применения новых антител в лечении Т-НХЛ.

Занолимуаб (HuMax CD4) — человеческое IgG1k анти-CD4 моно-

клональное антитело. Вводится в дозе 4–14 мг/кг 1 раз в неделю в течение 12 нед. По данным разных исследований, у 20–40% резистентных больных с CD4+ Т-НХЛ получен объективный ответ.

SGN-30 — химерное анти-CD30 моноклональное антитело. Доза препарата — 12 мг/кг каждые 2–3 нед. У больных с CD 30+ лимфопрлиферативными заболеваниями общий ответ составляет 58%. Сиплизумаб (MEDI-507) — гуманизированное IgG1k анти-CD2 моноклональное антитело. Исследуемые дозы препарата от 0,7 до 4,8 мг/кг. Даклизумаб (анти-Тас, анти-IL-2-рецептор) — гуманизированное моноклональное антитело против CD25 антигена рецепторного комплекса IL-2. Проводятся исследования I фазы.

Новой молекулярной мишенью является CD26 антиген, который представлен на активированных Т-лимфоцитах. В настоящее время проводятся исследования I фазы по использованию гуманизированного анти-CD26 антитела.

У больных с Т-НХЛ широкое применение нашли схемы терапии, включающие комбинацию моноклональных антител и химиопрепаратов.

Наиболее часто используются комбинированные режимы лечения, включающие гуманизированное моноклональное анти-CD52 антитело — алектумаб: А-СНОР, А-FCД. При использовании схемы А-СНОР в качестве терапии первой линии общий ответ составляет 88%, ПР достигается в 65–71% случаев.

В последнее время большое внимание уделяется малым молекулам. К ним, например, относятся ингибиторы гистоновой диацетилазы — HDAC. Madeleine Duvic представила обзор применения вориностаата при Т-клеточных кожных лимфомах. В одно из исследований II фазы были включены 33 пациента, ранее получавших лечение. Препарат назначался внутрь в дозе 400 мг/сут. Ответ получен у 24% резистентных больных. В процессе клинических исследований находятся другие ингибиторы HDAC: ромидепсин, PDX 101.

Таблица 3. Частота (в %) отдельных вариантов Т-клеточных лимфом в различных регионах мира

Вариант	Северная Америка	Европа	Азия
ПТКЛн	33,7	22,1	22,1
АИЛ	15,7	30,8	17,6
АККЛ, ALK+	16,0	9,1	3,6
АККЛ, ALK–	7,7	11,6	2,5
НК/Т-клеточная	5,0	5,4	22,1
ТЛЛ взрослых	2,0	1,4	24,6

Примечание. ПТКЛн — периферическая Т-клеточная лимфома неуточненная, АИЛ — ангиоиммунобластная лимфома, АККЛ — анаплазированная крупноклеточная лимфома, ТЛЛ — Т-клеточный лейкоз/лимфома.

МНОЖЕСТВЕННАЯ МИЕЛОМА

Подготовил канд. мед. наук Ю.М. Кучма

(обзор Rafael Fonseca, Mayo Clinic Arizona Cancer Center)

Стратегии риск-адаптированной терапии миеломы

В терапии множественной миеломы (ММ) произошла революция, когда стали доступны новые препараты. Эти препараты кардинально улучшили возможность достижения ответа на лечение, его качества и продолжительности. Хотя ответ на терапию традиционно не являлся хорошим предиктором отдаленного результата, большинство недавних исследований показывают, что ответ является адекватным сурrogатным показателем улучшения выживаемости. Недавнее исследование 3 фазы Французской группой по миеломе (IFM) показало значительные улучшения в непосредственном ответе и в выживаемости при добавлении талидомида к мелфалановому режиму по сравнению со стандартным режимом мелфалан/преднизолон (МР) и высокодозной терапией с трансплантацией стволовых клеток (НДТ). То же самое показывают данные исследования 2 фазы, касающиеся использования леналидомида в сочетании с дексаметазоном для первичного лечения пациентов. В обзоре представлен логический алгоритм подходов к лечению, основанный на определении степени риска болезни.

Определение болезни «высокого риска»

Правильная идентификация пациентов с высоким риском ранней смерти является первостепенной в установлении правильного лечения и более тщательного наблюдения. Авторы поставили цель определить группу из 25% пациентов, у которых медиана выживаемости была 2 года или менее, как условное определение ММ высокого риска. Напротив, идентификация всех других пациентов (ММ стандартного риска) позволяет оптимизировать их лечение с минимальной токсичностью, избежать чрезмерного лечения. С этой целью наиболее распространенной и приспособленной является международная стадиярующая система (ISS), предложенная Greipp и соавторами. Эта классификация основана исключительно на уровне β_2 -микроглобулина и сывороточного альбумина. Пациенты с β_2 -микроглобулином $< 3,5$ мг/дл и альбумином $> 3,5$ мг/дл относятся к I стадии (медиана выживаемости 62 мес),

пациенты с β_2 -микроглобулином $< 3,5$ мг/дл и альбумином $< 3,5$ мг/дл или β_2 -микроглобулином $3,5$ – $5,5$ мг/дл отнесены ко II стадии (медиана выживаемости 44 мес), пациенты с β_2 -микроглобулином более $5,5$ мг/дл — к III стадии (медиана выживаемости 29 мес) независимо от лечебной тактики, возраста или географического расположения.

Для определения прогноза были проанализированы генетические маркеры. Результаты показали, что существуют генетические признаки, определяющие подгруппы болезни с различным исходом, уникальными клинико-патологическими характеристиками и ответом на терапию. По крайней мере два подтипа болезни очевидны: гипердиплоидная ММ (Н-ММ) с низкой частотой IgH транслокаций и негипердиплоидная ММ (НН-ММ) с высоким преобладанием IgH транслокаций. НН-ММ может быть в будущем подразделена на группы со специфическими хромосомными транслокациями $t(11;14)(q13;q32)$, $t(4;14)(p16;q32)$, $t(14;16)(q32;q23)$ и другими, менее частыми. Вместе взятые, эти категории охватывают около 85% пациентов. В клинике Mayo они внедрены в рутинную клиническую практику. Эта информация помогает формировать базис для дискуссии о стратегиях ведения пациентов. Пациенты, имеющие какой-либо из следующих маркеров, определяемый методом FISH: $t(4;14)(p16;q32)$, $t(14;16)(q32;q23)$ или $del 17 p13$, deletion 13 хромосомы или гиподиплоидию, определяемые цитогенетически, или высокий уровень пролиферации (индекс метки плазматических клеток $> 3\%$), относятся к категории высокого риска. Все другие, имеющие гипердиплоидию, $t(11;14)$, $t(6;14)$ (за исключением пациентов с β_2 -микроглобулином более $5,5$ мг/дл при отсутствии почечной недостаточности или повышенной активности ЛДГ) относятся к стандартному риску. Исходя из этой информации, разработан лечебный алгоритм, который учитывает два главных фактора: является ли пациент оптимальным кандидатом для высокодозной терапии (НДТ) и входит ли пациент в группу высокого риска по генетическим признакам. Информация доступна на сайте www.msmaart.org.

Определять пациентов «высокого риска», для которых необходимы

новые стратегии, возможно с помощью профиля экспрессии генов (GER). Одна из прописей GER для ММ высокого риска предложена университетом Арканзаса. Другая пропись GER основана на анализе генов клеточного цикла. Прогностическая значимость GER такова, что он будет выполняться в III фазе клинического исследования. Однако рутинное клиническое применение этих прописей является сложным, так как требуется селекция клеток перед выполнением GER, и даже для опытных лабораторий это может быть затруднительным. Многие другие предложенные прогностические маркеры, которые доступны в литературе, скорее всего, исчезнут с внедрением метода определения группы риска, основанного на исследовании генома.

Роль высокодозной терапии (НДТ) при болезни высокого риска

Главное применение генетической стратификации в настоящее время сосредотачивается на выборе кандидатов для НДТ. Несколько больших исследований показали, что пациенты высокого риска, отнесенные в эту группу на основании генетических исследований, не демонстрируют длительных ответов при НДТ и у многих развивается рецидив в течение 1 года. Этот способ лечения не должен расцениваться, как неэффективный, но его терапевтическое преимущество ограничено короткой продолжительностью ответов и может быть улучшено введением новых препаратов. НДТ в последнее время стала широко используемой и более безопасной, так как смертность при ее проведении меньше 1–2%, эта терапия может выполняться амбулаторно, но остается дорогой и может быть токсичной. Сторонники этого способа лечения утверждали, что поскольку пациенты с болезнью высокого риска имеют более короткие ремиссии, НДТ до сих пор остается эффективной терапией, и для этих пациентов нет способов лучше, чем НДТ. Однако показания для пациентов с болезнью высокого риска остаются неуверенными и самые большие проспективные исследования показали низкий результат. Для ММ высокого риска необходимы лучшие стратегии лечения. Последние исследования показали, что раннее введение бортезомиба приводит к

лучшему качеству ответа и продлевает выживаемость пациентов из группы высокого риска. Учитывая вышеупомянутые ограничения HDT для болезни высокого риска и надежды на бортезомиб, в клинике Mayo у пациентов с болезнью высокого риска, кандидатов на HDT, стволовые клетки собираются после индукции, и бортезомиб вводится рано в ходе лечения.

Индукционная терапия

В настоящее время ожидается, что все больные ММ будут демонстрировать ответ на индукционную терапию и, что только небольшое меньшинство будет оставаться рефрактерным. В исследовании II фазы, проведенном в клинике Mayo, показано, что при комбинации леналидомида с дексаметазоном общий уровень ответа составил 91%. Этот уровень был достигнут при лечении бортезомибом в комбинации с дексаметазоном. Это выше, чем при VAD-химиотерапии, высоких дозах дексаметазона и даже при применении талидомида и дексаметазона в комбинации. Качество, глубина и длительность ответа так же хороши, как и безопасность. Внедрение генетических маркеров, вероятно, будет полезным и для анализа качества ответов. В исследовании E4A03 Восточной Кооперативной Онкологической Группы (ECOG) пациенты, получающие леналидомид с дексаметазоном в низкой дозе, имели 1-годичную вероятность выживания 96% (пресс-релиз ECOG, апрель 2007, доступен на http://www.newratings.com/analyst_news/article_1506504.html). В этом исследовании многие пациенты, несмотря на первоначальные планы провести им раннюю HDT, были отобраны для продолжения терапии леналидомидом с надеждой на дальнейшее улучшение качества ответа через какое-то время. Показано, что с увеличением продолжительности терапии леналидомидом в комбинации с дексаметазоном достижим уровень очень хорошего частичного ответа или даже лучшие показатели у 65% пациентов. Есть надежда, что генетические методы позволят более точно измерить качество полного ответа (CR) и улучшат нашу способность более детально оценивать эффекты терапии.

Токсичность препарата, как и простота его введения учитываются в выборе новых режимов индукции. В исследовании E4A03 использование низких доз дексаметазона (120 мг/цикл в противоположность классическому 12-дневному расписанию, предусматривающему 480 мг/цикл) связано с

улучшением выживаемости, снижением количества инфекций и более низкой частотой венозного тромбоза, что обуславливает более низкую смертность. В то время как смертность при лечении высокими дозами дексаметазона (доза, первоначально выбранная только на эмпирическом основании) приближается к 10%, смертность в исследовании E4A03 при применении более низких доз была меньше 2%. Другие исследования показали превосходный ответ при сочетании низкой дозы дексаметазона с другими агентами типа бортезомиба. Теперь проводятся исследования, направленные на определения возможности полного исключения дексаметазона из схем терапии.

Консолидация

Для консолидации первоначально ответа традиционно использовалась HDT, но ее ограничения, особенно при болезни высокого риска, являются очевидными. Основанное на нескольких недавних исследованиях раннее введение бортезомиба важно при болезни с плохим прогнозом. Mateos et al у пациентов старше 65 лет нашли, что добавление бортезомиба к МР привело к одинаковому уровню ответа независимо от делеции 13 хромосомы (FISH) или статуса IgH генов. Сравнивая свои данные с исторически подобранными случаями, они нашли явное улучшение выживания по сравнению с результатами при использовании МР. Большое международное исследование III фазы (VISTA) было недавно закончено и его результаты должны быть скоро доступны, чтобы подтвердить это в дальнейшем. Несколько других больших исследований показали, что при использовании бортезомиба вероятность ответа была одинаковой у пациентов с или без делеции 13 хромосомы. В клинике Mayo теперь у всех пациентов с болезнью высокого риска — кандидатов на HDT производится ранний сбор стволовых клеток с последующей консолидацией бортезомибсодержащим режимом. Если действительно бортезомибсодержащие режимы приведут к лучшему долгосрочному результату для болезни высокого риска, то это будет главным шагом вперед, позволяя использовать HDT для лечения рецидивов болезни.

Стратегии применения аллогенной трансплантации для ММ высокого риска

Стратегии HDT для лечения ММ продолжают оцениваться. Учитывая сложность этого способа и существенный

риск болезни «трансплантат против хозяина», эту стратегию лечения, возможно, лучше всего сохранить для больных ММ высокого риска. В настоящее время ведутся исследования в разных странах для более точного определения пациентов, подлежащих различным видам HDT.

Поддерживающая терапия

Роль терапии поддержания для ММ — область активного исследования. В то время как интуитивно кажется разумным применять стратегию поддержания для больных группы высокого риска или с персистирующей болезнью, данные, полученные в больших клинических исследованиях, все еще не убедительны. В исследовании, выполненном Университетом Арканзаса, пациенты были рандомизированы на получение поддерживающей терапии талидомидом и наблюдение. Исследование показало увеличение бессобытийной выживаемости, но не было разницы в общей выживаемости. В то же время большое рандомизированное исследование французской кооперативной группы показало, что поддерживающая терапия талидомидом привела к улучшению общей выживаемости. Интересно, что этот эффект был наиболее заметным у пациентов, которые имели делецию 13 хромосомы и у пациентов, не продемонстрировавших очень хорошего частичного ответа после HDT.

Пациенты старшей возрастной группы

Появление новых методов терапии привело к улучшению результатов лечения пожилых пациентов. Пациенты этой группы обычно не являются кандидатами на HDT, они ограничены в вариантах лечения, и поэтому при рецидиве после МР у них применяются менее эффективные способами лечения второй линии. Две главные комбинации появились для терапии пожилых больных: МР в комбинации с иммуномодулирующими препаратами и МР в комбинации с бортезомибом. Оба этих подхода привели к превосходящим результатам по сравнению с предшествующим использованием одного МР. Два больших исследования стоит отметить. Французская группа провела исследование III фазы, которое сравнило МР против МР + талидомид против внутривенного введения мелфалана. Исследование продемонстрировало превосходство МР + талидомид над МР и над HDT, поэтому-то эта комбинация стала новым стандартом лечения в этой популяции больных. Исследование эф-

фективности бортезомиба в комбинации с МР показало беспрецедентную частоту полных ремиссий (CR): 43% CR и неуверенных CR. Этот эффект наблюдался даже у больных с генетическими показателями высокого риска.

Предварительное сообщение французской кооперативной группы (IFM) показывает, что выгоды МР в сочетании с талидомидом по сравнению с МР также очевидны для больных старше 75 лет. Сравнение МР + бортезомиб против МР (исследование VISTA) уже закончено и результаты нетерпеливо ожидаются. Учитывая, что добавление бортезомиба во многих исследованиях показало дополнительную эффективность при ММ высокого риска, возможно, что для пациентов с плохим прогнозом программа МР + бортезомиб станет новым стандартом, в то время как для пациентов с болезнью стандартного риска использование МР + один из иммуномодулирующих агентов будет достаточным.

В связи с высокой эффективностью указанных комбинаций у пожилых больных возникает вопрос, нужно ли рассмотреть возможность их использования у молодых пациентов в качестве единственной первичной терапии, не применяя HDT. Однако важно помнить, что генетическая природа ММ у пожилых потенциально отличается от таковой у молодых, пожилые пациенты могут чаще иметь более индолентную болезнь (Н-ММ и t(11;14)(q13;q32)), ММ IgGκ типа, больше повреждение костей и реже делецию 13 хромосомы. Напротив, молодые пациенты будут чаще иметь признаки высокого риска, включая NH-ММ, множественные транслокации IgH, IgA λ-изотип, почечную недостаточность, остеодеструкцию и чаще экстрамедуллярную ММ.

Рецидивирующая и рефрактерная ММ

Информация относительно роли генетической стратификации для пациентов с рецидивирующей и рефрактерной ММ ограничена. Mulligan et al изучили профиль экспрессии генов у больных, включенных в различные исследования. Все эти исследования использовали бортезомиб при рецидивирующей и рефрактерной ММ, поэтому авторы были в состоянии достаточно точно связать вероятность ответа на лечение с определенными факторами, которые они оценили как ответственные за чувствительность. Они нашли активацию NF-κB у пациентов, которые достигли стабилизации болезни или улучшения, и не нашли ее у тех, кто не получил пре-

имущества от лечения. Несмотря на то что это усилие остаётся единственным, оно отражает многообещающий будущий путь для анализа болезни и предполагаемого выбора препарата.

Несколько других исследований показали, что при терапии бортезомибом преодолевается отрицательный эффект делеции 13 хромосомы.

Трансплантация стволовых клеток

Аутологичная трансплантация стволовых клеток у молодых пациентов

Французская кооперативная группа (IFM) в рандомизированном исследовании впервые продемонстрировала преимущества HDT с трансплантацией аутологичного костного мозга (BMT) по сравнению с традиционной химиотерапией (CC) для ММ. В IFM 90 исследовании HDT значительно повысила частоту CR, бессобытийную выживаемость (EFS) и общую выживаемость (OS) у пациентов с вновь диагностированной ММ в возрасте до 65 лет. Следуя этой публикации, были выполнены похожие рандомизированные исследования. Три исследования, включая IFM 90, использовали кондиционирующий режим без или с низкими дозами тотального облучения тела (TBI). При HDT получено увеличение OS во всех трех исследованиях. Высокие дозы TBI или высокие дозы бусульфана были использованы в трех других исследованиях, и ни одно из них не показало преимуществ в выживаемости при HDT. В исследовании IFM 95 было показано негативное влияние TBI в кондиционирующем режиме. Пациенты были рандомизированы для получения только высокой дозы мелфалана (HDM) или HDM плюс TBI с поддержкой трансплантацией аутологичных стволовых клеток (ASCT). Уровни и продолжительность ответа были одинаковы в обеих группах. Однако OS была значительно улучшена в группе только HDM благодаря меньшей токсичности и лучшей выживаемости после рецидива. В совокупности HDM с поддержкой ASCT рассматривается как стандарт лечения у молодых пациентов.

Тандемная аутологичная трансплантация

В исследовании IFM 90 достижение как минимум очень хорошей частичной ремиссии (более 90% снижение M-компонента, очень хорошая частичная ремиссия — VGPR) коррелировало с более длительной выживаемостью. Это показывает, что при миеломе, как и при других гематологических опухолях,

первичной целью индукции и консолидирующей терапии должно быть достижение CR. Barlogie et al из Арканзаса доложили, что подходом к увеличению частоты CR было повторное интенсивное лечение. IFM провела рандомизированное исследование (IFM 94), сравнивающее одиночную и двойную ASCT. В этом исследовании 399 ранее не леченных пациентов моложе 60 лет были равномерно распределены для лечения однократной ASCT с мелфаланом 140 мг/м² (Mel 140) плюс TBI или двойной ASCT, первая с Mel 140 и вторая с Mel 140 + TBI. CR или VGPR была достигнута у 42% пациентов в группе одиночной ASCT против 50% в группе двойной ASCT. Вероятность семилетней EFS была 10 против 20%, а вероятность 7-летней OS — 42 против 21%. Однако преимущество в выживаемости при двойной трансплантации наблюдалось только среди пациентов, которые не достигли VGPR после первой трансплантации. В другой ветви пациенты, уже достигшие VGPR после первой трансплантации, не имели существенных преимуществ от второй трансплантации. Было опубликовано несколько исследований, оценивающих результаты одной и двойной трансплантации. В трех из пяти исследований (включая IFM 94) показано увеличение выживаемости при тандемной трансплантации, а в двух не показано. Таким образом, двойная трансплантация может быть предложена молодым пациентам, не достигшим VGPR после первой трансплантации.

Прогностические факторы при ASCT

Несмотря на значительное улучшение выживаемости пациентов, лечение HDT, наблюдалась большая гетерогенность в результатах терапии. Фактически преимущество HDT не может быть оценено у некоторых из них, поскольку прогрессирование заболевания происходит до выполнения HDT. Даже у тех, которые получают лечение полностью, имеется существенная вариабельность в результатах. Много факторов могут быть ответственными за недостаточную эффективность HDT. Большинство этих факторов связано с биологией болезни.

Международная прогностическая система (ISS) показывает, что простые биологические параметры, такие как β2-микроглобулин (β2m) и уровень альбумина, могли быть использованы для весьма правильного предсказания результата после обычной химиотерапии (CC) или HDT. В группе пациентов, леченных HDT, OS была 111, 66 и 45 мес для пациентов с ISS стадий

1, 2 или 3 соответственно. Возможность предсказания результатов при использовании ISS у пациентов, леченных HDT в исследовании IFM 99, была подтверждена (медиана 48 мес для пациентов стадии 3 и не достигнута у пациентов в стадиях 1 и 2). Однако и уровни $\beta 2m$, и альбумина отражают факторы, свойственные болезни, такие как особенность моноклонального белка, массы опухоли, и/или почечной недостаточности. Чтобы привлечь внимание к параметрам, свойственным болезни непосредственно, исследования были сосредоточены на хромосомных аномалиях. Из-за трудностей в получении метафаз в пределах опухолевого клона, большинство исследователей использовало метод FISH. При использовании этой техники показано, что несколько хромосомных аберраций связаны с плохим прогнозом: del(13), t(4; 14), del(17p) или t(14; 16). В исследовании IFM 99 прогностическое значение del(13), t(4; 14) и del(17p) было изучено у более чем 700 пациентов, леченных двойными интенсивными режимами. Показано, что del(13), t(4; 14) и del(17p) были связаны с более короткой выживаемостью. В многовариантном анализе, включающем del(13), t(4; 14), del(17p), добавочный материал в районе 1q, уровень $\beta 2m$, анемию, тромбоцитопению и гипоальбуминемию, показано, что 3 параметра были независимыми предикторами более короткой выживаемости: t(4; 14), del(17p) и высокий $\beta 2m$. Были и другие факторы, связанные с плохим результатом. Среди них наиболее важный — пролиферативный индекс. Пациенты с высокой пролиферацией патологических клеток имеют короткую выживаемость. Однако этот лабораторный параметр не всегда доступен или должным образом оценивается. Также сообщалось, что предвещающим фактором является ответ на HDT. Однако этот результат доступен только после лечения и поэтому имеет ограниченную ценность до или в течение начальной терапии. Наконец, более свежие исследования показывают ценность исследования генома для прогноза. Анализ результатов терапии пациентов в Арканзасе по программе тотальной терапии II, показал, что набор из 70 (или даже 17) генов может идентифицировать пациентов с быстрой прогрессией. Однако изучение геномного профиля (GEP) не считается стандартным подходом, и его результаты требуют подтверждения в серии независимых исследований, чтобы получить большую прогностическую ценность.

Как улучшить результат ASCT: воздействие новых препаратов

Введение новых агентов, таких как талидомид (THAL), бортезомиб или леналидомид в HDT логично. Оно активно исследовалось для улучшения качества ответа в терапии индукции, HDT и поддерживающей терапии после ASCT.

Новые лекарства в фазе индукции

Пациенты, кандидаты на ASCT, должны избежать терапии индукции с алкилирующими агентами, чтобы обеспечить адекватный сбор стволовых клеток. Дексаметазон (DEX), один или в сочетании с винкристином и доксорубицином (режим VAD), долго был стандартным режимом индукции. Однако за последние несколько лет в различных исследованиях показывающие, что комбинация DEX плюс новые лекарства значительно улучшает уровень ответа перед ASCT. Ассоциация THAL и DEX была активно исследована. В сравнительном анализе случай-контроль Savo et al сообщили о 52% PR и 8% CR после VAD, против 76% PR, включая 10% CR, после DEX-THAL. В исследовании III фазы Macro et al сообщили о 7% CR после VAD, против 25% после DEX-THAL. В исследовании III фазы Rajkumar et al получили 41% PR без CR после DEX против 63% PR, включая 4% CR, после DEX-THAL. В исследовании III фазы Goldschmidt et al получили 63% PR, включая 3% CR, после VAD, против 80% PR, включая 7%, CR после TAD (THAL, Adriamycin).

Сочетание бортезомиба и DEX было оценено в предварительном исследовании IFM. Было показано, что эта комбинация может индуцировать 67% PR, включая 21% CR. Эта комбинация была сравнена с VAD в большом исследовании 3 фазы (IFM 2005 01). Первый анализ этого протокола сообщил о 82% PR, включая 26% CR с DEX-бортезомиб, против 67% PR, включая 26% CR с VAD.

Ассоциация леналидомид и DEX была оценена в маленьком предварительном исследовании (31 пациент). Rajkumar et al сообщили о беспрецедентной 91% PR, включая 32% CR или почти-CR. Таким образом, хотя рандомизированные исследования все еще продолжаются, следует ожидать, что эти новые лекарства с DEX увеличат PR и CR перед HDT по сравнению с VAD. Кроме того, так как адекватный сбор стволовых клеток был получен с использованием этих новых режимов индукции, особенно с бортезомибом, VAD нельзя продолжать рассматривать как стандартный режим индукции.

Новые лекарства в комбинации с HDT

При MM стандартным режимом HDT является единственный агент Mel (мелфалан) в дозировке 200 мг/м². Попытки улучшить этот режим обычными препаратами или TBI не повысили уровень ответа, но увеличили гематологическую и негематологическую токсичность. Синергистический эффект между бортезомибом и Mel демонстрировался *in vitro* и *in vivo*. Кроме того, токсичность этих двух препаратов отличается. IFM провела пилотное исследование HDM (200 мг/м² в день –2) и бортезомиб (1 мг/м² в дни –6, –3, +1, +4) с поддержкой ASCT (день 0). 35% больных с признаками плохого прогноза (определенного безуспешной попыткой достичь PR после терапии индукции [n = 26] или безуспешной попыткой достичь VGPR после первой пересадки [n = 9]) были включены в программу. Летальных исходов от токсичности не было, и медиана продолжительности нейтропении (< 500/мм³) и тромбоцитопении (< 20,000/мм³) была 7 и 1 день соответственно. Частота серьезного мукозита (степень 3/4) была 20%. Спустя 3 мес после ASCT наблюдался драматический уровень ответа: 63% VGPR, включая 31% CR. Кроме того, 6 из 9 пациентов, не достигших VGPR после первой ASCT, выполненной с одним Mel, достигли CR (n = 4) или VGPR (n = 2) при использовании этой комбинации. Таким образом, это исследование предполагает, что комбинация бортезомиб и Mel может существенно улучшить норму VGPR по сравнению с одним Mel без дополнительной токсичности. Так как достижение VGPR является одним из самых важных предвещающих факторов для выживания после HDT, эта комбинация может улучшить OS.

Новые лекарства как терапия консолидации/поддержки после трансплантации

Роль поддерживающей терапии при MM остается областью активного исследования. Поддерживающая химиотерапия не продемонстрировала никаких преимуществ. Большинство рандомизированных исследований и метаанализы, оценивая поддерживающую терапию интерфероном, показали скромное увеличение выживаемости без прогрессии (PFS) с минимальным или никаким преимуществом выживаемости после СС или HDT, но добавили токсичность. Поддержка кортикостероидами, как было обнаружено, продлевала продолжительность ответа однако, улучшение показателей выживаемости было скромным. THAL — пероральный агент с иммуномодулиру-

щими свойствами, который является активным у одной трети пациентов с рефрактерной болезнью в дозе 50 мг и без миелосупрессивной токсичности. Таким образом, THAL был привлекательным кандидатом на использование в поддерживающей терапии, особенно после HDT. В 1999, IFM начала рандомизированное исследование (IFM 99 02) с намерением оценить роль THAL как поддерживающего лечения после трансплантации. Спустя два месяца после ASCT, 597 пациентов моложе 65 лет были рандомизированы на отсутствие поддерживающей терапии (плечо А), памидронат (плечо В), или памидронат плюс THAL (плечо С). THAL назначался со средней продолжительностью 15 мес в средней дозировке 200 мг/сут. CR или VGPR были достигнуты у 55% пациентов в плече А, 57% в плече В и 67% в плече С. 3-летняя вероятность EFS после рандомизации составила 36, 37 и 52% соответственно; 4-летняя вероятность OS после диагноза — 77, 74 и 87%. Доля пациентов, которые имели скелетные повреждения, требующие специфической терапии (химиотерапия, облучение или хирургическое лечение), составила 24,

21 и 18% соответственно. Таким образом, THAL улучшает уровень ответа, EFS и OS и должен быть рекомендован. Однако преимущество выживания с THAL не наблюдалось среди пациентов с VGPR после ASCT, поэтому предполагается, что это преимущество не было связано с эффектом поддерживающей терапии. Преимущество выживаемости с THAL наблюдалось только среди пациентов, не достигших VGPR после ASCT, предполагая, что эта преимущество связано с сокращением остаточной массы опухоли. Так как THAL улучшает выживаемость путем консолидации, а не чистым эффектом поддерживающей терапии, прекращение приема THAL как только VGPR будет достигнута (2 или 3 мес), может быть эффективной стратегией с уменьшением побочных эффектов и резистентности к препарату во время рецидива. Кроме того, 39% пациентов должны были прекратить THAL из-за связанных с препаратом неблагоприятных событий, и периферическая нейропатия была главной причиной прекращения терапии. Леналидомид, более мощный аналог THAL без неврологической токсичности, мог бы быть привлекатель-

ным кандидатом для использования в консолидации и для поддерживающей терапии после ASCT. Лечение леналидомидом в настоящее время оценивается несколькими различными группами (IFM, SWOG, CALGB) в Европе и Америке.

ASCT у молодых пациентов

У молодых пациентов одиночная ВДТ с поддержкой ASCT, использующая кондиционирующий режим только Мелфаланом, должна рассматриваться, как стандартное лечение. Двойная трансплантация может быть предложена пациентам, не достигшим VGPR после первой ASCT. Кроме того, внедрение новых лекарств в высокодозную стратегию (индукцию, ВДТ, консолидацию и поддержку) привело к существенному улучшению CR (до 70–80%) и длительности ответа. Различные исследования продемонстрировали, что комбинация CC с новыми препаратами может индуцировать от 70 до 90% PR и 30–40% CR. Таким образом, новые проспективные исследования требуются для сравнения новых лекарств плюс CC против новых лекарств плюс ВДТ/ASCT.



Резолюция экспертного совещания по использованию эритропоэз-стимулирующих препаратов в онкологии от 3 ноября 2007 г.

УЧАСТНИКИ ЭКСПЕРТНОГО СОВЕЩАНИЯ

д-р мед. наук, проф. Б.В. Афанасьев [1], канд. мед. наук Л.В. Болотина [2], канд. мед. наук В.В. Бредер [3], д-р мед. наук, проф. В.А. Горбунова [3], канд. мед. наук Л.Г. Жукова [3], канд. мед. наук Т.П. Загоскина [4], д-р мед. наук, проф. М.М. Константинова [5], д-р мед. наук, проф. А.Ф. Лазарев [6], д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН М.Р. Личиницер [3], канд. мед. наук А.С. Лисянская [7], д-р мед. наук, проф. Г.М. Манихас [7], д-р мед. наук, проф. А.А. Масчан [8], д-р мед. наук, проф., член-корр. РАМН И.В. Поддубная [3,9], д-р мед. наук, проф. В.В. Птушкин [8], д-р мед. наук, проф., член-корр. РАМН А.Г. Румянцев [8], д-р мед. наук, проф. А.П. Серяков [10], д-р мед. наук, проф., член-корр. РАМН В.Г. Савченко [11], д-р мед. наук, проф. С.А. Тюлядин [3], д-р мед. наук, проф. Р.Ш. Хасанов [12], канд. мед. наук А.Д. Ширин [3].

[1] Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

[2] Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена Росмедтехнологий

[3] Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН

[4] Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Росмедтехнологий

[5] Московский областной онкологический диспансер Минздрава Московской области

[6] Алтайский краевой онкологический диспансер

[7] Санкт-Петербургское государственное учреждение здравоохранения Городской клинический онкологический диспансер

[8] Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии

[9] Российская медицинская академия последипломного образования

[10] Главный военный клинический госпиталь им. акад. Н.Н. Бурденко Минобороны России

[11] Гематологический научный центр РАМН

[12] Казанская государственная медицинская академия, Республиканский онкологический диспансер

О т р е д а к ц и и

Уважаемые коллеги, доводим до вашего сведения, что в ноябре 2007 г. состоялось отрадное событие. Группой онкологов и гематологов из ведущих лечебных учреждений подписана **Резолюция по использованию эритропоэз-стимулирующих препаратов (ЭСП) в онкологии**. Подписанию предшествовали экспертное совещание и неоднократные рабочие обсуждения этого документа. Появление новых результатов исследований и рекомендаций в дальнейшем будут учитываться для внесения соответствующих поправок. Смысл создания этого актуального документа — выступление с инициативой по изменению стандартов оказания дорогостоящей (высокотехнологической) медицинской помощи.

Приятно отметить, что в перечне рекомендаций по использованию ЭСП теперь присутствуют миелодиспластические синдромы (МДС). Вопрос о том, каким больным МДС следует назначать ЭСП, неоднозначен, поскольку эффективность препаратов этой группы зависит от ряда прогностических признаков. В резолюции указаны рекомендации, исходя из наибольшей вероятности ответа на лечение, что не означает нецелесообразность его назначения другому контингенту больных, например, в качестве сопроводительной терапии вторичных МДС, в случаях с уровнем сывороточного ЭПО < 500 ед/л и в ряде других ситуаций. В связи с этим пока не следует рассматривать опубликованные материалы в качестве строгого руководства к действию, а сам факт рекомендаций применения ЭСП при МДС можно только приветствовать.

д-р мед. наук проф. М.А. Волкова, канд. мед. наук А.Д. Ширин



Подписание Резолюции по использованию ЭСП в онкологии (Москва, 21 ноября 2007 г.)

Анемия осложняет течение опухоли в 30–40% случаев.¹ Проведение химиотерапии, особенно включающей препараты платины, увеличивает долю больных с анемией до 60–80%.² При этом падение уровня гемоглобина ниже нормы (120 г/л) сопровождается снижением качества жизни,³ неблагоприятно влияет на эффективность противоопухолевого лечения⁴ и является независимым отрицательным фактором прогноза для широкого круга гематологических и солидных новообразований.⁵

Традиционный метод коррекции уровня гемоглобина — заместительные трансфузии эритроцитной массы — сопровождается гемолитическими реакциями, в том числе фатальными (1:1000), трансфузионными поражениями легких (1:5000), бактериальной контаминацией, в том числе фатальным сепсисом (1:10 000), передачей вирусов гепатита В (1:30 000), гепатита С и вируса иммунодефицита человека (1:1 000 000).⁶ Кроме того, многие потенциально опасные вирусные инфекции в настоящее время у доноров не тестируются.⁷ Наряду с вышесказанным во многих странах, включая РФ, отмечается дефицит доноров. В связи с этими фактами ВОЗ рекомендует максимально регламентировать заместительные гемотрансфузии и использовать альтернативные методики коррекции гемоглобина. В ситуациях, когда проведение заместительных гемотрансфузий является нежелательным или противопоказано, например, при посттрансфузионных реакциях в анамнезе, наличие аллоантител, посттрансфузионных реакций в анамнезе, эритропозстимулирующие препараты являются терапией выбора.

Использование ЭСП позволяет повысить продукцию эритроцитов костным мозгом и увеличить содержание гемоглобина без переливания донорских эритроцитов. Систематический анализ результатов контролируемых исследований, включивший данные 9353 пациентов, свидетельствует о том, что применение эритропозитинов у онкологических больных с анемией, получающих химиотерапию, а также при анемии опухолевого заболевания повышает уровень гемоглобина в 60–70% случаев (уровень доказательности I). При этом применение эритропозитинов сопровождается значимым сокращением необходимости заместительных гемотрансфузий (относительный риск 0,64; 95% ДИ 0,6–0,68) и улучшением качества жизни онкологических больных. В то же время ЭСП повышают вероятность тромботических осложнений (относительный риск 1,67; 95% ДИ 1,35–2,06).⁸

Учитывая значимый риск развития анемии у онкологических больных и доказанную эффективность ЭСП в ее лечении, ЭСП могут быть рекомендованы онкологическим больным с анемией при условии соблюдения следующих принципов назначения.

Основные цели назначения

- Повышение уровня гемоглобина до целевых значений и его поддержание.
- Снижение потребности в заместительных гемотрансфузиях.
- Повышение качества жизни пациентов.

Общие рекомендации

- При анемии у онкологического больного перед началом терапии ЭСП необходимо исключить обратимые без использования ЭСП причины снижения гемоглобина: кровотечение, дефицит железа и витаминов (В₁₂, фолиевая кислота), гемолиз. С данной целью необходимо проведение минимального обследования, предусматривающего сбор анамнеза, физикальный осмотр, клинический анализ крови с определением морфологии эритроцитов и цветового показателя. В случае если при проведении обследования выявлены отклонения, свидетельствующие о наличии обратимых без ЭСП причин снижения гемоглобина, необходимо проведение более углубленного обследования.
- У больных со снижением показателей гемоглобина менее 80 г/л и наличием симптомов анемии необходимо рассмотреть целесообразность заместительных трансфузий эритроцитной массы наряду с применением ЭСП.⁶
- При назначении ЭСП следует тщательно оценить индивидуальные факторы риска развития тромбозов у каждого пациента, так как лечение ЭСП сопровождается увеличением риска тромботических осложнений.

Анемия у пациентов, получающих химиотерапию

- у пациентов, получающих химиотерапию или химиорадиотерапию, и с уровнем гемоглобина менее 100 г/л необходимо рассмотреть возможность назначения ЭСП;

- ЭСП могут назначаться отдельным онкологическим пациентам при снижении уровня гемоглобина ниже 110 г/л, если планируется дальнейшая интенсивная химиотерапия. Это определяется индивидуальными факторами — сопутствующие заболевания, при которых риск осложнений анемии увеличивается (сердечная недостаточность, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, хронические заболевания легких), характер лечения (предшествующая терапия, тип и длительность планируемой химиотерапии), возраст старше 65 лет;
- не рекомендовано профилактическое назначение ЭСП онкологическим больным, если на момент начала химиотерапии или химиорадиотерапии содержание гемоглобина превышает 120 г/л.

Анемия у пациентов, не получающих химиотерапию

- ЭСП могут быть назначены отдельным больным, не получающим химиотерапию или химиорадиотерапию, с гемоглобином менее 100 г/л после тщательной оценки необходимости и под постоянным контролем основного заболевания, например, при множественной миеломе (ММ), хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ), миелодиспластическом синдроме (МДС).
- При МДС назначение ЭСП возможно у больных с уровнем ЭПО сыворотки ниже 200 мЕд/мл, низкой/промежуточной-1 группой риска по IPSS и исходной потребностью в трансфузиях не выше 2 раз в месяц.

Целевой уровень гемоглобина

Целевым уровнем гемоглобина является 120 г/л. При достижении этого значения производится снижение дозы ЭСП с целью поддержания целевого значения на фоне минимальной эффективной дозы.

Дозы ЭСП и их модификация

- Дарбэпоэтин альфа назначается 1 раз в 3 нед в фиксированной дозе 500 мкг либо расчетной дозе 6,75 мкг/кг массы тела (уровень доказательности А в рекомендациях EORTC 2006). Альтернативно дарбэпоэтин альфа может назначаться 1 раз в неделю в дозе

2,25 мкг/кг массы тела (уровень доказательности А в рекомендациях EORTC 2006).

- Эритропоэтин альфа и бета назначаются в расчетной дозе 150 ЕД/кг массы тела 3 раза в неделю либо в фиксированной дозе 40 000 ед (эритропоэтин альфа) или 30 000 ед (эритропоэтин бета) 1 раз в неделю (уровень доказательности В в рекомендациях EORTC 2006).
- При скорости прироста уровня гемоглобина, превышающей 10 г/л за 2 нед или 20 г/л за 4 нед, рекомендуется снижение дозы ЭСП в соответствии с инструкциями по медицинскому применению ЭСП, утвержденными Министерством здравоохранения и социального развития РФ. Превышение целе-

вого уровня гемоглобина (120 г/л) не рекомендуется.

Отсутствие ответа на терапию

- Отсутствие ответа на терапию определяется как повышение гемоглобина менее чем на 10 г/л за 4–6 нед, а также отсутствие положительной динамики со стороны симптомов анемии в зависимости от используемого препарата и дозы. Повышение дозы ЭСП следует осуществлять в соответствии с инструкциями по медицинскому применению ЭСП, утвержденными Министерством здравоохранения и социального развития РФ, но после исключения других возможных причин неэффективности, например, функционально-

го дефицита железа (насыщение трансферрина < 20%). Продолжение терапии более 6–8 нед при отсутствии эффекта, несмотря на повышение дозы, считается нецелесообразным.

- Нет данных, свидетельствующих об увеличении эффективности ЭСП у онкологических больных при добавлении пероральных препаратов железа. Назначение препаратов железа внутривенно значительно увеличивает эффективность ЭСП.

Длительность терапии

После завершения химиотерапии терапию ЭСП целесообразно продолжить в течение времени, эквивалентного 1–2 циклам химиотерапии.

Настоящие рекомендации подготовлены в соответствии с рекомендациями основных профессиональных сообществ США, Европы и Канады и на сегодняшний день представляют собой основные тенденции использования ЭСП в онкологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ludwig H, Van Bells S, Barret-Lee P, et al. The European Cancer Anaemia Survey (ECAS): a large, multinational, prospective survey defining the prevalence, incidence, and treatment of anaemia in cancer patients. *Eur J Cancer* 2004; 40:2293–306.
2. Groopman JL, Itri LM. Chemotherapy induced anemia in adults: incidence and treatment. *JNCI* 1999; 91:1616–34.
3. Lefebvre P, Vecerman F., Sarokham B. et al. Relationship between hemoglobin level and

quality of life in anemic patients with chronic kidney disease receiving epoetin. *Cur Med Res Opin.* 2006; 22:1929–37.

4. Brizel DM, Sibley GS, Prosnitz LR, et al. Tumor hypoxia adversely affects the prognosis of carcinoma of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1997; 38:285–9.

5. Caro JJ, Salas M, Ward A, et al. Anemia as an independent prognostic factor for survival in patients with cancer: a systemic, quantitative review. *Cancer* 2001; 91:2214–21.

6. Dzik WH. Emily Cooley Lecture 2002: transfusion safety in the hospital. *Transfusion* 2003; 43:1190–9.

7. Blajchman MA, Vamvakas EC. The continuing risk of transfusion-transmitted infections. *N Eng J Med.* 2006; 355:1303–5.

8. Bolhuis J, Wilson J, Seidenfeld J, et al. Recombinant human erythropoietins and cancer patients: updated meta-analysis of 57 studies including 9353 patients. *J Natl Cancer Inst.* 2006; 98:708–14.



Bayer HealthCare
Bayer Schering Pharma

В Европе получено положительное заключение по применению Кэмпаса в первой линии терапии у больных В-ХЛЛ

Берлин (Германия) и Кембридж (штат Массачусетс), США, сентябрь 2007

Компании Bayer HealthCare и Genzyme объявили о том, что Европейским комитетом по лекарственным средствам для использования у человека (CPMP) было выдано положительное заключение с рекомендацией зарегистрировать Кэмпас (алемтузумаб) в качестве монотерапии первой линии у больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом (В-ХЛЛ). Ввиду ожидаемого благоприятного решения со стороны Европейской комиссии препарат может быть зарегистрирован в качестве первой линии терапии во всех государствах Европейского Союза к концу этого года. В настоящее время Кэмпас одобрен к применению у пациентов с В-ХЛЛ, которые предварительно получали лечение алкилирующими препаратами и не ответили на терапию флударабином.

«Рекомендация Европейского комитета по ЛС подчеркивает, что у Кэмпаса имеется потенциал стать стандартом терапии для пациентов с В-ХЛЛ», — заявил Кемал Малик, руководитель глобального отдела разработок компании Bayer Schering Pharma. «Мы высоко оцениваем тщательное рассмотрение комитетом клинических данных по Кэмпасу и полагаем, что терапия Кэмпасом у больных В-ХЛЛ на более ранней стадии заболевания представляет собой существенный шаг вперед для таких пациентов».

Положительное заключение CPMP основывалось на данных международного открытого клинического исследования III фазы, в рамках которого Кэмпас сравнивался с хлорамбуцилом у не получавших предварительного лечения пациентов с В-клеточным хроническим лимфолейкозом (В-ХЛЛ). Эти данные были представлены в прошлом году на 48-м ежегодном собрании Американского общества гематологии (ASH). В исследовании был достигнут первичный критерий оценки эффективности: достоверно более длительный период беспрогрессивной выживаемости у пациентов, получавших Кэмпас, по сравнению с хлорамбуцилом. В результате терапии Кэмпасом риск прогрессирования заболевания или летального исхода снизился на 42% ($p = 0,0001$). По сравнению с пациентами, которые лечились хлорамбуцилом, у пациентов, получавших Кэмпас, кроме того, отмечались более высокие показатели общего и полного ответа при регулируемом профиле побочных эффектов. Результаты данного исследования также свидетельствуют о том, что применение Кэмпаса увеличивало интервалы между курсами терапии, при этом медиана периода до необходимости проведения очередного курса терапии составляла два года.

На основании полученных данных, в сентябре 2007 г. Управление США по пищевым продуктам и лекарственным средствам (FDA) одобрило регистрацию Кэмпаса (алемтузумаба) в качестве первой линии монотерапии В-ХЛЛ.



Мабтера продлевает время до прогрессирования заболевания у пациентов с самой частой формой лейкоза у взрослых

Новости группы компаний Рош, Базель, 25 января 2008

Базовое исследование III фазы по изучению применения Мабтеры в качестве первой линии терапии хронического лимфолейкоза закончено досрочно.

Сегодня компания Рош сообщила о том, что применение ее инновационного биотехнологического препарата МабТера (ритуксимаб — антитела к антигену CD20) позволяет значительно продлить время до прогрессирования хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) — наиболее частой формы лейкоза у взрослых.

Базовое клиническое испытание CLL8, начатое Германской группой по изучению ХЛЛ, показало, что по сравнению со стандартной химиотерапией, комбинация химиотерапии и Мабтеры значительно улучшает выживаемость без прогрессирования.

«Результаты исследования позволяют говорить о серьезном прорыве в лечении этого смертельно опасного заболевания и о важной роли, которая будет отведена Мабтере при лечении ХЛЛ в будущем», — сказал глава подразделения Фарма компании Рош Уильям М. Бернс (William M. Burns).

Об исследовании CLL8

Исследование CLL8 — это международное исследование, инициированное Германской группой по изучению ХЛЛ, в которое были включены 817 пациентов с ХЛЛ, получающих терапию первой линии. Исследование проводилось на базе 203 исследовательских центров, расположенных в 11 странах. Пациенты были рандомизированы на две группы: первая группа получала комбинацию Мабтеры и химиопрепаратов (флударабин и циклофосфамид), вторая — только химиотерапию. Целью исследования было продемонстрировать, что при включении в лечение Мабтеры, показатель выживаемости без прогрессирования улучшается. Еще одной целью исследования является изучение отдаленных показателей эффективности и безопасности Мабтеры в данной популяции пациентов, а также частоты молекулярной ремиссии — прогностического фактора долгосрочной ремиссии ХЛЛ.

Результаты настоящего исследования будут положены в основу заявки на регистрацию нового показания к применению Мабтеры в качестве первой линии терапии ХЛЛ. Планируется, что заявка будет подана в регуляторные органы Европейского Сообщества в конце этого года. Данные, полученные в ходе исследования CLL8, будут представлены на предстоящих международных научных конференциях.

