

СОДЕРЖАНИЕ

том 1 • номер 4 • октябрь – декабрь 2008

Юбилей**Андрею Ивановичу Воробьеву — 80 292****История отечественной и зарубежной онкогематологии****Наш знаменитый соотечественник Уильям Дамешек 293***Волкова М. А.***Биология гемобластозов****Мутации гена нуклеофозмина при острых лейкозах 297***Демидова И. А.***Роль мутаций гена BCR-ABL в развитии рефрактерности к иматинибу у пациентов с хроническим миелолейкозом 303***Куцев С. И., Вельченко М. В., Морданов С. В.***Диагностика гемобластозов****Оценка интенсивности флуоресценции методом проточной цитометрии: методические аспекты внедрения в диагностику онкогематологических заболеваний 310***Куртова А. В., Русанова Е. Б., Зуева Е. Е.***Клиника и терапия гемобластозов****Бортезомиб (Велкейд) в индукционной терапии множественной миеломы 315***Бессмельцев С. С., Стельмашенко Л. В., Карягина Е. В., Степанова Н. В., Мачулайтене Е. Р., Салогуб Г. Н., Матюхина Л. М., Низамутдинова А. С., Костина О. Я., Абдулкадыров К. М.***Первичные лимфопролиферативные заболевания центральной нервной системы 323***Губкин А. В., Звонков Е. Е., Кременецкая А. М., Криволапов Ю. А., Пересторонина Т. Н., Капланская И. Б., Лошаков В. А., Голанов А. В., Кобяков Г. Л., Кравченко С. К.***Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при множественной миеломе 333***Мелкова К. Н., Абдусаламов С. Н., Горбунова Н. В., Воробьева С. В., Вотякова О. М., Чернявская Т. Э., Фролов Г. П.***Современное состояние донорства гемопоэтических стволовых клеток в России 344***Иоффе Ю. Г.***Осложнения терапии гемобластозов****Первый в России опыт эффективного применения позаконазола для лечения рефрактерного инвазивного аспергиллеза и профилактики его рецидива при проведении цитостатической терапии и трансплантации костного мозга у ребенка с острым лейкозом 347***Климко Н. Н., Афанасьев Б. В., Колбин А. С., Бойченко Э. Г., Зубаровская Н. И.*

Редкие и сложные гематологические синдромы

Панникулитоподобная Т-клеточная лимфома. Клинический случай и обзор литературы 356
Михайлова Н. Б., Морозова Е. В., Леенман Е. Е., Афанасьев Б. В.

Редкий случай Т-клеточной лимфомы кожи, сочетанной с вторичным гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом..... 361
Ликунов Е. Б., Литвинов Д. В.

Семинар по гематологии

Тромботические микроангиопатии 366
Филатов Л. Б.

Съезды, конференции, симпозиумы

V Российская конференция «Злокачественные лимфомы» (с международным участием)..... 377

Вторая международная конференция «Трансплантация гемопоэтических клеток у детей и в зрелых» 380

Международная научно-практическая конференция «ХМЛ: принятие клинических решений» .. 383

Конференция «Новые препараты в гематологии» 385

Новости

Ритуксимаб (Мабтера) в сочетании с дексаметазоном в терапии хронической идиопатической тромбоцитопении 388

Новости группы компаний «Рош»..... 390

Информация для авторов

Правила подготовки статей для журнала «Клиническая онкогематология» 391

Дорогие коллеги!

Всех читателей, авторов и спонсоров журнала «Клиническая онкогематология» мы от всей души поздравляем с Новым годом, желаем вам и вашим близким здоровья, успехов в работе, исполнения самых смелых желаний, удовлетворения от возможности помогать людям. Желаем никогда не терять оптимизма и интереса к жизни и работе. В новом году читайте наш журнал и пишите в него. Мы будем рады вашему участию. Еще раз счастья, здоровья, успехов!

Редколлегия журнала «Клиническая онкогематология»

КЛИНИЧЕСКАЯ ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

фундаментальные исследования и клиническая практика

Издательство

«практическая медицина»

Адрес для корреспонденции

ООО Издательство
«ПРАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА»
115516 Москва, а/я 20
тел. +7(495) 324-9329
e-mail: medprint@mail.ru
www.medprint.ru

Шеф-редактор

Д. Д. Проценко, канд. мед. наук

Технический редактор

Т. А. Львова

Корректор

А. М. Кольцова

Директор по производству

Д. Р. Сысов,
e-mail: tezey@obook.ru

Отпечатано в типографии

ООО «Новелла»

Тираж 2 000 экз.

ISSN 1997-6933

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия
ПИ №ФС77-31723 от 18.04.2008 г.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

М. А. Волкова, д-р мед. наук, профессор
e-mail: volkova@orc.ru

Зам. главного редактора

Д. Ш. Османов, д-р мед. наук, профессор

Редакционная коллегия

Е. А. Демина, д-р мед. наук

Е. В. Домрачева, д-р мед. наук, профессор

Н. В. Ильин, д-р мед. наук, профессор

Б. П. Копнин, д-р мед. наук, профессор

А. И. Павловская, канд. мед. наук

А. В. Попа, д-р мед. наук

Г. С. Тумян, д-р мед. наук

М. А. Френкель, д-р мед. наук, профессор

Е. В. Чигринова, канд. мед. наук

Ответственный секретарь

А. Д. Ширин, канд. мед. наук
e-mail: shirin-crc@mtu-net.ru

Журнал распространяется среди специалистов **бесплатно**.

Оформить подписку можно на интернет-сайте издательства

www.medprint.ru

Для библиотек, в том числе зарубежных, возможна подписка также и на микрофильмовую копию (визикулярная микрофиша)

Андрею Ивановичу Воробьеву — 80



1 ноября 2008 г. исполнилось 80 лет самому знаменитому из ныне живущих гематологов нашей страны — Андрею Ивановичу Воробьеву. Конференц-зал московского дома ученых, где проходило юбилейное заседание, был полон, на сцене было огромное количество цветов, звучала музыка, которая для многих собравшихся олицетворяла их молодость. Здесь были все — академики и молодые доктора, знаменитые режиссеры и актеры, правительственные деятели и директора научно-исследовательских институтов из России и стран СНГ. Говорилось многое: и о тяжелом детстве сына расстрелянного отца и сосланной в лагеря матери, и о работе молодого врача после окончания института, когда Андрей Иванович работал сразу и как терапевт, и как акушер, и как администратор в городской больнице Волоколамска. Говорилось и о том, что сделал Андрей Иванович за долгую жизнь как ученый и за время недолгого пребывания на посту министра здравоохранения страны. Но все говорили о главном — о том, что когда в дом приходит беда, то вспоминаешь не о должностях и звании человека, а об его даре врача, доктора. Много было в зале людей, которые знают Андрея Ивановича именно как доктора, который помог им или их близким.

Рассказывал о своей жизни и работе и сам Андрей Иванович. Это не была юбилейная речь в привычном понимании этого слова. Говорилось больше о тяжелом в жизни. И было отрадно слышать, что с благодарностью добрым словом помянуты все: и те, кто помогал в голодном детстве, и те, благодаря кому сын «врагов народа» смог попасть в медицинский институт, и дальше все те, кого Андрей Иванович называет своими учителями. Заседание было долгим, но юбиляр, почти все время проведя на ногах, оставался бодрым и полным энергии.

Мы от всей души поздравляем Андрея Ивановича с юбилеем и желаем ему здоровья и еще многих лет активной творческой жизни.

Редколлегия журнала «Клиническая онкогематология»

Наш знаменитый соотечественник Уильям Дамешек

М. А. Волкова

Our famous compatriot William Dameshek

М. А. Волкова

SUMMARY

This article has been written in connection with the 50th anniversary of the American Society of Hematology (ASH). It is dedicated to W. Dameshek who was the founder of ASH and its journal «Blood». W. Dameshek was born in Russia in 1900.

Keywords:

Dameshek.

N. N. Blokhin Research Cancer Center, Moscow

РЕФЕРАТ

Статья написана в связи с 50-летием Американского общества гематологов (ASH). Она посвящена основателю ASH и создателю выпускаемого этим обществом журнала «Blood». У. Дамешек родился в России в 1900 г.

Ключевые слова

Дамешек.

Контакты: volkova@orc.ru

Принято в печать: 20 октября 2008 г.



Уильям Дамешек

В этом году исполнилось 50 лет американскому гематологическому обществу (ASH) и 52 года журналу «Blood». Организатором, а по сути создателем, того и другого, первым президентом общества и первым главным редактором журнала был Уильям Дамешек (William Dameshek). Гематология развивается быстро; за 40 лет, прошедшие со времени смерти Дамешека, очень многое изменилось в представлениях о сущности болезней и их лечении. Сейчас многие молодые врачи, возможно, имеют лишь туманное представление о том, чем занимался этот знаменитый гематолог и какова его роль в развитии гематологии своего времени. А между тем, как писал один из его друзей и соавторов, директор сиднейского медицинского исследовательского института Фредерик Ганц (F. W. Gunz), имя Дамешека в последние 15 лет его жизни и работы стало синонимом понятия «гематология», поскольку не было области гематологии, в которую бы он не внес свой вклад, так же, как и не было врача, который не знал бы его имени и не читал его работ.¹ Ф. Ганц писал, что бесчисленные друзья Дамешека, гематологи всего мира были в шоке, узнав, что 6 октября 1969 г. внезапно во время операции по поводу расслаивающей

аневризмы аорты Дамешек умер. В мае 1970 г. ему должно было исполниться 70 лет, и гематологи разных стран, коллеги и многочисленные ученики уже готовились торжественно отметить этот день, а сам Дамешек был активен и деятелен, как всегда, и за неделю до смерти читал лекции в Бостоне.

Мало кто знает, что У. Дамешек родился в России, в небольшом местечке недалеко от Воронежа 22 мая 1900 г. Ему было дано имя Зеев. Когда ему было 3 года, спасаясь от участвовавших в то время в России еврейских погромов, семья эмигрировала в США и поселилась в Медворде, шт. Массачусетс. Понимая, что дальнейшая жизнь их сына будет связана с Америкой, родители сменили имя мальчику, назвав его Уильямом. Друзья всю жизнь звали его Биллом.

Закончив старейшую общественную школу в Бостоне, затем колледж в Гарварде, У. Дамешек с 18 лет некоторое время служил в армии США, потом поступил в медицинскую школу Гарварда, которую закончил в 23 года. Затем была клиническая интернатура в госпитале Бостона, после чего он занимался врачебной практикой и одновременно работал в лаборатории в бостонском госпитале. Эта лаборатория была соз-

дана известным в то время морфологом Ральфом Ларраби (R. Lagabee) и была первой в Америке, в которой не только делались морфологические анализы, но и сотрудники которой занимались научными исследованиями. Гематология в то время не считалась отдельной клинической специальностью, ее рассматривали как часть дисциплины, называвшейся тогда патологией и включавшей в себя патологическую анатомию и морфологические исследования крови и тканей. Однако в это время уже появились врачи, которые рассматривали гематологию как часть внутренней медицины, как науку о болезнях крови. Знакомство с одним из них сыграло огромную роль в жизни Дамешека. Джордж Майнот (G. Minot), будучи еще студентом, а затем молодым врачом, с особым интересом относился к гематологии. Занимаясь изучением пернициозной анемии, нередко и неизменно смертельного в то время заболевания, Д. Майнот впервые высказал мысль, что пернициозная анемия — это не болезнь эритроцитов и что ее развитие связано не с изменением морфологии эритроцитов, а что это, скорее, патология желудочно-кишечного тракта, поэтому лечить ее надо соответствующей диетой. Следуя своей концепции, Майнот впервые для лечения этого заболевания применил сырую печень, получив впоследствии за разработку терапии пернициозной анемии Нобелевскую премию.

Как многие известные гематологи, У. Дамешек не сразу сосредоточился на занятиях гематологией, и его первая, вышедшая еще во время учебы в медицинской школе работа была посвящена синдрому боли в спине, затем были работы о состоянии сердца при гипертиреозе, о тифозной лихорадке. Появляющиеся в этот период публикации Дамешека отражают его острый интерес к самым разным ситуациям и проблемам клинической медицины: например, в 1926 г. выходят его статьи «Переменяющаяся атриовентрикулярная блокада» и «Отравление бензолом и агранулоцитоз». Знакомство с работами Майнота и постоянное обсуждение с ним гематологических проблем способствовали увеличению интереса Дамешека к гематологии. В 1926 г. появилась его первая исследовательская работа гематологической тематики. Она была сделана в лаборатории Р. Ларраби и называлась «Ретикулоциты и их клиническое значение». В то время мало что было известно о ретикулоцитах и значении их изменений при различных заболеваниях, работа Дамешека была первой, в которой было показано, что при пернициозной анемии перед наступлением ремиссии в крови увеличивается количество ретикулоцитов.

В те времена для гематологов в начале карьеры было правилом сочетать клиническую и лабораторную работу. Дамешек такое сочетание сохранил на протяжении всей жизни.

Интерес к лабораторной работе, разработка новых лабораторных методов исследования клеток крови, эксперименты на животных привели к тому, что, проработав 10 лет в лаборатории госпиталя в Бостоне, в 1939 г. Дамешек организовал самостоятельную исследовательскую лабораторию по изучению изменений картины крови при различных заболеваниях. Эта лаборатория вскоре превратилась в исследовательский центр (New England Medical Center), который со временем стал Меккой для молодых гематологов всего мира. Дамешек возглавлял его до 65 лет — того возраста, когда по американским законам положено уходить в отставку с академических постов. Более 100 стажеров из 20 стран мира учились у него здесь за время его работы. Как писал в связи с 60-летием Дамешека один из его учеников и коллег, возглавивший лабораторию после его ухода, Уильям Кросби (W. Crosby), на вопрос о том, где они стажировались, бывшие ученики Дамешека никогда не называли город и клинику, а всегда отвечали: «У Дамешека».² «Быть с Дамешеком»

в работе или учебе — это было «билетом» для работы в лучших клиниках мира и предметом гордости в карьере.

Не меньшее значение придавалось клинической работе и обучению молодых врачей у постели больного. Издатель журнала «New England Journal of Medicine» Роберт Шварц (Robert Schwartz) пишет, что и сейчас, спустя 40 лет, прежние стажеры Дамешека еще вспоминают его постоянные утренние субботние обходы в госпитале, которые были праздничным событием недели.³ Эти обходы назывались «Grand Rounds». Профессор шел от больного к больному, а за ним, как хвост кометы, двигались студенты, стажеры и молодые коллеги, которые всегда старались присутствовать на этих обходах. Трудные диагнозы и необычные наблюдения становились предметом обсуждения, учитель часто подзадоривал своих учеников, вызывая их на дискуссию, мог польстить одному, поддразнить другого, но никого не обижал и никогда не боялся признаться, что он тоже не знает диагноза. В таких случаях он говорил: «Давайте устроим голосование». Высказать свое мнение и обосновать его обязательно должен был каждый. После того как все высказались, Дамешек коротко и четко подводил итог обсуждению, комментируя разные мнения, вспоминая сходные наблюдения и ситуации, цитируя современную и старую медицинскую литературу, после чего делал окончательный вывод. Он был блестящим учителем. В то же время все бывшие ученики Дамешека подчеркивают, что он всегда и прежде всего был врачом, целителем, именно врачевание было его страстью и постоянной заботой. В те времена, когда гематология мало что могла предложить больному, он как-то писал в частном письме, что главный вопрос при обсуждении с больным его болезни — это вопрос о надежде, что больному всегда нужно оставить надежду и что главная неудача врачевания — это захлопывание для больного хотя бы маленького окна такой надежды. Его бывшие ученики вспоминают, как глубоко он бывал огорчен, если после исследования мазков крови и костного мозга видел, что у больного острый лейкоз. В таких случаях он обычно тихо и сокрушенно говорил: «Я ничем не смогу помочь ему».

Слава Дамешека как ученого и прекрасного врача была известна во всем мире, его постоянно приглашали на консультацию в трудных случаях к пациентам в разных странах, многие больные приезжали к нему из разных концов США и Канады, Европы и Латинской Америки. Его общению с ними очень помогало то, что он мог объясняться на нескольких языках. Он как-то вспоминал, что в пятницу вечером вылетел на консультацию в Германию, а вечером в субботу уже снова был в Бостоне. В то время ему было 68 лет. При этом, как вспоминают знавшие его коллеги, он никогда не выглядел замученным или раздраженным обилием обязанностей; это был высокий, красивый, всегда прекрасно одетый человек, с быстрой реакцией и прекрасной четкой и ясной речью. Его энергия и интерес к медицине и к жизни были неисчерпаемы. Он любил живопись, стены его дома были увешены произведениями современного искусства, а рядом были размещены предметы искусства доисторического периода, которые коллекционировала его жена. У Дамешека была огромная библиотека современной и старой медицинской литературы, к которой он постоянно обращался в своих лекциях и печатных работах. Их дом всегда был открыт для друзей, Дамешек имел особую способность к дружеским отношениям и талант привлекать и приобретать друзей. В конце жизни он писал: «Я хочу сделать мою жизнь все более и более полезной для все большего числа людей». И это ему удавалось.

За время работы на посту директора центра У. Дамешек вместе со своими коллегами и учениками занимался различными проблемами гематологии и опубликовал работы, ко-

торые сделали его имя широко известным в мире. Он очень любил привлекать к своей научной работе студентов медицинской школы и своих молодых коллег. Большинство его публикаций написано в соавторстве с учениками. Он писал о лабораторных и клинических проявлениях гемолитического синдрома, о резус-факторе, о гиперспленизме, о миелопролиферативных и лимфопролиферативных заболеваниях, о геморрагических диатезах. Им написано более 350 статей и 6 книг, посвященных наиболее значимым проблемам гематологии. Кроме того, были десятки писем к издателям, касающиеся различных острых и спорных вопросов гематологии, бесчисленные доклады и выступления на многочисленных конференциях и съездах, на которых Дамешек часто поднимал спорные вопросы, инициируя острые дискуссии, поскольку, как он не раз говорил, он любил интеллектуальные битвы. Его монография «Leukemia», написанная в соавторстве с Ф. Ганцем, выдержала три издания при жизни Дамешека и еще два — после его смерти. Он всегда писал легко и быстро, но закончив, тщательно и многократно редактировал свои работы, прежде чем публиковать их. Как-то он писал своему другу во время отпуска, что поскольку во Флориде, куда он с женой уехал отдыхать, почти постоянно идет дождь, он имел возможность полностью переделать статью уже в 7-й или 8-й раз и, наконец, закончить ее.

В последние годы жизни после ухода с академического поста У. Дамешек переехал в Нью-Йорк и стал профессором медицинской школы в Mount Sinai Hospital. В эти годы он особенно сосредоточился на изучении иммуногематологии.

Уже одно перечисление названий написанных Дамешек-ом книг показывает, как широк был круг интересовавших его проблем: «Геморрагические диатезы», «Селезенка и гиперспленизм», «Химиотерапия лейкозов и лимфосарком», «Гемолитические синдромы», «Лейкопения и агранулоцитозы», «Лейкемия».

Некоторые из его представлений о сущности разбираемых в его работах болезней сохранились и по настоящее время, другие — существенно изменились. Его разбор причин и проявлений гиперспленизма, представленный в большой лекции в честь 25-летия Американской академии, сохраняет свое значение и в настоящее время.⁴ Очень долго сохранялись неизменными и разделялись всеми гематологами его представления о хроническом лимфолейкозе как о болезни накопления иммунологически инертных лимфоцитов.⁵ Молодым гематологам такое понимание хронического лимфолейкоза, очевидно, кажется странным, но не надо забывать, что практически все, что мы знаем о патогенезе этого заболевания, стало известным в последние 10 лет. При жизни Дамешека химиотерапия гематологических заболеваний делала лишь первые шаги, и он был одним из первых, применивших ее. В 1946 г. в журнале Американской медицинской ассоциации (ЖАМА) была опубликована работа, в которой сообщалось о первом применении мустаргена при лечении болезни Ходжкина, лимфосарком и лейкозов. Среди авторов работы были У. Дамешек и М. Уинтроп, создатель «Клинической гематологии», выдержавшей с 1942 по 2003 г. уже 11 изданий и носящей его имя и после его смерти.⁶

Сам Дамешек никогда не подчеркивал значения им сделанного. В 1951 г. он написал работу, в которой обосновывал выделение в отдельную группу нескольких миелолифферативных болезней. Он включил в эту группу истинную полицитемию, эссенциальную тромбоцитемию, идиопатический (первичный) миелофиброз, хронический миелолейкоз и острый эритролейкоз (болезнь Ди Гульельмо). Если вспомнить, что в то время еще не было медицинской цитогенетики и иммунологических методов исследования, а изучение болезней и выводы об их сходстве и различии базировались

только на клинических наблюдениях, оценке морфологии клеток крови и костного мозга и гистологическом исследовании пораженных органов, то такое объединение выглядит обоснованным. Оно базировалось на том, что при всех этих болезнях помимо поражения миелоидного имеется также поражение эритроидного и мегакариоцитарного ростков гемопоэза. В своей статье Дамешек писал, что объединяющий эти разные болезни в одну группу характерный для них панмиелоз, скорее всего, отражает сходство в механизмах развития этих заболеваний. Тем не менее, поскольку доказательства сходного патогенеза в то время не было, он заканчивал статью словами, что может быть и нет достаточных оснований для объединения этих болезней, но в настоящее время это полезно для дальнейшего их изучения, а чего же еще можно требовать от теории.⁷

Как мы теперь знаем, Дамешек оказался прав. Изучение этих болезней как единой группы оказалось действительно очень продуктивным. Сейчас доказано, что центральную роль в патогенезе всех хронических миелолифферативных заболеваний играют мутации генов тирозинкиназ. Впервые это было доказано для хронического миелолейкоза, затем — для гиперэозинофильного синдрома и, наконец, для хронических Ph-негативных миелолифферативных заболеваний. Эта группа заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия и первичный миелофиброз) долгие годы интриговала гематологов тем, что в начале заболевания нередко трудно решить, имеется ли у больного эритремия (истинная полицитемия) или эссенциальная тромбоцитемия, а в конце заболевания при всех болезнях этой группы развивается миелофиброз. Сейчас показано, что основную роль в патогенезе этих заболеваний играют мутации генов Jak2-тирозинкиназы. Эта киназа является одним из основных участников Jak/STAT-сигнального пути в клетке, по которому проводятся сигналы пролиферации от цитокинов. Наиболее частой мутацией Jak2-киназы является замена валина на фенилаланин в позиции 617 ее молекулы — образование Jak2 (V617F).^{8,9} Это приводит к резкому увеличению чувствительности клеток — носительниц этой мутации к цитокиновым сигналам, обеспечивающим пролиферацию эритроидного, тромбоцитарного и, в меньшей степени, лейкоцитарного ростков кроветворения. В настоящее время показано, что эта или сходная мутация обнаруживаются у 100% больных истинной полицитемией и у 50% больных эссенциальной тромбоцитемией и первичным миелофиброзом.¹⁰ Установлено также, что в Jak2 (V617F)-негативных случаях обнаруживаются другие мутации, приводящие к увеличению чувствительности эритроидных и мегакариоцитарных предшественников к цитокиновым сигналам — мутации в кодоне 12 Jak2-киназы или мутации тромбоцитарного рецептора, например MPL (W515L).¹¹ Полученные сейчас данные способствуют пониманию того, что сходные у разных больных и при разных болезнях симптомы не случайны, что за этим сходством кроются причины и механизмы развития болезни. Дамешек, как видно по его работам, постоянно размышлявший о природе различных заболеваний, приходил к верным выводам, не имея всего того арсенала исследований, которые доступны в настоящее время. И данью памяти и уважения его таланту является то, что сейчас практически каждая обзорная работа, касающаяся Ph-негативных миелолифферативных заболеваний, начинается с упоминания имени Дамешека и его вклада в понимание этих болезней.

Не менее значимой, чем научная и лечебная, была организаторская работа Дамешека. Он всегда считал, что гематологи разных стран должны общаться и обмениваться взглядами и идеями. Сразу после окончания Второй мировой войны было создано Международное гематологическое об-

щество, и У. Дамешек был его активным участником и первым президентом. Перед первым конгрессом Дамешек посетил многие страны для того, чтобы объединить гематологов для участия в работе общества и конгресса. Он особенно старался создать возможности для такого участия гематологам из стран Восточной Европы, для которых в то время это было не всегда доступно. Один из известнейших медиков того времени, профессор Джузеппе Бастианелли, прославившийся тем, что добился полного искоренения малярии в Италии (малярия в то время уносила ежегодно сотни тысяч жизней в этой стране), назвал Дамешека «послом гематологии» и, будучи уже 94-летним человеком, просил передать У. Дамешеку просьбу заехать в Италию, чтобы они могли увидеться.² И Дамешек эту просьбу выполнил.

В это же время Америку посетил владелец издательского дома Генри Страттон, получивший в Вене медицинское образование, но не чувствовавший призвания к врачебной практике. Он был уже знаком с Дамешеким и обратился к нему с предложением издавать медицинский журнал. В США в это время гематологического журнала не было, а европейские медицинские журналы, которые не издавались во время войны, либо еще не возобновили издание, либо не доставлялись в Америку. Г. Страттон и Дамешек договорились об издании гематологического журнала. Так был создан журнал «Blood». Дамешек стал его первым главным редактором и оставался им до конца жизни, а Д. Майнот был научным консультантом. Нужно сказать, что, как ни странно, часть коллег не поддержала идею такого журнала, хотя это был первый периодический англоязычный международный журнал. Высказывалось даже мнение, что издание журнала предпринято для повышения престижа членов его редколлегии. Вначале журнал выходил 1 раз в 2 мес. и содержал всего 128 страниц. В первый год на него подписалось около 500 человек. Уже через год он стал выходить 2 раза в месяц, а число подписчиков увеличилось до 7500. Сейчас «Blood» — самый известный и престижный гематологический журнал, он выходит 2 раза в месяц, каждый номер содержит более 500 страниц текста. Журнал имеет около 16 000 подписчиков из разных стран мира.¹² С 1976 г. это официальный журнал Американского гематологического общества. Здесь печатаются наиболее значимые работы по гематологии. Высокий уровень журнала сделал его чрезвычайно популярным. В 2007 г. журнал получил 4584 статьи, из которых смог опубликовать лишь 1044, т. е. 23%. В 1969 г. в связи с 70-летием Иосифа Абрамовича Кассирского в «Blood» была напечатана большая статья о нем.¹³

В 1956 г. после очередного конгресса Международного общества гематологов У. Дамешек собрал 10 ведущих американских гематологов и обратился к ним с предложением создать Американское общество гематологов. Так было положено начало деятельности ASH. Первый конгресс общества состоялся в 1958 г., и этот год официально считается годом основания общества. У. Дамешек был вице-президентом общества и президентом его 6-го конгресса. На первом конгрессе было несколько сотен участников, на втором — около 2000, сейчас на каждом конгрессе бывает не менее 20 000 участников. В 2007 г. в ASH зарегистрировано 15 705 членов, из них 3621 — иностранных. Считается престижным опубликовать свою работу даже в тезисах конгресса, поскольку лишь 10% из присланных работ отбираются для устных докладов и лишь $\frac{1}{3}$ — для постерных. Подчеркивая вклад Дамешека как в развитие гематологии, так и в создание общества, Американское общество гематологов утвердило премию имени Дамешека за лучшую работу по гематологии, которая ежегодно вручается на конгрессе общества.

Появление Американского общества гематологов и журнала «Blood» стало побудительным стимулом для гематологов разных стран. Вскоре стали создаваться национальные и международные общества гематологов, в разных странах появились гематологические журналы.

Деятельность Американского общества гематологов не ограничивается публикацией научных работ и проведением конгрессов. В настоящее время оно оказывает влияние на политику правительства по выделению средств для лечения гематологических заболеваний и кредитов на обучение молодежи, для практикующих врачей ежегодно проводится несколько симпозиумов, посвященных самым актуальным вопросам терапии различных гематологических заболеваний, издается специальная литература, помимо журнала «Blood» регулярно выходит газета «Hematologist» с сообщениями о научных новостях и событиях.

К своему 50-летию ASH опубликовало галерею портретов тех своих членов, которые внесли наибольший вклад в развитие гематологии, и назвало эту галерею «легенды гематологии». Портрет У. Дамешека в ней один из первых. Некоторые из помещенных в этой галерее гематологов получили за свой вклад в изучение болезней крови награду имени Дамешека.¹⁴

Таким был этот человек, такой была его жизнь и работа. Мальчик, родившийся в никому не известной российской деревне и ставший одним из самых известных представителей медицины своего и не только своего времени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gunz F. W. William Dameshek, 1900–1969. *Blood* 1970; 35: 567–82.
2. Crosby W. H. Dr William Dameshek: A Biographical Comments. *Blood* 1960; 15: 580–4.
3. Schwartz R. S. William Dameshek: Compassionate Clinician and Gifted Teacher. *Hematologist* 2008; 5: 4–15.
4. Dameshek W. Hypersplenism. *Bull. NY Acad. Med.* 1955; 31: 113–36.
5. Dameshek W. Chronic Lymphocytic Leukemia — an Accumulative Disease of Immunologically Incompetent Lymphocytes. *Blood* 1967; 29: 566–84.

6. Goodman L. S., Wintrobe M. M., Dameshek W. et al. Nitrogen mustard therapy use of methyl-bis (beta-chloroethyl)amine hydrochloride for Hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia and certain allied and miscellaneous disorders. *JAMA* 1945, Sept 21.
7. Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes. *Blood* 1951; 6: 372–5.
8. Tefferi A. The history of myeloproliferative disorders: before and after Dameshek. *Leukemia* 2008; 22: 3–13.
9. Shide K., Shimoda H. K., Kumano T. et al. Development of ET, primary myelofibrosis and PV in mice expressing JAK2V617F. *Leukemia* 2008; 22: 87–95.
10. Vannucchi A. M., Antonioli E., Guglielmelli P. et al. Clinical correlates of JAK2V617F presence or

allele burden in myeloproliferative neoplasms: a critical reappraisal. *Leukemia* 2008; 22: 1299–307.

11. Puigdecant E., Espinet B., Lozano J. J. et al. Gene expression profiling distinguishes JAK2V617F-negative from JAK2V617F-positive patients in essential thrombocythemia. *Leukemia* 2008; 22: 1377–86.
12. Jaffe E., Kaushansky K. The American Society of Hematology: a success of age 50. *Blood* 2008; 111: 11–5.
13. Biographical notes: Professor Joseph A. Kassirsky. *Blood* 1969; 33: 501–3.
14. Legends of Hematology. ASH 50th Anniversary. ASH Newslink 2008, October 2.

Мутации гена нуклеофозмина при острых лейкозах

И. А. Демидова

Nucleophosmin mutations in acute leukemia

I. A. Demidova

SUMMARY

Investigation of molecular basis of acute myeloid leukemia (AML) provided a lot of information about heterogenic nature of this entity. Mutations of nucleophosmin gene (NPM1) were discovered in 50–60% of cases of AML with normal karyotype and in 25–30% of all AML cases. Molecular biology research revealed special functions of NPM1 as transport protein, working also as regulator of p53 function. Clinical studies showed favorable prognosis in AML with a normal karyotype and NPM1 mutations. According to recent data, nucleophosmin status may influence the therapeutic decision in de novo acute myeloid leukemia with normal karyotype and provide new approach to the classification of AML.

Keywords:

acute myeloid leukemia, nucleophosmin, mutations.

Russian Research Center for Hematology, Moscow

РЕФЕРАТ

Изучение молекулярно-генетических основ лейкемогенеза привело к пониманию того, что острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) представляют собой весьма гетерогенную группу заболеваний. Молекулярные исследования обнаружили необычайно частую встречаемость мутаций гена нуклеофозмина (NPM1) в группе ОМЛ с нормальным кариотипом (50–60%), что составляет 25–30% всех ОМЛ. Было показано, что нуклеофозмин является одним из транспортных протеинов, а также участвует в регуляции p53. Клинические исследования, направленные на изучение влияния мутаций нуклеофозмина на результаты терапии, выявили, что частота достижения полных ремиссии после проведения индукции выше у пациентов с ОМЛ с мутациями NPM1. Результаты опубликованных в последние годы многочисленных исследований позволяют выделить ОМЛ, несущие мутации гена нуклеофозмина, в отдельную группу, рассматриваемую ВОЗ в качестве определенного подтипа ОМЛ в новой классификации.

Ключевые слова

острый миелобластный лейкоз, нуклеофозмин, мутации.

Контакты: dema@blood.ru

Принято в печать: 12 ноября 2008 г.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение молекулярно-генетических основ лейкемогенеза привело к пониманию того, что острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) представляют собой весьма гетерогенную группу заболеваний. Наиболее частыми генетическими аномалиями при ОМЛ являются устойчивые хромосомные транслокации, такие как t(8;21), t(15;17), inv(16), выявляющиеся в 30–40% случаев заболевания.^{1–3} Около 15% впервые диагностированных ОМЛ несут случайные аберрации, и примерно в 40% случаев при стандартном цитогенетическом исследовании нарушений кариотипа не определяется.^{1,3,4} Последняя группа наиболее разнородная как с точки зрения клинических проявлений, так и по своим биологическим характеристикам. Тщательный молекулярный анализ ОМЛ с нормальным кариотипом в 15–20% случаев позволил выявить мутации генов, кодирующих факторы транскрипции (CEBPA, AML1), в

25–30% — рецепторы тирозинкиназы (FLT3, c-KIT), однако наиболее частыми нарушениями оказались мутации гена нуклеофозмина (NPM1).^{5–8} Подобные аберрации обнаруживаются примерно в 50–60% случаев ОМЛ с нормальным кариотипом⁹ и, таким образом, на настоящий момент представляют собой наиболее часто встречающиеся генетические аномалии при ОМЛ (около 30% всех случаев). В связи с этим изучение роли гена NPM1 в лейкемогенезе представляет особый интерес.

СТРУКТУРА ГЕНА НУКЛЕОФОЗМИНА (NPM1) И КОДИРУЕМОГО ПРОТЕИНА

Ген нуклеофозмина (NPM1, B23 или NO38) располагается на хромосоме 5 в локусе 5q35.¹⁰ Ген состоит из 12 функциональных доменов и кодирует 3 изоформы протеина (B23.1, B23.2, B23.3). Наиболее частой изоформой является первый тип белка (B23.1), состоящий из 294 аминокислот и экспрессирующийся практически во всех тканях.¹¹

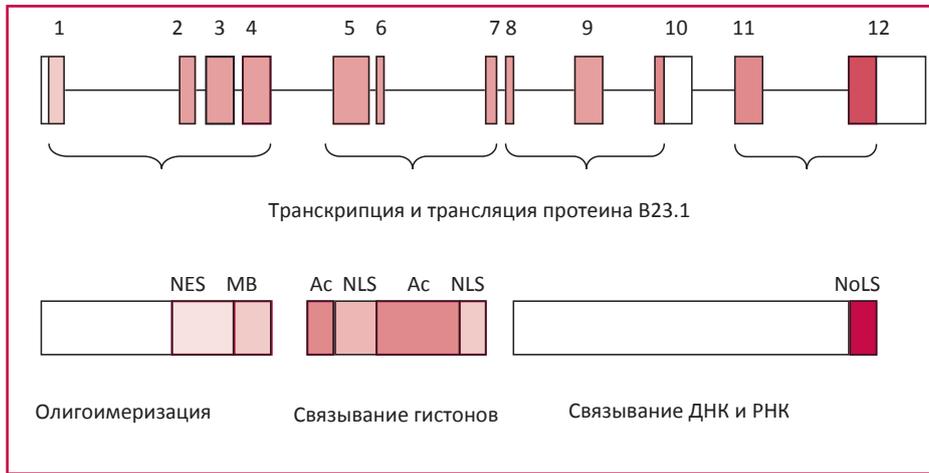


Рис. 1. Структура и функциональные домены гена *NPM1* и белка B23.1: *NES* (nuclear export signal) — последовательность, отвечающая за экспорт протеина из ядра; *NLS* (nuclear localization signal) — последовательность, отвечающая за внутриядерную локализацию протеина; *MB* (metal binding) — последовательность, обладающая способностью к связыванию металлов и образованию комплексов с другими протеинами; *Ac* (acidic stretches) — кислотосодержащие участки, обеспечивающие связь с гистонами; *NoLS* (nuclear localization signals) — последовательность, присущая только изоформе B23.1 и обеспечивающая дополнительную способность к внутриядерной локализации

B23.1 представляет все активные регионы протеина.¹² Гидрофобный N-конец отвечает за образование комплексов с такими же молекулами нуклеофозмина (олигомеризация) и определяет активность белка как шаперона (шапероны — семейство протеинов, отвечающих за правильную компоновку белковых комплексов). Срединная часть протеина способна связываться с белками-гистонами, являющимися важнейшей структурной частью хроматина.¹³ Нуклеофозмин участвует в образовании комплексов между гистонами и нуклеосомами, способствует их ацетилированию и влияет таким образом на регуляцию экспрессии генов. Гидрофильный C-конец обладает способностью образовывать связи с нуклеиновыми кислотами: РНК и ДНК. При изучении особенностей структуры белка выявляются несколько типичных последовательностей, определяющих формирование сигналов, которые отвечают за экспорт белка из ядра (nuclear export signals — NES) и внутриядерную локализацию (nuclear localization signals — NLS) (рис. 1). Кроме того, обнаруживается несколько последовательностей, отвечающих за фосфорилирование и образующих прочную связь с центромерами хромосом. В целом нормальное функционирование этих структур приводит к практически обязательной внутриядрышковой локализации самой распространенной изоформы нуклеофозмина — B23.1.^{11,14} По данным иммуногистохимических исследований, в 95% клеток этот белок определяется в ядре в виде комплексов-олигомеров. Лишь незначительная часть белка, осуществляющая транспортные функции, обнаруживается в цитоплазме.¹¹

Вторая изоформа B23.2 отличается от первой отсутствием 35 последних аминокислот на C-конце и выявляет-

ся в клетках в крайне малом количестве. Свойства третьей изоформы B23.3, состоящей из 259 аминокислот, изучены плохо.

ФУНКЦИИ БЕЛКА NPM1

Нуклеофозмин является многофункциональным протеином (рис. 2).¹⁵ В первую очередь, этот белок играет ведущую роль в образовании рибосомных комплексов. Основной функцией этого протеина является транспорт белковых компонентов рибосом из ядра в цитоплазму.¹⁶ Свойства белка как шаперона указывают на его роль в осуществлении правильной компоновки белковых составляющих при создании рибосомных комплексов. Кроме того, важными функциями нуклеофозмина являются его способность к связыванию нуклеиновых кислот, осуществление процессинга (сборки) молекул пре-РНК и активность его в качестве фермента, расщепляющего РНК.¹⁷⁻¹⁹ С помощью этих механизмов нуклеофозмин действует как регулятор трансляции белков, влияя таким образом на процессы пролиферации и дифференцировки клеток.

Нуклеофозмин также участвует в поддержании генетической стабильности клетки, контролируя восстановление целостности ДНК и дупликацию центромер хромосом во время митоза. По данным S. Grisendi и A. S. Budhu, блокирование функций *NPM1* приводит к неконтролируемой гиперамплификации центромер, что, в свою очередь, ведет к высокому риску опухолевой трансформации клеток.^{20,21}

Кроме того, нуклеофозмин взаимодействует с генами *p53* и *ARF*, одними из основных регуляторов клеточной

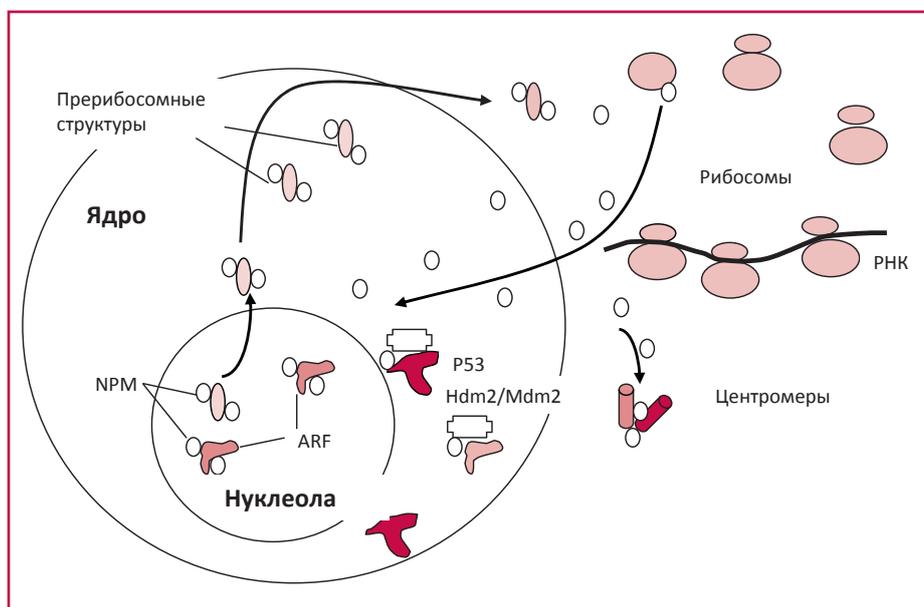


Рис. 2. Функции нормального белка нуклеофозмина. Схематично представлены локализация белка, его перемещения внутри клетки и взаимодействие с клеточными структурами и белками-партнерами

пролиферации и апоптоза.^{22,23} Функциональная связь между *NPM1* и *p53* осуществляется опосредованно, через связывание нуклеофозмина с комплексом Hdm2/Mdm2, активируемым в результате стрессовой ситуации, которая возникает при разрушении нуклеол.²⁴ В результате связывания этого комплекса происходит активация *p53* и повышение способности клеток к восстановлению структуры ДНК или, при ее невозможности, к апоптозу. Подобный клеточный стресс возникает при воздействии ультрафиолетового излучения или лекарственных препаратов, ведущих к нарушению процесса рибосомной РНК.²⁵

Значение взаимодействия *NPM1* и *ARF* пока до конца не ясно. Известно, что оба белка в норме находятся внутри нуклеол в составе сложного мультипротеинового комплекса.²⁶ Возникающая взаимная стабилизация протеинов и образование их соединения с Hdm2/Mdm2 удерживают этот комплекс внутри нуклеол, препятствуя тем самым активации *p53*. Возникающая в результате клеточного стресса дезинтеграция протеинов ведет к образованию комплексов *NPM1*–Hdm2/Mdm2 и *ARF*–Hdm2/Mdm2, которые способны в значительной степени активировать *p53* как каждый по отдельности, так и совместно.²⁷

Нуклеофозмин — один из наиболее высоко экспрессируемых фосфопротеинов и определяется практически во всех тканях.¹⁵ Несмотря на то что большая часть молекул белка выявляется в нуклеолах, его роль в осуществлении процессов, происходящих в нуклеоплазме и цитоплазме, весьма значительна. Нарушение транспортных функций протеина в результате генетических aberrаций, по-видимому, является одним из важных механизмов опухолевой трансформации. Одним из доказательств этого служит аномальное распределение нуклеофозмина в лейкозных и лимфомных клетках при гемобластозах, несущих хромосомные нарушения с участием *NPM1*.

Нуклеофозмин — белок, осуществляющий транспортные функции между ядром и цитоплазмой. Кроме участия в формировании рибосомного комплекса, протеин связывается с центромерами, обеспечивая регуляцию дупликации хромосом во время митоза. Кроме того, *NPM1* участвует в образовании комплексов с белками — регуляторами апоптоза (*p53*, *p19ARF* и Hdm2/Mdm2).

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ АБЕРРАЦИЙ, ВОВЛЕКАЮЩИХ ГЕН *NPM1*

Известно несколько устойчивых транслокаций, вовлекающих ген *NPM1* при различных гемобластозах. К ним относятся транслокация $t(2;5)$ при CD30+ анаплазированной Т-клеточной лимфоме, $t(3;5)$, выявляющаяся в редких случаях миелодиспластического синдрома (МДС) и ОМЛ, и крайне редкая транслокация $t(5;17)$ при остром промиелоцитарном лейкозе (ОПЛ).²⁸⁻³⁰

Во всех случаях выявляется нарушение нормальной внутриядрышковой локализации нуклеофозмина. При анаплазированной Т-клеточной лимфоме с $t(2;5)$ и МДС/ОМЛ с $t(3;5)$ белок имеется в большом количестве как в цитоплазме, так и в ядре. Последнее, скорее всего, обусловлено способностью химерных протеинов связываться с нормальным нуклеофозмином, экспрессирующимся с гена, расположенного на неизменной хромосоме 5, и участвовать в его транспортной функции.³¹ Роль нуклеофозмина как составляющая химерных протеинов в лейкемогенезе до конца неясна. Наиболее вероятным кажется его значение как активатора второй части химерного протеина (ALK — при лимфоме, MLL1 — при ОМЛ/МДС). Известно, что ALK является мощной тирозинкиназой, поэтому активация это-

го фермента за счет образования димеров из двух химерных протеинов ALK-MLL1 за счет способности нуклеофозмина к формированию белковых комплексов может быть вполне достаточной для возникновения неконтролируемой пролиферации клеток.^{31,32} MLL1 в норме не экспрессируется в гемопоэтических клетках. Образование химерного онкогена *NPM-MLL1* при МДС и ОМЛ ведет к высокой экспрессии белка *NPM-MLL1* за счет мощного сигнала с промотора нуклеофозмина.³³ Было показано, что химерный протеин *NPM-MLL1* в культуре блокирует дифференцировку эритроидных предшественников в ответ на эритропоэтин.³⁴ В связи с этим интересным фактом является то, что большинство случаев ОМЛ с $t(3;5)$ относится к М6 по классификации FAB. Кроме того, способность *NPM-MLL1* перемещаться из ядра в цитоплазму и обратно в результате образования димеров с нормальным *NPM1*, так же как и уменьшение количества нормального нуклеофозмина, может играть роль в нарушении дифференцировки клеток.³¹

Случаи ОПЛ с транслокацией $t(5;17)$ крайне редки. По данным J. L. Hummel и D. Grimwade, при исследовании двух случаев ОПЛ с $t(5;17)$ была выявлена необычная диффузная внутриядерная локализация как химерного протеина *NPM-RARA*, так и нормального *NPM1*.^{35,36} Возможно, повреждение нормального функционирования *NPM1* в результате образования гетеродимеров с химерным протеином *NPM-RARA* играет определенную роль в лейкемогенезе. Однако основное значение, несомненно, имеет нарушение нормального пути дифференцировки клеток за счет вовлечения в транслокацию гена рецептора ретиноевой кислоты α (*RARA*). Следует отметить, что ОПЛ с $t(5;17)$ хорошо отвечает на дифференцирующую терапию полностью трансретиноевой кислотой.

Мутации гена *NPM1* при ОМЛ с нормальным кариотипом были обнаружены в конце 1999 г. группой итальянских исследователей под руководством В. Falini.³⁷ Этой группой, занимавшейся в течение ряда лет изучением участия нуклеофозмина в различных транслокациях, был разработан иммунохимический тест для определения типа локализации *NPM* в лейкозных клетках. Таким образом, была выявлена достаточно частая цитоплазматическая локализация протеина. При этом никаких цитогенетических aberrаций в клетках не обнаруживалось. Более того, аномальное расположение нуклеофозмина выявлялось исключительно при ОМЛ, не несущих основных устойчивых хромосомных транслокаций $t(15;17)$, $t(8;21)$, $inv(16)$. Проведенное секвенирование гена *NPM1* показало мутации в экзоне 12.

В результате направленного изучения типов мутаций оказалось, что подавляющее большинство генетических нарушений происходит именно в экзоне 12 гена нуклеофозмина. В литературе описываются лишь два случая мутаций в экзонах 9 и 11 *NPM1*.^{38,39} Более 75% нарушений относятся к так называемой мутации А: дупликации тетра nukлеотида TCTG в позиции 956–959 (ссылка в GenBank NM_002520). Около 10% случаев приходится на мутацию типа В (вставка тетра nukлеотида CATG в ту же позицию) и 5% — на мутацию типа D (вставка CCTG там же). Остальные виды мутаций (от С до I) представляют собой единичные случаи. Все виды нарушений происходят в зоне, кодирующей С-конец протеина, либо повреждая мотив NoLS, отвечающий за внутриядерную локализацию нуклеофозмина, либо формируя дополнительный мотив NES, способствующий экспорту белка из ядра. Таким образом, аномальная локализация мутантного протеина в цитоплазме вполне объяснима.

Следует отметить, что мутации гена *NPM1* встречаются почти исключительно при ОМЛ. Единичные случаи мутаций были обнаружены при хронических миелопролиферативных

заболеваниях (5 из 200 случаев, около 2,5%).³⁹ Интересно, что все 5 случаев представляли собой хронический миеломоноцитарный лейкоз, из них 4 в течение 1 года прогрессировали в ОМЛ. Y. Zhang и соавт. провели исследование мутационного статуса *NPM1* при МДС и выявили мутации гена нуклеофозмина у 2 (5,2%) из 38 обследованных больных.⁴⁰ Исследование, проведенное С. Tiede и соавт., позволило доказать, что встречаемость мутаций *NPM1* при вторичных лейкозах достаточно редка (около 2%).⁴¹ Таким образом, мутации *NPM1* характерны для первичных ОМЛ без устойчивых хромосомных транслокаций.

По данным разных исследователей, мутации гена нуклеофозмина редко встречаются при ОМЛ у детей — от 2 до 6,5% всех случаев, что составляет от 9 до 26% случаев ОМЛ с нормальным кариотипом.^{42,43} В то же время у взрослых больных частота встречаемости мутаций *NPM1* составляет от 25 до 35% всех случаев, т. е. 45–65% случаев ОМЛ с нормальным кариотипом.^{9,31,44,45} Следует также отметить, что у детей и молодых взрослых, как правило, встречаются редкие типы мутаций (не-А и не-В). Возможно, эти данные отражают различия в молекулярных механизмах лейкемогенеза у взрослых и детей.

РОЛЬ МУТАНТНОГО НУКЛЕОФОЗМИНА В ЛЕЙКЕМОГЕНЕЗЕ

Ген *NPM1* принадлежит к недавно выделенной новой категории генов, способных функционировать как онкогены или как опухолевые супрессоры в зависимости от уровня экспрессии, дозы гена, внутриклеточной локализации белка и белков-партнеров.⁴⁶ С одной стороны, нуклеофозмин вовлечен в процессы потенцирования клеточной пролиферации, его экспрессия возрастает при стимуляции митогенами; с другой стороны, взаимодействие его с нормальными партнерами, такими как *ARF*, способствует подавлению роста клеток.

Исследования, проведенные на мышинной модели с выключенным *NPM1*, показали, что нормальное эмбриональное развитие, даже при функционировании одной копии гена на неблокированной хромосоме, невозможно. Таким образом была доказана роль так называемой дозы гена, зависящей от уровня экспрессии. Добиться рождения жизнеспособного потомства у мышей удалось лишь после выключения гена *p53*, являвшегося, по-видимому, основной причиной избыточного апоптоза клеток, приводящего к внутриутробной гибели плода. Интересно, что у этих мышей в дальнейшем развивалось заболевание, напоминающее по течению МДС.²⁰

Экспериментальной модели ОМЛ с мутировавшим *NPM1* пока не существует. Все исследования в настоящее время проводятся на клетках, полученных от пациентов с ОМЛ.

M. Alcalay и соавт. в работе по изучению типов генной экспрессии выявили значительные различия между ОМЛ без мутаций *NPM1* и ОМЛ, несущими эти мутации.⁴⁷ Оказалось, что в последних случаях выявляется выраженная гиперэкспрессия генов гомеобокса (отвечающих в филогенезе за основные этапы эмбрионального развития, в т. ч. участвующих в пролиферации гемопоэтических клеток), таких как *HOX* и *TALE*. Эти гены, как правило, высоко экспрессируются в клетках-предшественниках гемопоэза, в процессе дифференцировки уровень их экспрессии снижается.⁴⁸ Высокий уровень экспрессии генов гомеобокса, скорее всего, свидетельствует о высоком пролиферативном потенциале лейкозных клеток при ОМЛ с мутациями *NPM1*. Подобная картина обнаруживается при острых лейкозах с реаранжировками гена *MML*. Однако в последних случаях повышение экспрессии генов семейства *HOX* связано с непосредствен-

ным связыванием продуктов реаранжировок *MML* с промоторами *HOX*. Ведущую роль в лейкемогенезе играют протеины, образовавшиеся в результате aberrаций *MML*.⁴⁹ При ОМЛ с мутациями *NPM1* высокая экспрессия генов гомеобокса, скорее всего, не связана непосредственно с влиянием мутантного белка и отражает высокий пролиферативный потенциал злокачественных клеток. Видимо, основную роль в лейкемогенезе играет нарушение нормальных взаимодействий нуклеофозмина с p53, ARF и другими белками-партнерами.⁴⁷

Очевидно, определенное значение имеет также возникновение вторичных мутаций на фоне высокой пролиферативной активности клеток и снижения функций опухолевых супрессоров. Наиболее характерным примером вторичных aberrаций, ассоциированных с мутировавшим *NPM1*, являются мутации *FLT3*. По данным С. Tiede и соавт., *FLT3-ITD* встречается примерно в 40% ОМЛ с мутациями *NPM1*, а *FLT3-TDK* — еще в 15% случаев, т. е. в целом при ОМЛ с мутациями *NPM1* изменения в структуре *FLT3* выявляются примерно в 2 раза чаще, чем при ОМЛ.⁴¹ Другие, характерные для миелоидных лейкозов аномалии, такие как *MLL-PTD*, мутации *KIT*, *NRAS*, *CEBPA*, встречаются при этом виде ОМЛ редко.

Цитогенетически выявляемые хромосомные нарушения различных типов встречаются при ОМЛ с мутировавшим *NPM1* примерно в 14% случаев.^{31,41} Устойчивые хромосомные aberrации, такие как t(8;21), inv(16) крайне редко сопровождаются мутациями *NPM1*. Следует отметить, что ОПЛ с классической транслокацией t(15;17) никогда не несет мутаций нуклеофозмина. В основном выявляются минорные aberrации, характерные для вторичных ОМЛ (трисомии, делеции, инверсии), возможно возникающие в процессе клональной эволюции лейкоза.³¹ Зачастую эти аномалии выявляются во время рецидива заболевания. При этом все клетки, несущие хромосомные нарушения, имеют характерную для мутировавшего *NPM1* цитоплазматическую локализацию нуклеофозмина. Большинство исследователей в настоящее время придерживаются мнения, что ОМЛ с мутациями *NPM1* относится к особой, отдельной подгруппе ОМЛ независимо от обнаруживаемых хромосомных aberrаций.⁴⁹

КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОМЛ С МУТАЦИЯМИ *NPM1*

ОМЛ с мутациями нуклеофозмина могут иметь морфологические и цитохимические черты любого подтипа по FAB. Однако наиболее частыми из них являются М4 и М5 ОМЛ. Интересно, что около 90% ОМЛ-М5 с базофилией несут мутации *NPM1*. Более 95% ОМЛ с мутациями *NPM1* не экспрессируют CD34 и CD133.^{31,37} Другой типичной чертой этого вида ОМЛ является вовлечение всех линий гемопоэза, кроме лимфоидной. Часто выявляемая мультилинейная дисплазия также характерна для ОМЛ с мутациями *NPM1*. Выявлено более частое наличие мутаций *NPM1* у женщин, хотя в целом ОМЛ чаще встречается у мужчин.^{41,50,51}

Число бластных клеток при ОМЛ с мутациями *NPM1* обычно выше, чем без мутаций.⁴¹ В случае присоединения *FLT3-ITD* лейкоцитоз в периферической крови за счет бластных клеток возрастает еще больше.^{41,51} Описана корреляция выявления мутаций с экстремедулярными поражениями, гиперплазией десен и увеличением периферических лимфоузлов. Возможно, это связано с тем, что данные поражения характерны для ОМЛ М4 и М5, при которых мутации *NPM1* встречаются наиболее часто. Количество тромбоцитов при ОМЛ с мутациями *NPM1* выше, чем без мутаций.^{41,51} Интересно, что при гистологическом исследовании трепано-

биоптатов часто выявляется не только выраженная дисплазия мегакариоцитов, но и увеличение их числа.

Клинические исследования, направленные на изучение влияния мутаций нуклеофозмина на результаты терапии, показали, что частота достижения полных ремиссий после проведения индукции выше у пациентов с ОМЛ с мутациями *NPM1*. Однако при тщательном анализе K. Döhner и соавт. обнаружили, что мутационный статус *NPM1* не являлся независимым фактором благоприятного прогноза и лучший ответ на химиотерапию достигался лишь у тех пациентов, у которых мутации *NPM1* не сопровождалась мутациями *FLT3*. В группе больных, несущих мутации обоих генов, возможность достижения полных ремиссий оказалась самой низкой.⁵¹

По результатам 4 крупнейших исследований, проведенных в Европе, было выявлено, что для молодых (до 60 лет) пациентов с мутациями *NPM1* возможность 5-летней общей выживаемости составила примерно 60%.^{41,50-52} Эти данные сравнимы с результатами выживаемости больных ОМЛ из группы благоприятного прогноза, т. е. несущими транслокации, вовлекающие *CBF t(8;21)*, *inv(16)*, или мутации гена *CEBPA*. Изучение роли аллогенной трансплантации стволовых гемопоэтических клеток в терапии больных ОМЛ с мутациями *NPM1* показало, что у данной группы пациентов трансплантация не приводит к улучшению выживаемости.⁵¹

Роль мутаций нуклеофозмина в достижении хорошего ответа на терапию до конца неясна. Возможно, это связано с потерей нормальной функции *NPM1* как белка, защищающего клетки от р53-индуцированного апоптоза в случае клеточного стресса.⁵³ Интересно, что при воздействии даунорубина на лейкозные клетки линий K562 и HeLa, не несущих мутаций *NPM1*, первоначально происходит перемещение молекул нуклеофозмина в цитоплазму, а затем возникает апоптоз.⁵⁴

Следует отметить, что наличие мутаций гена *FLT3* у пациентов ОМЛ, безусловно, определяет неблагоприятный прогноз заболевания независимо от мутационного статуса *NPM1*.⁵⁵ Это связано с тем, что индуцируемые кодируемой этим геном FMS-подобной тирозинкиназой мощные антиапоптотические и пролиферативные сигналы (в основном, через STAT5) позволяют клеткам пережить стресс, вызванный лекарственными воздействиями.⁵⁶

НЕРЕШЕННЫЕ ВОПРОСЫ

Несмотря на выдающиеся достижения в исследовании функций *NPM1* при ОМЛ, вопросов, касающихся роли этого гена в лейкемогенезе, пока намного больше, чем ответов.

До сих пор неясно, в каких клетках возникают мутации *NPM1*. Выявление признаков мультилинейного поражения и устойчивость мутации в течение эволюции лейкозного клона предполагают возникновение этих повреждений в клетках достаточно высокого уровня в иерархии гемопоэтических предшественников. Об этом же свидетельствуют особенности типа генной экспрессии, сопровождающиеся высоким уровнем экспрессии генов гомеобокса.⁴⁷ При этом обычное для этого вида ОМЛ отсутствие маркера CD34 на лейкоз-

ных клетках предполагает либо более низкий уровень поражения, либо подавление CD34 каким-либо пока неизвестным нарушением регуляторных путей.^{47,52}

Не до конца понятна непосредственная роль *NPM1* в развитии опухолевой трансформации. Уже ясно, что сам по себе мутантный белок не обладает свойствами онкогена и, скорее всего, основное значение имеет потеря нормальных функций нуклеофозмина в регуляции р53 через белок p19^{ARF}. Возможно, мутации *NPM1* играют роль «первого трансформирующего события», согласно популярной в настоящее время теории «двух событий» в лейкемогенезе.^{9,41} Возникающая способность клеток к усиленной пролиферации в отсутствие адекватного апоптоза приводит к частым вторичным мутациям, ведущим к опухолевой трансформации. Нельзя исключить, что с этим связано столь частое выявление мутаций *FLT3* при ОМЛ с мутациями нуклеофозмина. Однако при исследовании профилей генной экспрессии, как ни странно, не было обнаружено существенных различий по типу экспрессии при ОМЛ с мутациями только *NPM1* или при ОМЛ с мутациями как *NPM1*, так и *FLT3*.^{41,47}

Предметом проводимых в настоящее время исследований является также возможность использования мутировавшего *NPM1* в качестве цели для терапевтического воздействия. Изучение трехмерного строения белка мутантного нуклеофозмина предполагает возможность синтеза небольших молекул, способных изменить формирование комплексов между мутантным и нормальным белком. Более того, изменение третичной структуры мутантного протеина, возможно, позволит предотвратить выход нуклеофозмина в цитоплазму и, таким образом, попытаться восстановить его нормальное функционирование.⁹

Особый интерес также представляет доказанная высокая чувствительность ОМЛ с мутациями *NPM1* к химиотерапии, механизм которой пока до конца неясен. Проводятся исследования, направленные как на выявление наиболее эффективных цитостатических препаратов, способных селективно воздействовать на этот вид лейкоза, так и на изучение возможности использования ингибиторов *FLT3* в этой группе ОМЛ. Возможно, подавление мутантного *FLT3* позволит перевести наиболее неблагоприятный вид ОМЛ с мутациями как *NPM1*, так и *FLT3* в более благоприятный, только с мутациями *NPM1*.

В заключение хотелось бы отметить, что необходимость исследования молекулярного статуса лейкозных клеток при ОМЛ в настоящее время не вызывает сомнения. В первую очередь, полученные данные могут обсуждаться как факторы, определяющие прогноз заболевания и стратификацию терапии.⁵⁷ Кроме того, выявляемые молекулярные нарушения могут использоваться в качестве маркеров минимальной остаточной болезни у пациентов с ОМЛ без хромосомных aberrаций. В целом результаты опубликованных в последние годы многочисленных исследований позволяют выделить ОМЛ, несущие мутации гена нуклеофозмина, в отдельную группу, рассматриваемую ВОЗ в качестве определенного подтипа ОМЛ в новой классификации.^{49,58}

ЛИТЕРАТУРА

- Gilliland D. G., Jordan C. T., Felix C. A. The molecular basis of leukemia. *Hematology (ASH Educational Program)* 2004; 80–97.
- Kelly L. M., Gilliland D. G. Genetics of myeloid leukemias. *Ann. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2003; 3: 179–98.
- Grimwade D., Walker H., Oliver F. et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in

AML: analysis of 1612 patients entered into MRC AML 10 trial: The Medical Research Council Adult and Children's Leukemia Working Parties. *Blood* 1998; 92: 2322–33.

- Marcucci G., Mrozek K., Bloomfield C. D. Molecular heterogeneity and prognostic biomarkers in adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics. *Curr. Opin. Hematol.* 2005; 12: 68–75.
- Bullinger L., Doner K., Bair E. et al. Use of gene-expression profiling to identify prognostic sub-

classes in adult acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 1605–16.

- Valk P. J., Verhaak R. G., Beijnen M. A. et al. Prognostically useful gene-expression profiles in acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 1617–28.
- Roumier C., Fenaux P., Lafage M. et al. New mechanisms of AML1 gene alteration in hematological malignancies. *Leukemia* 2003; 17: 9–16.

8. Pabst T., Mueller B. U., Zhang P. et al. Dominant-negative mutations of CEBPA, encoding CCAAT/enhancer binding protein-alpha (C/EBPalpha), in acute myeloid leukemia. *Nat. Genet.* 2001; 27: 624–33.
9. Falini B., Nicoletti I., Martelli M. F., Mecucci C. Acute myeloid leukemia carrying cytoplasmic/mutated nucleophosmin (NPMc+ AML): biologic and clinical features. *Blood* 2007; 109: 874–85.
10. Chang J. H., Olson M. O. Structure of the gene for rat nuclear protein B23. *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 18227–33.
11. Wang D., Umekawa H., Olson M. O. Expression and subcellular localization of two forms of nucleolar protein B23 in rat tissues and cells. *Cell Mol. Biol. Res.* 1993; 39: 33–42.
12. Hingorani K., Szebeni A., Olson M. O. Mapping the functional domains of nucleolar protein B23. *J. Biol. Chem.* 2000; 275: 24451–7.
13. Okuwaki M., Matsumoto K., Tsujimoto M., Nagata K. Function of nucleophosmin/B23, a nuclear acidic protein as a histone chaperone. *FEBS Lett.* 2001; 506: 272–6.
14. Nishimura Y., Ohkubo T., Furuichi Y., Umekawa H. Tryptophans 286 and 288 in the C-terminal region of protein B23.1 are important for its nucleolar localization. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2002; 66: 2239–42.
15. Andersen J. S., Lam Y. W., Leung A. K. et al. Nucleolar proteome dynamics. *Nature* 2005; 433: 77–83.
16. Yu Y., Maggi L. B., Brady S. N. et al. Nucleophosmin is essential for ribosomal protein L5 nuclear export. *Mol. Cell Biol.* 2006; 26: 3798–809.
17. Tarapore P., Shinmura K., Suzuki H. et al. Thr199 phosphorylation targets nucleophosmin to nuclear speckles and represses pre-mRNA processing. *FEBS Lett.* 2006; 580: 399–409.
18. Wang D., Baumann A., Szebeni A., Olson M. O. The nucleic acid binding activity of nuclear protein B23.1 resides in its carboxyl-terminal end. *J. Biol. Chem.* 1994; 269: 30994–8.
19. Savkur R. S., Olson M. O. Preferential cleavage in pre-ribosomal RNA by protein B23.1 endoribonuclease. *Nucleic. Acids Res.* 1998; 26: 4508–15.
20. Grisendi S., Bernardi R., Rossi M. et al. Role of nucleophosmin in embryonic development and tumorigenesis. *Nature* 2005; 437: 147–53.
21. Budhu A. S., Wang X. W. Loading and unloading: orchestrating chromosome duplication and spindle assembly by Ran/Crm1. *Cell Cycle* 2005; 4: 1510–4.
22. Colombo E., Marine J. C., Danovi D. et al. Nucleophosmin regulates the stability and transcriptional activity of p53. *Nat. Cell Biol.* 2002; 4: 529–33.
23. Ye K. Nucleophosmin/B23, a multifunctional protein that can regulate apoptosis. *Cancer. Biol. Ther.* 2005; 4: 918–23.
24. Kurki S., Peltonen K., Laiho M. Nucleophosmin, HDM2 and p53: players in UV damage incited nuclear stress response. *Cell Cycle* 2004; 3: 976–9.
25. Maignel D. A., Jones L., Chakavarty D. et al. Nucleophosmin sets a threshold for p53 response to UV radiation. *Mol. Cell Biol.* 2004; 24: 3703–11.
26. Bertwistle D., Sugimoto M., Sherr C. J. Physical and functional interactions of the Arf tumor suppressor protein with nucleophosmin/B23. *Mol. Cell Biol.* 2004; 24: 985–96.
27. Lee C., Smith B. A., Bandyopadhyay K., Gjerset R. A. DNA damage disrupts the p14ARF-B23 (nucleophosmin) interaction and triggers a transient subnuclear redistribution of p14ARF. *Cancer Res.* 2005; 65: 9834–42.
28. Falini B., Mason D. Y. Proteins encoded by genes involved in chromosomal alterations in lymphoma and leukemia: clinical value of their detection by immunocytochemistry. *Blood* 2002; 99: 409–26.
29. Yoneda-Kato N., Look A. T., Kirstein M. N. et al. The t(3;5)(q25.1;q34) of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia produces a novel fusion gene, NPM-MLF1. *Oncogene* 1996; 12: 265–75.
30. Redner R. L., Rush E. A., Faas S. et al. The t(5;17) variant of acute promyelocytic leukemia expresses a nucleophosmin-retinoic acid receptor fusion. *Blood* 1996; 87: 882–6.
31. Falini B., Nicoletti I., Bolli N. et al. Translocations and mutations involving the nucleophosmin (NPM1) gene in lymphomas and leukemias. *Haematologica* 2007; 92: 519–32.
32. Bischof D., Pulford K., Mason D. Y., Morris S. W. The role of nucleophosmin (NPM) portion of the non-Hodgkin's associated NPM-anaplastic lymphoma kinase fusion protein in oncogenesis. *Mol. Cell Biol.* 1997; 17: 2312–25.
33. Falini B., Bigerna B., Pucciarini A. et al. Aberrant subcellular expression of nucleophosmin and NPM-MLF1 fusion protein in acute myeloid leukemia carrying t(3;5): a comparison with NPMc+ AML. *Leukemia* 2006; 20: 368–71.
34. Winteringham L. N., Kobelke S., Williams J. H. et al. Myeloid leukemia factor 1 inhibits erythropoietin-induced differentiation, cell cycle exit and p27Kip1 accumulation. *Oncogene* 2004; 23: 5105–9.
35. Hummel J. L., Wells R. A., Dube I. D. et al. Downregulation of NPM and PLZF in a variant t(5;17) case of acute promyelocytic leukemia. *Oncogene* 1999; 18: 633–41.
36. Grimwade D., Biondi A., Mozziconacci M. J. et al. Characterization of acute promyelocytic leukemia cases lacking classic t(15;17): results of the European Working Party, Groupe Francais de Cyto-genetique Hematologique, Groupe Francais d'Hematologie Cellulaire, UK Cancer Cytogenetics Group and BIOMED 1 European Community Concerted Action «Molecular Cytogenetic Diagnosis in Haematological Malignancies». *Blood* 2000; 96: 1297–308.
37. Falini B., Mecucci C., Tiacci E. et al. Cytoplasmic nucleophosmin in acute myeloid leukemia with normal karyotype. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352: 254–66.
38. Mariano A. R., Colombo E., Luzi L. et al. Cytoplasmic localization of NPM in myeloid leukemias is dictated by gain-of-function that creates a functional nuclear export signal. *Oncogene* 2006; 25: 4376–80.
39. Albiero E., Madeo D., Giaretta I. et al. A novel mutation in the exon 11 of nucleophosmin (NPM1) gene leads to a truncated form of the protein lacking the C-terminal NES-motif [abstract]. *Haematologica* 2006; 91 (Suppl. 1): 237.
40. Zhang Y., Zhang M., Yang L., Xiao Z. NPM1 mutations in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Leuk. Res.* 2007; 31: 109–11.
41. Tiede C., Koh S., Creutzig E. et al. Prevalence and prognostic impact of NPM1 mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood* 2006; 107: 4011–20.
42. Chou W. C., Tang J. L., Lin L. I. et al. Nucleophosmin mutations in de novo acute myeloid leukemia: the age-dependent incidence and the stability during disease evolution. *Cancer Res.* 2006; 66: 3310–6.
43. Cazzinaga G., Dell'Oro M. G., Mecucci et al. Nucleophosmin mutations in childhood acute myelogenous leukemia with normal karyotype. *Blood* 2005; 106: 1419–22.
44. Suzuki T., Kyjoi H., Ozeki K. et al. Clinical characteristics and prognostic implications of NPM1 mutations in acute myeloid leukemia. *Blood* 2005; 106: 2854–61.
45. Boissel N., Renneville A., Biggo V. et al. Prevalence, clinical profile and prognosis of NPM mutations in AML with normal karyotype. *Blood* 2005; 106: 3618–20.
46. Grisendi S., Mecucci C., Falini B., Pandolfi P. P. Nucleophosmin and cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2006; 6: 493–505.
47. Alcalay M., Tiacci E., Bergomas R. et al. Acute myeloid leukemia bearing cytoplasmic nucleophosmin (NPMc+ AML) shows a distinct gene expression profile characterized by up-regulation of genes involved in stem-cell maintenance. *Blood* 2005; 106: 899–902.
48. Magli M. C., Barba P., Celetti A. et al. Coordinate regulation of HOX genes in human hematopoietic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991; 88: 6348–52.
49. Pasqualucci L., Liso A., Martelli M. P. et al. Mutated nucleophosmin detects clonal multilineage involvement in acute myeloid leukemia: impact on WHO classification. *Blood* 2006; 108: 4146–55.
50. Schnittger S., Schoh C., Kern W. et al. Nucleophosmin gene mutations are predictors of favorable prognosis in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *Blood* 2005; 106: 3733–9.
51. Dohner K., Schlenk R. F., Habdank M. et al. Mutant nucleophosmin (NPM1) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myelogenous leukemia and normal cytogenetics: interaction with other gene mutations. *Blood* 2005; 106: 3740–6.
52. Verhaak R. G., Goudwaard C. S., van Putten W. et al. Mutations in nucleophosmin (NPM1) in acute myeloid leukemia (AML): association with other gene abnormalities and previously established gene expression signatures and their favorable prognostic significance. *Blood* 2005; 106: 3747–54.
53. Li J., Zhng X., Sejas D. P., Pang Q. Negative regulation of p53 by nucleophosmin antagonizes stress induced apoptosis in human normal and malignant hematopoietic cells. *Leuk. Res.* 2005; 29: 1415–23.
54. Chan P. K., Chan F. Y. A study of correlation between NPM-translocation and apoptosis in cells induced by daunomycin. *Biochem. Pharm.* 1999; 57: 1265–73.
55. Gallagher R. Duelling mutations in normal karyotype AML. *Blood* 2005; 106: 3681–2.
56. Choudhary C., Schwable J., Brandts C. et al. AML-associated FLT3 kinase domain mutations show signal transduction differences compared with FLT3-ITD mutations. *Blood* 2005; 106: 265–73.
57. Bardet V., Costa L. D., Elie C. et al. Nucleophosmin status may influence the therapeutic decision in de novo acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Leukemia* 2006; 20: 1644–6.
58. Mrozek K., Marcucci G., Paschka P. et al. Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics: are we ready for a prognostically prioritized molecular classification. *Blood* 2007; 109: 431–48.



Роль мутаций гена BCR-ABL в развитии рефрактерности к иматинибу у пациентов с хроническим миелолейкозом

С. И. Куцев, М. В. Вельченко, С. В. Морданов

РЕФЕРАТ

The Role of BCR-ABL Gene Mutation Analysis in Refractoriness to the Imatinib Therapy of Patients with Chronic Myeloid Leukemia

S. Kutsev, M. Velchenko, S. Mordanov

SUMMARY

Despite the high rate of cytogenetics remission achieved with imatinib for the treatment of CML, primary and acquired resistance to this tyrosine kinase inhibitor has become a problem. The most common cause of imatinib resistance is point mutations in the BCR-ABL gene leading to amino acid substitutions which prevent the appropriate binding of the drug. Using direct DNA sequencing we have screened for BCR-ABL kinase domain mutations in 23 patients with Ph+ CML and the evidence of primary cytogenetic resistance to imatinib. Mutations were associated in 5 (21.7% patients with refractoriness (primary resistance). They were patients with M244V + M351T, L248V + F359C, T315I and two patients with L248V clinically significant mutations. Mutation analysis of BCR-ABL gene has prognostic implication and plays a certain role in changing therapeutic strategy of imatinib resistant CML patients.

Keywords:

chronic myeloid leukemia, refractoriness, imatinib, mutations of BCR-ABL gene.

Rostov State Medical University

Контакты: kutsev@mail.ru

Принято в печать: 21 ноября 2008 г.

Терапия иматинибом позволяет достичь цитогенетической ремиссии у большинства больных ХМЛ. Однако в ряде случаев наблюдается первичная и вторичная резистентность к терапии иматинибом. Основной причиной резистентности являются точечные мутации киназного домена гена BCR-ABL, приводящие к замене одной из аминокислот в белке Bcr-Abl тирозинкиназы и, как следствие, нарушению связывания иматиниба. В нашем исследовании мы провели поиск мутаций гена BCR-ABL методом прямого секвенирования ДНК у 23 пациентов с Ph+ ХМЛ с первичной резистентностью (рефрактерностью). В результате следующие клинически значимые мутации были обнаружены у 5 (21,7%) рефрактерных к иматинибу пациентов: L248V, L248V, M244V + M351T, L248V + F359C, T315I. Результаты мутационного анализа гена BCR-ABL имеют значение для определения прогноза течения ХМЛ и играют определенную роль в изменении тактики лечения ХМЛ.

Ключевые слова

хронический миелолейкоз, рефрактерность, иматиниб, мутации гена BCR-ABL.

ВВЕДЕНИЕ

Впечатляющие успехи в лечении хронического миелолейкоза (ХМЛ) ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) оказали существенное влияние на развитие таргетной терапии различных онкологических заболеваний. Следующим уроком, который необходимо извлечь из результатов таргетной терапии ХМЛ для использования в других областях онкологии, является установление контроля над механизмами резистентности к терапии ИТК у пациентов с ХМЛ.¹

Международное рандомизированное исследование IRIS, в котором сравнивалась безопасность и эффективность интерферона и иматиниба мезилата для лечения ХМЛ, показало безусловное превосходство иматиниба.²⁻⁵ К 6 годам наблюдения общая выживаемость пациентов, получавших монотерапию иматинибом, составила 88%, бессобытийная выживаемость — 83%, а выживаемость без прогрессии в фа-

зу акселерации и бластный криз — 93%.⁶

Однако у части пациентов с ХМЛ, получающих монотерапию иматинибом, наблюдается первичная (рефрактерность) или вторичная (приобретенная) резистентность к проводимой терапии. О значении рефрактерности к терапии иматинибом для клинической практики свидетельствуют некоторые результаты исследования IRIS: в 4% вновь диагностированных случаев ХМЛ не удалось достичь полной гематологической ремиссии после 3 мес. терапии иматинибом, в 16% случаев не получено большого цитогенетического ответа после 12 мес. терапии, у 23% пациентов не был достигнут полный цитогенетический ответ после 18 мес. терапии.³

Для оценки эффективности терапии ХМЛ экспертами European Leukemia Net (ELN) разработаны критерии ответа на лечение иматинибом.⁷ Неудача (отсутствие эффекта) терапии има-

тинибом констатируется в следующих случаях: отсутствие гематологического ответа после 3 мес. терапии, полного гематологического или хотя бы минимального цитогенетического (Ph-хромосома обнаруживается более чем в 95% клеток костного мозга) ответа после 6 мес. терапии, большого цитогенетического ответа после 12 мес. терапии (Ph-хромосома обнаруживается более чем в 35% клеток костного мозга), полного цитогенетического ответа после 18 мес. терапии иматинибом, потеря полного гематологического или цитогенетического ответа при любом сроке терапии иматинибом.

Отсутствие должных гематологического и цитогенетического ответов после 3, 6, 12 и 18 мес. лечения рассматривается как проявление рефрактерности (первичной резистентности) к терапии иматинибом. Потеря уже достигнутого гематологического или цитогенетического ответа расценивается как результат приобретенной (вторичной) резистентности пациентов к терапии иматинибом.

Критерии ELN не бесспорны, поскольку учитывают только время достижения гематологического или цитогенетического ответа. У ряда пациентов полный цитогенетический ответ достигается позже рассматриваемых сроков и сохраняется длительное время. В исследовании IRIS у двух пациентов полный цитогенетический ответ был достигнут только между 5 и 6 годами терапии иматинибом.⁶ Однако, поскольку большая часть пациентов, рефрактерных к терапии иматинибом, имеет высокий риск прогрессии в фазу акселерации и бластного криза, критерии ELN сохраняют свою актуальность.

Различные исходы лечения рефрактерных к иматинибу пациентов обусловлены, вероятно, разными механизмами развития первичной резистентности. Изучение этих механизмов имеет огромное клиническое значение, поскольку может привести к выявлению прогностических факторов, позволяющих предвидеть благоприятный исход или прогрессию заболевания. Более того, выяснение причин рефрактерности может помочь оптимизировать терапию ХМЛ — повысить дозу иматиниба, перейти на терапию ИТК второго поколения (тасигна, спрайсел) и принять решение о трансплантации костного мозга.

Среди механизмов развития резистентности к терапии иматинибом главная роль отводится мутациям киназного домена гена *BCR-ABL*. Различные миссенс-мутации химерного гена *BCR-ABL* приводят к замене одной из аминокислот в белке Bcr-Abl, что обуславливает нарушение связывания иматиниба с Bcr-Abl-тирозинкиназой. Однако, если о роли мутаций в развитии приобретенной резистентности накопилось довольно много данных за последние несколько лет,⁸⁻¹⁵ то частота, спектр мутаций, их потенциальное значение в развитии первичной резистентности остаются малоизученными. Если учесть небольшую популяционную частоту ХМЛ, а также успешность терапии ХМЛ иматинибом, то становится очевидной важность описания каждого случая первичной резистентности к терапии иматинибом, обусловленного мутациями гена *BCR-ABL*.

Ряд авторов обнаружили связь между появлением мутаций гена *BCR-ABL* и возрастом пациентов, наличием ранней или поздней хронической фазы на момент начала терапии иматинибом, предлеченностью, продолжительностью периода от установления диагноза до начала терапии иматинибом, длительностью терапии иматинибом.^{9,16-18} Однако в этих исследованиях анализировались преимущественно мутации, обуславливающие развитие вторичной резистентности.

Целью нашего исследования было выяснение частоты и спектра мутаций гена *BCR-ABL*, обуславливающих в соответствии с критериями ELN первичную резистентность (рефрактерность) к терапии иматинибом в дозе 400 мг/сут и

их роли в развитии резистентности к иматинибу. Также проведен поиск возможных ассоциаций некоторых демографических показателей (возраст, пол пациентов), фазы ХМЛ и ее длительности (ранняя или поздняя хроническая фаза на момент начала терапии иматинибом, средняя продолжительность периода от установления диагноза до начала терапии иматинибом), особенностей терапевтического режима (предлеченность, средняя суточная доза иматиниба, длительности терапии иматинибом) с появлением мутаций у пациентов с рефрактерностью к иматинибу и с развитием собственно самой рефрактерности без учета наличия мутаций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе представлены результаты мутационного анализа у 53 пациентов с цитогенетически подтвержденным диагнозом Ph(+) ХМЛ. Все пациенты находились в хронической фазе заболевания. Первую группу составили пациенты с ХМЛ, рефрактерные к терапии иматинибом ($n = 23$). В качестве критерия рефрактерности в нашем исследовании рассматривалось отсутствие цитогенетического ответа после 6 мес. терапии иматинибом в дозе 400 мг/сут, частичного цитогенетического ответа после 12 мес. терапии, полного цитогенетического ответа после 18 мес. терапии (рекомендации ELN⁷). Во вторую группу вошли пациенты с ХМЛ ($n = 30$), достигшие цитогенетического ответа на терапию иматинибом (400 мг/сут) в течение 6–18 мес. лечения в соответствии с критериями ELN.⁷

Образцы венозной крови в количестве 10 мл доставлялись в лабораторию при температуре 4–8 °С в вакуумных пробирках с ЭДТА в течение 24 ч после забора крови. Общую РНК выделяли из крови хлороформ-фенольным методом по P. Chomczynski и N. Sacchi.¹⁹ Реакцию обратной транскрипции тотальной РНК в комплементарную ДНК (кДНК) проводили с использованием случайных гексамерных праймеров и M-MLV обратной транскриптазы. Для выделения РНК и ее обратной транскрипции в кДНК использовались наборы реагентов производства ООО «ГеноТехнология» (Россия).

Исследование мутаций гена *BCR-ABL* выполнено методом прямого секвенирования кДНК у 23 больных, входящих в группу рефрактерных к иматинибу пациентов, и у 30 пациентов с оптимальным ответом на терапию иматинибом.

Аmplификация интересующего фрагмента гена *BCR-ABL* проводилась в два этапа в соответствии с рекомендациями S. Branford и T. Hughes.²⁰ На первом этапе амплифицировали участок гена *BCR-ABL* с помощью праймеров BCR F — 5'- tga cca act cgt gtg tga aac tc -3' и ABL R — 5'- tcc act tcg tct gag ata ctg gat t -3'. На втором этапе из полученного фрагмента *BCR-ABL* амплифицировали участок гена *ABL* с помощью праймеров ABL F — 5'- cgc aac aag ccc act gtc t -3' и ABL R — 5'- tcc act tcg tct gag ata ctg gat t -3'. В результате амплификации получали фрагмент гена *ABL* длиной 863 пар оснований, кодирующий Р-петлю, С-спираль, область SH2-контакта, А-петлю. Реакции были выполнены в 20 мкл общего объема смеси, содержащей 7 мкл деионизированной воды (Sigma), 5 мкл (1–3 мкг) полученной кДНК, 4 мкл 5-кратного ПЦР-буфера, 15 ммоль магния хлорида, 0,3 мкл (5 ед./мкл) TaqF ДНК-полимеразы («ИнтерЛабСервис»), 2 мкл смеси дНТФ и по 1 мкл каждого праймера. Реакцию амплификации проводили при следующих условиях: 95 °С — 10 мин; 45 циклов: 95 °С — 15 с, 60 °С — 20 с, 72 °С — 120 с, 72 °С — 5 мин.

Реакция секвенирования полученного фрагмента гена *ABL* осуществлялась с помощью набора GenomeLab™ Methods Development Kit Dye Terminator Cycle Sequencing (Beckman Coulter, США) согласно протоколу производителе-

ля. Реакционная смесь для ДНК секвенирования включала 5,5 мкл Pre-mix, 1 мкл праймера ABL-F и 3,5 мкл очищенного ПЦР продукта. Секвенирование проводили по следующей схеме: 94 °C — 1 мин; 45 циклов: 94 °C — 15 с, 64 °C — 20 с, 60 °C — 60 с.

Аmplификацию и реакцию секвенирования анализируемых фрагментов проводили с помощью термоциклера BioRad PTC200 (BioRad Lab, США).

Определение нуклеотидной последовательности выполнялось с помощью автоматического секвенатора SEQ8000 (Beckman Coulter, США). Параметры проводимого электрофореза: вольтаж — 6 кВ, время — 60 мин, температура — 56 °C, время подъема температуры — 5 мин. Анализ полученных результатов проводили с помощью программного обеспечения для Beckman Coulter SEQ8000.

Статистическая обработка данных выполнялась с помощью программного обеспечения Excel и включала в себя определение медианы, максимальных и минимальных значений, средних величин. Для оценки достоверности различий применялись критерии χ^2 , Фишера, Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенного исследования в группе рефрактерных к иматинибу пациентов ($n = 23$) были обнаружены миссенс-мутации в 5 (21,7%) случаях, приводящие к замене 5 различных аминокислотных остатков (M244V, L248V, M351T, F359C, T315I) (рис. 1). У 2 пациентов была мутация L248V, у одного — мутация T315I, у 2 пациентов обнаружены компаунд-мутации (M244V + M351T, L248V + F359C).

Среди рефрактерных к иматинибу пациентов с выявленными мутациями гена BCR-ABL было 2 мужчин и 3 женщины. В группе рефрактерных пациентов, у которых не было обнаружено мутаций, было 9 мужчин и 9 женщин. При срав-

нении этих двух групп с использованием двустороннего критерия Фишера различий в соотношении полов не выявлено ($p > 0,05$).

Медиана возраста у рефрактерных пациентов с обнаруженными мутациями составила 43 года (32–54 года), у рефрактерных пациентов без мутаций — 40 лет (22–61 год). Статистически значимых различий при сравнении возраста этих двух групп не найдено ($p > 0,05$).

У 2 (40%) рефрактерных к иматинибу пациентов с мутациями гена BCR-ABL на момент начала терапии иматинибом диагностирована ранняя хроническая фаза, у 3 (60%) — поздняя хроническая фаза. В группе пациентов без мутаций на момент начала приема иматинибу у 8 (44%) диагностирована ранняя хроническая фаза, у 10 (56%) — поздняя. Использование двустороннего критерия Фишера не позволило выявить статистически достоверное преобладание больных с ранней или поздней хронической фазой в группах пациентов с мутациями и без них ($p > 0,05$).

Медиана продолжительности периода от момента постановки диагноза до начала терапии иматинибом в группе рефрактерных пациентов с обнаруженными мутациями составила 30,2 мес. (от 4 до 96 мес.); у пациентов без мутаций — 34 мес. (от 0 до 120 мес.). Различие между этими двумя группами по длительности периода с момента установления диагноза до начала терапии иматинибом статистически незначимо ($p > 0,05$).

Все 5 пациентов с обнаруженными мутациями с момента постановки диагноза до начала терапии иматинибом получали лечение препаратами гидроксимочевины, цитарабина. В группе пациентов без мутаций, рефрактерных к иматинибу, только 1 из 18 не получал предшествующей терапии. Статистически значимых различий по наличию или отсутствию предшествующего лечения между сравниваемыми группами также не выявлено ($p > 0,05$).

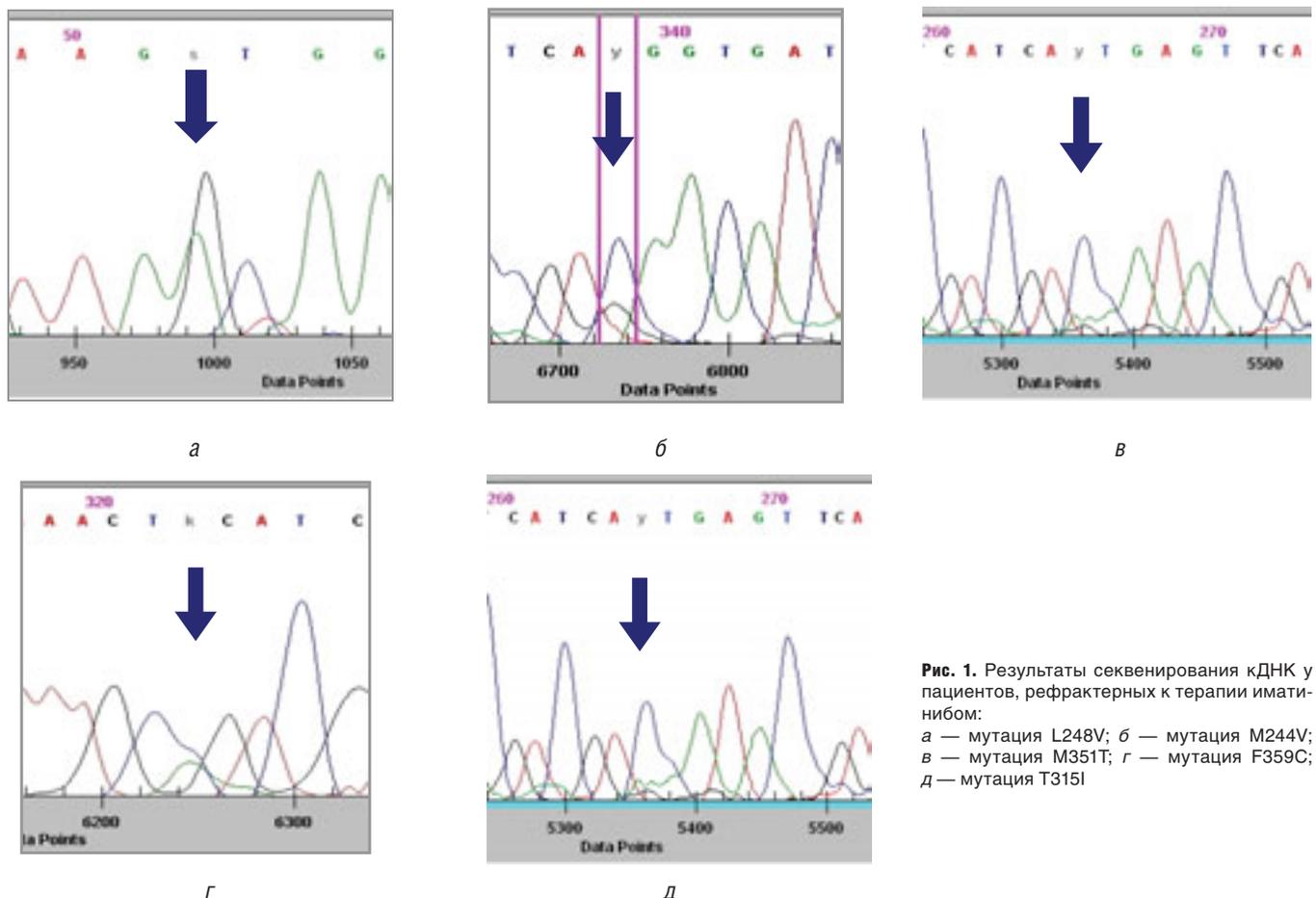


Рис. 1. Результаты секвенирования кДНК у пациентов, рефрактерных к терапии иматинибом:
 а — мутация L248V; б — мутация M244V;
 в — мутация M351T; г — мутация F359C;
 д — мутация T315I

Средняя суточная доза иматиниба за время наблюдения в группе пациентов с мутациями гена *BCR-ABL* составила 500 мг/сут. В группе пациентов, у которых мутации не были обнаружены, средняя суточная доза иматиниба была 420 мг/сут. При сравнении средней принимаемой дозы иматиниба за время наблюдения статистически значимых различий между этими двумя группами не выявлено ($p > 0,05$).

В случаях обнаружения мутаций медиана длительности заболевания с момента установления диагноза до момента проведения мутационного анализа составила 44 мес. в группе пациентов с обнаруженными мутациями гена *BCR-ABL* и 41 мес. — у больных ХМЛ без мутаций. Статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$) (табл. 1).

Медиана длительности терапии иматинибом на момент проведения мутационного анализа в группе пациентов с мутациями киназного домена гена *BCR-ABL* составила 17 мес. В группе пациентов, у которых мутационный анализ не подтвердил наличия мутаций, медиана длительности приема иматиниба — 13 мес. Сравнение длительности терапии иматинибом до момента проведения мутационного анализа в исследованных группах пациентов статистически значимых различий не выявило ($p > 0,05$).

Результаты сравнения группы пациентов с обнаруженными мутациями гена *BCR-ABL* и группы пациентов без мутаций обобщены в табл. 1.

В результате проведенного методом ДНК-секвенирования мутационного анализа в группе пациентов с полным цитогенетическим ответом к 6–18 мес. терапии иматинибом мутации киназного домена гена *BCR-ABL* не обнаружены ни у одного из пациентов.

Интерес представляет сравнение влияния различных факторов, предрасполагающих к появлению рефрактерно-

сти, в группах пациентов с рефрактерностью к терапии иматинибом и пациентов с оптимальным ответом на лечение иматинибом.

В группу рефрактерных к иматинибу пациентов входило 11 мужчин и 12 женщин, в группу с оптимальным ответом на терапию иматинибом — 14 мужчин и 16 женщин. При сравнении этих двух групп с использованием двустороннего критерия Фишера различий в соотношении полов не обнаружено ($p > 0,05$).

Медиана возраста в группе рефрактерных к иматинибу пациентов составила 43 года (22–61 год), в группе с оптимальным ответом на терапию иматинибом — 44,5 года (22–63 года). Сравнение возраста этих двух групп пациентов не выявило статистически значимых различий ($p > 0,05$).

Среди рефрактерных к иматинибу пациентов на момент начала терапии иматинибом 10 (43,5%) больных находились в ранней хронической фазе ХМЛ, 13 (56,5%) — в поздней. В группе пациентов с оптимальным ответом на терапию иматинибом на момент начала терапии иматинибом у 23 (77%) пациентов диагностирована ранняя хроническая фаза ХМЛ, у 7 (23%) — поздняя. Сравнение двух групп пациентов с использованием двустороннего критерия Фишера показало, что в группе пациентов с оптимальным ответом статистически достоверно превалировали пациенты в ранней хронической фазе ХМЛ ($p < 0,01$).

В группе рефрактерных к иматинибу пациентов средняя суточная доза иматиниба в течение наблюдаемого периода составила 430 мг, в группе с оптимальным ответом на терапию иматинибом — 415 мг. Статистически значимых различий при сравнении суточной дозы препарата в этих двух группах не выявлено ($p > 0,05$).

Медиана продолжительности периода с момента установления диагноза до начала терапии иматинибом у рефрактерных пациентов составила 32,2 мес. (0–120 мес.), в группе

Таблица 1. Сравнительная характеристика некоторых показателей у рефрактерных к иматинибу пациентов с выявленными миссенс-мутациями киназного домена гена *BCR-ABL* и у рефрактерных к иматинибу пациентов без мутаций

Показатель	Рефрактерные к иматинибу пациенты с мутациями киназного домена <i>BCR-ABL</i> ($n = 5$)	Рефрактерные к иматинибу пациенты без мутаций киназного домена <i>BCR-ABL</i> ($n = 18$)	p
Пол			
Мужской	2 (40%)	9 (50%)	$> 0,05$
Женский	3 (60%)	9 (50%)	
Возраст, годы			
Медиана	43	40	$> 0,05$
Диапазон	32–54	22–61	
Фаза ХМЛ			
Ранняя хроническая	2 (40%)	8 (44,4%)	$> 0,05$
Поздняя хроническая	3 (60%)	10 (55,6%)	
Продолжительность периода от постановки диагноза до начала терапии иматинибом, мес.			
Медиана	30,2	34,0	$> 0,05$
Диапазон	4–96	0–120	
Предшествующая терапия	5 (100%)	17 (94,4%)	$> 0,05$
Средняя суточная доза иматиниба, мг	500	420	$> 0,05$
Продолжительность периода от постановки диагноза до момента проведения мутационного анализа, мес.			
Медиана	44,0	41,0	$> 0,05$
Диапазон	13–120	1–120	
Длительность терапии иматинибом, мес.			
Медиана	17	13	$> 0,05$
Диапазон	10–24	1–39	

пациентов с оптимальным ответом — 9,38 мес. (0–39 мес.). Интервал времени с момента установления диагноза до начала терапии иматинибом в группе рефрактерных пациентов статистически достоверно больше, чем в группе пациентов с оптимальным ответом на терапию иматинибом ($p < 0,01$; 95%-й доверительный интервал 4,55–41,07).

В группе рефрактерных к иматинибу пациентов 22 (95,7%) больных до назначения иматиниба получали лечение гидроксимочевинной, цитарабином. Медиана длительности предшествующей лечению иматинибом терапии составила 32,4 мес. В группе с оптимальным ответом 21 (69%) пациент получал предшествующую терапию, медиана продолжительности которой составила 8,2 мес.; 9 (31%) больных лечились иматинибом непосредственно после установ-

ления диагноза. Статистический анализ показал достоверное различие между исследуемыми группами по длительности предшествующей терапии ($p < 0,05$; 95%-й доверительный интервал 6,038–42,36).

Медиана длительности лечения иматинибом у пациентов с рефрактерностью к этой терапии составила 19,6 мес. (12–48 мес.), у пациентов с оптимальным ответом на терапию иматинибом — 10,6 мес. (6–20 мес.). Статистически значимых различий между двумя исследуемыми группами по длительности терапии иматинибом не обнаружено ($p > 0,05$).

Результаты сравнения группы рефрактерных к терапии иматинибом пациентов и группы пациентов с оптимальным ответом на терапию иматинибом представлены в табл. 2.

Таблица 2. Сравнительная характеристика рефрактерных к иматинибу пациентов и пациентов с оптимальным ответом на лечение иматинибом

Показатель	Рефрактерные к иматинибу пациенты (n = 23)	Пациенты с оптимальным ответом на иматиниб (n = 30)	p
Пол			
Мужской	11 (47,8%)	14 (46,7%)	> 0,05
Женский	12 (52,2%)	16 (53,3%)	
Возраст, годы			
Медиана	43	44,5	> 0,05
Диапазон	22–61	22–63	
Фаза ХМЛ			
Ранняя хроническая	10 (43,5%)	23 (76,7%)	< 0,01
Поздняя хроническая	13 (56,5%)	7 (23,3%)	
Продолжительность периода от постановки диагноза до начала терапии иматинибом, мес.			
Медиана	32,2	9,3	< 0,01
Диапазон	0–120	0–39	
Предшествующая терапия	22 (95,7%)	21 (70,0%)	> 0,05
Средняя суточная доза иматиниба, мг	430	415	> 0,05
Длительность предшествующей иматинибу терапии, мес.			
Медиана	32,4	8,2	< 0,05
Диапазон	3–110	0–30	
Продолжительность периода от постановки диагноза до момента проведения мутационного анализа, мес.			
Медиана	42	12	> 0,05
Диапазон	12–48	7–48	
Длительность терапии иматинибом, мес.			
Медиана	19,6	10,6	> 0,05
Диапазон	12–48	6–20	

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного нами исследования у 23 пациентов, рефрактерных к терапии иматинибом, одна или две мутации были обнаружены у 5 (21,7%) больных. По данным Вассагани и соавт.,²¹ частота мутаций киназного домена гена BCR-ABL в разных группах пациентов с ХМЛ, имеющих первичную или вторичную резистентность к терапии иматинибом, колеблется от 14% в группе резистентных пациентов, начавших терапию иматинибом в ранней хронической фазе, до 83% при лимфоидном бластном кризе ХМЛ. В исследовании итальянской рабочей группы GIMEMA у пациентов с первичной резистентностью к иматинибу (n = 152) без учета

начала терапии иматинибом в ранней или поздней хронической фазах ХМЛ мутации были обнаружены в 30% случаев.¹⁷ Возможно, небольшие различия в наших данных обусловлены использованием авторами более чувствительного метода исследования мутационного статуса пациентов — денатурирующей высокоэффективной жидкостной хроматографии (дВЭЖХ) ДНК с последующим секвенированием выявленных мутантных аллелей. Чувствительность метода дВЭЖХ составляет 1–5%, тогда как чувствительность метода прямого ДНК секвенирования — 10–20%.

Однако, на наш взгляд, высокая чувствительность метода не всегда полезна в анализе мутаций гена BCR-ABL у клинически резистентных пациентов. Например, использование

метода дВЭЖХ позволяет выявить одну клетку с мутантной формой *BCR-ABL* среди 100 клеток, несущих дикий тип гена *BCR-ABL*. Едва ли можно представить, что при соотношении мутантных клеток с обычными лейкозными клетками 1:100 мутантные формы могут обуславливать резистентность к терапии иматинибом. Поэтому можно предположить, что в данном исследовании рабочей группы GIMEMA есть пациенты с клинически ничтожными (незначимыми) мутациями.

Следует заметить, что в более раннем и менее репрезентативном исследовании С. Roche-Lestienne и соавт.²² в результате анализа мутаций методом прямого секвенирования кДНК у первично-резистентных пациентов ($n = 24$) авторы обнаружили мутации всего лишь у 4 (16,6%) больных: у двух — мутацию T315I, у одного — M351T и у одного — F311L. Этот показатель частоты еще более низкий по сравнению с нашими данными, хотя из 24 иматиниб-резистентных пациентов у 16 диагностирована хроническая фаза, а у 8 — фаза акселерации, характеризующаяся повышенной частотой мутаций.

Менее объективная причина наших расхождений может относиться к проблеме комплаентности пациентов, получающих иматиниб. Естественно предположить, что если пациент не получал достаточную дозу иматиниба, достижение хорошего уровня ответа на проводимую терапию в соответствии с критериям ELN невозможно. Поэтому в группе рефрактерных пациентов не исключены псевдорезистентные, не имеющие мутаций. Тем не менее в нашем исследовании каких-либо данных о нарушении режима приема препарата больными ХМЛ, относящимися к группе рефрактерных к терапии иматинибом, мы не имеем.

Другой причиной расхождения может быть недостаточный объем выборки по сравнению с исследованием рабочей группы GIMEMA.

По данным S. Soverini и соавт.,¹⁷ наиболее частыми мутациями киназного домена гена *BCR-ABL* являются мутации M244V, G250E, Y253F/H, E255K/V, T315I, M351T и F359V, которые составляют 85% всех ассоциированных с резистентностью к иматинибу мутаций. В нашем исследовании рефрактерных к иматинибу пациентов обнаружено 4 из 7 мутаций (M244V, T315I, M351T, F359C), относящихся к этой, наиболее часто встречающейся группе, что составляет 57%. Это обусловлено частым обнаружением в нашем исследовании только одной мутации — L248V (3 из 7 обнаруженных мутаций).

По данным S. Branford и соавт.,⁹ мутации в локусе гена *BCR-ABL*, кодирующего Р-петлю, являются причиной высокой степени резистентности к иматинибу у пациентов с ХМЛ. В проведенном нами исследовании мутационного профиля гена *BCR-ABL* у рефрактерных к терапии иматинибом пациентов мутации Р-петли (M244V и 3 мутации L248V) были выявлены в 4 из 7 обнаруженных случаев мутаций, что составило 57%.

У одного из пациентов обнаружена мутация M244V (замена метионина в положении 244 на валин) и M351T (замена метионина на треонин в положении 351). Обе мутации, если встречаются изолированно, приводят к незначительному изменению чувствительности к иматинибу мутантной Vcr-Abl-киназы по сравнению с Abl-киназой дикого типа.^{10,23,24} По мнению A. Corbin и соавт.,²⁵ N. Shah и соавт.,¹⁰ S. Soverini и соавт.,²⁶ T. Ernst и соавт.,²⁷ ответ на терапию иматинибом может быть достигнут у резистентных пациентов с одиночными мутациями M244V и M351T назначением более высоких доз препарата. Однако данные T. O'Nage и соавт.,¹⁸ M. Deininger²⁸ четко указывают на необходимость использования ИТК второго поколения при обнаружении данных мутаций у резистентных пациентов. Сочетание мутаций M351T

и M244V у одного пациента было описано рядом исследователей.^{10,25} Естественно предположить, что две мутации потенцируют большую степень резистентности, чем одна мутация. Учитывая невозможность на момент исследования перевести пациента на терапию ИТК второго поколения (нилотиниб, дазатиниб), в данном случае рекомендовано повышение дозы иматиниба до 600–800 мг/сут.

В нашем исследовании у двух пациентов обнаружена мутация L248V, обуславливающая замену лейцина на валин в положении 248. Мутации, в которых участвует лейцин в положении 248, вызывают развитие высокого уровня резистентности, о чем свидетельствует повышение IC_{50} (inhibitor concentration 50%) в тесте на пролиферативную активность более чем в 30 раз.²⁹ При таком показателе IC_{50} трудно ожидать эффекта от эскалации дозы иматиниба у резистентных пациентов. Необходим переход на терапию ИТК второго поколения. В связи с этим один из пациентов с мутацией L248V был включен в клиническое исследование эффективности одного из препаратов второго поколения ИТК — nilотиниба (Тасигна, Novartis Pharma; исследование SAMN107A2109, руководитель Центра — профессор Ю. В. Шатохин).

У одного из рефрактерных к иматинибу пациентов выявлено две мутации: мутация L248V, описанная выше, и мутация F359C (замена фенилаланина на цистеин в положении 359). Мутация F359C вызывает слабое снижение чувствительности к иматинибу — в 1,8 и 2,8 раза в биохимическом и пролиферативном тестах соответственно. Действительно ли такого рода мутации, обуславливающие легкую степень снижения чувствительности к иматинибу в тестах *in vitro*, могут вызвать резистентность, неизвестно. Увеличение дозы иматиниба при изолированной мутации F359C и при других аналогичных по своему биологическому эффекту мутациях должно преодолевать резистентность.²⁵ Наиболее вероятно, что в нашем исследовании рефрактерность пациента с мутациями L248V + F359C обусловлена наличием мутации L248V.

В одном случае была подтверждена мутация T315I, приводящая к замене треонина в положении 315 на изолейцин. Мутация T315I вызывает практически полное отсутствие чувствительности к иматинибу и ИТК второго поколения, обуславливая высочайшую степень резистентности к современной терапии у больных ХМЛ.^{10,17,24-26,29,30} Пациенту с обнаруженной мутацией T315I в гене *BCR-ABL* была рекомендована трансплантация костного мозга.

В нашем исследовании не обнаружено статистически достоверных различий между группами рефрактерных пациентов с мутациями и без мутаций гена *BCR-ABL* по возрасту, полу, наличию ранней или поздней хронической фазы на момент начала терапии иматинибом, средней продолжительности периода от установления диагноза до начала терапии иматинибом, предлеченности, средней суточной дозе иматиниба и длительности терапии иматинибом. Таким образом, по нашим данным, исследованные факторы не влияют на появление мутаций гена *BCR-ABL* у рефрактерных к иматинибу пациентов.

Однако, если сравнить группу пациентов, рефрактерных к иматинибу, с группой пациентов, адекватно ответивших на терапию иматинибом, то с большей долей вероятности можно сказать, что формирование рефрактерности происходит преимущественно у больных ХМЛ, начавших терапию иматинибом в поздней хронической фазе и с длительным периодом от установления диагноза до начала терапии иматинибом и, как следствие, длительным периодом предшествующей иматинибу терапии (предлеченности).

По сути, формирование рефрактерности во многом зависит от того, как долго пациент с ХМЛ не получает иматиниба.

ниб в качестве основной линии терапии. Дело в том, что чем дольше лейкозные клетки находятся под воздействием Bcr-Abl-тирозинкиназы, тем больше риск появления мутаций гена *BCR-ABL*, дополнительных хромосомных aberrаций, прогрессии заболевания.^{9,31} Тирозинкиназа Bcr-Abl индуцирует геномную нестабильность посредством различных механизмов, включая оксидативный стресс.³² Активные формы кислорода, образующиеся в Bcr-Abl-трансформированных клетках, обладают стохастическим мутагенным свойством и вызывают мутации гена *BCR-ABL* и других генов, обуславливая резистентность пациентов к терапии иматинибом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного нами исследования выявлено, что мутации гена *BCR-ABL*, являющиеся в ответствии с общепризнанными данными литературы причиной резистентности к терапии иматинибом, обнаруживаются менее чем у 25% больных ХМЛ с первичной резистентностью к терапии иматинибом. 57% обнаруженных мутаций

гена *BCR-ABL* (4 из 7) относились к участку, кодирующему Р-петлю Bcr-Abl-тирозинкиназы.

Несмотря на невысокую частоту обнаружения мутаций у первично-рефрактерных к иматинибу пациентов по сравнению с вторично-резистентными, мутационный анализ необходим, поскольку выявление мутаций гена *BCR-ABL* позволяет выяснить причину резистентности, определить прогноз течения ХМЛ и зачастую позволяет рационализировать лечение ХМЛ. Например, выявление любой из клинически значимых мутаций киназного домена гена *BCR-ABL* предполагает повышение дозы иматиниба или переход на терапию ИТК второго поколения, выявление панрезистентной мутации T315I — поиски донора для трансплантации костного мозга.

Развитие рефрактерности ассоциировано с длительностью периода от установления диагноза ХМЛ до начала терапии иматинибом. В этой связи становится особенно очевидной клиническая значимость ранней диагностики и раннего начала терапии иматинибом для успешного лечения ХМЛ.

ЛИТЕРАТУРА

- Mughal T. I., Goldman J. M. Emerging strategies for the treatment of mutant Bcr-Abl T315I myeloid leukemia. Clin. Lymphoma Myeloma 2007 Mar; 7 (Suppl. 2): S81-4.
- Kantarjian H., Sawyers C., Hochhaus A. et al. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. N. Engl. J. Med. 2002; 346: 645-52.
- O'Brien S., Guilhot F., Larson R. et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. N. Engl. J. Med. 2003; 348: 994-1004.
- Goldman J., Melo J. Chronic myeloid leukemia—advances in biology and new approaches to treatment. N. Engl. J. Med. 2003; 349: 1451-64.
- Druker B. J., Guilhot F., O'Brien S. G. et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. N. Engl. J. Med. 2006; 355: 2408-17.
- Hochhaus A., Druker B. J., Larson R. A. et al. IRIS 6-Year Follow-Up: Sustained Survival and Declining Annual Rate of Transformation in Patients with Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase (CML-CP) Treated with Imatinib. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts) Nov 2007; 110: 25.
- Baccarani M., Saglio G., Goldman J. et al. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. Blood 2006; 108: 1809-20.
- Branford S., Rudzki Z., Walsh S. et al. High frequency of point mutations clustered within the adenosine triphosphate-binding region of BCR/ABL in patients with chronic myeloid leukemia or Ph-positive acute lymphoblastic leukemia who develop imatinib (STI571) resistance. Blood 2002; 99(9): 3472-5.
- Branford S., Rudzki Z., Walsh S. et al. Detection of BCR-ABL mutations in patients with CML treated with imatinib is virtually always accompanied by clinical resistance, and mutations in the ATP phosphate-binding loop (P-loop) are associated with a poor prognosis. Blood 2003; 102: 276-83.
- Shah N., Nicoll J., Nagar B. et al. Multiple BCR-ABL kinase domain mutations confer polyclonal resistance to the tyrosine kinase inhibitor imatinib (STI571) in chronic phase and blast crisis chronic myeloid leukemia. Cancer Cell 2002; 2: 117-25.
- Gambacorti-Passerini C., Gunby R., Piazza R. et al. Molecular mechanisms of resistance to imatinib in Philadelphia chromosome-positive leukemias. Lancet Oncol. 2003; 4: 75-85.
- Kreil S., Mueller M., Hanfstein B. et al. Management and clinical outcome of CML patients after imatinib resistance associated with ABL kinase domain mutations. Blood 2003; 102: 714.
- Shah N., Sawyers C. Mechanisms of resistance to STI571 in Philadelphia chromosome-associated leukemias. Oncogene 2003; 22: 7389-95.
- Al-Ali H., Heinrich M., Lange T. et al. High incidence of BCR-ABL kinase domain mutations and absence of mutations of the PDGFR and KIT activation loops in CML patients with secondary resistance to imatinib. Hematol. J. 2004; 5: 55-60.
- Hochhaus A., La Rosee P. Imatinib therapy in chronic myelogenous leukemia: strategies to avoid and overcome resistance. Leukemia 2004; 18: 1321-31.
- Jabbour E., Kantarjian H., Jones D. et al. Frequency and clinical significance of BCR-ABL mutations in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib mesylate. Leukemia. 2006 Oct; 20(10): 1767-73. Epub 2006 Jul 20.
- Soverini S., Colarossi S., Gnani A. et al. Contribution of ABL kinase domain mutations to imatinib resistance in different subsets of Philadelphia-positive patients: by the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia. Clin. Cancer Res. 2006; 12(24): 7374-9.
- O'Hare T., Eide C. A., Deininger M. Bcr-Abl kinase domain mutations, drug resistance, and the road to a cure for chronic myeloid leukemia. Blood 2007; 110(7): 2242-9.
- Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. Anal. Biochem. 1987 Apr; 162(1): 156-9.
- Branford S., Hughes T. Diagnosis and monitoring of chronic myeloid leukemia by qualitative and quantitative RT-PCR. Methods Mol. Med. 2006; 125: 69-92.
- Baccarani M., Pane F., Saglio G. Monitoring treatment of chronic myeloid leukemia. Haematologica 2008; 93(2): 161-7.
- Roche-Lestienne C., Soenen-Cornu V., Grardel-Duflos N. et al. Several types of mutations of the Abl gene can be found in chronic myeloid leukemia patients resistant to STI571, and they can pre-exist to the onset of treatment. Blood 2002; 100: 1014-8.
- Hochhaus A., Kreil S., Corbin A. et al. Molecular and chromosomal mechanisms of resistance to imatinib (STI571) Therapy. Leukemia 2002; 16: 2190-6.
- O'Hare T., Walters D., Stoffregen E. et al. In vitro activity of Bcr-Abl inhibitors AMN107 and BMS-354825 against clinically relevant imatinib-resistant Abl kinase domain mutants. Cancer Res. 2005; 65: 4500-5.
- Corbin A., La Rosee P., Stoffregen E. et al. Several BCR-ABL kinase domain mutants associated with imatinib mesylate resistance remain sensitive to imatinib. Blood 2003; 101(11): 4611-4.
- Soverini S., Martinelli G., Rosti G. et al. ABL mutations in late chronic phase chronic myeloid leukemia patients with up-front cytogenetic resistance to imatinib are associated with a greater likelihood of progression to blast crisis and shorter survival: a study by the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia. J. Clin. Oncol. 2005; 23: 4100-9.
- Ernst T., Erben P., Mller M. et al. Dynamics of BCR-ABL mutated clones prior to hematologic or cytogenetic resistance to imatinib. Haematologica 2008; 93(2): 186-92.
- Deininger M., Buchdunger E., Druker B. The development of imatinib as a therapeutic agent for chronic myeloid leukemia. Blood 2005; 105(7): 2640-53.
- Burgess M., Skaggs B., Shah N. et al. Comparative analysis of two clinically active BCR-ABL kinase inhibitors reveals the role of conformation-specific binding in resistance. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2005; 102: 3395-400.
- Gorre M., Mohammed M., Ellwood K. et al. Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification. Science 2001; 293: 876-80.
- Willis S. G., Lange T., Demehri S. et al. High-sensitivity detection of BCR-ABL kinase domain mutations in imatinib-naive patients: correlation with clonal cytogenetic evolution but not response to therapy. Blood 2005; 106(6): 2128-37.
- Sattler M., Verma S., Shrikhande G. et al. The BCR/ABL tyrosine kinase induces production of reactive oxygen species in hematopoietic cells. J. Biol. Chem. 2000; 275(32): 24273-8.

Оценка интенсивности флюоресценции методом проточной цитометрии: методические аспекты внедрения в диагностику онкогематологических заболеваний

А. В. Куртова [1,2], Е. Б. Русанова [1], Е. Е. Зуева [1]

РЕФЕРАТ

Fluorescence intensity assessment in flow cytometry: practical guidelines for diagnostics in oncohematology

A. V. Kurtova [1,2], Ye. B. Rusanova [1], Ye. E. Zueva [1]

SUMMARY

Assessment of marker's fluorescence intensity is an important step in analysis of transformed cells as a part of flow cytometry diagnostics in oncohematology. Reliability of the results obtained is strongly dependent upon the process of data collection and analysis. This work is focused on the methodological points important for the assessment of fluorescence intensity in routine flow cytometry diagnostics of oncohematological disorders and can be mostly interesting for experienced flow cytometry specialists.

Keywords:

fluorescence intensity, flow cytometry, diagnostics in oncohematology.

[1] Center for Laboratory Diagnostics, Pavlov State Medical University, St.-Petersburg

[2] Leukemia Department, M.D. Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA

Контакты: immunology.spbgmu@gmail.com

принято в печать: 3 октября 2008 г.

Оценка интенсивности флюоресценции маркера представляет собой важный компонент анализа трансформированных клеток при диагностике онкогематологических заболеваний методом проточной цитометрии. Достоверность полученных результатов во многом зависит от соблюдения определенных правил при сборе и анализе данных. Представленная работа посвящена методическим аспектам учета интенсивности флюоресценции в рамках диагностики онкогематологических заболеваний методом проточной цитометрии в лечебно-профилактических учреждениях и ориентирована на опытных врачей клинической лабораторной диагностики.

Ключевые слова

интенсивность флюоресценции, проточная цитометрия, диагностика онкогематологических заболеваний.

Оценка иммунофенотипического профиля трансформированных клеток является одним из базовых компонентов диагностики онкогематологических заболеваний. Антигенный профиль, позволяющий дифференцировать нормальные и трансформированные клетки, может быть успешно идентифицирован при помощи окрашивания с использованием меченых моноклональных антител. Классическая многоцветная проточная цитометрия в подавляющем большинстве случаев проводит границу между позитивными и негативными клетками, реже применяя более дифференцированную оценку позитивности в зависимости от яркости флюоресценции с выделением популяций *dim* и *bright*. Активное развитие метода проточной цитометрии позволило значительно расширить возможности более детальной оценки показателей флюоресценции.

В последнее время анализу интенсивности флюоресценции маркеров уделяют особое внимание именно в онкогематологии по двум причинам. Во-первых, интенсивность флюоресценции (ИФ) напрямую отражает степень

экспрессии определенных молекул, имеющих диагностическую ценность. Поэтому учет ИФ позволяет расширить характеристику трансформированных клеток и выйти за пределы дихотомического анализа позитивности/негативности. Во-вторых, достаточно острой проблемой в диагностике онкогематологических заболеваний является определение границы позитивности окрашивания. Относительное содержание (процентное выражение количества) позитивных клеток среди всех анализируемых событий, безусловно, оправдано в случае дискретного разделения целевой популяции (например, учет CD34+ гемопоэтических стволовых клеток в трансплантате среди всех CD45-позитивных клеток). Тем не менее определение процента позитивных клеток бывает затруднено и невоспроизводимо во многих клинически значимых ситуациях, например:

- при градиентной экспрессии маркера, в частности маркеров миелоидного направления дифференцировки при восстановлении костного мозга после химиотерапии или при трансформации мие-

[1] Центр лабораторной диагностики СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург

[2] Leukemia Department M. D. Anderson Cancer Center, Хьюстон, шт. Техас, США

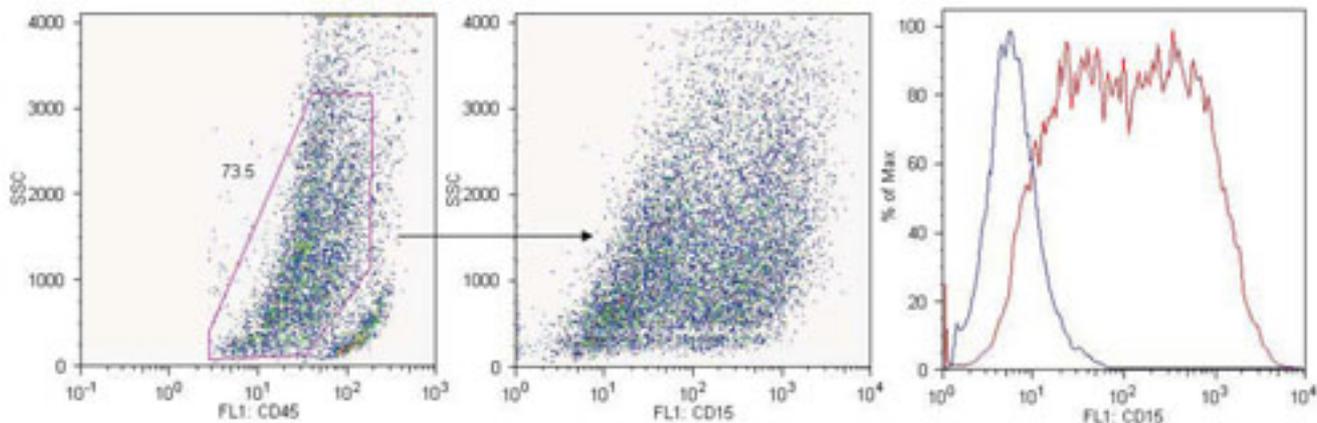


Рис. 1. Градиентная экспрессия маркера. При исследовании клеточного состава костного мозга больного с миелодиспластическим синдромом в стадии трансформации на гистограмме CD45/SSC основную массу событий составляют клетки с промежуточным уровнем экспрессии CD45, не формирующие отчетливого кластера по уровню гранулярности и представляющие собой трансформированные миелоидные клетки. Уровень экспрессии CD15 внутри данной популяции может быть расценен как градиентный, что подтверждается на одномерной гистограмме уровня экспрессии CD15, где синим обозначен уровень негативного контроля для данной популяции, а красным — уровень экспрессии CD15

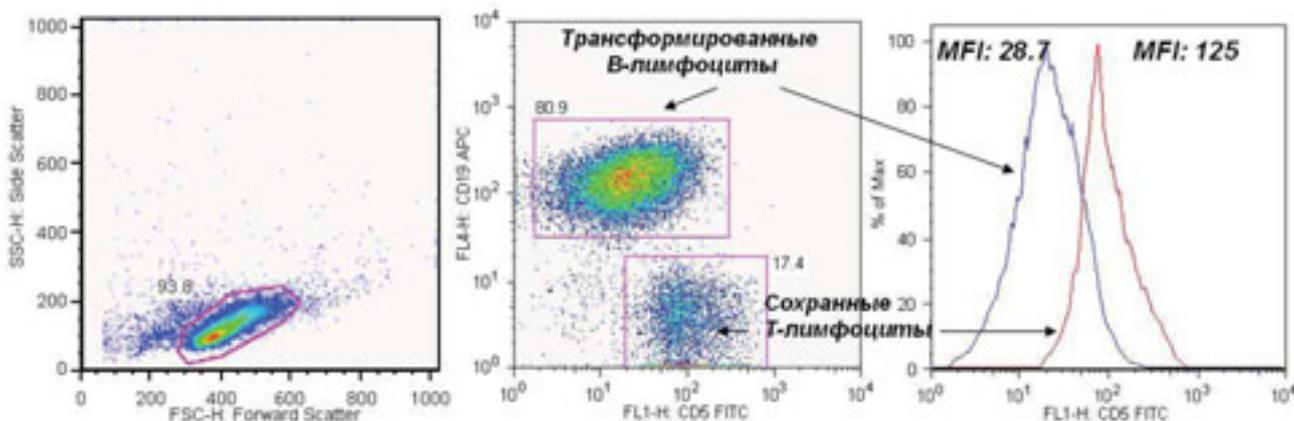


Рис. 2. Одновременная экспрессия маркера на сохраненных и трансформированных клетках. Фрагмент анализа мононуклеарной фракции периферической крови пациента с верифицированным В-клеточным хроническим лимфолейкозом (В-ХЛЛ). На гистограмме параметров светорассеяния (FSC/SSC) представлена преобладающая лимфоидная популяция. На гистограмме CD5/CD19 можно четко выделить две популяции: минорная популяция сохраненных Т-лимфоцитов, негативных по CD19, и преобладающая популяция позитивных по CD19 трансформированных В-лимфоцитов. Несмотря на различный уровень экспрессии CD5, обе популяции могут быть расценены как CD5-положительные. На одномерной гистограмме уровня экспрессии CD5 синим цветом обозначен уровень экспрессии маркера на трансформированных CD5+CD19+ В-лимфоцитах, а красным — уровень экспрессии маркера на Т-лимфоцитах CD5+CD19– (MFI — mean fluorescence intensity, средняя ИФ)

лодиспластического синдрома в острый миелобластный лейкоз (рис. 1);

- при совместном анализе сохраненных и трансформированных клеток, экспрессирующих один и тот же маркер, например aberrant expression CD5 при В-клеточных хронических лимфопролиферативных заболеваниях (рис. 2) или CD4 — при острых монобластных лейкозах.

В таких ситуациях оценка ИФ становится оптимальным решением для получения достоверных и воспроизводимых результатов.¹

Теоретической основой данного подхода является определение ИФ как доли общего излучения, испускаемого при возбуждении флюорохрома лазером проточного цитометра.² ИФ является объективным свойством меченных флюорохромом частиц и пропорциональна количеству испускаемых за единицу времени фотонов. Определение ИФ в абсолютных единицах, тем не менее, достаточно затруднительно в рутинной практике, поскольку полностью зависит от учета и обработки сигнала флюоресценции, на которые оказывает влияние множество внешних факторов. В связи с этим для диагностических целей более обоснована относительная оценка ИФ.

Возможность относительной оценки ИФ, как правило, является базовой опцией программного обеспечения практически всех проточных цитометров. ИФ может быть отра-

жена в виде одномерных гистограмм флюоресценции, разделенных на фиксированное число каналов (64, 128, 256, 512 или 1024). События, попадающие в самый низкий канал, обладают самым слабым сигналом, а события в самых высоких каналах — самым выраженным сигналом. Для адекватной оценки всех исследуемых популяций установки проточного цитометра (особенно на фотоумножителях) подбирают таким образом, чтобы все события (в т. ч. и целевая популяция) располагались между самым низким и самым высоким каналами.

Корректно выбранное пространство анализа в значительной степени влияет на правильность интерпретации полученных данных. Теоретически пространство гистограммы (рис. 3) при анализе должно быть разделено на четыре основных части:

- *background* (фон) (содержит клетки, негативные по учитываемому маркеру, и дебрис — фрагменты эритроцитов, возникающие в процессе пробоподготовки, а также остатки разрушенных клеток);
- *dim* (содержит клетки с низким уровнем экспрессии целевого маркера);
- *moderate* (содержит клетки с промежуточным уровнем экспрессии целевого маркера);
- *bright* (содержит клетки с ярким уровнем экспрессии учитываемого маркера).

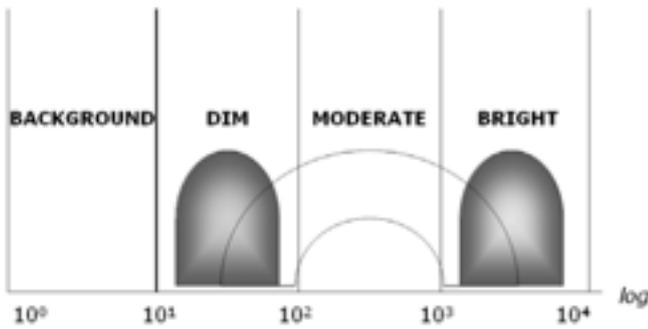


Рис. 3. Пространство анализа для оценки интенсивности флюоресценции. Выделение четырех областей анализа во многом является условным и служит, прежде всего, для контроля правильности подобранных для анализа установок: так, в случае чрезвычайно яркой экспрессии целевого маркера (например, CD138 при множественной миеломе) популяция клеток может лишь частично отображаться в bright-части гистограммы и, следовательно, требует корректировки напряжения на фотоумножителе в сторону снижения

Важным аспектом при анализе ИФ является оценка аутофлюоресценции. Степень аутофлюоресценции оказывает значительное влияние на интерпретацию результатов, в частности при низкой интенсивности экспрессии целевого маркера. Особое внимание данному вопросу необходимо уделять при работе с высоко активированными лимфоцитами, гранулоцитами (в частности, эозинофилами при иммунофенотипировании гиперэозинофильного синдрома), при диагностике острых миелобластных лейкозов (особенно, промиелоцитарного) и хронических лимфопролиферативных заболеваний с присутствием ворсинчатых лимфоцитов (рис. 4).

Правильность наложения компенсаций также чрезвычайно важна для корректного учета ИФ. Отсутствие или неверное наложенные компенсации могут приводить к искажению показателей ИФ.

С внедрением в диагностическую практику проточных цитометров, позволяющих использовать окрашивание с 4–6 флюорохромами, отдельной проблемой стал подбор оптимальной комбинации флюорохромов для учета ИФ.³ Максимальная чувствительность необходима для учета таких антигенов, уровень экспрессии которых является ожидаемо низким (например, CD5 при В-клеточных хронических лимфопролиферативных заболеваниях) либо количество экспрессирующих его клеток ожидаемо мало (например, учет CD56 при оценке минимальной остаточной болезни в случае множественной миеломы). Такие маркеры следует анализи-

ровать с использованием антител, конъюгированных с фикоэритрином (PE), фикоэритриновыми тандемами либо с аллофикоцианином. Важно помнить, что яркие маркеры в таком случае не следует учитывать с использованием флюорохромов, имеющих спектральное перекрытие с флюорохромом, выбранным для обеспечения высокой чувствительности. В случае фикоэритрина критичным является учет ярко экспрессируемых маркеров с использованием в качестве флюорохромов флюоресцеинизотиоцианата (FITC) или фикоэритриновых тандемов.

Фикоэритрин — предпочтительный флюорохром для оценки ИФ, поскольку в его конъюгатах соотношение флюорохром/белок составляет 1:1, что позволяет напрямую соотносить ИФ с плотностью экспрессии маркера. В случае использования диагностических моноклональных антител, конъюгированных с флюорохромами в другом соотношении, расчет ИФ должен быть проведен с соответствующей поправкой для корректного отображения связи между ИФ и количеством связанных антител.^{4,5}

Внедрение в практику препаратов целевого действия на основе моноклональных антител (анти-CD20, анти-CD52, анти-CD33 и др.) делает чрезвычайно востребованным исследование ИФ данных молекул на поверхности трансформированных клеток при диагностическом иммунофенотипировании для прогнозирования возможной эффективности терапии.^{6,7} В связи с тем, что экспрессия указанных молекул не ограничена трансформированными клетками, а может присутствовать и на нормальных клетках, особое внимание уделяется стратегии гейтирования целевой популяции. Якорные антитела, используемые для гейтирования, не должны влиять на ИФ целевого маркера. Как было указано выше, необходимо тщательно подбирать комбинации флюорохромов для обеспечения максимальной чувствительности анализа. Альтернативным решением может быть применение подхода к гейтированию методом исключения (в частности, использование CD3 при В-клеточных хронических лимфопролиферативных заболеваниях). Ограничения по использованию флюорохромов при оценке *dim*-экспрессии могут быть значительно сглажены в случае анализа экспрессии маркеров на различных клеточных популяциях. Так, CD3 экспрессируется на Т-лимфоцитах, а CD20 — на превалирующей популяции В-лимфоцитов, поэтому в данной ситуации возможно использование подобной (CD3-FITC/CD20-PE) комбинации даже на каналах с перекрытием спектров.

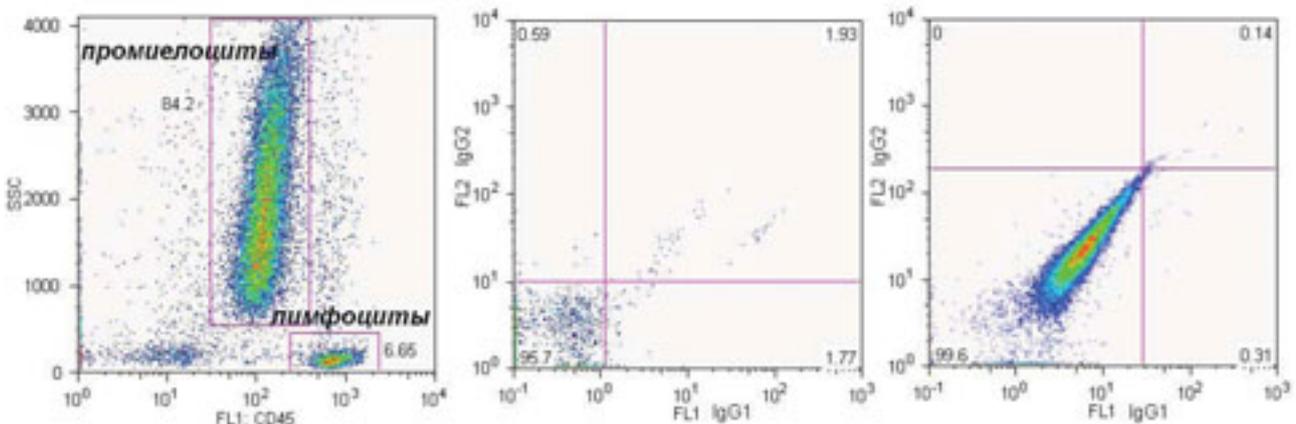


Рис. 4. Определение уровня аутофлюоресценции при остром промиелоцитарном лейкозе. Фрагмент анализа клеточного состава костного мозга больного с верифицированным острым промиелоцитарным лейкозом, подтвержденным наличием сбалансированной транслокации t(15;17). На первой гистограмме (CD45/SSC) отчетливо выявляется кластер клеток с низким уровнем гранулярности и высоким уровнем CD45, т. е. соответствующих лимфоцитам. Основную массу событий (84,2%) составляют клетки с высоким уровнем гранулярности и сниженным по сравнению с лимфоцитами уровнем экспрессии CD45. Для каждой из описанных популяций определен уровень аутофлюоресценции: на второй гистограмме показан уровень аутофлюоресценции лимфоцитов, на третьей — высокогранулярных клеток, морфология которых соответствует промиелоцитам. Дальнейший анализ экспрессии маркеров миелоидного ряда и HLA-DR был проведен с учетом уровня аутофлюоресценции промиелоцитов и позволил подтвердить типичный для данного заболевания иммунофенотип

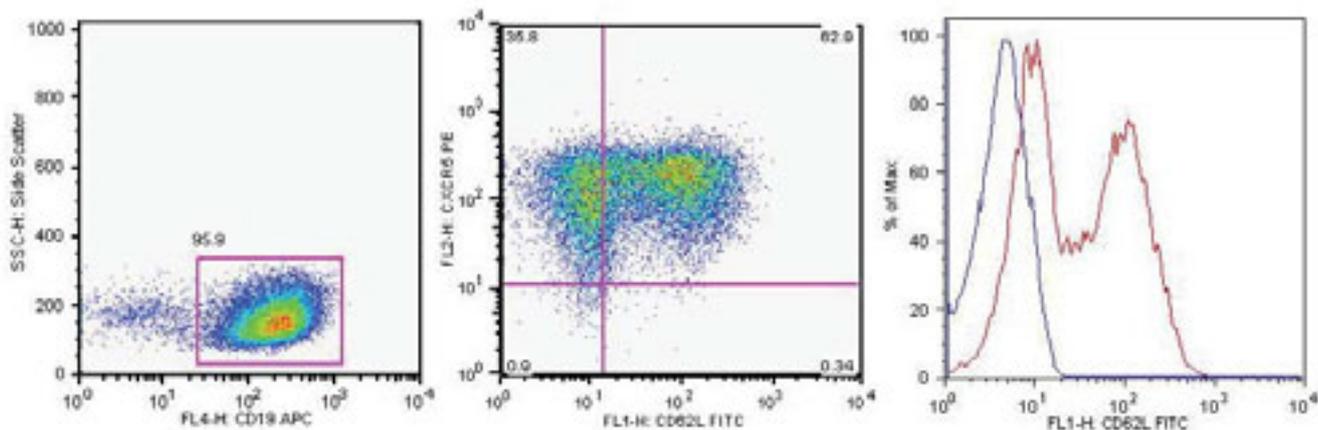


Рис. 5. Бимодальное распределение. Фрагмент анализа клеточного состава фракции мононуклеаров периферической крови больного с верифицированным В-ХЛЛ. Несмотря на гомогенный уровень экспрессии В-ассоциированных маркеров CD19 и CXCR5, по уровню экспрессии CD62L трансформированные В-лимфоциты могут быть разделены на две популяции: негативные и позитивные по CD62L. На основании этого на третьей гистограмме представлены две кривые: унимодальная кривая изотипического контроля (синий цвет) и бимодальная кривая экспрессии CD62L (красный цвет). Сохранность экспрессии CD62L трансформированными лимфоцитами при В-ХЛЛ сейчас рассматривается как позитивный прогностический критерий

При клинических исследованиях оценки эффективности препарата часто возникает необходимость сопоставления ИФ определенного маркера между различными образцами. Для корректного сравнения необходимо соблюдать несколько условий.

Во-первых, форма распределения ИФ должна быть сопоставима. Бимодальное (рис. 5), мультимодальное, асимметричное распределение искажают данные ИФ, что требует изменения стратегии гейтирования для выделения популяций с гомогенной экспрессией маркера.

Подобные трудности могут возникать в случае анализа биклональных лейкозов, миеломонобластных лейкозов, когда популяция бластов представлена несколькими клонами.

Вторым условием является неизменность настроек прибора при учете средней ИФ в различных образцах, анализ которых разнесен во времени. Помимо сохранения установок анализа можно также использовать подход по анализу экспрессии якорных маркеров на остаточных сохранных лимфоцитах в качестве внутрилабораторного биологического контроля.⁸

Сбор сопоставимого количества событий внутри гейта, ограничивающего целевую популяцию, является третьим важным аспектом для проведения сопоставлений. Особенно это важно при анализе образцов, где содержание бластов невелико (миелодиспластические синдромы в фазе трансформации), а также при выраженной цитопении на момент диагностики.

Определение относительной ИФ обладает значительной информативностью именно при диагностике онкогематологических заболеваний. В ряде случаев идентификация трансформированных клеток возможна за счет того, что яркость экспрессии целевого маркера на них отлична от нормальных клеток (рис. 6).

Более того, оценка ИФ определенных маркеров позволяет субклассифицировать некоторые заболевания в условиях использования ограниченной панели реагентов: в частности, CD20^{dim/moderate} позволяет идентифицировать В-ХЛЛ, аномальный CD20^{bright} — В-клеточные неходжкинские лимфомы, отличные от ХЛЛ.⁶ Анализ ИФ CD19 также может быть использован для дифференциальной диагностики В-клеточных лимфом маргинальной зоны с атипичной морфологией и CD10-негативной фолликулярной лимфомы: для лимфом маргинальной зоны характерен значительно более яркий уровень экспрессии CD19 при сопоставимом уровне экспрессии CD20.⁹

Лимфома мантийной зоны во многих случаях также представляет собой сложную диагностическую задачу, по-

скольку отсутствие экспрессии CD23 не всегда сопутствует данному заболеванию, что приводит к постановке ошибочного диагноза В-ХЛЛ. Вагна и соавт. показали, что ИФ CD23 более 44,5 единиц флюоресценции строго ассоциирована с диагнозом В-ХЛЛ, тогда как при более низком уровне экспрессии CD23 должно быть дополнительно назначено исследование наличия транслокации t(11;14) для исключения лимфомы мантийной зоны.¹⁰

Оценка ИФ CD45 может быть использована для подтверждения диагноза при первичном иммунофенотипировании В-клеточных хронических лимфопролиферативных за-

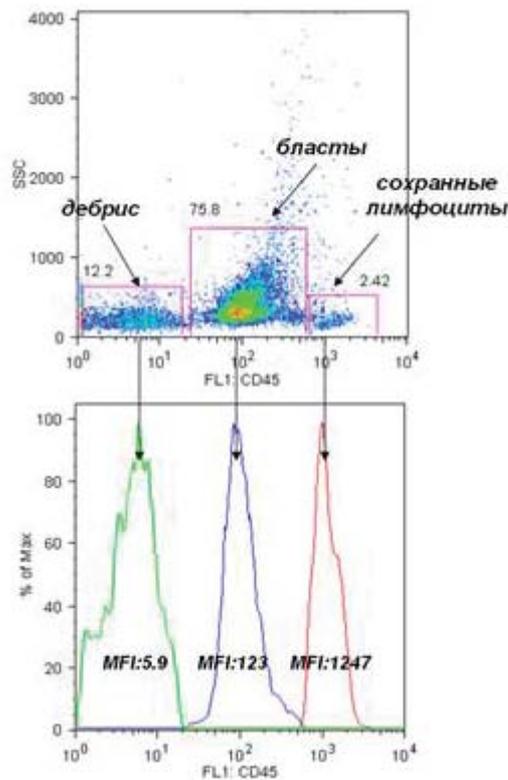


Рис. 6. Оценка интенсивности флюоресценции CD45 для идентификации трансформированных клеток при диагностике острого лейкоза. Сниженный уровень экспрессии CD45 позволяет надежно разделять популяции трансформированных клеток и сохранных лимфоцитов при диагностике острых лейкозов. Средняя ИФ (СИФ) по CD45 дебриса и негативных событий, входящих в данную ситуацию в одну популяцию, соответствует 5,9. СИФ сохранных лимфоцитов больше 1000. Промежуточное положение занимают трансформированные клетки, бласты, СИФ которых незначительно больше 100. На основании СИФ CD45 среди клеток низкого уровня гранулярности четко выявлены сохранные лимфоциты, негативный по CD45 дебрис и трансформированные клетки, бласты

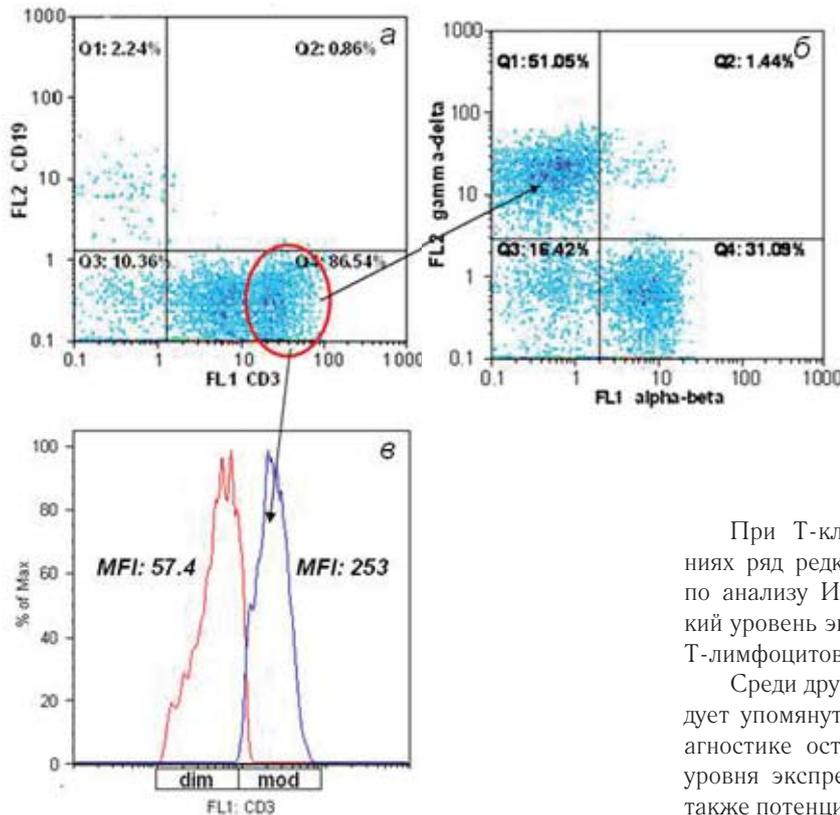


Рис. 7. Анализ интенсивности флюоресценции CD3 при хроническом лимфопролиферативном заболевании. При первичном скрининге образца костного мозга были выявлены относительно Т-клеточный лимфоцитоз (а) и разделение популяции CD3+ Т-лимфоцитов по уровню экспрессии CD3 (в), что позволило предположить наличие лимфомы из Т-лимфоцитов с гамма-дельта формой Т-клеточного рецептора, подтвержденной позднее при анализе Т-клеточных рецепторов (б)

болеваний: так, наиболее низкий уровень экспрессии CD45 характерен для В-ХЛЛ, относительно низкий — для лимфомы мантийной зоны, промежуточный — для лимфомы маргинальной зоны, пролимфоцитарного лейкоза и фолликулярной лимфомы. Наиболее яркий уровень экспрессии CD45 характерен для волосатоклеточного лейкоза, а также для лимфомы мантийной зоны с экспрессией CD23 и В-ХЛЛ с атипичной морфологией.¹¹

Определенные цитогенетические нарушения при В-ХЛЛ также связаны с различным уровнем экспрессии маркеров, используемых в рутинной диагностике. Трисомия по хромосоме 12 ассоциирована с более ярким уровнем экспрессии CD19, CD20 и CD79b по сравнению с образцами В-ХЛЛ без цитогенетических нарушений; del(13q) — с более ярким уровнем экспрессии CD20, FMC7 и CD5; del(11q) — с ярким уровнем экспрессии CD38, FMC7 и CD25.¹²

При Т-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях ряд редких патологий может быть идентифицирован по анализу ИФ поверхностного CD3 (в частности, высокий уровень экспрессии CD3 при лимфоме из гамма-дельта Т-лимфоцитов) (рис. 7).

Среди других возможных приложений анализа ИФ следует упомянуть выделение прогностических групп при диагностике острых миелобластных лейкозов на основании уровня экспрессии CD34, CD117, CXCR4 (CD184),^{13,14} а также потенциальную ценность при дифференциальной диагностике зрелых миелопролиферативных заболеваний.¹⁵

Таким образом, оценка ИФ — достаточно важный компонент анализа, необходима при диагностике онкогематологических заболеваний и может быть внедрена в рутинную практику без дополнительных финансовых вложений, но при соблюдении следующих условий:

- тщательный подбор комбинации используемых антител;
- стабильная чувствительность и обязательная калибровка проточного цитометра;
- включение в анализ только репрезентативных популяций клеток с правильно наложенными логическими ограничениями;
- корректные компенсации;
- правильная статистическая обработка данных и сбор достаточного количества событий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wells D. A., Loken M. R. Flow cytometric mean fluorescence intensity: the biophysics behind the number. *Leuk. Res.* 2008; 32: 845–6.
2. Henderson L. O., Marti G. E., Gaigalas A. et al. Terminology and nomenclature for standardization in quantitative fluorescence cytometry. *Cytometry* 1998; 33: 97–105.
3. Maecker H. T., Frey T., Nomura L. E., Trotter J. Selecting fluorochrome conjugates for maximum sensitivity. *Cytometry Part A* 2004; 62A: 169–73.
4. Schwartz A., Marti G. E., Poon R. et al. Standardizing flow cytometry: a classification system of fluorescent standards used for flow cytometry. *Cytometry* 1998; 33: 106–14.
5. Gratama J., d'Hautcourt J. L., Mandy F. et al. Flow cytometry quantitation of immunofluorescence intensity: problems and perspectives. *Cytometry* 1998; 33: 166–78.
6. Delgado J., Matutes E., Morilla A. et al. Diagnostic significance of CD20 and FMC7 expression in B-cell disorders. *Am. J. Clin. Pathol.* 2003; 120: 754–9.
7. Klabusay M., Sukova V., Coupek P. et al. Different levels of CD52 antigen expression evaluated by quantitative fluorescence cytometry are detected on B-lymphocytes, CD34+ cells and tumor cells of patients with chronic B-cell lymphoproliferative diseases. *Cytometry Part B* 2007; 72B: 363–70.
8. Ratei R., Karawajew L., Lacombe F. et al. Normal lymphocytes from leukemic samples as an internal quality control for fluorescence intensity in immunophenotyping of acute leukemias. *Cytometry Part B* 2006; 70: 1–9.
9. Kost C. B., Holden J. T., Mann K. P. Marginal zone B-cell lymphoma: A retrospective immunophenotypic analysis. *Cytometry Part B* 2008: In Press.
10. Barna G., Reiniger L., Tatrai P. et al. The cut-off levels of CD23 expression in the differential diagnosis of MCL and CLL. *Hematol. Oncol.* 2008: In Press.
11. Carulli G., Cannizzo E., Zucca A. et al. CD45 expression in low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *Leuk. Res.* 2008; 32: 263–7.
12. Quijano S., Lopez A., Rasillo A. et al. Impact of trisomy12, del(13q), del(17p) and del(11q) on the immunophenotype, DNA ploidy status, and proliferative rate of leukemic B-cells in chronic lymphocytic leukemia. *Cytometry Part B* 2008; 74B: 139–49.
13. Advani A. S., Rodriguez C., Jin T. et al. Increased C-kit intensity is a poor prognostic factor for progression-free and overall survival in patients with newly diagnosed AML. *Leuk. Res.* 2008: In Press.
14. Spoo A., Lubbert M., Wierda W., Burger J. CXCR4 is a prognostic marker in acute myelogenous leukemia. *Blood* 2007; 109: 786–91.
15. Wood B. L. Myeloid malignancies: myelodysplastic syndromes, myeloproliferative disorders, and acute myeloid leukemia. *Clin. Lab. Med.* 2007; 27: 533–49.

Бортезомиб (Велкейд) в индукционной терапии множественной миеломы

С. С. Бессмельцев [1], Л. В. Стельмашенко [1], Е. В. Карягина [2],
Н. В. Степанова [3], Е. Р. Мачюлайтене [3], Г. Н. Салогуб [3], Л. М. Матюхина [4],
А. С. Низамутдинова [5], О. Я. Костина [4], К. М. Абдулкадыров [1]

РЕФЕРАТ

Bortezomib (Velcade) for initial treatment of multiple myeloma

S. S. Bessmeltsev [1], L. V. Stelmashenko [1],
E. V. Kariagina [2], N. V. Stepanova [3],
E. R. Machulaitene [3], G. N. Salogub [3],
L. M. Matuhina [4], A. S. Nisamutdinova [5],
O. Ya. Khostina [4], K. M. Abdulkadyrov [1]

SUMMARY

We used the bortezomib (velcade) plus dexamethasone (VD) or velcade plus MP (VMP) in 27 previously untreated patients with multiple myeloma. The patients had a median age of 68 years (range 45–81 years). For patients who received bortezomib plus dexamethasone the overall response rate was 64.7%; 35.4% patients achieved CR. The median duration of the CR was 10.8 ± 3.8 months. For patients who received velcade plus MP the overall response rate was 60%; 30% patients achieved CR. VD and VMP may overcome the poor prognostic impact of various factors, particularly elevated β_2 -microglobulin or lactate dehydrogenase levels, advanced age, bone marrow plasma cell infiltration 40% or more. A case of solitary plasmacytoma of the lung is presented. We used VMP. At present the patient is well. Side effects were predictable and manageable. The most common adverse events reported were asthenia, neuropathy, neutropenia and anemia. Serious adverse events were rare. These results establish VMP as a new standard of care in elderly untreated patients with multiple myeloma. VD is highly active and well tolerated in young patients (< 65 years) with newly diagnosed multiple myeloma.

Keywords:

bortezomib (Velcade), multiple myeloma, initial treatment, complete remission, neuropathy.

[1] Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St.-Petersburg

[2] City Hospital 15, St.-Petersburg

[3] St. Petersburg State Pavlov Medical University

[4] Road Clinic Hospital, St.-Petersburg

[5] Alexandrovsky Hospital, St.-Petersburg

Контакты: bsshem@hotmail.com

Принято в печать: 1 октября 2008 г.

Для лечения 27 больных с впервые выявленной множественной миеломой использован бортезомиб (Велкейд) в сочетании с дексаметазоном (VD) или Велкейд + МР (VMP). Медиана возраста больных составила 68 лет (45–81 год). При применении бортезомиба в сочетании с дексаметазоном положительный ответ был получен в 64,7% случаев, в т. ч. у 35,4% больных достигнута полная ремиссия (ПР). Медиана продолжительности ПР составила 10,8 ± 3,8 мес. При применении программы Велкейд + МР ответ составил 60%, а количество ПР — 30%. Схемы VD и VMP были эффективны и у больных с неблагоприятными факторами прогноза (высокий уровень β_2 -микроглобулина, ЛДГ, пожилой возраст, выраженная плазмоклеточная инфильтрация костного мозга — 40% и более). Описан случай солитарной плазмоцитомы легкого, для лечения которой успешно использована программа VMP. Побочные эффекты бортезомиба предсказуемы и управляемы. В преобладающем большинстве случаев наблюдалась астения, нейропатия, нейтропения и анемия. Серьезные осложнения встречались крайне редко. Результаты использования VMP позволяют считать его новым стандартом лечения больных с впервые выявленной ММ. Схема эффективна у пациентов молодого возраста (< 65 лет).

Ключевые слова

бортезомиб (Велкейд), множественная миелома, терапия первой линии, полная ремиссия, нейропатия.

ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе химиотерапевтические лекарственные средства, традиционно используемые для лечения множественной миеломы (ММ), полностью не утратили своего значения, но область их применения значительно сузилась. Все большее значение придается новым лекарственным препаратам, в частности бортезомибу (Велкейд), проявившему выраженную противоопухолевую активность. Проведенные крупные многоцентровые клинические исследования продемонстрировали высокую эффективность бортезомиба как

при рефрактерных/рецидивирующих формах ММ, так и в индукционной терапии.¹⁻³ По результатам различных исследовательских групп, использование бортезомиба в сочетании с дексаметазоном или с талидомидом и дексаметазоном (VTD-режим) либо назначение других бортезомиб-содержащих комбинаций у больных с впервые выявленной ММ позволило получить отчетливый положительный ответ в 70–90% случаев.^{4,5} J. Harousseau и соавт.⁶ в качестве индукционной предтрансплантационной терапии у 400 больных ММ использовали две программы терапии: комбинация бортезомиб + дексаметазон

[1] ФГУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии», Санкт-Петербург

[2] Городская больница № 15, Санкт-Петербург

[3] Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И. П. Павлова

[4] НУЗ Дорожная клиническая больница ОАО РЖД, Санкт-Петербург

[5] ГУЗ Александровская больница, Санкт-Петербург

зон и схема VAD. Авторы отметили явные преимущества бортезомиба, а именно 21,3% полных ремиссий и 46,7% очень хороших частичных ремиссий, в то время как при применении VAD — 8,3 и 18,6% соответственно. А у больных старше 65 лет хорошо зарекомендовала себя схема VMP (мелфалан, преднизолон, бортезомиб). По данным М.-V. Mateos и соавт.,⁷ общий ответ при использовании этой комбинации достиг 89%, в т. ч. у 32% больных получена полная ремиссия. Крупное многоцентровое исследование III фазы VISTA (Velcade as Initial Standard Therapy, 682 больных) было посвящено сравнению эффективности VMP и MP (мелфалан + преднизолон).⁸ Превосходство VMP над MP было продемонстрировано по всем анализируемым показателям: время до прогрессии, беспрогрессивная выживаемость, общая выживаемость, время до начала следующей терапии, частота полных ремиссий. Так, при применении VMP количество полных ремиссий составило 35%, а при MP — 5%, время до прогрессии — 24 и 16,6 мес., 2-летняя общая выживаемость — 82,6 и 69,5% соответственно.

Ранее мы уже неоднократно сообщали о нашем опыте лечения бортезомибом (Велкейд) больных с рефрактерными/рецидивирующими формами ММ.⁹⁻¹¹ В настоящей работе приведены результаты лечения больных с впервые выявленной ММ бортезомибом в сочетании с другими противоопухолевыми препаратами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находилось 28 больных, из них у 27 установлен диагноз ММ, а у 1 пациентки — плазмоцитомы нижней доли левого легкого с секрецией моноклонального IgM/k. Диагноз ММ подтверждался высоким содержанием общего белка в сыворотке крови, выявлением при электрофорезе сывороточных белков М-градиента при парапротеинемических вариантах заболевания, результатами миелограммы (содержание плазматических клеток более 10%), гистологического исследования трепаната подвздошной кости (миеломноклеточные разрастания) и рентгенографией костей скелета (остеопороз и очаги деструкции в плоских костях, компрессионные переломы тел позвонков). Характеристика больных представлена в табл. 1.

Таблица 1. Характеристика больных множественной миеломой (n = 27)

Показатель	
Средний возраст, годы	68 (45–81)
Больные старше 65 лет	18
Мужчины/женщины	9:18
G/A	17:8
G + A	1
Бенс-Джонса	1
II/III стадия	9:18
A/B стадия	25:2

Поскольку бортезомиб крайне редко используется при солитарной плазмоцитоме, интерес представляет следующий клинический случай.

Больная Р., 62 года, с солитарной плазмоцитомой левого легкого, для лечения которой мы применили Велкейд + МР. Исходно при рентгенографическом и флюорографическом обследовании этой пациентки в нижней доле левого легкого S_{VIII}–S_{IX} была выявлена округлая тень. Проведена спиральная КТ. В прикорневой зоне нижней доли левого легкого обнаружено уплотнение легочной ткани с неровными контурами размером 7,8 × 6,5 × 4,2 см. Учитывая получен-

ные данные, больной проведена боковая торакотомия слева с биопсией образования нижней доли левого легкого. В двух полученных биоптатах структура легкого не определялась. Обнаружен густой клеточный инфильтрат, представляющий чистую культуру плазматических клеток, среди которых определялись скопления из малых лимфоцитов. Плазматические клетки содержали внутриядерные ШИК-позитивные включения типа телец Dutcher. Иммуногистохимическое исследование: подавляющее большинство клеток CD38⁺, CD20⁻, CD79a⁺. В реакции на CD23 окрашивания не получено. Большинство клеток k-позитивны. Заключение: структура инфильтрата в нижней доле левого легкого соответствует плазмоцитоме. Диагноз плазмоцитомы был подтвержден двумя независимыми морфологами. Одновременно у больной выявлены признаки хронической почечной недостаточности (ХПН), а в сыворотке крови — высокий уровень β₂-микроглобулина и низкое содержание альбумина.

17 больным ММ (у 8 из них возраст старше 65 лет) назначена комбинация VD: Велкейд 1,3 мг/м² в/в в 1, 4, 8, 11-й дни с последующим 10-дневным перерывом (дни 12–21) + дексаметазон по 20 мг внутрь или в/в в 1, 2, 4, 5, 8, 9, 11, 12-й дни каждого 21-дневного цикла до 8 циклов терапии. После достижения положительного ответа больные получали еще два курса консолидирующей терапии, а далее они переводились на поддерживающее лечение Велкейдом. На момент оценки результатов исследования каждый больной получил от 3 до 10 циклов.

10 больных ММ в возрасте старше 65 лет получали программу VMP: 1–4-й цикл включал Велкейд 1,3 мг/м² в/в в 1, 4, 8, 11, 22, 25, 28, 32-й дни и мелфалан 9 мг/м² + преднизолон 60 мг/м² в 1–4-й день. 5–9-й цикл включал Велкейд 1,3 мг/м² в/в в 1, 8, 22, 29-й дни и мелфалан 9 мг/м² + преднизолон 60 мг/м² в 1–4-й день. На момент оценки результатов исследования каждый больной получил от 3 до 9 циклов.

Больной с солитарной плазмоцитомой левого легкого, учитывая выявленную ХПН, как уже указывалось, также назначено лечение VMP. К настоящему времени проведено 4 цикла терапии.

Результаты лечения больных ММ оценивали с использованием критериев ЕВМТ.¹² Выделяли полную ремиссию (ПР), частичную ремиссию (ЧР), минимальный ответ (МО) и стабилизацию опухолевого процесса. Для уточнения полноты ремиссии использовали тест иммунофиксации, что позволяло верифицировать у больных ПР при отрицательном результате теста либо ремиссию, близкую к полной (п-ПР) при положительном результате. Статистическая обработка данных проведена методами базовой и параметрической статистики (*t*-критерий Стьюдента) с использованием компьютерных программ Microsoft Excel 2003 и STATISTICA 6.0 в среде Windows 2003. Результаты представлены как средние со стандартным отклонением ($M \pm \sigma$). Расчет выживаемости осуществлялся по методу Каплана—Мейера. Вычисляли время общей и бессобытийной выживаемости. Для сравнения показателей в группах больных применяли тест Колмогорова—Смирнова. Токсичность Велкейда оценивали согласно критериям ВОЗ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Вначале проанализированы результаты применения программы VD (Велкейд + дексаметазон). Объективный ответ (ПР + ЧР + МО) в целом в группе пациентов, получавших VD, составил 64,7% (рис. 1). При этом у 6 (35,4%) больных была получена ПР (у 5 — ПР и у 1 — п-ПР). У 2 (11,7%) больных достигнута ЧР и у 3 (17,6%) — МО.

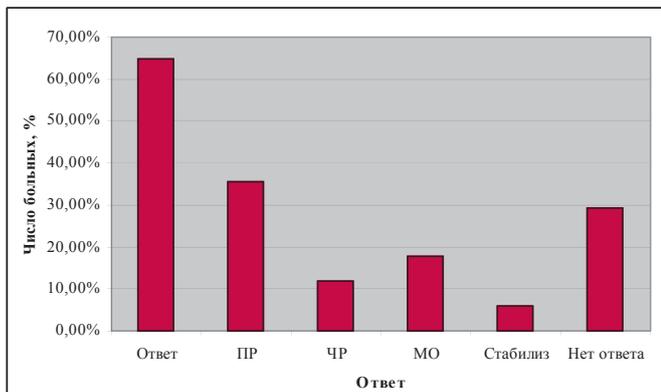


Рис. 1. Эффективность Велкейда в комбинации с дексаметазоном (VD) при множественной миеломе

Еще у 1 (5,9%) больного наблюдалась стабилизация опухолевого процесса. Только у 5 (29,4% пациентов) добиться положительного ответа не удалось. Для получения ПР у 4 больных потребовалось проведение 6 циклов VD. Еще у 2 пациенток ПР была зарегистрирована по завершении 7-го и 8-го цикла терапии соответственно. ЧР или МО наблюдались уже после 3–4 циклов терапии. Медиана (Me) длительности ПР на момент оценки результатов исследования равнялась $10,8 \pm 3,8$ мес. (диапазон 3–15 мес.). Продолжительность ЧР у 2 больных составила 3 и 4 мес., МО — в среднем 3 мес. (от 2 до 4 мес.).

Период наблюдения за 11 больными, вошедшими в протокол VD, варьировал от 6 до 12 мес., а за 6 больными — от 13 до 24 мес. Все больные на момент оценки результатов исследования живы. Кривые общей и бессобытийной выживаемости больных за весь период наблюдения (6–24 мес.) показаны на рис. 2. Медиана (Me) общей выживаемости составила 10 мес., а бессобытийная выживаемость за этот же период наблюдения не достигнута.

Для прогнозирования течения ММ и эффективности терапии предложены и используются различные критерии.^{13,14} Мы проанализировали влияние некоторых факторов прогноза на эффективность схемы VD, в частности иммунологического варианта болезни, возраста и пола.

В группу больных, получавших VD, вошло 10 женщин и 7 мужчин. Оказалось, что из 11 больных, ответивших на лечение Велкейдом, было 7 (70%) женщин и 4 (57%) муж-

чин ($p > 0,05$). У 8 (67%) из 12 больных с G-миеломой и у 3 (60%) из 5 больных с A-миеломой зарегистрирован положительный ответ на лечение ($p > 0,05$).

Выяснилось также, что у 7 (77,7%) из 9 больных в возрасте до 65 лет достигнут ответ (у 4 — ПР, у 2 — ЧР, у 1 — МО), в то время как ответ наблюдался только у 4 (50% из 8 больных пожилого (> 65 лет) возраста (у 2 — ПР и у 2 — МО) ($p < 0,05$). Обращало на себя внимание, что у всех пожилых пациентов этой группы одновременно были обнаружены другие факторы неблагоприятного прогноза, а именно высокий уровень β_2 -микроглобулина (> 5,5 мг/л), низкое содержание сывороточного альбумина (< 3,5 г/дл), выраженный плазмцитоз в костном мозге (содержание плазматических клеток более 50%), т. е. это были больные с плохими прогностическими факторами. И только у одного больного младше 65 лет также выявлялись указанные прогностические показатели. С нарушением функции почек было 2 больных (III стадия по классификации Durie, Salmon). В одном случае ответа на лечение не получено, а в другом — достигнута ЧР.

У 4 больных с высоким риском и отсутствием эффекта на схему VD был осуществлен переход на другую линию Велкейд-содержащих режимов терапии. Одному больному в возрасте 45 лет с G-миеломой IIIВ стадии назначен курс лечения по программе PAD (бортезомиб 1,3 мг/м² в 1, 4, 8 и 11-й дни, дексаметазон 40 мг в 1–4, 8–11 и 15–18-й дни 1-го цикла и в 1–4-й день 2–4-го цикла; в течение 1–4 дней дополнительно вводился доксорубин в дозе 9 мг/м²). После 3 циклов PAD у больного удалось получить стабилизацию опухолевого процесса. Трём больным (> 65 лет, в двух случаях G-миелома IIА и IIIА стадии и в одном — A-миелома IIIА стадии), также не ответивших на VD (Велкейд + дексаметазон), начата терапия по схеме VMP (Велкейд + мелфалан + преднизолон). Двум больным проведено 3 цикла терапии (достигнуты МО и стабилизация), одному больному — 4 цикла (МО).

При использовании программы VMP положительный ответ получен у 6 (60%) из 10 больных. При этом у 3 (30%) пациентов достигнута ПР и еще у 3 (30%) — ЧР. Кроме того, у 3 (30%) больных наблюдалась стабилизация болезни и только у 1 (10%) — лечение оказалось неэффективным (рис. 3). Полный ответ удалось получить после 5 (1 больной), 6 (1 больной) и 9 (1 больной) циклов схемы

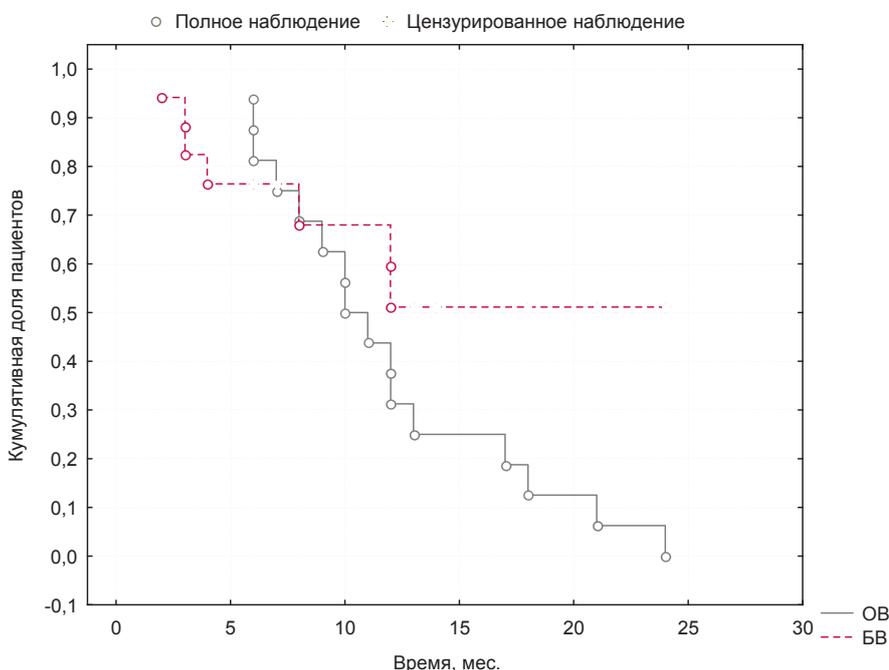


Рис. 2. Общая и бессобытийная выживаемость больных с множественной миеломой, получавших лечение Велкейдом в сочетании с дексаметазоном (VD): ОВ — общая выживаемость; БВ — бессобытийная выживаемость

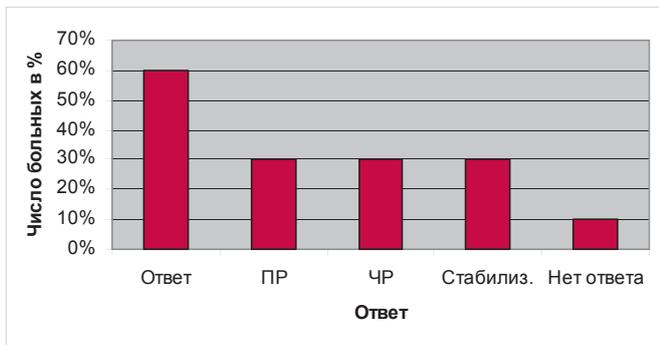


Рис. 3. Эффективность VMP (Велкейд + МР) при множественной миеломе

VMP. Продолжительность ПР на момент оценки результатов исследования составила 3–12 мес., ЧР — 6–14 мес. В этой группе пациентов также была проанализирована зависимость достижения ответа от иммунологического варианта болезни и пола. Все ответившие на VMP больные были женщины. Правда, лиц мужского пола в этой группе было только 2. В эту группу вошло 5 больных с G-миеломой, 3 — с А-миеломой, 1 — с G/А-миеломой и 1 — с миеломой Бенс-Джонса. Среди ответивших на VMP было 3 больных с А-миеломой, 1 — с G/А-миеломой, еще 2 — с G-миеломой и миеломой Бенс-Джонса. В одном случае установлена IIА стадия, в остальных — IIIА стадия. Обращало на себя внимание, что у 4 больных этой группы, достигших ПР или ЧР, исходно обнаружены факторы неблагоприятного прогноза: высокий уровень β_2 -микроглобулина ($> 5,5$ мг/л), низкое содержание сывороточного альбумина ($< 3,5$ г/дл), выраженный плазмоцитоз в костном мозге ($> 40\%$), анемия IV степени, IgA > 40 г/л. И только у 2 больных указанных факторов плохого прогноза не выявлено.

Набор больных в протокол лечения по программе VMP проводился с 2005 г. Поэтому период наблюдения за больными, вошедшими в исследование, варьировал от 3 до 9 мес. (Me 6 мес.; 7 человек) и от 12 до 37 мес. (Me 28 мес.; 3 чело-

века). За это время умерло 2 больных. У пациентки, 76 лет, с ММ IgA λ , IIIА стадии при включении в протокол выявлено несколько факторов неблагоприятного прогноза: выраженный плазмоцитоз в костном мозге (53,2%), глубокая анемия (Hb 65 г/л), высокий уровень в крови IgA (43,3 г/л) и β_2 -микроглобулина (12,8 мг/л). Больной начата терапия по схеме VMP. После 9 циклов лечения констатирована ЧР, которая сохранялась в течение 6 мес. В последующем наблюдалась прогрессия заболевания, и еще через 6 мес. больная погибла. Длительность жизни ее от момента верификации ММ составила 19 мес. Еще у одной пациентки (75 лет, IgG κ , IIА стадия) при поступлении в крови обнаружен высокий уровень β_2 -микроглобулина (4,2 мг/л) и С-реактивного белка (15,04 мг/л), а в миелограмме плазмоцитоз (35,8% плазматических клеток). После 3 циклов VMP удалось достичь стабилизации болезни. Состояние больной было вполне удовлетворительным, готовилась к выписке. Однако в связи с погрешностями в диете у нее возникла боль в верхних отделах живота, состояние резко ухудшилось. С подозрением на острый панкреатит пациентка переведена в специализированное лечебное учреждение, где диагноз подтвержден. После соответствующей терапии выписана с выздоровлением, но через неделю в домашних условиях, по непонятным причинам развился отек легких, который и стал причиной смерти пациентки (отек легких подтвержден на секции).

Проведенный анализ показал, что 6-месячная выживаемость больных, получавших лечение по программе VMP, составила 100%, 1-летняя — 90%. Кривая общей выживаемости (Me 9 мес.) всех больных этой группы по Каплану—Мейеру показана на рис. 4.

Больной с плазмоцитомой левого легкого проведено 4 цикла VMP. Первый цикл, учитывая имеющуюся ХПН, был проведен с редукцией доз препаратов. Лечение больная перенесла удовлетворительно, и в последующем терапия осуществлялась в полном объеме. Уже после 1-го цикла VMP при контрольном рентгенологическом исследовании легких обнаружено уменьшение объема и интенсивности об-

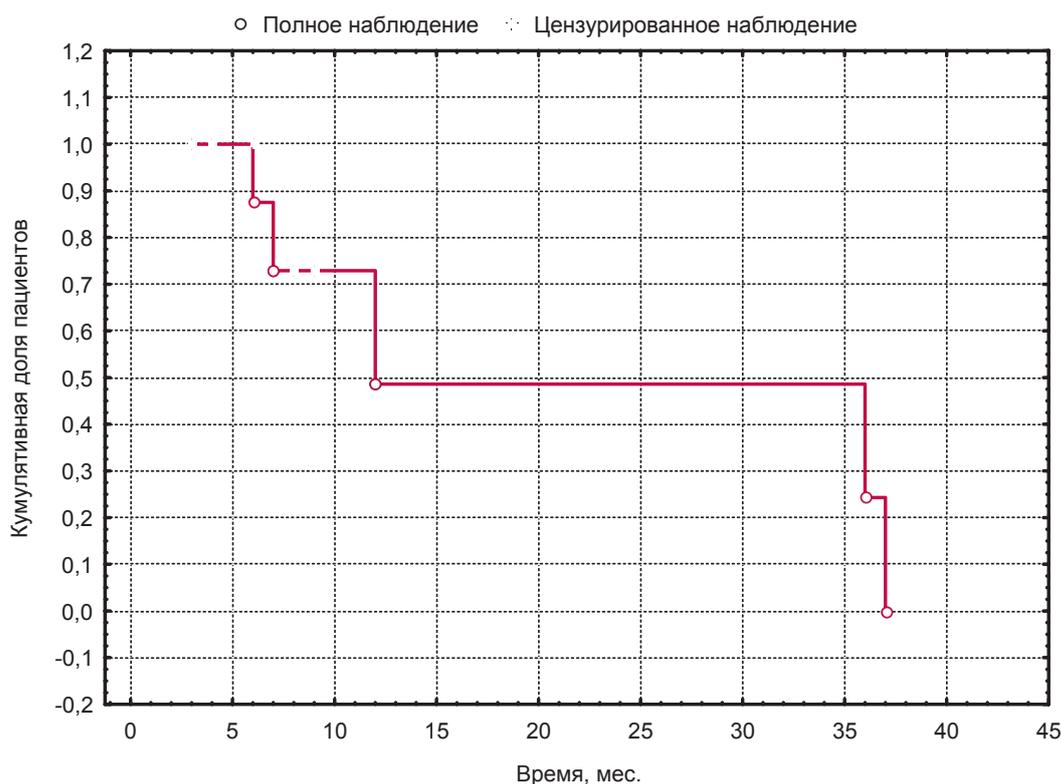


Рис. 4. Общая выживаемость больных, получавших лечение по программе VMP (Велкейд, мелфалан, преднизолон)

Таблица 2. Побочные эффекты у больных с множественной миеломой, получавших Велкейд

Побочный эффект	VD (n = 17)	VMP (n = 10)
Астенический синдром (усталость, недомогание, слабость)	7 (41%)	3 (30%)
Тошнота	1 (6%)	0%
Рвота	1 (6%)	0%
Жидкий стул	1 (6%)	0%
Боль в эпигастральной области	0%	1 (10%)
Гипергликемия	2 (11,7%)	0%
Периферическая нейропатия	6 (35, 3%) I ст. — 2 (11,7%) II ст. — 4 (23,5%)	3 (30%) I ст. — 1 (10%) II ст. — 1 (10%) III ст. — 1 (10%)
Лихорадка	1 (6%)	1 (10%)
Инфекции	4 (23,5%) (отит — 2, herpes zoster — 4, бронхит — 1, пневмония — 1)	2 (20%) (конъюнктивит, цистит)
Гипертензия	1 (6%)	0%
Пароксизмы мерцательной аритмии	1 (6%)	0%
Артралгия	0%	1 (10%)
Анемия	5 (29,5%) I ст. — 1 (6%) II ст. — 4 (23,5%)	2(20%) II ст. — 1 (10%) III ст. — 1 (10%)
Нейтропения	3 (18%) I ст. — 1 (6%) II ст. — 1 (6%) III ст. — 1 (6%)	5 (50%) II ст. — 3 (30%) III ст. — 1 (10%) IV ст. — 1 (10%)
Снижение уровня тромбоцитов	0%	4 (40%) II ст. — 2 (20%) III ст. — 1 (10%) IV ст. — 1 (10%)

разования в нижней доле левого легкого. По результатам спиральной КТ в прикорневой зоне нижней доли левого легкого сохранялось уплотнение легочной ткани с воздушными просветами бронхов, размером 6,2 × 3,5 × 3,3 см. В средних отделах легочной ткани с обеих сторон отмечалось неравномерное усиление легочного рисунка за счет периферического интерстиция, усиления рисунка бронхов, междольковых перегородок, очаговоподобной инфильтрации размером до 0,2–0,5 см. После завершения 2-го цикла на контрольной рентгенограмме определялось неоднородное неинтенсивное без четких контуров образование размером 3,0 × 3,5 см. После 3-го цикла выполнена КТ. Объем нижней доли левого легкого значительно снижен. В S_{VI} левого легкого — тонкие линейные зоны пневмофиброза за счет дисковидных коллапсов. В S_I–S_{II} левого легкого — участки уплотнения легочной ткани округлой формы с нечеткими контурами размером 3,5 и 4,1 мм, наиболее вероятно за счет пневмофиброза. Увеличенных лимфатических узлов не выявлено. Заключение: пневмофиброз обоих легких, наиболее выраженный в базальных сегментах левого легкого. В настоящее время закончен 4-й цикл лечения, больная чувствует себя вполне удовлетворительно, жалоб не предъявляет.

Переносимость бортезомиба (Велкейд) у больных проанализирована с учетом используемой программы (VD или MVP). Результаты представлены в табл. 2. В целом больные переносили лечение вполне удовлетворительно. Мы уже сообщали о побочных эффектах Велкейда у больных с рефрактерными/рецидивирующими формами ММ.⁹⁻¹¹ Так же как и ранее, среди негематологических побочных явлений, независимо от используемой программы (VD или MVP), чаще всего мы наблюдали астенический синдром (см. таблицу 2). Астенический синдром (усталость, слабость, недомогание) главным образом возникал при проведении первых 3 циклов терапии и соответствовал только I–II степени. Все больные, не-

смотря на появление усталости, могли продолжать лечение. Значительно реже встречались гастроинтестинальные проявления (тошнота, рвота, диарея, боль в животе). При применении VD изредка регистрировалась гипергликемия и гипертония, скорее связанные с приемом дексаметазона.

Частым осложнением при применении Велкейда была периферическая нейропатия, которая наблюдалась у 6 (35,3%) из 17 больных, получавших VD, и у 3 (30%) из 10 — в группе с VMP. Появление первых признаков периферической нейропатии выявлялось после проведения 3–6 циклов лечения. В преобладающем большинстве случаев была диагностирована нейропатия I–II степени токсичности и только у одного больного, получавшего VMP, — III степени.

Из других негематологических неблагоприятных побочных явлений мы наблюдали лихорадку и инфекции. Среди инфекционных осложнений преобладал herpes zoster, причем в одном случае (после 6 циклов лечения — 3 цикла VD и 3 цикла VMP) развился герпетический ганглионеврит. Реже встречались отиты, конъюнктивиты, инфекции верхних дыхательных путей и цистит, которые в целом не повлияли на ход лечения основного заболевания. Наиболее серьезным осложнением была пневмония, возникновение которой наблюдалось у одного больного с плохими прогностическими признаками (плазмозитоз, высокий уровень IgA, С-реактивного белка и β_2 -микроглобулина) после 7 циклов лечения Велкейдом (3 VD и 4 VMP). Получен МО. Учитывая, что одновременно у больного отмечено развитие herpes zoster, периферической нейропатии III степени и транзиторной гипергликемии, дальнейшее использование Велкейда было признано нецелесообразным.

Велкейд, как известно, вызывает обратимую миелосупрессию. Как видно из данных табл. 2, у больных на фоне применения Велкейда наблюдалась анемия, нейтропения и тромбоцитопения. Обращает на себя внимание тот факт,

что если в группе больных, получавших VD, выявлена анемия I–II степени, нейтропения I–III степени, то в группе VMP — II–III и II–IV степени соответственно. Тромбоцитопения наблюдалась только при использовании VMP, причем в I случае — IV степени тяжести.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, наш первый опыт по применению бортезомиба (Велкейд) в первой линии терапии ММ обнадеживает. Мы использовали Велкейд в комбинированной терапии (Велкейд + дексаметазон и Велкейд + МР). Установлено, что большинство больных ММ независимо от используемой комбинации отвечали на терапию. Объективный ответ при назначении Велкейда в комбинации с дексаметазоном (VD) составил 64,7 %, включая 35,4 % ПР. Важно обратить внимание на эффективность этой комбинации у больных независимо от изотипа миеломы и пола пациентов. Хуже были результаты лечения больных пожилого возраста (> 65 лет). Однако обращал на себя внимание тот факт, что у этих пациентов кроме возраста одновременно обнаружены другие факторы неблагоприятного прогноза (высокий уровень β_2 -микроглобулина, низкое содержание сывороточного альбумина и выраженный плазмоцитоз в костном мозге), что позволяло отнести их к группе высокого риска. Наше исследование показало, что у больных с высоким риском, в случае отсутствия ответа на VD достаточно успешно можно использовать другие Велкейд-содержащие режимы терапии. Так, применив у одного больного схему PAD, а у 3 — VMP, нам удалось достичь МО либо стабилизации опухолевого процесса. Следует вспомнить, что при применении различных химиотерапевтических программ (CMVP, VCMVP, M2 и др.), наращивании доз цитостатических препаратов результаты значительно хуже, что в первую очередь характеризуется низким числом ПР.^{13,15}

Наиболее часто используемой программой лечения первичных больных молодого возраста была программа VAD. Известно, что при применении VAD сокращается время, необходимое для получения терапевтического ответа, частота которого колеблется от 45 до 76 %, но чаще он характеризуется достижением ЧР и МО и значительно реже — ПР. Как уже указывалось выше, исследование J. Harousseau и соавт.⁶ продемонстрировало отчетливые преимущества VD перед VAD. Наши первые данные по использованию режима VD в качестве индукционной терапии также подтверждают его высокую эффективность по всем анализируемым показателям (общий ответ, количество ПР и их длительность, общая и бессобытийная выживаемость). Все больные, вошедшие в исследование, за период наблюдения 6–24 мес. живы.

В 2008 г. закончено многоцентровое исследование III фазы VISTA, которое показало, что у больных ММ пожилого возраста (> 65 лет) весьма эффективно и безопасно применение VMP (Велкейд + МР).¹⁶ Как известно, эффективность стандартного протокола МР редко превышает 50 %, а частота достижения ПР < 5 %. Исследование VISTA выявило явное превосходство VMP перед МР, в т. ч. у пациентов старше 75 лет, в группе высокого и стандартного риска. Наш опыт по применению программы VMP еще не достаточен для окончательного суждения о ее эффективности. Однако первые полученные результаты обнадеживают. Используя VMP, нам удалось у 6 (60 %) из 10 больных ММ получить ответ, а количество ПР составило 30 %. Эта комбинация оказалась эффективной при различных иммуно-

логических вариантах ММ (IgG, IgA, IgG/A, Бенс-Джонса). Важно отметить, что VMP прекрасно зарекомендовала себя у больных с такими факторами неблагоприятного прогноза, как высокий уровень β_2 -микроглобулина и низкое содержание сывороточного альбумина, выраженный плазмоцитоз в костном мозге, глубокая анемия. 6-месячная выживаемость в группе больных, получавших VMP, составила 100 %, годичная — 90 %.

Описанный нами случай успешного лечения Велкейдом больной с плазмоцитомой левого легкого с практической точки зрения представляется чрезвычайно важным. Диагноз плазмоцитомы не вызывал сомнений. Он был основан на данных рентгенологического исследования, КТ, гистологического и иммуногистохимического исследований биоптатов опухолевой ткани. Отчетливая положительная динамика плазмоцитомы обнаружена после 1-го цикла терапии, а после 3-го цикла — полный регресс плазмоцитомы. Обращало на себя внимание, что у больной одновременно выявлялись такие факторы неблагоприятного прогноза, как ХПН, высокий уровень β_2 -микроглобулина и низкое содержание альбумина в крови. Лечение больной перенесла удовлетворительно, никаких побочных эффектов не наблюдалось.

В целом переносимость бортезомиба (Велкейд) вполне удовлетворительная. Наиболее частыми побочными эффектами (независимо от использования VD или VMP) были астенический синдром и периферическая нейропатия. Однако тяжесть астенического синдрома соответствовала I–II степени и никак не отразилась на режиме введения Велкейда. В преобладающем большинстве случаев периферическая нейропатия также была I–II степени. Среди инфекционных осложнений преобладал herpes zoster. Для профилактики этого осложнения всем больным, получающим Велкейд, мы в последнее время назначаем ацикловир в течение всех циклов лечения Велкейдом. Изредка наблюдались гастроинтестинальные осложнения, лихорадка, гипергликемия, артралгия, пароксизмы мерцательной аритмии. Что касается гематологической токсичности, то выяснилось, что при применении VD реже развивалась анемия, нейтропения, а тромбоцитопения не наблюдалась ни в одном случае. В группе больных, получавших VMP, тяжесть этих осложнений была больше, что, на наш взгляд, связано с применением мелфалана. Между тем, согласно исследованию VISTA, различий в гематологической токсичности при использовании VMP и МР не выявлено. Так, частота нейтропении III и IV степени составила 40 и 38 %, тромбоцитопении — 37 и 30 %, анемии — 19 и 28 % соответственно.¹⁶

Таким образом, широкий спектр эффективности и благоприятный токсический профиль бортезомиба (Велкейд) позволяют рекомендовать его в качестве терапии первой линии ММ. Применение Велкейда в комбинированной терапии (VD, VMP) дает возможность достичь одинаково высоких результатов лечения как в благоприятной, так и в неблагоприятной прогностической группе больных ММ. Высокая эффективность и достаточно хорошая переносимость позволяют рассматривать комбинацию Велкейд + дексаметазон (VD) в качестве программы выбора в терапии больных ММ в возрасте до 65 лет, а Велкейд + МР (VMP) — нового стандарта лечения больных пожилого возраста (> 65 лет). Программа VMP, возможно, найдет применение и в лечении плазмоцитомы. Использование Велкейда гематологами, безусловно, расширит их терапевтические возможности и приведет к улучшению помощи больным ММ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Richardson P. G., Sonneveld P., Schuster M. W. et al. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352: 2487–98.
2. Richardson P. G., Mitsiades C., Schlossman R. et al. Bortezomib in the front-line treatment of multiple myeloma. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 2008; 8: 1053–72.
3. Kyle R. A., Rajkumar S. V. Multiple myeloma. *Blood* 2008; 111(6): 2962–72.
4. Jagannath S., Durie B. G., Wolf J. et al. Bortezomib therapy alone and in combination with dexamethasone for previously untreated symptomatic multiple myeloma. *Br. J. Haematol.* 2005; 129: 776–83.
5. Harousseau J., Attal M., Leleu X. et al. Bortezomib plus dexamethasone as induction treatment prior to autologous stem cell transplantation in patients with newly diagnosed multiple myeloma: results of an IFM phase II study. *Haematologica* 2006; 91: 1498–505.
6. Harousseau J.-L., Marit G., Caillot D. et al. VEL-CADE/dexamethasone (Vel/Dex) vs VAD as induction treatment prior to autologous stem cell transplantation (ASCT) in newly diagnosed multiple myeloma (MM): an interim analysis of the IFM 2005-01 Randomized Multicenter Phase III Trial. *Blood* 2006; 108: 56 (Abstract).
7. Mateos M.-V., Hernandez J.-M., Hernandez M.-T. et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone in elderly untreated patients with multiple myeloma: results of a multicenter phase 1/2 study. *Blood* 2006; 108: 2165–72.
8. San Miguel J. F., Schlag R., Khuageva N. et al. MMY-3002: a phase 3 study comparing Bortezomib-Melphalan-Prednisone (VMP) with Melphalan-Prednisone (VH) in newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* 2007; 110: 31a (Abstr. 76).
9. Бессмельцев С. С., Стельмашенко Л. В., Подольцева Э. И. и др. Первый отечественный опыт применения бортезомиба (велкейд) в лечении рефрактерных и рецидивирующих форм множественной миеломы. *Вестн. гематол.* 2007; 1: 16–23.
10. Бессмельцев С. С., Стельмашенко Л. В., Подольцева Э. И. и др. Бортезомиб (велкейд) при рецидиве и рефрактерных формах множественной миеломы. *Український журнал гематології та трансфузіології* 2007; 4: 11–9.
11. Бессмельцев С. С., Стельмашенко Л. В., Подольцева Э. И. и др. Бортезомиб (велкейд) в комбинации с дексаметазоном при рецидиве и рефрактерных формах множественной миеломы. *Онкогематология* 2007; 4: 61–6.
12. Blade J., Samson D., Reece D. et al. Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. *Br. J. Haematol.* 1998; 102: 1115–23.
13. Бессмельцев С. С., Абдулкадыров К. М. Множественная миелома. Современный взгляд на проблему. — Алматы, 2007. — 480 с.
14. Mateos M. V., Hernandez J. M., Hernandez M. T. et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone in elderly untreated patients with multiple myeloma: updated time-to-events results and prognostic factors for time to progression. *Haematologica* 2008; 93(4): 560–5.
15. Blade J., San Miguel J. F., Fontanillas M. et al. Increased conventional chemotherapy does not improve survival in multiple myeloma: long-term results of two PETHEMA trials including 914 patients. *Hematol. J.* 2001; 2: 272–8.
16. San Miguel J. F., Schlag R., Khuageva N. K. et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359: 906–17.

Первичные лимфопролиферативные заболевания центральной нервной системы

А. В. Губкин [1], Е. Е. Звонков [1], А. М. Кременецкая [1], Ю. А. Криволапов [2], Т. Н. Пересторонина [1], И. Б. Капланская [1], В. А. Лошаков [3], А. В. Голанов [3], Г. Л. Кобяков [3], С. К. Кравченко [1]

Primary central nervous system lymphomas

A. Gubkin [1], E. Zvonkov [1], A. Kremenetskaya [1], U. Krivolapov [2], T. Perestoronina [1], I. Kaplanckaya [1], V. Loshakov [3], A. Golanov [3], G. Kobakov [3], S. Kravchenko [1]

SUMMARY

Primary CNS lymphoma is characterized by inferior prognosis among all aggressive extranodal B-cell lymphomas due to lower CR rates and high incidence of early and late relapses. The aim of our review is analyzing the treatment of 78 patients in Hematology Scientific Center (Russia).

Keywords:

primary central nervous system lymphomas, blood-brain barrier, temodal.

[1] Hematology Research Center, Moscow

[2] Regional bureau of pathology, St.-Petersburg

[3] Neurosurgery Scientific Institute, Moscow

Контакты: gubkin@blood.ru

Принято в печать: 19 ноября 2008 г.

РЕФЕРАТ

Первичные лимфомы ЦНС характеризуются крайне плохим прогнозом среди агрессивных экстранодальных лимфом из-за небольшого количества полных ремиссий и частых рецидивов. В данной работе проанализированы данные 78 больных первичной лимфомой ЦНС, наблюдавшихся в ГНЦ РАМН.

Ключевые слова

лимфома центральной нервной системы, гематоэнцефалический барьер, темодал.

ВВЕДЕНИЕ

Первичные лимфопролиферативные заболевания центральной нервной системы (ПЛЦНС) — гетерогенная группа лимфатических опухолей, изолированно поражающих головной мозг, спинной мозг, заднюю часть глаза и мозговые оболочки и проявляющихся прогрессирующей общемозговой и очаговой неврологической симптоматикой и длительное время (а возможно, и вообще) не способные к метастазированию. ПЛЦНС являются самостоятельной нозологической формой среди лимфопролиферативных заболеваний. В последние десятилетия наблюдается рост заболеваемости ПЛЦНС как среди больных с дефицитом иммунитета, так и среди иммунокомпетентных пациентов.

Первое сообщение о ПЛЦНС приписывается Р. Bailey, который в 1929 г. описал два случая «перителиальной» саркомы головного мозга. Однако выделение ПЛЦНС как опухоли неглиального происхождения затянулось на многие годы. Тем временем ПЛЦНС получала разнообразные названия: периваскулярная саркома, адвентициальная саркома, злокачественный ретикулоэндотелиоз, саркома из клеток ретикулярной ткани.¹ Эта нозологическая путаница следовала из неспособ-

ности определить происхождение клетки опухоли, которая могла происходить как из нормальной гемопоэтической ткани, так и из мезенхимы, микроглии. К середине 1960-х годов почти все исследователи согласились, что разногласия в значительной степени были терминологическими. В 1972 г. появился компромиссный термин «микроглиомасаркома из клеток ретикулярной ткани». Этот термин был поддержан на съезде онкологов в Вене в 1974 г., он поощрял сотрудничество невропатологов и гематологов. Там же была поставлена цель — уточнить происхождение клеток, из которых состоят опухоли головного мозга, с помощью иммунологических методов исследования.¹

В 1975 г. К. Lennert на основании иммунологического исследования опухолей ЦНС ввел понятие первичной лимфомы ЦНС. В дальнейшем выяснилось, что морфологически идентичные опухоли, которые до тех пор интерпретировались как ретикулезы или гистиоцитозы, фактически являлись В-клеточными лимфомами.¹

Интерес к первичным лимфатическим опухолям ЦНС значительно увеличился в последнее десятилетие в связи с улучшением прогноза при этой нозологии. Если ранее ПЛЦНС представляли собой, в основном, научный

[1] ГУ Гематологический научный центр РАМН, Москва

[2] Ленинградское патологоанатомическое бюро, Санкт-Петербург

[3] ГУ НИИ нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко РАМН, Москва

интерес, то теперь, с введением специфической полихимиотерапии (ПХТ) появилась возможность получать полные длительные ремиссии более чем у 50% больных.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Среди экстранодальных лимфом лимфомы ПЛЦНС занимают 2-е место по частоте встречаемости после лимфатических опухолей желудка. Множество онкологических и гематологических центров по всему миру изучают проблему ПЛЦНС, однако из-за редкости ПЛЦНС в популяции до сих пор нет ни одного рандомизированного исследования.² ПЛЦНС составляют 3% всех опухолей ЦНС и 12% всех экстранодальных лимфатических опухолей.³ Около 30% всех лимфом возникают экстранодально и не связаны с первичным вовлечением лимфатических узлов, селезенки, тимуса, кольца Пирогова—Вальдейера (рис. 1 и 2).

За последние десятилетия частота возникновения ПЛЦНС удвоилась и составляет 5–7,5 случая на 1 000 000 населения. Причина такого роста может заключаться в возрастающем числе иммунологически скомпрометированных лиц со склонностью к возникновению лимфатических опухолей. Это больные после аллогенной трансплантации органов, больные СПИДом, больные с врожденными иммунными дефектами. Однако рост ПЛЦНС нельзя полностью объяснить только увеличением количества больных с иммуносупрессией, что показано в эпидемиологических исследованиях. Количество ПЛЦНС между 1973 и 1985 г. возросло с 2,7 до 7,5 случая на 1 000 000 населения США в год, этот прирост предшествовал эпидемии СПИДа, не зависел от количества трансплантаций органов и от успехов в диагностике ПЛЦНС. Эти результаты определенно указывают на объективное увеличение частоты возникновения ПЛЦНС как у иммунокомпетентных, так и у иммунокомпрометированных больных.⁴

ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ

Этиология ПЛЦНС неизвестна. Нередко у больных ПЛЦНС, как и при многих других лимфатических опухолях, обнаруживается вирус Эпштейна—Барр или вирус герпеса 6-го типа. При этом необходимо заметить, что данные вирусы удается достоверно выявить только у больных ПЛЦНС в сочетании со СПИДом.⁵

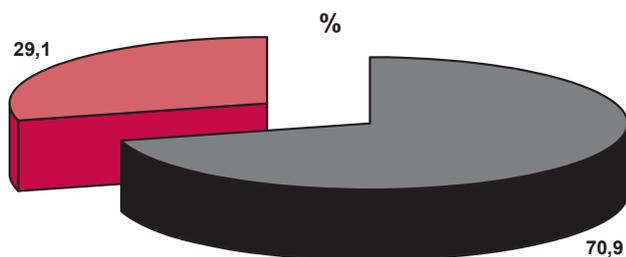


Рис. 1. Соотношение нодальных (70,1%) и экстранодальных (29,1%) первичных лимфом

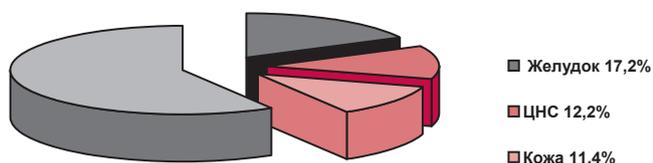


Рис. 2. Наиболее частые экстранодальные локализации

Вирус Эпштейна—Барр (ЭБВ) нередко выявляют при лимфатических опухолях у иммунокомпрометированных больных, однако его роль в патогенезе этих болезней не доказана.⁶ Следы вируса ЭБВ были найдены в ДНК клеток ПЛЦНС у больных СПИДом и у больных с лимфопролиферативными заболеваниями после трансплантации органов.⁷ У иммунокомпетентных больных ПЛЦНС ЭБВ обнаруживается редко.⁸ Таким образом, в трудных диагностических случаях выявление ЭБВ в цереброспинальной жидкости больных СПИДом может с высокой долей вероятности указывать на ПЛЦНС.⁹

Механизмы появления патологического лимфоидного клона у больных ПЛЦНС неизвестны. Чтобы объяснить возникновение этих опухолей в ЦНС, где нет собственной лимфоидной ткани, можно рассмотреть два возможных пути, которые предложили D. Hochberg и F. Miller в 1988 г.¹⁰ Первый состоит в том, что лимфоциты под воздействием какого-то стимула (возможно, церебральной вирусной инфекции) привлекаются в ЦНС. Эти лимфоциты могут быть родоначальниками патологического лимфоидного клона. Другой способ заключается в том, что патологический лимфоидный клон возникает в отдаленном от ЦНС участке организма и затем попадает в ЦНС под влиянием каких-то неизвестных факторов. Этот механизм объяснил бы высокую частоту мультифокальности ПЛЦНС. Главное различие в этих двух сценариях — локализация первичного патологического клона (в ЦНС либо вне нее).

При этом лимфатические опухоли, возникающие у больных с иммунодефицитом, вероятно, имеют иной патогенез, нежели у больных без иммунодефицита. Иммунодефицит в сочетании с ЭБВ-зависимой антигенной стимуляцией В-клеток теоретически может привести к появлению клональной клеточной популяции. При этом генетические изменения, ведущие к неконтролируемой В-клеточной пролиферации, неясны.¹¹

В настоящее время нет единой классификации ПЛЦНС. Зависит ли прогноз заболевания от локализации опухолевых очагов, от морфологии опухоли, есть ли специфическая генетическая аномалия для ПЛЦНС, предстоит выяснить дальнейшими исследованиями.

ДИАГНОСТИКА

Диагностика ПЛЦНС складывается из нескольких этапов: выявление очаговой и/или общемозговой неврологической симптоматики, выявления опухолевого очага в пределах ЦНС с помощью КТ и МРТ, цитологическая, гистологическая и иммуногистохимическая верификация варианта лимфоидной опухоли и, наконец, доказательство отсутствия лимфатической опухоли другой локализации. Начальные проявления заболевания — это общемозговые и очаговые неврологические симптомы центрального происхождения, зависящие от локализации процесса. Неврологическая симптоматика помогает только заподозрить патологию в ЦНС, т. к. клиника ПЛЦНС имеет весь спектр неврологических симптомов — от незначительных изменений в характере больного до развития комы. Специфические неврологические симптомы ПЛЦНС отсутствуют. Средний возраст больных ПЛЦНС составляет 53–57 лет, мужчины и женщины болеют примерно с одинаковой частотой. Группа высокого риска — 60 лет и старше, здесь частота встречаемости ПЛЦНС увеличивается. У пациентов с ПЛЦНС чаще возникает неврологическая симптоматика, а не системные В-признаки типа лихорадки, снижения массы тела и ночного пота.¹²

При изучении клиники ПЛЦНС авторы независимых многоцентровых исследований под руководством А. Fer-

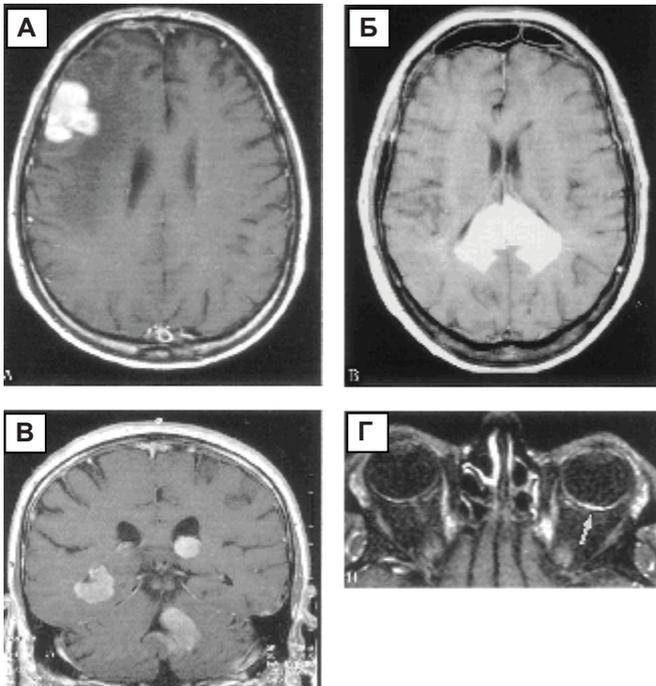


Рис. 3. (А) Первичная солитарная лимфома заднеобной области справа. (Б) Метастатическая лимфома головного мозга при лимфоме селезенки. (В) Первичная множественная лимфома головного мозга. (Г) Первичная лимфома сетчатки глаза (указано стрелкой)

regi¹³ в Европе и В. Bataille¹² в США сообщили, что у 70% пациентов выявлялась центральная неврологическая симптоматика, у 43% — психоневрологические симптомы, у 33% — клиника повышенного внутричерепного давления, у 14% — эписиндром и 4% пациентов — нарушение зрения.

При МРТ- или КТ-исследовании головного и спинного мозга с внутривенным контрастированием выявляется солитарное или (чаще) многоочаговое поражение в виде инфильтратов, чаще всего в глубоких областях мозга и субэпенди-

марно. Кроме того, ПЛЦНС в 10–20% случаев поражает сетчатку глаза.^{14,15} Наиболее достоверным и точным методом исследования является КТ или МРТ с внутривенным введением контрастного вещества (магнеvist, омнискан). Строго специфичных КТ- и МРТ-признаков для ПЛЦНС не существует. Однако такое исследование позволяет не только уточнить размер опухоли, ее локализацию, структуру, окружающий отек тканей, смещение срединных структур, но и в ряде случаев достоверно предположить лимфоидную природу опухоли по мультифокальности поражения, расположению в глубоких отделах мозга, выраженному перифокальному отеку, значительному накоплению контрастного вещества¹⁶ (рис. 3).

Ценность такого метода, как протонно-эмиссионная томография, при ПЛЦНС еще изучается и не определена.

В 50% случаев доказанных ПЛЦНС в цереброспинальной жидкости можно обнаружить увеличенное количество зрелых лимфоидных клеток (лимфоидный цитоз) и/или патологические лимфоидные клетки. Таким образом, иногда предварительный диагноз можно поставить после исследования цереброспинальной жидкости.¹⁷

Современным методом, позволяющим получить гистологический материал из ткани опухоли в ЦНС, является стереотаксическая биопсия (СТБ), которая проводится с помощью виртуального моделирования доступа к опухоли посредством компьютерной программы на основе КТ специальной иглой в условиях нейрохирургической операционной¹⁸ (рис 4).

Во всех случаях биопсий необходимо получать отпечатки и мазки из биопсийного материала, т. к. в цитологическом препарате можно дифференцировать степень зрелости опухолевых клеток и предположить природу опухоли и ее вариант.¹⁹ Цитологическое исследование следует проводить в каждом случае.

Цитологическая картина в подавляющем большинстве случаев ПЛЦНС представлена скоплениями крупных патологических лимфоидных клеток со светлым омоложен-

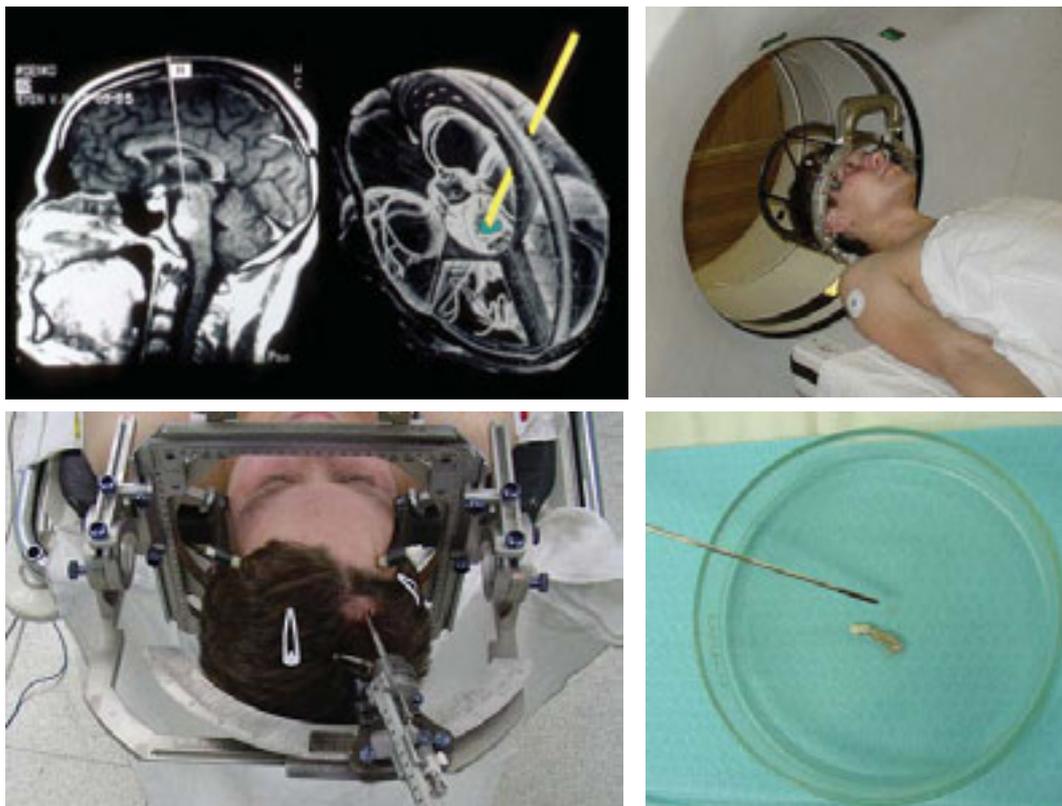


Рис. 4. Стереотаксическая биопсия

ным ядром в окружении зрелых лимфоцитов. Гораздо реже встречается зрелоклеточная лимфоидная картина, что нередко трактуется морфологами как неопухольный лейкоэнцефалит.²⁰

Характерная особенность гистологической картины ПЛЦНС — преимущественное расположение опухоли вдоль мозговых сосудов.^{20,21} В центре опухолевого очага клетки расположены более плотно, чем по периферии. Часто видно «пропитывание» лимфоидными клетками стенок сосудов, что может имитировать картину васкулита. Вероятно, поэтому микроскопически границы опухоли всегда намного шире, чем макроскопические. Таким образом, опухоль, визуализируемая с помощью КТ и МРТ, в действительности имеет большую протяженность, чем изображение на снимках.^{22,23}

Наиболее часто (70–90%) ПЛЦНС — это диффузная В-крупноклеточная лимфома, реже встречаются опухоли из морфологически зрелых лимфоидных клеток (15–20%), плазмцитомы (4–6%), Т-клеточные опухоли (5–6%).^{10,24}

Имунофенотипическая характеристика опухоли является главенствующей в диагностике, определении прогноза и выборе терапии.¹ Спектр антител, используемых в иммуногистохимической диагностике ПЛЦНС, направлен на определение В- или Т-клеточной природы опухоли, обнаружение клональности опухоли, определение пролиферативной активности опухолевых клеток, исключение подобной лимфоме Беркитта, фолликулярной лимфомы, лимфомы Ходжкина, плазмцитомы.²⁵

Исследование иммунофенотипа ПЛЦНС показало, что в большинстве случаев это В-лимфатические опухоли. В настоящее время увеличивается частота Т-клеточных ПЛЦНС, но все равно их доля не превышает 5%, что намного ниже, чем у больных с периферическими лимфопрлиферативными заболеваниями.^{26,27}

Характерной чертой лимфом ЦНС является перестройка гена *BCL6* у пациентов без иммунодефицита и включение ЭВВ в геном опухолевых клеток при первичной лимфоме ЦНС, ассоциированной с ВИЧ-инфекцией.^{5-8,11,28}

При цитогенетическом исследовании биоптатов опухоли больных ПЛЦНС были найдены патологические изменения в хромосомах 1, 6, 7, и 14, идентичные таковым при других лимфатических опухолях.^{27,29}

В 10% случаев ПЛЦНС возникают как вторая опухоль. В таких случаях необходимо проводить дифференциальный диагноз между метастазом предшествующей опухоли и ПЛЦНС.³⁰

В связи с ПЛЦНС следует отметить характерный для лимфоидных клеток «инстинкт дома», который заключается в способности циркулирующих в крови лимфоцитов возвращаться в свой орган лимфопоза.³¹

Наиболее яркая особенность ПЛЦНС — неспособность метастазировать за пределы ЦНС, в то время как лимфатические опухоли, первично возникшие вне ЦНС, нередко метастазируют в ткани мозга. Зачастую у больных с предполагаемой ПЛЦНС выявляются внечерепные очаги, что заставляет отвергнуть диагноз ПЛЦНС. Частота таких случаев около 10%.³²

ПРОГНОЗ

Прогноз для больных ПЛЦНС остается неудовлетворительным. Продолжительность жизни без лечения составляет 1,5–3,3 мес. Больные, перенесшие только резекцию опухоли, живут 3,5–5 мес.³³

Отрицательными прогностическими факторами для больных ПЛЦНС являются: возраст старше 60 лет, боль-

шой объем поражения, тяжелая неврологическая симптоматика перед началом лечения, предлеченность (в т. ч. глюкокортикоидами). В то же время, по данным литературы, достоверная зависимость прогноза ПЛЦНС от гистологического варианта и степени зрелости опухолевых клеток отсутствует.^{34,35}

ЛЕЧЕНИЕ

Хирургическая резекция ПЛЦНС увеличивает риск продолженного роста опухоли и диссеминации опухолевых клеток.²¹ Таким образом, хирургии отводится роль только в диагностике ПЛЦНС. Наиболее безопасной и информативной диагностической операцией является СТБ, которая с успехом заменяет открытую биопсию и резекцию опухоли.³²

Улучшение прогноза для больных ПЛЦНС связано с успехами в диагностике и проведением специфической ПХТ. В большинстве медицинских центров используют программы ПХТ, построенные по единому принципу — преодоление цитостатическими препаратами гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Результаты различных программ терапии сходны, преимущества одной перед другой только предстоит выяснить.³⁶

До начала 90-х годов прошлого столетия лучевая терапия (ЛТ) и кортикостероидные гормоны являлись стандартом в лечении ПЛЦНС. Оптимальная ЛТ включала в себя облучение всего головного мозга в суммарной дозе не менее 40 Гр в сочетании с облучением спинного мозга до 50 Гр.^{35,37}

Как и другие лимфатические опухоли, ПЛЦНС часто отвечают на терапию кортикостероидами, иногда до полного исчезновения опухолевого очага (очагов). Этот феномен в ряде случаев можно считать диагностическим критерием. Поэтому после терапии кортикостероидами могут возникнуть серьезные трудности с постановкой диагноза.³⁸ Необходимо отметить, что ремиссии после применения глюкокортикоидных гормонов не бывают длительными, а результаты терапии после этого значительно хуже.

Несмотря на то что при стандартной ЛТ нередко удается получить полную ремиссию, это временное достижение. 5-летняя безрецидивная выживаемость при таком лечении составляет лишь 3–4%.³⁹

В настоящее время химиотерапия (ХТ) показала себя как основа терапии первой линии. Высокие дозы метотрексата в качестве монохимиотерапии в сочетании с ЛТ позволяют получить 80–90% ответов на терапию, в т. ч. 45–55% полных ремиссий при 60–65% 2-летней выживаемости.⁴⁰⁻⁴⁴ В некоторых исследованиях пытались улучшить выживаемость, добавляя к метотрексату другие химиопрепараты.⁴⁵⁻⁵¹ Однако до настоящего времени терапия высокими дозами метотрексата остается стандартом лечения ПЛЦНС.⁵² Исключение из схем ПХТ высоких доз метотрексата приводило к уменьшению количества ремиссий.⁵³ Наиболее эффективные цитостатики, используемые в первой линии ПХТ лимфопрлиферативных заболеваний (антрациклины и циклофосфан), оказались неэффективными при ретроспективной оценке терапии ПЛЦНС, вероятно, из-за их неспособности преодолеть ГЭБ. Добавление к ЛТ курса СНОР не улучшило результаты лечения ни при проведении его до ЛТ⁵⁴, ни после.⁵⁵ Добавление курса СНОР к терапии высокими дозами метотрексата дало результат, сравнимый с таковым монохимиотерапии высокими дозами метотрексата, но при этом повышалась гематологическая токсичность. На сегодняшний день доказана эффективность ХТ с применением метотрексата, но нет достаточных доказательств улучшения результатов лечения при добавлении к терапии других химиопрепаратов.⁵⁵

Нейротоксичность, связанная с введением химиопрепаратов, проникающих через ГЭБ, — одна из основных проблем в лечении больных ПЛЦНС. Ранее проблемы нейротоксичности ПХТ были неактуальны из-за небольшого числа выживших больных. Нейротоксичность возникает у 5–10 % пациентов в течение года после начала лечения и у 25–35 % — в течение 5 лет.⁵⁶ Факторы риска нейротоксичности: возраст старше 60 лет, постлучевая ХТ, большая общая и разовая доза ЛТ (более 2 Гр за сеанс).^{13,37} Наличие прямой зависимости между возрастом и тяжестью нейротоксичности было доказано у больных, проживших более 5 лет. У пациентов старше 60 лет нейротоксичность возникает в 48 % случаев, от 40 до 60 лет — в 25 %, моложе 40 лет — в 9 % случаев.⁵⁶ Отдаленная токсичность возникает в среднем через год от начала ЛТ и отражает, вероятно, предрасположенность пожилых больных к сосудистым нарушениям в области первоначальной опухоли.⁵⁷ У 50 % больных с рецидивом неврологической симптоматики не удается обнаружить рецидив ПЛЦНС.⁵⁸ У больных старше 60 лет отсроченная нейротоксичность часто выражается в таких же, а иногда и более выраженных неврологических нарушениях, чем сама лимфома, вызывая деменцию в 40 % случаев, а в 1/3 случаев приводит к гибели больных.⁵⁹

Введение химиопрепаратов непосредственно в желудочки головного мозга с помощью резервуара Оммайя (Ommaya) сопряжено со множеством технических трудностей и дополнительными инфекционными осложнениями, ухудшающими прогноз болезни. Исследователи из отделения неврологии Калифорнийского университета применяли наряду с системной ПХТ внутрижелудочковое введение химиопрепаратов через резервуар Оммайя у 120 больных с различными опухолями с вовлечением головного мозга. У 43 % пациентов развился асептический менингит.⁶⁰ В онкологическом институте в Торонто (Канада) с помощью резервуара Оммайя проводили химиотерапию 106 больным, в основном с гематологическими заболеваниями (77 больных). При этом технические трудности возникли 11 раз, 1 больной погиб при постановке резервуара, у двух наблюдались кровоизлияния в желудочки. Наблюдалось 13 случаев бактериального менингита у 10 пациентов. Один больной погиб от стафилококкового менингита. По истечении первого года лечения резервуар Оммайя функционировал только у 15 % больных.⁶¹

Люмбальные пункции у этих пациентов опасны из-за возможного «вклинения» продолговатого мозга в результате постпункционной ликвореи у больных с отеком мозга. При использовании препаратов, проникающих через ГЭБ, нет показаний для интратекального введения химиопрепаратов при терапии первой линии, поскольку концентрация химиопрепаратов в ликворе достаточна для противоопухолевого эффекта.¹⁸

Диагностическая люмбальная пункция проводится при первичном обследовании только при отсутствии риска «вклинения».

Совместное использование ЛТ и ХТ опасно и значительно увеличивает риск тяжелой нейротоксичности. Некоторые авторы, желая минимизировать это осложнение, предложили проводить одну ХТ, откладывая ЛТ у пациентов, достигших полной ремиссии, до рецидива.^{59,62} Обоснованность этой стратегии полностью не доказана, т. к. исследований по выживанию и токсичности при одной ХТ пока мало.

Монохимиотерапия высокими дозами метотрексата обсуждается в настоящее время как стандарт лечения ПЛЦНС. В Бостонском многопрофильном госпитале (шт. Массачусетс, США) 31 больной получил монохимиотерапию мето-

трексатом (8 г/м² каждые 14 дней до достижения полной ремиссии) без интратекальных введений цитостатиков. После достижения полной ремиссии больные получали три курса высоких доз метотрексата с интервалом 1 мес., затем в качестве поддерживающей терапии введения метотрексата продолжались 1 раз в 3 мес. в течение 2 лет. При этом число полных ремиссий составило 65 %, а 2-летняя выживаемость — 63 %. Не было ни одного подтвержденного МРТ случая вызванной метотрексатом энцефалопатии. В среднем в течение 31 мес. от начала лечения у больных сохранялись ясное сознание и память, не прогрессировала неврологическая симптоматика.⁴⁶

По сообщению из Национального института здоровья (США), сочетание высоких доз метотрексата (24-часовое вливание 8,4 г/м² с интервалом 21 день) с тиофосфамидом, винкристином, кортикостероидами и интратекальными введениями метотрексата и цитарабина позволило добиться 78 % 2-летней выживаемости в группе из 14 пациентов. После 49 мес. наблюдения у 3 больных появились признаки нейротоксичности, которую связали с пожилым возрастом и с проведением ЛТ в тех случаях, когда применение ХТ было ограничено.⁵⁹

В сообщении из отделения неврологии и радиотерапии Memorial Sloan-Kettering Cancer Center в Нью-Йорке приведено использование у 52 больных ХТ высокими дозами метотрексата, прокарбазином и винкристином до ЛТ и высокими дозами цитарабина после нее. Ответ на терапию получен в 90 % случаев, средняя выживаемость — 60 мес. У 30 больных на фоне ПХТ наблюдалась тяжелая миелосупрессия, у 2 — нефропатия. У пожилых пациентов средняя выживаемость не зависела от ЛТ, однако процент нейротоксичности был больше у больных, получивших ЛТ. Отсрочка ЛТ не снижала выживаемости, но уменьшала связанную с лечением токсичность.⁶³

Учитывая, что большинство ПЛЦНС являются В-клеточными и экспрессируют антиген CD20, логичным выглядело применение анти-CD20-антитела (ритуксимаб, мабтера) в лечении этих больных. Показано, что мабтера проникает через ГЭБ (концентрация в ликворе составляет 0,1 % и более от концентрации в сыворотке крови) и при ратекальном и внутрижелудочковом введении ее токсичность невелика. Однако применение мабтеры не привело к заметному сокращению размеров опухолевых очагов и не улучшило состояние больных.^{64,65}

Лечение рецидивов заболевания остается значительной проблемой: повторное применение курсов первой линии и курсов, включающих высокие дозы цитарабина и идарубицина, обычно было неэффективным. В таких случаях использование стандартных доз терапевтических моноклональных антител (ритуксимаб) также неэффективно.⁶⁶

Следует отметить все большее количество сообщений об эффективности алкилирующего химиопрепарата темода (темозоломид) и ингибитора топоизомеразы I топотекан при рефрактерных и рецидивных ПЛЦНС.⁶³ Однако количество наблюдений не превышает 6–8 больных. Ставится вопрос о включении темода в первую линию ПХТ ПЛЦНС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С 1998 по 2007 г. лечение получили 83 больных (42 женщины и 40 мужчин) с первичными лимфатическими опухолями ЦНС. Из них у 78 (95 %) пациентов выявлено первичное поражение головного мозга и у 2 (2 %) — спинного мозга диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ), а у 3 (2 %) больных — первичное солитарное поражение моз-

говых оболочек зрелоклеточной лимфомой. Возраст больных колебался от 18 до 81 года (средний возраст 50 лет), 25 больных были старше 60 лет.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Первичные лимфатические опухоли головного мозга

Первичное поражение головного мозга выявлено у 78 больных. Жалобы и клиническая картина были неспецифичны и зависели от локализации опухоли. Сочетанная тяжелая общемозговая симптоматика, нарушение двигательных функций, чувствительности, психоэмоциональной сферы, функционирования черепно-мозговых нервов и тазовых функций были характерны для мультиочагового поражения полушарий и ствола мозга.

Солитарное поражение выявлено у 54 больных (лобная доля — 14, темя — 8, желудочки — 5, подкорковые структуры — 4, зрительный бугор — 4, затылок — 4, ствол — 4, висок — 3, мостомозжечковый угол — 3, хиазмально-селлярная область — 3, ретроселлярная — 1, мозолистое тело — 1), множественное — у 24 пациентов (рис. 5 и 6).

С целью морфологической верификации диагноза СТБ мозга выполнена у 42 больных, первичная резекция опухоли — у 36.

Для исключения опухолей нелимфоидного происхождения гистохимическое исследование с окраской на общий лейкоцитарный антиген проведено у всех больных. Расширенное гистохимическое исследование выполнено у 52 пациентов. Диагноз ДВККЛ установлен у всех больных. Среди ДВККЛ гистохимическое исследование с антителами к CD10, Vcl6, MUM1 проведено у 25 больных, из них у 23 выявлен постгерминальный фенотип (ABC-тип). Пролиферативная активность определена у 29 пациентов, уровень Ki67 > 50% — у 25 больных.

У всех больных установлена стадия IЕ, повышение активности ЛДГ до 540 ЕД/л отмечено у одного больного, моноклональная секреция не выявлена ни у одного пациента.

Результаты лечения и отдаленная выживаемость проанализированы у 70 больных ДВККЛ. Обращает на себя внимание большое количество протоколов лечения ДВККЛ ЦНС, применяемых в ГНЦ РАМН с 1998 по 2007 г. Дан-

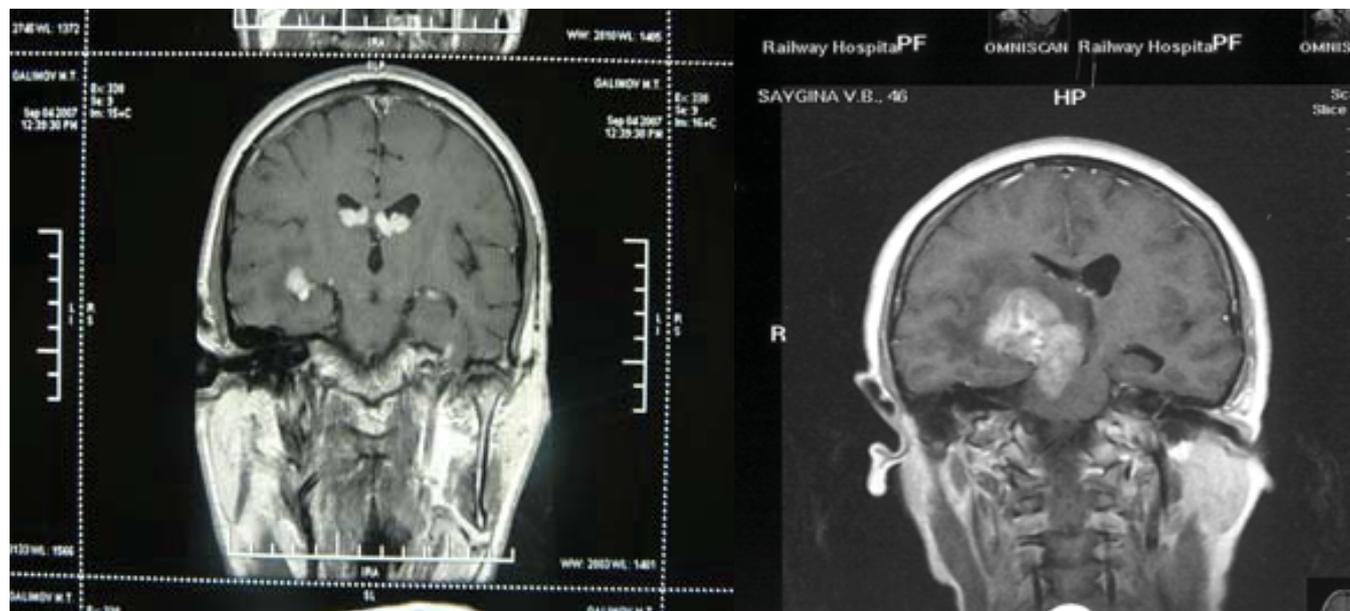


Рис. 5. Множественное и солитарное поражение ДВККЛ головного мозга

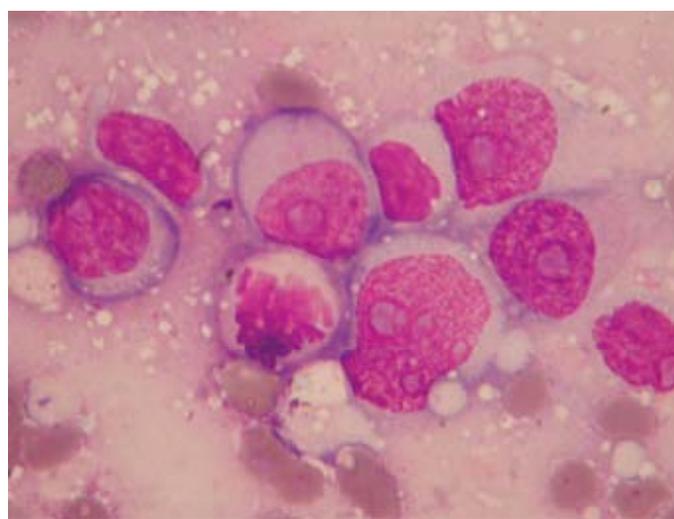
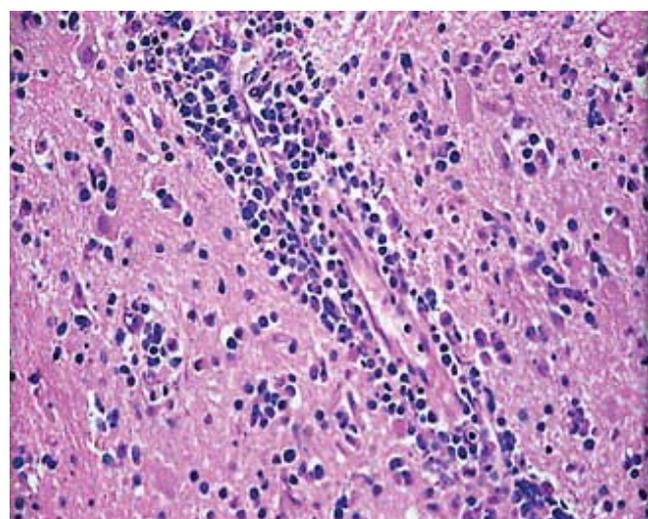


Рис. 6. Гистологическая (периваскулярная инфильтрация) и цитологическая картина ДВККЛ головного мозга

Таблица 1. Результаты терапии больных с первичными лимфатическими опухолями ЦНС

	Всего	ТИОСАТЕМЕД	MATILDE	PEPSO	Темодал	Непрограммное лечение
Число больных	70	37	3	15	2	13
Полные ремиссии	37 (53%)	24 (65%)	1	7 (47%)	1	4 (31%)
Рецидив	19 (27%)	13 (35%)	0	3 (20%)	0	3 (23%)
Прогрессирование	24 (32%)	8 (22%)	1	6 (40%)	1	8 (62%)
Смерть от заболевания	39 (56%)	17 (46%)	1	9 (60%)	1	11 (85%)
Смерть от лечения	9 (13%)	5 (14%)	1	2 (13%)	0	1 (8%)
Смерть от других причин	3 (4%) (2 Э)	3 (8%) (2 Э)	0	0	0	0
Общая 5-летняя выживаемость	19 (27%)	12 (32%)	1	4 (27%)	1	1 (8%)
Безрецидивная 5-летняя выживаемость	18 (26%)	11 (30%)	1	4 (27%)	1	1 (8%)

Э — энцефалопатия.

ные о больных и полученном ими лечении представлены в табл. 1.

Оперативное лечение получили 33 пациента (из низ живы 8 больных). Данные общей выживаемости представлены на рис. 7.

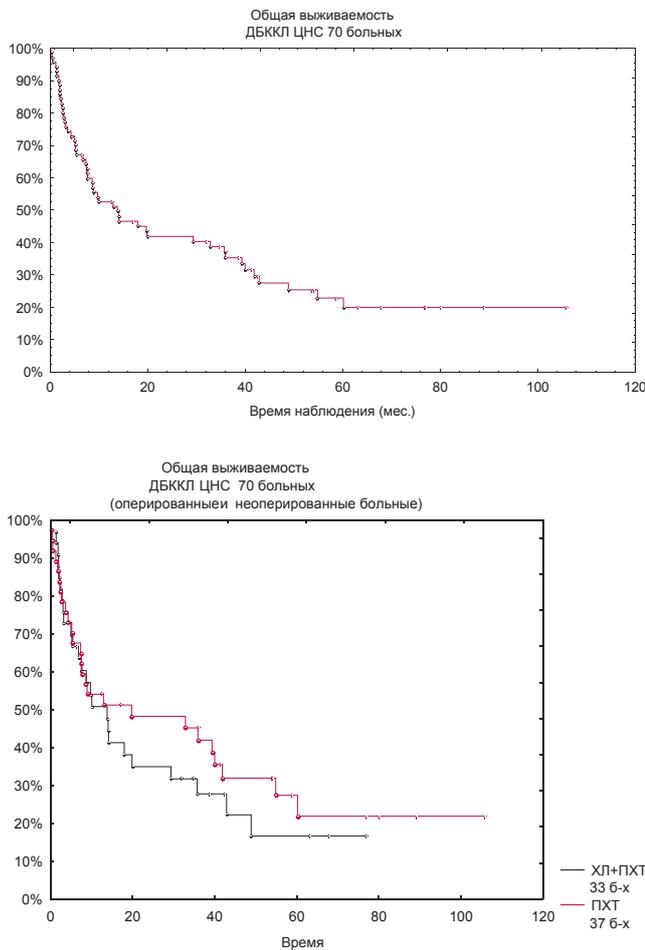


Рис. 7. Показатели общей выживаемости: а — 70 больных ДБКЛ ЦНС; б — 70 больных ДБКЛ ЦНС (оперированные и неоперированные)

ОБСУЖДЕНИЕ

ДБКЛ головного мозга чаще встречается у иммунокомпетентных пациентов старше 50 лет при равном соотношении мужчин и женщин. Клиническая картина неспецифична и напоминает течение нелимфоидных опухолей ЦНС. Чаще

встречается солитарное поражение полушарий, реже многоочаговое вовлечение вещества мозга, однако при современном лечении результаты терапии при солитарном и множественном поражении не различаются. Общая 5-летняя выживаемость 70 проанализированных пациентов при солитарном поражении составляет 29%, а при множественном — 27%. Это еще раз подчеркивает отсутствие необходимости резекции опухоли даже при видимом ограниченном, одиночном очаге.

ПХТ с использованием препаратов, проникающих через ГЭБ (ТиоСаТеМеД, MATILDE, PEPSOo, монотерапия темодалом), позволяет получить до 65% полных ремиссий, но у большинства больных развивается рецидив заболевания, а 5-летняя общая и безрецидивная выживаемость остаются низкой.

Проведение ПХТ по программе NHL-BFM-90 для ДВКЛ головного мозга оказалось также малоэффективным. У 2 больных, получивших лечение по этой программе, не удалось получить ремиссии. 1 пациентка скончалась из-за прогрессирования заболевания, у 1 больной перевод на терапию темодалом позволил получить продолжительную ремиссию в течение 23 мес. У больного 76 лет после терапии по модифицированной программе NHL-BFM-90 сразу в сочетании с темодалом получена ремиссия, которая сохраняется в течение 20 мес., больной находится на поддерживающей терапии темодалом, 1 курс в 3 мес.

Приводим клиническое наблюдение.

Больная Б., 28 лет, поступила в клинику в крайне тяжелом состоянии: сознание спутанное, неадекватно, дезориентирована во времени и пространстве, речевой контакт резко затруднен (путалась в ответах на односложные вопросы). При осмотре выявлен левосторонний пирамидный синдром в виде левостороннего гемипареза, левосторонней гемигиперестезии, повышения мышечного тонуса, сухожильных и периостальных рефлексов слева, девиация языка влево.

В январе 2005 г. появилась пульсирующая давящая головная боль в правой половине головы, сонливость, значительно ухудшилась память. В мае 2005 г. присоединилась асимметрия лица. На МРТ головного мозга выявлены множественные очаги затемнения в правой височной доле, подкорковых узлах справа, субэпендимарно в области желудочковых треугольников боковых желудочков с обеих сторон, в белом веществе левой лобной доли, в правой теменной доле. Диффузные изменения перивентрикулярного белого вещества с двух сторон и передних отделов ствола.

В НИИ нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко 26.08.05 проведена СТБ опухоли головного мозга.

В гистологическом препарате биоптата опухоли — разрастание рыхло лежащих опухолевых клеток преимуще-

ственно крупных размеров. Много распадающихся клеток. Встречаются митозы. При иммуногистохимическом исследовании крупные опухолевые клетки экспрессируют LSA+, CD20+, CD45RA+, CD79A+, не экспрессируют CD30, ALK-, bcl2-, CD10-, CD5-, CD23-, CD3-, CD43-. Клетки Ki67+ выявляются в умеренном количестве. Рассеяны немногочисленные макрофаги CD68+.

Другой локализации опухоли, кроме головного мозга, не выявлено. В ликворе цитоз 45/3: атипичных клеток — 39, нейтрофилов — 1, бластов — 5.

На основании данных обследования установлен диагноз: первичная мультифокальная В-крупноклеточная лимфома с локализацией в правой височной доле, подкорковых узлах справа, субэпендимарно в области желудочковых треугольников боковых желудочков с обеих сторон, в белом веществе левой лобной доли, в правой теменной доле головного мозга. Диффузные изменения перивентрикулярного белого вещества с двух сторон и оральных отделов ствола.

В ГУ ГНЦ РАМН проведено 3 курса полихимиотерапии по модифицированной программе NHL-BFM-90, блоками «А», «С», «А». Выбор схемы терапии обусловлен ее высокой эффективностью при ДВККЛ и наличием препаратов, проникающих через ГЭБ (метотрексат, вепезид, цитарабин). Лечение сопровождалось тяжелыми осложнениями: миелотоксический агранулоцитоз, токсический гепатит, синегнойный сепсис, септический шок, нарушение сознания. Проводилась массивная антибактериальная, противогрибковая, противовирусная, заместительная терапия.

При контрольной МРТ головного мозга с внутривенным контрастированием очагов, накапливающих контраст, констатирована ремиссия заболевания. Учитывая тяжелые осложнения терапии, полихимиотерапия прервана.

На МРТ головного мозга, выполненной через 3 мес. после окончания лечения, выявлен новый накапливающий контраст, небольшой очаг. Констатирован первый ранний рецидив лимфомы головного мозга.

Учитывая непродолжительность ремиссии после высокодозной ПХТ, в качестве сдерживающей терапии назначен темодал. После первого курса темодала (150 мг/м² внутрь в 1–5-й день, 1500 мг на курс) на контрольной МРТ головного мозга очагов, накапливающих контраст, не выявлено. Констатирована вторая ремиссия.

Проведено в общей сложности 6 курсов монокимиотерапии темодалом (1500 мг на курс) с интервалом 1 мес. Клинически и по данным МРТ сохранялась полная ремиссия.

Больная продолжает получать темодал в поддерживающем режиме — 1 раз в 3 мес. (1500 мг на курс). В течение 22 мес. сохраняется полная ремиссия заболевания (очагов, накапливающих контрастное вещество, нет).

Состояние больной удовлетворительное. Сознание ясное, положение активное, ориентирована во времени и пространстве. Ведет активный образ жизни в семье.

Первичные лимфатические опухоли спинного мозга

Данная локализация опухоли ЦНС очень редка. Только в 2 случаях выявлено первичное поражение спинного мозга ДВККЛ.

Больная О., 51 год, поступила в июне 2005 г. с клиникой нижнего парапареза и нарушением функции тазовых органов после оперативного удаления интрамедуллярной опухоли спинного мозга (С₇-Т₁). При гистохимическом исследовании выявлена ДВККЛ с высокой пролиферативной активностью (Ki67 90%). Проведено 3 курса ПХТ по модифицированной программе NHL-BFM-90, однако после короткого периода улучшения неврологической симптоматики выявлены признаки прогрессирования опухоли в головном мозге, что послужило причиной гибели больной.

Больной С., 67 лет, обратился в апреле 2007 г. с клиникой нижнего парапареза. В анамнезе оперативное удаление опухоли спинного мозга (С₇-Т₁₀). Результаты гистохимического исследования подтвердили диагноз ДВККЛ с высокой пролиферативной активностью (Ki67 60%). От проведения дальнейшей ПХТ больной отказался. Быстрое прогрессирование опухоли привело к летальному исходу.

Первичные лимфатические опухоли оболочек мозга

Мы наблюдали редчайшие случаи первичного поражения лимфомой оболочек головного и спинного мозга у 3 больных.

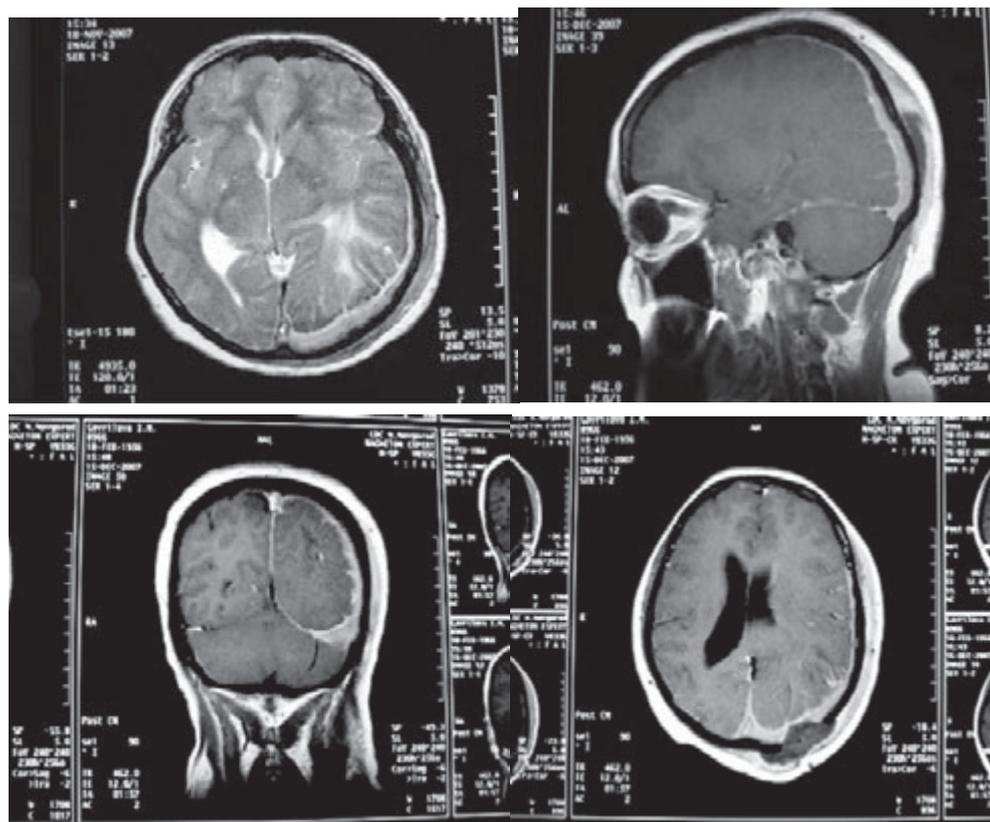


Рис. 8. Лимфома из клеток маргинальной зоны с локализацией в оболочках головного мозга на МРТ в трех проекциях. Состояние после частичной резекции лимфатической опухоли мозговой оболочки

1. Больной Д., 38 лет, обследован по поводу сильной головной боли и повышения АД в декабре 2006 г. в НИИ нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко. При МРТ-исследовании выявлено образование в области правой задневисочной-теменной области с вовлечением твердой мозговой оболочки. По поводу предполагаемого диагноза менингиомы выполнено хирургическое удаление опухоли. При гистологическом исследовании выявлена массивная лимфоидная инфильтрация клетками небольших размеров, резидуальные лимфоидные фолликулы, лишенные мантии, с признаками фолликулярной колонизации. Гистохимическое исследование выявило маргинальный фенотип опухолевых клеток с низкой пролиферативной активностью. После проведения 4 курсов ПХТ по схеме FMCR в течение 8 мес. сохраняется ремиссия заболевания.

2. Больной К., 50 лет, поступил в НИИ нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко в марте 2006 г. с жалобами на боль в поясничной области, снижение силы в нижних конечностях, нарушение функции тазовых органов. При МРТ-исследовании выявлена интрадуральная экстремедуллярная опухоль оболочек спинного мозга ($Th_{x-Th_{x+1}}$). По поводу предполагаемого диагноза менингиомы выполнено хирургическое удаление опухоли, получено частичное неврологическое улучшение. Данные гистологического и гистохимического исследования опровергли диагноз менингиомы, а фенотип соответствовал лимфоме из клеток маргинальной зоны с низкой пролиферативной активностью ($Ki67 < 20\%$). При контрольном МРТ-исследовании с контрастированием, выполненном в послеоперационный период, выявлены признаки остаточной опухоли в зоне операции. Проведение ПХТ в объеме 4 курсов FMCR привело к полному неврологическому восстановлению и отсутствию признаков опухоли по данным контрольных МРТ, которые сохраняются в течение 18 мес. после окончания ХТ.

3. Больная Г., 51 год. В начале июля 2007 г. появилась головная боль. По данным МРТ предположен диагноз гематомы затылочной области. На операции гематомы не обнаружено, но определялась опухоль, инфильтрирующая оболочки мозга. Частично опухоль резецирована (рис. 8). Послеоперационное течение спокойное, регрессировала неврологическая симптоматика. По данным контрольной МРТ выявлены признаки частичного удаления опухоли и пролабирание ткани мозга в костный дефект до 16 мм. Больной проведено 4 курса FMCR ПХТ, достигнута полная ремиссия.

Во всех трех случаях первичный диагноз был установлен неверно, что связано с редкой встречаемостью этой опухоли и напоминающим менингиому или субарахноидальное кровоизлияние течением. Хирургическое лечение дает только частичный и временный эффект. Без адекватной ПХТ получить длительную ремиссию невозможно. Выбор терапии определялся высокой эффективностью ПХТ по схеме FMCR ± R при лимфоме из клеток маргинальной зоны (MALT-типа).

Не было выявлено ни одного случая интраокулярной лимфомы.

ЛИТЕРАТУРА

- Russell D. S., Rubinstein L. J. Pathology of tumours of the nervous system. JAMA 1998; 13: 195–237.
- Kadan-Lottick N. S., Skluzarek M. C., Gurney J. G. Decreasing incidence rates of primary central nervous system lymphoma. Cancer 2002; 95: 193–202.
- Henry J. M., Heffner R. R. J., Dillard S. H. et al. Primary malignant lymphomas of the central nervous system. Cancer 1974; 34: 1293–302.
- O'Neill B. P., Illig J. J. Primary central nervous system lymphoma. Mayo Clinic Proceedings 1989; 64: 1005–20.
- Hansen P. B., Penkowa M., Kirk O. et al. Human immunodeficiency virus-associated malignant lymphoma in eastern Denmark diagnosed from 1990–1996: clinical features, histopathology, and association with Epstein-Barr virus and human herpesvirus. Eur. J. Haematol. 2000; 64: 68–75.
- Birx D. L., Redfield R. R., Tosato G. Defective regulation of Epstein-Barr virus infection in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) or AIDS-related disorders. N. Engl. J. Med. 1996; 314: 874–97.
- Chang K. L., Flaris N., Hickey et al. Brain lymphomas of immunocompetent and immunocompromised patients: study of the association with Epstein-Barr virus. Mod. Pathol. 1993; 6: 427–32.
- Bignou Y. J., Clavelou P., Ramos F. et al. Detection of Epstein-Barr virus sequences in primary brain lymphoma without immunodeficiency. Neurol. 1998; 41: 1152–3.
- Cleary M. L., Nalesnik M. A., Shearer W. T., Sklar J. Clonal analysis of transplant-associated lymphoproliferations based on the structure of the genomic termini of the Epstein-Barr virus. Blood 1998; 72: 349–52.
- Miller D. C., Hochberg F. H., Harris N. L. et al. Pathology with clinical correlations of primary central nervous system non-Hodgkin's lymphoma. The Massachusetts General Hospital experience 1958–1998. Cancer 1998; 74: 1383–97.
- MacMahon E. M. E., Glass J. D., Hayward et al. Epstein-Barr virus in AIDS-related primary central nervous system lymphoma. Lancet 1999; 338: 969–73.
- Bataille B., Delwail V., Menet E. et al. Primary intracerebral malignant lymphoma: A report of 248 cases. J. Neurosurg. 2000; 92: 261–6.
- Ferreri A. J., Reni M., Villa E. Primary central nervous system lymphoma in immunocompetent patients. Cancer Treat. Rev. 1995; 21: 415–46.
- Henson J. W., Batchelor T. T. Intraocular lymphoma, in Batchelor TT (ed): Lymphoma of the Nervous System. — Boston, MA: Butterworth-Heinemann, 2004. — P. 183–8.
- Ferreri J. M., Blay J.-Y., Reni M. F. et al. European Society for Medical Oncology Relevance of intraocular involvement in the management of primary central nervous system lymphomas. Ann. Oncol. 2002; 13: 531–8.
- Jellinger K. A., Paulus W. Primary central nervous system lymphomas — an update. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 1992; 119: 7–27.
- Hayakawa T., Takakura K., Abe H. et al. Primary central nervous system lymphoma in Japan — a retrospective, cooperative study by CNS-Lymphoma Study Group in Japan. J. Neurooncol. 1994; 19: 197–215.
- Fine H. A., Mayer R. J. Primary central nervous system lymphoma. Ann. Intern. Med. 1993; 119: 1093–104.
- Воробьев А. И., Бриллиант М. Д. В кн.: Руководство по гематологии / Под ред. А. И. Воробьева. Т. 1. — М.: Медицина, 1985. — С. 336–7.
- Атлас. Опухоли лимфатической системы / Под ред. А. И. Воробьева, А. М. Кремецкой. — М.: НЬЮДИАМЕД, 2007. — С. 167–71.
- Гейманович А. И., Смирнова Л. И. Опухоли центральной нервной системы. — Гос. мед. издат. УССР, 1936.
- Jellinger K. A., Paulus W. Primary central nervous system lymphomas — new pathological developments. J. Neurooncol. 1995; 24: 33–6.
- Авцин А. П., Виккерт Т. М. Касумова С. Ю. Интернациональная гистологическая классификация опухолей центральной нервной системы. Нейрохир. журн. 1981; 2: 45–51.
- Keller A. R., Hochholzer L., Castleman B. Hyaline-vascular and plasma-cell types of giant lymph node hyperplasia of the mediastinum and other locations. Cancer 1972; 29: 670–83.
- Schwechheimer K., Schwarzkopf G., Braus D. et al. Primary cerebral malignant non-Hodgkin's lymphomas. Histological and immunopathological findings on stereotactic brain biopsies. Clin. Neuro-pathol. 1989; 8: 250–1.
- Matano S., Nakamura S., Ohtake S. et al. Primary T-cell non-Hodgkin's lymphoma of the central nervous system. Case report and review of the literature. Acta Hematologica 1994; 91: 158–63.

Опыт использования анти-CD20-антител в лечении больных с рецидивами и резистентным течением ПЛЦНС

По данным литературы, анти-CD20-антитела (ритуксимаб) проникают через ГЭБ. Более 90% ПЛЦНС имеют В-клеточную природу. Антиген CD20 экспрессируется клетками опухоли во всех случаях. Мы использовали анти-CD20-антитела для лечения 6 больных первичной В-клеточной ПЛЦНС, экспрессирующей CD20+. У 5 больных сохранялась либо прогрессировала опухоль, у 1 больной была ремиссия ПЛЦНС. Лечение проводилось по стандартной схеме: 4 введения препарата в дозе 375 мг/м² 1 раз в неделю в виде монотерапии после различных режимов ПХТ. Эффективность терапии анти-CD20-антителами оценивалась по клиническим (неврологическая симптоматика) и данным контрольной МРТ головного мозга с внутривенным контрастированием.

Результаты: у 2 больных с растущей опухолью продолжалось прогрессирование ПЛЦНС, у 3 — со стабилизацией состояния не отмечалось уменьшения опухоли.

Таким образом, анти-CD20-антитела ни в одном случае не оказали терапевтического действия у больных с резистентным течением и при рецидивах ПЛЦНС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Первичные лимфатические опухоли ЦНС — самостоятельная группа экстранодальных лимфатических опухолей с характерной клинической картиной, морфологией. Пока невозможно дать достаточно обоснованных рекомендаций по лечению ПЛЦНС, т. к. нет рандомизированных исследований и одобренной всеми программы лечения. С уверенностью можно сказать, что хирургическая резекция ПЛЦНС и необоснованная монотерапия кортикостероидами отрицательно влияют на результаты последующей ПХТ и на выживаемость больных. Мабтера (анти-CD20-антитела) проникает через ГЭБ, однако эффективность мабтеры у больных с рефрактерной и рецидивной ПЛЦНС не показана.

27. Bednar M. M., Salerni A., Flanagan M. E., Pendlebury W. W. Primary central nervous system T-cell lymphoma. *J. Neurosurg.* 1991; 74: 668–72.
28. Hansen P. B., Penkowa M., Kirk O. et al. Human immunodeficiency virus-associated malignant lymphoma in eastern Denmark diagnosed from 1990–1996: clinical features, histopathology, and association with Epstein-Barr virus and human herpesvirus-8. *Eur. J. Haematol.* 2000; 64: 368–75.
29. Kumanishi T., Zhang S., Ichikawa T. et al. Primary malignant lymphoma of the brain: demonstration of frequent p16 and p15 gene deletions. *Jpn. J. Cancer Res.* 1996; 87: 691–5.
30. Reni M., Ferreri A. J., Zoldan M. C., Villa E. Primary brain lymphomas in patients with a prior or concomitant malignancy. *J. Neurooncol.* 1997; 32: 135–42.
31. Воробьев А. И., Кременецкая А. М., Лорие Ю. Ю. и др. «Старые» и «новые» опухоли лимфатической системы. *Тер. арх.* 2000; 7: 9–14.
32. Ferreri A. J., Reni M., Zoldan M. C. et al. Importance of complete staging in non-Hodgkin's lymphoma presenting as a cerebral mass lesion. *Cancer* 1996; 77: 827–33.
33. Pollack I. F., Lunsford L. D., Flickinger J. C., Dameshek H. L. Prognostic factors in the diagnosis and treatment of primary central nervous system lymphoma. *Cancer* 1989; 63: 939–47.
34. Ferreri A. J., Blay J. Y., Reni M. Prognostic scoring system for primary CNS lymphomas: the International Extranodal Lymphoma Study Group experience. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21: 266–72.
35. Круглова Г. В., Абдулбаев Р. А., Финогенова И. А., Тарасюк С. В. Лечение и прогноз поражения центральной нервной системы при лимфосаркоме. *Тер. арх.* 1983; 55(8): 36–40.
36. Boiardi A., Silvani A., Valentini S. et al. Chemotherapy as first treatment for primary malignant non-Hodgkin's lymphoma of the central nervous system preliminary data. *J. Neurol.* 1993; 241: 96–100.
37. DeAngelis L. M., Yahalom J., Thaler H. T., Kher U. Combined modality therapy for primary CNS lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 1992; 10: 635–43.
38. Kikuchi K., Watanabe K., Miura S., Kowada M. Steroid-induced regression of primary malignant lymphoma of the brain. *Surg. Neurol.* 1996; 26: 291–6.
39. DeAngelis L. M., Yahalom J., Heinemann M. H. et al. Primary CNS lymphoma: combined treatment with chemotherapy and radiotherapy. *Neurology* 1990; 40: 80–6.
40. Shibamoto Y., Tsutsui K., Dodo Y. et al. Improved survival rate in primary intracranial lymphoma treated by high-dose radiation and systemic vincristine-doxorubicin-cyclophosphamide-prednisolone chemotherapy. *Cancer* 1990; 65: 1907–12.
41. Chamberlain M. C., Levin V. A. Adjuvant chemotherapy for primary lymphoma of the central nervous system. *Arch. Neurol.* 1990; 47: 1113–6.
42. Ferreri A. J., Reni M., Bolognesi A. et al. Combined therapy for primary central nervous system lymphoma in immunocompetent patients. *Eur. J. Cancer* 1995; 31A: 2008–12.
43. Glass J., Gruber M. L., Cher L., Hochberg F. H. Preirradiation methotrexate chemotherapy of primary central nervous system lymphoma: long-term outcome. *J. Neurosurg.* 1994; 81: 188–95.
44. Cher L., Glass J., Harsh G. R., Hochberg F. H. Therapy of primary CNS lymphoma with methotrexate-based chemotherapy and deferred radiotherapy: preliminary results. *Neurology* 1996; 46: 1757–9.
45. O'Brien P. C., Roos D. E., Liew K. H. et al. Preliminary results of combined chemotherapy and radiotherapy for non-AIDS primary central nervous system lymphoma. *Trans-Tasman Radiation Oncology Group (TROG). Med. J. Austr.* 1996; 165: 424–7.
46. Guha-Thakurta N., Damek D., Pollack C., Hochberg F. H. Intravenous methotrexate as initial treatment for primary central nervous system lymphoma: response to therapy and quality of life of patients. *J. Neurooncol.* 1999; 43: 259–68.
47. Blay J. Y., Bouhour D., Carrie C. et al. The C5R protocol: a regimen of high-dose chemotherapy and radiotherapy in primary cerebral non-Hodgkin's lymphoma of patients with no known cause of immunosuppression. *Blood* 1995; 86: 2922–9.
48. Bessell E. M., Punt J., Firth J., Hope T. et al. Primary non-Hodgkin's lymphoma of the central nervous system: phase II study of chemotherapy (BVAM) prior to radiotherapy. *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)* 1991; 3: 193–8.
49. Glass J., Shustik C., Hochberg F. H. et al. Therapy of primary central nervous system lymphoma with pre-irradiation methotrexate, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and dexamethasone (MCHOD). *J. Neurooncol.* 1996; 30: 257–65.
50. Korfel A., Thiel E. Successful treatment of non-Hodgkin's lymphoma of the central nervous system with BMPD chemotherapy followed by radiotherapy. *Leuk. Lymphoma* 1998; 30: 609–17.
51. Brada M., Hjiannakis D., Hines F. et al. Short intensive primary chemotherapy and radiotherapy in sporadic primary CNS lymphoma (PCL). *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1998; 40: 1157–62.
52. Blay J. Y., Conroy T., Chevreau C. et al. High-dose methotrexate for the treatment of primary cerebral lymphomas: analysis of survival and late neurologic toxicity in a retrospective series. *J. Clin. Oncol.* 1998; 16: 864–71.
53. O'Neill B. P., O'Fallon J. R., Earle J. D. et al. Primary central nervous system non-Hodgkin's lymphoma: survival advantages with combined initial therapy? *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1995; 33: 663–73.
54. Schultz C., Scott C., Sherman W. et al. Preirradiation chemotherapy with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and dexamethasone for primary CNS lymphomas: initial report of radiation therapy oncology group protocol 88-06. *J. Clin. Oncol.* 1996; 14: 556–64.
55. Bessell E. M., Graus F., Punt J. A. et al. Primary non-Hodgkin's lymphoma of the CNS treated with BVAM or CHOD/BVAM chemotherapy before radiotherapy. *J. Clin. Oncol.* 1996; 14: 945–54.
56. Camilleri-Broet S., Martin A., Moreau A. et al. Primary central nervous system lymphomas in 72 immunocompetent patients: pathologic findings and clinical correlations. Groupe Quest Est d'etude des Leucemies et Autres Maladies du Sang (GOELAMS). *Am. J. Clin. Pathol.* 1998; 110: 607–12.
57. Dorreen M. S., Ironside J. W., Bradshaw J. D. et al. Primary intracerebral lymphoma: a clinicopathological analysis of 14 patients presenting over a 10-year period in Sheffield. *Q. J. Med.* 1988; 67: 387–404.
58. Davey P., Catton C., Ngan B., Whitton A. Phase I study of hyperfractionated whole brain irradiation (HWBI) in the treatment of primary cerebral lymphoma. *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)* 1993; 5: 159–64.
59. Sandor V., Stark-Vanes V., Pearson D. et al. Phase II trial of chemotherapy alone for primary CNS and intraocular lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 1998; 16: 3000–6.
60. Chamberlain M. C., Kormanik P. A., Barba D. Complications associated with intraventricular chemotherapy in patients with leptomeningeal metastases. Department of Neurosciences, University of California at San Diego, 92093–8421, USA. *J. Neurosurg.* 1997; 87(5): 694–9.
61. Lishner M., Perrin R. G., Feld R. et al. Department of Medicine, Ontario Cancer Institute, Toronto, Canada. *Arch. Intern. Med.* 1990; 150(1): 173–6.
62. Gubkin A., Stroiakovski D., Pivnik A. TioTherpa, BCNU, VM-26, Dexamethasone, and High-dose Methotrexate (TioCaTeMeD) As Therapy for Primary CNS Lymphoma (PCNSL). 8-th International Conference on Malignant Lymphoma. *Ann. Oncol.* 2002; 13(Suppl. 2): 125.
63. Jellinger K. A., Paulus W. Primary central nervous system lymphomas — an update. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1992; 119: 7–27.
64. Rubenstein J. L., Combs D., Rosenberg J. et al. Rituximab therapy for CNS lymphomas: targeting the leptomeningeal compartment. *Blood* 2003; 101(2): 466–8.
65. Pels H., Schulz H., Manzke O., Hom E. et al. Intraventricular and intravenous treatment of a patient with refractory primary CNS lymphoma using rituximab. *J. Neurooncol.* 2002; 59(3): 213–6.
66. Pivnik A., Gubkin A., Nikolaeva T. Mabthera in the treatment of primary CNS lymphomas (PCNSL). 8th International Conference on Malignant Lymphoma. *Ann. Oncol.* 2002; 13(Suppl. 2): 125.



Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при множественной миеломе

К. Н. Мелкова [1], С. Н. Абдусаламов [1], Н. В. Горбунова [1], С. В. Воробьева [1],
О. М. Вотякова [1], Т. З. Чернявская [1], Г. П. Фролов [2]

РЕФЕРАТ

Stem cell transplantation in patients with multiple myeloma

K. Melkova [1], S. Abdusalamov [1], N. Gorbounova [1],
S. Vorobyeva [1], O. Votyakova [1], T. Chernyavskaya [1],
G. Frolov [2]

SUMMARY

In the present article the literary data of treatment a multiple myeloma is analyzed and the private experience of high-dose chemotherapy is presented. Modern representations about possibilities of autologous and allogeneic stem cell transplantation during the period of supervision over the patients with multiple myeloma and the concept of authors about a role of stem cell transplantation are stated.

Keywords:

multiple myeloma, stem cell transplantation.

[1] N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow

[2] All-Russian Centre of Disaster Medicine «Zachita» of Roszdrazv, Moscow

Контакты: melkova67@rambler.ru

Принято в печать: 18 ноября 2008 г.

В настоящей статье проанализированы литературные данные по лечению множественной миеломы (ММ) и приведен собственный опыт высокодозной терапии. Изложены современные представления о возможностях использования аутологичной и аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в течение всего периода наблюдения за пациентом с ММ, а также концепция авторов о роли трансплантации.

Ключевые слова

множественная миелома, трансплантация костного мозга.

Множественная миелома (ММ) относится к достаточно часто встречающимся гемобластозам и составляет 10% всех гематологических злокачественных заболеваний. Болеют ММ в основном лица пожилого возраста. Медиана возраста в дебюте заболевания 69 лет для мужчин и 71 год для женщин, только менее 5% пациентов в момент установления диагноза не достигают 40 лет.¹ Как и при ряде других лимфопролиферативных заболеваний, при ММ существуют различные формы, значительно отличающиеся по лечебной тактике и прогнозу. Тем не менее общей чертой всех форм ММ является невозможность излечения с помощью химиотерапии. Именно поэтому основным критерием эффективности терапии ММ является общая выживаемость.

За последнее время результаты лечения больных ММ существенно улучшились: общая 5-летняя выживаемость возросла с 25% в 1975 г. до 34% в 2003 г.^{2,3} Эти результаты обусловлены, прежде всего, разработкой и широким внедрением программной терапии, включающей аутологичную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). В дотрансплантационный период медиана выживаемости

при использовании различных курсов химиотерапии составляла не более 36 мес., тогда как при применении программ лечения, включающих аутологичную ТГСК, этот показатель превысил 50 мес.⁴ Благодаря аутологичной ТГСК повысилась частота полных ремиссий (ПР), что является благоприятным прогностическим фактором для продолжительности ремиссии и выживаемости.⁵⁻⁷

На сегодняшний день классическим режимом подготовки перед трансплантацией при ММ считаются высокие дозы мелфалана (ВДМ). ВДМ впервые были апробированы для лечения ММ в начале 1980-х годов. При лечении мелфаланом в дозе 100–140 мг/м² 9 пациентов (1 — с впервые выявленным плазмобластным лейкозом и 8 — с ММ, в т. ч. впервые выявленной), 3 из 5 ранее нелеченных больных достигли ПР.⁸ Лечение обладало высокой гематологической токсичностью, что серьезно ограничивало его использование. В 1986 г. было показано, что высокая гематологическая токсичность успешно преодолевается путем переливания аутологичного костного мозга и что ВДМ (80–140 мг/м²) действительно позволяют преодолевать рефрактерность при ММ, хотя длительность терапевти-

[1] РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

[2] Всероссийский центр медицины катастроф «Защита» Росздзрава, Москва

ческого ответа была короткой (медиана 4 мес.).⁹ Поскольку даже у резистентных к стандартной химиотерапии пациентов частота достижения ПР достигала 20–50%,¹⁰ исследования роли ВДМ были продолжены многими центрами. Еще в одной группе больных с рефрактерной ММ было показано, что мелфалан в дозе 200 мг/м² обладает приемлемой переносимостью, риск гематологической токсичности минимизируется при переливании стволовых клеток периферической крови (СКПК), применение ВДМ увеличивает длительность терапевтического ответа — бессобытийную и общую выживаемость — по сравнению со стандартной химиотерапией.¹¹

Полученные результаты стали основанием для изучения роли ВДМ при лечении больных с впервые выявленной ММ. Уже первое рандомизированное исследование, завершённое в 1996 г., показало, что по сравнению со стандартной химиотерапией проведение аутологичной трансплантации статистически достоверно увеличивает частоту ответа на лечение, удлиняет общую и бессобытийную выживаемость.¹² Данные результаты оказались воспроизводимыми. В 2003 г. другое исследование по сравнению высокодозной и стандартной терапии продемонстрировало увеличение частоты полного ответа и общей выживаемости в группе с трансплантацией (54 vs 42 мес.), выигрыш оказался явно более отчетливым у пациентов с плохим прогнозом.¹³ Однако при более длительных сроках наблюдения (медиана 76 мес.), по результатам американского исследования (510 пациентов), не зарегистрировано различий между группами по частоте ответа, общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования.¹⁴ Одним из объяснений этого факта является неизбежное (100%) прогрессирование ММ в обеих группах больных, хотя и в более поздние сроки в группе перенесших трансплантацию. Другое объяснение кроется в различиях между «американской» и «французской» высокодозной и стандартной терапией. Американская группа использовала явно более агрессивную и токсичную программу лечения (включая режим кондиционирования перед трансплантацией), что, возможно, также повлияло на результаты.

На ранних стадиях изучения аутологичной трансплантации при ММ режим подготовки включал тотальное терапевтическое облучение тела (ТТО) в миелоаблативных дозах (8–10 Гр). В последнее время используют химиотерапевтические режимы подготовки, которые оказались не менее эффективными, но менее токсичными. Режимы подготовки, включающие ТТО в немиелоаблативной дозе (2 Гр), в настоящее время применяют при аллогенных трансплантациях. Для оценки влияния на исход аутологичной трансплантации режима кондиционирования выполнялось сравнение стандартного (мелфалан 200 мг/м²) и исследуемого протоколов. Последний включал этопозид (200 мг/м²/сут с –6-го до –4-го дня), тиотепа (60 мг/м²/сут с –5-го до –3-го дня) и мелфалан (60 мг/м²/сут с –4-го до –2-го дня). В обеих группах не наблюдалось смертности, связанной с трансплантацией. В группе больных, лечившихся мелфаланом, живы 60% пациентов, медиана наблюдения составила 41 мес., медиана общей выживаемости — 71 мес. В группе больных, получивших кондиционирование тремя препаратами, живы также 60% пациентов, медиана наблюдения составила 79 мес., медиана общей выживаемости не достигнута.¹⁵ Начаты исследования протоколов подготовки перед трансплантацией, содержащих мелфалан в сочетании с бортезомибом.

Представляет интерес исследование, которое включало 190 пациентов в возрасте 55–65 лет, рандомизированных для проведения высокодозной или стандартной терапии. Исследование формировалось специально для пациентов старшего возраста. Если медиана возраста в предыдущих исследованиях составляла 54–57 лет, то в этом исследова-

нии — 61 год. После 120 мес. наблюдения не было отмечено значительных различий в общей выживаемости, но имелась тенденция к увеличению бессобытийной выживаемости в группе перенесших трансплантацию. Кроме того, в группе с включением в терапию трансплантации был значительно больше период хорошего качества жизни, для которого даже был изобретен термин «TWiSTTs» (time without symptoms or treatment toxicity) — время жизни без симптомов болезни и токсичности лечения. Авторы сделали вывод, что для пациентов пожилого возраста выбор между высокодозной и стандартной терапией должен делаться с учетом пожеланий больного. Например, ранняя трансплантация может быть предпочтительной, т. к. пациент в течение длительного времени сможет обходиться без лечения. В этом же исследовании, однако, было показано, что при ранней трансплантации и при использовании трансплантации в качестве терапии «спасения» общая выживаемость существенно не различается.¹⁶

В ряде исследований продемонстрировано, что прогрессирование болезни после индукционной терапии не исключает хорошего ответа на аутологичную трансплантацию.^{13,17,18} Например, в одном из них при сравнении результатов аутологичных трансплантаций, проведенных у имеющих прогрессирование ММ на фоне первичной индукционной терапии (50 пациентов) и у «химиочувствительных» больных (100 пациентов), было показано, что выживаемость без прогрессирования в течение года со времени трансплантации составила 70 и 83% соответственно.¹⁷ **Аутологичная трансплантация является наиболее эффективным лечением первично прогрессирующей миеломы** по сравнению с химиотерапией «спасения» и с аллогенной трансплантацией.^{19,20} Это нашло свое отражение в рекомендациях NCCN-2009.

Одной из существующих в настоящее время тактик лечения пациентов с впервые выявленной ММ является выполнение тандем-трансплантации.²¹ Термин **«тандем-трансплантация» означает выполнение запланированного второго курса высокодозной терапии с аутологичной трансплантацией в течение 6 мес. после первого курса.** Изучение планируемой тандем-трансплантации было начато в группе рефрактерных больных¹¹ и продолжено у больных с впервые выявленной ММ. В одном из исследований пациентов с впервые установленным диагнозом ММ рандомизировали на проведение одной трансплантации (кондиционирование ВДМ + ТТО) или тандем-трансплантации (кондиционирование ВДМ и ВДМ + ТТО). Программу тандем-трансплантации удалось выполнить у 78% рандомизированных пациентов, медиана интервала между первым и вторым курсом ВДМ была равна 2,5 мес. Вероятность бессобытийного выживания в течение 7 лет составила 10% в группе с одной трансплантацией и 20% — в группе с тандем-трансплантацией.²² При анализе результатов выяснилось, что наибольший выигрыш от тандем-трансплантации имеют пациенты, не достигшие ПР или очень хорошего частичного ответа в течение 3 мес. после первой аутологичной трансплантации. Авторы полагают, что основное преимущество тандем-трансплантации — не увеличение количества ответивших на лечение больных, а удлинение продолжительности ответа.²³ Заключение о наилучшем эффекте от второй трансплантации у пациентов, не достигших ПР или почти полной ремиссии (ППР) после первой, подтверждается в другом исследовании при использовании высокодозных режимов, не включающих ТТО.²⁴ Однако другие четыре рандомизированных исследования, сравнивающие одну трансплантацию с тандемной, не выявили удлинения продолжительности жизни больных после тандемной трансплантации.^{25–28} На сегодняшний день выполнение тандем-

трансплантации не является стандартной рекомендацией, считается, что это целесообразный вариант лечения пациентов с частичной ремиссией (ЧР) или стабилизацией после 1-й аутологичной трансплантации. Отсутствие воспроизводимых результатов, полученных в рандомизированных исследованиях, по-видимому, требует дальнейшего наблюдения для подтверждения этого заключения.

В целом из анализа результатов указанных выше исследований можно сделать следующие выводы:

- у пациента, исходно получившего только стандартную первичную химиотерапию; первая аутологичная трансплантация проведена в рецидиве ММ, а в настоящее время вновь имеется прогрессирование;
- у пациента с ПР или ППР, достигнутой после аутологичной трансплантации, имеется прогрессирование.

Для полноценного анализа роли повторной трансплантации у этих категорий больных нет достаточных данных. Однако обзор результатов лечения такой популяции пациентов показывает, что у некоторых больных этой группы могут быть получены долговременные ПР или ЧР.²⁹

Стандартная индукционная химиотерапия с последующей аутологичной трансплантацией не приводит к излечению опухоли, у пациентов, достигших ремиссии, всегда развивается рецидив. Неудача лечения заставляет постоянно искать и апробировать новые программы терапии.

Единственным излечивающим методом при ММ на настоящий момент оказалась **аллогенная трансплантация костного мозга**. Излечивающий эффект при аллогенной трансплантации обусловлен реакцией «трансплантат против опухоли», что подтверждается успешным применением переливаний лимфоцитов донора в случае посттрансплантационного рецидива.³⁰⁻³³ У пациентов, достигших молекулярной ремиссии после выполнения аллогенной трансплантации, риск рецидива крайне низок.³⁴

Аллогенная трансплантация может проводиться после миелоаблативной или немиелоаблативной подготовки. Использование аллогенной трансплантации после миелоаблативного кондиционирования сопряжено с высокой смертностью в связи с трансплантационными осложнениями, что привело к развитию практики аллогенных трансплантаций после немиелоаблативных режимов подготовки.^{30,35,36} При этом подходе сохраняется эффект «трансплантат против опухоли», но смертность, связанная с трансплантацией, существенно снижается.³⁷⁻³⁹ Одна из современных стратегий лечения ММ включает аутологичную трансплантацию с последующей (в течение ближайших 3 мес.) аллогенной трансплантацией после немиелоаблативного кондиционирования (ауто/алло-трансплантация). Такой метод лечения может быть предложен только очень немногим пациентам. Основные ограничения продиктованы отсутствием подходящего донора и строгим возрастным цензом.

Серьезная токсичность (смертность, связанная с трансплантацией, составляет 15–40 %) — плата за реальную возможность излечения ММ.^{33,40} В обзоре 1999 г. выполнение аллогенной трансплантации при ММ не рекомендуется из-за высокой смертности, несмотря на излечение части больных.⁴¹ В других обзорах приводятся данные об увеличении смертности без улучшения выживаемости.^{29,42} Тем не менее имеются чрезвычайно интересные результаты, полученные в рандомизированном исследовании, сравнивающем аутологичную трансплантацию и обычную химиотерапию.¹⁴ При проектировании исследования в нем была предусмотрена еще одна линия: пациентам, имеющим HLA-идентичного донора, предполагалось выполнение аллогенной трансплантации. В группе из 36 больных, получивших аллогенную трансплантацию, смертность в течение 6 мес. составила

45 %, и эта линия исследования была закрыта. Через 7 лет при подведении итогов лечения оказалось, что общая выживаемость в группах, получивших химиотерапию, аутологичную и аллогенную трансплантацию, идентична и составляет 39 %. Причем, если кривые выживаемости первых двух групп имели тенденцию к продолжению снижения, то кривая в группе аллогенной трансплантации образовала плато на уровне 39 %. Иными словами, эта часть пациентов оказалась кандидатами на долгожительство. Данный факт возобновил интерес к аллогенной трансплантации при ММ, особенно в связи с отсутствием излечений после единичной и tandem-аутологичной трансплантации.

В настоящее время накапливаются результаты, свидетельствующие о том, что использование ауто/алло-трансплантации приводит к выраженному противоопухолевому эффекту при ММ и предупреждает прогрессирование болезни более эффективно, чем tandem-трансплантация.

Рабочая группа EBMT в 2008 г. привела предварительные результаты лечения 356 больных ММ по программам, включавшим либо ВДМ (мелфалан 200 мг/м²), либо ауто/алло-трансплантацию от HLA-идентичного родственного донора (флудара по 30 мг/м² 3 раза + ТТО 2 Гр). При отсутствии значимых различий в смертности, связанной с трансплантацией (4 и 11 %; $p = 0,05$), частота рецидива составила 48 и 43 % соответственно, безрецидивная выживаемость — 46 % в обеих группах. Общая выживаемость также существенно не различалась (70 и 67 %), однако кривая общей выживаемости в группе ауто/алло-трансплантации после 3 лет наблюдения образовала плато на уровне 60 %; в группе ВДМ плато не формируется. Результаты других исследований, представленных на EBMT, свидетельствуют о том, что использование аллогенной трансплантации после кондиционирования сниженной интенсивности приводит к выраженному противоопухолевому эффекту при ММ и предупреждает прогрессирование болезни более эффективно, чем аутологичная tandem-трансплантация.⁴³

Еще одно исследование, включившее 162 пациента с впервые выявленной ММ, подтвердило большую эффективность ауто/алло-трансплантации по сравнению с tandem-трансплантацией. Выбор лечения основывался на наличии или отсутствии HLA-идентичного родственного донора. Медиана наблюдения за группой составила 45 мес., медиана общей выживаемости была 54 мес. в группе с tandem-трансплантацией и 80 мес. — с ауто/алло-трансплантацией ($p = 0,01$).⁴⁴

В качестве донора для аллогенной трансплантации при ММ чаще всего используется HLA-идентичный родственник. При использовании в программе ауто/алло-трансплантации неродственного донора отмечено быстрое восстановление гемопоэза, сравнимое по скорости с трансплантацией от родственника. Двухлетняя общая выживаемость составила при неродственной и родственной трансплантации 62 и 82 % соответственно, выживаемость без прогрессирования — 55 и 20 % соответственно.⁴⁵

Безусловный интерес представляют **прогностические факторы эффективности аллогенной трансплантации при ММ**. Еще в 1995 г. в исследовании, включившем 162 HLA-идентичных родственных трансплантации (7-летняя общая выживаемость 28 %), было показано, что к факторам благоприятного прогноза относится небольшой объем опухолевой массы, наличие предтрансплантационного ответа на химиотерапию и проведение трансплантации после первой линии химиотерапии.⁴⁶ Позже при изучении прогностических факторов в анализ было включено 229 больных после ауто/алло-трансплантаций.⁴⁷ Общая выживаемость и выживаемость без прогрессирования в течение 3 лет составила 41 и 21 % соответственно. Низкая выживаемость ассоцииро-

валась с химиорезистентностью болезни и более чем одной предшествующей трансплантацией. Высокая выживаемость ассоциировалась с наличием реакции «трансплантат против хозяина», подчеркивая важность эффекта «трансплантат против опухоли». Авторы сделали заключение, что ауто/алло-трансплантация — полезный вид терапии, но у получивших многократное предшествующее лечение и пациентов с прогрессированием вряд ли будет иметь эффект.

Важность статуса ММ перед аллогенной трансплантацией продемонстрировало многоцентровое ретроспективное исследование, в которое было включено 219 больных в возрасте 27–66 лет (медиана 52 года), получивших трансплантацию от совместимых сиблингов (197 случаев) или неродственного донора (22 случая). На момент аллогенной трансплантации 37 (17%) больных находились в ПР или очень хорошей ЧР, 134 (61%) — в ЧР, у 48 пациентов была стабилизация (15 случаев) или рефрактерность к лечению (33 случая). Все больные непосредственно до аллогенной трансплантации получили как минимум одну аутологичную. Смертность, связанная с трансплантацией, составила 15%. Общая и выживаемость без прогрессирования в течение 3 лет составили 41 и 19% соответственно. Статус болезни перед аллогенной трансплантацией был чрезвычайно важен для общей выживаемости ($p = 0,0002$). При многофакторном анализе выявлено, что от предтрансплантационного статуса зависела как общая ($p = 0,005$), так и выживаемость без прогрессирования ($p = 0,004$).⁴⁸

В проспективном исследовании сравнение результатов лечения впервые выявленной ММ высокого риска (уровень β_2 -микроглобулина более 3 мг/дл или делеция длинного плеча хромосомы 13) с помощью тандем-трансплантации и ауто/алло-трансплантации не выявило существенных различий в общей и бессобытийной выживаемости.⁴⁹

Из приведенных в литературе сведений можно заключить, что аллогенная трансплантация используется как в программе первичной терапии, так и в качестве терапии «спасения». Поскольку общее число пациентов, получающих такое лечение, мало, не удивительно, что отсутствуют рандомизированные исследования, сравнивающие аутологичные и аллогенные трансплантации. Получены интересные данные об использовании тандем- или ауто/алло-трансплантации у больных ММ, первично рефрактерных к стандартной химиотерапии. Выживаемость 50 из 81 таких больных оказалась сходной с наблюдаемой у «химиочувствительных» пациентов, получавших аналогичную высокодозную терапию.⁵⁰ В качестве терапии «спасения» ауто/алло-трансплантация проводилась у 54 пациентов с леченным рецидивом или прогрессированием. Были получены обнадеживающие результаты: общая выживаемость к 552-му дню составила 78%, при этом частота общего ответа — 83%, частота ПР — 57%.³⁷

Таким образом, в настоящее время аллогенная трансплантация является одним из видов рекомендуемого лечения ММ в рамках клинических исследований. В первую очередь кандидатами на аллогенную трансплантацию являются пациенты, отвечающие на первичную терапию. Однако трансплантация может также выполняться и в случае первичного прогрессирования, и при прогрессировании после аутологичной трансплантации.

До получения большего количества данных и информации невозможно дать однозначных рекомендаций в отношении использования аллогенной трансплантации при ММ.

Суммируя все вышеизложенное, основные положения мы отразили в схеме, представленной на рис. 1.

По данным российского регистра, количество трансплантаций при ММ растет.⁵¹ Тем не менее в России не-

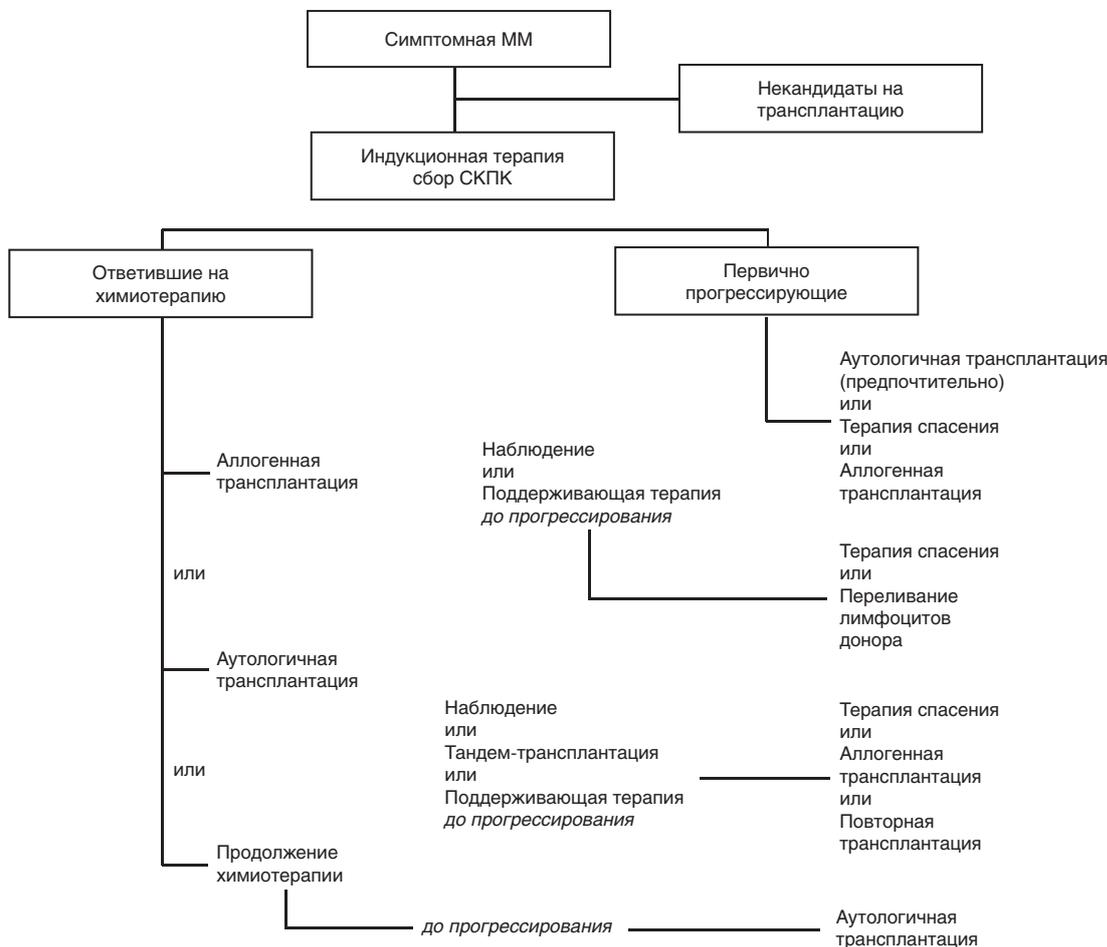


Рис. 1. Лечение пациентов с впервые выявленной ММ — кандидатов на трансплантацию

обходимость выполнения ВДМ в качестве этапа лечения впервые выявленной ММ поддерживают лишь немногие гематологи. В **русской литературе** представлены следующие **разнообразные позиции**. По мнению одних авторов, современная тактика лечения больных ММ представляет раннее использование ВДМ,⁵² в т. ч. при резистентной к лечению ММ,⁵³ а также у пациентов старшего возраста и с сопутствующей патологией.⁵⁴ В другой публикации целесообразным расценивается выполнение мобилизации и сбора СКПК с последующей тандем-трансплантацией только у пациентов с ПР или ЧР при уровне М-градиента менее 5 г/л.⁵⁵ Еще одной позицией является начало химиотерапии с программы VAD и заготовки СКПК только у соматически сохраненных больных до 65 лет в прогностически благоприятных случаях (данные цитогенетического анализа, уровень β_2 -микроглобулина и С-реактивного белка), которых не более 30–50%. После этого рекомендуется проводить стандартную химиотерапию до достижения стадии плато и только в случае прогрессирования переходить к ВДМ с трансплантацией.⁵⁶ Существует даже мнение, что «хотя некоторые рандомизированные исследования показали положительные результаты от высокодозной терапии у части химиочувствительных больных ММ, в целом этот метод лечения не приводит к излечению, но может значительно ухудшить качество их жизни».⁵⁷ В последнем случае точка зрения автора (не трансплантолога) противоречит данным литературы¹⁶ и нашему опыту.

Таким образом, несмотря на большое количество рандомизированных исследований, благодаря которым ВДМ с последующим введением аутологичных ГСК вошли в программы лечения больных ММ, окончательная роль ТГСК в России остается предметом дискуссий. Далее мы излагаем свою концепцию и свой подход к лечению ММ.

Диагноз ММ поставлен. Кому из пациентов надо тут же планировать трансплантацию?

На самом деле, правильнее задать вопрос: кому **не** надо планировать трансплантацию сразу после верификации диагноза ММ?

Во-первых, это группа больных, которых вообще не следует начинать лечить. Пациенты с тлеющей (smoldering) миеломой и ММ I стадии не нуждаются в первичной индукционной терапии, т. к. болезнь у них длительное время (от нескольких месяцев до нескольких лет, медиана 26 мес.) может не прогрессировать. Такие пациенты нуждаются только в динамическом наблюдении с интервалом 3–6 мес.¹ Химиотерапия проводится только после констатации прогрессирования и появления симптомов болезни, т. е. при ММ II стадии.

Во-вторых, это пациенты с солитарной плазмоцитомой. Они также не нуждаются в системной индукционной химиотерапии и в дебюте болезни не являются кандидатами на трансплантацию. Показана только локальная лучевая терапия (очаговая доза — 40–50 Гр). Выживаемость в течение 5 лет превышает 70%.¹

И наконец, из группы кандидатов на трансплантацию исключаются больные старше 70 лет.

Все остальные пациенты с впервые выявленной ММ считаются кандидатами на плановую аутологичную ТГСК в течение первого года лечения ММ. Трансплантационный центр, где будет проводиться это лечение, может внести существенные коррекции в окончательный отбор больных.

С августа 2006 г. по ноябрь 2008 г. в нашем трансплантационном центре у 25 больных ММ было выполнено 27 курсов ВДМ с аутологичной трансплантацией СКПК. Характеристика пациентов представлена в табл. 1. Смертей, связанных с трансплантацией, не наблюдалось.

Таблица 1. Характеристика больных ММ, получивших аутологичную трансплантацию в ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН

Всего больных		25
Пол	Мужчины	15
	Женщины	10
Возраст	32–59 лет	Медиана 51 год
Тип иммуносекреции	IgG	12
	IgA	4
	Белок Бенс-Джонса	6
	Несекретирующая миелома	3
Стадия ММ в дебюте	IIA	6
	IIB	1
	IIIA	13
	IIIB	5
	< 3,5 мг/л	16
	3,5–5,5 мг/л	5
	> 5,5 мг/л	1
Уровень β_2 -микроглобулина	Неизвестен	3
Цитогенетический прогноз	Неблагоприятный	3

* Плохой прогноз при ММ ассоциируется с хромосомными аномалиями двух видов: del(13) и t(4;14).

На усмотрение трансплантационного центра при отборе кандидатов на трансплантацию остаются следующие аспекты.

- **Возрастной ценз.** Ряд исследований проведен в группе больных до 75 лет, возраст не всегда является критерием исключения, но доза мелфалана у пожилых больных может редуцироваться для снижения частоты и тяжести осложнений.⁵⁸ Однако на практике существуют ограничения по возрасту, разные в различных центрах. В нашем центре возрастной ценз при ММ для аутологичной трансплантации составляет 70 лет, для аллогенной — 60 лет. Но обычно возраст наших пациентов значительно меньше, это объясняется исключительно тем, что для проведения трансплантации направляются уже отобранные не трансплантологом пациенты.
- **Соматический статус и сопутствующая патология.** Все кандидаты на высокодозную химиотерапию должны иметь удовлетворительную функцию печени, почек, легких и сердца и статус по Карновскому более 70%. В нашем центре требования к кандидатам на трансплантацию следующие: фракция выброса левого желудочка 40% и более, клиренс креатинина 50 мл/мин и более, объем форсированного выдоха за 1-ю секунду более 40%, уровень билирубина менее 1,5 мг/дл, допускается повышение активности аминотрансфераз не более чем в 2 раза по сравнению с нормой. При ММ пациенты с нарушением почечной функции могут не исключаться из программ высокодозной терапии, хотя следует учитывать, что почечные нарушения могут быть связаны с увеличением гематологической токсичности. Исключения могут делаться и при наличии другой патологии внутренних органов. Например, из 25 пациентов, получивших трансплантацию в ГУ РОНЦ, 14 имели сердечно-сосудистую, почечную или другую патологию, которая в ряде случаев явилась причиной коррекции программы высокодозной терапии. Так, у 2 больных с клиренсом креатинина менее 50 мл/мин доза мелфалана была редуцирована с

Таблица 2. Особенности сопроводительной терапии у больных ММ

Костные поражения	Бисфосфонаты (памидронат, золендроновая кислота) Абсолютно показаны всем пациентам, имеющим любые костные поражения <ul style="list-style-type: none"> • Бисфосфонаты при тлеющей ММ или ММ I стадии используются в рамках клинических исследований. Пациентам должно проводиться обследование костной системы ежегодно • При лечении бисфосфонатами необходим мониторинг функции почек • Необходим мониторинг для выявления возможного остеонекроза челюсти
Лучевая терапия	<ul style="list-style-type: none"> • Низкие дозы лучевой терапии (10–20 Гр) могут использоваться в качестве паллиативного лечения при неконтролируемом болевом костном синдроме, при угрозе перелома кости или компрессии спинного мозга • Должны использоваться ограниченные поля облучения, чтобы предотвратить повреждение гемопоэтических стволовых клеток и предотвратить влияние на возможности последующей терапии
Необходимость консультации ортопеда	Для предупреждения перелома и в случае состоявшегося перелома длинных костей или костной компрессии спинного мозга или нестабильности позвоночника
Обсуждение вертебропластики и кифопластики	При симптомных компрессионных переломах позвоночника
Гиперкальциемия	Гидратация/фуросемид, бисфосфонаты, стероиды и/или кальцитонин
Гипервязкость	При симптомах гипервязкости плазмаферез должен использоваться в качестве дополнительной терапии
Анемия	<ul style="list-style-type: none"> • В соответствии с рекомендациями по лечению анемии онкологических больных • Обсуждение вопроса назначения эритропоэтина
Инфекция	<ul style="list-style-type: none"> • В соответствии с рекомендациями по профилактике и лечению инфекционных осложнений у онкологических больных • В/в иммуноглобулин должен использоваться при повторных угрожающих жизни инфекциях • Обсуждение назначения вакцинации против пневмококка и вируса гриппа • Обсуждение профилактики против пневмоцистной и герпетической инфекции, противогрибковой — при курсах с высокими дозами дексаметазона • Обсуждение профилактики инфекции, вызванной вирусом герпес зостер при курсах с бортезомибом
Признаки нарушения функции почек	<ul style="list-style-type: none"> • Трансплантация не противопоказана • Гидратация для предотвращения почечной недостаточности • Исключение нестероидных противовоспалительных препаратов • Исключение внутривенного контраста • Возможно, плазмаферез Мониторирование почечной функции при длительном использовании бисфосфонатов
Коагуляция/тромбозы	Рекомендован профилактический прием антикоагулянтов при лечении сочетанием дексаметазона с талидамидом и леналидомидом

200 до 120 мг/м². Выбор режима мобилизации СКПК (в стабильной фазе гемопоэза или после введения циклофосфана в той или иной дозе) также зависел от индивидуальных характеристик пациента.

- **Форма и прогноз ММ.** Решение о выполнении трансплантации при отдельных формах ММ (плазмобластный лейкоз, несекретирующая или низкосекретирующая ММ, ММ плохого прогноза и т. п.) также остается на усмотрение конкретных трансплантационных центров, практика которых может существенно различаться. В трансплантационном центре ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина не проводится отбора кандидатов на трансплантацию в зависимости от типа иммуносекреции, стадии болезни и прогноза ММ в дебюте заболевания.
- **Ответ ММ на индукционную терапию.** Как уже отмечалось выше, отдельные центры у пациентов без достаточного ответа на первичную терапию (ПР, ЧР) не проводят даже заготовку ГСК. В нашем трансплантационном центре не проводится селекции кандидатов на трансплантацию в зависимости от ответа на индукционную терапию. Так, из 25 пациентов, получивших ВДМ с аутологичной трансплантацией, ответ на первичную индукцию продемонстрировал 21 больной, четверо получили трансплантацию в фазе активного прогрессирования ММ.
- **Вариант трансплантации.** Вариант трансплантации (единичная аутологичная трансплантация, тандем-трансплантация, аллогенная трансплантация) зависит от конкретной клинической ситуации, а также от принятой в конкретном трансплантационном центре практики и/или текущего протокола лечения. В России пока не проводятся исследования роли аллогенных трансплантаций при ММ, отдельные немногочисленные попытки не были успешны. Из 25 пациентов нашего центра у троих имеется HLA-идентичный родственный донор, им всем предложена аллогенная трансплантация, на которую мы склонны пойти в случае их согласия.

Чем раньше пациент будет консультирован трансплантологом, тем адекватнее будет выбор программы его лечения (в т. ч. и индукционной химиотерапии).

Пациенты с активной (наличие симптомов) ММ II–III стадии обычно получают первичную индукционную химиотерапию, выбор которой прежде всего зависит от перспективы выполнения ТГСК у конкретного больного.

У пациентов, которым планируется проведение трансплантации, должны быть исключены схемы терапии, содержащие препараты, токсичные для стволовых клеток и способные повредить их резерв, такие как нитрозомочевина или алкилирующие агенты (особенно мелфалан!). Поэтому одним из первых шагов в работе является оценка больного ММ в продвинутой стадии как возможного кандидата на трансплантацию. Чтобы пациент сохранил свой статус кандидата на трансплантацию, чрезвычайно важно при проведении первичной индукционной терапии назначать адекватное сопроводительное лечение. Костные поражения (имеющиеся у 80% больных ММ), дефекты функции почек (до 33% больных) и другие осложнения (гиперкальциемия, гипервязкость, нарушения свертывания/тромбозы, инфекции) должны лечиться соответствующим образом. Болевой синдром должен быть купирован, включая применение опиатов. Особенности сопроводительной терапии у больных ММ в соответствии с NCCN-2009 представлены в табл. 2.

Индукционная химиотерапия у больных ММ II–III стадии

Поскольку индукционная терапия проводится еще до поступления пациента в трансплантационный центр, выбор режима индукции остается на усмотрение гематолога, наблюдающего больного. Оптимальным является совместное обсуждение схемы первичной индукции гематологом и трансплантологом (очная или заочная консультация).

В мире выполняются многочисленные исследования для выявления схем первичной индукционной терапии, увеличивающих частоту ПР в группах пациентов, являющихся кандидатами на трансплантацию, и для некаандидатов.

Результаты последних исследований показывают, что широко использующийся VAD больше не может быть реко-

мендован в качестве индукционной терапии у кандидатов на трансплантацию. Вместо него целесообразно применять режим DVD (липосомный доксорубин/винкристин/дексаметазон), который, будучи столь же эффективным, обладает значительно меньшей токсичностью и меньшей потребностью в сопроводительной терапии.⁵⁹

Стандартной индукционной терапией ММ перед трансплантацией остается монотерапия дексаметазоном. Однако в последнее время дексаметазон сочетают с талидомидом. В рандомизированном исследовании, включившем 207 пациентов с впервые выявленной ММ, частота ответа на режим талидомид-дексаметазон была значительно выше по сравнению с монотерапией дексаметазоном (63 vs 41% соответственно).⁶⁰ Сборы СКПК для последующей трансплантации были успешными в обеих группах. Однако использование талидомида сопровождалось выраженной токсичностью. Частым осложнением были тромбозы глубоких вен, что стало причиной обязательного профилактического применения антикоагулянтов при назначении схемы талидомид-дексаметазон. К другим побочным эффектам талидомида относились сыпь, нейропатия и брадикардия. Использование талидомида требует индивидуального согласия пациента и допустимо только после взвешенного анализа «польза-риск»: более высокая частота противоопухолевого эффекта должна быть сопоставлена с риском возможного увеличения частоты клинически значимых осложнений. В качестве одного из возможных вариантов лечения больных с небольшой опухолевой массой может рассматриваться монотерапия дексаметазоном с добавлением к нему талидомида лишь в случае отсутствия ответа на лечение после первых 1–2 мес. монотерапии.

Сочетание нового препарата — леналидомида с дексаметазоном, хорошо зарекомендовавшее себя при лечении рецидивов и рефрактерной ММ, было также изучено в качестве индукционной терапии. У 34 больных с впервые выявленной ММ частота ответа была очень высокой — 91% (в т. ч. 6% ПР, 32% ППР и очень хорошая ЧР). Аналогично талидомиду режим также требует профилактического назначения антикоагулянтов.⁶¹ Применение схемы леналидомид-дексаметазон позволяло в дальнейшем успешно провести мобилизацию и сбор СКПК. Однако, по последним данным,^{62,63} длительная терапия леналидомидом ухудшает качество сбора клеток CD34+, поэтому в случае включения леналидомида в индукцию рекомендуется проводить более раннюю мобилизацию СКПК (до 3–4 мес. от начала лечения).

В настоящее время проводится рандомизированное исследование возможности использования у пациентов с впервые выявленной ММ комбинации низких доз дексаметазона с леналидомидом.⁶⁴ Предварительные результаты показали более высокую общую выживаемость в течение года у пациентов, получающих низкие дозы дексаметазона с леналидомидом по сравнению с высокими дозами дексаметазона с леналидомидом (96,5 vs 86%). Общая выживаемость в течение 18 мес. составила 91 и 80% соответственно. Необходимо дождаться анализа окончательных результатов данного исследования, прежде чем рекомендовать использование низких доз дексаметазона в комбинации с леналидомидом для индукционной терапии кандидатов на трансплантацию. Однако этот режим может быть рекомендован для не кандидатов на трансплантацию.

Бортезомиб — еще одно относительно новое лечебное средство — первый в своем классе ингибитор протеасом, который не только непосредственно воздействует на миеломные клетки, но и влияет на взаимодействие между клетками опухоли и костномозговым микроокружением. Рациональным представляется его комбинация с дексаметазоном. В многоцентровом рандомизированном исследова-

нии, включившем 482 пациента с впервые выявленной ММ, сравнивались курсы бортезомиб-дексаметазон и VAD в качестве первичной индукционной терапии для кандидатов на трансплантацию. Частота ПР составила 21 и 8% соответственно.⁶⁵ После выполнения аутологичной трансплантации (404 пациента) частота достижения ПР возросла до 41 и 29% соответственно. В другом аналогичном исследовании проводилось сравнение эффективности индукционных курсов бортезомиб-талидомид-дексаметазон и талидомид-дексаметазон перед последующей трансплантацией. При промежуточном анализе результатов лечения 256 больных частота ПР составила 36 и 9% соответственно, а после трансплантации количество ПР в группах увеличилось до 57 и 28% соответственно. Высокую эффективность и хорошую переносимость у пациентов с впервые выявленной миеломой показал режим леналидомид-бортезомиб-дексаметазон, который может быть рекомендован в качестве индукционной терапии у кандидатов на трансплантацию. В настоящее время разработаны и другие новые индукционные режимы, находящиеся пока в стадии исследования, например PAD (бортезомиб-дексаметазон-доксорубин). Полный и почти полный эффект были получены при таком лечении в 95% случаев (89% при использовании PAD в низких дозах). Отмечено, что лечение бортезомибом сопровождается увеличением частоты инфекции herpes zoster, для профилактики которой рекомендуется ацикловир.⁶⁶

Основные принципы индукционной терапии для кандидатов на трансплантацию

●	Схемы индукционной терапии у кандидатов на трансплантацию не должны содержать мелфалана
●	Возможные схемы индукционной терапии (с уровнем доказательности по NCCN): Монотерапия дексаметазоном — 2A Талидомид-дексаметазон — 2A DVD — 2A Леналидомид-дексаметазон — 2B Бортезомиб-дексаметазон — 2B Бортезомиб-дексаметазон-талидомид — 2B Бортезомиб-дексаметазон-леналидомид — 2B PAD — 2B
●	VAD к использованию не рекомендован
●	При del(13) — индукция должна включать бортезомиб

В российской практике по разным причинам эти правила часто не соблюдаются, что приводит к неадекватному выбору режима индукционной терапии, а также позднему (более 1 года от начала лечения) выполнению трансплантации. Опыт нашего трансплантационного центра отражен в табл. 3. Мелфалан в режимах индукции использовался у 24% больных.

Таблица 3. Терапия ММ, предшествующая направлению больного в трансплантационный центр

Всего больных		25
Индукционная терапия	VAD/VID*	19
	С включением мелфалана	6
	С включением велкейда	7
Время выполнения ВДМ	В 1-й год от начала химиотерапии	20
	Более 1 года от начала химиотерапии	5
Интервал от начала лечения до трансплантации	6–41 мес.	
	Медиана 10 мес.	

* VID (винкристин, идарубин, дексаметазон) — не требует круглосуточных инфузий.

Ведение пациентов после индукционной терапии

После первичной индукционной терапии (независимо от ее эффекта) кандидаты на трансплантацию подвергаются процедуре сбора стволовых клеток.

Сбор СКПК у больных с впервые выявленной ММ

- Сбор СКПК показан всем больным ММ, способным перенести аутологичную трансплантацию, в т. ч. не отвечающим на индукционное лечение (первичное прогрессирование).
- СКПК заготавливается в количестве, достаточном для проведения 2 трансплантаций.
- Режим мобилизации и сбора СКПК определяется статусом больного.
- Сбор СКПК возможен в стабильной фазе и после использования циклофосфана.
- Доза циклофосфана — 4–7 г/м².

По возможности заготавливается количество СКПК, достаточное для проведения двух трансплантаций (для выполнения тандем-трансплантации либо для планирования второй трансплантации в качестве терапии «спасения»).

Наиболее эффективным режимом мобилизации СКПК являются высокие дозы циклофосфана (4–7 г/м²) с последующей стимуляцией гранулоцитарным колоннестимулирующим фактором (Г-КСФ). В ряде случаев терапия циклофосфаном позволяет преодолеть первичную рефрактерность ММ.

По опыту нашего центра, у абсолютного большинства (85%) больных, не имеющих в анамнезе терапии с включением мелфалана, удалось собрать количество СКПК, достаточное для двух трансплантаций. Из 6 пациентов, получивших в прошлом терапию мелфаланом, у 4 было получено ГСК только для одной трансплантации, причем у одного из них потребовалась дополнительная серия лейкаферезов. При этом количество лейкаферезов в 1-й серии сбора СКПК в группе с мелфаланом в анамнезе было значительно больше, чем без мелфалана, медиана составила 4 против 2 процедур. Эффективность заготовки СКПК при различных режимах мобилизации представлена в табл. 4.

После заготовки ГСК оценивают проведенное лечение. Для оценки эффекта лечения ММ используют две системы критериев: EBMT и IWGM (International Working Group Myeloma). Чаще в клинической практике используются критерии EBMT, критерии IWGM разработаны недавно, и пока им трудно дать объективную оценку. При несекретирующей миеломе (около 3% больных), когда не удается выявить парапротеин в крови или моче, для установления диагноза и оценки эффективности лечения проводится исследование свободных легких цепей в сыворотке крови (FLCs — free light chains).

В период после индукционной терапии и заготовки СКПК пациентам до 60 лет, у которых получен ответ на индукцию и/или введение циклофосфана и имеющим сиблингов, необходимо выполнить HLA-типирование. Наличие HLA-идентичного родственного донора открывает еще одну воз-

можность для дальнейшего лечения этой немногочисленной группы пациентов, а именно выполнение аллогенной трансплантации. В случае первичного прогрессирования ММ выполняется аутологичная трансплантация, HLA-типирование можно проводить позже.

Этап трансплантации

Первая аутологичная трансплантация проводится всем пациентам, у которых успешно завершён сбор СКПК.

Основные принципы выполнения трансплантации у пациентов с впервые выявленной ММ

- На решение о выполнении 1-й аутологичной трансплантации не влияет эффективность индукционной терапии.
- Режим подготовки к 1-й аутологичной трансплантации — ВДМ 200 мг/м².
- 1-я аутологичная трансплантация должна быть проведена в течение года от начала лечения ММ.
- Оценка эффекта от 1-й аутологичной трансплантации проводится через 1,5 мес. от момента ее выполнения.
- Ответившим на лечение пациентам до 60 лет, имеющим HLA-идентичного сиблинга, предлагается аллогенная трансплантация после немиелоаблативного кондиционирования в течение 3 мес. после 1-й аутологичной трансплантации (ауто/алло-трансплантация).
- Основания для отказа от аллогенной трансплантации у больного, имеющего HLA-идентичного донора, — решение трансплантационного центра и/или больного.
- У пациентов, которым не планируется аллогенная трансплантация, но имеющих достаточное для 2-й аутологичной трансплантации количество криоконсервированных ГСК, должен быть решен вопрос о необходимости ее выполнения.
- При решении вопроса о 2-й аутологичной трансплантации принимается во внимание:
 - степень ответа болезни на проведенное лечение (по сравнению с дебютом);
 - эффективность 1-й аутологичной трансплантации.
- При достижении ПР/ППР показано только наблюдение.
- При достижении ЧР и стабилизации вопрос о 2-й аутологичной трансплантации решается следующим образом:
 - если терапевтический эффект после 1-й аутологичной трансплантации не нарастал, проводится 2-я трансплантация после смены режима кондиционирования (например, добавление к ВДМ бортезомиба);
 - если терапевтический эффект после 1-й аутологичной трансплантации увеличился, хотя не достиг ППР, проводится 2-я трансплантация с тем же режимом кондиционирования.

Из наших 25 пациентов, получивших ВДМ с аутологичной трансплантацией, какой-либо ответ на индукционную терапию продемонстрировал 21 больной: ПР/ППР — 3, ЧР — 15, менее ЧР — 3. Еще 4 больных получили трансплантацию в фазе активного прогрессирования ММ. После ВДМ из группы «отвечающих» пациентов ПР достигли 8 (38%) больных, у 13 — констатирована ЧР. Из 4 больных с первичным прогрессированием у одно-

Таблица 4. Собственный опыт заготовки СКПК для трансплантации

Режим мобилизации СКПК	Число серий сборов	Собрано на 2 трансплантации	На 1 трансплантацию	Необходимость в повторной серии сборов
Циклофосфан 6–7 г/м ² + Г-КСФ	13	12	1	—
Циклофосфан 4 г/м ² + Г-КСФ	8	5	3	—
Г-КСФ 10–24 мкг/кг/сут	5	—	4	1
Всего ...	26	17	7	1

Таблица 5. Ответы на индукционную и высокодозную терапию

Фаза ММ перед 1-й трансплантацией	Ответ								
	ПР/ППР	ЧР			Стабилизация	Прогрессирование			
Число больных	3	15			3	4			
Эффект после 1-й трансплантации	ПР	ПР	ЧР		ЧР	ПР	ЧР	Стабилизация	
Число больных	3	5	10		3	1	2	1	
Лечебная тактика	Наблюдение			Пт	Тандем	Наблюдение			
Фаза ММ	ПР	ПР	ЧР	ЧР	ЧР	ПР	ЧР	Стабилизация	
Число больных	3	5	7	1	2	3	1	2	1
Прогрессирование после 1-й трансплантации									
Число больных (время)	—	—	1 (21 мес.)	—	1 (18 мес.)	2 (6 и 8 мес.)	—	—	—

*Пт — поддерживающая терапия.

го получена ПР, у двух — ЧР, у одного — стабилизации опухолевого процесса. Больному со стабилизацией ММ (не было СКПК для 2-й трансплантации) в дальнейшем проводилась терапия с использованием бортезомиба, которая не улучшила противоопухолевый ответ. В настоящее время он жив, находится в состоянии стабилизации (31 мес. +).

Тандем-трансплантации были выполнены только в двух случаях, а именно, у больных, имевших ЧР после первичной индукции и сохранивших ее после первой трансплантации. Оба пациента в настоящее время живы (20+ и 29 мес. +), один находится на поддерживающей терапии талидомидом, у другого возникло прогрессирование ММ через 18 мес. по-

сле трансплантации, в настоящее время получает терапию «спасения».

Остальным пациентам, у которых было собрано количество клеток, достаточное для трансплантаций, планируется повторная аутологичная трансплантация при прогрессировании ММ. Исключение составляют 3 больных, имеющих HLA-идентичного родственного донора, им планируется проведение ауто/алло-трансплантации.

Результаты лечения наших пациентов с использованием аутологичных трансплантацией представлены в табл. 5 и на рис. 2 и 3. Общая выживаемость в течение 2 лет составила 95%.

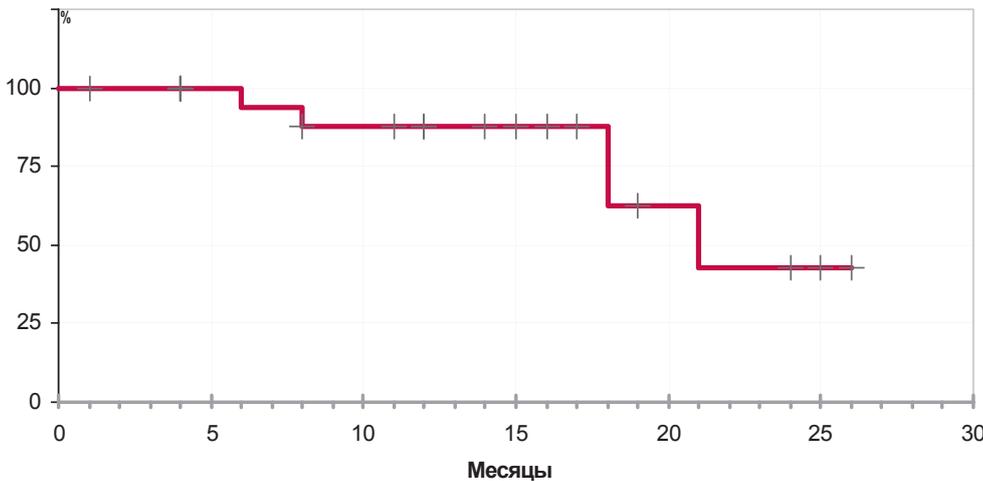


Рис. 2. Выживаемость без прогрессирования после 1-й аутологичной трансплантации (25 больных). Медиана наблюдения за группой — 12 мес. (1–27 мес.)

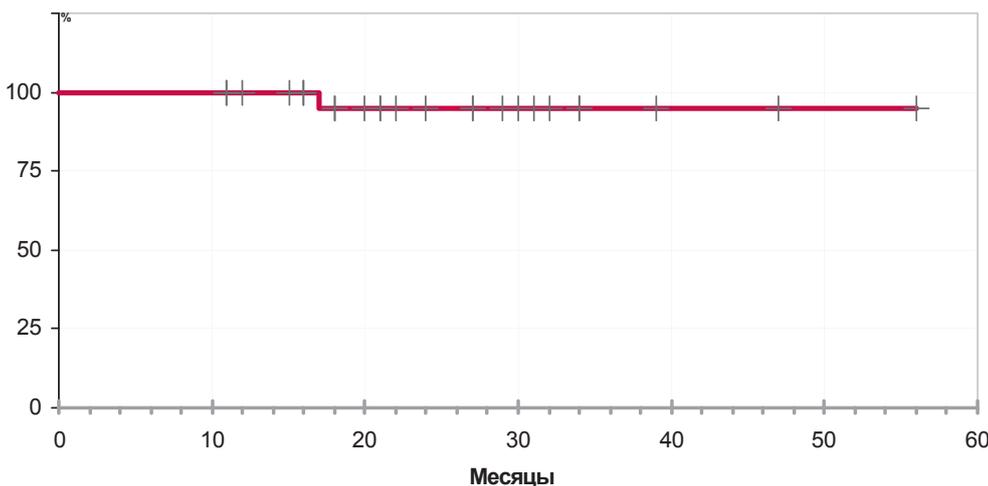


Рис. 3. Общая выживаемость 25 больных ММ, леченных с использованием ВДМ с аутологичной трансплантацией. Медиана наблюдения за группой — 22 мес. (11–56 мес.)

В настоящей статье мы попытались изложить не только современные представления, но и собственную концепцию о возможностях использования аутологичной и аллогенной ТГСК в течение всего периода наблюдения за пациентом с ММ. Можно констатировать, что ТГСК при ММ прочно вошла в клиническую практику и в буду-

щем применение разных вариантов трансплантации будет только расширяться. Совершенствование сопроводительной терапии и появление новых эффективных препаратов позволяют надеяться на дальнейшее увеличение продолжительности жизни, а возможно, и на излечение больных ММ.

ЛИТЕРАТУРА

- Hoffman R. et al. (eds.) Hematology: basic principles and practice, 4th ed. 2005: 1501–12.
- Brenner H., Gondas A., Pulte D. Recent major improvement in long-term survival of younger patients with multiple myeloma. *Blood* 2008; 111: 2521–6.
- Kumar S. K., Rajkumar S. V., Dispenzieri A. et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood* 2008; 111: 2516–20.
- Hoffman R. et al. (eds.) Hematology: basic principles and practice, 3rd ed. 2000: 1408.
- Lahuerta J. J. et al. Remission status defined by immunofixation vs. electrophoresis after autologous transplantation has a major impact on the outcome of multiple myeloma patients. *Brit. J. Haematol.* 2000; 109: 438–43.
- Davies F. E., Forsyth P. D., Rawstron A. C. et al. The impact of attaining a minimal disease state after high-dose melphalan and autologous transplantation. *Brit. J. Haematol.* 2001; 112: 814–9.
- Bensinger W. Stem-Cell Transplantation for Multiple Myeloma in the Era of Novel Drugs. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26(3): 480–92.
- McElwain T. J., Powles R. L. High-dose intravenous melphalan for plasma cell leukaemia and myeloma. *Lancet* 1983; 1: 822–4.
- Barlogie B., Hall R., Zander A. et al. High-dose melphalan with autologous bone marrow transplantation for multiple myeloma. *Blood* 1986; 67(5): 1298–301.
- Barlogie B., Alexanian R., Dicke K. A. et al. High-dose chemoradiotherapy and autologous bone marrow transplantation for resistant multiple myeloma. *Blood* 1987; 70(3): 869–72.
- Vesole D. H., Barlogie B., Jagannath S. et al. High dose therapy for refractory multiple myeloma: improved prognosis with better supportive care and double transplants. *Blood* 1994; 84(3): 950–6.
- Attal M., Harousseau J. L., Stoppa A. M. et al. A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* 1996; 335: 91–7.
- Child J. A., Morgan G. J., Davies F. E. et al. Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party. High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348: 1875–83.
- Barlogie B., Kyle R. A., Anderson K. C. et al. Standard chemotherapy compared with high-dose chemoradiotherapy for multiple myeloma. Final results of phase III US Intergroup Trial S9321. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 929–36.
- Shapira M. Y., Abu-Ziad B., Resnick I. B. et al. A comparison between two conditioning protocols for autologous transplantation in multiple myeloma. *BMT* 2008; 41(Suppl. 1): 677.
- Corradini P., Cavo M., Lokhorst H. et al. Molecular remission after myeloablative allogeneic stem cell transplantation predicts a better relapse-free survival in patients with multiple myeloma. *Blood* 2003; 102(5): 1927–9.
- Kumar S., Lacy M. Q., Dispenzieri A. et al. High-dose therapy and autologous stem cell transplantation for multiple myeloma poorly responsive to initial therapy. *Bone Marrow Transplant.* 2004; 34: 161–7.
- Hahn T., Wingard J. R., Anderson K. C. et al. The role of cytotoxic therapy with hematopoietic stem cell transplantation in the therapy of multiple myeloma: an evidence-based review. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2003; 9: 4–37.
- Ferland J. P., Ravaud P., Chevret S. et al. High-dose therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation in multiple myeloma: up-front or rescue treatment? Results of a multicenter sequential randomized clinical trial. *Blood* 1998; 92: 3131–6.
- Barlogie B., Kyle R. A., Anderson K. C. et al. Comparable survival of patients with multiple myeloma treated with autotransplant-supported melphalan — TBI or standard VBMCP consolidation and no role of interferon maintenance: final results of US Intergroup Trial S9321. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 929–36.
- Thomas E. D. et al. (eds.) Hematopoietic cell transplantation, 2nd ed. 1999: 1997–2009.
- Attal M., Harousseau J. L., Facon T. et al. Single versus double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349: 2495–502.
- Stadtmauer E. A. Multiple myeloma, 2004 — one or two transplants? *N. Engl. J. Med.* 2003; 349: 2551–3.
- Cavo M., Tosi P., Zamagni E. et al. Prospective, randomized study of single compared with double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma: Bologna 96 clinical study. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 2434–41.
- Ferland J. P., Katsahian S., Divine M. et al. High-dose therapy and autologous blood stem-cell transplantation compared with conventional treatment in myeloma patients aged 55 to 65 years: long-term results of a randomized control trial from the Group Myelome-Autogreffe. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 9227–33.
- Goldschmidt H. Single vs. double high-dose therapy in multiple myeloma: second analysis of the GMMG-HD2 Trial abstract. *Haematologica* 2005; 90(s1): 38.
- Sonneveld P., van der Holt B., Segeen C. et al. Intensive versus double intensive therapy in untreated multiple myeloma: update analysis of the randomized phase III study Hovon 24 MM. *Blood* 2004; 104: 271.
- Cavo M., Tosi P., Zamagni E. et al. Prospective, randomized study of single compared with double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma: Bologna 96 clinical study. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 2434–41.
- Hahn T., Wingard J. R., Anderson K. C. et al. The role of cytotoxic therapy with hematopoietic stem cell transplantation in the therapy of multiple myeloma: an evidence-based review. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2003; 9: 4–37.
- Tricot G., Vesole D. H., Jagannath S. et al. Graft-versus-multiple myeloma effect: proof of principle. *Blood* 1996; 87(3): 1196–8.
- Verdonck L. F., Lokhorst H. M., Dekker A. W. et al. Graft-versus-multiple myeloma effect in two cases. *Lancet* 1996; 347(9004): 800–1.
- Lokhorst H. M., Schattenberg A., Cornelissen J. J. et al. Donor lymphocyte infusions for relapsed multiple myeloma after allogeneic stem-cell transplantation: predictive factors for response and long-term outcome. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18(16): 3031–7.
- Reynolds C., Ratanatharathorn V., Adams P. et al. Allogeneic stem cell transplantation reduces disease progression compared to autologous transplantation in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.* 2001; 27(8): 801–7.
- Corradini P., Cavo M., Lokhorst H. et al. Molecular remission after myeloablative allogeneic stem cell transplantation predicts a better relapse-free survival in patients with multiple myeloma. *Blood* 2003; 102: 1927–9.
- Einsele H., Schfer H. J., Hebart H. et al. Follow-up of patients with progressive multiple myeloma undergoing allografts after reduced-intensity conditioning. *Br. J. Haematol.* 2003; 121(3): 411–8.
- Badros A., Barlogie B., Morris C. et al. High response rate in refractory and poor-risk multiple myeloma after allotransplantation using a nonmyeloablative conditioning regimen and donor lymphocyte infusions. *Blood* 2001; 97(9): 2574–9.
- Maloney D. G., Molina A. J., Sahebi F. et al. Allografting with nonmyeloablative conditioning following cytoreductive autografts for the treatment of patients with multiple myeloma. *Blood* 2003; 102: 3447–54.
- Badros A., Barlogie B., Siegel E. et al. Improved outcome of allogeneic transplantation in high-risk multiple myeloma patients after nonmyeloablative conditioning. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20(5): 1295–303.
- Crawley C., Lalancette M., Szydlo R. et al. Outcomes for reduced-intensity allogeneic transplantation for multiple myeloma: an analysis of prognostic factors from the Chronic Leukaemia Working Party of the EBMT. *Blood* 2005; 105(11): 4532–9.
- Arora M., McGlave P. B., Burns L. J. et al. Results of autologous and allogeneic hematopoietic cell transplant therapy for multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35(12): 1133–40.
- Kyle R. A. High-dose therapy in multiple myeloma and primary amyloidosis: an overview. *Semin. Oncol.* 1999; 26: 74–83.
- Kumar A., Loughran T., Alsina M. et al. Management of multiple myeloma. A systematic review and critical appraisal of published studies. *Lancet Oncol.* 2003; 4: 293–304.
- Мелкова К. Н. Материалы конференции Европейского общества по трансплантации костного мозга (EBMT) 2008. *Клин. онкогематол.* 2008; 1(2): 185–6.
- Bruno B., Rotta M., Patriarca F. et al. A comparison of allografting with autografting for newly diagnosed myeloma. *N. Engl. J. Med.* 2007; 356(11): 1110–20.
- Pfeffer C., T Lange., Krahl R. et al. Treatment of multiple myeloma with sequential autologous and low dose total body irradiation based allogeneic unrelated SCT. *BMT* 2008; 41(Suppl. 1): O377.
- Gahrton G., Tura S., Ljungman P. et al. Prognostic factors in allogeneic bone marrow transplantation for multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.* 1995; 13(6): 1312–22.
- Crawley C., Lalancette M., Szydlo R. et al. Outcomes for reduced-intensity allogeneic transplantation for multiple myeloma: an analysis of prognostic factors from the Chronic Leukaemia Working Party of the EBMT. *Blood* 2005; 105: 4532–9.
- Mohty M., Quoc-Hung L., Nicolini F. E. et al. Reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation for patients with high-risk multiple myeloma: a survey from the Societe Francaise de Greffe de Moelle et de Therapie Cellulaire. *BMT* 2008; 41(Suppl. 1): O380, S66.
- Garban F., Attal M., Michallet M. et al. Prospective comparison of autologous stem cell transplantation followed by dose-reduced allograft (IFM99-03 trial) with tandem autologous stem cell transplantation (IFM99-04) in high-risk de novo multiple myeloma. *Blood* 2006; 107: 3474–80.
- Rosinol L., Garcia-Sanz R., Lahuerta J. J. et al. A PETHEMA trial of high-dose therapy/stem cell support, including tandem transplant, in primary re-

fractory multiple myeloma: final results in 81 patients. *BMT* 2008; 41(Suppl. 1): O374, S63–64.

51. Менделеева Л. П., Савченко В. Г., Любимова Л. С. и др. Трансплантация гемопоэтических клеток в Российской Федерации (отчет Межрегионального регистра за 1996–2006 гг.). *Гематол. и трансфузиол.* 2007; 6: 31–5.

52. Вотякова О. М., Демина Е. А. Клиническая онкогематология / Под ред. М. А. Волковой. — М., 2007. — С. 866–7.

53. Лисуков И. А. Иммунологические аспекты множественной миеломы: Патогенез, клиника, лечение. — Новосибирск: Наука, 2003. — С. 87–111.

54. Мелкова К. Н., Обухова Е. Е., Баранов А. Е. Лечение множественной миеломы у пациентов в возрасте 50–70 лет. *Клин. геронтол.* 2002.; 8(1): 43–51.

55. Менделеева Л. П., Покровская О. С. Программное лечение лейкозов / Под ред. В. Г. Савченко. — М., 2008. — С. 382–3.

56. Андреева Н. Е., Балакирева Т. В. Руководство по гематологии / Под ред. А. И. Воробьева. Т. 2. — М., 2003. — С. 170–1.

57. Сидорович Г. И. Гематология / Под ред. О. А. Рукавицына. — СПб., 2007. — С. 466.

58. Blume K. G. et al. (eds.) *Thomas Hematopoietic cell transplantation*. 3rd ed., 2004.

59. Rijnkin R. M., Gregory S. A., Mohrbacher A., Hussein M. A. Pegylated liposomal doxorubicin, vincristine, and dexamethasone provide significant reduction in toxicity compared with doxorubicin, vincristine, and dexamethasone in patients with newly diagnosed multiple myeloma: a Phase III multicenter randomized trial. *Cancer* 2006; 106(4): 848–58.

60. Rajkumar S. V., Blood E., Vesole D. et al. Phase III clinical trial of thalidomide plus dexamethasone compared with dexamethasone alone in newly diagnosed multiple myeloma: a clinical trial coordinated by the Eastern Cooperative Oncology Group. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 431–6.

61. Palumbo A., Rajkumar S. V., Dimopoulos M. A. et al. Prevention of thalidomide- and lenalidomide-associated thrombosis in myeloma. *Leukemia* 2008; 22: 414–23.

62. Paripati H., Stewart A. K., Cabou S. et al. Compromised stem cell mobilization following induction therapy with lenalidomide in myeloma. *Leukemia* 2008; 22: 1282–4.

63. Mazumder A., Kaufman J., Niesvizky R. et al. Effect of lenalidomide therapy on mobilization of peripheral blood stem cells in previously untreated multiple myeloma patients. *Leukemia* 2008; 22: 1280–1.

64. Rajkumar S. V., Jacobus S., Callander N. et al. Randomized trial of lenalidomide plus high-dose dexamethasone (RD) versus lenalidomide plus low-dose dexamethasone (Rd) in newly diagnosed multiple myeloma (E4A03): a trial coordinated by the Eastern Cooperative Oncology Group. *Blood* 2007; 110: 31a.

65. Harousseau J. L., Mathiot C., Attal M. et al. Bortezomib/dexamethasone versus VAD as induction prior to autologous stem cell transplantation (ASCT) in previously untreated multiple myeloma (MM): Updated data from IFM 2005/01 trial abstract. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26(15S): 8505.

66. Mateos M. V., Hernandez J. M., Hernandez M. T. et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone in elderly untreated patients with multiple myeloma: results of a multicenter phase 1/2 study. *Blood* 2006; 108: 2165–72.



Современное состояние донорства гемопоэтических стволовых клеток в России

Ю. Г. Иоффе

РЕФЕРАТ

Modern condition of hematopoietic stem cells donation in Russia

Yu. G. Ioffe

SUMMARY

An allogenic transplantation of hematopoietic stem cells (THSC) requires a compatible donor. When a kindred donor is missing, a search for an unrelated donor is performed.

The information about unrelated donors of HSC is kept in HSC donor registers. During the year 2007 sixty-one unrelated allogenic THSCs were performed in Russia, and in all the cases foreign donors were used. Though in 2007 there were 20 933 official unrelated HSC donors in Russia, none of them was requested. However, due to substantial genetic differences between different ethnical groups, foreign registers often fail to find a compatible donor for Russian patients. The worldwide practice is first to look for a donor in national registers and query the International Search System of marrow donors only if the national search fails. The database of the Karelian Register of Unrelated HSC Donors contains information about HSC donors from different regions of Russia. In 80% cases the HLA-phenotype is revealed by the molecular-biological method. The average chances to find a compatible donor is about 1:700. The Karelian Register is a member of the World Marrow Donor Association (WMDA) and Bone Marrow Donors Worldwide search system. Two allogenic THSCs from unrelated donors of the Karelian Register were performed in 2004 in the Bone Marrow Transplantation Centre of Pavlov Medical University (St.-Petersburg). From 2005 to 2008 the Register processed 63 donor queries and performed 15 detailed donor examinations. The Karelian Register of unrelated donors collaborates with St.-Petersburg HSC Donor Register and with «Clinical Centre for Cell Technology» of Samara.

Keywords:

allogenic transplantation of hematopoietic stem cells, donors of hematopoietic stem cells, registers of hematopoietic stem cells donors.

Charitable Fund «Karelian Registry of unrelated hematopoietic stem cell donors», Petrozavodsk

Контакты: karelian.bmd@onego.ru

Принято в печать: 21 ноября 2008 г.

Для выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) необходимым условием является наличие совместимого донора. Не всем пациентам удается найти донора-родственника, и тогда необходим поиск неродственного донора. Информация о неродственных донорах ГСК находится в регистрах доноров ГСК. В 2007 г. в России выполнена 61 неродственная аллогенная ТГСК. Во всех случаях это были иностранные доноры. В 2007 г. в России насчитывалось 20 933 потенциальных неродственных донора ГСК. Однако ни один из российских доноров не был затребован. Вследствие существенных генетических различий между разными этническими группами многим российским пациентам не удается найти совместимого донора среди иностранных. В мировой практике принят следующий подход: первоначально поиск совместимого донора ГСК осуществляется в национальных регистрах доноров ГСК, и только в случае неудачного поиска обращаются в Международную поисковую систему доноров костного мозга.

В базе данных Карельского регистра неродственных доноров ГСК имеется информация о донорах ГСК из различных регионов России. У 80% доноров HLA-фенотип выявлен молекулярно-биологическим способом. Частота совместимости донора и пациента составляет 1:700. Карельский регистр является членом Международной ассоциации доноров костного мозга (WMDA) и входит в Международную поисковую систему доноров костного мозга (BMDW). В 2004 г. в Центре трансплантации костного мозга СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова выполнены две неродственные аллогенные ТГСК от доноров из Карельского регистра. С 2005 по 2008 г. получено 63 запроса на поиски доноров ГСК, в результате осуществлено дообследование 15 доноров. С целью поиска совместимых доноров ГСК/единиц пуповинной крови Карельский регистр неродственных доноров ГСК сотрудничает с Регистром доноров ГСК (Санкт-Петербург) и ГУЗ СО «Клинический центр клеточных технологий» (Самара).

Ключевые слова

аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, доноры гемопоэтических стволовых клеток, регистры доноров гемопоэтических стволовых клеток.



Для выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) абсолютно необходимым условием является наличие совместимого донора. Известно, что донорские гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) получают двумя различными, не заменяющими друг друга путями. Первый путь — забор ГСК у взрослого человека-донора, второй — получение ГСК из пуповинной крови. К сожалению, далеко не всем пациентам, нуждающимся в аллогенной ТГСК, удается найти донора-родственника, и тогда требуется поиск неродственного донора либо неродственных единиц пуповинной крови. В мировой практике уже давно отработан и принят алгоритм поиска донорских ГСК для пациента, нуждающегося в аллогенной трансплантации, — поиск донора среди близких родственников пациента (родные братья или сестры, родители), в случае же отсутствия совместимого родственного донора — поиск неродственного донора ГСК или единиц пуповинной крови. Информация о потенциальных неродственных донорах ГСК находится в регистрах доноров ГСК. Регистр доноров ГСК — это информационная база, включающая в себя данные о донорах, а именно: индивидуальный код донора, личные данные, HLA-фенотип, масса тела, рост, информация о состоянии здоровья на момент вступления в регистр и контактные данные донора. Получением же ГСК из пуповинной крови занимаются банки пуповинной крови.

Регистры неродственных доноров ГСК существуют уже более 25 лет. Они объединены в Международную ассоциацию доноров костного мозга (WMDA). По данным ежегодного отчета WMDA, в 2007 г. в эту организацию входило 69 регистров доноров костного мозга и банков пуповинной крови со всего мира. Согласно данным этой же организации, в 2007 г. каждый 500-й житель нашей планеты являлся потенциальным донором ГСК, а из каждых 1430 потенциальных доноров ГСК один донор становился реальным, т. е. осуществил донацию ГСК.¹ В Международную поисковую систему доноров костного мозга (BMDW) входит 59 регистров доноров ГСК из 43 стран, а также 41 банк пуповинной крови из 25 стран мира. Она содержит информацию о более чем 12,5 млн потенциальных доноров ГСК и единиц пуповинной крови.² Это позволяет достаточно быстро и эффективно найти совместимого донора каждому нуждающемуся пациенту независимо от страны проживания. От России членами WMDA являются три регистра: Российский регистр доноров костного мозга (Москва), Карельский регистр неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток (Петрозаводск) и Регистр доноров костного мозга (Санкт-Петербург). Информацию о потенциальных российских донорах ГСК в BMDW предоставляют Российский регистр доноров костного мозга (Москва) и Карельский регистр неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток (Петрозаводск).

По данным WMDA, в 2007 г. в мире было выполнено 9104 неродственных аллогенных ТГСК, в которых источником ГСК были взрослые доноры.¹ Согласно данным отчета Российского межрегионального регистра трансплантации гемопоэтических клеток, в 2006 г. в России выполнено 69 аллогенных ТГСК. В 59% случаях они были осуществлены от неродственных доноров ГСК.³ Согласно данным ежегодного отчета WMDA, в 2007 г. в России проведена 61 неродственная аллогенная ТГСК от взрослых доноров. Во всех случаях это были иностранные доноры, которых для российских трансплантационных гематологических клиник предоставили зарубежные регистры доноров ГСК. В 53 случаях продукт донорских ГСК был получен от доноров из Германии, в 3 — от доноров из Италии, в 2 — от доноров из США и по 1 случаю — от доноров из Австрии, Австралии и Швейцарии. Между тем, по данным WMDA, в 2007 г. в России

официально насчитывалось 20 933 потенциальных неродственных донора ГСК.¹ Однако ни один из этих доноров не был затребован. Более того, в действующие российские регистры доноров ГСК практически не поступают официальные запросы на поиск доноров от российских трансплантационных гематологических клиник. По-видимому, причиной такого положения является отсутствие информации среди российских гематологов о действующих в России регистрах доноров ГСК. Между тем, поскольку имеются существенные генетические различия между представителями разных этнических групп, их HLA-фенотип крови также отличается. Поэтому даже в случае прямого доступа к зарубежным регистрам доноров ГСК многим российским пациентам не удается найти совместимого донора среди иностранных доноров. Кроме того, из-за высокой стоимости поиска и активация доноров в зарубежных регистрах не доступны подавляющему большинству российских пациентов. Между тем в мировой практике широко используется следующий подход: первоначально поиск совместимого донора ГСК осуществляется в национальных регистрах доноров ГСК, и только в случае неудачного поиска обращаются в BMDW.

Технология поиска совместимого донора в регистре доноров ГСК состоит в следующем. В информационной базе регистра имеются данные HLA-фенотипа доноров как минимум по двум локусам: HLA-A и HLA-B. В случае совместимости доноров и реципиента по этим параметрам по заявке трансплантационной клиники/поискового центра у отобранных доноров проводится определение локуса HLA-DRB1. Если донор и реципиент оказываются совместимыми по всем трем локусам (HLA-A, HLA-B и HLA-DRB1), то после дополнительной заявки трансплантационной клиники/поискового центра проводится подтверждающее типирование (confirmatory typing), включающее повторное «высокорастворимое» определение HLA-фенотипа донора и реципиента и обследование донора на наличие маркеров трансмиссивных инфекционных заболеваний. Только после этого трансплантационный центр делает окончательный выбор донора ГСК, а также согласовывает планируемую дату аллогенной ТГСК и дату начала режима кондиционирования. Регистр доноров ГСК выбирает центр, где будет осуществлен забор у донора продукта ГСК, а также организует медицинское обследование донора, после которого определяется окончательная пригодность донора к донации ГСК (так называемая очистка донора). Существуют общепринятые мировые требования о закрытости для пациента и его лечащего врача личной информации о доноре. Они закреплены в стандартах WMDA.⁴ Исходя из этих требований, центр забора ГСК должен быть независим от трансплантационной клиники как территориально, так и юридически.

Карельский регистр неродственных доноров ГСК существует с 2001 г. Он имеет большой опыт по расширению своей базы данных за счет включения новых доноров. С 2001 по 2005 г. Карельский регистр провел 11 массовых акций по привлечению новых доноров в Республике Карелия, а в 2006 г. — в Москве и Астрахани. С 2006 г. в г. Петрозаводске функционирует постоянный пункт по набору новых доноров. Кроме того, мы не отказываем во вступлении в регистр жителям других регионов России, желающим стать донорами ГСК. В результате в нашем регистре имеется информация о потенциальных донорах ГСК из различных регионов России. Во время рекрутирования у всех новых доноров определяют HLA-фенотип по локусам HLA-A и HLA-B (согласно требованиям BMDW, эти данные фенотипа донора являются минимально необходимыми для инициации предварительного поиска донора), причем у 80% доноров HLA-фенотип выявлен молекулярно-биологическим способом. В Карельском

Таблица 1. Количество запросов на поиск неродственных доноров ГСК

Год	Частные запросы	Официальные запросы
2005	—	15
2006	1	8
2007	2	6
2008 (по состоянию на 16.11)	5	26
Итого...	8	55

регистре неродственных доноров ГСК имеется компьютерная поисковая система для предварительного поиска доноров по данным HLA-фенотипа доноров и пациентов. Она позволяет осуществлять регулярные повторные поиски среди новых доноров по уже полученным ранее запросам. В 2006 г. Карельский регистр стал членом WMDA, а в 2007 г. вошел в BMDW. Несмотря на небольшое число доноров в базе данных Карельского регистра (около 2500 человек), частота совместимости донора и пациента у нас составляет 1:700, т. е. из 700 человек 1 донор оказывается полностью совместимым с пациентом. Согласно международной статистике, этот показатель составляет в среднем 1:5000.

В 2004 г. в Центре трансплантации костного мозга Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И. П. Павлова осуществлены две неродственные ТГСК от доноров из Карельского регистра. С 2005 по 2008 г. мы получили 55 запросов на поиски доноров ГСК от трансплантационных клиник и поисковых центров. Кроме того, за этот же период времени мы получили 8 частных запросов на поиски доноров от родственников пациентов либо от самих пациентов (табл. 1).

Благодаря членству Карельского регистра неродственных доноров ГСК в BMDW к нам обращались за помощью в поиске совместимых доноров ГСК из разных стран мира (табл. 2).

За период с 2005 по 2008 г. по запросам, полученным из трансплантационных клиник и поисковых центров, осуществлялось дообследование доноров. У 13 доноров, ранее прошедших предварительное типирование по локусам HLA-A и HLA-B, дополнительно определялся локус HLA-DRB1. У 2 доноров было выполнено подтверждающее типирование, и оба они оказались совместимыми с пациентами, однако эти доноры не были затребованы трансплантационными центрами для донации.

Таблица 2. Страны, запрашивавшие доноров ГСК (с 2005 г. по 16.11.2008 г.)

Страна	Частные запросы	Официальные запросы
Германия	1	38
Россия	1	5
США	—	4
Израиль	—	4
Канада	—	1
Турция	1	1
Испания	—	1
Дания	—	1
Эстония	1	—
Англия	1	—
Афганистан	1	—
Бразилия	1	—
Латвия	1	—
Итого...	8	55

С 2008 г. Карельский регистр неродственных доноров ГСК сотрудничает с Регистром доноров ГСК (Санкт-Петербург) и ГУЗ СО «Клинический центр клеточных технологий» (Самара) с целью поиска совместимых доноров ГСК/единиц пуповинной крови в тех ситуациях, когда не удается найти совместимого донора ГСК в собственных базах данных. Кроме того, мы осуществляем поиск доноров и в BMDW для тех пациентов, кому мы не смогли найти совместимого донора ГСК в собственной базе данных.

Для инициации процесса поиска донора ГСК необходимо направить официальный запрос. В запросе на поиск донора следует указать следующие данные о пациенте: фамилия и имя, возраст, пол, диагноз заболевания и дата его установления, фаза заболевания, CMV-статус, допустима ли частичная совместимость, какова срочность поиска и данные HLA-фенотипа, выполненные молекулярно-биологическим методом высокого разрешения по следующим локусам: HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 и HLA-DQB1. Кроме того, необходимо указать контактные данные трансплантационной клиники или поискового центра.

Координаты Карельского регистра неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток
 веб-сайт: <http://bmd.onego.ru>, факс: (8142) 765–897, тел.: (8142) 670–180,
 e-mail: karelian.bmd@onego.ru

ЛИТЕРАТУРА

1. World Marrow Donor Association, Annual Report, 2007.
2. Bone Marrow Donor Worldwide, Annual Report, 2007.
3. Менделеева Л. П., Савченко В. Г. Трансплантация гемопоэтических клеток в Российской Федерации (Отчет Межрегионального Регистра трансплантации гемопоэтических клеток за 1996–2006 гг.). Гематол. и трансфузиол. 2007; 52(6): 31–5.
4. World Marrow Donor Association International Standards for Unrelated Hematopoietic Stem Cell Donor Registries. Version December, 2007.

Первый в России опыт эффективного применения позаконазола для лечения рефрактерного инвазивного аспергиллеза и профилактики его рецидива при проведении цитостатической терапии и трансплантации костного мозга у ребенка с острым лейкозом

Н. Н. Клишко [1], Б. В. Афанасьев [2], А. С. Колбин [3],
Э. Г. Бойченко [4], Н. И. Зубаровская [5]

The first in Russia case of successful treatment and secondary prophylaxis of refractory invasive aspergillosis with posaconazole in a child with acute lymphoblastic leukemia during cytostatic chemotherapy and bone marrow transplantation

N. N. Klimko [1], B. V. Afanassiev [2], A. S. Kolbin [3],
E. G. Boychenko [4], N. I. Zubarovskaya [5]

SUMMARY

Invasive fungal infections are significant causes of morbidity and mortality in immunocompromised patients. During the last years new safe and effective antifungal drugs have been added to the traditional antimycotics. One of these new drugs is posaconazole, extended-spectrum triazole. We report the first in Russia case of successful treatment and secondary prophylaxis with posaconazole of refractory invasive aspergillosis in a child with acute lymphoblastic leukemia during cytostatic chemotherapy and bone marrow transplantation, as well as literature review.

Keywords:

invasive fungal, posaconazole, pediatric.

[1] St.-Petersburg Medical Academy of Postgraduate Education

[2] Acad. I. P. Pavlov's St.-Petersburg State Medical University

[3] St.-Petersburg State Pediatric Medical Academy

[4] St.-Petersburg Children City Hospital № 1

Контакты: klimko@mail.ru

Принято в печать: 7 ноября 2008 г.

РЕФЕРАТ

Инвазивные микозы являются частым осложнением у иммунокомпрометированных пациентов и отличаются тяжестью клинических проявлений и высокой атрибутивной летальностью. В последние годы появились новые эффективные и безопасные противогрибковые средства, к которым относится новый азол широкого спектра действия — позаконазол. Авторы анализируют первый в России опыт использования позаконазола для лечения рефрактерного к другим антимикотикам инвазивного аспергиллеза и профилактики его рецидива у ребенка с острым лейкозом во время цитостатической терапии и трансплантации кроветворных стволовых клеток, а также приводят данные литературы.

Ключевые слова

инвазивный микоз, позаконазол, педиатрия.

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия достигнуты значительные успехи в лечении злокачественных новообразований. Выживаемость данной категории пациентов зачастую зависит от эффективного лечения инфекционных осложнений, в т. ч. инвазивных микозов (ИМ). Известно, что ИМ, наиболее распространенными из которых являются инвазивный кандидоз (ИК), инвазивный аспергиллез (ИА) и зигомикоз, отличаются тяжестью клинических проявлений и высокой летальностью.¹ В последние годы к традиционным системным антимикотикам (дезоксихолатный комплекс и липидные варианты амфотерицина В, итраконазол, флуконазол) добавились новые противогрибковые средства, такие как вориконазол и каспофунгин. К современным антимикотикам относят и новый триазол широкого спектра действия — позаконазол. Целью настоящего исследования явилось описание

клинического случая первого в России использования позаконазола и анализ данных литературы.

МЕТОДИКА

В настоящем исследовании авторы провели анализ собственного опыта клинического использования позаконазола при ИА (описание случая) и данных литературы.

Описание клинического применения позаконазола. Представлено описание клинического случая применения позаконазола (Ноксафил, Schering-Plough) для лечения, а затем и вторичной профилактики ИА у ребенка с острым лейкозом. До позаконазола для лечения ИА легких и мягких тканей носа применяли вориконазол (Вифенд, Pfizer Int., LLC, США) липидный комплекс амфотерицина В (Амфолип, «Бхарат Серумс энд Вакцинс», Индия) и каспофунгин (Кансидас, MERCK&Co., Inc., США). Пациент получил лечение в от-

[1] Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования

[2] Санкт-Петербургский государственный университет им. акад. И. П. Павлова

[3] Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия

[4] Детская городская больница № 1, Санкт-Петербург

делении химиотерапии лейкозов Детской городской больницы (ДГБ) № 1 Санкт-Петербурга, а также в Институте детской гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой.

Для постановки диагноза ИА использовали клинические и лабораторные критерии, предлагаемые Интернациональным консенсусом по диагностике инвазивных микозов у иммунокомпрометированных больных EORTC/MSG.² Общим клиническим критерием ИА была персистирующая более 96 ч лихорадка, рефрактерная к назначению антибиотиков широкого спектра действия; специфическими клиническими критериями ИА легких — признаки инфекции нижних дыхательных путей (кашель, боль в грудной клетке, кровохарканье), а также характерные изменения в легких по данным компьютерной томографии (КТ): периваскулярные инфильтраты и полости. Микробиологическими критериями ИА были: выделение *Aspergillus* spp. в мокроте или бронхоальвеолярном лаваже и выявление галактотманна — антигена (АГ) *Aspergillus* в сыворотке крови методом Platelia *Aspergillus*. Для оценки эффекта применения препарата также использовали критерии EORTC/MSG.³

В связи с тем, что позаконазол (Ноксафил, Schering-Plough; суспензия для приема внутрь 40 мг/мл, флаконы по 105 мл) не был в то время разрешен к применению в Российской Федерации, было получено разрешение на его ввоз, а затем и использование у конкретного пациента от руководства Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития. До начала приема антимикотика локальным этическим комитетом ДГБ № 1 были проанализированы и утверждены информированный листок и информированное согласие испытуемого. Перед использованием позаконазола данные документы были подписаны родителями ребенка.

Кроме того, авторы провели анализ литературных сообщений по применению позаконазола при ИМ.

Источник информации. При исследовании использовали базы данных Cochrane Central Register of Controlled Trials (*The Cochrane Library* на июнь 2008 г.), MEDLINE (январь 1966 — июнь 2008 г.), EMBASE (январь 1966 — июнь 2008 г.).

Критерии включения и исключения из исследования. Критерии включения в исследование: применение позаконазола для профилактики и лечения ИМ. Критерии исключения: применение позаконазола для лечения поверхностного кандидоза.

При поиске информации использовали такие ключевые слова, как *invasive fungal, posaconazole, pediatric*.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Больная Настя Х., 11.11.1995 г. рождения, получала лечение в отделении химиотерапии лейкозов ДГБ № 1 с декабря 2003 г. Больна с июля 2003 г. В дебюте заболевания появились плотные безболезненные выпуклые образования на коже, количество которых увеличивалось. Обследовалась по месту жительства, проводился дифференциальный диагноз между псевдотуберкулезом и инфекционно-аллергическим васкулитом. Позднее появилась геморрагическая сыпь, было отмечено увеличение лимфатических узлов до 0,5–3,0 см в диаметре. При обследовании в отделении выполнена биопсия пахового лимфоузла и пункция костного мозга. При иммуногистохимическом исследовании лимфатического узла выявлена слабая экспрессия CD30 в 57% клеток. При повторном исследовании костного мозга слабое свечение CD30 в 24% клеток расценено как неспецифическое. По совокупности клинико-лабораторных данных был установлен диагноз: лимфома/лейкоз из клеток-предшественников

В-клеточного ряда с поражением кожи, костного мозга и паховых лимфатических узлов справа.

С 10.01.2004 г. была начата цитостатическая полихимиотерапия (ПХТ) в соответствии с протоколом COALL-92, High Risk. В связи с отсутствием эффекта с января по май 2004 г. была проведена ПХТ по протоколу ALCL-2000. В марте 2004 г. была достигнута первая ремиссия, до конца января 2006 г. больная получала поддерживающую терапию.

Длительность первой ремиссии составила 2,5 года, в августе 2006 г. отмечено увеличение лимфатических узлов в левой подмышечной и левой паховой областях, в анализе периферической крови выявлены бласты. В ходе проведенного обследования было установлено тотальное замещение костного мозга лимфообластами. Результаты иммунофенотипирования: среди клеток низкой гранулярности и небольшого размера в минимальном количестве представлены зрелые Т- и В-лимфоциты. Маркеры миелоидного направления, а также маркеры ранних уровней дифференцировки не выявлены. Установлено тотальное заполнение костного мозга злокачественно трансформированными клетками. У основной массы клеток, как низкой, так и промежуточной гранулярности, был иммунофенотип CD3–CD4+CD5+CD7+CD8+CD(16+56+)CD56+. Около 1/3 клеток было также позитивно по HLA-DR. Данных за В-клеточную пролиферацию не выявлено. Иммунофенотипический профиль клеток, вероятно, имеет НК-клеточное происхождение.

Была начата терапия второй линии в соответствии с протоколом NHL-BFM EURO-LB 2002. Вторая ремиссия констатирована 27.09.2006 г.

С 12.09.2006 г. развилась глубокая гипоплазия кроветворения (лейкоциты менее $1,0 \times 10^9/\text{л}$, гранулоциты менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$), появились жалобы на боль в левой половине носа. При осмотре отмечена отечность и гиперемия левого крыла носа, на слизистой оболочке носа слева — покрытая фибрином зона некроза. Проводили антибактериальную терапию (цефтриаксон, ципрофлоксацин, линезолид), местное лечение. Состояние больной ухудшилось, температура тела повысилась до 39°C , увеличилась зона некроза и реактивный отек лица. Была проведена замена антибиотиков (имипенем, линезолид, метронидазол), назначен флуконазол. После выявления АГ *A. fumigatus* в сыворотке крови начато введение вориконазола внутривенно (6 дней), затем — липидного комплекса амфотерицина В (9 дней). Состояние ребенка оставалось тяжелым, сохранялась лихорадка до $38,8^\circ\text{C}$, выраженная слабость, появился кашель. После завершения периода гипоплазии кроветворения (лейкоциты $2,6 \times 10^9/\text{л}$, гранулоциты более $1,5 \times 10^9/\text{л}$) отмечено отграничение зоны некроза, а затем у левого крыла носа сформировался дефект мягких тканей с гнойным отделяемым (рис. 1), при посеве которого выделили *A. fumigatus* и *A. flavus*.

На КТ грудной клетки выявили изменения в легочной ткани: по всем легочным полям отмечали множественные очаги, связанные с сосудами (рис. 2).

В соответствии с клиническими, микробиологическими и рентгенологическими критериями EORTC/MSG был установлен диагноз: ИА с поражением легких и мягких тканей носа.² В связи с неэффективностью вориконазола и липидного комплекса амфотерицина В проводили комбинированную терапию вориконазолом и каспофунгином. На фоне комбинированной антимикотической терапии отмечено уменьшение кратности и высоты подъема температуры тела с однократным в течение суток повышением до $38,4^\circ\text{C}$, а затем — до субфебрилитета. При КТ-исследовании грудной клетки также отмечена положительная динамика: размеры очагов аспергиллезного поражения уменьшились.



Рис. 1. Инвазивный аспергиллез мягких тканей носа

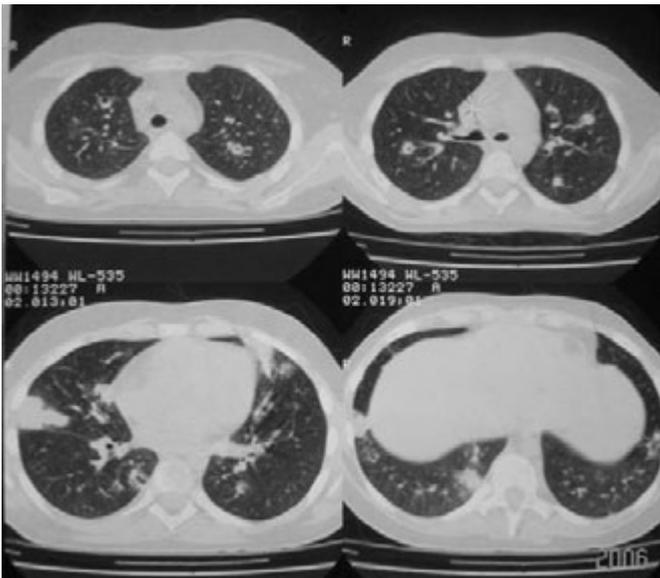


Рис. 2. КТ легких с признаками инвазивного аспергиллеза

Комбинированную терапию каспифунгином и вориконазолом продолжали в течение 26 дней, эффект расценили как частичный.³ Состояние больной стабилизировалось, в области левого крыла носа сформировался сквозной дефект размером 1 × 1 см, края его эпителизировались. Тест на галактоманнан в сыворотке крови стал отрицательным, но при КТ грудной клетки продолжали выявляться признаки аспергиллезного поражения легких.

Было необходимо продолжить лечение как ИА, так и основного заболевания. При HLA-типировании совместного родственного донора не обнаружили, в международном регистре совместимый неродственный донор также не был найден. Решено продолжить цитостатическую терапию по протоколу ALL-REZ BFM 2002. Учитывая прогнозируемую длительную иммуносупрессию, необходимо было не только продолжать лечение ИА, но и проводить профилактику его рецидива. В связи с недостаточной эффективностью предшествующей антифунгальной терапии принято решение о применении суспензии позаконазола (по 200 мг 4 раза в день).

Всего было проведено 5 блоков интенсивной ПХТ в соответствии с протоколом ALL-REZ BFM 2002. Для лечения ИА позаконазол назначали постоянно, для профилактики рецидива ИА — после каждого блока ПХТ при снижении уровня гранулоцитов менее $1,0 \times 10^9/\text{л}$ и продолжали до стабильного повышения уровня гранулоцитов более $1,0 \times 10^9/\text{л}$. Общая продолжительность применения позаконазола составила 78 дней. В результате лечения позаконазолом была достигнута ремиссия ИА. В ходе противорецидив-

ного применения позаконазола во время ПХТ клинических и КТ-признаков рецидива ИА не было. Во время приема позаконазола нежелательных явлений и лекарственных взаимодействий не отмечено.

Продолжительность второй клинко-лабораторной ремиссии составила 5 мес., 02.10.2007 г. был диагностирован второй ранний изолированный костномозговой рецидив. При иммунофенотипировании выявлена популяция клеток с суммарным фенотипом CD5+CD8+CD(16+56+)CD38+CD56+HLA-DR+CD45^{dim}, коэкспрессией маркера CD4 и с цитоплазматическим CD3. Установлен диагноз: острый лимфобластный лейкоз, Т-клеточный вариант с коэкспрессией NK-клеток. Проводили лечение по схемам FLAG и BFM-REZ (блок для резистентного Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза — ОЛЛ), ремиссия получена не была.

В связи с неэффективностью цитостатической химиотерапии 18.12.2007 г. проведена гаплоидентичная ТКСК от матери. Режим кондиционирования: флударабин 150 мг/м², бусульфан 8 мг/кг. Профилактика острой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ): АТГАМ, циклоспорин А, мофетила микофенолат, метотрексат. Приживление: лейкоциты более 1000 на 20-й день, гранулоциты более 500 на 28-й день, тромбоциты более 20 на 22-й день.

В январе 2008г. констатировали третью полную клинко-гематологическую ремиссию ОЛЛ, которая сохраняется на момент написания статьи.

Осложнения ТКСК:

- острая РТПХ с поражением кожи I степени: +22-й день, лечение: циклоспорин А;
- рецидив острой РТПХ с поражением кожи III степени: +44-й день, лечение: метилпреднизолон 3 мг/кг/сут — до 28.02.08, мофетила микофенолат 1000 мг/сут — до 24.04.08, циклоспорин А 3 мг/кг/сут — снижение дозы с 05.05.08;
- хроническая РТПХ с поражением кожи, распространенная форма: +227-й день, лечение: циклоспорин А 3 мг/кг, ритуксимаб 375 мг/м² 4 введения, преднизолон 1 мг/кг/сут.

В связи с высоким риском рецидива ИА при гаплоидентичной ТКСК необходимо было проводить вторичную антифунгальную профилактику. Для этого применяли каспифунгин в дозе 50 мг/сут (в течение 28 дней) и позаконазол в дозе 800 мг/сут (с дня накануне трансплантации и до момента написания статьи).

Вторичная антифунгальная профилактика была эффективна: клинических признаков ИА не было, характерных изменений при КТ органов грудной полости не выявляли, при многократном исследовании результаты теста на галактоманнан в сыворотке крови и бронхоальвеолярном лаваже были отрицательными. Нежелательных явлений и клинически значимых лекарственных взаимодействий не отмечено.

Таким образом, особенностью острого лейкоза у данной пациентки было рецидивирующее течение, которое осложнилось развитием ИА легких и мягких тканей носа на фоне интенсивной ПХТ. Инвазивный аспергиллез диагностировали в период глубокой лекарственной гипоплазии кроветворения на основании клинических, микробиологических и рентгенологических критериев EORTC/MSG.² Монотерапия вориконазолом и липидным комплексом амфотерицина В была неэффективна, с помощью комбинированной терапии вориконазолом и каспифунгином был достигнут частичный эффект по критериям EORTC/MSG,³ что позволило продолжить лечение острого лейкоза. Для терапии ИА, а затем профилактики рецидива использовали позаконазол в дозе 800 мг в сутки. Применение позаконазола привело к ис-

чезновению признаков ИА и позволило без рецидива микоза провести интенсивную ПХТ, а затем гаплоидентичную ТКСК, в результате которых была достигнута ремиссия острого лейкоза. Общая продолжительность терапии позаконазолом на момент написания статьи составила 12 мес., нежелательных явлений и лекарственных взаимодействий не отмечено.

АНАЛИЗ ДАННЫХ ЛИТЕРАТУРЫ

Позаконазол (НОКСАФИЛ® Schering-Plough) — новый системный триазольный антимикотик II поколения, выпускаемый в виде суспензии для приема внутрь. Химическая структура позаконазола сходна с итраконазолом и отличается от вориконазола и флуконазола. Молекулярная масса позаконазола — 700,8 Да.⁴

Механизм действия позаконазола связан с ингибированием 14-альфа-деметилазы, участвующей в синтезе эргостерола, важного компонента цитоплазматической мембраны грибковой клетки. Ингибирование этого связанного с цитохромом P450 фермента (CYP51) приводит к дефициту эргостерола и аккумуляции в клетке гриба токсичного 14-альфа-метилстерола. В результате происходит нарушение функции цитоплазматической мембраны грибковой клетки, блокада роста и деления гриба. Отличная от флуконазола и вориконазола структура позаконазола позволяет ему дополнительно связываться с CYP51, что дает потенциальные преимущества в преодолении резистентности, связанной с мутацией активных сайтов 14-альфа-деметилазы.⁵

Позаконазол отличается широким спектром антифунгальной активности, действует *in vitro* против большинства возбудителей ИМ, в т. ч. полирезистентных (табл. 1).

Таблица 1. Антифунгальная активность азолов для системного применения

Микроорганизм	Позаконазол	Флуконазол	Вориконазол	Итраконазол
<i>C. albicans</i>	+++	+++	+++	+++
<i>C. parapsilosis</i>	+++	+++	+++	+++
<i>C. tropicalis</i>	+++	+++	+++	+++
<i>C. glabrata</i>	+++	+	++	++
<i>C. krusei</i>	+++	–	+++	++
<i>C. neoformans</i>	+++	+++	+++	+++
<i>Aspergillus</i> spp.	+++	–	+++	+++
<i>Fusarium</i> spp.	++	–	++	–
<i>S. apiospermum</i>	++	–	++	–
<i>S. schenckii</i>	+++	+	++	+++
Феогифомицеты	+++	+	+++	++
Зигомицеты	++	–	–	–
Эндемичные	+++	++	+++	+++
Дерматомицеты	+++	++	+++	+++

Препарат активен в отношении *Candida* spp. и *Aspergillus* spp. (в т. ч. рефрактерных к другим азолам, амфоте-

рицину В или каспофунгину, например *C. glabrata*, *C. krusei* и *A. terreus*), а также *Cryptococcus neoformans*, *Fusarium* spp., *Trichosporon* spp. и возбудителей эндемичных микозов (*Coccidioides* spp., *H. capsulatum* и др.).⁶⁻⁹ Кроме того, в отличие от других азолов (флуконазол, итраконазол и вориконазол) и эхинокандинов (каспофунгин) позаконазол активен против зигомицетов.¹⁰ Таким образом, в сравнении с другими применяемыми антимикотиками позаконазол обладает наиболее широкой активностью против возбудителей ИМ.^{11,12}

Фармакокинетика. Позаконазол нерастворим в воде. В настоящее время доступна только суспензия позаконазола для приема внутрь, фармакокинетические данные представлены в табл. 2. У взрослых (старше 18 лет) антимикотик показал хорошую биодоступность при однократном или многократном приеме в дозе до 800 мг. При использовании позаконазола в дозе более 800 мг в сутки увеличения фармакокинетических показателей не происходит. Назначение с пищей увеличивает всасываемость препарата. В отличие от итраконазола, кислотность желудочного содержимого не влияет на абсорбцию позаконазола. Максимальная концентрация антимикотика в плазме крови достигается через 10 ч после введения.¹³

Позаконазол отличается большим объемом распределения, что свидетельствует о распространенном проникновении препарата в ткани. Более 98% препарата связываются с белками, преимущественно с альбумином плазмы крови.¹³ Применение препарата позволяет создавать высокие концентрации позаконазола в органах, наиболее часто поражаемых микромицетами. Например, при применении стандартных доз позаконазола в альвеолярных клетках и альвеолярной жидкости создается длительно сохраняющаяся концентрация препарата, многократно превосходящая МПК₉₀ для возбудителей микозов легких.¹⁴

Позаконазол медленно выводится из организма, средний период полувыведения составляет 35 ч (от 20 до 66 ч). В отличие от других азолов, позаконазол метаболизируется CYP3A4, а не другими изоферментами цитохрома P450.¹⁵ Препарат выводится преимущественно с фекалиями (77%), при этом основная часть приходится на исходное вещество. Почечный клиренс составляет незначительную часть элиминации: с мочой выводится примерно 14% (исходное вещество составляет менее 0,2%). Равновесное состояние достигается через 7–10 дней многократного применения препаратов.¹⁶

У пожилых пациентов отмечено увеличение максимальной концентрации в плазме (на 26%) и площади под фармакокинетической кривой AUC (на 29%) по сравнению с лицами в возрасте 18–45 лет. Однако в клинических исследованиях показатели безопасности позаконазола у лиц молодого и пожилого возраста были сходными, поэтому кор-

Таблица 2. Основные фармакокинетические параметры азолов для системного применения

	Позаконазол	Флуконазол	Вориконазол	Итраконазол
Лекарственная форма	Внутрь	Внутрь, в/в	Внутрь, в/в	Внутрь
Биодоступность, %	> 50	> 90	> 90	> 50 ¹
Связывание с белками плазмы, %	> 98	12	58	> 99
Объем распределения, л/кг	> 5	0,7	2	> 5
Время полувыведения, ч	35	30 ²	6–9	20–45
Субстрат/ингибитор CYP450	3A4	3A4, 1A2, 2C9, 2C19	3A4, 2C9, 2C19	3A4, 1A2, 2C9
Выведение				
с калом, %/% метаболитов	77/–	< 10/?	< 20/?	80/80
с мочой, %/% метаболитов	14/14	90/10	80/78	20/20

¹ Итраконазол раствор для приема внутрь.

² При почечной недостаточности может возрастать до 3–4 сут.

ректировки дозы в зависимости от возраста не требовалось. Фармакокинетика позаконазола у мужчин и женщин не различается. Нет необходимости в изменении дозы препарата в зависимости от пола, а также от расовой принадлежности.¹⁷

Легкая и умеренная почечная недостаточность не оказывает влияния на фармакокинетику препарата, поэтому корректировки дозы у этой категории пациентов не требуется. У пациентов с выраженной почечной недостаточностью АUC позаконазола меняется сильно, однако, поскольку почечный клиренс позаконазола незначителен, нет необходимости в изменении дозы и в этом случае. У больных с печеночной недостаточностью отмечено увеличение периода полувыведения (26,6, 35,3 и 46,1 ч для легкой, умеренной и тяжелой степени печеночной недостаточности по Чайлду—Пью соответственно) по сравнению с пациентами с нормальной функцией печени (22,1 ч).¹⁸

Поскольку позаконазол взаимодействует только с одним изоферментом цитохрома P450 — CYP3A4, препарат отличается меньшим количеством клинически значимых лекарственных взаимодействий по сравнению с итраконазолом и вориконазолом. Установлено, что при взаимодействии позаконазола с блокаторами кальциевых каналов, ловастатином, симвастатином, мидазоламом, триазаолом, сиролимусом, такролимусом и циклоспорином увеличивается уровень последних в плазме крови. При взаимодействии позаконазола с рифампином и рифабутином не только увеличивается содержание в плазме крови последних, но и уменьшается уровень позаконазола.¹⁹

В исследованиях на животных *in vivo* позаконазол показал высокую активность при ИК, ИА, зигомикозе, фузариозе и гистоплазмозе.¹⁹

Клинические исследования

Антифунгальная профилактика. Одним из важных направлений использования позаконазола может быть его применение для первичной антифунгальной профилактики у больных с высоким риском развития ИМ. В эксперименте была установлена эффективность профилактического применения позаконазола.²⁰ Проведено несколько крупных клинических исследований, посвященных этой проблеме.

O. Cognely и соавт. (2007) опубликовали результаты многоцентрового рандомизированного исследования эффективности и безопасности использования позаконазола, флуконазола или итраконазола для профилактики ИМ у пациентов с нейтропенией. 298 больных получали позаконазол, 240 — флуконазол и 58 — итраконазол. Исследование показало, что профилактическое применение позаконазола достоверно эффективнее препаратов сравнения. В группе позаконазола ИМ развился у 7 (2%) пациентов, в группах флуконазола или итраконазола — у 25 (8%); ИА — у 2 (1%) и 20 (7%) больных соответственно. Кроме того, впервые установлено влияние первичной антифунгальной профилактики на общую выживаемость больных с нейтропенией. В группе пациентов, получавших позаконазол, выживаемость была достоверно выше, чем в группе больных, получавших флуконазол или итраконазол ($p = 0,04$). Авторы рекомендуют позаконазол в дозе 800 мг в сутки как средство выбора для профилактики у пациентов с нейтропенией.²¹

A. Ullmann и соавт. (2007) опубликовали данные многоцентрового рандомизированного двойного слепого исследования эффективности и безопасности позаконазола или флуконазола для профилактики ИМ при тяжелой РТПХ у реципиентов с аллогенной трансплантацией кроветворных стволовых клеток (алло-ТКСК). Оба антимикотика вводили энтерально. Из 600 пациентов, включенных в исследование, 301 получал позаконазол и 299 — флуконазол. На 112-

й день профилактики эффективность позаконазола была сходна с флуконазолом в предотвращении ИК. Так, на фоне введения позаконазола частота ИК была 5,3%, а флуконазола — 9% (отношение шансов 0,56; 95%-й доверительный интервал 0,30–1,07; $p = 0,07$). В то же время исследование показало достоверное снижение частоты развития ИА в группе получавших позаконазол больных — 2,3 и 7,0% соответственно (отношение шансов 0,31; $p = 0,006$). Общая выживаемость была сходна в обеих группах. Однако количество связанных с ИМ летальных исходов в группе получавших позаконазол пациентов было ниже, чем в группе получавших флуконазол, — 1 и 4% соответственно ($p = 0,046$). Частота нежелательных явлений была сходна — 36 и 38% соответственно. Авторы рекомендуют позаконазол для профилактики ИМ у данной категории больных.²²

Лечение инвазивных микозов

Известны результаты целого ряда клинических исследований эффективности и безопасности позаконазола в лечении ИМ. Так, G. Keating и соавт. (2005) опубликовали данные по применению позаконазола в дозе 800 мг/сут в открытом многоцентровом исследовании у 330 пациентов. В группу контроля вошло 279 больных. В результате эффективность позаконазола при ИА составила 42% по сравнению с 26% в группе контроля, при зигомикозе — 54%, при фузариозе — 46%, при сцедоспориозе — 43%, при гистоплазмозе — 100%, при рефрактерном ИК — 48%, при рефрактерном кокцидиомикозе — 69%, при рефрактерном криптококкозе — 48%, при рефрактерном хромомикозе и мицетоме — 82%.²³

Инвазивный аспергиллез. T. Walsh и соавт. (2007) провели крупное многоцентровое ретроспективное контролируемое исследование применения позаконазола (800 мг/сут) при ИА, рефрактерном к стандартной антимикотической терапии. В исследование включили 107 пациентов, а группа «исторического» контроля состояла из 86 больных. Клинико-микологическая эффективность в группе получавших позаконазол пациентов составила 42%, а в группе контроля — 26% (отношение шансов 4,06; 95%-й доверительный интервал 1,50–11,04; $p = 0,006$). На основании проведенного исследования авторы рекомендуют применять позаконазол для лечения рефрактерного ИА.²⁴

Инвазивный зигомикоз. В настоящее время позаконазол рассматривают как средство выбора для лечения зигомикоза. Впервые сведения об эффективном использовании позаконазола при зигомикозе у реципиента трансплантата сердца и почки были опубликованы в 2003 г.²⁵ В 2006 г. Greenberg и соавт. сообщили о применении позаконазола у 24 больных зигомикозом (у 12 — риноцеребральный зигомикоз). Суточная доза антимикотика составила 800 мг (по 400 мг 2 раза в день или по 200 мг 4 раза в день). Длительность лечения была в среднем 292 дня (медиана 182 дня). Клинико-микологическая эффективность составила 79% и зависела от резекции пораженных тканей и стабилизации фонового заболевания.²⁶

J. van Burik и соавт. (2006) ретроспективно изучили эффективность позаконазола у 91 пациента с рефрактерным к стандартному лечению зигомикозом. Позаконазол применяли в дозе 800 мг в сутки. Через 12 нед. лечения частота положительного клинико-микологического ответа составила 60%, а у 21% больных была достигнута стабилизация инфекционного процесса. Таким образом, общая эффективность составила 81%.²⁷ Кроме того, опубликовано несколько клинических наблюдений эффективного применения позаконазола для лечения зигомикоза, рефрактерного к начальной терапии.^{28,29}

Фузариоз. I. Raad и соавт. (2006) провели ретроспективный анализ данных, полученных в трех открытых исследованиях. Позаконазол (800 мг в сутки) получил 21 пациент с рефрактерным к начальной терапии инвазивным фузариозом. Общая эффективность лечения позаконазолом составила 48%. Эффективность лечения зависела от фонового заболевания: у больных лейкозом — 50%, у пациентов с миелосупрессией — 67%, при персистирующей нейтропении — 20%.³⁰ В 2007 г. было опубликовано описание трех случаев применения позаконазола для лечения вызванного *Fusarium* spp. кератита, осложненного эндофтальмитом. Предшествующее лечение вориконазолом (вводили как местно, так и системно) и хирургическое вмешательство были неэффективны. Во всех случаях отмечено купирование боли и воспаления. Авторы рекомендуют позаконазол для лечения вызванного *Fusarium* spp. кератита.³¹

Эндемичные микозы. В 2006 г. Restrepo и соавт. опубликовали сообщение об использовании позаконазола в суспензии (800 мг в сутки) у 6 пациентов с тяжелыми формами гистоплазмоза. У 1 пациента был гистоплазмоз легких, у 5 — диссеминированный гистоплазмоз. Предшествующая терапия амфотерицином В, итраконазолом, флуконазолом и вориконазолом была неэффективна. Длительность лечения позаконазолом составила от 6 до 34 нед. У всех больных была отмечена положительная динамика уже в первый месяц лечения позаконазолом. Несмотря на небольшое количество исследованных пациентов, авторы рекомендуют позаконазол для лечения гистоплазмоза.³²

Инвазивные микозы центральной нервной системы. P. Pitisuttithum и соавт. (2005) провели многоцентровое открытое клиническое исследование эффективности и безопасности позаконазола (800 мг/сут) для лечения микозов ЦНС у 39 пациентов, преимущественно с ВИЧ-инфекцией. У 29 испытуемых был криптококковый менингоэнцефалит, а у 10 — другие микозы ЦНС (*Aspergillus* spp. — 4, *Pseudallescheria boydii* — 2, *Coccidioides immitis* — 1, *Histoplasma capsulatum* — 1, *Ramichloridium mackenzie* — 1, *Basidiomycetes* spp. — 1). Лечение было эффективно у 14 (48%) из 29 пациентов с криптококковым менингитом и у 5 (50%) из 10 больных другими микозами. Авторы считают, что позаконазол можно использовать для лечения микозов ЦНС.³³

Нежелательные явления. Проведенные клинические исследования свидетельствуют о низкой частоте нежелательных явлений при применении позаконазола. I. Raad и соавт. (2006) исследовали безопасность позаконазола у 428 пациентов, которые получили антимикотик по поводу рефрактерных ИМ ($n = 362$) или при фебрильной нейтропении ($n = 66$). Из них 109 больных получали позаконазол более 6 мес. Общая частота нежелательных явлений составила 36%. Наиболее часто регистрировали тошноту (8%) и рвоту (6%). Выраженные нежелательные явления были отмечены у 8% пациентов. У 1% больных было увеличение продолжительности интервала QT, а у 2% — повышение активности печеночных ферментов в сыворотке крови. Частота нежелательных явлений в группе пациентов, получавших позаконазол с длительностью до 6 и более 6 мес., была сходна.³⁴

Применение в педиатрии

Контролируемых клинических испытаний применения позаконазола у детей не проводилось, есть лишь сообщения о более или менее крупных исследованиях и клинических наблюдениях.³⁵⁻³⁷

Фармакокинетика. G. Krishna и соавт. (2007) изучали некоторые фармакокинетические параметры и нежелатель-

ные явления при использовании позаконазола у 12 пациентов моложе 18 лет (возраст 8–17 лет). Группой сравнения были 194 взрослых пациента (от 18 до 64 лет). Все больные участвовали в открытом исследовании позаконазола при неэффективности или непереносимости стандартной антимикотической терапии. Определяли уровень концентрации антимикотика в плазме крови. 11 детей получали позаконазол в суспензии в дозе 800 мг/сут, один — 400 мг/сут. Средняя концентрация противогрибкового средства в группе детей была 776 нг/мл, а у взрослых — 817 нг/мл. Авторы считают, что фармакокинетика позаконазола у детей сравнима с таковой у взрослых.

Нежелательные явления. Частота и выраженность нежелательных явлений были сходны в обеих группах. Большинство нежелательных явлений (43%) были гастроинтестинальными (тошнота, рвота и др.), реже отмечали повышение активности аминотрансфераз. У одного ребенка позаконазол был отменен в связи с нежелательными явлениями, связанными с приемом препарата.³⁸

Эффективность. Мы обнаружили данные о применении позаконазола при неэффективности или непереносимости стандартной антимикотической терапии у 28 детей в возрасте от 4 до 17 лет (табл. 3).

ИМ возникли во время лечения гематологических заболеваний ($n = 11$), хронической гранулематозной болезни и других первичных иммунодефицитов ($n = 10$), сахарного диабета типа 1 ($n = 3$), остеосаркомы ($n = 1$), муковисцидоза ($n = 1$) и травмы с множественными поражениями ($n = 1$). Возбудителями микозов были зигомицеты (*Rhizopus*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Absidia* spp.; $n = 8$), *Aspergillus* spp. ($n = 7$), *Candida* spp. ($n = 4$), *Fusarium* spp. ($n = 2$), *Acremonium* spp. ($n = 2$), *Trichosporum* spp. ($n = 2$), *Paecilomyces* spp. ($n = 1$), *Scedosporium* spp. ($n = 1$), а также неидентифицированный мицелиальный микромицет. ИМ были как локализованными (легкие, придаточные пазухи, мягкие ткани), так и диссеминированными, в т. ч. с поражением ЦНС. Авторы сообщают, что в большинстве случаев (20 из 28, 71,4%) применение позаконазола было эффективным. Вместе с тем следует учитывать, что препарат назначали в сочетании с другими антимикотиками (каспофунгин, липосомный амфотерицин В и др.), колониестимулирующими факторами и хирургическим вмешательством.

В настоящее время проводятся крупные контролируемые исследования профилактического применения позаконазола у детей с высоким риском развития ИМ.⁴⁸ Предполагается, что эти исследования позволят уточнить фармакокинетику позаконазола у детей и оптимизировать применение препарата в педиатрии.

В нашей стране позаконазол разрешен для профилактики ИМ у больных с гематологическими заболеваниями с длительной нейтропенией вследствие химиотерапии и реципиентов ТКСК, получающих высокие дозы иммунодепрессантов, а также для лечения ИК, ИА, зигомикоза, криптококкоза, фузариоза, хромомикоза и мицетомы, кокцидиоидоза, рефрактерных к другим противогрибковым лекарственным средствам, или при их непереносимости.⁴⁹

Результаты проведенных клинических исследований позволяют рассматривать позаконазол как новый стандарт первичной профилактики ИМ у гематологических больных и реципиентов алло-ТКСК. Следует отметить, что данное показание к применению позаконазола приводится многими национальными и международными рекомендациями по профилактике и лечению ИМ.

Например, в 2008 г. Американское общество инфекционистов (IDSA) опубликовало «Лечение аспергиллеза: клинические и практические рекомендации IDSA», в которых

Таблица 3. Применение позаконазола в педиатрии

Возбудитель	Возраст, лет	Фоновое заболевание	Эффект	Источник
Зигмицеты	5	ОЛЛ	Да	47
	7	СД1	Да	44
	8	СД1	Да	39
	10	АА	Да	43
	10	АА, алло-ТКСК	Да	42
	12	СД1	Да	41
	12	Политравма	Да	40
	15	ОЛЛ	Да	47
<i>Aspergillus</i> spp.	4	ХГБ	Да	41
	8	ЗНЛ	Да	38
	12	ХГБ	Да	45
	12	ХГБ	Да	38
	14	Муковисцидоз	Нет данных	38
	16	ОЛЛ, алло-ТКСК	Нет данных	38
<i>Aspergillus + Scedosporium</i> spp.	16	ХМЛ, алло-ТКСК	Да	38
<i>Candida</i> spp.	12	ОМЛ	Нет	38
	15	ОЛЛ	Да	38
	15	ОМЛ, алло-ТКСК	Нет данных	38
	16	Врожденный иммунодефицит	Нет данных	38
<i>Fusarium</i> spp.	10	ХМЛ, алло-ТКСК	Нет	38
	15	Остеосаркома	Нет данных	38
<i>Acremonium</i> spp.	9	ХГБ	Да	45
	17	ХГБ	Да	45
<i>Trichosporum</i> spp.	9	ХГБ	Да	46
	13	ХГБ	Да	46
<i>Paecilomyces</i> spp.	17	ХГБ	Нет	45
<i>Coccidioidomyces immitis</i>	17	Нет	Да	38
Неидентифицированный микоз легкого	9	ХГБ	Да	45

АА — апластическая анемия; ЗНЛ — злокачественная неходжкинская лимфома; ОМЛ — острый миелоидный лейкоз; СД1 — сахарный диабет типа 1; ХГБ — хроническая гранулематозная болезнь; ХМЛ — хронический миелолейкоз.

позаконазол рекомендовали с уровнем доказательности I, степень обоснованности А (наивысший уровень доказательности) для профилактики ИА у гематологических больных и реципиентов алло-ТКСК. В этих рекомендациях отмечено, что позаконазол является единственным препаратом, одобренным для профилактики ИА у данной категории пациентов.⁵⁰ Ранее позаконазол был представлен как препарат для профилактики ИМ у онкологических пациентов из группы высокого риска с уровнем доказательности I в клинических рекомендациях по онкологии, опубликованных Национальной онкологической сетью (National Comprehensive Cancer Network — NCCN).⁵¹ Кроме того, применение позаконазола для профилактики ИМ у гематологических пациентов из группы высокого риска было рекомендовано First European

Conference on Infections in leukemia (ECIL 1) с уровнем доказательности I.⁵²

ВЫВОДЫ И РЕКОМЕНДАЦИИ

На основании собственного опыта и анализа литературы мы пришли к следующим заключениям. Позаконазол можно применять для лечения и вторичной профилактики инвазивных микозов у пациентов с системными заболеваниями крови, в т. ч. в условиях продолжающейся химиотерапии гемобластозов и трансплантации кроветворных стволовых клеток. Позаконазол можно использовать длительно, в течение многомесячного периода, при этом применение препарата безопасно.

ЛИТЕРАТУРА

- Hayes-Lattin B., Maziarz R. T. Update in the epidemiology, prophylaxis, and treatment of fungal infections in patients with hematological disorders. *Leuk. Lymphoma* 2004; 45: 669–80.
- Paauw B., Rex J., Donnelly J. P. et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infection Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46: 1813–49.
- Segal B. H., Herbrecht R., Stevens D. et al. Defining responses of therapy and study outcomes in clinical trials of invasive fungal diseases: Mycoses Study Group and European Organization for Research and Treatment of Cancer Consensus Criteria. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 47: 674–83.

- Клишко Н. Н. Позаконазол — новый азольный антимикотик широкого спектра для профилактики и лечения инвазивных микозов. *Consilium Medicum* 2008; 10(1): 18–25.
- Dodds Ashley E., Alexander B. Posaconazole. *Drugs Today* 2005; 41(6): 393–400.
- Groll A., Walsh T. Posaconazole: clinical pharmacology and potential for management of fungal infections. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 2005; 3(4): 467–87.
- Boucher H., Groll A., Chiou C. et al. Newer systemic antifungal agents: pharmacokinetics, safety and efficacy. *Drugs* 2004; 64(18): 1997–2020.
- Andes D., Marchillo K., Conklin R. et al. Pharmacodynamics of a new triazole, posaconazole, in a murine model of disseminated candidiasis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004; 48(1): 137–42.
- Pfaller M., Messer S., Hollis R. et al. Antifungal activities of posaconazole, ravuconazole, and voriconazole compared to those of itraconazole and amphotericin B against 239 clinical isolates of

Aspergillus spp. and other filamentous fungi: report from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2000. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002; 46(4): 1032–7.

- Sabatelli F., Patel R., Mann P. et al. In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50(6): 2009–15.
- Torres-Narbona M., Guinea J., Martinez-Alarcon J. et al. In Vitro Activities of Amphotericin B, Caspofungin, Itraconazole, Posaconazole, and Voriconazole against 45 Clinical Isolates of Zygomycetes: Comparison of CLSI M38-A, Sensititre Yeast-One, and the Etest. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51(3): 1126–9.
- Torres H., Hachem R., Chemaly R. et al. Posaconazole: a broad-spectrum triazole antifungal. *Lancet Infect. Dis.* 2005; 5(12): 775–85.

13. Courtney R., Pai S., Laughlin M. et al. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of oral posaconazole administered in single and multiple doses in healthy adults. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47(9): 2788–95.
14. Conte J. R., Golden J. A., Krishna G. et al. Intra pulmonary pharmacokinetics-pharmacodynamics of posaconazole. 3 *Advances Against Aspergillosis*. 2008.
15. Krieter P., Flannery B., Musick T. et al. Disposition of posaconazole following single-dose oral administration in healthy subjects. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004; 48(9): 3543–51.
16. Wexler D., Courtney R., Richards W. et al. Effect of posaconazole on cytochrome P450 enzymes: a randomized, open-label, two-way crossover study. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2004; 21(5): 645–53.
17. Sansone-Parsons A., Krishna G., Simon J. et al. Effects of age, gender, and race/ethnicity on the pharmacokinetics of posaconazole in healthy volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51(2): 495–502.
18. Ullmann A., Cornely O., Burchardt A. et al. Pharmacokinetics, safety, and efficacy of posaconazole in patients with persistent febrile neutropenia or refractory invasive fungal infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50(2): 658–66.
19. Naggapan V., Deresinski S. Posaconazole: a broad-spectrum triazole antifungal agent. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 45: 1610–7.
20. Barchiesi F., Spreghini E., Santinelli A. et al. Posaconazole prophylaxis in experimental systemic zygomycosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51(1): 73–7.
21. Cornely O., Maertens J., Winston D. et al. Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N. Engl. J. Med.* 2007; 356(4): 348–59.
22. Ullmann A., Lipton J., Vesole D. et al. Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease. *N. Engl. J. Med.* 2007; 356(4): 335–47.
23. Keating G. Posaconazole. *Drugs* 2005; 65(11): 1553–67.
24. Walsh T., Raad I., Patterson T. et al. Treatment of invasive aspergillosis with posaconazole in patients who are refractory to or intolerant of conventional therapy: an externally controlled trial. *CID* 2007; 44(1): 2–12.
25. Tobon A., Arango M., Fernandez D. et al. Mucormycosis (zygomycosis) in a heart-kidney transplant recipient: recovery after posaconazole therapy. *CID* 2003; 36(11): 1488–91.
26. Greenberg R., Mullane K., van Burik J. et al. Posaconazole as salvage therapy for Zygomycosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50(1): 126–33.
27. van Burik J., Hare R., Solomon H. et al. Posaconazole is effective as salvage therapy in zygomycosis: a retrospective summary of 91 cases. *CID* 2006; 42(7): 61–5.
28. Rutar T., Cockerham K. Periorbital zygomycosis (mucormycosis) treated with posaconazole. *Am. J. Ophthalmol.* 2006; 142(1): 187–8.
29. Page R., Schwiesow J., Hiltz A. Posaconazole as salvage therapy in a patient with disseminated zygomycosis: case report and review of the literature. *Pharmacotherapy* 2007; 27(2): 290–8.
30. Raad I., Hachem R., Herbrecht R. et al. Posaconazole as salvage treatment for invasive fusariosis in patients with underlying hematologic malignancy and other conditions. *CID* 2006; 42(10): 1398–403.
31. Tu E., McCartney D., Beatty R. et al. Successful treatment of resistant ocular fusariosis with posaconazole (SCH-56592). *Am. J. Ophthalmol.* 2007; 143(2): 222–7.
32. Restrepo A., Tobon A., Clark B. et al. Salvage treatment of histoplasmosis with posaconazole. *J. Infect.* 2007; 54(4): 319–27.
33. Pitisuttithum P., Negroni R., Graybill J. et al. Activity of posaconazole in the treatment of central nervous system fungal infections. *J. Antimicrob. Chemother.* 2005; 56(4): 745–55.
34. Raad I., Graybill J., Bustamante A. et al. Safety of long-term oral posaconazole use in the treatment of refractory invasive fungal infections. *CID* 2006; 42(12): 1726–34.
35. Antachopoulos C., Walsh T. New agents for invasive mycoses in children. *Curr. Opin. Pediatr.* 2005; 17(1): 78–87.
36. Allinson K., Koloe H., Hambinger H. et al. Secondary antifungal prophylaxis in paediatric allogeneic stem cell recipients. *J. Antimicrob. Chemother.* 2008; 61: 734–42.
37. Groll A., Lehnbecher T. Posaconazole for paediatric patients: status of development and future perspectives. *Mycoses* 2008; 51(S2): 5–11.
38. Krishna G., Sansone-Parsons A., Martinho M. et al. Posaconazole Plasma Concentrations in juvenile patients with invasive fungal infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51(3): 812–8.
39. Simmons J., Zeitler P., Fenton L. et al. Rhinocerebral mucormycosis complicated by internal carotid artery thrombosis in a pediatric patient with type 1 diabetes mellitus: a case report and review of the literature. *Pediatr. Diabetes* 2005; 6: 234–8.
40. De Decker K., Van Poucke S., Wojciechowski M. et al. Successful use of posaconazole in a pediatric case of fungal necrotizing fasciitis. *Pediatr. Crit. Care Med.* 2006; 7(5): 482–5.
41. Notheis G., Tarani L., Costantino F. et al. Posaconazole for treatment of refractory invasive fungal disease. *Mycoses*. 2006; 1: 37–41.
42. Sorensen J., Becker M., Porto L. et al. Rhinocerebral zygomycosis in a young girl undergoing allogeneic stem cell transplantation for severe aplastic anaemia. *Mycoses*. 2006; 49: 31–6.
43. Chan Y., Goldwater P., Saxon B. Successful treatment of cutaneous and subcutaneous zygomycosis in an immunosuppressed patient with aplastic anaemia. *J. Paediatr. Child Health.* 2007; 43(1–2): 87–9.
44. Gelston C. D., Durairaj V. D., Simoes A. E. Rhino-orbital mucormycosis causing cavernous sinus and internal carotid thrombosis treated with posaconazole. *Arch. Ophthalmol.* 2007; 125: 848–9.
45. Segal B. H., Barnhart L. A., Anderson L. V. et al. Posaconazole as salvage therapy in patients with chronic granulomatous disease and invasive filamentous fungal infection. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 40: 1684–8.
46. Wynne S. M., Kwon-Chung K. J., Shea Y. R. et al. Invasive infection with *Trichosporon inkin* in two siblings with chronic granulomatous disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004; 114: 1418–24.
47. Garner D., Machin K. Investigation and management of an outbreak of mucormycosis in a paediatric oncology unit. *J. Hosp. Infect.* 2008; 70: 53–9.
48. Paugam A. The latest data on posaconazole. *Med. Mal. Infect.* 2007; 54(4): 319–27.
49. НОКСАФИЛ® — Инструкция по медицинскому применению препарата, 2007.
50. Walsh T. J. et al. Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46: 327–60.
51. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, v. 1. 2007. Prevention and Treatment of Cancer-Related Infections. www.nccn.org.
52. Maertens J. A. et al. Primary antifungal prophylaxis in leukemia patients. *Eur. J. Cancer* 2007; 5: 43–9.



Панникулитоподобная Т-клеточная лимфома. Клинический случай и обзор литературы

Н. Б. Михайлова [1], Е. В. Морозова [1], Е. Е. Леенман [2], Б. В. Афанасьев [1]

РЕФЕРАТ

Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. Case report and literature review

N. B. Mikhaylova [1], E. V. Morosova [1],
E. E. Leenman [2], B. V. Afanasyev [1]

SUMMARY

Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma (SPTL) is a rare disorder and accounts for less than 1% of all lymphoma cases. Modern data shows that aggressive clinical behavior correlates with some immunologic and molecule-biological features: T-cell receptor type and CD56 coexpression. Another important prognostic factor is hemophagocytosis. We present a case report of SPTL patient with intermediate prognosis.

Keywords:

subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma, prognosis, therapy.

[1] St. Petersburg State Medical University n.a. I. P. Pavlov

[2] Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies,
St.-Petersburg

Контакты: bmt-lymphoma@spmu.rssi.ru

Принято в печать: 5 ноября 2008 г.

Подкожная панникулитоподобная Т-клеточная лимфома (ППТКЛ) — редкое заболевание, на долю которого приходится не более 1% всех лимфом. Современные данные указывают, что агрессивность течения заболевания коррелирует с некоторыми иммунологическими и молекулярно-биологическими признаками, а именно типом Т-клеточного рецептора и коэкспрессии CD56. Другим важным прогностическим фактором является гемофагоцитоз. В статье представлен клинический случай ППТКЛ с промежуточным прогнозом.

Ключевые слова

подкожная панникулитоподобная Т-клеточная лимфома, прогноз, лечение.

ВВЕДЕНИЕ

Впервые лимфому с агрессивным течением, напоминающую воспаление подкожной жировой клетчатки и часто сопровождающуюся гемофагоцитозом описали С. L. Gonzales и соавт. в 1991 г.¹ Опухолевый субстрат при данном виде лимфом представлен цитотоксическими Т-клетками. В последующем это заболевание как подкожная панникулитоподобная Т-клеточная лимфома (ППТКЛ) вошло сначала в REAL, а затем в классификацию ВОЗ.^{2,3} Заболевание встречается редко: в мировой литературе опубликованы данные менее чем о 200 случаях. Наиболее полный системный ретроспективный анализ отдельных сообщений, посвященных этому виду лимфом, сделали R. Go и S. Wester.⁴ Как правило, злокачественный клон лимфоцитов инфильтрирует подкожную клетчатку конечностей и туловища. Область лица поражается редко. В большинстве случаев кожа остается интактной, хотя приблизительно у 1/3 пациентов наблюдается вовлечение дермы и крайне редко — эпидермиса. R. Willemze и соавт. отметили изъязвления на коже лишь у 4 из 83 пациен-

тов.⁵ Образования в подкожной клетчатке могут быть как единичными, так и множественными, и их размеры колеблются от 1 до 20 см в диаметре. Мужчины и женщины заболевают с одинаковой частотой, чаще после 35 лет. Тем не менее до 20% случаев приходится на подростков и детей.⁵

Есть данные, что у 25% заболевших лимфома сочетается с различными аутоиммунными заболеваниями: системной красной волчанкой, ювенильным ревматоидным артритом, болезнью Шегрена и др.⁴ От появления первых клинических признаков заболевания до постановки диагноза в среднем проходит 7 мес. Приблизительно в 50% случаев имеют место В-симптомы. Различные виды цитопений (чаще всего анемии) встречаются у 40% пациентов. Частота гемофагоцитарного синдрома, по данным разных авторов, колеблется от 16 до 45%.⁴⁻⁷ Гистологическая картина представлена пролиферацией лимфоцитов различного размера, чаще мелких и средних, реже крупных, которые концентрируются вокруг жировых клеток. Как правило, присутствуют гистиоциты и макрофаги без признаков атипии.

[1] Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

[2] Российский научный центр радиологии и хирургических технологий, Санкт-Петербург

Иногда можно наблюдать васкулиты, гранулемы, некроз жировой клетчатки.^{1,4,5,7,8} Злокачественный клон состоит из цитотоксических Т-лимфоцитов. Хотя исходно ППТКЛ позиционировалась как агрессивно протекающее заболевание, последующие наблюдения показали, что имеется, по крайней мере, две группы пациентов: у одних заболевание действительно протекает крайне агрессивно и плохо отвечает на полихимиотерапию, у других болезнь носит более спокойный характер и отличается хорошей чувствительностью к цитостатическим воздействиям.^{9,10}

В 2008 г. в исследовании, проведенном группой EORTC по изучению кожных лимфом, показано, что два клинических варианта течения заболевания имеют иммунологические и молекулярно-биологические различия.⁵ По мнению авторов, следует разделять ППТКЛ с Т-клеточным α/β - и γ/δ -фенотипом. Злокачественный клон лимфоцитов с Т-клеточным α/β -рецептором характеризуется экспрессией CD3, CD8, цитотоксическими белками (гранзим В, TIA-1, перфорин), отсутствием CD4 и CD56. Уровень пролиферации обычно высокий. Гемофагочитарный синдром отмечен у 17% больных. Заболевание протекает относительно спокойно. Чувствительность к химиопрепаратам сохранена у большинства пациентов. Общая 5-летняя выживаемость составила в данном исследовании 82% (из них 91% — у больных без гемофагочитоза и 46% — у больных с гемофагочитозом). Т-клеточный γ/δ -рецептор при ППТКЛ встречается реже. Характерен CD3+, CD4-, CD8- Т-клеточный фенотип с выраженной экспрессией цитотоксических белков. В 50% случаев наблюдается коэкспрессия CD56. В клинической картине характерно наличие В-симптомов, вовлечение в патологический процесс дермы и эпидермиса. 5-летняя выживаемость составляет 11%. Основываясь на проведенном анализе, авторы считают, что речь идет о двух отдельных заболеваниях и что термин «ППТКЛ» должен быть закреплен только за заболеванием с Т-клеточным α/β -рецептором, в то время как все случаи с γ/δ -реаранжировкой следует относить к первичным кожным Т-клеточным γ/δ -лимфомам. Эта нозология присутствует в EORTC классификации,³ и теперь добавлена в новую редакцию ВОЗ классификации 2008 г.

Представляем вашему вниманию больную ППТКЛ, которая получила лечение в клинике трансплантации костного мозга в СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациентка, 44 года, в августе 2003 г. заметила опухолевидное образование 12 × 7 см в области переднебокового отдела брюшной стенки над крылом подвздошной кости, которое постепенно увеличивалось. Опухоль была умеренно болезненна при пальпации, эластичной консистенции, не спаивалась с окружающими тканями, без четких границ. Кожа над ней была обычной окраски. Аналогичные образования выявлены в левой паховой области размером 2,0 × 1,5 см и на правом бедре 1,5 × 1,5 см. Больная обратилась в общехирургическое отделение одной из городских больниц, где ей 03.10.2003 г. выполнено иссечение опухолевого инфильтрата переднебоковой брюшной стенки и 21.10.2003 г. — иссечение опухолевого инфильтрата в левой паховой области. Предварительный диагноз: липома. Биопсия перед операцией не проводилась. При гистологическом исследовании иссеченных тканей выявлена лимфоидная инфильтрация, и 19.12.2003 г. больная переведена в клинику трансплантации костного мозга СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова для верификации диагноза и лечения.

При поступлении в клинику у больной имелись В-симптомы в виде лихорадки и потливости, отмечалась ане-

мия II степени, лейкопения II степени, лимфопения I степени, нейтропения I степени, моноцитоз 25%, умеренные признаки гемофагочитоза в костном мозге. В биохимическом анализе крови незначительно повышена активность аспаратаминотрансферазы. Все остальные показатели, в т. ч. лактатдегидрогеназа, были в норме. При УЗИ и КТ выявлена спленомегалия: размер селезенки 132 × 46 мм. По данным миелограммы и трепанобиопсии крыла подвздошной кости признаков вовлечения костного мозга в патологический процесс не было. Выполнено повторное гистологическое и иммуногистохимическое исследование в лаборатории ЦНИРРИ проф. К. М. Пожарисским и Е. Е. Леенман. Заключение: в срезах имеются участки жировой клетчатки, в которых отмечается интерстициальная инфильтрация умеренной степени выраженности, образованная лимфоидными клетками среднего размера. Лимфоидные клетки окружают отдельные липоциты в виде кольца. Также отмечается концентрация лимфоцитов вокруг стенок сосудов и инфильтрация самих сосудов (рис. 1).

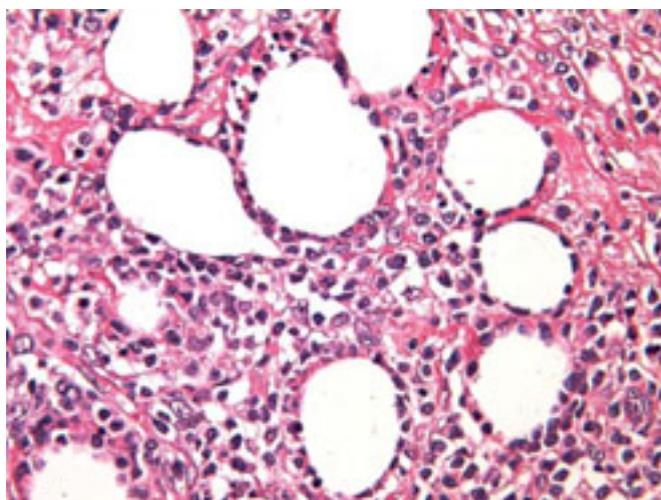


Рис. 1. Атипичные лимфоидные клетки окружают отдельные жировые клетки в виде ободка. Гематоксилин и эозин, × 10

Кроме лимфоцитов в инфильтрации участвуют немногочисленные гранулоциты и гистиоциты. В срезах лимфоузлов, прилежащих к клетчатке, рисунок строения сохранен, имеется гистиоцитоз синусов и фиброз капсулы. В жировой ткани отмечаются небольшие фокусы некроза. Иммуногистохимически лимфоциты, инфильтрирующие клетчатку, экспрессируют CD3 (цитоплазматический), CD8, гранзим В, негативны к CD20, CD79, ЕМА, миелопероксидазе, CD4, CD57, CD30 (рис. 2 и 3).

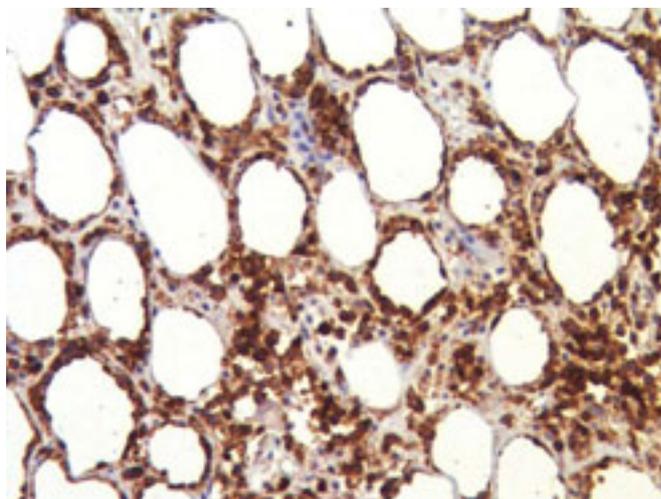


Рис. 2. Экспрессия CD3 в опухолевых клетках. Иммуногистохимический метод EnVision, × 20

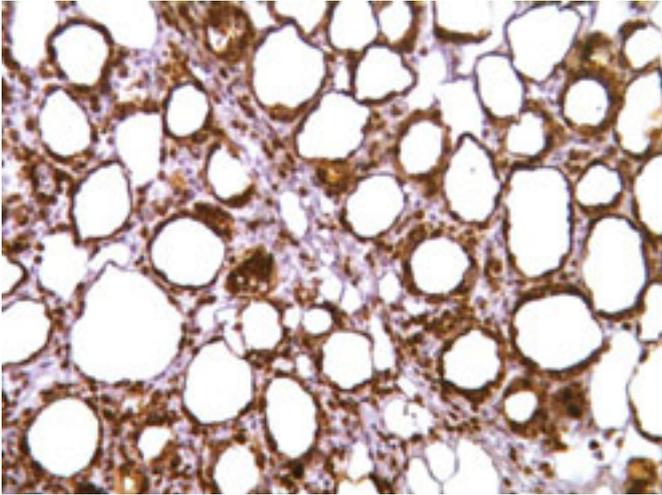


Рис. 3. Цитоплазматическая экспрессия цитотоксической молекулы перфорина опухолевыми лимфоцитами. Иммуногистохимический метод EnVision, $\times 40$

Таким образом, на основании гистологического и иммуногистохимического исследований поставлен диагноз Т-клеточная панникулитоподобная лимфома. Заживления послеоперационной раны на переднебоковой поверхности брюшной стенки не произошло, края раны и подкожная клетчатка были инфицированы *St. aureus*. Общая протяженность открытой раны составляла около 50 см. В паховой области рана зажила первичным натяжением. У пациентки были выраженный болевой синдром и лихорадка, очевидно, смешанного генеза — как проявление В-симптомов, связанных с лимфомой, и текущей послеоперационной инфекции. Проводилась антибактериальная терапия (аминогликозиды, цефалоспорины, ванкомицин, сульперазон, метрогил), однако подъемы температуры тела сохранялись. Несмотря на тяжелое состояние больной и открытую инфицированную рану, 23.12.2003 г. начато специфическое лечение. Первая попытка химиотерапии флударабином и митоксантроном оказалась неудачной: у больной увеличились лихорадка и боль в послеоперационной ране. В мезогастррии определялась гиперемия и инфильтрация кожи и подкожной клетчатки. 25.12.2003 г. была вскрыта флегмона мезогастральной области, 31.12.2003 г. иссечена некротизированная клетчатка в краях раны. При повторных гистологических исследованиях материала, взятого из краев послеоперационной раны, кроме некроза обнаруживалась лимфоидная инфильтрация, что свидетельствовало о неполном иссечении опухоли и прогрессировании процесса.

С 26.01.2004 г. начата терапия СНОР в полных дозах. После первого цикла СНОР состояние пациентки существенно улучшилось: купировался болевой синдром, уменьшилась лихорадка. В дальнейшем продолжена СНОР-подобная терапия с заменой доксорубицина на митоксантрон в дозе 10 мг/м^2 . После второго цикла полихимиотерапии (ПХТ) удалось частично ушить края раны (рис. 4).

После третьего цикла ПХТ дважды (15.03.2004 и 30.03.2004) выполнена пересадка кожи в область послеоперационной раны. Кожные лоскуты взяты с бедра (рис. 5).

Всего проведено 6 циклов СНОР, последний — 26.05.2004 г. Больная полностью обследована. Диагностирована полная ремиссия, которая сохраняется до настоящего времени. После окончания лечения больная обследовалась каждые 3 мес., а затем 1 раз в полгода для подтверждения полной ремиссии. Последнее обследование проведено в августе 2008 г. В ноябре 2004 г. больной после стимуляции колониестимулирующим фактором проведен аферез гемо-



Рис. 4. Пациентка с панникулитоподобной Т-клеточной лимфомой. 4,5 мес. после операции: иссечение опухолевого инфильтрата в переднебоковой области брюшной стенки и 2 мес. спустя после начала химиотерапии



Рис. 5. Пациентка с панникулитоподобной Т-клеточной лимфомой. Состояние после пластики операционной раны кожными лоскутами, взятыми с бедра. Фото через 4 года после окончания лечения

поэтических стволовых клеток периферической крови для возможной аутологичной трансплантации в случае рецидива, т. к. прогноз расценивался как не вполне благоприятный.

торам удалось контролировать болезнь во время беременности. После рождения здоровой девочки в связи с рецидивом заболевания была проведена миелоаблативная радиохимиотерапия с ауто-ТГСК, приведшая к ПР заболевания.¹⁷

Стандартной второй линии терапии, разработанной для больных ППТКЛ, не существует. В случае рецидива или первичной резистентности делаются попытки применения флударабин- и платиносодержащих режимов с разной вероятностью успеха.^{4,5,12,13} Есть единичные работы об эффективности иммуносупрессивной терапии при резистентности к химиотерапии. Р. Rojnuckarin и соавт. сообщили о лечении 4 пациентов с ППТКЛ, резистентных к СНОР, ESNAP и флударабинсодержащим режимам, с помощью циклоспорина А.¹⁸ Препарат назначался в дозе 4 мг/кг в сутки. У всех больных была получена ПР. У 3 пациентов ПР продолжается 8–9 мес. после отмены препарата на момент публикации.

Из новых подходов к терапии этого заболевания следует упомянуть о denileukin difitox (Онтак) и bexarotene (Таргетин).²¹ Онтак является таргетным анти-CD25 препаратом, связывающим рецепторы интерлейкина-2 на активированных клетках. Применяется для лечения резистентных форм грибовидного микоза и других кожных лимфом. Таргетин —

препарат из группы ретиноидов, является противоопухолевым препаратом и может вызывать тяжелые аномалии у плода.²² Т. Hathaway и соавт. получили полный ответ, продолжающийся более 6 мес., у 2 пациентов с ППТКЛ, причем с помощью добавления таргетина к онтаку у одного больного удалось реиндуцировать ремиссию после рецидива заболевания. Авторы предполагают, что сочетание этих препаратов может иметь будущее в терапии ППТКЛ.²¹

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выбор терапии при ППТКЛ должен основываться на иммунологических и молекулярно-биологических прогностических факторах. Приведенный нами случай демонстрирует, что ПХТ эффективна у больных с промежуточным прогнозом, обусловленным гемофагоцитозом. В силу агрессивности заболевания сопутствующие осложнения не должны быть поводом к отказу или длительному откладыванию терапии. Проблемы, возникшие в нашем случае, были связаны с тем, что у больной пытались удалить всю опухолевую массу без предварительной биопсии, и с поздним обращением в специализированное отделение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gonzales C. L., Medeiros L. J., Braziel R. M., Jaffe E. S. T-cell lymphoma involving subcutaneous tissue. A clinicopathologic entity commonly associated with hemophagocytic syndrome. *Am. J. Surg. Pathol.* 1991; 15: 17–27.
2. Harris N. L., Jaffe E. S., Stein H., Vardiman J. W. (eds.) World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of the hematopoietic and lymphoid tissues. — Lyon: IARC Press, 2001.
3. Go R. S., Wester S. M. Immunophenotypic and molecular features, clinical outcomes, treatments, and prognostic factors associated with subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. A systematic analysis of 156 patients reported in the literature. *Cancer* 2004; 101: 404–13.
4. Willemze R., Jansen P. M., Cerroni L. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: definition, classification, and prognostic factors: an EORTC Cutaneous Lymphoma Group Study of 83 cases. *Blood* 2008; 111(2): 838–45.
5. Singh A., Kumar J., Kaspur S., Ramesh V. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* 2008; 74(2): 151–3.
6. Takeshita M., Imayama S., Oshiro Y. et al. Clinicopathologic Analysis of 22 cases of subcutaneous panniculitis-like CD56- or CD56+ lymphoma and re-

view of 44 other reported cases. *Am. J. Clin. Pathol.* 2004; 121: 408–16.

7. Леенман Е. Е., Криволапов Ю. А., Морозова Е. В. Е-клеточная паникулитоподобная лимфома подкожной жировой клетчатки: клинико-морфологический и иммуногистохимический анализ. *Патол. арх.* 2005; 67(2): 43–6.
8. Weenig R. H., Ng C. S., Pernicario P. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: An elusive case presenting as lipomembranous panniculitis and a review of 72 cases in the literature. *Am. J. Dermatol.* 2001; 23: 206–15.
9. Gallardo F., Pujol R. M. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma and other primary cutaneous lymphomas with prominent subcutaneous tissue involvement. *Dermatol. Clin.* 2008; 26(4): 529–40.
10. Hoque S. R., Child F. J., Whittaker S. J. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a clinicopathological, immunophenotypic and molecular analysis of six patients. *Br. J. Dermatol.* 2003; 148(3): 516–23.
11. Go R. S., Gazelka H., Hogan J. D., Wester S. M. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: complete remission with fludarabine. *Ann. Hematol.* 2003; 82(4): 247–50.
12. Au W. Y., Ng W. M., Choy C., Kwong Y. L. Aggressive subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: Complete remission with fludarabine, mitoxantrone and dexamethasone. *Br. J. Dermatol.* 2000; 143(2): 408–10.
13. Alalbac M., Berti E., Pigozzi B. et al. High-dose chemotherapy with autologous blood stem cell transplantation for aggressive subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2005; 52: S121–3.
14. Mukai H. Y., Okoshi Y., Shimizu S. et al. Successful treatment of a patient with subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma with high-dose chemotherapy and total body irradiation. *Eur. J. Hematol.* 2003; 70(6): 413–6.
15. Ichii M., Hatanaka K., Imakita M. et al. Successful treatment of refractory subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma with allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from HLA-mismatched sibling donor. *Leukem. Lymph.* 2006; 47(10): 2250–2.
16. Reimer P., Rudiger T., Muller J. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma during pregnancy with successful autologous stem cell transplantation. *Ann. Hematol.* 2003; 82(5): 305–9.
17. Rojnuckarin P., Nacorn T. M., Assanasen T. et al. Cyclosporin in subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. *Leuk. Lymph.* 2007; 48(3): 560–3.
18. Tsukamoto Y., Katsunobu Y., Omura Y. et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: successful initial treatment with prednisolone and cyclosporine A. *Intern. Med.* 2006; 45(1): 21–4.
19. Al Zolibani A. A., Robaee A. A., Qureshi M. G., Al Nosian H. subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma with hemophagocytic syndrome successfully treated with cyclosporin A. *Skinmed* 2006; 5(4): 195–7.
20. Hathaway T., Subtil A., Kuo P., Foss F. Efficacy of denileukin difitox in subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. *Clin. Lymphoma Myeloma* 2007; 7(8): 541–5.
21. Duvic M. Bexarotene and DAB(389) IL-2 (denileukin difitox, ONTAK) in treatment of cutaneous T-cell lymphomas: algorithm. *Clin. Lymphoma* 2000; 1(Suppl. 1): 551–5.

Редкий случай Т-клеточной лимфомы кожи, сочетанной с вторичным гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом

Е. Б. Ликунев, Д. В. Литвинов

РЕФЕРАТ

Rare case of T-cell lymphoma of skin, combined with secondary haemophagocytic lymphohistiocy- tosis

E. Likunov, D. Litvinov

Keywords:

Primary T-cell cutaneous lymphoma present group of lymphoproliferative disease, characterized with clonal proliferation of T-lymphocytes. Frequency is 10–15% in children and adolescences. Skin morphological elements are progressive from stains or plaques to tumoral units with attributes and ulceration. Histological, immunological, immunohistochemical researches is basic diagnostic methods.

Hemophagocytic syndrome is a rare hereditary disease. Immune response is carried out by means of defective with cytotoxic activity of T-lymphocytes and natural killers which is characterized by the proliferation of monocytes, macrophages and dendritic cells in skin, bone marrow, internal organs. We describe a clinical case of secondary hemophagocytic syndrome with combination T-cell lymphoma of skin.

Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology
Roszdrazh, Moscow

Контакты: likunov@mail.ru

Принято в печать: 18 ноября 2008 г.

Первичные Т-клеточные лимфомы кожи представляют собой группу лимфопрлиферативных заболеваний, характеризующихся клональной пролиферацией Т-лимфоцитов с локализацией в коже. Частота встречаемости у детей и подростков 10–15%. Кожные морфологические элементы постепенно эволюционируют от пятен или бляшек до опухолевых узлов с признаками изъязвления. Гистологические, иммунологические, иммуногистохимические исследования являются основными достоверными методами. Гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз — редкое наследственное или приобретенное заболевание, при котором клеточный иммунный ответ осуществляется посредством дефектной цитотоксической активности Т-лимфоцитов и естественных киллеров (НК-клеток), с выраженной пролиферацией моноцитов, макрофагов и дендритных клеток в коже, костном мозге, внутренних органах. Мы описываем клинический случай Т-клеточной лимфомы, сочетанной со вторичным гемофагоцитарным синдромом.

Ключевые слова

гемофагоцитоз, пролиферация макрофагов, Т-клеточная лимфома, дифференциальный диагноз, химиотерапия.

ВВЕДЕНИЕ

Первичные Т-клеточные лимфомы кожи представляют собой группу лимфопрлиферативных заболеваний, характеризующихся клональной пролиферацией Т-лимфоцитов в коже.¹ Они составляют 10–15% всех лимфом у детей и подростков. Разграничение первичных лимфом кожи и вторичных поражений при других заболеваниях требует тщательного анализа клинической картины, гистологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических данных.² Первичные лимфомы кожи отличаются от нодальных характером течения, прогнозом и подходами в терапии. Кожные морфологические элементы постепенно эволюционируют от пятен или бляшек до

опухолевых узлов с признаками изъязвления. На поздних стадиях заболевания в патологический процесс могут вовлекаться лимфатические узлы и внутренние органы.³ Начало развития большинства злокачественных лимфом кожи нередко бывает медленным, и длительное время они клинически сходны с экземой, псориазом, атопическим дерматитом и другими дерматозами.⁴ Гистологические, иммунологические, иммуногистохимические исследования являются основными достоверными методами для окончательной постановки диагноза при Т-клеточных лимфомах кожи.⁵ Для Т-лимфом показана редкая ассоциация с инфекцией вируса простого герпеса, цитомегаловируса (ЦМВ), вируса Эпштейна—Барр (ЭБВ) и *Chlamydia psittaci* и *pneumonia*.⁶

ГЕМОФАГОЦИТАРНЫЙ ЛИМФОГИСТИОЦИТОЗ

Гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (ГЛГ) — редкое наследственное или приобретенное заболевание, при котором клеточный иммунный ответ осуществляется посредством дефектной цитотоксической активности Т-лимфоцитов и естественных киллеров (НК-клеток). ГЛГ относится к группе гистиоцитарных синдромов, которая объединяет заболевания, характеризующиеся пролиферацией моноцитов, макрофагов и дендритных клеток. По происхождению клеток главные формы детского гистиоцитоза сгруппированы в три класса.⁷

Классификация гистиоцитарных синдромов

I класс — гистиоцитарные синдромы, связанные с патологией дендритных клеток:

- гистиоцитозы, развивающиеся из клеток Лангерганса;
- ювенильная ксантогранулема.

II класс — гистиоцитарные синдромы, связанные с патологией макрофагов:

- гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз;
- генетический (семейно-наследственный);
- спорадический;
- синус-гистиоцитоз с массивной лимфаденопатией.

III класс — злокачественные заболевания (опухоли системы крови):

- связанные с патологией моноцитов — моноцитарный лейкоз;
- связанные с патологией дендритных клеток — злокачественные гистиоцитозы;
- связанные с патологией макрофагов (диссеминированные или локализованные).

Ежегодная частота возникновения ГЛГ точно неизвестна, но примерно составляет 2 случая на 1 млн детей в возрасте от 0 до 15 лет. Средний возраст на момент диагностики заболевания составляет 3 года, а соотношение мальчиков и девочек — 1,4:1.⁸

Семейно-наследственный (первичный) гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (СГЛГ) — аутосомно-рецессивное заболевание, в генезе которого важную роль играет мутация в гене перфорины, которая встречается в 20–40% случаев СГЛГ.^{9,10}

Вторичный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (ВГЛГ) — синдром макрофагальной активации с гемофагоцитозом, который развивается в результате иммунной активации системы мононуклеарных фагоцитов (например, индуцированной тяжелой инфекцией).¹¹ Это состояние описано у иммунокомпрометированных пациентов в ассоциации с вирусной (ВИЧ), бактериальной и паразитарной инфекциями, в связи с чем используется термин «гемофагоцитарный синдром, ассоциированный с инфекцией». Однако большинство больных ГЛГ не имеют доказанного иммунодефицита. Индуцировать развитие ГЛГ могут ревматические болезни, злокачественные опухоли, метаболические заболевания, длительное парентеральное питание (синдром накопления жира). Пациенты, у которых не выявлены генетические мутации или наследственная патология, могут иметь неизвестные генетические дефекты. При этом у них обнаруживается персистирующее нарушение активности НК-клеток, что может служить критерием неблагоприятного прогноза.¹²

Клиническая картина ВГЛГ характеризуется упорной лихорадкой, у многих больных наблюдаются лимфаденопатия, макулопапулезная сыпь, желтуха и отеки, панцитопения, гепатоспленомегалия с признаками функциональной

недостаточности печени и выраженным геморрагическим синдромом, обусловленным как коагулопатией потребления на фоне синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдрома), так и печеночной недостаточностью.¹³ Как правило, отмечаются гипертриглицеридемия, коагулопатия с гипофибриногенемией, печеночная дисфункция с повышением уровня ферритина и активности аминотрансфераз. Характерными лабораторными признаками ВГЛГ являются низкая активность НК-клеток, повышение уровня растворимого интерлейкина-2, рецептора CD25 (что может быть обусловлено персистенцией стимулирующего фактора).¹⁴

Гистологическая картина ВГЛГ представлена диффузной инфильтрацией органов и тканей активированными макрофагами с признаками гемофагоцитоза. Наиболее значительная инфильтрация наблюдается в зонах «физиологического дома» макрофагов: в красной пульпе селезенки, синусоидах печени, синусах лимфоузлов, в костном мозге и ЦНС.¹⁵ Характерным гистологическим признаком является нарастающее по мере прогрессирования процесса истощение нормальной лимфоидной ткани. Патологические признаки ВГЛГ зависят от периода заболевания, что приводит к изменениям в последовательных биопсиях. В начале болезни костный мозг может быть гиперцеллюлярным с незначительной гистиоцитарной инфильтрацией. В аспирате костного мозга обычно хорошо определяется эритрофагоцитоз.¹⁶ Позднее костный мозг становится гипоцеллюлярным, при этом степень инфильтрации гистиоцитами варьируема. В начале болезни в лимфоузлах может обнаруживаться интенсивная пролиферация иммунобластов с частичным стиранием архитектоники лимфоузла, количество гистиоцитов может быть небольшим. Позднее развивается лимфоидная деплеция и, возможно, массивная синусоидальная инфильтрация внешне нормальными гистиоцитами, многие из которых имеют признаки эритрофагоцитоза. В печени гистологическая картина подобна изменениям, которые обнаруживаются при хроническом персистирующем гепатите. При биопсии печени выявляют значительную портальную инфильтрацию лимфоцитами, иммунобластами и гистиоцитами, зачастую с признаками эритрофагоцитоза. Дифференциальная диагностика между первичным и вторичным ГЛГ на основании начальных клинических признаков затруднительна, особенно в отсутствие семейного анамнеза.¹⁷

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Мы описываем случай вторичного гемофагоцитарного синдрома, сочетанного с Т-клеточной лимфомой кожи у девочки 2,8 года, находившейся на лечении в клинике ФНКЦ ДГОИ Росздрава.

Больная Б. поступила в клинику с диагнозом: иммунодефицитное состояние.

Из анамнеза жизни известно, что девочка родилась от второй нормальной беременности, в срочных физиологических родах, с массой тела 2900 г и ростом 49 см.

Семейный анамнез: у матери (38 лет) — хронический гастрит, в детстве болела вирусным гепатитом А; отец (29 лет) — здоров.

Настоящее заболевание началось в возрасте 2,5 года, когда внезапно появилась лихорадка и увеличились периферические лимфоузлы шеи, а затем присоединились гепатоспленомегалия и асцит. Отмечалось распространенное поражение кожи в виде множественных различной величины плотных лихенифицированных очагов поражения, места сливающихся между собой и образующих бляшки темно-красного цвета с неровными очертаниями. Наблюдались

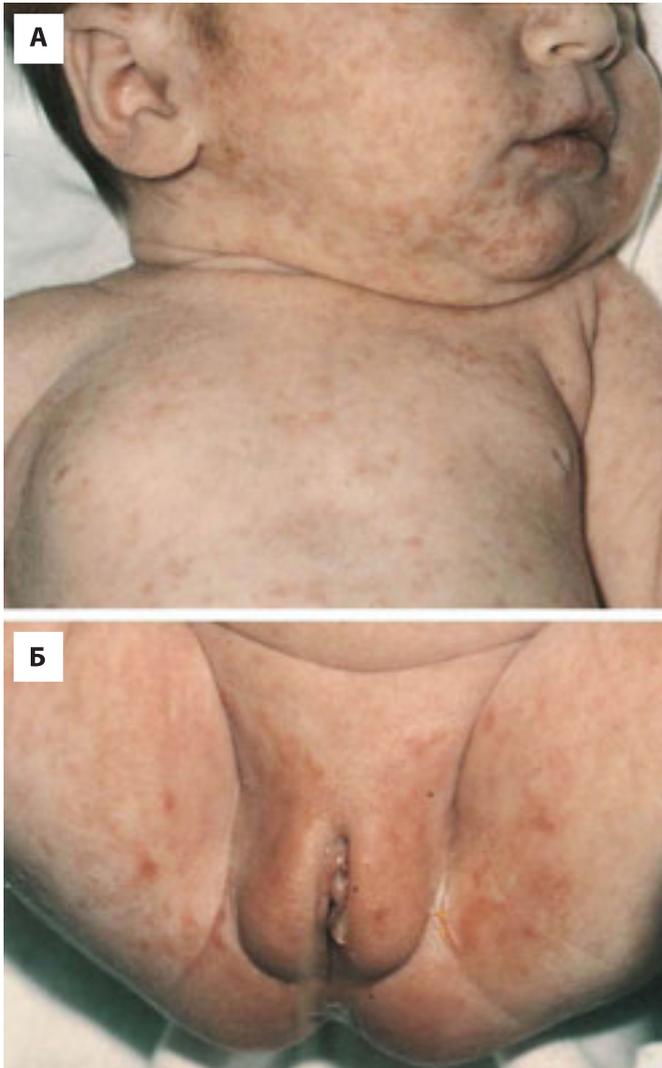


Рис. 1. . Поражение кожи при вторичном гемофагоцитарном лимфогистиоцитозе: А — распространенное поражение кожи в виде множественных эрозивных различной величины плотных лихенифицированных очагов поражения, местами сливающихся между собой и образующих бляшки темнокрасного цвета с неровными очертаниями; Б — поражение наружных половых органов

участки с гиперпигментацией и депигментацией, а также многочисленные узелки со склонностью к изъязвлению.

В областной больнице при поступлении проводилась терапия глюкокортикостероидами, антибактериальными препаратами. В связи с ухудшением состояния девочка была переведена в отделение химиотерапии РДКБ. При поступлении отмечались субфебрилитет, желтушность склер, асцит, усиление венозного рисунка на передней стенке живота, пастозность голеней, стоп, отечность живота (рис. 1).

При исследовании в крови: гемоглобин — 75 г/л, эритроциты — $3,2 \times 10^{12}/л$, лейкоциты — $2,2 \times 10^9/л$, тромбоциты — $20 \times 10^9/л$, нейтрофилы палочкоядерные — 4%, нейтрофилы сегментоядерные — 20%, лимфоциты — 55%, моноциты — 20%, эозинофилы — 1%. В миелограмме: костный мозг гипоклеточный, резкое сужение всех ростков кроветворения (сумма гранулоцитов 20%, нейтрофильный ряд имеет диспластические признаки с тенденцией к омоложению, сумма клеток эритроидного ряда 6%, признаки эритрофагоцитоза, мегакариоциты единичные, без признаков отшнуровки тромбоцитов, 44% — атипичные недифференцированные клетки с признаками фагоцитоза и дисплазии (рис. 2). По данным трепанобиопсии признаки миелодиспластического синдрома. Дважды выполнялась биопсия кожи — данных за лимфопролиферативное заболева-

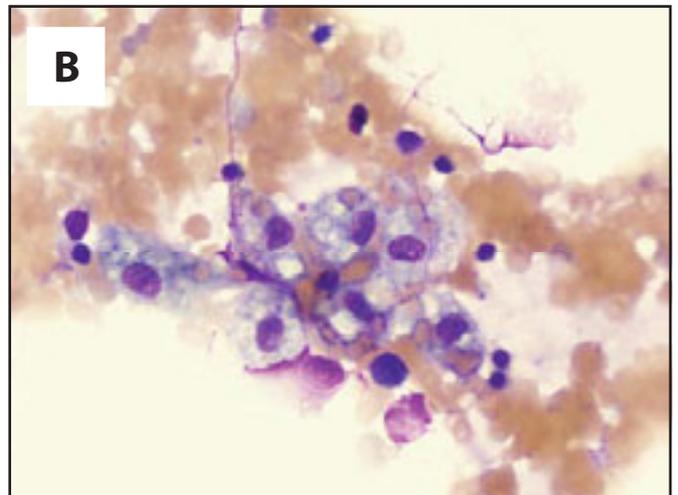
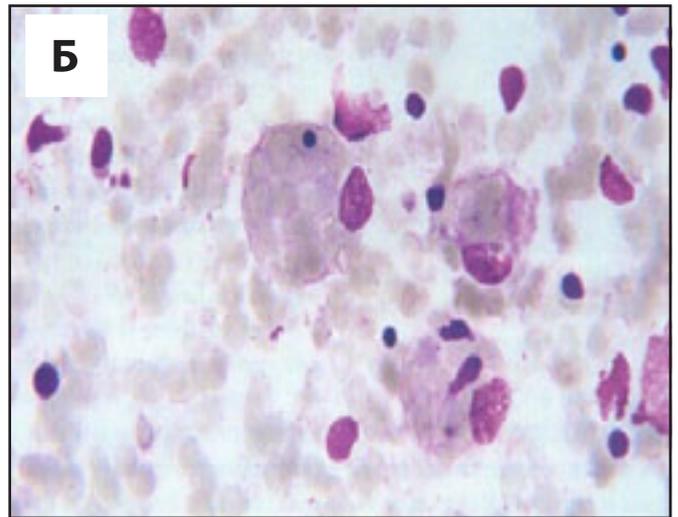
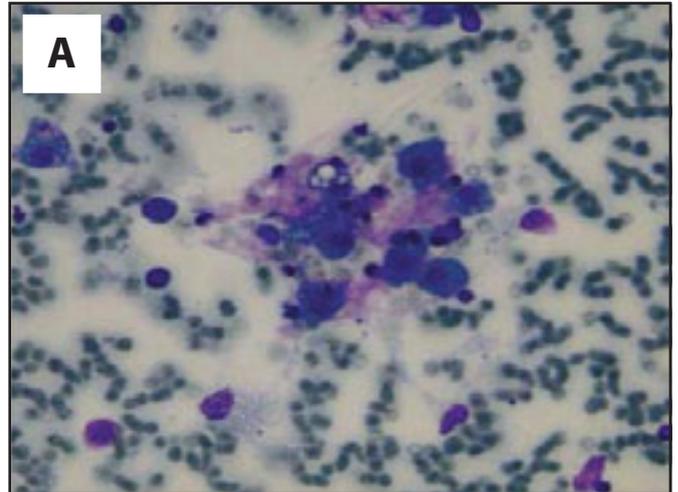


Рис. 2. Поражение костного мозга при вторичном гемофагоцитарном лимфогистиоцитозе:

А — атипичные клетки, признаки гемофагоцитоза в костном мозге; Б — макрофагальная реакция; В — гистиоцитарная пролиферация в костном мозге

ние не обнаружено. При УЗИ брюшной полости выявлено увеличение печени, селезенки, всех групп внутрибрюшных лимфоузлов.

Учитывая нарастающую тяжесть состояния ребенка, было начато лечение по европейскому протоколу для ГЛГ: HLH 2004 (преднизолон 40 мг/м² в сутки внутрь в 1–28-й день, везпид 150 мг/м² внутривенно капельно в течение 1 ч в 1, 8, 15, 22, 29, 36-й дни, винбластин 6 мг внутривенно струйно в 1, 8, 15, 22, 29, 36-й дни). Одновременно проводили антибактериальную и заместительную терапию кро-

везаментами. Однако, несмотря на проводимое лечение, состояние ухудшалось: нарастала гепатоспленомегалия, возобновилась лихорадка на фоне агранулоцитоза, усилился отечный синдром, присоединилось грибковое поражение слизистых оболочек, прогрессировали признаки геморрагического синдрома с развитием массивных кишечных кровотечений, и на фоне падения АД и комы наступил летальный исход.

На вскрытии были обнаружены множественные петехии на коже туловища, конечностей, в белом веществе головного мозга, легких с развитием геморрагических инфарктов, эрозии и острые язвы в слизистой оболочке ЖКТ с картиной мелены и кофейной гущи, геморрагически-некротические очаги в поджелудочной железе, венозное полнокровие пирамид почек. На слизистых оболочках ротовой полости определялись белесоватые рыхлые наложения. Костный мозг крыльев подвздошной кости отечный, темно-красный. При гистологическом исследовании в ткани головного мозга, печени, поджелудочной железе, строме миокарда были обнаружены лимфогистиоцитарные инфильтраты, а в селезенке — явления гемофагоцитоза. При секционном исследовании биоптата кожи, трепанобиоптата после проведения гистологического и иммуногистохимического исследований был поставлен диагноз CD4/CD8+ Т-клеточная лимфома кожи (рис. 3).

Патологоанатомический диагноз был сформулирован следующим образом: CD4/CD8+ Т-клеточная лимфома кожи. Леченный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз: аплазия кроветворения, гемофагоцитоз в селезенке, гепатоспленомегалия (печень массой 740 г при возрастной норме 450 г, селезенка 300 г при норме 40 г). Слабовыраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация паренхиматозных органов, мягких мозговых оболочек. Грибково-бактериальный сепсис. Крупноочаговая пневмония со скоплениями грибов рода *Candida* в очагах воспаления, множественные аспергилломы в легких с перифокальным воспалением, кровоизлияниями, грибковый стоматит. Геморрагический синдром: множественные кровоизлияния в коже, слизистых оболочках внутренних органов, серозных оболочках полостей, кровоизлияния в ткань мозга. Хроническая язва в луковице двенадцатиперстной кишки. Множественные эрозии в слизистой оболочке желудка и тонкого кишечника. Признаки состоявшегося желудочно-кишечного кровотечения: мелена в просвете кишки, «кофейная гуща» в просвете желудка. Диффузный деструктивно-геморрагический панкреатит, хронический персистирующий гепатит, нефрит с очаговой мезангиальной пролиферацией капилляров клубочков. Гиалино-мембранозная пневмопатия с организацией фибрина и началом карнификации. Отек головного мозга.

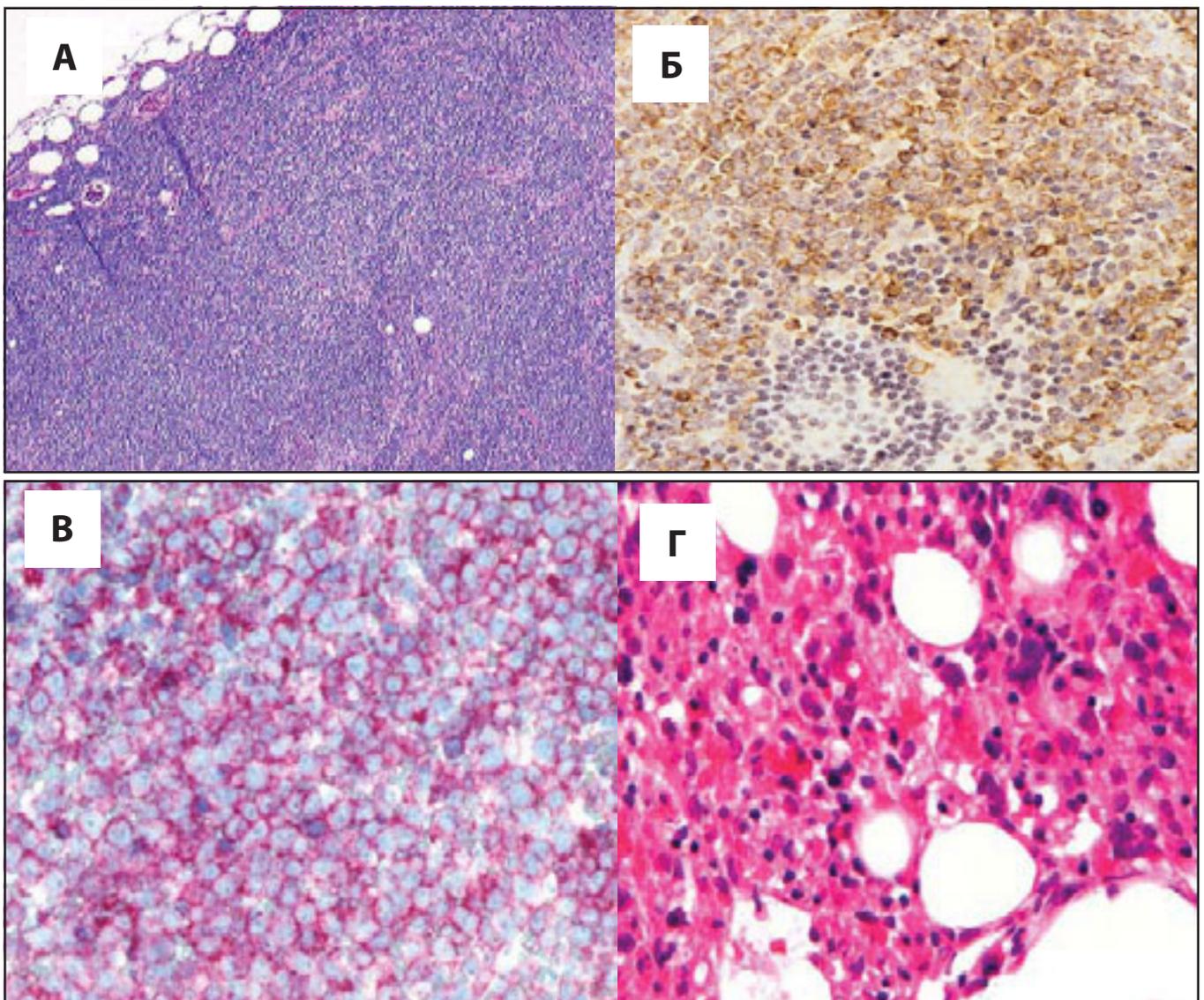


Рис. 3. Патологоанатомический материал: селезенка, лимфатический узел, трепанобиоптат: А — слабо выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация и иммуногистохимическая картина CD4/CD8 Т-клеточной лимфомы; Б — иммуногистохимическая картина CD4/CD8 Т-клеточной лимфомы; В — поражение лимфатического узла, иммуногистохимическая картина CD4/CD8 Т-клеточной лимфомы; Г — трепанобиоптат, диффузное поражение CD4/CD8 Т-клеточной лимфомой

ОБСУЖДЕНИЕ

Описанный клинический случай демонстрирует редкое сочетание Т-клеточной лимфомы кожи с агрессивным течением и проявлениями вторичного гемофагоцитарного синдрома. В зарубежной литературе описаны всего два аналогичных случая.

В онкогематологической клинике следовало провести дифференциальный диагноз между вторичным ГЛГ на фоне вирус-ассоциированных заболеваний (ЭБВ, ЦМВ) и лимфо-пролиферативным заболеванием. Необходимо было определить характерный лабораторный признак для ВГЛГ — низкую активность НК-клеток, высокий уровень растворимого интерлейкина-2.

Клинические проявления заболевания: лихорадка, гепатолиенальный синдром, периферическая лимфаденопа-

тия, очаговое поражение паренхиматозных органов — говорили в пользу злокачественной лимфопротерации. Несмотря на это, определение Т-клеточной клоности не проводилось. Характерные изменения в миелограмме (гистиоцитарно-макрофагальная реакция костного мозга с элементами гемофагоцитоза) и неинформативное исследование биоптата кожи и трепанобиоптата не позволили поставить окончательный диагноз при жизни.

Тяжесть состояния девочки — риск развития осложнений, опасных для жизни (панцитопения, инфекционные осложнения, полиорганная недостаточность), определил тактику симптоматической терапии. Диагноз Т-клеточной лимфомы кожи был поставлен только на секции, и адекватную специфическую цитостатическую терапию провести не удалось.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jaffe E. S., Harris N. L., Stein H., Vardiman J. W. World Health Organization classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. — Lion: IARC Press, 2001.
2. Willemze R., Jaffe E. S., Burg G. et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood* 2005; 105: 3768–85.
3. Ralfkiaer E. Controversies and discussion on early diagnosis of cutaneous T-cell lymphoma. *Phenotyping Dermatol. Clin.* 1994; 12: 329–34.
4. Smoller B. R., Santucci M., Wood G. S., Whitaker S. J. Histopathology and genetics of cutaneous T-cell lymphoma. *Hematol. Oncol. Clin. N. Am.* 2003; 17: 1277–311.
5. Willemze R. Cutaneous T-cell lymphoma: epidemiology, etiology, and classification. *Leuk. Lymphoma* 2003; 44: S49–54.
6. Cerroni L., Zochling N., Putz B., Kerl H. Infection by *Borrelia burgdorferi* and cutaneous B-cell lymphoma. *J. Cutan. Pathol.* 1997; 24: 457–61.
7. Goodlad J. R., Davidson M. M., Hollowood K. et al. Primary cutaneous T-cell lymphoma and EBV-infection. *Am. J. Pathol.* 2000; 24: 1279–85.
8. Kazakov D. V., Belousova I. E., Muller B. et al. Primary cutaneous plasmacytoma: a clinicopathological study of two cases with a long-term follow-up and review of the literature. *J. Cutan. Pathol.* 2002; 29: 244–8.
9. Jaffe E. S., Krenacs L., Kumar S. et al. Extranodal peripheral T-cell and NK-cell neoplasms. *Am. J. Clin. Pathol.* 1999; 111(Suppl. 1): S46–S55.
10. Brusa S., Arico M., Allen M. et al. Haemophagocytic lymphohistiocytosis: proposal of the diagnostic algorithm based on perforin expression. *Br. J. Haematol.* 2002; 119(1): 180–8.
11. Emmenegger U., Schaer D. J., Larroche C., Neftel K. A. Haemophagocytic syndromes in adults: current concepts and challenges ahead. *Swiss. Med. Wkly.* 2005; 135: 299–314.
12. Favara B. E., Feller A. C., Pauli M. et al. Contemporary classification of histiocytic disorders. *Med. Pediatr. Oncol.* 1997; 29: 157–66.
13. Lay J. D., Tsao C. J., Chen J. Y. et al. Upregulation of tumor necrosis factor- α gene by Epstein-Barr virus and activation of macrophages in Epstein-Barr virus-infected T cells in the pathogenesis of hemophagocytic syndrome. *J. Clin. Invest.* 1997; 100: 1969–79.
14. Teruya-Feldstein J., Setsuda J., Yao X. et al. MIP-1 α expression in tissues from patients with hemophagocytic syndrome. *Lab. Invest.* 1999; 79: 1583–90.
15. Jaffe E. S. T-cell lymphoma and secondary lymphohistiocytosis: the shifting sands of diagnostic hematopathology. *Mod. Pathol.* 2001; 14: 219–28.
16. Henter J. I., Samuelson-Horn A. C., Arico M. et al. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis with HLH-94 immuno-chemotherapy and bone marrow transplantation. *Blood* 2002; 100: 2367–73.
17. Ladisch S., Jaffe E. S. The Histiocytoses. *Princ. Pract. Pediatr. Oncol.* 2006; 23: 768–85.



Тромботические микроангиопатии

Л. Б. Филатов

РЕФЕРАТ

Thrombotic microangiopathies

L. B. Filatov

SUMMARY

Thrombotic microangiopathies include thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) and hemolytic uremic syndrome (HUS). The last decades have seen a break-through in understanding the pathogenesis of these disorders. The role that ADAMTS-13 deficiency plays in TTP development was revealed. The significance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, an inherited and acquired defect of the complement system regulation, for the development of different forms of HUS was determined. The approach to TTP diagnostics changed through introducing into the clinical practice a diagnostic dyad — microangiopathic haemolytic anaemia and thrombocytopenia — the minimum of criteria necessary for diagnosing TTP (even though other clinically supported findings might be absent). As a result, the number of patients diagnosed with TTP augmented, the start of therapy moved to the first days of the disease, and the frequency of neurological symptoms, renal failure, and fever were reduced. In the last decades there have been elaborated the therapy principles (plasma exchange in TTP and atypical HUS, supportive therapy and hemodialysis in typical HUS) which allowed to improve survival rates significantly.

Keywords:

thrombotic microangiopathy, thrombotic thrombocytopenic purpura, hemolytic uremic syndrome, microangiopathic haemolytic anaemia, schistocytes.

Consultative-Diagnostic Centre of Yekaterinburg

Контакты: leonid.b.filatov@gmail.com

Принято в печать: 01 ноября 2008 г.

К тромботическим микроангиопатиям относят тромботическую тромбоцитопеническую пурпуру (ТТП) и гемолитико-уремический синдром (ГУС). В последние десятилетия достигнут прорыв в понимании патогенеза этих заболеваний: выявлена роль дефицита фермента ADAMTS-13 в развитии ТТП; установлено значение шигатоксина, продуцируемого кишечной палочкой, врожденного и приобретенного нарушения регуляции в системе комплемента в возникновении различных форм ГУС. Изменился подход к диагностике ТТП. В клиническую практику введена диагностическая диада — микроангиопатическая гемолитическая анемия и тромбоцитопения — минимально достаточные для постановки диагноза ТТП признаки (при отсутствии других клинически установленных причин). В результате возросло число выявленных больных ТТП, начало терапии сместилось на первые дни заболевания, снизилась частота развития неврологических симптомов, поражения почек и лихорадки. За последние десятилетия разработаны принципы терапии (плазмазамена при ТТП и атипичной форме ГУС, поддерживающая терапия и гемодиализ при типичном ГУС), позволившие значительно повысить выживаемость.

Ключевые слова

тромботическая микроангиопатия, тромботическая тромбоцитопеническая пурпура, гемолитико-уремический синдром, микроангиопатическая гемолитическая анемия, шистоциты.

ВВЕДЕНИЕ

Тромботическая микроангиопатия (тромботическая микроангиопатическая гемолитическая анемия) — клинический синдром, характеризующийся тромбоцитопенией, микроангиопатической гемолитической анемией (МАГА), микроваскулярным тромбозом концевых артериол и капилляров, множественной дисфункцией органов. Морфологически тромботическая микроангиопатия (ТМА) определяется как уплотнение сосудистой стенки с набуханием или отделением эндотелиальных клеток от базальной мембраны и отложением гиалиновых депозитов в субэндотелиальном пространстве, внутрисосудистые тромбоцитарные тромбы и окклюзия сосудов.¹ Повреждение

эндотелия сосудов при ТМА индуцирует процесс образования внутрисосудистых тромбоцитарных тромбов мелких сосудов. Потребление тромбоцитов приводит к развитию тромбоцитопении, сужение просвета сосудов вызывает микроангиопатическую гемолитическую анемию (происходит механическое разрушение эритроцитов), ишемию важнейших органов.

Обязательным элементом ТМА наряду с тромбоцитопенией является МАГА — неиммунная гемолитическая анемия с шистоцитами (фрагментированные эритроциты) в мазке крови. Обломки эритроцитов могут иметь вид полудиска с 2–3 острыми выступами (шлемообразный), треугольника, маленького неправильной формы фрагмента.^{2,3}

Традиционно к ТМА относят тромботическую тромбоцитопеническую пурпуру (ТТП) и гемолитико-уремический синдром (ГУС). ТМА может развиваться при целом ряде заболеваний (злокачественная гипертензия, диффузные болезни соединительной ткани и др.), при беременности (HELLP-синдром: hemolysis (H — гемолиз), elevated liver enzymes (EL — повышение активности печеночных ферментов), low platelet count (LP — низкое количество тромбоцитов), преэклампсия и др.), после приема лекарств (тиенопиридины, хинин, хинидин, цитостатики, ингибиторы кальциневрина, оральные контрацептивы и др.), после трансплантации органов и тканей.

В медицинской литературе термин «тромботическая микроангиопатия» трактуется неоднозначно. Некоторые авторы⁴ используют его для обозначения целого ряда состояний, традиционно описываемых как вторичные ТТП (например, посттрансплантационная ТТП). Аргументируется такой подход тем, что диагноз ТТП предполагает немедленное назначение плазмозамены, у данной же группы больных плазмозамена неэффективна, и в этом случае плазмозаместительная терапия не показана. Существует другая точка зрения:⁵ термином «ТМА» обозначают все вторичные ТТП.

Кроме того, «ТМА» используется как морфологический термин (например, микроангиопатические изменения в биоптате почки рассматриваются как почечная ТМА).⁶

Обязательными элементами заболеваний, относящихся к так называемым ТМА-ассоциированным синдромам,⁷ являются МАГА и тромбоцитопения. Особенность заболеваний этой группы — наличие главного органа-мишени: ТТП — поражение ЦНС, ГУС — поражение почек, HELLP-синдром — поражение печени.

Клинические симптомы ГУС, особенно при поражении нервной системы, мало отличаются от ТТП, их дифференциация сложна. Некоторые специалисты рассматривают тромботическую тромбоцитопеническую пурпуру и гемолитико-уремический синдром как одно заболевание, обозначая его как ТТП-ГУС.⁷

ТРОМБОТИЧЕСКАЯ ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКАЯ ПУРПУРА (болезнь Мошковица)

Американский клиницист и патолог Eli Moschowitz 7 февраля 1924 года сделал сообщение на заседании Нью-Йоркского патологического общества об истории болезни 16-летней девочки с лихорадкой, анемией, петехиями, развитием ишемического инсульта и острой левожелудочковой недостаточности, выявленными множественными гиалиновыми тромбами в терминальных артериолах и капиллярах внутренних органов.⁸ Обнаруженная болезнь получила название болезни (или синдрома) Мошковица. В 1947 г. в медицинскую практику введен термин «тромботическая тромбоцитопеническая пурпура», активно использующийся в последние десятилетия.⁹

Частота возникновения ТТП в США составляет 4–11 случаев в год на 1 млн населения.^{10,11} Соотношение идиопатической и вторичной форм ТТП в структуре приобретенной ТТП в регистре Японии — 51 и 49%.¹² Описаны случаи развития ТТП у пациентов в возрасте от 0 до 90 лет, медиана возраста — 35 лет, чаще возникает у женщин.^{13,14}

В зарубежной литературе есть работы, анализирующие десятки и даже сотни больных ТТП. Отечественными же специалистами описаны единичные случаи заболевания, базирующиеся в основном на данных аутопсии. Сведений о частоте заболевания в России нет.

ТТП характеризуется крайне агрессивным течением и

требует начала терапии уже в первые часы возникновения, при отсутствии адекватного оперативно назначенного лечения показатель летальности приближается к 100%.¹⁵ По данным E. L. Amorosi и J. E. Ullmann, опубликовавших в 1966 г. обзор литературы и результаты собственного опыта, из 271 погибло 244 пациента с ТТП (90%).¹⁶

В конце 1970-х годов в качестве терапии стали использоваться инфузии плазмы и плазмозамена. Трансформация взгляда на лечение ТТП позволила добиваться выздоровления 70–91% больных.^{17,18}

Патогенез

Основу болезни составляет резкое повышение агрегации тромбоцитов с образованием тромбоцитарных (или гиалиновых) тромбов, состоящих из тромбоцитов и фактора фон Виллебранда, в мелких сосудах большинства органов. В первую очередь поражаются головной мозг, почки, сердце, легкие.

В последние десятилетия был сделан ряд фундаментальных открытий, осуществивших прорыв в понимании механизма ТТП.

В 1982 г. в плазме 4 пациентов с рецидивирующей ТТП были обнаружены «необычно большие» мультимеры фактора фон Виллебранда;¹⁹ по размеру они были подобны тем, которые секретируются мегакариоцитами и эндотелиальными клетками, а содержатся в α -гранулах тромбоцитов и тельцах Вейбеля—Палада эндотелиальных клеток.²⁰ Выдвинутая гипотеза объясняла наличие макромолекул фактора фон Виллебранда отсутствием у пациентов протеазы или дисульфидной редуктазы, которая их расщепляет. В качестве причины ТТП было предложено рассматривать макромолекулы фактора фон Виллебранда, вызывающие неконтролируемую агрегацию тромбоцитов, тромбозы.

В 1996 г. было установлено, что у больных ТТП есть дефицит металлопротеиназы, уменьшающей размеры мультимеров фактора фон Виллебранда посредством их расщепления.^{21,22} Впоследствии (2001 г.^{23,24}) она была очищена и идентифицирована как ADAMTS-13 (A Disintegrin And Metalloprotease with Thrombospondin type 1 motif). В 1998 г. у взрослых пациентов с приобретенной ТТП были обнаружены аутоантитела класса IgG, ингибирующие активность металлопротеиназы.^{25,26}

Снижение активности ADAMTS-13 выявлено при синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдром), циррозе печени, уремии, острых воспалительных заболеваниях, гепарин-индуцированной тромбоцитопении II типа, в послеоперационной периоде. Но во всех перечисленных случаях уровень активности ADAMTS-13 > 10%²⁶⁻³¹ (в зависимости от метода оценки норма — 50–178%,³² подробнее о методах см.³³).

Величина этого показателя менее 5% специфична для ТТП,³⁴ у большинства больных с тяжелым дефицитом ADAMTS-13 (< 5%) определяются антитела к нему. В то же время активность ADAMTS-13 \geq 5% не исключает ТТП.

Клиника

Сложность диагностики болезни Мошковица объясняется отсутствием у пациентов специфических клинических симптомов. Заболевание развивается, как правило, внезапно, на фоне полного здоровья. Часто возникает гриппоподобная продрома, затем появляется развернутая клиника.

E. L. Amorosi и J. E. Ullmann выявили характерную для ТТП **классическую пентаду**.¹⁵ Ее элементы:

1) тромбоцитопения, часто тяжелая (100%³⁵⁻⁴⁰); количество тромбоцитов менее $30 \times 10^9/\text{л}$ — у большинства па-

циентов (в среднем $18 \times 10^9/\text{л}$); геморрагический синдром (геморрагии на коже (петехии), носовые, десневые и, реже, желудочно-кишечные кровотечения, меноррагии, субарахноидальные кровоизлияния, обильное кровохарканье);

2) МАГА ($100\%^{35-40}$): снижение гемоглобина ($40-80 \text{ г/л}$); ретикулоцитоз; шистоциты (фрагментированные эритроциты) в мазке крови; гипербилирубинемия (за счет непрямой фракции); отрицательный прямой антиглобулиновый тест (проба Кумбса); повышение активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ, отражает как степень гемолиза, так и ишемию тканей); снижение уровня гаптоглобина в сыворотке;

3) неврологические нарушения ($92-59\%^{35-40}$): нарушение сознания вплоть до комы (наиболее часто); психические нарушения; головная боль; судороги; фокальные нарушения (менее характерны): парез, гемиплегия, нарушение зрения, афазия;

4) поражение почек ($96-41\%^{35-40}$): микрогематурия (наиболее характерна); протеинурия (наиболее характерна); повышение креатинина (около 50% больных); цилиндрурия; острая почечная недостаточность (менее характерна); нефротический синдром (очень редко);

5) лихорадка ($24-59\%^{35-40}$), чаще неправильной формы, очень высокая температура с потрясающими ознобами нехарактерна.

При ТТП у части пациентов ($12-43\%$) возникает абдоминальный синдром (сильная боль в животе, тошнота, рвота), обусловленный абдоминальной ишемией.³⁹⁻⁴²

До недавнего времени поражение сердца не считалось типичным для ТТП. Такие симптомы, как сердцебиение, одышка ($7-29,3\%$ больных ТТП⁴²), объяснялись анемией.⁴³ Введение в клиническую практику исследования сердечных тропонинов и изменение критериев диагностики острого коронарного синдрома и инфаркта миокарда позволили по-новому взглянуть на поражение сердца при ТТП.

Повышение уровня тропонина Т ($\geq 0,5 \text{ нг/мл}$), характерное для острого коронарного синдрома, определяется у 54% пациентов с ТТП.⁴⁴

Инфаркт миокарда диагностирован у $15,3-20\%$ больных ТТП.⁴⁵ Диагноз инфаркта миокарда у пациентов с идиопатической ТТП, установленный по данным ЭКГ и увеличению уровня тропонина I ($> 1 \text{ нг/мл}$), зафиксирован в $40,6\%$ случаев через $2-11$ дней после постановки диагноза ТТП и начала терапии плазмозаменой, характеризуется высокой летальностью (46%).⁴⁶

У пациентов с острой ТТП развивается «молчаливый» инфаркт миокарда,⁴⁵ лишь 57% больных ТТП с инфарктом миокарда имеют симптомы типичной миокардиальной ишемии.⁴⁶

Острая сердечная недостаточность развивается у $8,2\%$ пациентов с идиопатической ТТП и может возникнуть в течение нескольких дней после установления диагноза ТТП, ассоциируется с повышенной летальностью.⁴³

Согласно последним данным, поражение сердца в момент диагностики ТТП отмечается у 42% пациентов.¹⁴

У больных ТТП описывают внезапную сердечную смерть, кардиогенный шок, аритмии. Поражение миокарда может быть нераспознанной причиной смерти при ТТП.⁴³ По данным аутопсии поражение сердца обнаружено в $76,4-100\%$ случаев.⁴⁵

Редкой манифестацией ТТП может быть панкреатит, гепатит, рабдомиолиз, острый респираторный дистресс-синдром, неокклюзивная мезентериальная ишемия, периферический ишемический синдром, гангрена кожи.

При осмотре больного могут выявляться бледность кожи и слизистых оболочек, пурпура, желтуха, увеличение печени и селезенки ($20\%^5$), артериальная гипертензия (редко).

Лабораторные и инструментальные исследования

Помимо гемолиза с шистоцитами, тромбоцитопении и изменений в моче наблюдается нормальное или незначительно увеличенное количество лейкоцитов. Протромбиновое время и активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ) обычно нормальные или незначительно удлинены. На поздних стадиях может присоединяться ДВС-синдром.⁴⁷

Количество шистоцитов при ТТП составляет в среднем $8,35\%$ общего количества эритроцитов ($1-18,4\%$, норма $0-0,27\%$).⁴⁸ В течение первых 2 дней в крови больных ТТП шистоцитоза может не быть.^{48,49} Шистоцитам, по мнению некоторых исследователей, должна отводиться большая роль в дифференциальной диагностике ТМА. Утверждается, что достаточным аргументом в пользу ТТП является доля шистоцитов, значительно превышающая 1% от общего количества эритроцитов.^{20,48}

Определение ADAMTS-13 и антител к нему еще не стало рутинным во врачебной практике. Тяжелый дефицит ADAMTS-13 ($< 5\%$) характерен как для наследственной ТТП,⁵ так и для большинства (80%) пациентов с идиопатической ТТП.^{5,14} Кроме того, у части больных идиопатической ТТП с тяжелым дефицитом ADAMTS-13 ($< 5\%$) определяются антитела к последнему.^{5,14} Для большинства случаев вторичной ТТП тяжелый дефицит ADAMTS-13 ($< 5\%$) нехарактерен.

Для диагностики сердечной ишемии у всех больных ТТП предлагается проводить рутинный скрининг и мониторинг сердечных ферментов (тропонин I или Т).⁴⁶

При КТ головы у пациентов с ТТП могут быть обнаружены интракраниальные кровоизлияния, инфаркты.

Диагностика

С целью раннего выявления пациентов с ТТП в практику были введены первичные диагностические критерии,^{15,17} сочетание которых (диада) при условии отсутствия других клинически установленных причин заболевания считается достаточным основанием для диагноза ТТП. **Диагностическая диада ТТП:**

- 1) тромбоцитопения;
- 2) МАГА.¹⁵

Некоторые авторы считают, что диагноз ТТП может быть определен при наличии тромбоцитопении и МАГА в сочетании с повышенной активностью ЛДГ в сыворотке крови.⁵⁰

Определение минимально достаточных для диагностики ТТП признаков болезни обусловило рост количества выявленных больных (частота возникновения классической пентады — $14-77\%^{36,51}$); сместило начало терапии на первые дни заболевания; изменило клинику болезни в момент диагностики: снизилась частота неврологических симптомов, поражения почек и лихорадки.

Снижение частоты развития трех перечисленных элементов пентады, отмечаемое в последние годы, является результатом пересмотра признаков, необходимых для обоснования диагноза ТТП: ускорилась диагностика, сократился период от возникновения заболевания до начала терапии. О влиянии оперативности диагностики и, как следствие, быстро начатого лечения на предотвращение «разворачивания пентады» свидетельствуют результаты исторического анализа клиники заболевания. Раннее начало терапии предотвращает поражение так называемых органов-мишеней, которые страдают из-за отсутствия лечения в первые часы заболевания.

Для того чтобы не пропустить диагноз ТТП, предлагаем пользоваться двумя правилами.

1. Во всех случаях впервые выявленного неиммунного гемолиза необходимо ставить вопрос об исключении МАГА и проводить подсчет шистоцитов.

2. В каждом случае впервые обнаруженной тромбоцитопении необходимо исключать ТТП (следует выявлять гемолиз).

Геморрагический синдром при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре сходен с таковым при ТТП, т. к. в обоих случаях обусловлен тромбоцитопенией. В миеелограмме наблюдается увеличение количества мегакариоцитов. Ошибки при трактовке клинических признаков ТТП в пользу диагноза идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура следующие: во-первых, анемия с увеличением количества ретикулоцитов в крови и эритрокариоцитов в миеелограмме, вызванная гемолизом, может быть ошибочно объяснена как следствие носового, маточного или желудочно-кишечного кровотечения; во-вторых, наличие фрагментированных эритроцитов (шистоцитов) в мазке крови врачи-лаборанты, как правило, не описывают; в-третьих, в качестве причины микрогематурии может рассматриваться тромбоцитопения; в-четвертых, внезапно развившееся поражение ЦНС может расцениваться как кровоизлияние в головной мозг. Проводимая терапия глюкокортикостероидами в такой ситуации, как правило, неэффективна.

Отдельно следует остановиться на особенностях диагностики посттрансплантационной ТТП. Анемия и тромбоцитопения, являющиеся критериями диагностики ТТП, характерны для посттрансплантационного состояния, следовательно, они не могут служить достаточным основанием для диагноза ТТП. Фрагментация эритроцитов обнаруживается почти у всех пациентов после аллогенной трансплантации костного мозга.⁵²⁻⁵⁴ Это существенно осложняет постановку диагноза ТТП.

В литературе описано 28 различных критериев диагноза посттрансплантационной ТМА. С целью унификации диагностики в 2007 г. международной рабочей группой, созданной по инициативе EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation) и European LeukemiaNet, были разработаны диагностические критерии микроангиопатии, ассоциированной с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток. Диагноз должен ставиться при наличии всех следующих критериев: количество шистоцитов в крови более 4%; впервые выявленная продолжительная или прогрессирующая тромбоцитопения (количество тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$ или сокращение количества тромбоцитов на 50% и более); внезапное и постоянное увеличение активности ЛДГ; снижение уровня гемоглобина или увеличение потребности в трансфузиях; снижение гаптоглобина в сыворотке.⁵⁵

Классификация ТТП представлена в табл. 1

Таблица 1. Классификация тромботической тромбоцитопенической пурпуры, характеристика лечения отдельных форм

Классификация ТТП	Терапия	Эффективность плазмозамены
1. Наследственная ТТП (синдром Upshaw—Schulman)	Свежезамороженная плазма	
2. Приобретенная ТТП		
2.1. Идиопатическая ТТП	Плазмозамена	Высокая ¹
2.2. Вторичная ТТП		
2.2.1. ТТП, связанная с беременностью	Плазмозамена	Высокая
2.2.2. ТТП, сопряженная с аутоиммунными болезнями	Иммуносупрессивная терапия + плазмозамена	Средняя ²
2.2.3. ТТП, развившаяся после приема лекарственных препаратов		
2.2.3.1. ТТП, вызванная острой иммуноопосредованной лекарственной токсичностью (тиклопидин, клопидогрел, хинин)	Плазмозамена	Высокая
2.2.3.2. Лекарственная дозозависимая ТТП (цитостатики (митомин, гемцитабин, циклофосфан), ингибиторы кальциневрина (циклоспорин А, такролимус))	Отмена препарата	Низкая
2.2.4. ТТП на фоне инфекции		
2.2.4.1. ТТП, ассоциированная с <i>Escherichia coli</i> O157:H7	Плазмозамена	Средняя
2.2.4.2. ВИЧ-ассоциированная ТТП	Плазмозамена + высокоактивная антиретровирусная терапия	средняя
2.2.5. ТТП после трансплантации органов и тканей	Плазмозамена не показана (отмена циклоспорина А, лечение РТПХ, инфекции)	Низкая
2.2.6. ТТП при онкологических заболеваниях	Плазмозамена не показана (лечение основного заболевания)	Низкая

¹ Высокая эффективность — 70–90% ремиссий.

² Средняя эффективность — около 50%.

Дифференциальная диагностика

Современная диагностика ТТП, базирующаяся на двух критериях, требует исключения заболеваний, при которых может быть гемолитическая анемия и тромбоцитопения.

Мегалобластная анемия. При первом обследовании пациента с мегалобластной анемией может выявляться анемия с признаками гемолиза и шистоцитами, тромбоцитопения, повышение активности ЛДГ, уровня билирубина, ментальные нарушения. При этой анемии редко бывает геморрагический синдром. Для нее характерны панцитопения, макроцитоз и гиперхромия эритроцитов. Диагностика мегалобластной анемии: определение содержания витамина В₁₂ и фолиевой кислоты, метилмалоновой кислоты и гомоцистеина в сыворотке или обнаружение мегалобластного кровотечения в миеелограмме. Но нельзя забывать о том, что при

ТТП тоже могут быть признаки дефицита фолиевой кислоты, вызванные гемолизом.

Синдром Эванса. Характеризуется сочетанием аутоиммунной тромбоцитопении и аутоиммунной гемолитической анемии. В типичных случаях положительная проба Кумбса подтверждает диагноз. Но ложноотрицательная проба Кумбса может затруднить диагностику этого заболевания. Для этого синдрома характерно отсутствие шистоцитов.

Пароксизмальное ночное гемоглобинурия. Болезнь проявляется тромбоцитопенией, внутрисосудистым гемолизом и тромбозами (мы наблюдали больную, у которой в дебюте пароксизмальной ночной гемоглобинурии после внутривенной урографии развилась олигурическая острая почечная недостаточность, по поводу которой пациентка лечилась в отделении гемодиализа с диагнозом ГУС). При па-

роксимальной ночной гемоглобинурии шистоцитов нет, анемия и тромбоцитопения обычно сочетаются с лейкопенией. Гистологическое исследование костного мозга, как правило, выявляет снижение клеточности. Диагноз пароксизмальная ночная гемоглобинурия подтверждают сахарозная проба, проба Хема, обнаруженное при иммунофенотипировании снижение или отсутствие экспрессии CD55 и CD59 на эритроцитах.

Септицемия, вызванная бактериями (β -стрептококк, менингококк), вирусами (цитомегаловирус), грибами (диссеминированный аспергиллез), риккетсией (пятнистая лихорадка Скалистых гор), может проявляться тромбоцитопенией (особенно при ДВС-синдроме), в т. ч. и с геморрагическим синдромом, гемолизом с наличием шистоцитов и полиорганной недостаточностью. Для уточнения диагноза необходимы посевы крови, рентгенография легких, проба на прокальцитонин. В некоторых случаях трудно или невозможно разграничить эти заболевания, в такой ситуации целесообразно начинать одновременно плазмазамену и антибиотикотерапию.

Диффузные болезни соединительной ткани могут давать клинику, сходную с ТТП: тромбоцитопения, гемолиз, иногда в сочетании с лихорадкой, поражением ЦНС и почек. В первую очередь это касается системной красной волчанки. Для системной красной волчанки характерны Кумбс-позитивная гемолитическая анемия, LE-клетки, антинуклеарные антитела. При диффузных болезнях соединительной ткани возможна и вторичная ТТП.

ДВС-синдром. При ДВС-синдроме может быть выраженная тромбоцитопения, гемолиз с наличием шистоцитов, полиорганная недостаточность. Дифференциальная диагностика проводится на основании данных коагулограммы: удлинение протромбинового времени, АПТВ и положительные тесты паракоагуляции. Но дифференциация возможна не всегда, т. к. при ТТП может развиваться вторичный ДВС-синдром.

Злокачественная артериальная гипертензия характеризуется фибриноидным некрозом артериол, тяжелым сосудистым поражением. Клинические проявления злокачественной артериальной гипертензии: тяжелая гипертензия (АД $\geq 200/140$ мм рт. ст.), энцефалопатия, застойная сердечная недостаточность, острая почечная недостаточность, отек диска зрительного нерва. Злокачественная артериальная гипертензия может осложняться МАГА и тромбоцитопенией. Наличие у таких больных четырех элементов пентады ТТП (МАГА, тромбоцитопения, неврологические нарушения, поражение почек) осложняет диагностику. ТМА может возникнуть и при более низком АД, и без отека диска зрительного нерва.⁵⁶ После нормализации АД происходит восстановление тромбоцитов и прекращение гемолиза. Частота возникновения: 1 % пациентов с гипертензией.⁵⁷

Катастрофический антифосфолипидный синдром (КАФС). Впервые КАФС выделил R. A. Asherson (ЮАР, 1992). Ряд авторов предлагают рассматривать КАФС как ТМА с антифосфолипидными антителами.⁵⁸ Диагностические критерии КАФС: вовлечение, по крайней мере, трех органов/систем/тканей; манифестация одномоментно или в течение недели; гистологическое выявление окклюзии мелких сосудов как минимум в одном органе/ткани; лабораторное подтверждение наличия антифосфолипидных антител.⁵⁹ Для КАФС характерны поражение почек (78 %), сердца (66 %), легких (56 %), ЦНС (50 %), кожи (50 %), тромботические манифестации, включающие эмболию легочной артерии и глубокой венозной тромбоз, ДВС-синдром (25 %).⁶⁰ Микроваскулярная манифестация: почечная ТМА, респираторный дистресс-синдром, цере-

бральные микротромбы и микроинфаркты, микротромбы в миокарде. Летальность очень высокая — 48%.⁶¹ В то же время плазмазаместительная терапия эффективна у 73 % пациентов.⁵⁸ Плазмазамена при возникновении ТМА при КАФС считается терапией первой линии.⁵⁸ КАФС, протекающий без тромбозов крупных сосудов, практически неотличим от ТТП.^{62,63} Частота возникновения: 1 % пациентов с антифосфолипидным синдромом.⁵⁸

Лечение

В некоторых случаях, особенно при первичном осмотре, ТТП невозможно отличить от некоторых заболеваний (сепсис, злокачественная гипертензия), однако, т. к. лечение ТТП не может быть отсрочено, начинать терапию плазмазаменами следует безотлагательно. Если не исключается инфекция, то необходимо проводить и антимикробную терапию, одновременно продолжая выполнять диагностические мероприятия. Если в последующем выявится другой диагноз, плазмазамены следует прекратить и откорректировать терапию.

Диссеминированные опухоли также могут имитировать ТТП, поэтому необходимо исключить онкологическую патологию, проводить биопсию костного мозга, особенно при неэффективности плазмазамены и атипичных клинических проявлениях.

Гипердиагностика на современном этапе знаний об этой угрожающей жизни болезни, вероятно, неизбежна. При подозрении на диагноз ТТП от врача требуются экстренные меры.

Главный принцип, которым должен руководствоваться врач при возникновении вопроса о вероятном диагнозе ТТП, — принцип молниеносного реагирования: терапию следует начинать незамедлительно.

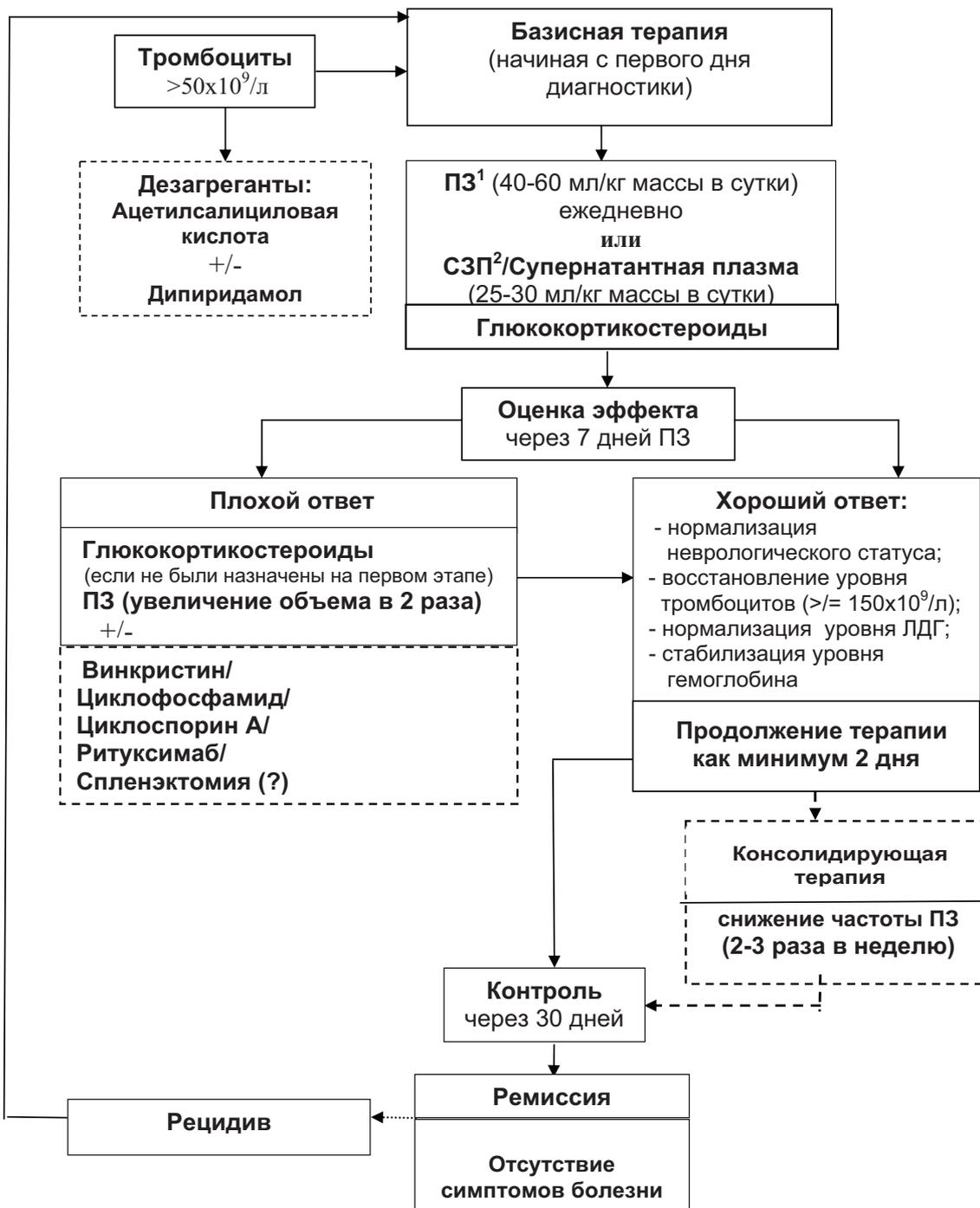
Рандомизированное исследование, проведенное G. A. Rock и соавт. (Канадская группа афереза, 1991), показало большую эффективность плазмазамены по сравнению с инфузиями свежемороженой плазмы: показатель выживаемости через 6 мес. — 78,4 и 49 % соответственно ($p = 0,002$).¹⁷ При плазмаферезе удаляется ингибитор металлопротеиназы, а при вливании свежемороженой плазмы или криосупернатантной плазмы этот фермент вводится в организм.

Алгоритм лечения приобретенной ТТП приведен на рис. 1,^{15,49} элементы, включенные в отдельные режимы терапии ТТП, выделены пунктиром.

Базисная терапия ТТП. Начать лечение желательнее в течение первых суток болезни. Терапия должна включать плазмазамену — плазмаферез в объеме 40–60 мл/кг в сутки.¹⁵ Необходимый объем плазмы при массе тела пациента 60 кг составляет 2400–3600 мл в сутки. В случае невозможности немедленной плазмазамены следует проводить инфузии больших доз свежемороженой плазмы (или криосупернатантной) — 25–30 мл/кг в сутки. По эффективности данная терапия в большинстве случаев сопоставима с плазмазаменой, однако около 30 % больных нуждаются в переводе на плазмазамену из-за перегрузки жидкостью.⁶⁴

Несмотря на то что не доказана необходимость применения глюкокортикостероидов и дезагрегантов при лечении ТТП, многие рекомендуют использовать режимы терапии наряду с плазмазаменой, включая их тем самым в базисную терапию.

Глюкокортикостероиды, учитывая сведения о роли аутоантител в развитии болезни, применяются в качестве иммунодепрессантов. Некоторые режимы в дополнение к плазмазамене с первого дня лечения ТТП предусматривают



¹ПЗ – плазмазамена, ²СЗП – свежзамороженная плазма

Рис. 1. Алгоритм терапии приобретенной ТТП

применение глюкокортикостероидов (преднизолон 1–2 мг/кг массы тела) или пульс-терапии метилпреднизолоном (1 г в/в 3 дня).⁴⁹ Ряд протоколов лечения предусматривает использование их при идиопатической ТТП с первого дня терапии.¹⁰ Гормонотерапию продолжают до получения полного ответа, затем начинают медленное снижение дозы до полной отмены. Имеются данные о результативности монотерапии гормонами при легких формах ТТП.¹⁸

Антитромбоцитарные агенты (дезагреганты): низкие дозы ацетилсалициловой кислоты (75–375 мг/сут) могут назначаться, если количество тромбоцитов больше $50 \times 10^9/\text{л}$,^{49,65} часто в сочетании с дипиридамолом (400 мг в сутки).⁶⁵

В настоящее время активно изучается целесообразность применения ритуксимаба в качестве первой линии терапии у больных идиопатической ТТП в дополнение к плазмазамене

и глюкокортикостероидам. Предварительные данные многоцентрового нерандомизированного исследования свидетельствуют об уменьшении доли пациентов с рефрактерной ТТП и снижении количества рецидивов при добавлении ритуксимаба к базисной терапии.⁶⁶

Трансфузии эритроцитов применяются по клиническим показаниям. Трансфузии тромбоцитов обычно противопоказаны! Они могут усилить тромбообразование и привести к гибели пациента. Проводятся лишь при угрожающих жизни кровотечениях. При гемолизе возникает дефицит фолиевой кислоты, поэтому, по мнению ряда исследователей, препарат целесообразно назначать всем пациентам с ТТП.⁴⁹ Часть больных с почечной недостаточностью нуждается в проведении гемодиализа.

Оценка ответа на терапию. Эффективность базисной терапии оценивают через 7 дней лечения. Количество тром-

боцитов — наиболее важный параметр оценки результата терапии. Ответом на терапию является устранение неврологических симптомов, нормализация количества тромбоцитов ($\geq 150 \times 10^9/\text{л}$), восстановление активности ЛДГ, стабилизация уровня гемоглобина.

Считается целесообразным осуществлять плазмозамены ежедневно до получения ответа на терапию, затем еще в течение как минимум 2 дней.⁴⁹ Нет клинических параметров, определяющих оптимальную продолжительность терапии. Больным с тяжелым дефицитом ADAMTS-13 ($< 5\%$) в момент постановки диагноза из-за частых обострений необходима постепенная отмена плазмозамен.⁶

После принятия решения о прекращении плазмозамены следует особенно внимательно следить за динамикой тромбоцитов. После отмены плазмозамены типично крайне быстрое обострение, проявляющееся снижением количества тромбоцитов и требующее возобновления ежедневной плазмозаменной терапии (частота возврата болезни — 29–82%). Возможность отказа от плазмозамены у каждого конкретного пациента определяется опытным путем.¹⁵

Такие обострения возникают у 7% больных с быстрым полным ответом на лечение (полное восстановление на 5-й день терапии), у пациентов же с более медленным ответом частота подобных обострений достигает 77%.³⁶

Консолидирующая терапия. С целью предотвращения ухудшения состояния больного в некоторых клиниках после получения ответа проводится консолидирующая терапия — снижение частоты плазмозамен до 2–3 раз в неделю.³⁶ Консолидация выполняется в течение 2–4 нед.

Обострение характеризуется нарастанием тромбоцитопении, возникновением других симптомов болезни после получения ответа на терапию на фоне проведения плазмозамены, возвращением тромбоцитопении после отмены плазмозамены в течение месяца. Обострение требует интенсификации лечения. При развитии обострения на фоне преднизолона показана более интенсивная иммуносупрессивная терапия, например применение ритуксимаба.⁶

Рефрактерность к базисной терапии (плохой ответ)⁶ фиксируется после 7 дней лечения при наличии персистирующей тромбоцитопении ($< 150 \times 10^9/\text{л}$) или повышенной активности ЛДГ.⁴⁹

Лечение рефрактерной болезни. Нет единой тактики лечения пациентов с рефрактерной ТТП. При отсутствии эффекта от плазмозамены целесообразно увеличить объем заменяемой плазмы в 2 раза.¹⁵ Если до этого этапа терапия не включала глюкокортикостероидов, после фиксации рефрактерности они назначаются.¹⁵ В разных протоколах к плазмозамене и глюкокортикостероидам добавляются иммуносупрессивные препараты.

Винкристин. При лечении рефрактерной к плазмозаместительной терапии болезни используют винкристин. Режим I: 4 введения по 1 мг через 3 дня (1, 4, 7 и 10-й дни);^{38,67,68} режим II: 0,02 мг/кг (1, 5, 9 и 13-й дни); режим III: 2 мг — 1 раз в неделю;⁶⁷ режим IV, первый курс: 1-й день — 2 мг, 4-й и 7-й дни — по 1 мг, через неделю проводят второй курс.⁶⁸ Ответ отмечается после первой недели терапии, иногда — уже через 2 дня после первой инъекции винкристина.

Циклофосфамид.⁶⁹ Ежедневное введение циклофосфамида (1,5 мг/кг) или пульс-терапия (1 г/м²) дают эффект при тяжелом течении, рефрактерном к плазмозамене.

Циклоспорин А.^{49,70} Несмотря на увеличение риска возникновения посттрансплантационных ТМА при лечении циклоспорином, имеются сведения о его результа-

тивности при тяжелой рефрактерности. Режим I: 2–3 мг/кг массы тела; режим II: 5 мг/кг; режим III: 150 мг в сутки. Клинический и гематологический ответ отмечается через 7–14 дней после начала приема препарата. Циклоспорин А нормализует ADAMTS-13, приводит к исчезновению ингибитора. Оптимальная продолжительность терапии не определена,⁴⁹ хотя, по мнению некоторых авторов, она составляет 6 мес.⁷⁰

Ритуксимаб.^{71–73} На протяжении последних лет в зарубежной научной литературе публиковались работы, описывающие успешное применение ритуксимаба (1 раз в неделю по 375 мг/м², от 2 до 13 введений) в сочетании с базисной терапией при тяжелой рефрактерной ТТП в малых группах больных. Время до ответа после первой дозы препарата в среднем составляет 10 дней (5–32 дней). Есть данные о сохранении ответа после лечения ритуксимабом более 79 мес.⁷⁴

Для женщин детородного возраста с ТТП в качестве дополнительного к базисной терапии иммуносупрессивного препарата предпочтительнее назначать ритуксимаб,⁵ чем, например, цитостатики.

Ремиссия определяется как устранение симптомов и невозобновление их в течение 30 дней при прекращении плазмозамены.¹⁵

Рецидив — возвращение ТТП после достижения ремиссии. Для ТТП более характерно однократное рецидивирование, хотя могут возникать и множественные рецидивы с нерегулярными интервалами. Большинство фиксируется в течение года, через 4 года после начала болезни рецидивы развиваются редко. Однако описаны случаи возврата болезни и через 13 лет после первого эпизода заболевания.^{5,6,34} Частота рецидива у пациентов, достигших ремиссии, — 11–36%,^{15,37,75} при отдельных формах — 50–70%.¹⁰ У большинства пациентов с тяжелым дефицитом ADAMTS-13 ($< 5\%$) в полной ремиссии возникает рецидив.⁷⁶ Наличие антител к ADAMTS-13, выявляемых лишь у части больных идиопатической ТТП с тяжелым дефицитом ADAMTS-13 ($< 5\%$), — фактор риска развития рецидива.⁷⁷ В группе пациентов с высоким титром антител в момент диагноза частота рецидива составляет 47%, при низком или неопределяемом уровне антител к ADAMTS-13 — 5%.⁷⁸

Рецидивирование каждые 3 нед. характерно для наследственной формы ТТП (синдром Upshaw—Schulman).²⁰ В ряде случаев заболевание проявляется у взрослых на фоне инфекции, оперативного вмешательства, беременности.^{5,10,49}

Индикаторы для ранней диагностики рецидива при идиопатической ТТП. Роль результатов оценки активности ADAMTS-13 и наличия антител к нему в диагностике рецидива находится в стадии изучения. В последние годы получены данные, свидетельствующие о связи низкой активности ADAMTS-13 ($< 5\%$) и наличия антител (IgG) к нему у больных в ремиссии с высоким риском рецидива. В небольших группах больных показано, что монотерапия ритуксимабом (1 инфузия в неделю по 375 мг/м² 4 раза) приводит к исчезновению антител, восстанавливает активность ADAMTS-13 и предупреждает развитие рецидива.⁷² Эти обнадеживающие результаты нуждаются в подтверждении в ходе больших рандомизированных исследований.

Кроме того, по данным, полученным в малых группах пациентов, мониторинг активности ADAMTS-13 и антител к нему у больных после острого эпизода ТТП позволяет выявить пациентов с начинающимся рецидивом. Назначение ритуксимаба в данной ситуации нормализует активность ADAMTS-13 и снижает титры антител.^{79,80}

Лечение рецидива ТТП. Лечение рецидива аналогично начальной терапии и в большинстве случаев успешно благодаря ускоренному процессу диагностики и оперативному решению вопроса о проведении плазмазамены. Летальность при рецидивах минимальна.

Профилактика рецидива. С целью снижения риска рецидива применяется спленэктомия, роль которой в лечении ТТП до сих пор дискутируется. Существуют данные об эффективности спленэктомии^{81,82} при рецидиве ТТП, а также при рефрактерности к плазмазамене.

В последнее время появились материалы, свидетельствующие об эффективности ритуксимаба при профилактике рецидива ТТП.^{72,79,80,83-86} У части пациентов, лечившихся препаратом, нормализовалась активность ADAMTS-13 (однако не у всех она поддерживалась) и было отмечено исчезновение антител к нему.⁷⁹ Предпринята попытка решения вопроса о продолжительности лечения ритуксимабом на основе результатов оценки активности ADAMTS-13 и наличия антител класса IgG к нему.⁸⁷

Лечение наследственной ТТП. Инфузии плазмы (5–10 мл/кг) каждые 2–4 нед. без плазмазамены должны предотвращать возникновение рецидива.^{5,88}

Создан рекомбинантный человеческий ADAMTS-13, который дает положительный эффект при добавлении к крови больного с врожденной формой ТТП, данные получены *in vitro*.⁸⁹

Характеристика терапии отдельных форм ТТП приведена в табл. 1.

Динамика симптомов в процессе лечения. Улучшение неврологической симптоматики наблюдается через 1–7 дней после начала терапии, медиана времени восстановления составляет 3 дня. Снижение активности ЛДГ на 50 % происходит через 1–20 дней, период нормализации колеблется в пределах от 2 до 22 дней. Рост количества тромбоцитов до $50 \times 10^9/\text{л}$ отмечается через 3–28 дней, период увеличения количества тромбоцитов до $150 \times 10^9/\text{л}$ — 3–32 дня. Для существенного снижения уровня креатинина требуется от 2 до 35 дней, для возврата уровня креатинина к базовому/нормальному необходимо 8–36 дней.⁵¹ Клинические симптомы исчезают в течение 24–72 ч после начала плазмазамены, предшествуя гематологическому ответу.³⁶ Для устранения симптомов болезни требуется от 3 до 36 плазмазамен.⁴⁹

Изучается возможность использования результатов анализа активности ADAMTS-13 и наличия антител к нему в оценке ответа на терапию. В малых группах больных получены данные о связи наличия ингибитора (антител к ADAMTS-13) в момент диагноза с более медленным ответом на плазмазамену, рефрактерностью и ранней летальностью. Больных с высокой активностью ингибитора ADAMTS-13 предполагается рассматривать в качестве кандидатов для проведения более интенсивной иммуносупрессивной терапии.^{78,90}

Возможные осложнения при проведении плазмазамены:^{13,15} осложнения, связанные с центральным венозным катетером (пневмоторакс/геморрагии — 4 %, инфекции — 15 %, тромбозы — 10 %); аллергические реакции, обусловленные введением плазмы (4 %); осложнения, вызванные выполнением аппаратных аферезов (уменьшение объема циркулирующей крови, алкалоз); инфекции, связанные с трансфузией плазмы; последствия цитратной токсичности (парестезии, судороги или тетания при развитии гипокальциемии). Летальность, связанная с плазмазаменами, составляет 2,4 %.⁹¹

Долгосрочные результаты терапии. Несмотря на наличие всех параметров ремиссии, восстановление не всегда бывает полным: после серьезного ишемического пора-

жения головного мозга в некоторых случаях сохраняются остаточные изменения (4,76 %),⁶⁵ у значительной части пациентов отмечается слабость, ухудшение памяти, головная боль.³⁴ Эти последствия глубокой системной ишемии могут наблюдаться несколько лет, к счастью, у многих пациентов наступает улучшение. При тяжелом поражении почек у ряда больных может развиваться хроническая почечная недостаточность.³⁴ Персистирующие кардиальные нарушения могут иметь место после выздоровления.⁴³

К группе тромботических микроангиопатий относится ГУС.

ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКИЙ СИНДРОМ

Синдром впервые описан С. Е. von Gasser и соавт. (Швейцария, 1955) у детей с продромой в виде кровавой диареи, с тромбоцитопенией, МАГА и острой почечной недостаточностью. Установлена связь синдрома с энтерогеоморрагической *Escherichia coli*, продуцирующей шигатоксин (взаимосвязь синдрома с инфекцией выявлена М. А. Кагталі и соавт. в 1983 г.). Большинство случаев (80 %) вызвано серотипом *E. coli* O157:H7. Кроме того, причиной ГУС могут быть другие серотипы кишечной палочки или *Shigella dysenteriae muna 1*.⁵ Значительно реже заболевание возникает у взрослых пациентов. ГУС может развиваться вслед за диареей (эта форма традиционно обозначается как Д⁺ ГУС), но встречается и атипичная (бездиарейная) форма (так называемый Д⁻ ГУС) с более плохим прогнозом.

Классификация ГУС приведена в табл. 2.

Типичный ГУС (ГУС, ассоциированный с шигаподобным токсином/ассоциированный с диареей/Д⁺ ГУС). Эта форма — классическая, диагностируется у 90 % пациентов с этой патологией. Общая частота шигатоксин-ассоциированного ГУС оценивается как 2,1:100 000 населения в год.⁹² Болеют в основном дети до 10 лет.⁵ Инфицирование происходит через контаминированную пищу и воду. Средний интервал между инфицированием кишечной палочкой и болезнью составляет 3 дня (1–8 дней).⁹²

Заболевание обычно начинается со спастической боли в животе и поноса, который в течение 2 дней становится кровавым у 70 % заболевших. Тошнота отмечается у 30–60 % пациентов, у 1/3 больных — лихорадка. Количество лейкоцитов в крови, как правило, повышено. ГУС в большинстве случаев диагностируется через 6 дней после начала диареи.⁹²

Для заболевания характерно острое начало МАГА, тромбоцитопении и поражения почек. Почечные симптомы включают протеинурию, гематурию, артериальную гипертензию и олигурию/анурию.⁵ Иногда развивается полиорганный патология. Поражение ЦНС (включая инсульт, судороги и кому) возникает у 25 % пациентов, может поражаться сердце, ЖКТ, поджелудочная железа, печень.⁹²

Лабораторные исследования выявляют нормальное или несколько удлиненное протромбиновое время и АПТВ. Содержание фибриногена в плазме нормальное или повышенное, концентрация продуктов деградации фибрина может быть увеличена. Активность ADAMTS-13 при данной патологии нормальная.⁵ Продуцирующую шигатоксин *E. coli* можно обнаружить в культурах кала. В исследовательских лабораториях проводят серологические тесты для выявления антител к *E. coli* O157. Диагноз устанавливается на основании триады: МАГА, тромбоцитопения, поражение почек (острая почечная недостаточность развивается у 55–70 % больных⁹²).

Оптимальное лечение ассоциированного с диареей ГУС

Таблица 2. Классификация гемолитико-уремического синдрома, характеристика лечения отдельных форм^{92,93}

Классификация ГУС	Терапия
1. ГУС, ассоциированный с шигаподобным токсином (типичный/ассоциированный с диареей/Д ⁺)	
1.1. <i>Escherichia coli</i>	Поддерживающая терапия
1.2. <i>Shigella dysenteriae</i> типа 1	Поддерживающая терапия + антибиотики
2. ГУС, не связанный с шигатоксином (атипичный/бездиарейный/Д ⁻)	
2.1. ГУС на фоне инфекции	
2.1.1. Бактерии — <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Антибиотики (без плазмы)
2.1.2. Вирус — ВИЧ	Плазмозамена
2.2. Лекарственный ГУС (противоопухолевые препараты, антикоагулянты, иммуносупрессивные препараты)	Отмена лекарства + плазмозамена
2.3. ГУС, связанный с беременностью	Плазмозамена
2.4. Послеродовой ГУС	Плазмозамена
2.5. ГУС на фоне аутоиммунных заболеваний	Лечение основного заболевания, при СКВ* + плазмозамена
2.6. Идиопатический ГУС	Плазмозамена
2.7. Болезни регуляции комплемента	
2.7.1. Генетические болезни регуляции комплемента (мутации генов фактора H, мембранного кофакторного протеина (CD46), фактора I)	Плазмозамена
2.7.2. Приобретенные болезни регуляции комплемента (антитела к фактору H)	Плазмозамена

*СКВ — системная красная волчанка.

возможно при условии тщательного контроля баланса жидкости, электролитов и АД. Положительный эффект от плазмозамены при Д⁺ ГУС не доказан.⁴⁹ Роль антибиотикотерапии в лечении инфекции *E. coli* не определена.^{5,49}

Значительной части (70%) пациентов с Д⁺ ГУС требуются трансфузии эритроцитов, в проведении гемодиализа нуждается 50% больных. Выздоровливает 70–80% детей. Несмотря на то что летальность у младенцев и маленьких детей в развитых странах снизилась, когда диализ стал доступен, все же 3–5% больных умирают во время острой фазы болезни, у 12% развивается терминальная стадия хронической почечной недостаточности, у 25% остается снижение клубочковой фильтрации (< 80 мл/мин).⁹²

Типичный ГУС у взрослых отличается большей частотой неврологических осложнений и высокой летальностью (31–45%).^{94,95}

Атипичный ГУС (ГУС, не связанный с шигатоксином/бездиарейный/Д⁻ ГУС). У 50% пациентов болезнь обусловлена дисрегуляцией в системе комплемента, вызванной мутацией факторов H, I, B, мембранного кофакторного протеина (CD46) или аутоантителами к фактору H.⁹⁶ Кроме того, Д⁻ ГУС может развиваться на фоне инфекции (*Streptococcus pneumoniae*, ВИЧ), после приема лекарств, на фоне опухолей, после трансплантации органов и тканей, во время беременности, после родов, при аутоиммунных болезнях (системная красная волчанка, системная склеродермия, антифосфолипидный синдром). Возможен и идиопатический атипичный ГУС.⁹²

При атипичном ГУС (идиопатический, связанный с беременностью, ассоциированный с ВИЧ, при дефиците факторов H, I, CD46) целесообразно применять свежезамороженную плазму или проводить плазмозамену. Такая терапия при бездиарейном ГУС снизила летальность с 50 до 25%.⁹² Прогноз при атипичном ГУС хуже, чем при Д⁺ ГУС. Семейные формы часто рецидивируют, в т. ч. после трансплантации почек.⁵

Общая характеристика терапии при отдельных формах ГУС дана в табл. 2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клиника ТТП не имеет специфических черт, поэтому пациенты могут быть госпитализированы в хирургическое отделение по поводу абдоминальной боли с подозрением на острый живот, в инфекционное — в связи с желтухой и лихорадкой, а также в реанимационное, неврологическое и терапевтическое отделения. При диагностике ГУС, как правило, возникает меньше проблем, т. к. при развитии острой почечной недостаточности больные осматриваются врачами отделения гемодиализа, которые знакомы с данной патологией.

При обнаружении тромбоцитопении необходимо обратить внимание на наличие гемолиза, а при выявлении неиммунного гемолиза следует определить содержание шистоцитов.

Рекомендуемые лабораторные исследования: полный анализ крови (тромбоциты, исследование мазка крови, подсчет ретикулоцитов), коагулограмма (фибриноген и тесты паракоагуляции), печеночные пробы, анализ мочи, электролиты, креатинин, проба Кумбса, активность ЛДГ, уровень гаптоглобина, антифосфолипидные антитела, антинуклеарные антитела, сердечные тропонины. Врачам-лаборантам следует обращать особое внимание на мазки крови с повышенным количеством шистоцитов. При обнаружении фрагментированных эритроцитов при исследовании мазка необходим их подсчет.

Условием постановки клинического диагноза ТТП (при отсутствии других причин) является наличие как минимум двух симптомов: тромбоцитопения и МАГА.

При возникновении подозрения на ТТП необходимо немедленно начать терапию: плазмозамена (40–60 мл/кг массы тела в сутки) или, по крайней мере, инфузия свежезамороженной плазмы (до 30 мл/кг в сутки).

Активное информирование врачей об особенностях диагностики и принципах лечения этого опасного для жизни пациента заболевания должно способствовать раннему выявлению ТТП, обеспечению адекватности назначаемого лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ahmed S., Siddiqui R. K., Siddiqui S. A. et al. HIV associated thrombotic microangiopathy. *Postgrad. Med. J.* 2002; 78(923): 520–5.
2. Bull Br. S., Breton-Gorius J. Morphology of the erythron/Williams Hematology, 1995: 349–63.
3. Lesesve J.-F., Salignac S., Lecompte T., Bordignon P. Automated measurement of schistocytes after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2004; 34(4): 357–62.
4. George J. N. Hematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy: defining a disorder. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 41(11): 917–8.
5. Sadler J. E., Poncz M. Idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. Ch. 124. Antibody-mediated thrombotic disorders: idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura and heparin-induced thrombocytopenia. Williams Hematology, 7th Edition, McGraw-Hill Medical, 2007: 2031–54.
6. George J. N., Terrell D. R., Swisher K. K., Vesely S. K. Lessons learned from the Oklahoma Thrombotic Thrombocytopenic Purpura-Hemolytic Uremic Syndrome Registry. *J. Clin. Apheresis* 2008; 23(4): 129–37.
7. von Baeyer H. Plasmapheresis in thrombotic microangiopathy-associated syndromes: review of outcome data derived from clinical trials and open studies. *Ther. Apheresis* 2002; 6(4): 320–8.
8. Moschowitz E. An acute febrile pleiochromic anemia with hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: an undescribed disease. *Mount Sinai J. Med.* 2003; 70(5): 353–5.
9. Singer K., Bornstein F. P., Wile S. A. Thrombotic thrombocytopenic purpura: hemorrhagic diathesis with generalized platelet thromboses. *Blood* 1947; 2(6): 542–54.
10. George J. N. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354(18): 1927–35.
11. Terrell D. R., Williams L. A., Vesely S. K. et al. The incidence of thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: all patients, idiopathic patients, and patients with severe ADAMTS-13 deficiency. *J. Thromb. Haemost.* 2005; 3(7): 1432–6.
12. Matsumoto M., Uagi H., Ishizashi H. et al. The Japanese experience of TTP/HUS: analysis of 290 patients. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2003; 102(11): abstract 2973.
13. Nabhan Ch., Kwaan H. C. Current concepts in the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematol. Oncol. Clin. N. Am.* 2003; 17(1): 177–99.
14. Scully M., Yarranton H., Liesner R. et al. Regional UK TTP Registry: correlation with laboratory ADAMTS 13 analysis and clinical features. *Br. J. Haematol.* 2008; 142(5): 819–26.
15. George J. N. How I treat patients with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2000; 96(4): 1223–9.
16. George J. N., Vesely S. K. Thrombotic thrombocytopenic purpura: from the bench to the bedside, but not yet to the community. *Ann. Intern. Med.* 2003; 138(2): 152–3.
17. Rock G. A., Shumak K. H., Buskard N. A. et al. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N. Engl. J. Med.* 1991; 325(6): 393–7.
18. Bell W. R., Braine H. G., Ness P. M., Kikler T. A. Improved survival in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. Clinical experience in 108 patients. *N. Engl. J. Med.* 1991; 325(6): 398–403.
19. Moake J. L., Rudy C. K., Troll J. H. et al. Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N. Engl. J. Med.* 1982; 307(23): 1432–5.
20. Moake J. L. Idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura/ in: Recent advances in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematology* 2004: 407–23.
21. Furlan M., Robles R., Lmmle B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. *Blood* 1996; 87(10): 4223–34.
22. Tsai H.-M. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood* 1996; 87(10): 4235–44.
23. Fujikawa K., Suzuki H., McMullen B., Chung D. Purification of human von Willebrand factor-cleaving protease and its identification as a new member of the metalloproteinase family. *Blood* 2000; 98(6): 1662–6.
24. Zheng X., Chung D., Takayma T. K. et al. Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J. Biol. Chem.* 2001; 276(44): 41059–63.
25. Furlan M., Robles R., Galbucera M. et al. Von Willebrand factor — cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339(22): 1578–84.
26. Tsai H.-M., Lian E. Ch.-Y. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339(22): 1585–94.
27. Bianchi V., Robles R., Alberio L. et al. Von Willebrand factor — cleaving protease (ADAMTS13) in thrombotic disorders: a severely deficient activity is specific for thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2002; 100(2): 710–3.
28. Studd J.-D., Kremer Hovinga A., Alberio L. et al. Von Willebrand factor — cleaving protease (ADAMTS-13) activity in thrombotic microangiopathies: diagnostic experience 2001/2002 of a single research laboratory. *Swiss. Med. Wkly.* 2003; 133(23–24): 325–32.
29. Tsai H.-M. Deficiency of ADAMTS13 and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2002; 100(10): 3839–40.
30. Lmmle B., Bianchi V., Alberio L., Furlan M. ADAMTS13 and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2002; 100(10): 3840–1.
31. Remuzzi G., Galbusera M., Mannucci P. M. ADAMTS13 in thrombotic microangiopathies. *Blood* 2002; 100(10): 3842.
32. Wyrick-Glatzel J. Thrombotic thrombocytopenic purpura and ADAMTS-13: New insights into pathogenesis, diagnosis, and therapy. *Lab. Med.* 2004; 35(12): 733–40.
33. Miyata T., Kokame K. New ADAMTS13 assays and clinical applications/ in: Recent advances in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematology* 2004: 407–23.
34. George J. N., Sadler J. E., Lmmle B. Platelets: thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematology* 2002: 315–34.
35. George J. N. Thrombotic thrombocytopenic purpura — hemolytic uremic syndrome Newsletter. TTP-HUS 1999; N.5 (August). <http://moon.ouhsc.edu/jgeorge/TTPNEWS5.htm>.
36. Sarode R., Gottschall J. L., Aster R. H., McFarland J. G. Thrombotic thrombocytopenic purpura: early and late responders. *Am. J. Hematol.* 1997; 54(2): 102–7.
37. Dervenoulas J., Tsirigotis P., Bollas G. et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome (TTP-HUS): treatment outcome, relapses, prognostic factors. A single-center experience of 48 cases. *Ann. Hematol.* 2000; 79(2): 66–72.
38. Suvajdi Vukovi N., Budi in ., Elezovi I. The successful treatment of refractory thrombotic thrombocytopenic purpura with vincristine: a case report. *Haema.* 2005; 8(2): 300–3.
39. George J. N. Clinical course and long-term outcomes of thrombotic thrombocytopenic purpura. In: Recent advances in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematology* 2004: 407–23.
40. Tuncer H. H., Oster R. A., Huang Sh. T., Marques M. B. Predictors of response and relapse in a cohort of adults with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: a single-institution experience. *Transfusion* 2007; 47(107): 107–14.
41. George J. N., El-Harake M. Thrombocytopenia due to enhanced platelet destruction by nonimmunologic mechanisms. *Williams Hematology*, 1995: 1290–315.
42. Scully M., Yarranton H., Liesner R. et al. The South East England Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Registry. *Blood* 2006; 108(11): abstract 1064.
43. Hawkins B. M., Abu-Fadel M., Vesely S. K., George J. N. Clinical cardiac involvement in thrombotic thrombocytopenic purpura: a systematic review. *Transfusion* 2008; 48(2): 382–90.
44. Hughes Cl., Scully M., Huntley, N. et al. Review of cardiac involvement in acute thrombotic thrombocytopenic purpura: association with IgG antibodies to ADAMTS-13. *Haematologica* 2008; 93(1): abstract 1448.
45. Wahla A. S., Ruiz J., Noureddine N. et al. Myocardial infarction in thrombotic thrombocytopenic purpura. A single center experience and literature review. *Eur. J. Haematol.* 2008; 81(4): 311–6.
46. Patschan D., Witzke O., Dhrzen U. et al. Acute myocardial infarction in thrombotic microangiopathies — clinical characteristics, risk factors and outcome. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2006; 21(6): 1549–54.
47. Баркаган З. С. Геморрагические заболевания и синдромы. — М.: Медицина, 1988. — 528 с.
48. Burns E. R., Lou Y., Pathak A. Morphologic diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am. J. Hematol.* 2004; 75(1): 18–21.
49. Guidelines of the diagnosis and management of the thrombotic microangiopathic haemolytic anaemias. *Br. J. Haematol.* 2003; 120(4): 556–73.
50. Moake J. L. Thrombotic microangiopathies. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347(8): 589–600.
51. Thompson C. E., Damon L. E., Ries C. A., Linker C. A. Thrombotic microangiopathies in the 1980s: clinical features, response to treatment, and the impact of the human immunodeficiency virus epidemic. *Blood* 1992; 80(8): 1890–5.
52. George J. N., Li X., McMinn J. R. et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura-haemolytic uraemic syndrome following allogeneic HPC transplantation: diagnostic dilemma. *Transfusion* 2004; 44(2): 294–304.
53. Kanamori H., Takaishi Y., Takabayashi M. et al. Clinical significance of fragmented red cells after allogeneic bone marrow transplantation. *Int. J. Hematol.* 2003; 77(2): 180–4.
54. Zomas A., Saso R., Powles R. et al. Red cell fragmentation (schistocytosis) after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1998; 22(8): 777–80.
55. Ruutu T., Barosi G., Benjamin R. J. et al. Diagnostic criteria for hematopoietic stem cell transplant-associated microangiopathy: results of a consensus process by an International Working Group. *Haematologica* 2007; 92(1): 95–100.
56. Egan J. A., Bandarenko N., Hay S. N. et al. Differentiating thrombotic microangiopathies induced by severe hypertension from anemia and thrombocytopenia seen in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J. Clin. Apheresis* 2004; 19(3): 125–9.
57. Khanna A., McCullough P. A. Malignant hypertension presenting as hemolysis, thrombocytopenia, and renal failure. *Rev. Cardiovasc. Med.* 2003; 4(4): 255–9.
58. Espinosa G., Bucciarelli S., Cervera R. et al. Thrombotic microangiopathic haemolytic anaemia and antiphospholipid antibodies. *Ann. Reum. Dis.* 2004; 63(6): 730–6.
59. Asherson R. A., Cervera R., de Groot P. G. et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome: international consensus statement on classification cri-

- teria and treatment guidelines. *Lupus* 2003; 12(7): 530–4.
60. *Levine J. S., Branch D. W., Rauch J.* The antiphospholipid syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346(10): 752–63.
61. *Rand J. H.* The antiphospholipid syndrome. *Hematology* 2007: 136–42.
62. *Asherson R. A.* New subsets of the antiphospholipid syndrome in 2006: «PRE-APS» (probable APS) and microangiopathic antiphospholipid syndromes («MAPS»). *Autoimmun. Rev.* 2006; 6(2): 76–80.
63. *Ашерсон Р. А.* Варианты антифосфолипидного синдрома: несколько новых концепций? *Тер. арх.* 2008; 5: 83–5.
64. *Coppo P., Bussel A., Charrier S.* et al. High-dose plasma infusion versus plasma exchange as early treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome. *Medicine (Baltimore)* 2003; 82(1): 27–38.
65. *Shumak K. H., Rock G. A., Nair R. C.* Late relapses in patients successfully treated for thrombotic thrombocytopenic purpura. *Ann. Intern. Med.* 1995; 122(8): 569–72.
66. *Scully M., Cavenagh J., Hunt B.* et al. A Phase II study to assess the safety, efficacy and tolerability of rituximab in combination with plasma exchange in patients with acute idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2007; 110(11): abstract 1303.
67. *Bobbio-Pallavicini E., Porta C., Centurioni R.* et al. Vincristine sulfate for the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to plasma-exchange. The Italian Cooperative Group for TTP. *Eur. J. Haematol.* 1994; 52(4): 222–6.
68. *Ferrara F., Copia C., Annunziata M.* et al. Vincristine as salvage treatment for refractory thrombotic thrombocytopenic purpura. *Ann. Hematol.* 1999; 78(11): 521–3.
69. *Allan D. S., Kovacs M. J., Clark W. F.* et al. Frequently relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura treated with cytotoxic immunosuppressive therapy. *Haematologica* 2001; 86(8): 844–50.
70. *Cataland S. R., Jin M., Zheng X. L.* et al. An evaluation of cyclosporine alone for the treatment of early recurrences of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J. Thromb. Haemost.* 2006; 4(5): 1162–4.
71. *Gutterman L. A., Kloster B., Tsai H. M.* et al. Rituximab therapy for refractory thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood Cells Mol. Dis.* 2002; 28(3): 385–91.
72. *Fakhouri F., Vernant J.-P., Veyradier A.* et al. Efficiency of curative and prophylactic treatment with rituximab in ADAMTS13 deficient-thrombotic thrombocytopenic purpura: a study of 11 cases. *Blood* 2005; 106(6): 1932–7.
73. *Fakhouri F., Deroure B., Hummel A.* A new treatment for TTP? *Nephrol. Dial. Transplant.* 2006; 21(3): 577–9.
74. *Jasti S., Coyle Th., Gentile T.* et al. Rituximab as an adjunct to plasma exchange in TTP: A report of 12 cases and review of literature. *J. Clin. Apheresis* 2008; 23(5): 151–6.
75. *Tsai H.-M.* Von Willebrand factor, ADAMTS13, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *J. Mol. Med.* 2002; 80(10): 639–47.
76. *Jin M., Casper T. C., Cataland S. R.* et al. Relationship between ADAMTS13 activity in clinical remission and the risk of TTP relapse. *Br. J. Haematol.* 2008; 141(5): 651–8.
77. *Peyvandi F., Lavoretano S., Palla R.* et al. ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 antibodies as markers for recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission. *Haematologica* 2008; 93(2): 232–9.
78. *Zheng X. L., Kaufman R. M., Goodnough L. T., Sadler J. F.* Effect of plasma exchange on plasma ADAMTS13 metalloprotease activity, inhibitor level, and clinical outcome in patients with idiopathic and nonidiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2004; 103(11): 4043–9.
79. *Scully M., Starke R., Mackie I., Machin S. J.* Acute idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: predicting relapse and response to treatment. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2006; 108(11): abstract 1059.
80. *von Auer Ch., Hess G., Scharner I.* Prevention of complete TTP relapses by immediate initiation of rituximab treatment. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2007; 110(11): abstract 3203.
81. *Aqui N. A., Stein S. H., Konkle B. A.* et al. Role of splenectomy in patients with refractory or relapsed thrombotic thrombocytopenic purpura. *J. Clin. Apheresis* 2003; 18(2): 51–4.
82. *Kremer Hovinga J. A., Studt J. D., Demarmels Biasiutti F.* et al. Splenectomy in relapsing and plasma-refractory acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 2004; 89(3): 320–4.
83. *Chemnitz J., Draube A., Scheid C.* et al. Successful treatment of severe thrombotic thrombocytopenic purpura with the monoclonal antibody rituximab. *Am. J. Hematol.* 2002; 71(2): 105–8.
84. *Ahmad A., Aggarwal A., Sharma D.* et al. Rituximab for treatment of refractory/relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). *Am. J. Hematol.* 2004; 77(2): 171–6.
85. *Zheng X., Pallera A. M., Goodnough L. T.* et al. Remission of chronic thrombotic thrombocytopenic purpura after treatment with cyclophosphamide and rituximab. *Ann. Intern. Med.* 2003; 138(2): 105–8.
86. *Scully M.A., Liesner R., Cavenagh J.* et al. Rituximab in the treatment of acute refractory and chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura: results from 28 patients. *Haematologica Hematol. J.* 2006; 91(1): abstract 514.
87. *Scully M., Cavenagh J., Hunt B.* et al. A Phase II study to assess the safety, efficacy and tolerability of rituximab in combination with plasma exchange in patients with acute idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2007; 110(11): abstract 1303.
88. *Furlan M., Lmmle B.* Haemolytic-uraemic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura — new insights into underlying biochemical mechanisms. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000; 15(8): 1112–4.
89. *Antoine G., Zimmermann K., Plaimauer B.* et al. ADAMTS13 gene defect in two brothers with constitutional thrombotic thrombocytopenic purpura and normalization of von Willebrand factor-cleaving protease activity by recombinant human ADAMTS13. *Br. J. Haematol.* 2003; 120(5): 821–4.
90. *Coppo P., Wolf M., Veyradier A.* et al. Prognostic value of inhibitory anti-ADAMTS13 antibodies in adult-acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br. J. Haematol.* 2006; 132(1): 66–74.
91. *George J. N., Kremer Hovinga J. A., Terrell D. R.* et al. The Oklahoma Thrombotic Thrombocytopenic Purpura-Hemolytic Uremic Syndrome Registry: the Swiss connection. *Eur. J. Haematol.* 2008; 80(4): 277–86.
92. *Noris M., Remuzzi G.* Hemolytic uremic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005; 16(4): 1035–50.
93. *Besbas N., Karpman D., Landau D.* et al. A classification of hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and related disorders. *Kidney Int.* 2006; 70(3): 423–31.
94. *Karpac Ch. A., Li X., Terrell D. R.* et al. Sporadic bloody diarrhoea-associated thrombotic thrombocytopenic purpura-haemolytic uremic syndrome: an adult and paediatric comparison. *Br. J. Haematol.* 2008; 141(5): 696–707.
95. *Dundas St., Todd W. T., Stewart A. L.* et al. The Central Scotland Escherichia Coli O157:H7 outbreak: risk factors for the hemolytic uremic syndrome and death among hospitalized patients. *Clin. Inf. Dis.* 2001; 33(7): 923–31.
96. *Zheng X. L., Sadler J. E.* Pathogenesis of thrombotic microangiopathies. *Ann. Rev. Pathol.* 2008; 3: 249–77.



V Российская конференция «Злокачественные лимфомы» (с международным участием)

Подготовила канд. мед. наук П. А. Зейналова



30–31 октября 2008 г. в Онкологическом научном центре им. Н. Н. Блохина РАМН (Москва) проходила V Российская конференция «Злокачественные лимфомы». Нужно сказать, что ежегодные октябрьские конференции, посвященные неходжкинским лимфомам, стали важным и заметным событием, привлекающим внимание как гематологов, так и онкологов из всех регионов Российской Федерации. В этом году число участников конференции достигло 400. В ее работе приняли участие ведущие отечественные и известные зарубежные специалисты из Европы.

С первым программным сообщением выступил известный патолог из института патологии университета Вюрсбурга (Германия) профессор **Н. К. Muller-Hermelink**. Основу доклада составил всесторонний анализ изменений и дополнений, внесенных в классификацию Всемирной организации здравоохранения 2008 г. (2-е, переработанное издание).

Классификация ВОЗ 2008 г.: что нового?

В 1994 г., с опубликованием Европейско-американской классификации лимфоидных опухолей (REAL — A Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms) закончился период «холодной войны» между американскими и европейскими гематологами. REAL как консенсусный проект систематизации злокачественных лимфоидных опухолей положен в основу классификации ВОЗ 2001 г., признанной повсеместно.

В классификации ВОЗ 2008 г. получила дальнейшее развитие рациональная идея комплексного подхода к диагностике лимфом, когда учитываются морфологические, иммунофенотипические, генетические,

молекулярно-биологические и клинические характеристики опухоли. Новые концептуальные подходы заключаются в изучении роли первоисточника опухолевого роста (anatomic/topographic site) как важного параметра в классификации. Иначе говоря, особое значение в будущих классификациях лимфом будет придаваться топографо-анатомической локализации первичной опухоли. По сути речь идет о различных вариантах экстранодальных В-лимфом: MALT-типа, первичная медиастинальная, первичные кожные, диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) с первичным поражением ЦНС и яичек, фолликулярной тонкой кишки, а также кожные Т-клеточные лимфомы.

Кроме того, придается значение изучению возраст-ассоциированных лимфом (age-related lymphomas), а также новым технологиям и биологическим маркерам.

Зрелые В-клеточные опухоли

Здесь обозначены следующие новые варианты злокачественных лимфоидных опухолей: селезеночная (splenic) лимфома/лейкоз неклассифицируемый; ДВКЛ неспецифицированная (NOS); первичные ДВКЛ ЦНС, кожи (leg type); вирус Эпштейна — Барр-позитивная ДВКЛ пожилых; ДВКЛ, ассоциированная с хроническим воспалением; В-крупноклеточные лимфомы — интраваскулярная, ALK-позитивная; В-крупноклеточная лимфома, возникающая при мультицентрической болезни Кастанеллана и ассоциированная с HHV8-инфекцией; плазмобластная лимфома. Кроме того, обозначены два варианта неклассифицируемых В-клеточных лимфом, занимающих промежуточное положение между ДВКЛ и лимфомой Беркитта, а также

первичной медиастинальной (тимической) В-крупноклеточной и лимфомой Ходжкина.

В разделе «Ранние лимфоидные пролиферации» приводятся диагностические критерии моноклонального В-клеточного лимфоцитоза (MBL), лимфом *in situ* — фолликулярной (BcL2+, t(14;18) (q32;q21)+), мантийноклеточной (индолентной) с экспрессией циклина D1 в клетках зоны мантии фолликулов, а также детской фолликулярной гиперплазии с моноклональными В-клетками.

Подробно представлены отличительные особенности лимфоидных опухолей и макроглобулинемии Вальденстрема. Детальному анализу подвергнуты иммуноморфологические особенности различных клинических вариантов фолликулярной лимфомы с первичным поражением тонкой кишки, кожи. Отдельно выделяется детская нодальная лимфома из клеток маргинальной зоны, а также фолликулярная.

В докладе автор особо остановился на фолликулярной лимфоме как на одном из наиболее частых вариантов злокачественных лимфоидных опухолей взрослых, характеризующихся индолентным течением. В новом варианте классификации внесены изменения в характеристику цитологических типов опухоли. В целом фолликулярную лимфому следует рассматривать как центроцитарную (центроцитарно-центробластную) опухоль, т. е. объединены в одну группу I и II цитологические типы. Отдельно рассматривается IIIа цитологический тип с большим числом центробластов, а IIIб тип, представленный только центробластами, будет включен в ДВКЛ.

Зрелые Т- и НК-клеточные опухоли

Нужно сказать, что эта, наиболее сложная часть классификации ВОЗ с

точки зрения обозначения новых клинических вариантов злокачественных лимфопрлиферативных заболеваний претерпела минимальные изменения. В то же время как самостоятельные варианты Т-клеточных лимфом предлагается рассматривать крупноклеточную анапластическую CD30+ с экспрессией анапластической лимфомной киназы (ALK-позитивная) и без таковой (ALK-негативная). Последняя (CD30+, ALK-), кроме того, выделяется как отдельный вариант лимфомы с первичным поражением кожи.

В целом следует отметить, что Т-клеточный иммунный ответ не столь детально охарактеризован, как В-клеточный. Функциональная специализация и связанные с ней иммунофенотипические особенности Т-клеток различных органов еще изучены недостаточно. В этой связи автор уделил особое внимание необходимости внедрения самых современных технологий (молекулярная биология, микрочипы), которые позволили бы расшифровать механизмы становления Т-клеточной опухоли или, по крайней мере, создать новые прогностические модели, которые имели бы клиническое значение.

Мантйноклеточная лимфома

Профессор **M. Dreyling** (Мюнхен, Германия) посвятил свой доклад вопросам лечебной стратегии и текущей терапии при мантйноклеточных лимфомах. Как известно, мантйноклеточная лимфома характеризуется как CD5-позитивная В-клеточная опухоль с уникальными морфологическими, иммунологическими и генетическими характеристиками. Основным онкогенным событием является транслокация t(11;14)(q13;q32) с гиперэкспрессией белка циклина D1, ответственного за регуляцию клеточного цикла.

Выделяются и описаны различные клинические варианты мантйноклеточной лимфомы: с генерализованными нодальными и экстранодальными поражениями, по типу лимфоматозного полипоза и с развитием гематологической картины лейкоза. Эта опухоль составляет 5–10% всех неходжкинских лимфом взрослых, и медиана общей выживаемости не превышает 3–4 года.

На основе анализа IPI и FLIPI разработан специальный международный прогностический индекс для мантйноклеточной лимфомы — MIP1-клинический и MIP1-биологический. Последний, учитывающий в т. ч. уро-

вень экспрессии Ki67, пока является предметом специальных исследований и в широкой клинической практике не используется. MIP1-клинический — это прогностическая модель на основе анализа 4 исходных клинико-лабораторных параметров: возраст, статус по ECOG, активность ЛДГ и число лейкоцитов.

Основная идея доклада заключалась в том, что при мантйноклеточных лимфомах лечебная стратегия определяется возрастом больного. В группе больных до 65 лет в качестве первой линии терапии может использоваться программа R-CHOP с последующей высокодозной химиотерапией с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Альтернативой или методом выбора также может служить программа, предполагающая лечение по схеме R-Нурер-CVAD. В группе больных старше 65 лет, как правило, используется схема R-CHOP.

При первом рецидиве у больных до 65 лет рекомендуются схемы химиотерапии на основе флударабина (чаще R-FC), а у пациентов старше 65 лет — бендамустина, как правило, с добавлением ритуксимаба в обеих возрастных группах. При повторных рецидивах с успехом могут применяться бортезомиб, талидомид, леналидомид, флавопиридол. Перечисленные препараты могут использоваться как в монорежиме, так и в комбинации с другими цитостатическими агентами.

Фолликулярная лимфома

Современным стандартам лечения и вопросам терапевтической стратегии на будущее при фолликулярных лимфомах было посвящено выступление **A. Hagenbeek** из университетской клиники Амстердама (Нидерланды). Докладчик сразу отметил, что когда речь идет о фолликулярной лимфоме, то он имеет в виду только I–II цитологический тип опухоли по клеточному составу.

Автор дал подробный анализ лечебных подходов при фолликулярных лимфомах в историческом аспекте с отражением эволюции взглядов на протяжении последних 40 лет. Докладчик неоднократно подчеркивал, что при фолликулярных лимфомах проводилось и проводится большое число крупномасштабных международных рандомизированных исследований различными исследовательскими группами в США, Европе и Австралии (ECOG, SAKK, EORTC, GLSG, LYM-5, PRIMA, MAXIMA и др.). С учетом результатов этих исследований в Гол-

ландии, точнее — в Амстердаме, сформулирован консенсусный алгоритм лечения при фолликулярной лимфоме, который поддерживается не всеми гематологами даже в пределах собственной страны.

Алгоритм лечения фолликулярной лимфомы (Амстердам, 2008)

Первая линия:

- Ритуксимаб + химиотерапия.
- «Наблюдай и жди» → R-CVP, всего 8 курсов (FLIPI 0–2).
- R-CHOP, всего 8 курсов (FLIPI 3–5).

Вторая линия:

- Ритуксимаб с другими методами полихимиотерапии с учетом отсутствия перекрестной резистентности.
- Поддерживающее лечение ритуксимабом — максимально в течение 2 лет.

Рефрактерное течение и повторные рецидивы:

- Радиоиммунотерапия (Зевалин).
- Аллогенная трансплантация.
- Новые моноклональные антитела в рамках клинических исследований.

Диффузная В-крупноклеточная лимфома

Этот наиболее частый вариант неходжкинской лимфомы взрослых обсуждался в выступлениях двух докладчиков: профессора **H. K. Muller-Hermelink** (Германия) и профессора **C. Gisselbrecht** из госпиталя Saint Louis (Париж, Франция).

Первый докладчик обратил особое внимание на чрезвычайную клиническую и биологическую гетерогенность ДВКЛ, которая в структуре всех неходжкинских лимфом взрослых составляет 30–40%. ДВКЛ — самая частая причина летальности в онкогематологии (около 50%).

H. K. Muller-Hermelink вновь заострил внимание на различных подтипах ДВКЛ, других вариантах В-крупноклеточных лимфом и пограничных состояниях (borderline cases). Кроме того, представил морфологические варианты (центробластный, иммунобластный, анапластический), молекулярные (фолликулярный/GCB-подобный и постфолликулярный/ABC-подобный типы) и иммуногистохимические (CD5-позитивная, GCB-подобный, не-GCB-подобный) подтипы. Следует отметить, что впервые молекулярные подгруппы ДВКЛ были обозначены в результате исследований профиля экспрессии генов с использованием технологии микрочипов.

ДВКЛ GCB-типа может характеризоваться транслокацией t(14;18) с повышенной продукцией антиапоптотического белка BCL-2, а ABC-тип — активацией генов семейства NF-κB. Выделение молекулярных подвариантов ДВКЛ имеет клиническое прогностическое значение, поскольку показатели 5-летней общей выживаемости различаются и составляют 60 и 35% соответственно.

В результате изучения профиля экспрессии генов выделен самостоятельный клинический вариант ДВКЛ — первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома, которая имеет свои иммуноморфологические, дифференциально-диагностические и клинические особенности.

Учитывая, что исследование профиля экспрессии генов с помощью микрочипов является пока еще слишком дорогостоящим и трудоемким, для внедрения в широкую клиническую практику найдены суррогатные иммуногистохимические маркеры, которые позволяют с большей долей вероятности идентифицировать молекулярные подтипы ДВКЛ (алгоритм Hans). К ним относятся CD10, BCL-6 и MUM1. Мы позволили себе не перечислять множество биологических маркеров, которые в настоящее время активно изучаются с точки зрения их прогностического значения при ДВКЛ.

Лекция профессора **C. Gisselbrecht** посвящена лимфомам с плохим прогнозом и обсуждению места ТГСК при них. К агрессивным неходжкинским лимфомам с В-фенотипом относятся все морфологические варианты ДВКЛ, включая первичную медиастинальную, а также другие варианты В-лимфом высокой степени злокачественности. Основу агрессивных лимфом с Т/НК-фенотипом составляют крупноклеточные анапластические с Т/0-фенотипом, а также периферические Т- или НК-клеточные — ангиоиммунобластная, неспецифицированная, экстранодальные и др.

Докладчик особо остановился на трех группах факторов, ассоциированных с плохим прогнозом при агрессивных лимфомах:

- клинические (В-симптомы, поражение костного мозга, большой объем опухоли — более 10 см, β₂-микроглобулин выше нормальных значений, плохой ответ/частичная ремиссия, ПЭТ +, рецидивы);
- параметры IPI (возраст, общее состояние, стадии, экстранодальные очаги, ЛДГ);
- молекулярные (профиль экспрессии генов/алгоритм Hans,

Т-клеточный иммунофенотип, пролиферативный индекс по экспрессии Ki-67, экспрессия Bcl-2, мутация p53).

Уделено внимание использованию современных методов обследования больных, в частности позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ). Обсуждался вопрос о проведении ПЭТ до начала лечения, после 2 и 4 циклов химиотерапии независимо от варианта агрессивной лимфомы. ПЭТ до начала лечения имеет важное значение для определения степени распространенности опухолевого процесса, т. е. стадии заболевания. ПЭТ на различных этапах лечения при крупноклеточных лимфомах позволяет прогнозировать не только непосредственные, но и отдаленные результаты лечения. Они хуже при ПЭТ-положительных клинических ситуациях вне зависимости от метода лекарственного противоопухолевого воздействия, о чем свидетельствовали представленные кривые выживаемости немногочисленных групп больных.

В докладе представлены результаты лечения по французскому протоколу 330 больных с агрессивными В- или Т-клеточными лимфомами. Протокол был начат в 1987 г. Проводилось 4 цикла ACVBP (доксорубин, циклофосфан, винкристин, вепезид, преднизолон) с интервалом 2 нед. При достижении полной ремиссии — высокодозная химиотерапия с целью консолидации с последующей аутологичной ТГСК.

Что изучили и что имеет важное клиническое значение?

- Качество ответа после первой линии терапии.
- Характер (тип) терапии.
- Длительность (сроки) лечения до трансплантации.
- Отбор больных в группы в соответствии с критериями IPI.

У больных с В-клеточными агрессивными лимфомами (IPI 2–3) до эры ритуксимаба результаты лечения по протоколу, предполагавшему высокодозный этап с аутологичной трансплантацией, признаны хорошими. В тех случаях, когда высокодозная химиотерапия с аутологичной ТГСК не проводилась, 5-летние показатели общей и бессобытийной выживаемости (OS и EFS) составили 72 и 63% соответственно. У больных с аутологичной ТГСК к 10-летнему сроку на кривых достигнуто плато.

Признается, что в эпоху ритуксимаба международная прогностическая модель IPI сохраняет свое значение

при формировании клинических групп риска. Однако у молодых пациентов с высоким риском по IPI R-СНОР-21 не может служить «золотым стандартом» лечения.

В эпоху ритуксимаба важное значение придается улучшению отдаленных результатов лечения у молодых больных ДВКЛ с неблагоприятным прогнозом (aaIPI 2–3). С этой целью предлагаются различные варианты интенсификации лечения, высокодозная химиотерапия с аутологичной трансплантацией, адекватная оценка результатов ПЭТ-контроля на различных этапах лечения и т. д. Именно для этой (aaIPI 2–3/IPI 2–3) наиболее сложной в прогностическом отношении категории больных ДВКЛ до 65 лет французской группой GELA предложено два протокола лечения. Основу протоколов составляет индукционный этап с использованием 4 циклов ABCVP и высокодозная химиотерапия с последующей аутологичной ТГСК. В одном протоколе ритуксимаб используется в поддерживающем режиме только после трансплантации (4 введения препарата в течение 2 мес.), в другом — только на этапе индукции — R-ACVBP, всего 4 курса.

Общее заключение по этим протоколам можно сформулировать следующим образом: добавление ритуксимаба на любом этапе лечения дает преимущества практически по всем клиническим параметрам (общая эффективность, полные ремиссии, время до прогрессирования, длительность ответа, показатели общей и бессобытийной выживаемости).

В 2007 г. исследовательской группой GELA начат новый проект по оценке эффективности R-СНОР-14 и R-ACVBP-14 при ДВКЛ (aaIPI 2–3/IPI 2–3). В рамках этого протокола предполагается существенная коррекция лечения у ПЭТ-положительных больных после 2 циклов иммунохимиотерапии. В эпоху ритуксимаба для лечения рецидивов ДВКЛ разработаны специальные протоколы, например NOVON-44, CORAL.

Первичная медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома

Опыт лечения первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомы (ПМВКЛ) в отделении химиотерапии гемобластозов ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН представлен ведущим научным сотрудником отделения д-ром мед. наук **Г. С. Тумян**. Обобщены собственные данные по лечению 33 больных ПМВКЛ по 12-недельной

программе MASOP-B ± R + лучевая терапия на область средостения. Полученные непосредственные и отдаленные результаты лечения оказались вполне сопоставимыми с мировыми данными. Обращала на себя внимание

высокая частота инфекционных осложнений, что в ряде случаев послужило причиной перерыва в противоопухолевом лечении. В связи с высокой частотой инфекций изменен дозовый режим назначения преднизолона.

На конференции отдельные заседания были посвящены обсуждению морфологических и клинических аспектов реактивных лимфаденопатий, а также современных подходов к лечению множественной миеломы.

ВТОРАЯ МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТОК У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ» (Санкт-Петербург)

Подготовлено канд. мед. наук Е. И. Дарской

20–22 сентября 2008 г. в Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. акад. И. П. Павлова состоялась международная конференция, посвященная наиболее актуальным вопросам трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) у детей и взрослых. В конференции приняли участие ведущие специалисты мира и Российской Федерации.

На сессии, посвященной лечению острых лейкозов и хронического миелолейкоза, выступил **Томас Бюхнер** (Мюнстер, Германия) с докладом о лечении острых миелобластных лейкозов. Первая часть доклада была посвящена результатам лечения детей и молодых больных по протоколам: AML-BFM 78, AML-BFM 83, AML-BFM 87, AML-BFM 93. Протоколы AML-BFM 87, AML-BFM 93 отличаются от более ранних протоколов меньшей цитотоксической нагрузкой в фазе индукции ремиссии, но более интенсивной консолидацией ремиссии, а именно введением одного или двух курсов высоких доз цитарабина. Показано увеличение 10-летней безрецидивной выживаемости пациентов, лечившихся по протоколам AML-BFM 87 (44%) и AML-BFM 93 (54%), по сравнению с протоколами AML-BFM 78 (36%), AML-BFM 83 (38%). Была продемонстрирована разница в безрецидивной выживаемости пациентов, получавших терапию по протоколам AML-BFM, в зависимости от возраста пациентов: 5-летняя выживаемость пациентов моложе 2 лет составляла 42%, от 2 до 13 лет — 53%, от 13 до 21 года — 45%; у пациентов от 21 до 30 лет 5-летняя безрецидивная выживаемость составила только 30%. Профессор Бюхнер подчеркнул, что возраст является независимым и очень важным фактором, определяющим эффективность терапии.

У взрослых пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) и благоприятным кариотипом [t(8;21); inv16, t(15;17)] в возрасте от 16 до 59 лет на

фоне терапии по немецким протоколам (TAD-NAM, NAM-NAM) общая 5-летняя выживаемость составила 60%, тогда как в старшей возрастной группе (60 лет и старше) — только 20%; не было показано различия в выживаемости у пациентов с неблагоприятным кариотипом [наличие комплексных поломок, del(5q), abn 3q, -7, t(9;22)] в зависимости от возраста. Отмечено улучшение безрецидивной выживаемости у взрослых пациентов с ОМЛ и комплексными цитогенетическими поломками, перенесших аллогенную ТГСК, по сравнению с группой больных, получивших стандартную терапию (60 и 40% соответственно). Вместе с тем протокол AML-BFM 98 не показал преимущества аллогенной трансплантации, выполненной в первой ремиссии, у детей группы высокого риска.

Часть доклада профессора Бюхнера была посвящена результатам протокола AMLCG99. В качестве индукции ремиссии использовались схемы TAD-TAD, TAD-NAM с одним курсом консолидации ремиссии по схеме TAD, в последующем пациенты были рандомизированы на группы: стандартная поддерживающая терапия, аллогенная ТГСК или аутологичная ТГСК. Данный протокол продемонстрировал улучшение как общей, так и безрецидивной выживаемости в группе взрослых пациентов с аллогенной от полностью совместимого донора ТГСК по сравнению с контрольной группой (без ТГСК). Большое внимание было уделено и прогностическим цитогенетическим и молекулярно-биологическим маркерам, определяющим группы прогноза и необходимость поиска адекватной терапии для различных групп, а именно мутационному статусу генов *FLT-3-LM* и *NPM1*.

О. В. Алейникова (Белоруссия) выступила с докладом, посвященным терапии острых миелобластных лейкозов у детей. Проанализированы результаты терапии по протоколу AML-MM-2000. В протоколе предусмотрена

двойная интенсивная индукционная терапия для пациентов с inv(16) и консолидация ремиссии цитарабином в высоких дозах с последующей ТГСК для групп промежуточного прогноза. Показаны различия в выживаемости детей в соответствии с прогностическими группами: в группе благоприятного прогноза 5-летняя общая выживаемость составила 80%, безрецидивная — 65%; в группе неблагоприятного прогноза и высокого риска рецидива — 45 и 40% соответственно. Показана лучшая выживаемость у детей с транслокацией хромосомы 16 по сравнению с t(8;21), лучшая выживаемость при t(8;21) с потерей Y/X по сравнению с t(8;21) в сочетании с другими абберациями. Профессором О. В. Алейниковой также были приведены предварительные результаты протокола AML-MM-2006.

Рудигер Хелманн (Гейдельберг, Германия) выступил с докладом, посвященным терапии хронического миелолейкоза (ХМЛ) и результатам исследования Европейской группы по изучению лейкоза (ELN-European Leukemia Net). Подтверждено преимущество иматиниба в качестве терапии первой линии по сравнению с терапией гидроксимочевинной и реафероном, продемонстрирована эффективность терапии иматинибом в качестве первой линии и проанализирована частота резистентности к нему в зависимости от стадии ХМЛ. Определена роль трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: ТГСК у больных ХМЛ показана в качестве второй линии терапии, в качестве первой линии терапии ТГСК может обсуждаться по индивидуальным или экономическим показаниям. Часть доклада была посвящена роли дазатиниба и нилотиниба в терапии пациентов, резистентных к иматинибу; 18-месячная выживаемость больных в хронической стадии при терапии дазатинибом составила 96%. Приведены данные об эффективности дазатиниба при бластном кризе ХМЛ: медиана

беспрогрессивной выживаемости при миелоидном варианте бластного криза равнялась 6,7 мес., при лимфобластном варианте была меньше и составила 3 мес. Приведены данные о появлении новых мутаций, возникающих на фоне применения нилотиниба и дазати-ниба, и даны рекомендации по тактике ведения пациентов: при мутации T315I, резистентной к препаратам, возможна трансплантация костного мозга, у пациентов с мутацией E255V/K требуется повышение дозы препаратов.

Профессор **В. Г. Савченко** сделал доклад, посвященный мониторингу минимальной остаточной болезни (МОБ) и химеризма в лечении различных онкогематологических заболеваний. Показано, что наличие смешанного химеризма через 12 мес. после аллогенной трансплантации связано с высоким риском рецидива при остром лейкозе и миелодиспластическом синдроме (МДС), при ХМЛ подобная тенденция не отмечена. Риск рецидива после аллогенной трансплантации связан не только с химеризмом, но и с наличием МОБ: у пациентов с полным химеризмом и отсутствием маркеров МОБ рецидив не развивался. Однако у больных острым лейкозом на фоне смешанного химеризма и наличия МОБ развивался рецидив в 100% случаев, тогда как у пациентов, страдающих ХМЛ со смешанным химеризмом, но без признаков МОБ, рецидив не развивался.

На сессии, посвященной трансплантации гемопоэтических клеток, выступил профессор **Б. В. Афанасьев** (СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова) с докладом «Аллогенная трансплантация ГСК как «терапия спасения» у больных с резистентными и рецидивирующими онкогематологическими заболеваниями». Показаны следующие результаты: 5-летняя общая выживаемость пациентов при терапии «спасения» после аллогенной ТГСК достигает 24%, после неродственных HLA-совместимых ТГСК — 26%, на фоне немиелоаблативных режимов — 20%, после миелоаблативных режимов кондиционирования — 26%. Общая выживаемость при родственной и неродственной ТГСК сравнительно одинакова: через 6 мес. после аллогенной трансплантации в качестве терапии «спасения» — 56 и 58% соответственно. При гаплоидентичных ТГСК 6-месячная выживаемость была значительно выше (70%), хотя эта разница исчезала через 12 мес. и общая выживаемость равнялась 35% независимо от вида трансплантации. Показана разница в выживаемости между детьми и взрослыми: 3-летняя общая выживаемость детей равнялась

29%, у взрослых — 15%. При сравнении эффективности терапии в зависимости от заболевания наилучший ответ был получен у больных с ОМЛ по сравнению с ОЛЛ и ХМЛ в фазе бластного криза (общая 2-летняя выживаемость 40, 30 и 10% соответственно). Большое внимание в докладе профессора **Б. В. Афанасьева** уделено применению мезенхимных стволовых клеток в качестве модуляторов иммунного ответа, профилактики и лечения острой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Показано увеличение общей выживаемости у пациентов, страдающих острым миелобластным лейкозом, при использовании котрансплантации аллогенных ГСК и мезенхимных клеток по сравнению с трансплантацией только аллогенных ГСК: общая 3-летняя выживаемость составила соответственно 56 и 32%.

На сессии, посвященной проблемам лечения острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), выступила **Кристина Петерс** (Вена, Австрия) с докладом об эффективности терапии по протоколу ALL SZT BFM 2003. Предложен новый алгоритм показаний к аллогенной трансплантации костного мозга у детей с ОЛЛ в первой ремиссии.

1. При отсутствии ответа на терапию на 33-й день при ОЛЛ с t(9;22) и наличием МОБ на +77-й день (10^{-2} лейкозных клеток и более) показана трансплантация от HLA-совместимого сиблинга (12/12) или от донора с совместимостью 6 из 6 либо при меньшей совместимости по антигенам системы гистосовместимости.

2. При наличии МОБ на +77-й день (10^{-3} лейкозных клеток и более) и t(4;11) трансплантация в первой ремиссии показана от полностью совместимого по 12 локусам сиблинга или при наличии донора, совместимого по 6 локусам и более.

3. У детей без признаков МОБ при про-В-ОЛЛ, Т-ОЛЛ, лейкоцитозе на момент диагностики более 100 000 или с t(9;22) трансплантация в первой ремиссии показана от полностью совместимого по 12 локусам сиблинга или при наличии донора, совместимого по 6 локусам и более.

Трансплантацию во второй и последующих ремиссиях при ОЛЛ предложено проводить у детей:

- группы очень высокого риска (все Т-ОЛЛ или при наличии раннего рецидива при не-Т-ОЛЛ): показана трансплантация от HLA-совместимого сиблинга (12/12) или от донора с совместимостью 6 из 6 либо при меньшей совместимости;
- группы высокого риска (t(9;22),

изолированный рецидив с двусторонним поражением яичек, изолированный костномозговой рецидив и при наличии МОБ более 10^{-3} лейкозных клеток): трансплантация во второй ремиссии показана от полностью совместимого по 12 локусам сиблинга или при наличии донора, совместимого по 6 локусам и более.

Предложен алгоритм выбора режимов кондиционирования и иммуносупрессии в зависимости от совместимости донора и реципиента.

Проанализирована выживаемость после аллогенной ТГСК в зависимости от степени совместимости донора и реципиента: наилучшая выживаемость наблюдалась при трансплантациях от полностью (12/12) совместимого сиблинга или при наличии совместимости по 6 локусам и более (3-летняя общая выживаемость — 84%). При использовании донора, совместимого менее чем по 6 антигенам, общая 3-летняя выживаемость составила 36%.

Анжела Томас (Эдинбург, Великобритания) выступила с докладом «Острые лимфобластные лейкозы у детей. Мониторинг минимальной остаточной болезни и терапия». Доклад был посвящен прогностическим факторам:

- группа стандартного риска: возраст от 1 до 10 лет, лейкоцитоз на момент диагностики менее 50 000, быстрый ранний ответ на терапию;
- группа промежуточного риска: возраст от 10 до 25 лет, лейкоцитоз более 50 000, быстрый ранний ответ на терапию;
- группа высокого риска: медленный ответ на терапию, неблагоприятные цитогенетические поломки (*BCR-ABL*, гиподиплоидия (< 44 хромосом), реанжировка *MLL*-гена, *iAMP21 (RUNX1)*).

В докладе показана недостаточность терапии, основанной только на общепринятых прогностических факторах, и необходимость коррекции протоколов лечения, исходя из мониторинга МОБ.

Доклад профессора **Л. Г. Федчиной** (Екатеринбург) «Новая стратегия лечения детей с ОЛЛ» был посвящен эффективности комбинации цитостатической терапии и дифференцировочных факторов (АТРА) при лечении ОЛЛ у детей, предварительные результаты требуют дальнейших исследований.

С интересным докладом, посвященным адоптивной иммунотерапии и открывающим новые перспективы в лечении пациентов, выступил профессор **Ханс-Июхим Кольб** (Мюнхен, Герма-

ния). При сравнении эффективности использования донорских лимфоцитов с целью профилактики рецидивов в зависимости от заболевания показана наибольшая эффективность данной терапии при ХМЛ (общая 5-летняя выживаемость — 60%), достаточно высокая эффективность при множественной миеломе (5-летняя выживаемость — 50%); при ОМЛ и МДС эффективность иммуноадоптивной терапии была значительно меньше (20%); при ОЛЛ показана наименьшая эффективность данной терапии (3-летняя выживаемость — 0%). Использование режима кондиционирования FLAMSA (немиелоаблативный режим кондиционирования, включающий флударабин, цитарабин, амсаксан, тотальное облучение тела, эндоксан) с последующей аллогенной ТГСК и введением донорских лимфоцитов с профилактической целью с 120-го дня после трансплантации в режиме с эскалацией дозы Т-лимфоцитов при ОМЛ повышает общую 10-летнюю выживаемость пациентов до 90% по сравнению с 20% в контрольной группе (без введения донорских лимфоцитов), безрецидивную выживаемость до 80% по сравнению с 40%. Большое внимание в докладе было уделено патогенезу хронической РТПХ и толерантности, а также патогенезу реакции «трансплантат против лейкоза». В качестве терапии рецидивов ОМЛ после аллогенной трансплантации показана наибольшая эффективность введения высоких доз цитарабина с последующим повторным введением ГСК + КСФ и донорских лимфоцитов по сравнению с монотерапией Т-лимфоцитами или цитостатической терапией. В докладе освещены вопросы гаплоидентичной трансплантации и использования НК-клеток при различных заболеваниях.

Хуанг Ксяоджун (Пекин, Китай) выступил с докладом «Инфузии донорских лимфоцитов в качестве профилактики и лечения рецидивов после гаплоидентичных трансплантаций ГСК без Т-деплеции». С 2001 г. в Пекинском институте гематологии проводится гаплоидентичная трансплантация ГСК, к настоящему времени сделано около 218 гаплоидентичных ТГСК, приживление трансплантата наблюдается в среднем на 12-й день, восстановление тромбоцитов — на 15-й день. Острая РТПХ I степени наблюдалась у 19,6% пациентов, II степени — у 35,6%, III степени — у 4,4%, IV степени — у 6% пациентов. Развитие РТПХ III и IV степени не было связано с возрастом и полом больных, количеством мононуклеаров и Т-клеток в трансплантате, стадией болезни, степени HLA-несовместимости. Показана

возможность использования гаплоидентичных ТГСК без Т-деплеции для лечения больных с онкогематологическими заболеваниями, не имеющих совместимого донора. Основной проблемой в терапии гематологических заболеваний являются рецидивы. Инфузии донорских лимфоцитов могут с успехом использоваться для лечения рецидивов после аллогенных ТГСК, однако при стандартном режиме введения донорских лимфоцитов наблюдается значительное количество таких осложнений, как развитие острой РТПХ и цитопении.

На сессии, посвященной проблеме терапии множественной миеломы (ММ), с докладами выступили ведущие специалисты мирового уровня. Профессор **Йон Борсет** сделал доклад, посвященный вопросам патогенеза ММ.

Барт Барлоги (США) выступил с докладом «Излечение множественной миеломы с использованием терапии по программе TOTAL THERAPY».

Показано улучшение общей и безрецидивной выживаемости на программе TOTAL THERAPY III по сравнению с программами TOTAL THERAPY I и II (90, 70 и 55% соответственно для общей выживаемости и 90, 55, 30% — для бессобытийной выживаемости). Программа TOTAL THERAPY III отличается большей интенсивностью, в качестве поддерживающей терапии после аутологичной ТГСК проводятся курсы химиотерапии. Показано улучшение результатов терапии больных с t(4;14) при использовании TOTAL THERAPY III. Высказано мнение, что бортезомиб-индуцированная супрессия гена *MAG1* ухудшает результаты терапии. Выводы, сделанные в докладе профессора Барлоги, звучат очень обнадеживающе:

- излечение ММ возможно (более 50% излечения на программе TOTAL THERAPY III);
- бортезомиб изменил перспективы терапии ММ в некоторых подгруппах пациентов с t(4;14) и делецией TP 53;
- необходим дифференцированный подход в зависимости от группы риска.

Профессор **Аксель Цандер** в своем докладе «Роль аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в терапии множественной миеломы» сообщил о возможности достижения молекулярных ремиссий у 50% пациентов после аллогенной ТГСК по сравнению с 7–16% после аутологичной ТГСК. Однако для достижения лучших результатов необходим мониторинг МОБ после аллогенной ТГСК: при отсутствии МОБ риск

рецидива равняется 0, при сохранении ПЦР-маркеров МОБ риск рецидива ММ достигает 100%. Смертность, связанная с аллогенной ТГСК, различна в зависимости от режимов кондиционирования: при применении миелоаблативных режимов кондиционирования — 40%, немиелоаблативных режимов — 20–25%. Вместе с тем частота рецидивов возрастает при использовании немиелоаблативных режимов до 40% по сравнению с 20% на фоне миелоаблативных режимов. Эффективность аллогенной трансплантации была выше, если ТГСК была сделана в сохраняющейся после аутологичной трансплантации фазе плато, а не в рецидиве болезни. Подробно изложена тактика ведения пациентов после аллогенной трансплантации в зависимости от результатов мониторинга МОБ, эффективность инфузии донорских лимфоцитов.

Руту Тапани (Финляндия) сделал подробный доклад, посвященный такому малозученному осложнению, как тромботическая тромбоцитопеническая пурпура (ТТП) (тромботическая микроангиопатия, связанная с ТГСК). Важность своевременной диагностики и начала терапии определяется чрезвычайно высокой смертностью от данного осложнения (80%). Отличительными чертами приобретенной ТТП являются следующие факторы: отсутствие значимого дефекта гена *ADAMTS13*, системное формирование микротромбов, неэффективность плазмафереза. Частота развития ТТП, связанной с ТГСК, колеблется от 1,6 до 76% после аллогенной трансплантации и от 0 до 27% после аутологичной ТГСК. Риск развития ТТП повышается при неродственных ТГСК по сравнению с ТГСК от HLA-идентичных сиблингов, а также у женщин по сравнению с мужчинами. Патогенез развития ТТП до конца не изучен, основным фактором является поражение эндотелия вследствие цитостатического воздействия, инфекций, иммуносупрессивных препаратов (циклоспорин, такролимус, сиролимус), РТПХ. Основными критериями, подтверждающими развитие этого осложнения, являются фрагментация эритроцитов (более 2–4%), повышение активности ЛДГ, развитие почечной или неврологической недостаточности, негативный прямой и непрямой тесты Кумбса, прогрессирующая тромбоцитопения и анемия. Летальность составляет 61%. Эффективного лечения в настоящее время нет; применяется дефибротид, ритуксимаб, даклизумаб.

МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «ХМЛ: ПРИНЯТИЕ КЛИНИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ»

Подготовлено Н. В. Медведевой

8 октября 2008 г в Москве состоялась Международная научно-практическая конференция, посвященная современным подходам к терапии хронического миелолейкоза. С обзором основных направлений научных исследований и их результатами выступили ведущие российские и зарубежные специалисты: М. Соретан (Австралия), А. Ю. Заричкий (Санкт-Петербург), А. Г. Туркина (Москва), G. Rosti, G. Saglio (Италия).

Ниже мы кратко познакомим читателей с основными положениями, прозвучавшими в сообщениях и развернувшейся дискуссии.

Внедрение таргетных механизмов воздействия на патологический процесс за 8 лет нового века изменило представление о целях терапии хронического миелолейкоза (ХМЛ). 6-летний анализ результатов международного рандомизированного исследования IRIS, в котором сравнивали комбинацию интерферона- α и цитарабина с ингибитором тирозинкиназ I поколения иматинибом (Гливек), продемонстрировал, что у пациентов с впервые выявленным ХМЛ в хронической фазе (ХФ) продолжительное лечение иматинибом обладает благоприятным профилем безопасности, обеспечивает высокую частоту достижения стойких ответов и значительное снижение вероятности развития рецидивов.

Приведены отдаленные результаты исследования IRIS, демонстрирующие минимальный риск позднего рецидива. Показано, что таргетная терапия переносима (менее 5% больших проявлений токсичности), а рецидивы чаще возникают у пациентов, которым требуются снижение дозы или перерывы в терапии. По результатам 6-летнего наблюдения в исследовании IRIS 82% пациентов, получающих терапию иматинибом, достигли полного цитогенетического ответа (ПЦО), 76% пациентов, у которых хоть раз получен ПЦО, сохраняли его. Ответы на терапию были стойкими, общая 6-летняя выживаемость составила 88%, а ежегодный риск прогрессии снижался со временем.

Оптимизация дозы иматиниба

Главными вопросами эффективности являются степень и время достижения ответа на терапию иматинибом. Лучший прогностический фактор

для каждого отдельного пациента — это степень достигнутого ответа. Факт достижения ПЦО при терапии иматинибом (независимо от времени) ассоциирован с длительной безрецидивной ремиссией, а недостижение ПЦО — с плохим прогнозом в отношении сохранения ХФ и долгосрочной выживаемости. Отмечено, что раннее достижение ПЦО не всегда влияет на прогноз. Подчеркнуто, что бывают поздно ответившие пациенты и что позднее достижение ПЦО необязательно является прогностически неблагоприятным фактором долгосрочного результата лечения.

Обсуждалась значимость дозы для эффективности и переносимости препарата. В случае отсутствия ответа на иматиниб, прежде чем назначать ингибиторы II поколения, важно убедиться, что пациент соблюдает назначенный режим терапии, а также исключить влияние других лекарств, которые он получает. Результаты исследований показывают, что повышение дозы иматиниба до 600–800 мг/сут индуцирует при ХМЛ более быстрый ответ, чем при дозе 400 мг/сут, а прием иматиниба в дозе менее 400 мг/сут сопряжен с более высоким риском прогрессии ХМЛ в течение первых 2 лет терапии. Планируя терапевтическую тактику, необходимо принимать во внимание, что некоторые мутантные формы BCR-ABL-киназы чувствительны к более высоким дозам иматиниба и ответ может быть получен путем повышения дозы без перехода на ингибиторы BCR-ABL-тирозинкиназы II поколения. При отсутствии большого цитогенетического ответа к 18 мес. терапии рекомендуется увеличение дозы иматиниба, и от того, как рано это будет сделано, зависит вероятность достижения ПЦО.

При субоптимальном ответе на терапию иматинибом в дозе 400 мг/сут рекомендуется контроль концентрации иматиниба в сыворотке и проведение мутационного анализа с последующим увеличением дозы до 600–800 мг/сут при необходимости. В качестве альтернативы можно начать лечение с 800 мг/сут и снижать дозу в случае возникновения токсичности III–IV степени. При неудаче необходимо планировать переход на ингибиторы тирозинкиназы II поколения. Обсуждая будущее терапии ХМЛ, участники конференции согласились с тем, что несмотря

на предполагаемую более высокую эффективность применения в первой линии терапии ингибиторов BCR-ABL-тирозинкиназы II поколения, в первую очередь необходимо учитывать доказанную безопасность и эффективность иматиниба.

Мониторинг и интерпретация результатов молекулярного ответа при ХМЛ

Возникновение резистентности в большинстве случаев обусловлено мутациями гена BCR-ABL или его амплификацией, что приводит к потере способности ингибирования BCR-ABL-тирозинкиназы иматинибом. Мутации при первичной резистентности к иматинибу выявляются в 30% случаев, а при потере ответа на терапию — в 60%. Частота мутаций зависит от фазы и времени начала терапии. Так, у пациентов в ХФ, получающих иматиниб в качестве первой линии терапии, мутации ABL-киназного домена встречаются в 20% случаев, после неудачи терапии интерфероном — в 35%, а в фазе акселерации/бластного криза — в 80% случаев. Наиболее часто выявляемые 7 основных мутаций (в т. ч. T315I) составляют 85% всех мутаций, ассоциированных с резистентностью к иматинибу.

Мониторинг ответа при ХМЛ проводится на нескольких уровнях — от констатации гематологической ремиссии до получения большого молекулярного ответа (БМО) и ПЦР-негативности (3–4 log редукции лейкозных клеток).

По данным исследования IRIS, оптимальным является получение гематологического ответа через 3 мес. терапии, большого цитогенетического ответа (менее 35% клеток Ph+) — через 6 мес. и ПЦО (нет клеток Ph+) — через 12 мес.

Наиболее важный прогностический параметр, исследуемый у пациентов с ХМЛ, — цитогенетический ответ при традиционном цитогенетическом исследовании с анализом 20 метафаз. Однако в исследовании IRIS показано, что выживаемость без прогрессии зависит от молекулярного ответа. Подтвердилось предположение о том, что БМО (снижение BCR-ABL более чем на 3 log) является ранним предвестником благоприятного прогноза. Увеличение BCR-ABL-транскрипта после

периода его отсутствия может предсказать возникновение резистентных клонов, часто обусловленных наличием мутаций *BCR-ABL*.

Нилотиниб в хронической фазе ХМЛ

Нилотиниб — мощный, рационально смоделированный ингибитор *BCR-ABL*-тирозинкиназы, способный связывается с *ABL* с высокой степенью аффинности. Ингибирует большинство иматиниб-резистентных мутировавших форм *BCR-ABL* (исключая мутации T315I и Y253H). Зарегистрирован более чем в 45 странах для применения у пациентов в ХФ и ФА (фаза акселерации) ХМЛ, резистентных к предшествующей терапии (включая иматиниб) или не переносящих ее.

Резистентность к иматинибу определялась как отсутствие полного гематологического ответа (ПГО) при лечении в течение более 3 мес. либо отсутствие минимального цитогенетического ответа через 6 мес., большого цитогенетического ответа (БЦО) после 12 мес. лечения, а также при потере ПГО или БЦО при терапии иматинибом в дозе не менее 600 мг/сут в течение 4 нед. Под непереносимостью иматиниба подразумевали необходимость отмены препарата в связи с развитием побочных эффектов III–IV степени, а также при повторном (более 3 раз) возникновении побочных эффектов II степени.

Высокая активность нилотиниба у пациентов в ХФ ХМЛ после неудачи терапии иматинибом подтверждена данными Н. М. Kantarjian и соавт. (2008): ПГО получен у 77% пациентов, БЦО — у 58%, ПЦО — у 42%, а выживаемость к 18 мес. терапии составила 91%. Препарат отличается хорошей переносимостью с минимальным (менее 1–2%) количеством нежелательных явлений III–IV степени.

Нилотиниб в фазе акселерации ХМЛ

Приведены результаты работ Ph. le Coutre et соавт. (2007) и G. Saglio и соавт. (2007) о применении нилотиниба в случае развития резистентности к иматинибу. Под резистентностью понималось либо прогрессирование заболевания из ХФ в ФА, либо у пациентов в ФА увеличение количества лейкоцитов, бластов, базофилов или тромбоцитов более чем на 50%, а также отсутствие гематологического ответа после 4 нед. терапии иматинибом в дозе не менее 600 мг/сут. Дополнительно учитывались пациенты, получавшие иматиниб в дозе менее 600 мг/сут, при любой из следующих мутаций: L248, G250, Q252, Y253, E255, T315, F317 и H396.

Терапия нилотинибом в ФА приводила к гематологическому ответу у 54% пациентов; БЦО был достигнут в 31% случаев, ПЦО — в 19%. Гематологический ответ и БЦО наступали быстро и сохранялись при длительном наблюдении, а общая выживаемость к 12 мес. терапии составила 81%. Показана хорошая переносимость нилотиниба с низкими значениями миелосупрессии III–IV степени, редкими случаями кровотечений, удлинения интервала QT и задержки жидкости.

При возникновении гематологической токсичности (число нейтрофилов в ХФ менее $1,0 \times 10^9/\text{л}$, в ФА менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$ или тромбоцитов в ХФ менее $50 \times 10^9/\text{л}$, в ФА менее $20 \times 10^9/\text{л}$) требуется приостановить прием нилотиниба. Возобновление приема в дозе 400 мг 2 раза в день возможно в случае восстановления показателей в течение 2 нед. При сохранении цитопении более 2 нед. целесообразно после восстановления показателей начать с дозы 400 мг/сут с возможной последующей эскалацией. При наличии показаний нилотиниб можно применять в комбинации с Г-КСФ, эритропоэтином, гидроксимочевинной или анагрелидом.

Для контроля возможных нежелательных воздействий препарата на гепатопанкреатическую зону рекомендован ежемесячный мониторинг функций печени и активности липазы. В случае повышения активности липазы до III–IV степени, гипербилирубинемии или при иных клинических либо лабораторных проявлениях нарушения функций печени необходимо приостановить прием нилотиниба или понизить дозу до 400 мг 1 раз в день до тех пор, пока вышеуказанные показатели не нормализуются. В последующем возможна повторная попытка эскалации дозы.

Мониторирование ЭКГ необходимо проводить исходно, на 8-й день терапии и далее периодически, в т. ч. при каждом изменении дозировки препарата. При удлинении интервала QT > 480 мс рекомендовано приостановить прием нилотиниба, определить уровень калия и магния в сыворотке крови и скорректировать эти показатели в случае необходимости. Возобновить прием в сниженной дозе 400 мг/сут при уменьшении длительности QT до 450 мс.

Выбор терапии второй линии

Нилотиниб и дазатиниб сопоставимы по эффективности, но различаются по характеру и интенсивности нежелательных явлений. Выбор пре-

парата должен определяться токсичностью. Приведены результаты исследования STARTR, в которое включены 150 пациентов в ХФ ХМЛ с предшествующей неудачей терапии иматинибом в дозе 400 или 600 мг/сут. При сравнении дазатиниба в дозе 70 мг 2 раза в сутки и иматиниба по 400 мг 2 раза в сутки показана эффективность обоих препаратов без очевидных различий по проценту достижения ПГО, ПЦО, БЦО, длительности цитогенетических ответов, общей выживаемости. Однако выявлены различия в токсичности по типу, а также по встречаемости, степени тяжести, длительности, времени возникновения и последствиям отдельных типов токсичности. В случае, когда ответ субоптимален или потерян, в качестве варианта последующей таргетной терапии пациентам с персистирующей гематологической токсичностью, мешающей терапии, рекомендован переход на нилотиниб, обладающий меньшей по сравнению с дазатинибом миелотоксичностью. У пациентов, принимающих иматиниб, с персистирующей негематологической токсичностью, проявляющейся отеками, декомпенсацией сопутствующих заболеваний печени или ЖКТ, прогрессированием сердечной недостаточности, особенно в пожилом возрасте, также целесообразен переход на ингибиторы тирозинкиназы II поколения (нилотиниб или дазатиниб).

Особо обсуждались меры предосторожности при выборе конкретного препарата с учетом профиля токсичности. Оба препарата — дазатиниб и нилотиниб — вызывали удлинение интервала QT > 60 мс от исходного уровня у 1–2% пациентов. Рекомендован контроль ЭКГ до начала терапии и тщательное мониторирование уровня калия и магния. Наличие у пациента артериальной гипертензии, сердечной недостаточности, бронхиальной астмы, хронической обструктивной болезни легких, пневмонии, аутоиммунных заболеваний, прием антикоагулянтов, сведения о кровотечениях из ЖКТ требует большой осторожности при назначении дазатиниба. Кровотечения во время терапии дазатинибом возникли у 23% пациентов. В большинстве случаев они локализовались в ЖКТ и были обусловлены тяжелой тромбоцитопенией. Задержка жидкости тяжелой степени, в т. ч. плевральный и перикардиальный выпоты, повышение систолического давления в правом желудочке возникали при терапии дазатинибом и в большинстве случаев (83%) требовали

перерывов в приеме препарата и назначения диуретиков, кортикостероидов или выполнения торакоцентеза. Главные факторы риска этого осложнения — заболевания сердца в анамнезе, гипертензия, прием препарата

2 раза в сутки. Пациентам с панкреатитом в анамнезе, по мнению G. Sa-glio, не следует назначать нилотиниб в связи с его токсическим влиянием на поджелудочную железу.

В случае выявления мутации

T3151, при неудаче терапии иматинибом пациентов в ФА или бластного криза, а также при неудаче терапии ингибиторами тирозинкиназы II поколения при выборе дальнейшей терапии показана алло-ТГСК.

КОНФЕРЕНЦИЯ «НОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ В ГЕМАТОЛОГИИ»

Подготовила канд. мед. наук Т. Е. Бялик

5–7 октября 2008 г. в г. Болонья (Италия) проходила конференция «Новые препараты в гематологии», посвященная новым препаратам для лечения лимфо- и миелолипролиферативных заболеваний.

Новые препараты для лечения лимфолипролиферативных заболеваний

В течение последних 10 лет используется моноклональное антитело к антигену CD20 (ритуксимаб), что значительно улучшило результаты лечения пациентов с индолентными и агрессивными лимфомами. Остаются открытыми вопросы: какой оптимальный режим поддерживающей терапии при фолликулярной лимфоме; нужна ли поддерживающая терапия при диффузных крупноклеточных лимфомах? Ритуксимаб высокоэффективен в терапии фолликулярной лимфомы, при монотерапии ритуксимабом общий ответ составляет 73%, но часть пациентов нечувствительна к лечению. В ближайшем будущем будут начаты исследования по изучению прогностических факторов, которые помогут определить группы больных с разной чувствительностью к терапии моноклональным антителом к антигену CD20.

У пациентов, страдающих фолликулярной лимфомой, рефрактерных к лечению ритуксимабом или имеющих рецидив, в последнее время широко применяется ⁹⁰Y-ибритумумаб (*Зевалин*).

Многоцентровое рандомизированное исследование, включавшее 143 пациента с рецидивом и рефрактерной формой фолликулярной лимфомы, в котором эффективность Зевалина сравнивалась с ритуксимабом, показало, что общий ответ при применении ⁹⁰Y-ибритумумаба составил 80%, а при лечении ритуксимабом — 56%; полные ремиссии достигнуты в 34 и 20% случаев соответственно. При ретроспективном анализе 211 пациентов с рецидивами неходжкинских лимфом показано, что в первом рецидиве Зевалин более эффективен: полные ремиссии при лечении первого рецидива составили 49 и

28% у больных, получавших ранее более 2 режимов терапии. Применение Зевалина в качестве консолидирующего лечения пациентов с индолентными лимфомами значительно увеличило количество полных ремиссий. 414 пациентов с фолликулярной лимфомой III–IV стадии были рандомизированы на две группы: одна группа получала Зевалин в качестве консолидирующей терапии, а вторая — находилась под наблюдением. В группе больных, получавших Зевалин, полные ремиссии составили 87,4%, а в контрольной группе — 53,3%. У 8 пациентов Зевалин совместно с ритуксимабом применен как первая линия терапии; во всех случаях получен эффект: полные ремиссии — у 5 (62%) больных, частичные ремиссии — у 3 (38%).

В последнее время для лечения хронического лимфолейкоза применяется алемтузумаб, моноклональное антитело к антигену CD52 (*Кэмпас*). В исследовании III фазы 93 пациента, рефрактерные к лечению пуриновыми аналогами, получали Кэмпас в монорежиме; общий эффект был достигнут в 33% случаев, из них 2% полных ремиссий. Это послужило основанием для регистрации Кэмпаса как препарата, рекомендованного для лечения рефрактерных случаев хронического лимфолейкоза.

Применение Кэмпаса в качестве первой линии терапии показало еще большую эффективность: общий ответ составил 83%, из них полных ремиссий — 24%.

Эти данные превосходят результаты используемых ранее препаратов (лейкеран, флударабин, ритуксимаб) в монорежиме; кроме того, алемтузумаб доказал свою эффективность при лечении больных с неблагоприятными прогностическими факторами (наличие хромосомных аномалий 11q и 17p). Использование Кэмпаса в качестве консолидирующей терапии дает улучшение результатов у 50% пациентов. В настоящее время используются разные дозы и режимы — от 10 до 30 мг 3 раза в неделю подкожно или внутривенно, вре-

мя начала консолидирующего лечения варьирует от 2 до 6 мес. Исследование германской группы, включавшее 21 пациента (11 — получали алемтузумаб и 10 — оставлены под наблюдением), было прекращено из-за высокой частоты инфекций, развившихся у больных, получавших алемтузумаб. Однако даже малое количество наблюдений показало улучшение отдаленных результатов. В группе больных, получавших Кэмпас, медиана беспродвижной выживаемости не достигнута, а в группе контроля составила 27,7 мес. Тем не менее необходимо большое рандомизированное исследование для определения эффективности и безопасности препарата, а также определения оптимального выбора времени начала, дозы и режима консолидирующего лечения.

Эпратузумаб — гуманизированное антитело к антигену CD22, применяется для лечения индолентных лимфом и лимфом высокой степени злокачественности. В исследовании I–II фазы изучалась эффективность и переносимая доза препарата: 55 пациентов с рецидивом индолентной лимфомы и 56 — с рецидивом крупноклеточной лимфомы получали Эпратузумаб в дозе 120–1000 мг/м². При лечении лимфом низкой степени злокачественности общий ответ был достигнут в 24% случаев, из них 3% составили полные ремиссии, в случае диффузных крупноклеточных лимфом общий ответ был 15%. Наблюдались хорошая переносимость и отсутствие дозолимитирующей токсичности. Комбинация с ритуксимабом демонстрирует более высокие результаты, чем использование ритуксимаба в монорежиме. 23 пациента с рецидивами индолентной и агрессивной лимфом получали эпратузумаб в дозе 360 мг/м² и ритуксимаб в дозе 375 мг/м². Общий эффект отмечен в 67% случаев. Многоцентровое европейское исследование включало 65 пациентов, имевших рецидив индолентной и агрессивной лимфомы. При лечении лимфомы низкой степени злокачественности общий ответ был получен в 64% случаев, медиана без-

рецидивной выживаемости составила 10,9 мес. При лечении лимфомы высокой степени злокачественности общий ответ достигнут в 47% случаев, медиана безрецидивной выживаемости составила 5,7 мес. Токсичность комбинации (E + R) не превышала количество побочных эффектов, наблюдаемых при лечении только ритуксимабом. У первичных больных эпратузумаб был применен совместно с режимом R-СНОР. 76 больных с диффузной крупноклеточной лимфомой получили лечение по схеме E + R-СНОР, и полные ремиссии были достигнуты в 62% случаев. Токсичность была несколько выше: фебрильная нейтропения III–IV степени отмечалась у 20% больных.

Галиксимаб — химерное антитело к антигену CD80, состоящее из человеческого иммуноглобулина G1 и вариабельного региона иммуноглобулина приматов. Исследование I–II фазы доказало хорошую переносимость и противоопухолевую активность препарата. При использовании галиксимаба в дозе 500 мг/м² 1 раз в неделю, всего 4 инфузии для лечения рецидивов неходжкинских лимфом полные ремиссии были достигнуты в 11% случаев, редукция опухоли — в 49%. При применении галиксимаба совместно с ритуксимабом для лечения рецидивов фолликулярной лимфомы уровень общего ответа достигал 66%, полные ремиссии наблюдались в 33% случаев, медиана безрецидивной выживаемости составила 12,1 мес.

Офтамумаб — первое полностью человеческое антитело к антигену CD20. В многоцентровое исследование было включено 33 пациента с рефрактерным хроническим лимфолейкозом или имеющих рецидив. Все пациенты получили 4 инфузии офтамумаба 1 раз в неделю: 1 инфузия в дозе 500 мг, 3 последующие в дозе 2000 мг. Эффективность данного режима составила 50%, но не было получено полных ремиссий. Инфекции развивались в 51% случаев, большинство (88%) I–II степени. При рецидивах и рефрактерных формах фолликулярной лимфомы изучался дозозависимый эффект. В исследовании было включено 4 группы пациентов (10 человек в каждой), которые получали офтамумаб в дозе 300, 500, 700, 1000 мг. Дозозависимого эффекта отмечено не было, общий ответ составил 20–63% при медиане длительности ответа 29,9 мес.

Люмиксимаб — моноклональное антитело к антигену CD23. CD23 — гликопротеид, который экспрессируется на большинстве зрелых лимфоцитов, составляющих субстрат хроническо-

го лимфолейкоза. Препринципальные исследования применения люмиксимаба в монорежиме 1 или 3 раза в неделю в течение 4 нед. доказали хорошую переносимость и эффективность: снижение уровня лейкоцитов у 91% пациентов, уменьшение размеров лимфоузлов в 51% случаев. Доказан синергизм действия люмиксимаба с ритуксимабом, флударабином и циклофосфаном.

В многоцентровое исследование I–II фазы по изучению безопасности и эффективности люмиксимаба включен 31 пациент с рецидивом хронического лимфолейкоза. Пациенты получали люмиксимаб в дозе 350 или 500 мг/м² совместно с ритуксимабом, флударабином и циклофосфаном (L-RFC). Все больные полностью завершили лечение и получили по 6 курсов химиотерапии. Общий эффект составил 65%, из них полных ремиссий — 52%. Медиана беспродвинутой выживаемости для всех пациентов составила 23,4 мес., а для больных, достигших полной ремиссии, — 30,4 мес. В 74% случаев развивались нежелательные явления III–IV степени.

Зонолимумаб (Золинза) — человеческое моноклональное антитело к антигену CD4. Проведено многоцентровое открытое проспективное исследование безопасности и эффективности золинзы при T-клеточных лимфомах кожи на ранних и продвинутых стадиях. В исследование вошло 38 пациентов с грибовидным микозом и 9 пациентов с синдромом Сезари. Больные получали золинзу в дозе от 280 до 560 мг на ранних стадиях болезни и от 280 до 980 мг — в продвинутых. При оценке результатов отмечался дозозависимый эффект. Общий ответ в группе пациентов с грибовидным микозом, получавших высокие дозы, констатирован в 56% случаев, а у пациентов, получавших золинзу в дозе 280 мг, — в 15%. В группе пациентов с синдромом Сезари, получавших высокие дозы, общая эффективность была 20%, при применении низких доз — 25%, но длительность эффекта при использовании золинзы в дозе 980 мг составила 61 нед., а при дозе 280 мг — только 8 нед. В настоящее время открыто клиническое исследование III фазы для пациентов с грибовидным микозом и синдромом Сезари, рефрактерных к стандартной терапии, где золинза будет применяться в дозе 14 мг/кг 1 раз в неделю в течение 12 нед.

Новые препараты для лечения миелополиферативных заболеваний

С развитием таргетной терапии и появлением ингибиторов BCR-ABL-тирозинкиназы лечение и исход тера-

пии больных хроническим миелолейкозом кардинально изменились. Полный гематологический ответ в ранней хронической фазе миелолейкоза при использовании ингибиторов тирозинкиназы достигает 98%. Тем не менее бывают случаи развития резистентности и непереносимости гливека. Это привело к разработке и внедрению новых ингибиторов тирозинкиназы.

Нилотиниб — дериват аминопиримидина, ингибирует активность тирозинкиназы в химерном белке BCR-ABL и применяется для лечения хронического миелолейкоза.

В исследовании I фазы по эффективности нилотиниба было включено 119 пациентов с хроническим миелолейкозом, резистентных к терапии гливексом. Больные получали препарат в дозе от 50 до 1200 мг 1 раз в день и в дозе от 400 до 600 мг 2 раза в день. Полный гематологический ответ у больных в хронической фазе был получен в 92% случаев и у 8% больных с бластным кризом.

В исследовании II фазы было включено 132 пациента, из них 91 (63%) были резистентны к гливексу и 41 (31%) пациент имел непереносимость препарата. Больные получали нилотиниб по 400 мг 2 раза в сутки, длительность приема 226 дней (3–379 дней). Полный гематологический ответ был достигнут в 69% случаев, большой цитогенетический ответ — в 42% и полный цитогенетический ответ — в 25% случаев. Профиль токсичности в наибольшей степени был представлен развитием тромбоцитопении (26%), нейтропении (18%) и анемии (7%). Прекратили лечение 38% больных по следующим причинам: 26 — из-за развития неблагоприятных явлений, 15 — из-за прогрессирования болезни, 7 — по другим причинам; 2 пациента умерли в ходе исследования: один — в результате прогрессии болезни, второй — из-за развития инфаркта миокарда.

Дазатиниб также является ингибитором BCR-ABL-тирозинкиназы и применяется при резистентности или непереносимости гливека. II фаза клинических исследований показала, что при приеме дазатиниба в дозе 70 мг 2 раза в сутки у пациентов в хронической фазе миелолейкоза в 59% случаев достигается большой и в 49% — полный цитогенетический ответ. Препарат хорошо переносится, и в ходе исследования отмечается низкий уровень миелосупрессии III–IV степени. Однако у части пациентов наблюдается развитие резистентности к нилотинибу и дазатинибу, обусловленной появлением мутаций T315I и T317I белка BCR-ABL.

Бозутиниб (SKI-606) — новый ингибитор тирозинкиназы, эффективный при развитии мутаций T315I и T317I. В настоящее время проводится клиническое исследование по эффективности и безопасности бозутиниба у пациентов с хроническим миелолейкозом при непереносимости дазатиниба. Это дозоопределяющее исследование: пациенты будут получать препарат в дозе 400, 500 и 600 мг в день.

Гемтузумаб — моноклональное антитело к антигену CD33. Антиген CD33 экспрессируется в 90% случаев острого миелоидного лейкоза, и его экспрессия отмечена более чем на 20% бластных клеток. Многоцентровое исследование II фазы по изучению эффективности гемтузумаба включало 277 пациентов (медиана возраста 61 год) с первым рецидивом острого миелобластного лейкоза. Препарат применялся в дозе 9 мг/м². Согласно критериям NCI, общий ответ

составил 26%, из них полных ремиссий было 13% и полных ремиссий с неполным восстановлением тромбоцитов — 13%. При использовании гемтузумаба в качестве индукционной и консолидирующей терапии пациентов в возрасте от 61 до 75 лет с острым миелобластным лейкозом общий ответ был получен в 54,4% случаев, полные ремиссии — в 35,1%, полные ремиссии с неполным восстановлением тромбоцитов — в 19,3% случаев.



Ритуксимаб (Мабтера) в сочетании с дексаметазоном в терапии хронической идиопатической тромбоцитопении

М. А. Волкова

По материалам доклада на пресс-конференции и пленарном заседании Американского общества гематологов 7 декабря 2008 г., Сан-Франциско

В последние годы появились сообщения о применении ритуксимаба (Мабтера, анти-CD20-антитела) в терапии аутоиммунной анемии и тромбоцитопении. Чаще всего эти сообщения касались аутоиммунных осложнений при хроническом лимфолейкозе, реже Мабтера использовалась в терапии аутоиммунных осложнений при лимфомах, иногда — при красной волчанке и других ревматоидных заболеваниях. Имеются отдельные сообщения об успешном лечении анти-CD20-антителами хронической тромбоцитопенической пурпуры у детей. Все публикации до сих пор ограничивались данными о нескольких больных.

На 50-м конгрессе Американского гематологического общества в Сан-Франциско впервые были доложены результаты сравнительного рандомизированного исследования применения дексаметазона или дексаметазона в сочетании с мабтерой у большой группы взрослых больных, страдающих идиопатической тромбоцитопенической пурпурой. Исследование было инициировано компанией «Рош». До сих пор в США Мабтера не зарегистрирована для терапии аутоиммунной тромбоцитопенической пурпуры.

Доклад руководителя исследования д-ра Francesco Zaja (г. Удина, Италия) вызвал огромный интерес. Доклад был представлен дважды: 6 декабря 2008 г. на пресс-конференции и 7 декабря 2008 г. на пленарном заседании конгресса, и оба раза зал с трудом вместил всех желающих услышать сообщение.

В исследование был включен 101 больной с аутоиммунной идиопатической тромбоцитопенической пурпурой с длительно сохраняющимся числом тромбоцитов, не превышающим $20 \times 10^9/\text{л}$. Из общего числа больных 52 были рандомизированы для лечения дексаметазоном, 49 — дексаметазоном в сочетании с Мабтерой. Все больные получали дексаметазон внутрь в дозе 40 мг в сутки в течение 4 дней. Больные, рандомизированные для получения комбинированной терапии, помимо указанной дозы дексаметазона получали Мабтеру в дозе $375 \text{ мг}/\text{м}^2$ 1 раз в неделю в течение 4 нед. (7, 14, 21 и 28-й дни). Устойчивым эффектом считалось увеличение количества тромбоцитов не менее чем до $50 \times 10^9/\text{л}$ в течение месяца и сохранение этого эффекта на протяжении не менее 6 мес. после прекращения лечения. Ко времени доклада результаты после 6 мес. оценены у 26 больных, получивших комбинированную терапию, и у 38 — только дексаметазон.

Устойчивый эффект достигнут у 22 (85 %) из 26 больных в группе, получавшей комбинированную терапию, и у 15 (39 %) из 38 больных в группе, получавшей только дексаметазон ($p < 0,001$). При этом число тромбоцитов более $100 \times 10^9/\text{л}$ устойчиво сохранялось у 37 % больных, получавших дексаметазон, и у 77 % — дексаметазон в сочетании с Мабтерой ($p < 0,001$).

Больные из группы, получавшей только дексаметазон, при отсутствии эффекта в течение 30 дней от начала терапии (число тромбоцитов оставалось на уровне не более $20 \times 10^9/\text{л}$) получали Мабтеру в такой

же дозе, как и пациенты из группы комбинированной терапии. После присоединения Мабтеры у 59 % этих больных достигнуто устойчивое повышение числа тромбоцитов до уровня более $50 \times 10^9/\text{л}$.

Авторы намеревались включить в исследование 198 больных, но прекратили набор после включения 101 больного, поскольку анализ результатов лечения первых 50 больных показал 52%-ю разницу между группами в пользу комбинированной терапии. Не было выявлено каких-либо признаков, позволяющих предсказать эффект указанного лечения. Концентрация Мабтеры в крови у больных, получавших комбинированную терапию, не коррелировала со степенью достигаемого эффекта.

Д-р Zaja подчеркнул, что комбинированная терапия должна быть применена до или (чаще) вместо спленэктомии, особенно у больных, имеющих большой риск послеоперационных осложнений. Исследовательская группа намеревается в дальнейшем оценить эффективность меньшей дозы Мабтеры — $100 \text{ мг}/\text{м}^2$.

Председатель пресс-конференции профессор медицины университета Сан-Диего д-р Kaushansky и председатель пленарного заседания профессор медицины университета Оклахомы д-р James George подчеркивали в своих выступлениях важность проведенного исследования. Иммунная тромбоцитопеническая пурпура встречается с частотой 7 случаев на 100 000 населения и ранее почти не была предметом рандомизированных исследований. Длительное и повторное применение кортикостероидов из-за обычно неустойчивого эффекта приводит к тому, что многие больные считают побочные действия такого лечения хуже и тяжелее проявлений самой болезни. Поэтому достижение стойкого эффекта у большинства больных при включении Мабтеры в терапию является важным результатом в лечении этого недуга.



Новости группы компаний «Рош»

Базель, 6 декабря 2008 г.

В пресс-релизе, выпущенном компанией «Рош» (Базель, 2008), сообщается о результатах двух многоцентровых рандомизированных исследований, инициированных «Рош», которые были представлены на заседаниях 50-го конгресса Американского гематологического общества (ASH), прошедшего в Сан-Франциско (США) 6–9 декабря 2008 г. Одно из них (CLL8) является самым большим из когда-либо проведенных клинических исследований, касающихся эффективности лечения хронического лимфолейкоза (ХЛЛ).

Как известно, ХЛЛ является наиболее распространенной формой лейкоза у взрослых, на долю которого у этой категории больных в европейских странах приходится до 30 % всех лейкозов. Около 95 % больных заболевают в возрасте старше 55 лет.

О результатах исследования CLL8 доложил руководитель германской группы по изучению ХЛЛ профессор университетского госпиталя г. Кельна Михель Халлек.

Исследование CLL8 является многоцентровым международным рандомизированным исследованием, в котором приняло участие 11 стран. Всего включено 817 ранее нелеченных пациентов. Больные получали либо флударабин и циклофосфан, либо флударабин, циклофосфан и Мабтеру (ритуксимаб, анти-CD20-антитела). Результаты 2-летнего наблюдения показали, что заболевание не прогрессировало за это время у 76,6 % больных, получивших комбинацию химиотерапии с Мабтерой, и у 63,3 % леченных только химиопрепаратами.

Вторым исследованием, касающимся ХЛЛ, было международное рандомизированное исследование REACH. В него было включено 511 больных из 17 стран с рецидивом ХЛЛ или не чувствительных к ранее проведенной терапии.

Как и в исследовании CLL8, больные получали либо флударабин и циклофосфан, либо флударабин, циклофосфан и Мабтеру. О результатах доложил руководитель исследования профессор Медицинского университета г. Лодзи (Польша) Тадеуш Робак. Больные, получившие комбинацию химиотерапии и Мабтеры, имели беспрогрессивное течение заболевания в среднем на 10 мес. больше, чем больные, получившие только химиотерапию (30,6 мес. по сравнению с 20,6 мес.).

В заключительном обсуждении представитель компании «Рош» Уильям Бернс подчеркнул, что результаты этих исследований четко показывают, какую важную роль играет Мабтера в лечении ХЛЛ, а Михель Халлек, заключая свой доклад о результатах проведенных исследований, сказал: «Эти результаты, полученные в двух самых больших рандомизированных исследованиях по лечению ХЛЛ, показывают, что комбинация химиотерапии с Мабтерой имеет основания стать новым стандартом в лечении этого заболевания».

Правила подготовки статей для журнала «Клиническая онкогематология»

Объем статей не ограничивается .

- Весь текст должен быть набран одним шрифтом: Times New Roman, кегль 12, выравнивание по левому краю, междустрочный интервал полуторный.
- Не присваивать тексту встроенные/созданные стили. Подзаголовки выделять полужирным, курсивом или полужирным курсивом основного шрифта, используя разный кегль (14, 16, 18 и т. д.) для обозначения соподчиненности рубрик.
- Способ выделения подзаголовков должен быть одинаковым во всей статье.
- Расположение информации: сначала указывается название статьи; через строку — авторский коллектив; через строку — место работы каждого автора, если авторы из нескольких учреждений; через строку — реферат на русском языке; через строку — ключевые слова на русском языке; через строку — та же информация, но на английском языке (название статьи, авторы, место работы, реферат (summary), ключевые слова). Далее указывается e-mail автора статьи.
- Благодарности (если таковые имеются) указываются в конце статьи, перед списком литературы.
- Инициалы авторов статьи должны стоять перед фамилиями.
- Каждая статья должна содержать реферат и ключевые слова на русском и английском языке.
- Все таблицы и подрисуночные подписи располагать в тексте после абзаца, где стоит соответствующая ссылка на них.
- Рисунки предоставлять в виде отдельных графических файлов (формата jpg, tif и др.).
- При оформлении таблиц не использовать лишнюю табуляцию; каждый показатель должен находиться в своей ячейке, а не быть оформлен в виде списка.
- Ссылки на рисунки и таблицы обозначаются следующим образом: рис. 1, табл. 1 или (рис. 1), (табл. 1).
- В подрисуночной подписи следует писать: Рис. 1. (далее название); таблицы: Таблица 1. (далее название).
- Для написания латинского и английского текста следует использовать только английскую раскладку клавиатуры (не русскую, французскую, испанскую и т. п.).
- Для написания римских цифр следует использовать английские прописные буквы: I, V, X.
- При указании не целых чисел десятичные отделяются запятой, а не точкой.
- В диапазоне цифр использовать короткое тире (Ctrl + тире на правой части клавиатуры) или черточку без пробелов (например, 5–10% или 5-10%). При употреблении дефиса/черточки в словах (например, интерферон-гамма, 5-летняя) пробел не ставится.
- Синтаксическое тире в предложение ставится с помощью Ctrl + Alt + тире на правой части клавиатуры или просто черточки с пробелами с обеих сторон.

- В ключевых словах не использовать буквы греческого алфавита (символы), например вместо эритропоэтин α следует писать эритропоэтин альфа.
 - При употреблении аббревиатур каждая расшифровывается при первом вхождении; далее в тексте употребляются только аббревиатуры, за исключением подзаголовков, названий таблиц и подписочных подписей.
 - По возможности не перегружать текст аббревиатурами, тем более если они употребляются в статье всего 1–2 раза или не встречаются вовсе.
 - После принятых единиц измерения (с, мин, ч, сут, см, м, мг, г, кг, мл, млн, млрд и т. д.) точка не ставится. При употреблении сокращений (нед., мес., тыс.) точка ставится.
 - При цитировании российских и зарубежных авторов в тексте статьи необходимо указывать их инициалы, которые должны стоять перед фамилией.
 - Ссылки на литературу и нумерация идут единообразно по всей статье: не по алфавиту, а по мере цитирования.
 - Литературные ссылки следует указывать в квадратных скобках.
 - Список литературы должен быть оформлен в соответствии с установленными правилами (см. предыдущие номера журнала).
-