КЛИНИЧЕСКАЯ
ОНКОгематология

СОДЕРЖАНИЕ

том 2 • номер 3 • июль – сентябрь 2009

Биология гемобластозов

Молекулярный патогенез миелопролиферативных заболеваний 211
Мисюрин А. В

Кариотип клеток костного мозга при рецидивах острого миелоидного лейкоза у детей 220
Флейшман Е.В., Сокова О.И., Попа А.В., Шнейдер М.М., Константинова Л.Н., Кириченко О.П., Метелькова Н.Ф.

Мониторинг в терапии хронического миелолейкоза иматинибом 225
Куцев С.И., Оксенюк О.С.

Диагностика, клиника и терапия гемобластозов

Диагностика острых лейкозов методом проточной цитометрии в соответствии с классификацией ВОЗ 2008 г. опухолей гемопоэтических и лимфоидных тканей (Часть I — острые миелобластные лейкозы) 232
Куртова А.В., Русанова Е.Б., Слободнюк К.Ю., Горчакова М.В., Зуева Е.Е.

Бортезомиб (Велкейд) в комбинации с дексаметазоном в лечении рефрактерных/рецидивирующих форм множественной миеломы. Результаты заключительного анализа 236
Бессмельцев С.С., Карягина Е.В., Стельмашенко Л.В., Степанова Н.В., Мачюлайтене Е.Р., Салогуб Г.Н., Абдулкадыров К.М., Малахова Т.Р., Скороход И.А., Медведева Н.В., Крылова Л.И., Подольцева Э.И., Матюхина Л.М., Низамутдинова А.С., Костина О.Я., Илюшкина Е.Ю.

Результаты амбулаторной терапии иматинибом (Гливек) в хронической фазе хронического миелолейкоза в зависимости от возраста и длительности предшествующей терапии 245
Волкова С.А., Боровков Н.Н., Гостюжова Е.А., Балабанов А.С., Самарина И.Н.

Тактика ведения беременности у женщин с онкогематологическими заболеваниями (Часть II — миелопролиферативные заболевания) 250
Полушкина Е.С., Шмаков Р.Г., Хорошко Н.Д., Соколова М.А., Цветаева Н.В.

Современное состояние неродственного донорства гемопоэтических стволовых клеток в Российской Федерации (по материалам отчета Всемирной ассоциации доноров костного мозга за 2008 г.) 257
Иоффе Ю. Г.

Лечение осложнений онкологических заболеваний

Роль урокиназы в профилактике и лечении катетер-ассоциированных инфекционных и тромботических осложнений у пациентов с опухолевыми заболеваниями 260
Ширин А. Д.

Редкие и сложные гематологические синдромы

Волосатоклеточный лейкоз с массивным увеличением лимфоузлов.....266
Аль-Ради Л.С., Марголин О.В., Кравченко С.К., Кременецкая А.М., Гайдамака Н.В., Соколов А.Н., Исаев В.Г., Устинова Е.Н.

Специфическое поражение костей с гиперкальциемией при хроническом лимфолейкозе 269
Волкова М.А., Фалалеева Н.А., Бялик Т.Е., Османов Е.А., Ларионова В.Б., Курмуков И.А., Кашия Ш.Р., Трофимова О.П., Френкель М.А., Тупицын Н.Н., Ковригина А.М.

Развитие хронического лимфолейкоза у пациента с синдромом Сезари. Клиническое наблюдение 273
Ильин Н.В., Николаева Е.Н., Виноградова Ю.Н., Карташев А.В., Леенман Е.Е.

Семинар по онкологии

«Постгеномный взгляд» на проблемы онкогенеза 277
Блохин Д. Ю.

Съезды, конференции, симпозиумы

Материалы 14-го конгресса Европейской гематологической ассоциации — EHA (Берлин, июнь 2009 г.).....283

клиническая ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

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

Выпускающий редактор
Т.Е. Белоусова

Директор по производству
Д.Р. Сысоев
e-mail: tezey@obook.su

Отпечатано в типографии

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
Ю.М.Кучма, канд. мед. наук

Ответственный секретарь
А. Д. Ширин, канд. мед. наук
e-mail: shirin-anton@mail.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)

НОВАЯ КНИГА

Лейкозы у детей

Под редакцией Г.Л. Менткевича, С.А. Маяковой

НИИ ДЕТСКОЙ ОНКОЛОГИИ И ГЕМАТОЛОГИИ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

Современная диагностика (морфология, иммунофенотипирование, цитогенетика), классификации и лечение различных вариантов острых лимфоидных, миелоидных лейкозов и хронического миелолейкоза у детей.

Перспективы химиотерапии, трансплантации стволовых клеток крови, сопроводительного лечения для увеличения выживаемости больных.

Для педиатров, детских гематологов и онкологов

Лабораторная диагностика лейкозов у детей

Иммунодиагностика острого лейкоза

Хромосомный анализ в диагностике и прогнозировании лейкозов у детей

Апоптоз

Острые лимфобластные лейкозы

Острые миелоидные лейкозы

Хронический миелолейкоз

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
- Высокодозная химиотерапия
- Донорство гемопоэтических стволовых клеток
- Профилактика реакции «трансплантат против хозяина»
- Частично-совместимые трансплантации гемопоэтических стволовых клеток
- Посттрансплантационные осложнения

Сопроводительная терапия
- Инфекционные осложнения
- Геморрагический синдром
- Анемический синдром
- Гиперлейкоцитоз
- Синдром острого лизиса опухоли
- Гиперкальциемия
- Антиэметическая (противорвотная) терапия
- Терапия болевого синдрома
- Парентеральное питание

заказ на книги с почтовой доставкой по издательской цене можно осуществить на нашем сайте

www.medprint.ru

для оптовых клиентов и организаций тел.: (495) 648-3422, email: opt@medprint.ru

Молекулярный патогенез миелопролиферативных заболеваний

А. В. Мисюрин

Р Е Ф Е Р А Т

Существенный прогресс в понимании молекулярных основ миелопролиферативных заболеваний связан с недавним обнаружением ряда генетических дефектов, среди которых наиболее важными являются мутации генов *Jak2* и *MPL*. Эти и другие гены, с которыми связан молекулярный патогенез миелопролиферативных заболеваний, кодируют регуляторные белки, обладающие тирозинкиназной активностью. Дефекты этих генов являются характерной особенностью данной группы заболеваний системы кроветворения.

Ключевые слова

миелопролиферативные заболевания, мутации генов тирозинкиназ.

Molecular pathogenesis of the myeloproliferative diseases

A. V. Misyurin

SUMMARY

The progress in the understanding of the molecular bases of myeloproliferative disorders depends on the recent findings of a number of genetic defects among which most important are mutations of Jak2 and MPL genes. These two genes as well as many others that underlie molecular pathogenesis of myeloproliferative diseases are the ones that code regulatory tyrosine kinase proteins. It seems that abnormalities of tyrosine kinase genes are the main characteristic feature of this type of blood disorders.

Keywords:

myeloproliferative diseases, mutated tyrosine kinase genes.

Hematology Research Center of RAMS, Moscow

Контакты: and@blood.ru

Принято в печать: 14 июля 2009 г.

ВВЕДЕНИЕ

Классические хронические Ph-отрицательные миелопролиферативные заболевания — группа болезней, включающая в себя эритремию (истинная полицитемия, ИП), эссенциальную тромбоцитемию (ЭТ) и идиопатический миелофиброз (ИМФ).[1,2]

Клиническую картину, свойственную ИМФ, с характерным фиброзом костного мозга и экстрамедуллярным кроветворением, впервые описал в 1879 г. Gustav Heuck.[3] Истинную полицитемию в 1892 г. впервые описал Louis Henri Vaquez.[4] Он предположил, что эритроцитоз и гепатоспленомегалия у наблюдавшегося им больного были следствием усиленной пролиферации гемопоэтических клеток. В 1903 г. William Osler ввел термин «болезнь Вакеза» при описании нескольких больных с выраженным эритроцитозом и спленомегалией.[5] В 1934 г. Emil Epstein и Alfred Goedel выделили в отдельную нозологическую форму эссенциальную тромбоцитемию, описав больных с тромбоцитозом в отсутствие заметного эритроцитоза.[6] В 1951 г. Вильям Дамешек[1] предложил объединить ИП, ЭТ и ИМФ вместе с хроническим миелолейкозом в одну группу хронических миелопролиферативных заболеваний (хМПЗ) благодаря сходству клинических и морфологических свойств, а также на основании предположения об общей патогенетической природе этих заболеваний.

Более 30 лет назад с использованием в качестве метки явления инактивации одной из Х-хромосом у женщин было показано, что при хМПЗ большинство больных имеют клональные популяции миелоидных и эритроидных клеток.[2,7] Эти, а также более поздние исследования клональности при хМПЗ[8,9] позволили сделать вывод о том, что опухолевая масса при данных заболеваниях происходит от одной измененной гемопоэтической клетки-предшественницы. В 2002 г. у больных эритремией была обнаружена потеря гетерозиготности в локусе 9q24, наблюдавшаяся как в миелоидном, так и лимфоидном ростке.[10,11] Данный факт подтвердил высказанное ранее мнение о том, что при хМПЗ малигнизированная клетка-предшественница сохраняет способность дифференцироваться по всем росткам кроветворения. Кроме того, потеря гетерозиготности в локусе 9q24 при хМПЗ свидетельствовала

Гематологический научный центр РАМН, Москва

о том, что с хромосомой 9 может быть связан один из молекулярных дефектов, лежащих в основе патогенеза этих заболеваний. Исследование цитогенетических аномалий хромосомы 9 при хМПЗ показало, что они возникают в соматических клетках и не передаются по наследству.

Таким образом, классические хМПЗ являются хроническими лейкозами с поражением на уровне клетки-предшественницы гемопоэза с характерной для опухоли неограниченной пролиферацией этой клетки, потомки которой дифференцируются по всем росткам кроветворения. При этом для эритремии свойственно преобладание красного ростка, для эссенциальной тромбоцитемии — мегакариоцитов и тромбоцитов. Классические хМПЗ и некоторые другие, менее распространенные миелопролиферативные заболевания являются приобретенными, спорадическими нарушениями гемопоэза, однако известны и наследственные формы миелопролиферативных заболеваний — семейные эритремия и тромбоцитемия.

При эритремии клетки-предшественницы гемопоэза способны образовывать эритроидные колонии в отсутствие экзогенного эритропоэтина. В меньшей степени эта особенность характерна для эссенциальной тромбоцитемии и идиопатического миелофиброза.[12] Получение эндогенных эритропоэтин-независимых колоний (ЭЭК) является одним из способов отличить ИП от вторичного эритроцитоза.[13,14] Обнаружение феномена роста ЭЭК при эритремии и других хМПЗ стало важной вехой в понимании механизмов, приводящих к развитию этих аномалий кроветворения. Этот феномен позволил предположить, что в основе патогенеза хМПЗ лежат дефекты, которые приводят к нарушению процесса реализации регуляторных сигналов, получаемых миелоидной клеткой из внешней среды.[15,16] Действительно, последующие исследования подтвердили эту догадку и позволили заключить, что молекулярные события, лежащие в основе патогенеза хМПЗ, связаны с дефектами генов, которые кодируют белки, ответственные за нормальное поддержание миелопоэза.

Поскольку определены уже многие из регуляторных процессов, необходимых для поддержания нормального миелопоэза, существует возможность проведения целенаправленного и систематического изучения участвующих в этих процессах генов и их белковых продуктов с использованием молекулярно-биологических методов у пациентов с установленным диагнозом хМПЗ. Например, в настоящее время хорошо известны факторы, регулирующие поддержание эритрона. При снижении концентрации кислорода в крови на это реагируют интерстициальные клетки почек, ответственные за синтез эритропоэтина.[17] В этих клетках происходит сложный молекулярный процесс, затрагивающий работу множества генов. Основным регулятором этого процесса является индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1).[18,19] Гетеродимерный белок HIF-1 состоит из двух субъединиц: HIF-1α и HIF-1β (рис. 1). При нормальной концентрации кислорода происходит гидроксилирование аминокислотных остатков пролина свободно существующей молекулы HIF-1α в результате активности особого регуляторного фермента PHD2 (prolyl 4-hydroxylase-2), который является молекулярным сенсором кислорода.[20] Измененная таким образом субъединица HIF-1α приобретает способность связываться с белком Гиппеля—Линдау (белок VHL — опухолевый супрессор, с мутациями гена, кодирующего этот белок, связан наследственный синдром Гиппеля—Линдау, для которого характерны множественные гемангиомы, а также почечная карцинома, рак поджелудочной железы, ангиома сетчатки глаза). Белок VHL, в свою очередь, образует комплекс с рядом иных белков, относящихся к классу Е3-убиквитин-лигаз. Активированные убиквитин-лигазы образуют ковалентную связь с некоторыми другими белками, являясь для последних своеобразной «черной меткой», которая означает, что получивший такую метку «убиквитинизированный» белок вскоре должен быть направлен в протеосому и там разрушен. Таким образом, связывание белка VHL с гидроксилированными пролинами HIF-1α приводит к убиквитинизации этого белка и последующей его протеосомной деградации. В состоянии гипоксии белковая молекула HIF-1α не гидроксилируется и остается стабильной, избежав убиквитин-зависимого протеолиза. Субъединицы HIF-1α и HIF-1β объединяются, и образовавшийся в результате этого гетеродимерный белок HIF-1 направляется из цитоплазмы в ядро, где связывается с особыми последовательностями ДНК в промоторных областях генов, экспрессия которых индуцируется гипоксией. В ответ на последовательность этих регуляторных событий интерстициальные клетки почек выделяют в кровеносное русло эритропоэтин.[21]

Клетки-предшественницы миелопоэза осуществляют заложенную в них генетическую программу в ответ на стимулирующее воздействие цитокинов, которые связываются с соответствующими рецепторами на поверхности этих клеток. Для группы хМПЗ особое значение имеют эритропоэтин (EPO) и тромбопоэтин (THPO), а также рецепторы этих цитокинов EPO-R и MPL. Связывание эритропоэтина с EPO-R приводит к димеризации этого рецептора (рис. 2). С внутриклеточными доменами EPO-R связана киназа Jak2,

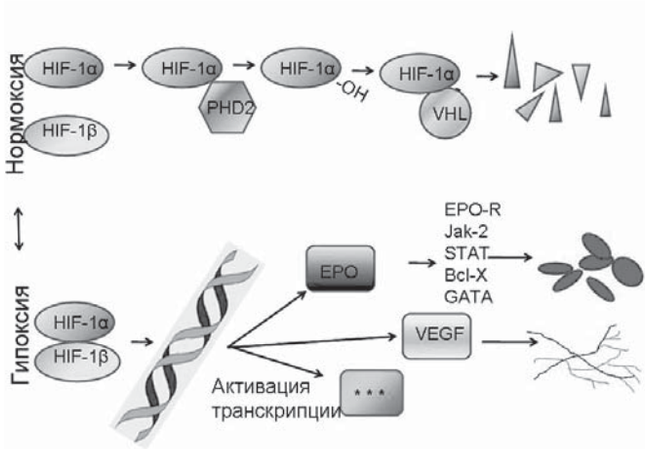


Рис. 1. Эритропоэз в условиях нормо- и гипоксии (пояснения в тексте)

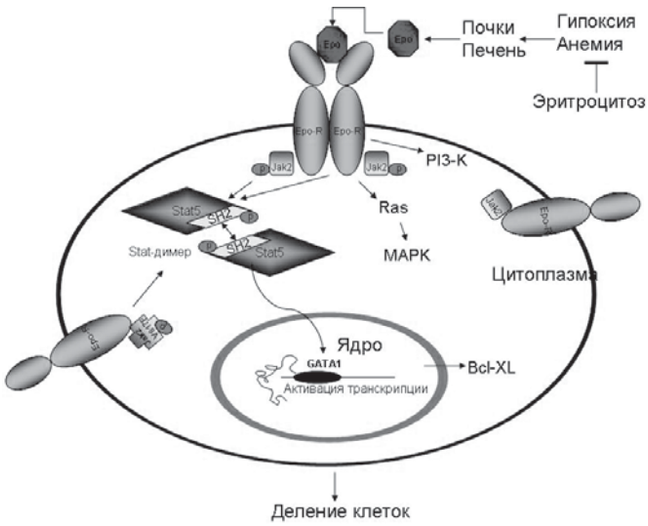


Рис. 2. Связывание молекулы эритропоэтина с рецептором на поверхности предшественников эритроцитов. Сигнал от Epo-R передается внутрь клетки посредством JAK-2. Мутантная форма $JAK2^{V617F}$ сохраняет активность в отсутствие связывания эритропоэтина

которая активируется в ответ на димеризацию рецептора. Белок Jak2 принадлежит к семейству Janus-киназ (Jak), которое включает в себя четырех представителей (Jak1, Jak2, Jak3 и TYK2), но для гемопоэза особое значение среди них имеет именно киназа Jak2, которая осуществляет передачу сигнала не только от эритропоэтина, но и от тромбопоэтина и колониестимулирующего фактора гранулоцитов (G-CSF). Активированная киназа Jak2 фосфорилирует ряд цитоплазматических белков-мишеней, важнейшими из которых являются адаптерные белки семейства STAT (signal transducers and activators of transcription).[22] Конститутивная активация гена *STAT3* была обнаружена у 30 % больных эритремией.[23] Снижение уровня экспрессии рецептора тромбопоэтина MPL было описано при эритремии и эссенциальной тромбоцитемии.[24,25] Авторы данных сообщений высказали предположение, что в рассмотренных ими случаях хМПЗ снижение уровня рецептора тромбопоэтина было вторичным по отношению к неизвестному генетическому дефекту, который ответствен за развитие данных заболеваний. Способность этого неизвестного фактора вызывать гиперплазию миелоидного ростка должна быть настолько сильной, что ей не может противодействовать снижение экспрессии *MPL*, носящее явный компенсаторный характер.

Таким образом, гены, кодирующие HIF-1, VHL, PHD2, EPO, EPO-R, THPO, MPL, Jak2, STATn, а также сопряженные с ними необходимы для поддержания нормального миелопоэза. В процессе поиска специфических генетических нарушений структура этих генов была проанализирована у пациентов с врожденными и приобретенными формами хМПЗ.

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПАТОГЕНЕЗ НАСЛЕДСТВЕННЫХ хМПЗ

При анализе семейного эритроцитоза, связанного с аномальной реакцией на гипоксию, были найдены дефекты гена *VHL*, приводящие к снижению деградации и повышению уровня HIF-1. Гомозиготная мутация 598C > T этого гена приводит к семейному эритроцитозу, характерному для представителей населения Чувашии (семейный эритроцитоз 2-го типа, или чувашский, или VHL-зависимая полицитемия; OMIM 263400).[26] Известны и другие варианты дефектного гена *VHL*, с которыми связаны наследственные формы эритроцитоза в других популяциях населения. Кроме того, семейный эритроцитоз может быть вызван мутациями, затрагивающими цитоплазматический домен EPO-R (семейный эритроцитоз 1-го типа; OMIM 133100),[27] а также дефектами гена *EGLN1*, кодирующего пролилгидроксилазу PHD2 (семейный эритроцитоз 3-го типа; OMIM 609820).[28-30] Интересны случаи семейного эритроцитоза, связанного с мутациями α- и β-глобиновых генов. Например, мутация β-глобинового гена beta109 Val- > Leu приводит к синтезу варианта гемоглобина, называемого Hb Johnstown.[31] Эта форма гемоглобина обладает повышенным сродством к кислороду, что приводит к гипоксии, которая, по закону обратной связи, компенсируется за счет усиленного образования эритроцитов, что проявляется в виде эритроцитоза, имеющего наследственный характер.

Наследственная тромбоцитемия, или семейный тромбоцитоз, — аутосомно-доминантное заболевание, при котором клинические проявления напоминают те, которые наблюдаются при ЭТ (в литературе описано несколько случаев этого заболевания в некоторых семьях Дании, Японии и Польши). Активная пролиферация мегакариоцитов и избыток тромбоцитов при этом заболевании чаще всего зависят от мутаций 5′-нетранслируемого (5′-UTR) участка гена тромбопоэтина *THPO*.[32-40] В 5′-нетранслируемой области мРНК *THPO* находится короткая открытая рамка считывания, которая конкурирует с таковой белка THPO за связывание рибосом. Наличие этой дополнительной короткой рамки считывания обусловливает механизм негативной регуляции трансляции мРНК THPO. Мутации, исключающие эту последовательность из-за дефекта сплайсинга или нарушающие ее структуру путем сдвига рамки считывания, приводят к усилению транскрипционной активности мРНК и повышению уровня THPO и тромбоцитов. Однако семейный тромбоцитоз может зависеть и от дефектов других генов.

Японскими авторами описана форма этого заболевания, которая связана с мутацией рецептора THPO MPL, которая приводит к замене серина на аспарагин в положении 505 аминокислотной последовательности этого белка.[41] Эта мутация приводит к гиперактивности рецептора THPO и усиленной пролиферации мегакариоцитов. Недавно была описана форма наследственной тромбоцитемии в семьях испанского происхождения,[42] при которой анализ сцепления с использованием микросателлитных маркеров исключил участие в развитии заболевания генов *THPO* и *MPL*. При проведении семейного анализа было обнаружено достоверное сцепление маркеров из локуса, в котором расположен ген *TIE*, с клиническими признаками данного заболевания. Ген *TIE* кодирует характерный для мегакариоцитов и клеток эндотелия тирозинкиназный рецептор. Авторы предположили, что выявленный ими случай семейного тромбоцитоза связан с нарушением работы именно этого гена.

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПАТОГЕНЕЗ КЛАССИЧЕСКИХ Ph-ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ хМПЗ

До недавнего времени молекулярные дефекты и соответствующие маркеры ИП, ЭТ и ИМФ были неизвестны, поэтому арсенал рутинных лабораторных методов, применявшихся для диагностики классических Ph-отрицательных хМПЗ, исчерпывался методикой получения ЭЭК, оценкой клональности и определением уровня эритропоэтина и тромбопоэтина в крови больных.[43]

При проведении цитогенетических исследований у больных хМПЗ выявляются различные хромосомные аномалии.[44-52] При ИП чаще всего наблюдают делецию длинного плеча хромосомы 20 (20q-) и аномалии хромосомы 9,[10,12,44-47] при ЭТ обнаруживают трисомию 8 и 9, делеции хромосом 5, 7, 13, 17 и 20,[48] для ИМФ характерны делеции 13q- и 20q-, частичная дупликация хромосомы 1, трисомия 8 и аномалии хромосом 7 и 9.[49-51] Однако эти аномалии скорее свидетельствуют о гетерогенности хМПЗ или указывают на клональную эволюцию и не могут рассматриваться в качестве диагностических маркеров или исходных патогенетических признаков. Была предпринята попытка найти среди генов, которые утрачиваются при делециях хромосом 20 и 13, кандидатов на роль участников патогенетического процесса, приводящего к развитию хМПЗ, но интенсивное исследование этих локусов пока не привело к ощутимому результату.[52] Определенные надежды связаны только с геном *L3MBTL* из длинного плеча хромосомы 20, для которого при хМПЗ описано явление генетического импринтинга,[53] заключающееся в том, что активной является только одна копия гена, принадлежащая либо материнской, либо отцовской хромосоме.

В 2000 г. с использованием метода вычитающей гибридизации на основе супрессионной ПЦР был проведен поиск генов, экспрессия которых отличает зрелые гранулоциты больных ИП и здоровых доноров. В результате был обнаружен первый молекулярный маркер хМПЗ — гиперэкспрессия гена *PRV-1*, кодирующего белок, который относится к суперсемейству рецепторов uPAR.[54] Оказалось, что коли-

чественная оценка уровня экспрессии гена *PRV-1* служит весьма чувствительным и специфическим молекулярным показателем при проведении дифференциального диагноза между эритремией и вторичным эритроцитозом. Важно, что гиперэкспрессия этого гена не зависела от стадии заболевания и определялась у 90–100 % первичных и длительно болеющих пациентов.[55,56] Кроме того, гиперэкспрессия *PRV-1* была обнаружена почти у 50 % пациентов с ЭТ и ИМФ.[57-60]

В 2005 г. у больных, страдающих хМПЗ, была обнаружена точечная мутация экзона 14 гена киназы *JAK2*, при которой в псевдокиназном домене JH2 белка JAK2 происходит замена аминокислоты валин на фенилаланин в положении 617 (мутация $JAK2^{V617F}$) (рис. 3 и 4).[61-64] Ген *JAK2* расположен в локусе 9q24, для которого ранее была описана потеря гетерозиготности при хМПЗ.[6] Таким образом, удалось обнаружить и охарактеризовать молекулярный дефект хромосомы 9, лежащий в основе патогенеза хМПЗ, который ранее наблюдали лишь только путем анализа сцепления патогенетического признака с косвенными молекулярными маркерами, расположенными в локусе 9q24. С помощью анализа герминальной ДНК было показано, что $JAK2^{V617F}$ является соматической мутацией, возникающей в гемопоэтических клетках-предшественницах. Оказалось, что у определенной доли пациентов при хМПЗ, и в основном при эритремии, эта мутация в клетках-предшественницах гемопоэза представлена в гомозиготной форме. У таких больных происходит превращение гетерозиготной мутации $JAK2^{V617F}$ в гомозиготную форму благодаря митотической рекомбинации и дупликации мутантного аллеля. Мутация $JAK2^{V617F}$ обнаруживается у 90–95 % больных эритремией, в 50–70 % случаев ЭТ и в 40–50 % случаев миелофиброза. Мутация $JAK2^{V617F}$ оказалась полезным маркером, с помощью которого можно проводить первичную и дифференциальную диагностику хМПЗ, а также молекулярный мониторинг минимальной остаточной болезни.[65,66] Вслед за $JAK2^{V617F}$ у небольшого числа $JAK2^{V617F}$-отрицательных больных, страдающих эритремией, был открыт кластер мутаций гена *JAK2* в экзоне 12 (микроделеции и точечные мутации, затрагивающие аминокислотные остатки в положении 537–542 белка Jak2) (см. рис. 3).[67] Соматические мутации гена *JAK2* были найдены не только при хМПЗ. Например, точечная мутация киназного домена $JAK2^{T875N}$ была обнаружена при остром мегакариобластном лейкозе.[68] В случаях В-клеточного острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), связанного с болезнью Дауна, описана делеция гена *JAK2*, при которой в положении 682–686 белка Jak2 утрачивается мотив IREED, принадлежащий консервативному участку псевдокиназного домена.[69]

Обнаружение мутации $JAK2^{V617F}$ у больных с Ph-отрицательными хМПЗ стало подтверждением высказанного Вильямом Дамешеком предположения о том, что в основе этой группы заболеваний должен быть общий патогенетический механизм. Однако, несмотря на то что

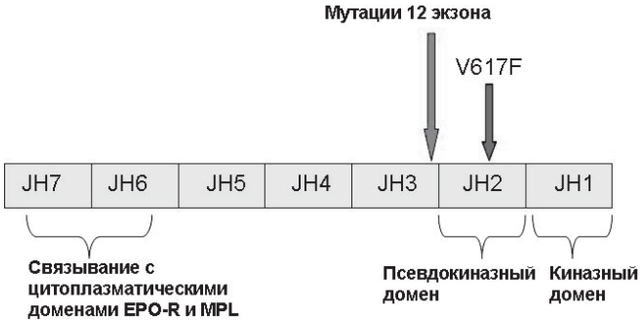


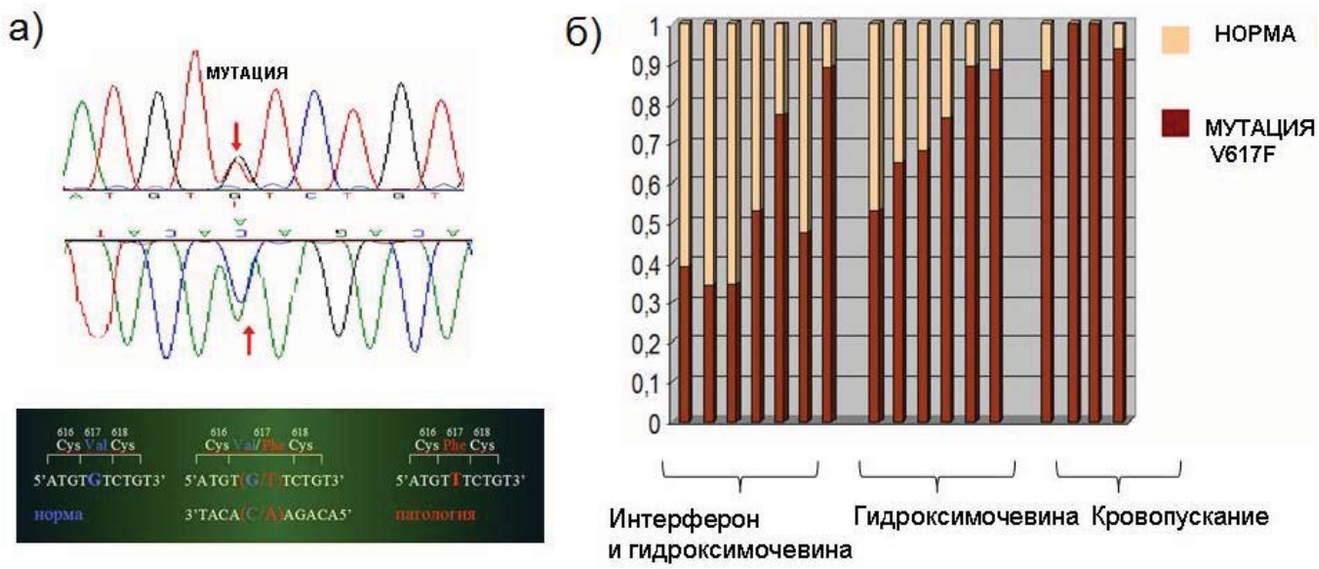
Рис. 3. Расположение доменов белка JAK2 и мутаций, характерных для хМПЗ

патогенетическая роль мутации $JAK2^{V617F}$ для манифестации классических хМПЗ не вызывает сомнений, остается еще много неясных вопросов, которые относятся к этиологии хМПЗ, не связанных с $JAK2^{V617F}$. Кроме того, не вполне понятно, каким образом один и тот же молекулярный дефект может приводить к развитию заболеваний, далеко не всегда совпадающих по своим клиническим проявлениям, хотя и относящихся к одной группе хМПЗ. И особенно удивительным представляется то, что единственная точечная мутация встречается у подавляющего большинства больных хМПЗ. Впрочем, последнее обстоятельство делает эту мутацию очень удобным диагностическим маркером.

Воздействие низкомолекулярным ингибитором гена *JAK2* на эритроидную линию HEL, которая несет точечную мутацию $JAK2^{V617F}$, приводит к остановке клеточного цикла. Это связано с тем, что подавление активности *JAK2* снижает экспрессию гена адаптерного белка STAT5, что влечет за собой подавление экспрессии циклина *D2* и усиление экспрессии ингибитора клеточного цикла $p27^{kip}$. Применение в аналогичном эксперименте для подавления экспрессии $JAK2^{V617F}$ малых ингибиторных РНК дает сходный эффект. Активность $JAK2^{V617F}$ и *STAT5* приводит также к увеличению уровня активных форм кислорода, которые способствуют переходу клеточного цикла из фазы G_1 в S. Обработка несущих мутацию $JAK2^{V617F}$ клеток линии HEL антиоксидантом N-ацетилцистеином вызывает остановку клеточного цикла, что сопровождается снижением экспрессии циклина *D2* и увеличением экспрессии $p27^{kip}$. Таким образом, регуляторный сигнал от $JAK2^{V617F}$ передается посредством адаптерного белка STAT5 и активных форм кислорода генам циклина *D2* и $p27^{kip}$, что приводит к ускоренному переходу клеточного цикла из фазы G_1 в S и усилению пролиферации эритроидных клеток, несущих мутантную форму гена *JAK2*.[70] Эти и другие данные о молекулярном механизме патогенетического действия измененного гена *JAK2* учитываются при разработке низкомолекулярных лекарственных средств направленного действия для лечения пациентов, страдающих $JAK2^{V617F}$-положительными вариантами хМПЗ.

Кроме классических хМПЗ мутация $JAK2^{V617F}$ была также обнаружена у небольшой доли больных с хроническим миеломоноцитарным лейкозом (ХММЛ), миелодиспластическим синдромом (МДС) и острым миелолейкозом (ОМЛ).[71] Однако у большинства пациентов с $JAK2^{V617F}$-положительным ОМЛ началу этого заболевания предшествовал период эритремии, ЭТ или ИМФ. В научной литературе встречаются единичные упоминания о наличии этой мутации у больных ХМЛ.[72] В своей практике мы также наблюдали пациента с диагнозом ХМЛ, у которого помимо экспрессии гена *p210 BCR-ABL* была обнаружена и мутация $JAK2^{V617F}$. Несмотря на то, что активация сигнального пути JAK-STAT характерна как для различных гемопоэтических злокачественных заболеваний, так и для солидных опухолей, присутствие точечной мутации $JAK2^{V617F}$ — феномен, характерный исключительно для поражений миелоидного ростка, и не описан ни для солидных опухолей, ни в случаях опухолей лимфоидного происхождения.

Обнаружение мутации $JAK2^{V617F}$ позволило разрешить существовавшую до недавнего времени дилемму: когда же при хМПЗ происходит злокачественная трансформация — на уровне стволовой гемопоэтической клетки или на уровне более поздних плюрипотентных клеток-предшественниц? При разделении клеток крови с помощью проточной цитофлюориметрии на отдельные фракции было показано, что у $JAK2^{V617F}$-положительных больных хМПЗ эта мутация обнаруживается не только в миелоидных клетках, но и в В- и Т-лимфоцитах, а также в клетках естественных киллеров.



Tutaeva V, Misurin AV, Michiels JJ, et al. *Hematology*. 2007 Dec;12(6):473-9

Рис. 4. Мутация *JAK2*^{V617F} при эритремии:
а — определение первичной последовательности части экзона 14 гена *JAK2* и выявление мутации *JAK2*^{V617F}; *б* — аллельная нагрузка мутации *JAK2*^{V617F} при разных видах терапии эритремии

Таким образом, было показано, что эта мутация возникает, по крайней мере, у общего раннего предшественника миелоидных и лимфоидных клеток, однако только клетки миелоидной линии в связи с этим генетическим дефектом получают пролиферативное преимущество в сравнении с нормой.[73] Использование селекции клеток с помощью проточной цитофлюориметрии позволило обнаружить, что ИП, ЭТ и ИМФ различаются между собой по количеству несущих мутацию *JAK2*^{V617F} зрелых миелоидных клеток и ранних предшественников.[74] Оказалось, что при ИП и ЭТ соотношение мутантного и нормального аллеля достаточно часто было низким в клетках CD34+ по сравнению со зрелыми нейтрофилами, однако при ИМФ содержание мутантных клеток было одинаково высоким как в зрелых, так и незрелых клетках. Клональное доминирование, которое авторы работы[74] определили как совпадение высокой аллельной нагрузки мутантным геном во фракциях клеток CD34+ и зрелых нейтрофилов, было характерно для 24 % ЭТ, 56 % ИП и 93 % ИМФ. Больные ИП с клональным доминированием имели более тяжелую клиническую картину в сравнении с теми, у кого этот феномен обнаружен не был. Таким образом, ЭТ, ИП и ИМФ различаются по частоте клонального доминирования, а при ИП этот признак является фактором неблагоприятного прогноза.

Связь уровня аллельной нагрузки с неблагоприятным течением хМПЗ была обнаружена разными авторами[66,75-77] и в настоящее время является общепризнанным фактом (см. рис. 4). Поэтому теперь при проведении диагностических исследований при подозрении на хМПЗ, а также для осуществления контроля эффективности лечения рекомендуется определять этот параметр, который выражают в виде отношения уровня мутантного аллеля *JAK2*^{V617F} к уровню аллеля дикого типа *JAK2*^{wt}. Качественного анализа или обычной констатации наличия либо отсутствия данной мутации для полного понимания клинической картины при хМПЗ уже недостаточно.

В 2006 г. при ЭТ была найдена соматическая активирующая точечная мутация гена тромбопоэтинового рецептора *MPL*^{W515L,K}, которая нехарактерна для наследственной формы этого заболевания. Мутация *MPL*^{W515L,K} встречается у 5–10 % больных ЭТ и ИМФ, не имеющих мутации *JAK2*^{V617F}.[78] Исследования *in vitro* показали, что замена триптофана на лейцин или лизин в положении 515 белка MPL приводит к активации регуляторного пути JAK2-STAT, что происходит и в случае мутации *JAK2*^{V617F}. Однако клинические наблюдения показывают, что *MPL*^{W515L,K} приводит к сдвигу в сторону мегакариоцитарного компонента миелопоэза, что свидетельствует о неполном совпадении действий, оказываемых на регуляторные пути мутациями *JAK2*^{V617F} и *MPL*^{W515L,K}.

РЕДКИЕ ВАРИАНТЫ МПЗ

Современная классификация ВОЗ включает в число МПЗ также и более редко встречающиеся патологии миелопоэза: хронический нейтрофильный лейкоз, гиперэозинофильный синдром (ГЭС) или хронический эозинофильный лейкоз (ХЭЛ), а также неклассифицируемые МПЗ.[79] Кроме того, ХММЛ и Ph-отрицательный ХМЛ относят к так называемым миелодиспластическим/миелопролиферативным заболеваниям, т. к. при их возникновении наблюдается как гипер-, так и дисплазия компонентов миелоидного кроветворения. Системный мастоцитоз (СМ) также относят к МПЗ в связи с миелоидным происхождением тучных клеток. Данные заболевания возникают в результате трансформации стволовой кроветворной клетки, что приводит к клональному поражению гемопоэза и гиперплазии клеток миелоидного ростка.

Известные на сегодняшний день молекулярные механизмы развития МПЗ связаны с гиперактивацией тирозинкиназ либо с аномалиями рецепторов цитокинов (рис. 5). Расшифровка этих механизмов началась с выявления при ХМЛ патогенетической роли химерного онкогена *BCR/ABL*, обладающего аномальной тирозинкиназной активностью. Затем была установлена связь ГЭС с хромосомными перестройками, вовлекающими в образование химерных онкогенов рецептор фактора роста фибробластов-1 (*FDFR1*) и рецепторы тромбоцитарных факторов роста α и β (*PDGFRA* и *PDGFB*).[80-82] Кроме того, при СМ была обнаружена мутация

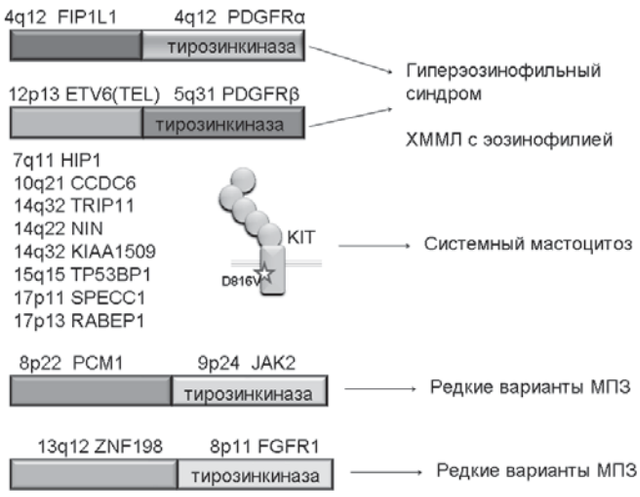


Рис. 5. Варианты мутаций тирозинкиназных генов при МПЗ

рецептора фактора роста стволовых клеток, кодируемого геном *c-KIT* (*c-KIT*^{D816V}).[83]

Рассмотренные выше мутации генов Janus-киназы 2 (*JAK2*) и тромбопоэтинового рецептора *MPL* также затрагивают регуляторные пути, зависящие от тирозинкиназной активности.

ХИМЕРНЫЕ ОНКОГЕНЫ, ОБРАЗОВАННЫЕ ИЗ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ ТИРОЗИНКИНАЗЫ

Ген BCR/ABL при хроническом миелолейкозе

Специфическим маркером ХМЛ является филадельфийская хромосома (Ph), которая возникает в результате реципрокной транслокации t(9;22).[84,85] Почти во всех случаях ХМЛ разрыв хромосомы 22 в гене *BCR* происходит в небольшом локусе M-bcr размером 5,8 т. п. н. Разрыв хромосомы 9 возникает в протяженной 5′-области гена *ABL* длиной более 300 т. п. н.[84] При осуществлении транслокации t(9;22) в составе Ph-хромосомы образуется химерный ген *BCR/ABL*, белковый продукт которого p210 BCR/ABL служит причиной развития ХМЛ.[85,86] С равной частотой при ХМЛ выявляются транскрипционные варианты мРНК *BCR/ABL* типов b2a2 и b3a2, причем в последнем случае белок p210 имеет в своем составе 25 дополнительных аминокислотных остатков, кодируемых экзоном b3 (или e14). Белок p210 BCR/ABL обладает постоянной высокой тирозинкиназной активностью, которая приводит к накоплению дополнительных генетических дефектов и последующей трансформации миелоидных предшественников.[87] Было обнаружено, что N-концевая часть белка BCR способна связываться с доменом SH2 белка ABL.[87,88] Высказывается предположение, что такое взаимодействие может осуществляться и в единой химерной молекуле p210 BCR/ABL. При этом может инактивироваться расположенный поблизости домен SH3, который является негативным регулятором тирозинкиназной функции домена SH1. Однако следует заметить, что известные белки — ингибиторы тирозинкиназной активности ABL связываются непосредственно с доменом SH3 (3BP-1,[89] Abi-2[90]), а не с доменом SH2. Интересно, что белок 3BP-1 имеет некоторое структурное сходство с BCR.[89] Аномальная тирозинкиназная активность белка p210 BCR/ABL приводит к нарушению регуляции многих внутриклеточных сигнальных путей.[90,91]

Трансформирующее влияние онкогена *BCR/ABL* осуществляется многими способами, которые взаимно дополняют друг друга. Белок BCR/ABL реализует свою трансформирующую активность путем фосфорилирования и/или физического связывания с различными регуляторными и адаптерными белками в клетках-предшественницах гематопоэза. В результате этого в опухолевых клетках происходит подавление апоптоза, нарушается их созревание, уменьшается зависимость от ростовых факторов, ослабевает способность к адгезии, изменяется характер миграции. В этот процесс оказываются вовлеченными киназы RAS, P13K/AKT, JNK и SRC, фосфатазы белков и липидов, факторы транскрипции STAT, NF-κB и c-MYC.[92,93] Предполагают, что, действуя на регуляцию транскрипционных факторов BACH2, C/EBPα и C/EBPβ, а также изменяя характер сплайсинга мРНК *Ikaros*, белок p210 BCR/ABL приводит к блоку дифференцировки.[93] Кроме того, этот белок воздействует на процессы гомологичной рекомбинации, репарации, уменьшает защитную роль контрольных точек клеточного цикла, увеличивает опасность окислительного повреждения ДНК. Это приводит к накоплению дополнительных генетических поломок, среди которых описаны мутации генов *TP53*, *RB* и *p16*^{INK4A}, транслокации, вовлекающие гены *CBFA*, *CBFB* и др. При переходе в бластный криз усиливается экспрессия гена *BCR/ABL* и наблюдается гиперэкспрессия некоторых генов, работа которых в хронической фазе ХМЛ подавлена, как и в норме. Так, например, при переходе в фазу акселерации и бластный криз происходит гиперэкспрессия онкомаркера *PRAME*.[94]

Расшифровка молекулярных механизмов ХМЛ создала предпосылки для разработки новых способов терапии этого заболевания. Появление в арсенале гематологов ингибиторов тирозинкиназной активности, специфически подавляющих функцию химерного онкогена *BCR/ABL*, привело к настоящей революции в лечении ХМЛ.[95] Знание регуляторных путей, затрагиваемых онкогеном *BCR/ABL*, расширяет спектр потенциальных молекулярных мишеней для терапии ХМЛ. Изучение антигенных свойств опухолевых клеток стимулирует исследования по созданию схем иммунотерапии ХМЛ. Перспективной мишенью для иммунотерапии ХМЛ является онкомаркер *PRAME*, способный инициировать противоопухолевый ответ, зависящий от активности цитотоксических Т-лимфоцитов.[96]

Ген FIP1L1/PDGFRA и хронический эозинофильный лейкоз

По разным оценкам, от 12 до 47 % случаев ХЭЛ связано с делецией хромосомы 4, в результате которой образуется химерный ген *FIP1L1/PDGFRA*.[97] Конститутивная тирозинкиназная активность соответствующего онкобелка определяется тем, что в его состав входят киназные домены PDGFRA, за исключением регуляторного ингибиторного домена.

Реаранжировки гена PDGFRB при хроническом миеломонобластном лейкозе

Реаранжировка гена *PDGFRB* (5q33) — результат транслокации t(5;12)(q33;p12) — впервые была описана у больных ХММЛ с эозинофилией. Эта транслокация приводит к образованию слитного гена *ETV6/PDGFRB*. Этот вариант перестройки гена *PDGFRB* встречается у больных ХММЛ чаще всего. Однако список генов-партнеров, с которыми *PDGFRB* образует химерные онкогены с повышенной тирозинкиназной активностью, постоянно пополняется. Среди них *HIP1* (7q11), *SPECC1* (17p11), *RABEP1* (17p13), *NIN* (14q22), *KIAA1509* (14q32), *TRIP11* (14q32), *CCDC6* (10q21), *TP53BP1* (15q15).[98] Для повышенной тирозинкиназной активности таких химерных онкобелков необходима олигомеризация, которая осуществляется за счет доменов, кодируемых генами-партнерами PDGFRB.

Химерные онкогены, в образовании которых участвует FGFR1

Ген рецептора фактора роста фибробластов *FGFR1* (8q11) участвует в реаранжировках с множеством генов-партнеров, среди которых *ZNF198* (13q12), *BCR* (22q11), *TRIM24* (7q32), *CEP1* (9q33), *LOC113386* (19q13.3), *MYO18A* (17q11), *FGFR10P* (6q27), *FGFR10P2* (11q22). В результате образуются химерные белки, которые олигомеризуются путем нековалентного связывания доменов, кодируемых генами-партнерами *FGFR1*. Образование олигомерных комплексов приводит к постоянной и высокой тирозинкиназной активности доменов FGFR1, входящих в состав этих химерных белков. Многие из генов-партнеров *FGFR1* кодируют белки центросомы, для которых характерно образование олигомерных комплексов. Высказано предположение о том, что и химерные белки, составленные из белков центросомы и FGFR1, могут включаться в состав центросомы, приводя к дестабилизации этой внутриклеточной органеллы, что влечет за собой нарушение регуляции клеточного цикла. Чаще всего ген *FGFR1* перестраивается в результате транслокации t(8;13)(p11;q12), которая приводит к образованию химерного онкогена *ZNF198/FGFR1*.[98]

Химерные онкогены с участием JAK2

Описано три транслокации, вовлекающие ген *JAK2*: t(8;9)(p22;p24), t(9;22)(p24;q11) и t(9;12)(p24;p13), которым соответствуют химерные онкогены *PCM1/JAK2*, *BCR/JAK2* и *ETV6/JAK2*.[99-101] Ген *PCM1/JAK2* обнаруживается чаще всего при атипичном ХМЛ, МПЗ/МДС, ХЭЛ, эритролейкозе, ОМЛ, пре-В-ОЛЛ и при Т-клеточной лимфоме. Описано несколько случаев типичного ХМЛ с обнаружением химерного онкогена *BCR/JAK2*. Химерный онкоген *ETV6/JAK2* выявляется при атипичном ХМЛ, при Т- и В-ОЛЛ. Для этих химерных белков также характерна аномальная тирозинкиназная активность.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА МПЗ

Для выявления химерных онкогенов, характерных для МПЗ, используют метод ОТ-ПЦР как в классическом варианте, позволяющем получить информацию о наличии или отсутствии анализируемого маркера, так и в модификации этого метода, которая предусматривает проведение ПЦР в режиме реального времени. ПЦР в реальном времени позволяет количественно оценивать уровень исследуемого онкомаркера, что дает возможность правильно судить об эффективности используемой терапевтической тактики и вовремя изменять схему лечения, если ответ оказывается недостаточным.

Точечные мутации *JAK2*^{V617F} и *MPL*^{W515L,K}, микроделеции экзона 12 гена *JAK2* при хМПЗ, а также точечную мутацию *c-KIT* ^{D816V} при СМ определяют с помощью ПЦР с последующим секвенированием ампликонов. Кроме того, для выявления данных генетических дефектов применяют системы ПЦР с использованием аллель-специфических праймеров, способных различить мутантные варианты этих генов и структуры дикого типа. Для определения аллельной нагрузки проводят ПЦР в реальном времени с использованием аллель-специфических праймеров или зондов либо исследует высоту пиков электрофореграммы, полученной при прямом секвенировании ампликонов. При этом высоту пиков, соответствующих норме или патологии, сравнивают с высотой соседнего пика, соответствующего основанию, которое не бывает вовлечено в мутационный процесс при данных заболеваниях.

Несколько реже для молекулярной диагностики МПЗ применяют высокоразрешающий анализ кривых плавления продуктов ПЦР-амплификации, пиросеквенирование, высокоэффективную жидкостную хроматографию в денатурирующих условиях, тандемную масс-спектрометрию и ДНК-микрочипы, что связано с недостаточно широким распространением данных методик в лабораториях, проводящих рутинные исследования.

Современные данные о молекулярном патогенезе МПЗ позволяют составить оптимальный алгоритм молекулярной диагностики этих заболеваний (рис. 6).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, молекулярный патогенез хМПЗ и других МПЗ связан с соматическими мутациями регуляторных генов, обладающих тирозинкиназной активностью. Это наблюдение служит веским аргументом в пользу того, что при дальнейшем изучении молекулярных причин возникновения, развития, а также клинического разнообразия МПЗ следует уделять особое внимание генам, кодирующим тирозинкиназы. При разработке новых способов лечения МПЗ особо перспективными кандидатами на роль терапевтических агентов считаются низкомолекулярные соединения, обладающие свойствами ингибиторов тирозинкиназной активности. И наконец, важными молекулярными маркерами для диагностики МПЗ служат гены тирозинкиназ, список которых и сейчас уже достаточно обширен, но, по всей видимости, далеко еще не полон.

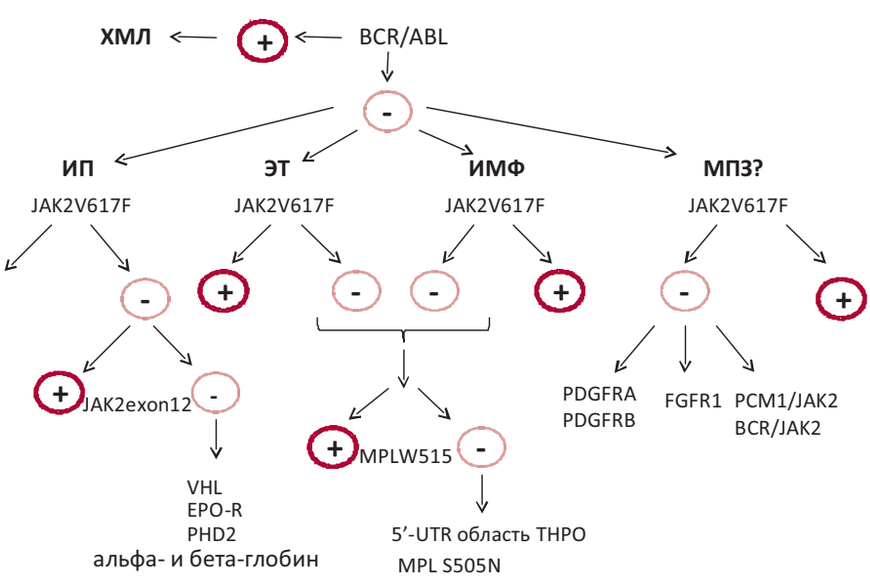


Рис. 6. Алгоритм молекулярной диагностики МПЗ. Определение химерного онкогена *BCR/ABL* позволяет провести дифференциальный анализ ХМЛ и Ph-отрицательных МПЗ. Если в случае Ph-отрицательных МПЗ мутация *JAK2*^{V617F} не найдена, то в случае ИП следует осуществить поиск мутаций в экзоне 12 гена *JAK2*, а при ЭТ и ИМФ — мутаций *MPL*^{W515L,K}. В случае отрицательного результата следует исключить возможность наследственных дефектов генов *VHL, EPO-R, PHD2, THPO, MPL* и генов глобинов. При редких видах МПЗ, негативных по *JAK2*^{V617F}, целесообразно осуществить поиск химерных онкотирозинкиназ

ЛИТЕРАТУРА

1. *Dameshek W.* Some speculations on the myeloproliferative syndromes. Blood 1951; 6: 372–5.

2. *Tefferi A., Vardiman J.W.* Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. Leukemia 2008; 22: 14–22.

3. *Heuck G.* Two cases of leukemia with peculiar blood and bone marrow findings, respectively. Arch. Pathol. Anat. 1879; 78: 475–96.

4. *Vaquez H.* On a special form of cyanosis accompanied by excessive and persistent erythrocytosis. Comp. Rend. Soc. Biol. 1892; 12: 384–8.

5. *Osler W.* Chronic cyanosis with polycythaemis and enlarged spleen: a new entity. Am. J. Med. Sci. 1903; 126: 187–92.

6. *Epstein E., Goedel A.* Hemorrhagic thrombocythemia with a cascular, sclerotic spleen. Virchows Arch. 1934; 293: 233–48.

7. *Adamson J.W., Fialkow P.J., Murphy S.* et al. Polycythemia vera: stem-cell and probable clonal origin of the disease. N. Engl. J. Med. 1976; 295: 913–6.

8. *Fialkow P.J., Faguet G.B., Jacobson R.J.* et al. Evidence that essential thrombocythemia is a clonal disorder with origin in a multipotent stem cell. Blood 1981; 58: 916–9.

9. *el-Kassar N., Hetet G., Briere J., Grandchamp B.* Clonality analysis of hematopoiesis in essential thrombocythemia: advantages of studying T lymphocytes and platelets. Blood 1997; 89: 128–34.

10. *Kralovics R., Guan Y., Prchal J.T.* Acquired uniparental disomy of chromosome 9p is a frequent stem cell defect in polycythemia vera. Exp. Hematol. 2002; 30: 229–36.

11. *Spivak J.L.* The chronic myeloproliferative disorders: clonality and clinical heterogeneity. Semin. Hematol. 2004; 41(Suppl. 3): 1–5.

12. *Prchal J.F., Axelrad A.A.* Bone-marrow responses in polycythemia vera. N. Engl. J. Med. 1974; 290: 1382.

13. *Westwood N.B., Pearson T.C.* Diagnostic applications of haematopoietic progenitor culture techniques in polycythemias and thrombocythaemias. Leuk. Lymph. 1996; 22(Suppl. I): 95–103.

14. *Weinberg R.S.* In vitro erythropoiesis in polycythemia vera and other myeloproliferative disorders. Semin. Hematol. 1997; 34: 64–9.

15. *Dai C.H., Krantz S.B., Dessypris E.N.* et al. Polycythemia vera. II. Hypersensitivity of bone marrow erythroid, granulocyte-macrophage, and megakaryocyte progenitor cells to interleukin-3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Blood 1992; 80: 891–9.

16. *Correa P.N., Eskinaz D., Axelrad A.A.* Circulating erythroid progenitors in polycythemia vera are hypersensitive to insulin-like growth factor-1 in vitro: studies in an improved serum-free medium. Blood 1994; 83: 99–112.

17. *Ebert B.L., Bunn H.E.* Regulation of the erythropoietin gene. Blood 1999; 94: 1864–77.

18. *Cockman M.E., Pugh C.W.* Oxygen sensing. Haematologica 2005; 90: 8–12.

19. *Semenza G.L.* Life with oxygen. Science 2007; 318: 62–4.

20. *Semenza G.L.* Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) pathway. Sci STKE 2007: cm8.

21. *D'Andrea A.D., Zon L.I.* Erythropoietin receptor. Subunit structure and activation. J. Clin. Invest. 1990; 86: 681–7.

22. *Aaronson D.S., Horvath C.M.* A road map for those who don't know JAK-STAT. Science 2002; 296: 1653–5.

23. *Roder S., Steimle C., Meinhardt G., Pahl H.L.* STAT3 is constitutively active in some patients with Polycythemia rubra vera. Exp. Hematol. 2001; 29: 694–702.

24. *Moliterno A.R., Hankins W.D., Spivak J.L.* Impaired expression of the thrombopoietin receptor by platelets from patients with polycythemia vera. N. Engl. J. Med. 1998; 338: 572–80.

25. *Horikawa Y., Matsumura I., Hashimoto K.* et al. Markedly reduced expression of platelet c-mpl receptor in essential thrombocythemia. Blood 1997; 90: 4031–8.

26. *Sergueeva A.I., Miasnikova G.Y., Okhotin D.J.* et al. Elevated homocysteine, glutathione and cysteinylglycine concentrations in patients homozygous for the Chuvash polycythemia VHL mutation. Haematologica 2008; 93(2): 279–82.

27. *Gordeuk V.R., Stockton D.W., Prchal J.T.* Congenital polycythemias/erythrocytoses. Haematologica 2005; 90: 109–16.

28. *Bento M.C., Chang K.T., Guan Y.* et al. Congenital polycythemia with homozygous and heterozygous mutations of von Hippel-Lindau gene: five new Caucasian patients. Haematologica 2005; 90: 128–9.

29. *Randi M.L., Murgia A., Putti M.C.* et al. Low frequency of VHL mutations in young individuals with polycythemia and high serum erythropoietin. Haematologica 2005; 90: 689–91.

30. *Cario H., Schwarz K., Jorch N.* et al. Mutations in the von Hippel-Lindau (VHL) tumor suppressor gene and VHL-haplotype analysis in patients with presumable congenital erythrocytosis. Haematologica 2005; 90: 19–24.

31. *Watowich S.S., Xie X., Klingmuller U.* et al. Erythropoietin receptor mutations associated with familial erythrocytosis cause hypersensitivity to erythropoietin in the heterozygous state. Blood 1999; 94: 2530–2.

32. *Wiestner A., Schlemper R.J., van der Maas A.P., Skoda R.C.* An activating splice donor mutation in the thrombopoietin gene causes hereditary thrombocythaemia. Nature Genet. 1998; 18: 49–52.

33. *Ghilardi N., Wiestner A., Kikuchi M., Oshaka A., Skoda R.C.* Hereditary thrombocythemia in a Japanese family is caused by a novel point mutation in the thrombopoietin gene. Br. J. Haematol. 1999; 107: 310–6.

34. *Kondo T., Okabe M., Sanada M.* et al. Familial essential thrombocythemia associated with one-base deletion in the 5′-untranslated region of the thrombopoietin gene. Blood 1998; 92: 1091–6.

35. *Jorgensen M.J., Raskind W.H., Wolff J.F.* et al. Familial thrombocytosis associated with overproduction of thrombopoietin due to a novel splice donor site mutation. Blood 1998; 92(Suppl. 1): 205a.

36. *Ghilardi N., Wiestner A., Skoda R.C.* Thrombopoietin production is inhibited by a translational mechanism. Blood 1998; 92: 4023–30.

37. *Ghilardi N., Skoda R.C.* A single-base deletion in the thrombopoietin (TPO) gene causes familial essential thrombocytosis through a mechanism of more efficient translation of TPO mRNA. Blood 1999; 94: 1480–2.

38. *Cazzola M., Skoda R.C.* Translational pathophysiology: a novel molecular mechanism of human disease. Blood 2000; 95: 3280–8.

39. *Liu K., Kralovich R., Rudzki Z.* et al. A de novo splice donor mutation in the thrombopoietin gene causes hereditary thrombocythemia in a Polish family. Haematologica 2008; 93(5): 706–14.

40. *Ding J., Komatsu H., Wakita A.* et al. Familial essential thrombocythemia associated with a dominant-positive activating mutation of the c-MPL gene, which encodes for the receptor for thrombopoietin. Blood 2004; 103: 4198–200.

41. *Wiestner A., Padosch S.A., Grilardi N.* et al. Hereditary thrombocythaemia is a genetically heterogeneous disorder: exclusion of TPO and MPL in two families with hereditary thrombocythaemia. Br. J. Haematol. 2000; 110: 104–9.

42. *Michiels J.J.* Clinical, pathological and molecular features of the chronic myeloproliferative disorders: MPD 2005 and beyond. Hematology 2005; 10(Suppl. 1): 215–23.

43. *Bench A.J., Nacheva E.P., Champion K.M., Green A.R.* Molecular genetics and cytogenetics of myeloproliferative disorders. Baillieres Clin. Haematol. 1998; 11: 819–48.

44. *Bench A.J., Nacheva E.P., Hood T.L.* et al. Chromosome 20 deletions in myeloid malignancies: reduction of the common deleted region, generation of a PAC/BAC contig and identification of candidate genes. UK Cancer Cytogenetics Group (UKCCG). Oncogene 2000; 19: 3902–13.

45. *Chen Z., Notohamiprodjo M., Guan X.Y.* Gain of 9p in the pathogenesis of polycythemia vera. Genes Chromos. Cancer 1998; 22: 321–4.

46. *Najfeld V., Montella L., Scalise A., Fruchtman S.* Exploring polycythaemia vera with fluorescence in situ hybridization: additional cryptic 9p is the most frequent abnormality detected. Br. J. Haematol. 2002; 119: 558–66.

47. *Steensma D.P., Tefferi A.* Cytogenetic and molecular genetic aspects of essential thrombocythemia. Acta Haematol. 2002; 108: 55–65.

48. *Reilly J.T., Snowden J.A., Spearing R.L.* et al. Cytogenetic abnormalities and their prognostic significance in idiopathic myelofibrosis: a study of 106 cases. Br. J. Haematol. 1997; 98: 96–102.

49. *Demory J.L., Dupriez B., Fenaux P.* et al. Cytogenetic studies and their prognostic significance in agnogenic myeloid metaplasia: a report on 47 cases. Blood 1988; 72: 855–9.

50. *Tefferi A., Mesa R.A., Schroeder G.* et al. Cytogenetic findings and their clinical relevance in myelofibrosis with myeloid metaplasia. Br. J. Haematol. 2001; 113: 763–71.

51. *Reilly J.T.* Cytogenetic and molecular genetic abnormalities in agnogenic myeloid metaplasia. Sem. Oncol. 2005; 32: 359–64.

52. *Li J., Bench A.J., Vassiliou G.S.* et al. Imprinting of the human L3MBTL gene, a polycomb family member located in a region of chromosome 20 deleted in human myeloid malignancies. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 2004; 101: 7341–6.

53. *Temerinac S., Klippel S., Strunck E.* et al. Cloning of PRV-1, a novel member of the uPAR receptor superfamily, which is overexpressed in polycythemia rubra vera. Blood 2000; 95(8): 2569–76.

54. *Teofili L., Martini M., Luongo M.* et al. Overexpression of the polycythemia rubra vera-1 gene in essential thrombocythemia. J. Clin. Oncol. 2002; 20(20): 4249–54.

55. *Klippel S., Pahl H.L.* Molecular markers for the diagnosis of Philadelphia chromosome negative myeloproliferative disorders. Pathol. Biol. (Paris) 2004; 52(5): 267–74.

56. *Tefferi A., Lasho T.L., Wolanskyj A.P., Mesa R.A.* Neutrophil PRV-1 expression across the chronic myeloproliferative disorders and in secondary or spurious polycythemia. Blood 2004; 103(9): 3547–8.

57. *Teofili L., Martini M., Guidi F.* et al. The PRV-1 gene expression in essential thrombocythemia. Blood 2004; 104(9): 2995–6.

58. *Vannucchi A.M., Grossi A., Pancrazzi A.* et al. PRV-1, erythroid colonies and platelet Mpl are unrelated to thrombosis in essential thrombocythaemia. Br. J. Haematol. 2004; 127(2): 214–9.

59. *Tefferi A., Barbui T.* Bcr/abl-negative, classic myeloproliferative disorders: diagnosis and treatment. Mayo Clin. Proc. 2005; 80(9): 1220–32.

60. *Baxter E.J., Scott L.M., Campbell P.J.* et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. Lancet 2005; 365(9464): 1054–61.

61. Levine R.L., Wadleigh M., Cools J., Wlodarska I. et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. Cancer Cell. 2005; 7(4): 387–97.

62. *James C., Ugo V., Le Couedic J.P.* et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signaling causes polycythaemia vera. Nature 2005; 434: 1144–8.

63. *Kralovics R., Passamonti F., Buser A.S.* et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. N. Engl. J. Med. 2005; 352: 1779–90.

64. *Tefferi A., Sirhan S., Lasho T.L.* et al. Concomitant neutrophil JAK2 mutation screening and PRV-1 expression analysis in myeloproliferative disorders and secondary polycythaemia. Br. J. Haematol. 2005; 131(2): 166–71.

65. *Tutaeva V., Misurin A.V., Michiels J.J.* et al. Application of PRV-1 mRNA expression level and JAK2V617F mutation for the differentiating between polycytemia vera and secondary erythrocytosis and assessment of treatment by interferon or hydroxyurea. Hematology 2007; 12(6): 473–9.

66. *Scott L.M., Tong W., Levine R.L.* et al. JAK2 Exon 12 Mutations in Polycythemia Vera and Idiopathic Erythrocytosis. N. Engl. J. Med. 2007; 356(5): 459–68.

67. *Mercher T., Wernig G., Moore S.A.* et al. JAK2T875N is a novel activating mutation that results in myeloproliferative disease with features of megakaryoblastic leukemia in a murine bone marrow transplantation model. Blood 2006; 108: 2770–9.

68. *Malinge S., Ben-Abdelali R., Settegrana C.* et al. Novel activating JAK2 mutation in a patient with Down syndrome and B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. Blood 2007; 109: 2202–4.

69. *Walz C., Crowley B., Hudon H.* et al. Activated JAK2 with the V617F point mutation promotes G1/S-phase transition. J. Biol. Chem. 2006; 281: 18177–83.

70. *Zecca M., Bergamaschi G., Kratz C.* et al. JAK2 V617F mutation is a rare event in juvenile myelomonocytic leukemia. Leukemia 2007; 21(2): 367–9.

71. *Bornhauser M., Mohr B., Oelschlaegel U.* et al. Concurrent JAK2(V617F) mutation and BCR-ABL translocation within committed myeloid progenitors in myelofibrosis. Leukemia 2007; 21(8): 1824–6.

72. *Delhommeau F., Dupont S., Tonetti C.* et al. Evidence that the JAK2 G1849T (V617F) mutation occurs in a lymphomyeloid progenitor in polycythemia vera and idiopathic myelofibrosis. Blood 2007; 109(1): 71–7.

73. *Moliterno A.R., Williams D.M., Rogers O.* et al. Phenotypic variability within the JAK2 V617F-positive MPD: roles of progenitor cell and neutrophil allele burdens. Exp. Hematol. 2008; 36(11): 1480–6.

74. *Vannucchi A.M., Pancrazzi A., Bogani C.* et al. A quantitative assay for JAK2(V617F) mutation in myeloproliferative disorders by ARMS-PCR and capillary electrophoresis. Leukemia 2006; 20(6): 1055–60.

75. *Wolstencroft E., Hanlon K., Harries L.* et al. Development of a Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay for the Detection of the JAK2 V617F Mutation. J. Mol. Diagn. 2007; 9: 42–6.

76. *Kroger N., Badbaran A., Holler E.* et al. Monitoring of the JAK2-V617F mutation by highly sensitive quantitative real-time PCR after allogeneic stem cell transplantation in patients with myelofibrosis. Blood 2007; 109: 1316–21.

77. *Pardanani A.D., Levine R.L., Lasho T.* et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. Blood 2006; 108: 3472–6.

78. *Tefferi A., Vardiman J.W.* Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. Leukemia 2008; 22: 14–22.

79. *Golub T.R., Barker G.F., Lovett M., Gilliland D.G.* Fusion of PDGF receptor beta to a novel ets-like gene, tel, in chronic myelomonocytic leukemia with t(5;12) chromosomal translocation. Cell 1994; 77: 307–16.

80. *Reiter A., Sohal J., Kulkarni S.* et al. Consistent fusion of ZNF198 to the fibroblast growth factor receptor-1 in the t(8;13)(p11;q12) myeloproliferative syndrome. Blood 1998; 92: 1735–42.

81. *Cools J., DeAngelo D.J., Gotlib J.* et al. A tyrosine kinase created by fusion of the PDGFRA and FIP1L1 genes as a therapeutic target of imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome. N. Engl. J. Med. 2003; 348: 1201–14.

82. *Nagata H., Worobec A.S., Oh C.K.* et al. Identification of a point mutation in the catalytic domain of the protooncogene c-kit in peripheral blood mononuclear cells of patients who have mastocytosis with an associated hematologic disorder. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1995; 92: 10560–4.

83. *Nowell P.C., Hungerford D.A.* Chromosomal studies on normal and leukemic human leukocytes. J. Natl. Cancer Inst. 1960; 25: 85–109.

84. *Rowley J.D.* Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. Nature 1973; 243: 290–3.

85. *Davis R., Konopka J., Witte O.* Activation of the c-abl oncogene by viral transduction or chromosomal translocation generates altered c-abl proteins with similar in vitro kinase properties. Mol. Cell. Biol. 1985; 5: 204–13.

86. *Muller A.J., Young J.C., Pendergast A.M.* et al. BCR first exone sequences specifically activate the BCR/ABL thyrosine kinase oncogene in Ph'-positive human leukemias. Mol. Cell. Biol. 1991; 11: 1785–92.

87. *Pendergast A., Quilliam L., Cripe L.* et al. BCR-ABL-induced oncogenesis is mediated by direct interaction with the SH2 domain of the GRB-2 adaptor protein. Cell 1993; 75: 175–85.

88. *Cicchetti P., Mayer B., Thiel G., Baltimore D.* Identification of a protein that binds to the SH3 region of Abl and is similar to Bcr and GAP-rho. Science 1992; 257: 803–6.

89. *Dai Z., Pendergast M.* Abi-2, a novel SH3-containing protein interacts with the c-Abl tyrosine kinase and modulates c-Abl transforming activity. Genes Develop. 1995; 9: 2569–82.

90. *Barnes D.J., Melo J.V.* Cytogenetic and Molecular Genetic Aspects of Chronic Myeloid Leukaemia. Acta Haematol. 2002; 108: 180–202.

91. *Goldman J.M., Melo J.V.* Chronic Myeloid Leukemia — Advances in Biology and New Approaches to Treatment. N. Engl. J. Med. 2003; 349: 1451–64.

92. *Quintas-Cardama A., Cortes J.* Molecular biology of bcr-abl1-positive chronic myeloid leukemia. Blood 2009; 113: 1619–30.

93. *Radich J.P., Dai H., Mao M.* et al. Gene expression changes associated with progression and response in chronic myeloid leukemia. PNAS 2006; 103: 2794–9.

94. *Peggs K., Mackinnon S.* Imatinib Mesylate — The New Gold Standard for Treatment of Chronic Myeloid Leukemia. N. Engl. J. Med. 2003; 348: 1048–50.

95. *Greiner J., Schmitt M.* Current status of peptide vaccines for cancer immunotherapy in malignant myeloid diseases. Memo 2008; 1: 223–6.

96. *Pardanani A., Brockman S.R., Paternoster S.F.* et al. FIP1L-PDGFRA fusion: prevalence and clinicopathologic correlates in 89 consecutive patients with moderate to severe eosinophilia. Blood 2004; 104: 3038–45.

97. *De Keermecker K., Cools J.* Chronic myeloproliferative disorders: a tyrosine kinase tale. Leukemia 2006; 20: 200–5.

98. *Reiter A., Walz C., Watmore A.* et al. The t(8;9)(p22;p24) is a recurrent abnormality in chronic and acute leukemia that fuses PCM1 to JAK2. Cancer Res. 2005; 65: 2662–7.

99. *Griesinger F., Hennig H., Hillmer F.* et al. A BCR-JAK2 fusion gene as the result of a t (9;22)(p24;q11.2) translocation in a patient with clinically typical chronic myeloid leukemia. Genes Chromos. Cancer 2005; 44: 329–33.

100. *Bohlander S.K.* Fusion genes in leukemia: an emerging network. Cytogenet. Cell. Genet. 2000; 91(1–4): 52–6.

Кариотип клеток костного мозга при рецидивах острого миелоидного лейкоза у детей

Е.В. Флейшман [1], *О.И. Сокова* [1], *А.В. Попа* [1], *М.М. Шнейдер* [2], *Л.Н. Константинова* [1], *О.П. Кириченко* [1], *Н.Ф. Метелькова* [1]

Р Е Ф Е Р А Т

Изучали особенности кариотипа лейкозных клеток при рецидивах острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) у детей. Результаты хромосомного анализа клеток костного мозга у 290 детей, обследованных до начала инициального лечения, сопоставлены с результатами, полученными при обследовании 39 больных в начале рецидива. В большинстве случаев рецидивы характеризовались разнообразными клоновыми изменениями хромосом. Эволюция кариотипа наблюдалась более чем в половине (61,9%) случаев, изученных как до начала инициального лечения, так и во время рецидива. Эволюция происходила за счет изменений, которые редко наблюдаются при постановке диагноза ОМЛ. Кроме того, она часто приводила к усложнению кариотипа: во время рецидивов доля случаев с одной или двумя аномалиями стала меньше (38,5 вместо 62,7%), а число больных со сложным кариотипом (3 аномалии и более) возросло (42,1 вместо 17,2%; $p = 0,000$). Как известно, сложный кариотип относят к цитогенетическим критериям неблагоприятного прогноза. Возможно, низкая эффективность лечения рецидивов в ряде случаев связана с усложнением кариотипа. Частоту полных вторых ремиссий в зависимости от исходного кариотипа изучали в группе 46 больных с рецидивами, у которых цитогенетические исследования были сделаны при постановке диагноза. Пациенты были разделены на три подгруппы согласно классификации MRC (1998): 1) благоприятного прогноза, 2) промежуточного прогноза и 3) плохого прогноза. Частота полных вторых ремиссий в этих подгруппах составила соответственно 15 (78,9%) из 19, 12 (60%) из 20 и 3 (42,8%) из 7. Различия между 1-й и 3-й подгруппой оказались достоверными ($p = 0,029$). Таким образом, подтверждены данные литературы о прогностическом значении исходного кариотипа при лечении рецидивов.

Ключевые слова

острый миелоидный лейкоз у детей, рецидив, хромосомные аномалии.

Karyotype of bone marrow cells at relapses of pediatric acute myeloid leukemia

E.W.Fleischman [1], *O.I. Sokova* [1], *A.V. Popa* [1], *M.M.Shneider* [2], *L.N. Konstantinova* [1], *O.P.Kirichenko* [1], *N.F. Metelkova* [1]

SUMMARY

Karyotype abnormalities in bone marrow cells at relapses of pediatric acute myeloid leukemia (AML) has been studied. A comparison of chromosome characteristics at diagnosis (290 children) and at relapse (39 patients) was performed. In the majority of the cases cell clones with various abnormalities have been found. Karyotype evolution was observed in more than half of cases (61.9%) studied at diagnosis as well as at relapse. Additional chromosome abnormalities detected at relapses were not typical for pretreatment AML. A complex karyotype was frequently appeared as a result of the evolution. At relapses a proportion of cases with one-two chromosome abnormalities decreased (38.5% instead of 62.7%) but proportion of cases with complex karyotype increased (42.1% instead 17.2%, $p = 0.000$). Complex karyotype is known as cytogenetic criterion of adverse prognosis. Possibly poor treatment outcome of relapsed patients is partly connected with complex karyotype. Dependence of complete remission (CR) rate from initial karyotype was studied in cohort of cases (46 relapsed patients) whose karyotype was analysed at diagnosis. Accordingly to MRC classification (1998) the cohort was divided into three groups: good-risk, intermediate-risk and poor-risk. Second CR was achieved in 15 out of 19 patients of the first group (78.9%), in 12 out of 20 (60%) of the second group and in 3 out of 7 (42.8%) of the third group. The distinction between the first and the third group was statistically significant ($p = 0.029$). Thus we confirmed that the outcome of relapse treatment certainly depends on karyotype at diagnosis.

Keywords:
pediatric acute myeloid leukemia, relapse, chromosome abnormalities.

[1] N.N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, Moscow
[2] Research Institute of Pediatric Hematology Russian Federation Health Ministry, Moscow

Контакты: elefle@gmail.com

Принято в печать: 27 июня 2009 г.

ВВЕДЕНИЕ

Современное лечение острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) позволяет получить полные гематологические ремиссии примерно у 80% пациентов,[1-4] однако продолжительность жизни большинства из них все еще остается короткой из-за развития фатальных рецидивов.[2,5,6] Изучение механизмов возникновения рецидивов и повышение эффективности их лечения относятся к числу самых актуальных задач лейкозологии.

Установлено, что в основе рецидива лежит размножение лейкозных клеток, выживших после проведения терапии и не выявляемых при стандартном морфологическом исследовании во время полной ремиссии. Эти клетки называют «дремлющими». У одних пациентов они могут находиться в неак-

[1] РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва
[2] НИИ детской гематологии Минздравсоцразвития РФ, Москва

тивном состоянии в течение длительного времени (до 10 лет и более), у других — дают начало рецидиву уже на 2–3-м месяце гематологической ремиссии. Присутствие в организме пациента минимального количества лейкозных клеток, оставшихся после проведения терапии и сохраняющихся во время гематологической ремиссии, обозначается как минимальная остаточная болезнь.[7,8] Пока неясно, какие именно изменения «дремлющих» клеток способствуют их переходу в активное состояние. Нельзя исключить определенную связь между риском рецидива и хромосомными перестройками, как существовавшими в злокачественных клетках до начала лечения, так и возникшими позже.

Нарушения кариотипа при ОМЛ изучаются уже более полувека. Они тесно связаны с основными биологическими характеристиками лейкозных клеток, предопределяющими течение заболевания и чувствительность к терапевтическим воздействиям. Во время рецидивов нередко наблюдается так называемая эволюция кариотипа: в лейкозных клетках возникают новые хромосомные изменения — результат опухолевой прогрессии.[4,9-11] Вопрос о клиническом значении эволюции кариотипа при рецидивах ОМЛ требует дальнейшего изучения.

В настоящей работе проведено сравнение особенностей кариотипа клеток костного мозга при ОМЛ у детей до начала лечения и во время рецидивов и обнаружены определенные различия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Хромосомный анализ пунктатов костного мозга проведен у 308 детей с ОМЛ в возрасте от 0 до 16 лет. Мальчиков было 181, девочек — 127. В это число не вошли дети с синдромом Дауна. До начала лечения обследовано 290 пациентов, только в рецидиве — 18 детей. В общей сложности непосредственно во время рецидива (до проведения противорецидивной терапии) изучен кариотип лейкозных клеток у 39 детей. Сведения о них представлены в табл. 1.

Таблица 1. Данные цитогенетических исследований у больных во время рецидива

Пациент		Пол/ возраст, лет	Кариотип при постановке диагноза (до начала лечения)	Срок рецидива, мес.	Кариотип в рецидиве (до начала противорецидивного лечения)	ТГСК во 2-й ремиссии	Длительность 2-й ремиссии, мес.
№	Шифр						
1	Ис	М/5	45,X(-Y), t(8;21)	3	idem, del(2)(p13)	Нет	Нет
2	Сд	М/7	47,XY, +21, 15q-, 6q-	10	47,XY, -5, +21, +8q-,15q-	Нет	Нет
3	Мх	Ж/1	46,XX, inv(16)(p13;q22)	11	46,XX, inv(16)(p13;q22)	Алло-ТГСК (н/род.)	39+
4	Гг	Ж/12	46,XX, t(8;21), 9q-,11q-	11	idem, +16,t(7;19)(q11;q13)	Алло-ТГСК (род.)	41+
5	Кл	М/11	46,XY, t(6;11)(q27;q23)	11	46,XY, t(6;11)(q27;q23)	Алло-ТГСК (н/род.)	26
6	Мг	М/2	46,XY, t(8;21)	12	45,X(-Y), t(8;21)	Алло-ТГСК (н/род.)	32
7	Чг	Ж/9	46,XY, t(8;21)	12	idem, t(9;?)(q34;?), 4p-	Нет	7
8	Хн	Ж/13	46,XX, t(9;11)(p22;q23)	12	idem, -8, t(2)(p;?), t(2)(q;?)	Алло-ТГСК (н/род.)	13
9	Рд	М/6	НД	3	45,X(-Y), t(2;8;21), 10q+	Нет	Нет
10	Мк	М/4	НД	3	47,XY, t(10;11), +der(17p)	Нет	Нет
11	Рх	Ж/2	НД	3	46,XX, del(12q), 14p+	Нет	Нет
12	Кр	М/7	НД	6	49,XY, +8, +19, +mark	Нет	Нет
13	Як	Ж/9	НД	8	46,XX	Гапло-ТГСК	6
14	Сх	Ж/3	НД	9	46,XX, add(7q)	Нет	3
15	Пм	М/2	НД	11	46,XY	Гапло-ТГСК	Нет
16	Рп	М/15	НД	12	46,XX	Гапло-ТГСК	72+
17	Ср	Ж/15	НД	12	46,XX, 1p+, 12p-, 13q-	Нет	Нет
18	Ст	Ж/9	НД	12	48,XX, +8, +13, t(6;9)	Нет	Нет
19	Кс	Ж/7	НД	12	46,XX, t(6;7)	Гапло-ТГСК	9
20	Гт	Ж/12	46,XX, t(16;21)(p11;q21)	14	46,XX, t(16;21)(p11;q21)	ПХТ	4
21	Шх	Ж/5	46,XX	14 32	46,XX 46,XX, -5, +t(5;12)	Гапло-ТГСК	18
22	Кз	М/10	46,XY, t(3;12)(q26,p13)	14	idem, t(5;17), del(11)	Гапло-ТГСК	11+
23	Мз	Ж/10	46,XX, t(8;21)	15	46,XX, t(8;21)	Нет	Нет
24	Мт	М/15	46,XY	17	46,XY	Алло-ТГСК (род.)	89+
25	Рм	М/9	45,X(-Y), t(8;21)	20	45,X(-Y), t(8;21)	Нет	6
26	Ск	М/8	46,XY, t(10;11)(q22;q23)	20	46,XY, t(10;11)(q22;q23)	Алло-ТГСК (н/род.)	10
27	Мс	М/9	47,XY, +21	22	47,XY	Гапло-ТГСК	1
28	Лт	М/15	47,XY, +8, t(11;16)	23	idem, +19	ПХТ	5
29	Ег	Ж/10	45,X(-X), t(8;21), del(9q)	27	idem, der(16)	Ауто-ТГСК	5
30	Аб	Ж/14	45,X(-X), t(8;21)	28 36	НД idem, t(11;16)(q13;p13)	Ауто-ТГСК	7
31	Ст	М/13	48,XY, inv(16),+8,+22	37	46,XY, inv(16), ins/inv(17)(p13;q23-q21)	Нет	2
32	Бх	М/2	46,XY	89	46,XY	Ауто-ТГСК	36+
33	Рг	М/7	НД	18	45,X(-Y), t(8;21)	Алло-ТГСК (н/род.)	22
34	Гр	М/4	НД	18	46,XY, t(8;21), 19q+, m	Гапло-ТГСК	7
35	Км	М/9	НД	18	46,XY, inv(16), del(7)(q32), del(14)(q31)	Ауто-ТГСК	11
36	Ян	М/6	НД	19	46,XY, 7 разных аномалий	Алло-ТГСК (род.)	37+
37	Хч	М/10	НД	20	46,XY, del(15)(q14)	Ауто-ТГСК	6
38	Кв	Ж/10	НД	24	45,X(-X), t(8;21), der(1), 5q-, 9q-	Ауто-ТГСК	5
39	Ал	Ж/15	НД	40	46,XX, inv(16), del(7)(q22)	Нет	3+

Больные (см. табл. 1) разделены на две группы: в первую вошло 19 пациентов с рецидивами, возникшими в течение первого года от времени постановки диагноза, во вторую — с более поздними рецидивами. В 38 случаях это был первый рецидив, у одной пациентки (Аб, № 30) кариотип исследован только во время второго рецидива и еще у одной (Шх, № 21) — и в первом, и во втором рецидиве.

Пациенты получали лечение в детских гематологических отделениях г. Москвы по нескольким программам. До 1991 г. больные лечились по программе «7 + 3». Начиная с 1991 г. больные получали терапию, состоявшую из интенсивной индукции ремиссии с дальнейшим постиндукционным лечением, которое включало 3–4 курса химиотерапии (HAM, FLAG, ClAG, HAE). Противорецидивное лечение было основано на 2–4 курсах химиотерапии, включавшей цитозин-арабинозид (6000 мг/м^2/сут) в сочетании с митоксантроном или флударабином (HAM, FLAG). У большинства больных в дальнейшем проведена аутологичная (ауто) или аллогенная (алло) трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Алло-ТГСК проводилась от родственного гистосовместимого, неродственного гистосовместимого или родственного частично совместимого — гаплоидентичного (гапло) — донора.

Для цитогенетического анализа пунктаты костного мозга и периферическую кровь получали при постановке диагноза или во время рецидива до начала терапии. Хромосомные препараты готовили по стандартной методике после краткосрочного культивирования (24 и 48 ч). Кариотипирование G-окрашенных метафаз проводили в соответствии с международной номенклатурой.[12]

РЕЗУЛЬТАТЫ

У большинства больных до лечения (при постановке диагноза) и во время рецидива обнаружены разнообразные клоновые изменения хромосом. Данные о частоте случаев с нормальным и аномальным кариотипом представлены в табл. 2.

Таблица 2. Количество хромосомных аномалий в клетках лейкозного клона при постановке диагноза и во время рецидива

Количество хромосомных аномалий	При постановке диагноза (290 случаев)		Во время 1-го рецидива (38 случаев)		*p*
	абс.	%	абс.	%	
Без аномалий	58	20,0	7	18,4	
Одна и две аномалии	182	62,7	15	38,5	0,006
Сложный кариотип (3 аномалии и более)	50	17,2	16	42,1	0,000

Как видно из данных табл. 2, клоны клеток с нормальным кариотипом до начала лечения и во время рецидива встречались примерно с одинаковой частотой: соответственно у 58 (20 %) из 290 и у 7 (17,9 %) из 39 обследованных пациентов. Доля случаев с одной или двумя аномалиями во время рецидива стала меньше (38,5 вместо 62,7 %), в то же время число больных со сложным кариотипом (3 аномалии и более) возросло (42,1 вместо 17,2 %). Разница между этими цифрами высокодостоверна ($p = 0{,}006$ и $p = 0{,}000$ соответственно). Приведенные данные показывают, что кариотип к началу рецидива изменялся главным образом за счет появления новых хромосомных аномалий. Реже наблюдалась так называемая регрессия, т. е. исчезновение отдельных изменений кариотипа, которые были обнаружены до начала лечения.

Эволюция кариотипа во время рецидива (см. табл. 1) обнаружена у 13 (61,9 %) из 21 пациента, обследованного в динамике. В 11 случаях это был первый рецидив, в двух (№ 21 и 30) — второй; причем у пациентки Шх (№ 21) в первом рецидиве эволюции кариотипа не было, а у пациентки Аб (№ 30) цитогенетическое исследование проведено только во втором рецидиве. В большинстве случаев эволюция кариотипа происходила за счет изменений, которые редко наблюдались у больных ОМЛ до начала лечения. В табл. 3 приводятся все изменения кариотипа, которые были обнаружены перед началом лечения рецидива и не выявлялись при постановке диагноза.

Таблица 3. Эволюция кариотипа во время рецидива ОМЛ

Пациент		Кариотип во время рецидива		
№	Шифр	Исходные аномалии	Новые аномалии	Утраченные аномалии
1	Ис	45,X(-Y), t(8;21)	del(2)(p13)	
2	Сд	47,XY, +21, 15q-, del(6)(q13;q26)	-5, +del(8)(q13-q22)	del(6)(q13;q26)
4	Гг	46,XX, t(8;21), 9q-, 11q-	+16, t(7;19)(q11;q13)	
6	Мг	46,XY, t(8;21)	-Y	
7	Чг	46,XY, t(8;21)	t(9;?)(q34;?), del(4)(p11)	
8	Хн	46,XX, t(9;11)(p22;q23)	-8, t(2)(p;?), t(2)(q;?)	
21	Шх	46,XX	t(5;12)(q31;q13)	
22	Кз	46,XY, t(3;12)(q26;p13)	t(5;17)(q21;q15), del(11)(q23)	
27	Мс	47,XY, +21		Трисомия 21
28	Лт	47,XY, +8, t(11;16)	+19	
29	Ег	45,X(-X), t(8;21), del(9q)	der(16)	
30	Аб	48,XY, inv(16), +8, +22	t(11;16)(q13;p13)	
31	Ст	46,XY	ins/inv(17)(p13;q23-q21)	Трисомии 8 и 22

Только 3 из 18 представленных в табл. 3 аномалий известны как характерные цитогенетические маркеры ОМЛ:[13,14] моносомия 5 (крайне редкая у детей), утрата Y-хромосомы, часто сочетающаяся с t(8;21), и делеция длинного плеча хромосомы 11. У большинства больных (12 случаев) наблюдалась эволюция кариотипа по типу прогрессии,[10] т. е. помимо аномалий, обнаруженных до начала лечения, появились новые хромосомные изменения. У 2 пациентов (Сд и Ст) прогрессия сочеталась с регрессией, т. е. во время рецидива в клетках лейкозного клона перестали определяться аномалии, выявленные при первом хромосомном анализе: делеция 6q в первом случае и трисомии 8 и 22 — во втором. У больного Мс (№ 27) во время рецидива не удалось найти клетки с трисомией 21, выявлявшиеся ранее, все кариотипированные метафазы имели нормальный мужской кариотип. В 3 случаях (№ 21, 24 и 32), в которых хромосомные изменения не были обнаружены до начала лечения, кариотип был нормальным и во время первого рецидива.

Цитогенетическая характеристика ранних и поздних рецидивов. Установлено, что длительность первой ремиссии имеет прогностическое значение: чем она продолжительнее, тем лучше результаты лечения рецидивов.[4,5,11,15] Чтобы понять, связано ли это с особенностями хромосомных изменений, мы сравнили цитогенетическую характеристику двух групп: 1) 19 больных, у которых рецидивы развились в течение первого года, и 2) 20 больных с более поздними рецидивами (см. табл. 1).

Результаты анализа показали, что случаи с хромосомными маркерами благоприятного прогноза — t(8;21)(q22;q22) и inv(16) — встречались с примерно одинаковой частотой в обеих группах пациентов: у 6 из 19 и у 10 из 20 детей соответственно.

Практически не различалась и частота случаев со сложным кариотипом в группах пациентов с ранними и поздними рецидивами: у 7 из 19 и у 5 из 20 детей соответственно.

Особенности кариотипа лейкозных клеток во время рецидивов и эффективность противорецидивной терапии. Наши результаты подтверждают данные литературы о том, что вторые полные ремиссии значительно чаще достигаются при поздних рецидивах, чем при ранних (см. табл. 1): со-

ответственно 19 (95 %) из 20 и 10 (52,6 %) из 19 случаев ($p = 0,008$).

Для выяснения вопроса о влиянии особенностей исходного кариотипа лейкозных клеток на эффективность лечения рецидивов мы разделили группу рецидивировавших больных (46 случаев), цитогенетически обследованных при постановке диагноза, на три подгруппы:[2] 1) благоприятного прогноза (19 пациентов), 2) промежуточного прогноза (20 пациентов) и 3) плохого прогноза (7 пациентов). В первую подгруппу вошли случаи с t(8;21) и inv(16), в третью — с аномалиями 3q и сложным кариотипом, не включавшим t(8;21) и inv(16), и во вторую подгруппу — все остальные. Частота полных вторых ремиссий в первой, второй и третьей подгруппах составила соответственно 15 (78,9 %) из 19, 12 (60 %) из 20 и 3 (42,8 %) из 7 случаев. По частоте полных вторых ремиссий различия между первой и третьей подгруппой оказались достоверными ($p = 0,029$).

Длительные вторые ремиссии (более года) были получены у 12 (63,1 %) из 19 больных с исходно благоприятным кариотипом, у 10 (50 %) из 20 пациентов промежуточной подгруппы и у 1 (14,3 %) из 7 больных из группы плохого прогноза. Очевидно, что результаты лечения рецидивов у больных с исходно неблагоприятным кариотипом хуже, чем в других прогностических подгруппах. Однако эти различия оказались статистически незначимыми, возможно из-за малочисленности исследованных нами групп.

Мы попытались выяснить и вопрос о прогностическом значении изменений кариотипа, обнаруженных во время рецидива. Группа из 39 больных (см. табл. 1), обследованных во время рецидива, была разделена на две подгруппы. В первую вошли пациенты с прогностически благоприятными хромосомными аномалиями, во вторую — все остальные. Полные вторые ремиссии были получены у 13 (81,1 %) из 16 больных первой подгруппы и у 16 (69,6 %) из 23 — второй. Различия оказались недостоверными ($p > 0,1$).

Нам не удалось выявить взаимосвязи между длительностью вторых ремиссий и цитогенетическими особенностями клеток костного мозга при постановке диагноза и в рецидиве.

ОБСУЖДЕНИЕ

Рецидивы все еще остаются основной причиной гибели больных ОМЛ, несмотря на определенный прогресс в изучении механизмов их возникновения и улучшение результатов лечения. К настоящему времени получены важные данные о молекулярно-биологических, иммунологических и хромосомных особенностях лейкозных клеток во время рецидива. Цитогенетическими исследованиями установлено, что в большинстве случаев в этих клетках наблюдается так называемая эволюция кариотипа.[4,10,11] Ее связь с возникновением рецидивов изучается. Вопрос о прогностическом значении новых хромосомных аномалий, выявленных во время рецидивов, остается спорным.

Эволюция кариотипа обнаружена нами более чем в половине (61,9 %) случаев ОМЛ, изученных как до начала лечения, так и в рецидиве. Интересно, что эволюция происходила за счет хромосомных изменений, которые не считались характерными для ОМЛ. Кроме того, нам удалось установить, что нередко эволюция приводила к усложнению кариотипа: во время рецидивов доля случаев с одной или двумя аномалиями стала меньше (38,5 вместо 62,7 %), а число больных со сложным кариотипом (3 аномалии и более) возросло (42,1 вместо 17,2 %). Разница между этими показателями высокодостоверна. Как известно, сложный кариотип относят к цитогенетическим критериям неблагоприятного прогноза.[2,16-18] Возможно, низкая эффективность лечения рецидивов в ряде случаев связана с усложнением кариотипа.

Опубликованы данные, свидетельствующие о том, что кариотип лейкозных клеток, определенный до начала лечения взрослых пациентов с ОМЛ, является важным критерием прогноза не только при инициальной терапии, но и при терапии рецидива.[4,11,15] Наши результаты хорошо согласуются с этими данными. Для выяснения вопроса о влиянии особенностей исходного кариотипа лейкозных клеток на эффективность лечения рецидивов мы разделили группу больных (46 человек), цитогенетически обследованных при постановке диагноза, на три подгруппы согласно классификации MRC:[2] 1) благоприятного прогноза (19 пациентов), 2) промежуточного прогноза (20 пациентов) и 3) плохого прогноза (7 пациентов). Частота полных вторых ремиссий в первой, второй и третьей подгруппах составила соответственно 15 (78,9 %) из 19, 12 (60 %) из 20 и 3 (42,8 %) из 7 случаев. По частоте полных вторых ремиссий различия между первой и третьей подгруппой оказались достоверными ($p = 0,029$).

На нашем материале не удалось выявить параллелизма между особенностями кариотипа лейкозных клеток во время рецидивов и результатами лечения рецидивов. Очевидно, это связано как с немногочисленностью группы исследованных нами больных с рецидивами ОМЛ, так и главным образом с большим разнообразием применявшихся противорецидивных протоколов.

В настоящее время нет убедительных фактов, которые бы свидетельствовали о прогностическом значении изменений кариотипа лейкозных клеток, обнаруженных при рецидивах ОМЛ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 07-04-00309).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Burnett A.K., Goldstone A.H., Stevens R.M.* et al. Randomized comparison of addition of autologous bone marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukemia in first remission: results of MRC 10 trial. Lancet 1998; 351: 700–8.

2. *Grimwade D., Walker S., Oliver F.* et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1612 patients entered into the MRC AML 10 trial. Blood 1998; 92: 2322–33.

3. *Byrd J.C., Mrozek K., Dodge R.K.* et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (GALB 8461). Blood 2002; 100: 4325–36.

4. *Weltermann A., Fonatsch C., Haas O.A.* et al. Impact of cytogenetics on the prognosis of adults with de novo AML in first relapse. Leukemia 2004; 18: 293–302.

5. *Lowenberg B., Downing J.R., Burnett A.* Acute myeloid leukemia. N. Engl. J. Med. 1999; 341: 1051–62.

6. *Burnett A.K.* Acute myeloid leukemia: Treatment of adults under 60 years. Rev. Clin. Exp. Hematol. 2002; 6: 26–45.

7. *Campana D.* Determination of minimal residual disease in leukemia patients. Br. J. Haematol. 2003; 121: 823–38.

8. *Vidriales M.B., San-Miguel J.F., Orfao A.* et al. Minimal residual disease monitoring by flow cytometry. Bailliere's Clin. Hematol. 2003; 16: 559–612.

9. *Estey E., Keating M.J., Pierce S.* Change in karyotype between diagnosis and first relapse. in acute myelogenous leukemia. Leukemia 1995; 9: 972–6.

10. *Kern W., Haferlach T., Schnittger S.* et al. Karyotype instability between diagnosis and relapse in patients with acute myeloid leukemia: implications for resistance against therapy. Leukemia 2002; 16: 2084–91.

11. *Breems D.A., van Putten W.L.J., Huijgens P.C.* et al. Prognostic index for adult patients with acute myeloid leukemia in first relapse. J. Clin. Oncol. 2005; 23: 1969–78.

12. ISCN-2005: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. *L.G. Shaffer, N. Tommerup* (eds.). Basel: Karger, 2005.

13. *Heim S., Mitelman F.* Cancer Cytogenetics, 2nd ed. Wiley-Liss, 1995.

14. *Mrozek K., Bloomfield C.D.* Chromosome aberrations, gene mutations and expression changes, and prognosis in adult acute myeloid leukemia. Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program 2006; 169–77.

15. *Webb D.K., Wheatley K., Harrison G.* et al. Outcome for children with relapsed acute myeloid leukemia following initial therapy in the Medical Research Council (MRC) AML 10 trial. Leukemia 1999; 13: 25–31.

16. *Grimwade D., Walker H., Harrison G.* et al. The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): analysis of 1065 patients entered into the United Kingdom Medical Research Council AML 11 trial. Blood 2001; 98: 1312–20.

17. *Schoch C., Haferlach T., Haase D.* et al. Patients with de novo acute myeloid leukemia and complex karyotype aberrations schow a poor prognosis despite intensive treatment: a study of 90 patients. Br. J. Haematol. 2001; 112: 118–26.

18. *Schoch C., Kern W., Schnittger S.* et al. The influence of age on prognosis of de novo acute myeloid leukemia differs according to cytogenetic subgroups. Haematologica 2004; 89(9): 1082–90.

Мониторинг в терапии хронического миелолейкоза иматинибом

С.И. Куцев, О.С. Оксенюк

РЕФЕРАТ

Высокая эффективность иматиниба в терапии хронического миелолейкоза (ХМЛ) доказана в международном исследовании IRIS. Отсутствие ответа на проводимую монотерапию иматинибом или утрата достигнутого ответа обусловлены различными BCR-ABL-зависимыми и независимыми механизмами резистентности к иматинибу. Достижение цитогенетического и молекулярного ответа зависит также от концентрации иматиниба в плазме крови. В статье обсуждается роль терапевтического лекарственного мониторинга в оптимизации лечения ХМЛ.

Ключевые слова

хронический миелолейкоз, концентрация иматиниба в плазме крови.

Therapeutic drug monitoring of imatinib in patients with chronic myeloid leukemia

S.I. Kutsev, O.S. Oxenjuk

SUMMARY

International IRIS study has shown the high effectiveness of imatinib in chronic myeloid leukemia (CML) therapy. The failure of imatinib therapy or loss of the achieved response has been associated with heterogeneous BCR-ABL related or nonrelated mechanisms of resistance to imatinib. The achievement of cytogenetic and molecular response to imatinib therapy may relate to the blood level of imatinib. In this review the role of therapeutic drug monitoring of imatinib in the optimization of CML therapy was discussed.

Keywords:

chronic myeloid leukemia, imatinib blood level test.

Rostov State Medical University

Контакты: kutsev@mail.ru

Принято в печать: 5 августа 2009 г.

ВВЕДЕНИЕ

Иматиниб (иматиниба мезилат, Гливек®) является производным N-фенил-2-пиримидинамина, который подавляет активность ABL-тирозинкиназы, рецепторов тромбоцитарного фактора роста (PDGFR), c-kit и ARG-тирозинкиназы. Иматиниб — высокоселективный ингибитор онкопротеина BCR-ABL, что обусловливает высокую эффективность использования этого препарата для лечения пациентов с хроническим миелолейкозом (ХМЛ) и Ph-положительным острым лимфобластным лейкозом.

Международное рандомизированное исследование IRIS, в котором сравнивали безопасность и эффективность интерферона и иматиниба для лечения ХМЛ, показало безусловное превосходство иматиниба.[1-4] К 7 годам наблюдения общая выживаемость пациентов, получавших иматиниб, составила 86 %, полный цитогенетический ответ достигнут в 82 % случаев.[5] Однако, несмотря на значительные успехи таргетной терапии ХМЛ иматинибом, у 18 % пациентов на фоне непрерывной терапии этим препаратом не был достигнут полный цитогенетический ответ, а среди больных ХМЛ, достигших полного цитогенетического ответа, 17 % потеряли цитогенетический ответ, в 3 % случаев наблюдалась прогрессия в фазу акселерации и бластный криз, 2 % пациентов умерли от причин, связанных с основным заболеванием.[5]

Во основе резистентности к иматинибу могут лежать различные механизмы: амплификация и повышенная экспрессия гена *BCR-ABL*, мутации гена *BCR-ABL*, появление дополнительных хромосомных аберраций, избыточное связывание иматиниба с транспортными белками крови (например, сывороточным кислым α_1-гликопротеидом), экспрессия белка множественной лекарственной резистентности Pgp.[6] По мнению ряда исследователей,[7,8] проблема достижения цитогенетического и молекулярного ответов на терапию ХМЛ иматинибом у некоторых пациентов лежит в области индивидуальных особенностей фармакокинетики препарата.

H. Kantarjian и соавт.[9] показали значительно более высокую частоту достижения полного цитогенетического и полного молекулярного ответов при терапии высокими дозами иматиниба, что косвенно свидетельствует о влиянии концентрации иматиниба в плазме крови на эффективность тера-

Ростовский государственный медицинский университет

пии иматинибом. Эти же авторы доказали, что у некоторых пациентов с ХМЛ, получавших иматиниб в дозе 400 мг/сут в качестве терапии первой линии и проявивших резистентность к проводимому лечению, повышение дозы препарата способно преодолеть резистентность.[10] На основании полученных данных можно предположить, что по крайней мере у части пациентов, не ответивших на терапию иматинибом в стандартной дозе должным образом, по тем или иным причинам концентрация препарата в плазме была меньше терапевтически эффективной.

ФАРМАКОКИНЕТИКА ИМАТИНИБА

В I фазе клинического испытания иматиниба исследовались фармакокинетические и фармакодинамические показатели у 64 пациентов с Ph-положительными лейкозами (47 — хроническая фаза ХМЛ, 17 — ХМЛ в фазе акселерации или бластного криза и острый лимфобластный лейкоз), которые получали иматиниб 1 раз в сутки в дозе 25, 50, 85, 140, 200, 250, 300, 350, 400, 500, 600 или 750 мг и 2 раза в сутки по 400 или 500 мг (суммарно 800 или 1000 мг/сут).[11,12]

Исследование концентрации иматиниба B. Peng и соавт.[11,12] проводили через 24 ч после первого приема препарата, а также после достижения равновесной концентрации на 28-й день терапии. Равновесная концентрация устанавливается, когда количество абсорбирующегося и количество выводимого препарата примерно равны. В результате концентрация лекарственного вещества колеблется в незначительных пределах между максимальными и минимальными значениями концентрации препарата. Результаты исследования основных фармакокинетических параметров для используемых в настоящее время в клинической практике доз иматиниба 400, 600 и 800 мг/сут приведены в табл. 1.

Таблица 1. Фармакокинетические параметры иматиниба на 28-й день терапии после установления равновесной концентрации (по данным B. Peng и соавт.,[11] с изменениями)

Доза, мг/сут	*n*	t_{max}, ч		C_{max}, нг/мл		$T_{1/2}$, ч		$AUC_{(0-24)}$, мкг/ч/мл		Cl/F, л/ч		C_{trough}, нг/мл	
		M	G	M	G	M	G	M	G	M	G	M	G
400	5	3,3	1,1	2596,0	786,7	19,3	4,4	40,1	15,7	11,2	4,0	1215,8	750,2
600	9	3,1	1,1	3508,9	1649,3	15,6	5,0	51,7	26,7	14,4	6,8	1213,9	817,1
800	9	7,8	7,4	3701,8	1433,5	19,6	2,6	68,4	29,8	13,3	5,0	2660,0	1357,7

Сокращения: доза — доза иматиниба; *n* — число пациентов; t_{max} — время достижения максимальной концентрации; M — среднее значение; G — стандартное отклонение; C_{max} — максимальная концентрация; $T_{1/2}$ — период полувыведения; $AUC_{(0-24)}$ — площадь под кривой «концентрация — время»; Cl/F — клиренс препарата; C_{trough} — остаточная концентрация иматиниба в плазме в конце дозового интервала (через 24 ч после последнего приема).

В исследовании B. Peng и соавт.[11] анализ фармакокинетических параметров после установления равновесной концентрации иматиниба на 28-й день терапии показал, что его биодоступность составляет 98 %. Время достижения максимальной концентрации составило в среднем 4 ч при приеме иматиниба в дозе 400–800 мг/сут. Максимальная концентрация варьировала незначительно и составила в среднем 2596 нг/мл при дозе 400 мг/сут, 3508,9 при дозе 600 мг/сут и 3701,8 при дозе 800 мг/сут. При достижении равновесной концентрации период полувыведения иматиниба был немного больше (в среднем 15–19 ч), чем в 1-й день терапии.

Сравнение значений площади под кривой «концентрация — время» (AUC) при достижении равновесной концентрации на 1-й день терапии иматинибом свидетельствовало, что этот показатель в 1,5–2 раза выше при установлении равновесной концентрации на 28-й день терапии, а это говорит о кумуляции препарата.

В этих же работах B. Peng и соавт.[11] показали, что фармакокинетика иматиниба незначительно изменяется после повторных приемов препарата. В динамике наблюдения пациентов особенное значение приобретает такой фармакокинетический параметр, как остаточная концентрация препарата, т.е. концентрация лекарственного вещества перед его очередным приемом. Например, при однократном приеме иматиниба в дозе 400 мг/сут остаточная концентрация иматиниба в плазме определяется через 24 ч после последнего приема (C_{trough}) и составляет более 570 нг/мл. Эта концентрация соответствует таковой иматиниба 1 мкмоль/л, необходимой для гибели клеток BCR-ABL положительной клеточной линии *in vitro*.

ЗАВИСИМОСТЬ КОНЦЕНТРАЦИИ ИМАТИНИБА В ПЛАЗМЕ ОТ МАССЫ ТЕЛА, ПЛОЩАДИ ПОВЕРХНОСТИ ТЕЛА И ВОЗРАСТА

По данным ряда авторов,[8,11] масса, площадь поверхности тела и возраст пациентов не оказывают существенного влияния на концентрацию иматиниба в плазме крови. Используя регрессионный анализ зависимости концентрации иматиниба от массы и площади поверхности тела пациентов с ХМЛ, B. Peng и соавт.[11] показали, что значения *p* (вероятность нулевой гипотезы для коэффициентов уравнения регрессии) для массы и площади поверхности тела составляют 0,32 и 0,21 соответственно, подтвердив отсутствие заметного влияния размера тела на показатель AUC иматиниба.

R. A. Larson и соавт.[8] обнаружили слабую корреляцию между концентрацией иматиниба в плазме и массой тела и площадью поверхности тела больных ХМЛ. По мнению авторов, эти корреляционные связи не имеют клинического значения из-за высокой вариабельности массы и площади поверхности тела пациентов.

Также слабая корреляция была найдена R. A. Larson и соавт.[8] между концентрацией иматиниба в плазме и возрастом пациентов: у больных ХМЛ старше 50 лет концентрация иматиниба была немного повышена. Наиболее вероятной причиной этого являются снижение уровня метаболических процессов или более частые нарушения функции печени у лиц старшей возрастной группы.[13]

КОНЦЕНТРАЦИЯ ИМАТИНИБА В ПЛАЗМЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ХМЛ

В работе S. Picard и соавт.[7] у 68 пациентов с ХМЛ, получавших иматиниб в дозе 400 или 600 мг/сут по крайней мере 12 мес., концентрация препарата в плазме крови через 24 ± 3 ч после последнего приема препарата варьировала от 181 до 2947 нг/мл. Среднее значение концентрации для пациентов, получавших иматиниб в дозе 400 мг/сут, составило 1058 ± 557 нг/мл, а для получавших 600 мг/сут — 1444 ± 710 нг/мл.

Аналогичные данные были получены в работе R. A. Larson и соавт.,[8] определявших в рамках клинического исследования IRIS концентрацию иматиниба и его метаболита CGP74588 у пациентов с хронической фазой ХМЛ ($n = 351$) на 29-й день терапии. Период полувыведения иматиниба и его метаболита CGP74588 составляет 18 и 40 ч соответственно, поэтому состояние равновесной концентрации должно достигаться для иматиниба через 1 нед. и для CGP74588 через 2 нед. К 29-му дню терапии иматинибом его равновесная концентрация должна быть уже стабильной. По данным этих авторов, среднее значение остаточной концентрации иматиниба в плазме у пациентов, получающих его в дозе 400 мг/сут, через 24 ч после последнего приема препарата C_{min} составляет 979 ± 530 нг/мл, а CGP74588 — 242 ± 106 нг/мл.

В работе D. L. Forrest и соавт.[14] у 79 больных ХМЛ, из которых 70 (90 %) получали иматиниб в дозе 400 мг/сут, 5 (6 %) — 600 мг/сут, 3 (4 %) — 800 мг/сут, среднее

значение концентрации иматиниба в плазме через 24 ± 3 ч после последнего приема препарата составило 1065 нг/мл, а медиана — 999 нг/мл (диапазон 203–2910 нг/мл).

По данным разных авторов, концентрация иматиниба в плазме крови является достаточно вариабельным показателем.[8,11,15] Пожалуй, впервые на этот факт указали в своей работе B. Peng и соавт.[11] Они показали, что время достижения максимальной концентрации иматиниба в плазме у некоторых пациентов значительно более 4 ч, и отметили выраженную вариабельность этого показателя у разных пациентов (коэффициент вариации составил 40–60 %). R.A. Larson и соавт.[8] также обнаружили, что коэффициент вариации для концентрации иматиниба в плазме через 24 ч после последнего приема препарата составляет 54,1 %, а для его метаболита CGP74588 — 43,6 %. Такая индивидуальная вариабельность показателей концентрации иматиниба в плазме имеет мультифакториальную основу, включающую генетический полиморфизм ферментов (например, участвующих в метаболизме лекарственных препаратов), воздействие факторов окружающей среды (например, особенности питания пациентов), наличие сопутствующих заболеваний.[13] Эти факторы, несомненно, влияют на такие фармакокинетические показатели, как абсорбция, распределение, метаболизм и экскреция иматиниба.

Эксперименты *in vitro* показали, что наибольшее значение для метаболизма иматиниба имеет активность ферментной системы цитохрома P450, а именно изоферментов CYP3A4 и CYP3A5.[11,12] Между тем существует значительная вариабельность активности этих ферментов у разных лиц,[16] обусловливающая наблюдаемые различия в концентрации иматиниба.

Обсуждается роль в фармакокинетике иматиниба транспортных белков клеточной мембраны, кодируемых генами *ABCB1* (P-гликопротеид) и *ABCG2*, «выкачивающих» лекарственные препараты из цитоплазмы клеток, а также органического катионного транспортного белка OCT1, транспортирующего иматиниб внутрь клетки.[7]

P-гликопротеид является насосом клеточной мембраны, обеспечивающим выведение из клетки лекарственных препаратов, в частности иматиниба. Высокая активность P-гликопротеида может снижать внутриклеточную концентрацию иматиниба, уменьшая его терапевтический эффект, и теоретически может увеличивать концентрацию препарата в плазме. Активность P-гликопротеида коррелирует с генотипом гена *MDR1*, кодирующего этот белок. Более того, различные полиморфизмы гена *MDR1* коррелируют с достижением молекулярного ответа при терапии иматинибом у пациентов с ХМЛ.[17] Однако в настоящее время можно говорить о влиянии уровня экспрессии этих белков только на внутриклеточную концентрацию иматиниба.[18,19]

Вероятно, что транспортный белок плазмы крови кислый α_1-гликопротеид также влияет на показатель остаточной концентрации иматиниба.[20]

ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕРАПИИ ХМЛ У ПАЦИЕНТОВ С СУБОПТИМАЛЬНЫМ ОТВЕТОМ ИЛИ ОТСУТСТВИЕМ ОТВЕТА НА ТЕРАПИЮ ИМАТИНИБОМ

В работе B. Peng и соавт.[11] отмечено, что у больных ХМЛ, получавших иматиниб в дозе 400 мг/сут или более, нормализация показателей крови, в частности снижение количества лейкоцитов до нормального уровня, наблюдалась к 4 нед. терапии обычно в том случае, если концентрация препарата в плазме превышала 1 мкмоль/л. Интересно, что примерно та же концентрация иматиниба в культуре клеток приводит к гибели BCR-ABL-положительных клеточных линий.[21,22]

S. Picard и соавт.[7] исследовали концентрацию иматиниба в плазме крови в двух группах больных ХМЛ: достигших большого молекулярного ответа (n = 34) и не достигших его (n = 34) при терапии иматинибом в дозе 400–600 мг/сут. Оказалось, что средняя концентрация иматиниба в плазме крови у группы пациентов, достигших большого молекулярного ответа, значительно выше, чем в группе без большого молекулярного ответа — 1452,1 ± 649,1 и 869,3 ± 427,5 нг/мл соответственно (p < 0,001). В обеих группах пациенты принимали 400 или 600 мг иматиниба в сутки, и между двумя группами не было найдено статистически значимой разницы в принимаемой дозе препарата. Более того, эти группы больных практически не отличались по продолжительности терапии иматинибом до момента проведения молекулярного исследования, определившего статус пациента по отношению к молекулярному ответу (986 ± 427 дней у пациентов, находящихся в молекулярной ремиссии, и 966 ± 560 дней у пациентов, не достигших молекулярного ответа).

Менее выраженное, но также статистически достоверное различие в остаточной концентрации иматиниба в плазме крови выявлено авторами между группами пациентов, достигших полного цитогенетического ответа (n = 56) и не достигших такового (n = 12). В первой группе концентрация иматиниба в плазме составила 1123 ± 617 нг/мл, а во второй — 694 ± 556 нг/мл (p = 0,03).

Значительно более высокая средняя концентрация иматиниба в плазме была выявлена N. Singh и соавт.[15] в группе больных (n = 20), достигших полного гематологического ответа после 3 мес. терапии или частичного цитогенетического ответа после 6 мес. терапии иматинибом в дозе 400 мг/сут, — 2340 ± 0,52 нг/мл. В то же время в группе пациентов (n = 20) с субоптимальным ответом, не достигших полного гематологического ответа после 3 мес. терапии или частичного цитогенетического ответа после 6 мес. терапии, средняя концентрация иматиниба в плазме составила всего 690 ± 150 нг/мл. Разница между этими группами статистически достоверна (p = 0,002). Поскольку метаболизм и экскреция иматиниба связаны с функцией печени и почек, в исследования не были включены больные ХМЛ, имевшие повышение уровня билирубина, трансаминаз или креатинина более чем в 2 раза по сравнению с верхней границей нормы.

Результаты исследования N. Singh и соавт.[15] однозначно указывают на необходимость лекарственного мониторинга терапии ХМЛ иматинибом не только в случае неудачи лечения, но и при субоптимальном ответе в первые месяцы терапии с целью ранней коррекции дозы иматиниба.

S. Picard и соавт.[7] использовали метод непараметрической статистики — так называемый ROC-анализ (Receiver Operator Characteristic Analysis), позволяющий построить ROC-кривую зависимости эффекта терапии иматинибом, а именно достижения большого молекулярного ответа, от концентрации препарата в плазме крови и найти оптимальное пороговое значение (optimal cut-off value) его концентрации. Прогностическое значение модели, построенной методом ROC, оценивается численным показателем AUC. С большими допущениями можно считать, что чем больше показатель AUC, тем лучшей прогностической силой обладает построенная модель.

ROC-анализ показал, что уровень концентрации иматиниба влияет на достижение большого молекулярного ответа с достаточно большой силой: значение AUC составило 0,775. Пороговое значение концентрации иматиниба, минимально необходимое для достижения большого молекулярного ответа у пациентов с ХМЛ, равнялось 1002 нг/мл.

В работе R.A. Larson и соавт.[8] на значительно более обширной когорте пациентов было показано, что уровень концентрации иматиниба при достижении состояния

равновесной концентрации служил важным прогностическим фактором ответа на проводимое лечение. Авторы проанализировали исходы терапии иматинибом в дозе 400 мг/сут у 351 пациента с ХМЛ, у которых были выполнены фармакокинетические исследования в 1-й и 29-й дни лечения. В данной работе оказалось возможным изучить корреляцию между фармакокинетическими параметрами и достижением полного цитогенетического ответа за 5 лет наблюдения, большого молекулярного ответа в течение первых 2 лет терапии, 5-летней бессобытийной выживаемостью. В этом исследовании 297 (84,6 %) из 351 пациента достигли цитогенетического ответа при терапии иматинибом в дозе 400 мг/сут. У больных, достигших полного цитогенетического ответа, концентрация иматиниба в плазме крови на 29-й день терапии через 24 ч после последнего приема препарата была значительно выше (1009 ± 544 нг/мл), чем у больных ХМЛ, не достигших цитогенетического ответа (812 ± 409 нг/мл). Выявленная разница статистически достоверна ($p = 0,01$). Таким образом, авторы подтвердили данные S. Picard и соавт.[7] о том, что уровень иматиниба в плазме, равный 1000 нг/мл или более, имеет критическое значение для достижения полного цитогенетического ответа.

Для поиска корреляции между значениями концентрации иматиниба и клиническими исходами R. A. Larson и соавт.[8] распределили всех пациентов на 4 квартиля. Первый квартиль (Q1) включал 25 % пациентов с наименьшими значениями концентрации иматиниба; квартили Q2 и Q3 включали по 25 % пациентов со значениями концентрации иматиниба меньше и больше медианы соответственно; четвертый квартиль (Q4) охватывал 25 % пациентов с наибольшими значениями концентрации иматиниба. Данные, касающиеся 50 % пациентов Q2-Q3, авторы объединяли в одну группу. В результате для стратификации данных были использованы три группы: Q1, Q2-Q3 и Q4.

Пациенты с концентрацией иматиниба в плазме менее 647 нг/мл (Q1) достигли полного цитогенетического ответа за весь период наблюдения в 75,9 % случаев, с концентрацией иматиниба в плазме 647–1170 нг/мл (Q2-Q3) — в 85,4 %, с высокими значениями концентрации, т. е. более 1180 нг/мл, (Q4) — в 91,9 % случаев ($p = 0,01$, критерий Фишера).

Метод Каплана—Мейера также показал статистически значимые различия между фармакокинетическими группами по вероятности достижения полного цитогенетического ответа в зависимости от концентрации иматиниба в плазме. Проанализированы данные пациентов, для которых были доступны результаты фармакокинетических исследований на 29-й день терапии иматинибом ($n = 351$). Вероятность достижения полного цитогенетического ответа в течение 5 лет наблюдения была значительно ниже у пациентов, относящихся к Q1, по сравнению с другими пациентами (Q2-Q3, Q4) ($p = 0,005$). Аналогичная тенденция была обнаружена методом Каплана—Мейера среди больных с полным цитогенетическим ответом, для которых были доступны результаты как исследования концентрации иматиниба на 29-й день терапии, так и ПЦР-анализа экспрессии гена *BCR-ABL* в течение первых 2 лет терапии иматинибом ($n = 265$). Вероятность достижения большого молекулярного ответа у пациентов из группы Q1 составила всего 25 % по сравнению с 40 % у пациентов с высоким уровнем иматиниба в плазме (Q2-Q3, Q4) ($p = 0,008$).

Говоря о зависимости эффективности терапии иматинибом от его концентрации в плазме, следует отметить, что в клиническом исследовании IRIS из 351 пациента с ХМЛ, для которых были доступны фармакокинетические данные, в течение 5 лет наблюдения оставались в исследовании 246 (70,1 %). По разным причинам 105 (29,9 %) больных прекратили терапию иматинибом. Больше всего (41,4 %) из них относились к группе с наименьшей концентрацией иматиниба в плазме (Q1) с наиболее частой формулировкой причины выхода пациента из исследования — неэффективность проводимой терапии. Эти данные подтверждают, что удовлетворительный уровень ответа на терапию можно получить в случае достижения и поддержания адекватной концентрации препарата в плазме.

Хорошо известна корреляционная связь между высоким риском неудачи терапии ХМЛ иматинибом, определяемым по шкале Sokal, и низкой вероятностью достижения полного цитогенетического ответа на лечение препаратом.[23] Риск, определяемый по шкале Sokal, является предиктивным показателем, отражающим клиническое состояние пациента на момент начала терапии. Мультивариантный анализ показал, что уровень концентрации иматиниба в плазме крови, определяемый к концу первого месяца лечения, является независимым фактором, предсказывающим исход терапии иматинибом. В то же время этот тест позволяет внести коррекцию в дозировку препарата в соответствии с индивидуальной потребностью пациента с целью улучшить исход проводимой терапии.[8]

Противоположные данные получены в исследовании D. L. Forrest и соавт.[14] В этом исследовании C_{trough} иматиниба у больных ХМЛ с большим молекулярным ответом составила 1067 ± 473,1 нг/мл, а у пациентов без большого молекулярного ответа — 1063 ± 642,5 нг/мл ($p = 0,74$). Авторы не обнаружили корреляционной связи между C_{min} иматиниба и молекулярным ответом на терапию ХМЛ.

Необходимо отметить, что дизайн указанного выше исследования не безупречен. В исследование D. L. Forrest и соавт.[14] включены пациенты, которые получали иматиниб от 1 до 7 лет. При этом 55 из 133 участников были исключены из исследования в связи с прогрессией заболевания. R. Larson и соавт.[8] показали, что прогрессия ХМЛ коррелировала с концентрацией иматиниба. С большой вероятностью можно предположить, что именно эти 55 пациентов имели низкую концентрацию препарата в плазме. Исключение этих больных из исследования уменьшило потенциальную корреляционную связь между C_{trough} иматиниба и ответом на терапию. В дополнение к этому работа выполнена на немногочисленной когорте пациентов с разной степенью риска по шкале Sokal.

В наше пилотное исследование[24] были включены больные ХМЛ ($n = 49$) только в хронической фазе. Все пациенты получали лечение иматинибом в дозе 400 мг/сут. Длительность терапии у всех пациентов составила от 18 мес., когда в соответствии с критериями ELN должен быть достигнут большой молекулярный ответ, до 36 мес. С целью определить минимальную концентрацию иматиниба в плазме (C_{trough}) забор образцов крови проводили через 20–25 ч после последнего приема препарата, т. е. перед очередным приемом иматиниба. Концентрацию иматиниба в плазме исследовали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ/МС/МС) с помощью хроматографа Agilent 1200 и квадрупольного тандемного масс-спектрометра Agilent 6410 (Agilent Technologies, США) по протоколу K. Titer и соавт.[25] В результате проведенного исследования C_{trough} иматиниба в группе пациентов с ХМЛ с молекулярной ремиссией составила 1729,2 ± 215,0 нг/мл, а в группе без молекулярной ремиссии — 962,1 ± 77,2 нг/мл ($p = 0,0007$). Выявленные достоверные различия C_{trough} иматиниба в этих двух группах, а также обнаруженная обратная корреляционная связь ($r = -0,4$) между C_{trough} препарата и уровнем экспрессии гена *BCR-ABL*, отражающим объем опухолевой массы, позволяют сделать вывод о влиянии концентрации иматиниба на достижение молекулярной ремиссии у пациентов с ХМЛ.

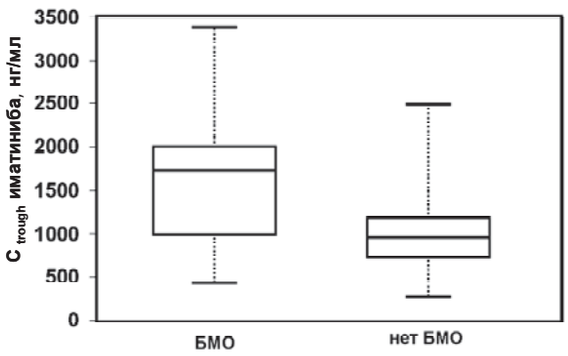


Рис. 1. График дисперсии медианы значения C_{trough} иматиниба у больных ХМЛ с большим молекулярным ответом (БМО) и без него. Горизонтальные линии внутри прямоугольников соответствуют медиане C_{trough} иматиниба в каждой группе. Верхняя и нижняя границы прямоугольников соответствуют Q3 и Q1 C_{trough} иматиниба, а горизонтальные линии на концах пунктирных линий — минимальное и максимальное значения C_{trough} иматиниба в каждой группе

В дополнение к опубликованным данным, распределение этих же групп пациентов по квартилям в зависимости от C_{trough} иматиниба показало, что 75 % больных ХМЛ с молекулярной ремиссией имели концентрацию иматиниба выше 992 нг/мл (рис. 1).

Таким образом, очевидно, что достижение полного цитогенетического и большого молекулярного ответов в соответствии с критериями ELN являются факторами долгосрочного прогнозирования исходов терапии иматинибом. Поэтому если достижение соответствующего ответа на терапию прямо зависит от концентрации иматиниба в плазме, то коррекция дозы препарата у пациентов с низкими значениями его концентрации в плазме, особенно в начале терапии, может улучшить исходы лечения.[8]

Данные о зависимости стабильности цитогенетического и молекулярного ответов от концентрации иматиниба в плазме практически отсутствуют. Только в работе R.A. Larson и соавт.[8] было отмечено, что стабильность достигнутого цитогенетического ответа также зависит от концентрации иматиниба в плазме. Так, среди пациентов, достигших цитогенетического ответа при наименьших значениях концентрации иматиниба в плазме крови (Q1), 24 % (16 из 66) больных потеряли ответ к 5 годам терапии. Пациенты, относящиеся к Q2 и Q3 с промежуточными значениями концентрации иматиниба в плазме, потеряли ответ только в 13 % (20 из 152) случаев.

Данные литературы и наш опыт свидетельствуют, что ряд пациентов с концентрацией иматиниба менее 1000 нг/мл также достигают цитогенетического и молекулярного ответов. Естественно, что основным критерием эффективности терапии иматинибом остается достижение цитогенетической и молекулярной ремиссии. В случаях получения ответа при низких концентрациях иматиниба значение лекарственного мониторинга невысоко. Однако не исключено, что низкая концентрация препарата может снижать стабильность достигнутого ответа, а это можно выяснить только в результате проспективных исследований на достаточно большой выборке пациентов с ХМЛ.

НАРУШЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО РЕЖИМА ПРИЕМА ИМАТИНИБА

С течением времени приверженность пациентов к лечению иматинибом снижается. J. Tsang и соавт.[26] впервые проанализировали динамику изменения комплаентности к иматинибу у 4043 пациентов с ХМЛ и гастроинтестинальными стромальными опухолями в течение 24 мес. терапии. Общая комплаентность, определяемая как отношение принятой дозы к дозе, назначенной врачом, составила 75 %. Только 50 % пациентов имели 100 %-ю комплаентность. Наибольшая приверженность к терапии отмечалась у больных, получавших иматиниб в дозе 300–400 мг/сут. Кроме того, в этом исследовании определялась непрерывность терапии иматинибом — время лечения без длительных перерывов. Хотя авторы не уточнили, что подразумевается под непродолжительными перерывами, тем не менее среднее значение этого показателя составило 255 дней. Наиболее постоянно иматиниб принимали те пациенты, которым он был назначен в дозе 300 или 400 мг/сут (13 и 12,9 мес. соответственно). Авторы обоснованно делают заключение о субоптимальной комплаентности пациентов с ХМЛ и гастроинтестинальными стромальными опухолями. Снижение приверженности больных к терапии приводит к уменьшению концентрации препарата по сравнению с терапевтически необходимой.

В литературе также описывают отдельные случаи, иллюстрирующие отсутствие приверженности пациентов к терапии иматинибом. Интересный случай описывают из своей практики F.-X. Mahon и соавт.:[27] у женщины 50 лет с ХМЛ в хронической фазе и высоким риском по шкале Sokal через 3 мес. терапии иматинибом в дозе 400 мг/сут не получен полный гематологический ответ. Также не был достигнут полный гематологический ответ и через 6 мес., несмотря на повышение дозы иматиниба до 600 мг/сут между 3 и 6 мес. лечения. Мутационный анализ не выявил изменений киназного домена гена *BCR-ABL*. Доза иматиниба была повышена до 800 мг/сут между 6 и 9 мес. терапии. В течение всего времени наблюдения больная утверждала, что неукоснительно соблюдает режим приема препарата. Ретроспективно проведенные исследования концентрации иматиниба в плазме образцов крови, взятых в 3, 6 и 9 мес. терапии, выявили концентрацию иматиниба менее 10 нг/мл во всех образцах. Этот случай показывает, что проблема приверженности больного к терапии хронических заболеваний пероральными препаратами существует. Это положение в полной мере справедливо даже для онкологических заболеваний.

О существовании такой проблемы свидетельствуют и наши собственные данные. Так, в нашей лаборатории с января по июль 2009 г. концентрация иматиниба в плазме крови была исследована у 391 больного ХМЛ из различных гематологических центров России. Показаниями для направления образцов плазмы на исследование концентрации иматиниба служили отсутствие гематологического или цитогенетического ответа, утрата достигнутого ответа, подозрение на межлекарственные взаимодействия или нарушение режима приема препарата. Забор образцов крови должен был осуществляться через 24 ± 3 ч после последнего приема препарата в дозе 400–600 мг/сут или 12 ± 3 ч — в дозе 800 мг/сут. В 15 (3,8 %) случаях C_{trough} была менее 100 нг/мл, что в соответствии с данными I фазы клинических испытаний[11] свидетельствовало об отсутствии приема препарата по крайней мере в течение нескольких дней.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ИМАТИНИБА С ДРУГИМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

В доступной нам литературе мы не обнаружили результатов каких-либо систематических исследований влияния препаратов сопроводительной терапии на концентрацию иматиниба в плазме у пациентов с ХМЛ. Тем не менее применение одновременно с иматинибом препаратов, относящихся к индукторам или ингибиторам ферментов CYP3A4/5 цитохрома P450, очевидно, оказывает влияние на концентрацию иматиниба в плазме. Действительно, если какой-либо пре-

парат индуцирует активность фермента, обеспечивающего метаболизм иматиниба, то концентрация последнего должна снижаться. Речь, конечно, может идти только о терапии хронических сопутствующих заболеваний в течение длительного периода времени.

В одном наблюдении B. Peng и соавт.[11] обнаружили у пациента, получавшего лечение иматинибом в дозе 350 мг/сут, отсутствие гематологического ответа в сочетании с экстремально низкой концентрацией препарата в плазме крови. Так, если среднее значение показателя площадь под кривой «концентрация — время» за 24 ч (AUC_{0-24}), отражающий концентрацию иматиниба в плазме, в группе пациентов, получавших 350 мг/сут иматиниба, составило 20 мкг/ч/мл, то у данного пациента этот показатель был равен 3,7 мкг/ч/мл. Оказалось, что пациент, помимо иматиниба, принимал препарат из группы антиконвульсантов — фенитоин, являющийся мощным индуктором печеночного цитохрома P450. После отмены фенитоина и повышения дозы иматиниба до 500 мг/сут у пациента был достигнут гематологический ответ. Этот случай четко показал, что достижение гематологического ответа напрямую связано с концентрацией иматиниба в плазме, а одновременное назначение препаратов — индукторов CYP3A4 может приводить к интенсификации метаболизма иматиниба, снижению его концентрации в плазме и, как следствие, отсутствию эффекта от лечения.

Аналогичные данные были получены ранее в клиническом исследовании межлекарственных взаимодействий, выполненном у здоровых добровольцев, получавших одновременно иматиниб и индуктор фермента CYP3A4 — рифампицин.[28]

C. Blasdel и соавт.[29] описывают случай терапии ХМЛ иматинибом в дозе 400 мг/сут с отсутствием полного гематологического ответа. Одновременно с иматинибом больной получал лечение сопутствующих заболеваний несколькими препаратами, в частности карбамазепином, являющимся индуктором ферментов CYP3A4/5. Замена карбамазепина на индифферентный по отношению к CYP3A4/5 препарат вальпроевой кислоты и повышение дозы иматиниба до 600 мг/сут привели к достижению полного гематологического ответа, но не позволили получить цитогенетический ответ. Предположение о наличии мутации гена *BCR-ABL*, обусловливающей резистентность, не подтвердилось после секвенирования этого гена. Поскольку в лечении пациента, помимо вальпроевой кислоты, применяли еще 9 препаратов, было предположено межлекарственное взаимодействие, снижающее концентрацию иматиниба в плазме крови. Однако уровень иматиниба в плазме оказался достаточно высоким — 1342 нг/мл и соответствовал среднему уровню иматиниба 1214 ± 817 нг/мл в группе пациентов с ХМЛ, получавших Гливек по 600 мг/сут в I фазе клинических испытаний иматиниба.[11] Пациент был обоснованно переведен на терапию одним из ингибиторов тирозинкиназ II поколения — дазатиниб. По мнению авторов, этот случай подтверждает важность лекарственного мониторинга иматиниба для выработки правильного терапевтического решения. Даже в том случае, когда результаты исследования концентрации иматиниба не позволяют внести коррекцию в дозировку препарата, эти данные снабжают пациента и врача важной информацией. C. Blasdel и соавт.[29] считают необходимым интегрировать лекарственный мониторинг в систему клинического мониторинга терапии иматинибом больных ХМЛ.

В настоящее время существует большое количество препаратов, являющихся ингибиторами или индукторами ферментов CYP3A4/5. С основными субстратами этих ферментов можно ознакомиться на сайте: http://medicine.iupui.edu/flockhart.

ЗАВИСИМОСТЬ ПОБОЧНЫХ ЭФФЕКТОВ ИМАТИНИБА ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ ИМАТИНИБА В ПЛАЗМЕ

В работе R.A. Larson и соавт.,[8] определявших в рамках клинического исследования IRIS концентрацию иматиниба в плазме на 29-й день лечения у 351 пациента, изучена частота побочных эффектов III и IV степени в течение первых 3 мес. терапии и за весь 5-летний период наблюдения. В первые 3 мес. и за весь 5-летний период наблюдения структура и степень выраженности побочных эффектов были практически одинаковыми во всех трех фармакокинетических группах (Q1, Q2-Q3, Q4). Общая частота побочных эффектов в течение первых 29 дней терапии иматинибом была немного меньше, чем за весь период наблюдения. Только задержка жидкости, тошнота, мышечная боль, сыпь и анемия более часто наблюдались у пациентов с наибольшей концентрацией иматиниба в плазме (Q4) по сравнению с группой пациентов с наименьшей концентрацией иматиниба в плазме (Q1). Однако такие побочные эффекты, как мышечные судороги, боль в животе, головная боль и кровотечения, встречались чаще у пациентов, относящихся к Q1, подтверждая, что некоторые побочные эффекты могут быть проявлением основного заболевания, а не результатом приема иматиниба.

В отдельных клинических ситуациях лекарственный мониторинг иматиниба все же оказывается полезным в анализе причин развития побочных эффектов. Так, F.-X. Mahon и соавт.[27] описывают случай ХМЛ у 56-летней женщины, получавшей препараты интерферона-α и гидроксимочевины в течение 10 лет. Она была переведена на лечение иматинибом в дозе 400 мг/сут вследствие непереносимости интерферона и отсутствия цитогенетического ответа. Через год доза иматиниба была повышена до 600 мг/сут в связи с отсутствием цитогенетического ответа. Еще через год у пациентки развилась криптогенная пневмония, расцененная как необычный опасный побочный эффект терапии иматинибом, поскольку в плазме крови у этой больной была обнаружена высокая концентрация иматиниба через 24 ч после последнего приема препарата — 3819 нг/мл. Больная получила лечение пневмонии кортикостероидами и через 2 мес. после ее успешного разрешения была переведена на терапию ХМЛ только препаратами гидроксимочевины. Данный случай иллюстрирует вероятную связь между высокой концентрацией иматиниба и появлением его побочных эффектов, которая вынудила обоснованно отменить терапию иматинибом.

Тем не менее необходимо с большой осторожностью расценивать высокую концентрацию иматиниба в плазме как причину появления побочных эффектов при терапии иматинибом. Среди 351 пациента R.A. Larson и соавт.[11] выявили 6 человек с концентрацией иматиниба более 3000 нг/мл через 24 ч после последнего приема препарата. Ни у одного из них побочные эффекты III и IV степени обнаружены не были.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Успех в достижении полного цитогенетического ответа и большого молекулярного ответа у пациентов с ХМЛ, получающих стандартную терапию иматинибом в дозе 400 мг/сут, зависит от уровня остаточной концентрации иматиниба в плазме крови. Если в условиях *in vitro* иматиниб оказывает ингибирующее действие на культуру BCR-ABL-положительных клеток при концентрации 493,6 нг/мл (1 мкмоль/л), то *in vivo* пороговое значение эффективной концентрации иматиниба должно превышать 1002 нг/мл.[7] Такие фармакокинетические факторы, как индивидуальная вариабельность пациентов по уровню абсорбции и метаболизма лекарства, и другие факторы могут влиять на эффективность препарата.

Наиболее вероятно, что причина этих вариаций заключается в генетическом полиморфизме ферментов, участвующих в фармакокинетике иматиниба. Поэтому достижение максимума преимуществ терапии иматинибом требует оптимального дозирования препарата.[27]

Однако причины низкого уровня иматиниба в плазме могут быть и более простыми по сравнению с индивидуальными особенностями фармакокинетики: нарушение пациентом режима ежедневного приема препарата в результате снижения приверженности пациента к проводимому лечению, взаимодействие иматиниба с другими препаратами, являющимися индукторами ферментов CYP3A4/5.

Несомненно, что для врача-гематолога основным ориентиром для оценки ответа на терапию иматинибом и изменения тактики терапии остаются критерии, разработанные экспертами European LeukemiaNet (ELN).[30] Важность использования теста измерения концентрации иматиниба в плазме заключается в возможности проверить комплаентность пациента с ХМЛ и наличие возможных межлекарственных взаимодействий перед принятием каких-либо терапевтических решений. Для больных ХМЛ с низким уровнем иматиниба в плазме крови, получавших препарат в дозе 400 мг/сут и не достигших в рекомендованные ELN сроки полного цитогенетического и большого молекулярного ответов, у которых исключены некомплаентность и межлекарственные взаимодействия, может быть рекомендовано повышение дозы иматиниба.

Концентрация иматиниба в плазме крови более 1002 нг/мл у пациентов, не достигших в соответствии с рекомендациями ELN полного цитогенетического и большого молекулярного ответов при лечении в дозе 400 мг/сут, предполагает наличие BCR-ABL-зависимых или независимых клеточных механизмов резистентности. В этой ситуации необходимо также повышение дозы иматиниба, поскольку высокие дозы препарата преодолевают некоторые механизмы резистентности или, по мнению S. Picard и соавт.,[7] переход на терапию ингибиторами тирозинкиназ II поколения (нилотиниб, дазатиниб).

Тем не менее необходимы новые данные, полученные на больших когортах пациентов с ХМЛ, леченных иматинибом. В ближайшем номере журнала мы надеемся представить результаты многоцентрового исследования концентрации иматиниба у более чем 400 больных ХМЛ. Также требуются проспективные исследования влияния концентрации иматиниба у впервые выявленных пациентов с ХМЛ в динамике терапии, исследования эффективности повышения дозы препарата, основанного на данных лекарственного мониторинга иматиниба.

ЛИТЕРАТУРА

1. *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(23): 2408–17.

2. *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 2007; 110(11): 25.

3. *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(9): 645–52.

4. *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(11): 994–1004.

5. *O'Brien S.G., Guilhot F., Goldman J.M.* et al. International randomized study of interferon versus STI571 (IRIS) 7-year follow-up: sustained survival, low rate of transformation and increased rate of major molecular response (MMR) in patients (pts) with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CMLCP) treated with imatinib (IM). Blood 2008; 112(11): 186.

6. *Куцев С.И., Вельченко М.В.* Значение анализа мутаций гена BCR-ABL в оптимизации таргетной терапии хронического миелолейкоза. Клин. онкогематол. 2008; 1(3): 190–9.

7. *Picard S., Titier K., Etienne G.* et al. Trough imatinib plasma levels are associated with both cytogenetic and molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. Blood 2007; 109(8): 3496–9.

8. *Larson R.A., Druker B.J., Guilhot F.* et al. Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: a subanalysis of the IRIS study. Blood 2008; 111(8): 4022–8.

9. *Kantarjian H., Talpaz M., O'Brien S.* et al. Highdose imatinib mesylate therapy in newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic phase chronic myeloid leukemia. Blood 2004; 103: 2873–8.

10. *Kantarjian H., Talpaz M., O'Brien S.* et al. Dose escalation of imatinib mesylate can overcome resistance to standard-dose therapy in patients with chronic myelogenous leukemia. Blood 2003; 101: 473–5.

11. *Peng B., Hayes M., Resta D.* et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of imatinib in a phase I trial with chronic myeloid leukemia patients. J. Clin. Oncol. 2004; 22(5): 935–42.

12. *Peng B., Lloyd P., Schran H.* Clinical pharmacokinetics of imatinib. Clin. Pharmacokinet. 2005; 44(9): 879–94.

13. *Wilkinson G.R.* Cytochrome P4503A (CYP3A) metabolism: prediction of in vivo activity in humans. J. Pharmacokinet. Biopharm. 1996; 24: 475–90.

14. *Forrest D.L., Trainor S., Brinkman R.R.* et al. Cytogenetic and molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia are correlated with Sokal risk scores and duration of therapy but not trough imatinib plasma levels. Leuk. Res. 2008; 33(2): 271–5.

15. *Singh N., Kumar L., Meena R., Velpandian T.* Drug monitoring of imatinib levels in patients undergoing therapy for chronic myeloid leukaemia: comparing plasma levels of responders and non-responders. Eur. J. Clin. Pharmacol. 2009; 65(6): 545–9.

16. *Wilkinson G.R.* Drug metabolism and variability among patients in drug response. N. Engl. J. Med. 2005; 352: 2211–21.

17. *Dulucq S., Bouchet S., Turcq B.* et al. Multidrug resistance gene (MDR1) polymorphisms are associated with major molecular responses to standard-dose imatinib in chronic myeloid leukemia. Blood 2008; 112(5): 2024–7.

18. *Thomas J., Wang L., Clark R.E., Pirmohamed M.* Active transport of imatinib into and out of cells: implications for drug resistance. Blood 2004; 104(12): 3739–45.

19. *Crossman L.C., Druker B.J., Deininger M.W.* et al. hOCT 1 and resistance to imatinib. Blood 2005; 106(3): 1133–4.

20. *Widmer N., Decosterd L.A., Csajka C.* et al. Population pharmacokinetics of imatinib and the role of alpa1-acid glycoprotein. Br. J. Clin. Pharmacol. 2006; 62(1): 97–112.

21. *Buchdunger E., Zimmerman J., Mett H.* et al. Inhibition of the Abl protein-tyrosine kinase in vitro and in vivo by a 2-phenylaminopyrimidine derivative. Cancer Res. 1996; 56: 100–4.

22. *Druker B.J., Tamura S., Buchdunger E.* et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. Nat. Med. 1996; 2: 561–6.

23. *Crossman L.C., O'Brien S.G.* Imatinib therapy in chronic myeloid leukemia. Hematol. Oncol. Clin. N. Am. 2004; 18: 605–17.

24. *Куцев С.И., Оксенюк О.С., Вельченко М.В.* Влияние концентрации иматиниба в плазме на достижение молекулярной ремиссии у больных хроническим миелолейкозом. Казанский мед. журн. 2009; 90(3): 339–43.

25. *Titier K., Picard S., Ducint D.* et al. Quantification of imatinib in human plasma by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Ther. Drug. Monit. 2005; 27: 634–40.

26. *Tsang J., Rudychev L., Pescatore S.L.* Prescription compliance and persistency in chronic myelogenous leukemia (CML) and gastrointestinal stromal tumor (GIST) patients (pts) on imatinib (IM). J. Clin. Oncol. 2006; 24(18): 6119.

27. *Mahon F.-X., Picard S., Marit G., Robinson P., Molimard M.* Use of therapeutic drug monitoring in CML patients on imatinib. Blood 2007; 110(5): 1701.

28. *Bolton A.E., Peng B., Hubert M.* et al. Effect of rifampicin on the pharmacokinetics of imatinib mesylate (Gleevec, STI571) in healthy subjects. Cancer Chemother. Pharmacol. 2004; 53(2): 102–6.

29. *Blasdel C., Egorin M.J., Lagattuta T.F.* et al. Therapeutic drug monitoring in CML patients on imatinib. Blood 2007; 110(5): 1699–701.

30. *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 Leukemia Net. Blood 2006; 108(6): 1809–20.

Благодарности

Авторы выражают благодарность компании Novartis Pharma за информационную поддержку, оказанную при написании этой статьи.

Диагностика острых лейкозов методом проточной цитометрии в соответствии с классификацией ВОЗ 2008 г. опухолей гемопоэтических и лимфоидных тканей (Часть I — острые миелобластные лейкозы)

А.В. Куртова [1, 2], *Е.Б. Русанова* [1], *К.Ю. Слободнюк* [1], *М.В. Горчакова* [1], *Е.Е. Зуева* [1]

Р Е Ф Е Р А Т

Иммунофенотипирование методом проточной цитометрии является важным компонентом в диагностике острых лейкозов. Классификация ВОЗ 2008 г. опухолей гемопоэтических и лимфоидных тканей содержит ряд изменений, касающихся субклассификации острых лейкозов. Первую часть данной работы мы посвятили острым миелобластным лейкозам и представили характерные иммунофенотипические особенности утвержденных обновленной классификацией вариантов острых миелобластных лейкозов.

Ключевые слова

классификация ВОЗ, острые миелобластные лейкозы, проточная цитометрия.

Acute leukemia immunophenotyping by flow cytometry according to the 2008 revised WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues (Part I: Acute myeloid leukemia)

A.V. Kurtova [1, 2], *E.B. Rusanova* [1], *K.Yu.Slobodnuk* [1], *M.V. Gorchakova* [1], *E.E. Zueva* [1]

SUMMARY

Immunophenotyping by flow cytometry is an important component of acute leukemia diagnostics. Revised WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues incorporates new changes related to acute leukemia subclassification. First part of this article is dedicated to the acute myeloid leukemia and represents a comparison of immunophenotypic features that characterize the subclasses of acute myeloid leukemia recognized by the revised WHO classification.

Keywords:

classification WHO, acute myeloid leukemia, flow cytometry.

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

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

Контакты: immunology.spbgmu@gmail.com

Принято в печать: 9 сентября 2009 г.

Алгоритм диагностики острых лейкозов в современной клинике основан на пяти базовых компонентах:

- получение клинических данных;
- морфологический анализ бластов;
- цитохимический анализ бластов;
- иммунофенотипирование методом проточной цитометрии;
- цитогенетическое/молекулярно-генетическое исследование.

Проточная цитометрия — быстрый и надежный метод определения линейной принадлежности бластов, позволяющий получить результат практически в режиме экспресс-диагностики. На момент выдачи заключения по результатам иммунофенотипирования методом проточной цитометрии врачи лабораторной диагностики редко располагают данными других исследований, особенно цитогенетики. В то же время основой классификации ВОЗ опухолей гемопоэтических и лимфоидных тканей от 2001 г.,[1] в частности разделов, посвященных острым лейкозам, служит именно цитогенетика, что в определенной степени ограничивает возможности интерпретации полученных данных иммунофенотипирования в условиях диагностической лаборатории. Врачи лабораторной диагностики при описании результатов иммунофенотипирования обычно придерживаются ФАБ-классификации[2] и рекомендаций Европейской группы по иммунологической классификации лейкозов,[3] гораздо реже используя классификацию ВОЗ. На современном уровне организации здравоохранения, когда многие пациенты получают лечение в крупных федеральных центрах, а первичная диагностика проводится в регионах, когда заключения диагностических лабораторий могут быть подвергнуты освидетельствованию со стороны страховых компаний и т.д., максимальная унификация стандартов заключения по данным лабораторных исследований в соответствии с классификацией ВОЗ приобретает особую важность.

Редакция классификации ВОЗ от 2008 г.[4] содержит ряд значимых изменений, касающихся острых лейкозов. В представленной работе, первая часть которой посвящена острым миелобластным лейкозам (ОМЛ), мы сделали особый акцент на обсуждении фенотипических особенностей различных вариантов ОМЛ, выделенных в новой классификации.

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

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

В обновленной версии классификации ОМЛ эксперты выделяют семь основных подгрупп:

1. ОМЛ с повторяющимися генетическими аномалиями.
2. ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией.
3. Миелоидные новообразования, ассоциированные с предшествующей терапией.
4. ОМЛ, не охарактеризованные иным образом.
5. Миелоидная саркома.
6. Миелоидные пролиферативные заболевания, ассоциированные с синдромом Дауна.
7. Бластное новообразование из плазмоцитоидных дендритных клеток.

Подгруппа «ОМЛ с повторяющимися генетическими аномалиями» дополнена ОМЛ, ассоциированными с t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214, ОМЛ с inv(3)(q21;q26.2) или t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1, а также ОМЛ с t(1;22)(p13;q13); RBM15-MKL1. Условно добавлены ОМЛ с мутацией *NPM1* и ОМЛ с мутацией *CEBPA*. Для всех вновь введенных типов ОМЛ присутствие не менее 20 % бластов в костном мозге является обязательным условием подтверждения диагноза.

Подгруппа «ОМЛ с мультилинейной дисплазией» переименована в «ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией» и включает:

- ОМЛ с предшествующей историей миелодиспластического синдрома (МДС);
- ОМЛ с МДС-ассоциированными цитогенетическими аномалиями;
- ОМЛ, когда более 50 % клеток в двух или более миелоидных ростках демонстрируют признаки дисплазии.

Подгруппа «Миелоидные новообразования, ассоциированные с предшествующей терапией» (t-ОМЛ) теперь объединяет все случаи, связанные с терапией алкилирующими агентами, ингибиторами топоизомеразы II и/или радиационной терапией.

В подгруппу «ОМЛ, не специфицированные иным образом», составляющую 25–30 % всех ОМЛ, по-прежнему включают случаи, которые не удовлетворяют критериям для отнесения в другие группы. Эксперты предлагают продолжать описывать данные случаи в соответствии с ФАБ-классификацией.

Новыми для классификации ВОЗ являются группы, объединяющие редко встречающиеся заболевания: «Миелоидные пролиферативные заболевания, ассоциированные с синдромом Дауна» и «Бластное новообразование из плазмоцитоидных дендритных клеток, известное ранее как “Агранулярное CD4+CD56+ гематодермальное новообразование”».

Одним из значимых дополнений явилась рекомендация не использовать данные проточной цитометрии для оценки содержания бластов по экспрессии CD34 при постановке диагноза ОМЛ и в случае подозрения на трансформацию МДС. По мнению специалистов, разведение образцов, артефакты, связанные с подготовкой пробы, и необязательная экспрессия CD34 на поверхности бластов не позволяют использовать проточную цитометрию в качестве замены стандартного морфологического исследования.[5]

Насколько же проточная цитометрия может быть использована для установления диагноза в соответствии с требованиями классификации ВОЗ? Безусловно, иммунофенотипирование не может заменить цитогенетические или молекулярно-генетические исследования. Тем не менее ряд цитогенетических аномалий и выделенных подгрупп ОМЛ связаны с определенными иммунофенотипическими особенностями, что может помочь дифференцировать различные варианты ОМЛ уже на данном уровне.

В табл. 1 представлена новая классификация ОМЛ с описанием возможных характерных иммунофенотипических и клинико-лабораторных особенностей.

Обновления в классификации ОМЛ касаются прежде всего группы «ОМЛ с повторяющимися генетическими ано-

Таблица 1. Иммунофенотипические и клинико-лабораторные особенности ОМЛ

Классификация ВОЗ	Иммунофенотипические и клинико-лабораторные особенности
ОМЛ с повторяющимися генетическими аномалиями	
ОМЛ с t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1	Фенотипические особенности соответствуют ОМЛ-М2. Обычно позитивны по панмиелоидным маркерам (CD13/CD33), а также CD34 и CD117. Характерной особенностью является **коэкспрессия CD19/CD56**. Высокий процент случаев с экспрессией CD34, TdT и сниженной интенсивностью флюоресценции CD13/CD33[6]
ОМЛ с inv(16)(p13.1;q22) или t(16;16)(p13.1;q22); CPFB-MYH11	Фенотипические особенности соответствуют ОМЛ-М4. Возможно присутствие нескольких популяций бластов; характерна экспрессия CD34+CD117+. На гистограммах проточной цитометрии отчетливо можно выделить популяцию **эозинофилов**[7]
Острый промиелоцитарный лейкоз с t(15;17)(q22;q12); PML-RARA	Фенотипические особенности соответствуют ОМЛ-М3. Выделяют два варианта: гипергранулярный (характерные особенности бокового светорассеяния SSC^{high} на гистограммах проточной цитометрии) и гипогранулярный (SSC^{low}, высокий лейкоцитоз). Обычно позитивны по CD33, CD117 и негативны по CD15. Экспрессия CD34 и CD13, а также CD2 характерна для гипогранулярного варианта. **Все варианты негативны по HLA-DR.** Возможна коэкспрессия $CD4^{dim8}$
ОМЛ с t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL	Фенотипические особенности чаще соответствуют ОМЛ-М5а или ОМЛ-М4. HLA-DR, CD4, CD11b, CD15, CD33, CD38 и CD64 экспрессируются в 80–100 % случаев, реже — CD34, CD13, CD14. Коэкспрессия лимфоидных маркеров (CD2, CD7) не является отличительной особенностью[9]
ОМЛ с t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214	Фенотипические особенности чаще соответствуют ОМЛ-М2, реже — М1 или М4. На гистограммах проточной цитометрии в 44–62 % случаев присутствуют **базофилы ($FSC^{low}SSC^{low}CD63^{+}IgE^{+}$).** Бласты в дебюте заболевания чаще позитивны по CD45, CD13, CD33, HLA-DR, миелопероксидазе и негативны по CD34. Дисплазия гранулоцитарного и эритроидного ростков[10]
ОМЛ с inv(3)(q21;q26.2) или t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1	Фенотипические особенности могут соответствовать любому ФАБ-подтипу, за исключением ОМЛ-М3. Во многих случаях — сопутствующий **тромбоцитоз**. Фенотип бластов: CD13, CD33, CD34, CD38, HLA-DR. Часто **аберрантная экспрессия CD7**, в редких случаях — CD41 или CD61[11]
ОМЛ (мегакариобластный) с t(1;22)(p13;q13); RBM15-MKL1	Фенотипические особенности соответствуют ОМЛ-М7 и/или недифференцированным бластам. Лейкозы **детского возраста.** Низкое содержание бластов в дебюте. Фенотип бластов чаще **CD41+, CD61+, CD34–, CD45–, HLA-DR–**[12]
Условная подгруппа: ОМЛ с мутацией гена нуклеофозмина *NPM1*	Фенотипические особенности могут соответствовать любому ФАБ-подтипу, за исключением ОМЛ-М3. Преимущественно ОМЛ-М4, М5а и особенно М5b (до 90 %). Бласты обычно **негативны по CD34** и демонстрируют **яркий уровень экспрессии CD33**.[13] В случае ОМЛ-М1/М2 — сочетанное отсутствие экспрессии HLA-DR и CD34[14]
Условная подгруппа: ОМЛ с мутацией гена *CEBPA*	Фенотипические особенности соответствуют преимущественно ОМЛ-М1/М2. Бласты обычно позитивны по **CD7** (73 %), **CD15** (100 %), **CD34** (93 %), **HLA-DR** (93 %). Характерный суммарный фенотип: HLA-DR+, CD7+, CD13+, CD14–, CD15+, CD33+, CD34+[15]

Продолжение Таблицы 1.

Классификация ВОЗ	Иммунофенотипические и клинико-лабораторные особенности
ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией: ● ОМЛ после трансформации МДС ● ОМЛ с МДС-ассоциированными цитогенетическими аномалиями ● ОМЛ с мультилинейной дисплазией	Данная группа гетерогенна и может включать различные варианты по ФАБ. Бласты чаще экспрессируют CD14, CD4^{dim}, CD34.[16] Необходимо подтверждение истории МДС, присутствие более 20 % бластов, исключение предшествующей цитотоксической или лучевой терапии. Характерны цитогенетические особенности: -5/del(5q); -7/(del7q) или t(11;16); t(3;21); t(1;3); t(2;11); t(5;7); t(5;17); t(5;10); t(3;5). Дифференциальный диагноз проводят с рефрактерной анемией с избытком бластов и ОМЛ-М6/М7[16]
Миелоидные новообразования, ассоциированные с предшествующей терапией	Фенотипические особенности могут соответствовать любому ФАБ-подтипу, специфический иммунофенотип не выявлен. Необходимо подтверждение предшествующей цитотоксической терапии алкилирующими агентами и/или лучевой терапии (5–10 лет), или терапии ингибиторами топоизомеразы II (1–5 лет)[17]
ОМЛ, не охарактеризованные иным образом	
ОМЛ с минимальной дифференцировкой	Фенотип соответствует ОМЛ-М0. Бласты обычно экспрессируют CD34+, HLA-DR+, TdT+. Из миелоидных маркеров могут присутствовать: миелопероксидаза, CD13, CD33 и CD117, часто **коэкспрессия CD7**[18]
ОМЛ без созревания	Фенотип соответствует ОМЛ-М1. Бласты в большинстве случаев позитивны по CD34 и HLA-DR и экспрессируют минимум два из миелоассоциированных маркеров: миелопероксидаза, CD13, CD33 и CD117[19]
ОМЛ с созреванием	Фенотип соответствует ОМЛ-М2. Характерна экспрессия двух и более миелоассоциированных маркеров: CD13, **CD15**, CD33, миелопероксидаза. Во многих случаях сохраняется экспрессия CD34, CD117, HLA-DR. Возможна коэкспрессия CD4^{dim} [20]
Острый миеломонобластный лейкоз	Фенотип соответствует ОМЛ-М4. Сочетанное присутствие миелобластов (CD45$^{moderate+}$, CD13+, CD33+, CD34+, CD117+, HLA-DR+) и монобластов (CD45$^{bright+}$, CD11c+, CD13+, CD14+, CD33+, CD64+, HLA-DR+)[21]
Острый монобластный лейкоз	Фенотип соответствует ОМЛ-М5. Бласты с характерной экспрессией **CD4, CD11c**, CD13, CD33, CD56, CD64 и HLA-DR в **отсутствие миелопероксидазы**. CD34 и CD14 чаще отсутствуют[21]
Острый эритробластный лейкоз: ● Острый эритролейкоз ● Острый эритромиелоз	Фенотип соответствует ОМЛ-М6. В случае острого эритролейкоза бласты позитивны по **гликофорину А (CD235a), CD36, CD71,** в ряде случаев по CD33, и негативны по CD34, CD45, HLA-DR и миелопероксидазе. В случае эритромиелоза не менее 30 % (среди неэритроидных клеток) составляют миелобласты с фенотипом **CD13+, CD33+, CD34+**, позитивные по миелопероксидазе[22]
Острый мегакариобластный лейкоз	Фенотип соответствует ОМЛ-М7. Не менее 50 % бластов должны демонстрировать принадлежность к мегакариоцитарному ростку. Суммарный фенотип: **CD45$^{dim/-}$ с экспрессией CD41a/b+, CD42b+, CD61+**, возможна экспрессия CD34, CD13, CD33, HLA-DR, миелопероксидаза отрицательна[22]
Острый базофильный лейкоз	Бласты обычно экспрессируют маркеры миелоидной дифференцировки **CD13 или CD33** в отсутствие **экспрессии миелопероксидазы** и CD117. Часто позитивны по CD11b, CD34, HLA-DR. Характерной особенностью является экспрессия бластами неспецифичных для базофилов молекул — **CD9 и CD25**[23]
Острый панмиелоз с миелофиброзом	Необходима дифференциальная диагностика с ОМЛ-М7 за счет присутствия атипичных мегакариоцитарных предшественников. Бласты **CD34+, CD33+**, **CD117+, часто CD7+,** в некоторых случаях позитивны по миелопероксидазе, практически не экспрессируют мегакариоцитарные антигены (прежде всего, CD42b). Количество бластов редко превышает 25 % от всех ядросодержащих клеток[24]
Миелоидная саркома	Проточная цитометрия не является методом выбора для диагностики. Опухолевые массы обычно локализованы экстрамедуллярно. По данным иммуногистохимии трансформированные клетки обычно экспрессируют CD68, CD34, CD117, CD99, CD56, TdT и миелопероксидазу[25]
Миелоидные пролиферативные заболевания, ассоциированные с синдромом Дауна	
● Временный аномальный миелопоэз (транзиторная лейкемоидная реакция по миелоидному типу) ● ОМЛ, ассоциированный с синдромом Дауна	Фенотипические особенности соответствуют преимущественно ОМЛ-М6/М7. При обеих патологиях бласты позитивны по CD45, CD38 и CD33, негативны по CD15 и миелопероксидазе. В большинстве случаев суммарный фенотип бластов: CD33+, CD13+/–, CD38+, CD117+, CD34+/–, CD7+, CD56+/–, CD36+, CD71+, CD42b+, CD4^{dim+}, TPO-R+, EPO-R–, IL-3–, Rα+, IL-6–, Rα–. Экспрессия CD13, CD11b чаще характеризует ОМЛ; экспрессия CD34 и отсутствие экспрессии HLA-DR — временный аномальный миелопоэз[26,27]
Бластное новообразование из плазмоцитоидных дендритных клеток (острый лейкоз из дендритных клеток DC$_2$)	Фенотип трансформированных клеток соответствует **CD4+, CD56+, CD45RA+, CD123+, HLA-DR+**. В редких случаях возможна коэкспрессия CD7 или CD33 в отсутствие миелопероксидазы (химерный вариант)[28]

малиями», которая дополнена тремя новыми подгруппами. Использование молекулярно-генетических аберраций для классификации ОМЛ показало свою эффективность при выделении таких подгрупп, как ОМЛ с t(15;17), ОМЛ с inv16 или ОМЛ с t(8;21). Дополнительное выделение подгрупп для чрезвычайно редко (около 1 %) встречающихся вариантов ОМЛ представляется в определенной степени избыточным, но, с учетом данных об их неблагоприятной прогностической значимости, может быть полезно для стратификации больных из группы высокого риска. Для всех трех новых подгрупп данные иммунофенотипирования (ОМЛ с t(6;9) — выявление базофилов и указанного фенотипа бластов; ОМЛ с inv3 — присутствие тромбоцитоза и коэкспрессия бластами CD7; ОМЛ с t(1;22) — низкое содержание бластов, выраженный мегакариобластный фенотип при отсутствии экспрессии CD45 и CD34 [у пациентов раннего детского возраста]) могут быть использованы для обоснования рекомендаций к проведению дополнительных молекулярно-генетических исследований.

Выделение условных подгрупп ОМЛ с мутацией гена нуклеофозмина *NPM1* и ОМЛ с мутацией гена *CEBPA* представляет особый интерес с учетом их благоприятной прогностической значимости для пациентов с нормальным кариотипом. Так, обнаружение при иммунофенотипировании CD34-негативных случаев ОМЛ М4/М5 может служить показанием для дополнительного исследования мутации гена нуклеофозмина. При выявлении ОМЛ М1/М2 с сочетанным отсутствием экспрессии CD34 и HLA-DR дополнительно к исследованию мутации гена *NPM1* можно рекомендовать исследование на наличие мутации *FLT3-ITD*, которая связана с неблагоприятным прогнозом.

Диагностика ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией, в большей степени основана на данных морфологического и цитогенетического исследований. Тем не менее низкое содержание бластов в большинстве случаев делает проточную цитометрию незаменимым методом для установления фенотипа бластов и последующего дифференциального диагноза. Сочетанная экспрессия бластами CD34 и CD7 в таких случаях может указывать на наличие аберраций в хромосоме 5 или 7.

Проточная цитометрия является методом выбора для дифференциальной диагностики подтипов внутри вновь выделенной подгруппы «Миелоидные пролиферативные заболевания, ассоциированные с синдромом Дауна», а также для подтверждения диагноза «Бластное новообразование из плазмоцитоидных дендритных клеток» при наличии поражения костного мозга.

Важно отметить, что для возможности проведения диагностики на таком уровне панель используемых моноклональных антител должна быть расширена. При диагностике ОМЛ обязательным является исследование экспрессии таких антигенов, как CD2, CD4, CD7, CD9, CD11b/c, CD19, CD25, CD56. Особое внимание необходимо также уделять сопутствующей информации, поступающей с направлением

от лечащего врача. Возраст пациента, наличие данных о предшествующей миелодисплазии, предшествующей терапии, результаты клинического анализа крови, миелограммы могут в значительной степени помочь в установлении верного диагноза. Безусловным преимуществом для лаборатории может быть создание единого бланка направления, который будет содержать не только информацию о заказываемом исследовании, но и известные на момент забора биологического материала важные клинико-лабораторные данные.

В крупных лабораториях, обслуживающих значительное число пациентов, это поможет формированию базы данных, куда при согласованной работе врачей-гематологов и врачей клинической лабораторной диагностики можно вносить результаты других исследований (цитогенетика, цитохимия, морфология) и конечный диагноз в соответствии с классификацией ВОЗ. Это позволит провести в будущем корреляционный анализ наличия иммунофенотипических особенностей с определенным подтипом ОМЛ для пациентов в России.

В качестве обязательных компонентов анализа данных проточной цитометрии перед выдачей заключения следует рассматривать:

1. Предварительный анализ данных клинического анализа крови на наличие тромбоцитоза, моноцитоза, эозинофилии, базофилии.
2. Сопоставление данных проточной цитометрии и морфологического исследования.
3. Анализ данных анамнеза, прежде всего возраста, предшествующей терапии и миелодисплазии, а также клинических данных (например, при подозрении на промиелоцитарный лейкоз).
4. Детальный анализ данных иммунофенотипирования:

- выявление аберрантной коэкспрессии лимфоидных маркеров (прежде всего, CD7, CD19/CD56, CD2, CD9, CD25) и других значимых комбинаций — CD4/CD56, сочетанное отсутствие экспрессии HLA-DR и CD34 и т.д.;
- присутствие нескольких популяций бластов с различным иммунофенотипическим профилем;
- особое внимание к случаям с низким содержанием бластов, случаям с подозрением на эритробластный и мегакариобластный лейкозы.

При оформлении заключения с описанием суммарного фенотипа бластов необходимо указать на любые выявленные фенотипические особенности, которые могут быть сопряжены с определенным подтипом ОМЛ, с рекомендацией уточнить наличие предполагаемых генетических аберраций (например, рекомендация к исследованию t(6;9) при обнаружении характерной популяции базофилов в костном мозге). Развернутая форма заключения по данным проточной цитометрии позволит значительно расширить его информативность и привести в максимально возможное соответствие с требованиями классификации ВОЗ.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H., Vardiman J.W.* (eds.) World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC, 2001.

2. *Bennett J., Catovsky D., Daniel M.* et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. Br. J. Haematol. 1976; 33(4): 451–8.

3. *Bene M., Castoldi G., Knapp W.* et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). Leukemia 1995; 9(10): 1783–6.

4. *Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L.* et al. (eds.) World Health Organization Classification of Tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC, 2008.

5. *Vardiman J.W., Thiele J., Arber D.A.* et al. The 2008 revision of the WHO classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. Blood 2009; 114(5): 937–51.

6. *Ferrara F., Del Vecchio L.* Acute myeloid leukemia with t(8;21)/AML1/ETO: a distinct biological and clinical entity. Haematologica 2002; 87(3): 306–19.

7. *Loffler H., Gassmann W., Haferlach T.* AML M1 and M2 with eosinophilia and AML M4Eo: diagnostic and clinical aspects. Leuk. Lymph. 1995; 18(3)S1: 61–3.

8. *Paietta E.* Expression of cell surface antigens in acute promyelocytic leukaemia. Best Pract. Res. Clin. Haematol. 2003; 16(3): 369–85.

9. *Baer M., Stuart C., Lawrence D.* et al. Acute myeloid leukemia with 11q23 translocations: myelomonocytic immunophenotype by multiparameter flow cytometry. Leukemia 1998; 12(3): 317–25.

10. *Alsabeh R., Brynes R.K., Slovak M.L., Arber D.A.* Acute myeloid leukemia with t(6;9) (p23;q34): association with myelodysplasia, basophilia, and initial CD34 negative immunophenotype. Am. J. Clin. Pathol. 1997; 107(4): 430–7.

11. *Shi G., Weh H.J., Duhrsen U.* et al. Chromosomal abnormality inv(3)(q21q26) associated with multilineage hematopoietic progenitor cells in hematopoietic malignancies. Cancer Genet. Cytogenet. 1997; 96(1): 58–63.

12. *Duchayne E., Fenneteau O., Pages M.P.* et al. Acute megakaryoblastic leukaemia: a national clinical and biological study of 53 adult and childhood cases by the Groupe Francais d'Haematologie Cellulaire (GFHC). Leuk. Lymphoma. 2003; 44(1): 49–58.

13. *Chen W., Rassidakis G.Z., Medeiros L.J.* Nucleophosmin gene mutations in acute myeloid leukemia. Arch. Pathol. Lab. Med. 2006; 130(11): 1687–92.

14. *Syampurnawati M., Tatsumi E., Ardianto B.* et al. DR negativity is a distinctive feature of M1/M2 AML cases with NPM1 mutation. Leuk. Res. 2007; 32(7): 1141–3.

15. *Lin L.I., Chen C.Y., Lin D.T.* et al. Characterization of CEBPA mutations in acute myeloid leukemia: most patients with CEBPA mutations have biallelic mutations and show a distinct immunophenotype of the leukemic cells. Clin. Cancer Res. 2005; 11: 1372–9.

16. *Weinberg O., Seetharam M., Ren L.* et al. Clinical characterization of acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes as defined by the 2008 WHO classification system. Blood 2009; 113(9): 1906–8.

17. *Larson R.A.* Therapy-related myeloid neoplasms. Haematologica 2009; 94(4): 454–9.

18. *Vallamor N., Zorco M.A., Rogman M.* et al. Acute myeloblastic leukemia with minimal differentiation: phenotypical and ultrastructural characteristics. Leukemia 1998; 12: 1071.

19. *Kaleem Z., Crawford E., Pathan M.H.* et al. Flow cytometric analysis of acute leukemias. Diagnostic utility and critical analysis of data. Arch. Pathol. Lab. Med. 2003; 127(1): 42–8.

20. *Craig F.E., Foon K.A.* Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. Blood 2008; 111: 3941–67.

21. *Gorczyca W., Weisberger J., Emmons F.M.* Atlas of differential diagnosis in neoplastic hematopathology. Taylor & Francis, 2004: 424.

22. *Ansell S.M.* Rare hematological malignancies. Cancer Treat. Res. 2008; 142: 433.

23. *Lichtman M.A., Segel G.B.* Uncommon phenotypes of acute myelogeneous leukemia: basophilic, mast cells, eosinophilic, and myeloid dendritic cells subtypes. A review. Blood Cells Mol. Diseases 2005; 35: 370–83.

24. *Orazi A., O'Malley D.P., Jiang J.* et al. Acute panmyelosis with myelofibrosis: an entity distinct from acute megakaryoblastic leukemia. Mod. Pathol. 2005; 18: 603–14.

25. *Auduin J., Comperat E., Le Tourneau A.* et al. Myeloid sarcoma: clinical and morphologic criteria useful for diagnosis. Int. J. Sur. Pathol. 2003; 11(4): 271–82.

26. *Karandikar N.J., Aquino D.B., McKenna R.W., Kroft S.H.* Transient myeloproliferative disorder and acute myeloid leukemia in Down syndrome. An immunophenotypic analysis. Am. J. Clin. Pathol. 2001; 116(2): 204–10.

27. *Langebrake C., Creutzig U., Reinhardt D.* Immunophenotype of Down syndrome acute myeloid leukemia and transient myeloproliferative disease differs significantly from other diseases with morphologically identical or similar blasts. Klin. Padiatr. 2005; 217: 126–34.

28. *Petrella T., Comeau M.R., Maynadie M.* et al. Agranular CD4+CD56+ hematodermic neoplasm (blastic NK-cell lymphoma) originates from a population of CD56+ precursor cells related to plasmacytoid monocytes. Am. J. Surg. Pathol. 2002; 26: 852–62.

Бортезомиб (Велкейд) в комбинации с дексаметазоном в лечении рефрактерных/рецидивирующих форм множественной миеломы. Результаты заключительного анализа

С. С. Бессмельцев [1], Е. В. Карягина [2], Л. В. Стельмашенко [1], Н. В. Степанова [3], Е. Р. Мачюлайтене [3], Г. Н. Салогуб [3], К. М. Абдулкадыров [1], Т. Р. Малахова [2], И. А. Скороход [4], Н. В. Медведева [4], Л. И. Крылова [2], Э. И. Подольцева [4], Л. М. Матюхина [5], А. С. Низамутдинова [6], О. Я. Костина [5], Е. Ю. Илюшкина [2]

Р Е Ф Е Р А Т

Оценена эффективность бортезомиба в сочетании с дексаметазоном (VD) у 110 больных с рефрактерными и рецидивирующими формами множественной миеломы (протокол M-06-09). Медиана (Me) возраста больных составила 67 лет (38–82 года), Me числа предшествующих линий терапии — 3 (диапазон 1–9). Среди пациентов, получавших бортезомиб + дексаметазон, показатель общего ответа составил 69%. У 40% больных достигнута полная либо близкая к полной (критерии EBMT) ремиссия. Число циклов VD до получения полной ремиссии в среднем составило 5. Me общей выживаемости больных с момента включения их в исследование составила 31,7 мес., а Me бессобытийной и безрецидивной выживаемости — 24 и 26 мес. соответственно. Побочные эффекты бортезомиба предсказуемы и управляемы, наиболее значимые из них следующие: гематологические, гастроинтестинальные и периферическая нейропатия. В преобладающем большинстве случаев наблюдалась астения (54,5%), нейропатия (56,4%), тромбоцитопения (36,4%), анемия (31%). Серьезные осложнения встречались редко.

Ключевые слова

бортезомиб, множественная миелома, полная ремиссия, общая выживаемость, бессобытийная выживаемость, нейропатия.

Bortezomib (Velcade) in combination with dexamethasone for relapsed/refractory multiple myeloma. The results of final analysis

S. S. Bessmeltsev [1], E. V. Kariagina [2], L. V. Stelmashenko [1], N. V. Stepanova [3], E. R. Machulaitene [3], G. N. Salogub [3], K. M. Abdulkadyrov [1], T. R. Malahova [2], I. A. Skorochod [4], N. V. Medvedeva [4], L. I. Krilova [2], E. I. Podoltseva [4], L. M. Matuhina [5], A. S. Nisamutdinova [6], O. Ya. Khostina [5], E. Yu. Ilushkina [2]

SUMMARY

We report the activity of bortezomib plus dexamethasone (VD) in 110 patients with relapsed and refractory myeloma (protocol M-06-09). Median age of the patients was 67 years (range, 38–82 years). The median number of previous treatments was 3 (range, 1–9). For patients who received bortezomib plus dexamethasone the overall response rate was 69%. Complete response and near complete response rate (based on EBMT criteria) with bortezomib plus dexamethasone was 40% with a median of 5 cycles. Median overall survival in patients treated with bortezomib plus dexamethasone has been reached 31.7 month. Median event-free survival and relapse-free survival were 24 and 26 months respectively. Side effects were predictable and manageable; principal toxicities were hematological, gastrointestinal, and peripheral neuropathy. The most common adverse events reported were asthenia (54.5%), neuropathy (56.4%), thrombocytopenia (36.4%), anemia (31%). Serious adverse events were rare.

Keywords:

bortezomib, multiple myeloma, complete response, overall survival, event-free survival, 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] City Hospital 31, St-Petersburg
[5] Road Clinic Hospital, St-Petersburg
[6] Alexandrovsky Hospital, St-Petersburg

Контакты: bsshem@hotmail.com

Принято в печать: 31 августа 2009 г.

ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе традиционная химиотерапия (ХТ) при множественной миеломе (ММ) полностью не утратила своего значения, хотя область ее применения значительно сузилась. Несмотря на применение различных химиотерапевтических схем, попытки усилить их эффективность за счет увеличения доз лекарственных препаратов, входящих в состав различных комбинаций из цитостатических средств, или смены одной программы ХТ на другую, лечение больных ММ далеко не всегда было успешным.[1-3] Это привело к разработке и в последующем внедрению в клиническую практику препаратов нового поколения (талидомид, бортезомиб, леналидомид), характеризующихся совершенно иным механизмом противоопухолевого действия. Применение новых препаратов коренным образом изменило лечебную парадигму ММ.

Одним из новых препаратов, проявившим высокую активность при ММ, является бортезомиб (Велкейд). В исследованиях *in vitro* и *in vivo* было убедительно показано, что бортезомиб, являясь ингибитором протеосомы, обладает выраженным цитотоксическим

[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] ГУЗ Городская больница № 31, Санкт-Петербург
[5] НУЗ Дорожная клиническая больница ОАО РЖД, Санкт-Петербург
[6] ГУЗ Александровская больница, Санкт-Петербург

свойством, подавляет рост опухолевых миеломных клеток различных линий, влияет на апоптоз и ангиогенез.[4-6] Проведенные в последующем крупные многоцентровые клинические исследования II (SUMMIT) и III фаз (APEX) показали высокую эффективность бортезомиба при рефрактерных и рецидивирующих формах ММ.[7,8] Одновременно было отмечено, что объективный ответ, в т.ч. количество полных ремиссий, можно существенно увеличить, добавив к бортезомибу дексаметазон. Так, например, согласно результатам исследования фазы IIIb, применение бортезомиба в сочетании с дексаметазоном у больных, не достаточно ответивших на бортезомиб, в 34 % случаев позволило повысить качество и длительность ответа.[9]

Ранее мы уже сообщали о нашем многоцентровом исследовании эффективности и переносимости бортезомиба (Велкейд) в комбинации с дексаметазоном (VD) при рецидивах и рефрактерных формах ММ.[10-12] Это нерандомизированное исследование, в котором приняли участие 6 гематологических центров Санкт-Петербурга, началось в феврале 2006 г., проходило по открытому протоколу М-06-09, предложенному ФГУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии», и было рассчитано на 3 года. Исследование закрыто в июле 2009 г.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

За указанный период времени в протокол лечения по программе VD (Велкейд + дексаметазон) включено 110 больных ММ (50 мужчин и 60 женщин) в возрасте 38–82 года (медиана 67 лет). Первый больной был включен в протокол в феврале 2006 г., последний — в феврале 2009 г., т.е. период наблюдения за больными колеблется от 4 до 41 мес. Все расчеты полученных результатов для данного сообщения выполнены в июле 2009 г.

Критерии включения в исследование:

- Пациенты мужского и женского пола не моложе 18 лет.
- Прогрессирование/рецидив заболевания после получения начального ответа на терапию (не менее 1 линии специальной терапии).
- Прогрессирование до наступления ремиссии во время первой линии терапии (первичная рефрактерность).
- Химиорезистентные больные, получившие не менее 3 линий различных схем ХТ и не ответившие на нее, или с рецидивом ММ.
- Общесоматический статус больного (PS) 2 балла и менее, основанный на рекомендациях ECOG-WHO (European Organization for Research and Treatment of Cancer).
- Ожидаемая продолжительность жизни (≥ 3 мес.).
- При включении в протокол гематологические показатели должны быть в следующих пределах: общее число нейтрофилов $1{,}0 \times 10^9$/л и более при отсутствии поддержки гемопоэтическими цитокинами, количество тромбоцитов 70×10^9/л и более при отсутствии трансфузий в течение 3 дней до исследования (однако 12 пациентов были включены в протокол с уровнем тромбоцитов менее 50×10^9/л, но без признаков геморрагического диатеза), гемоглобин 80 г/л и более при отсутствии трансфузий в течение 7 дней до включения, биохимические показатели — клиренс креатинина 30 мл/мин и более[1], уровень общего билирубина не более 1,5 × ВГН (верхняя граница нормы), активность АсАТ и АлАТ не более 2,5 × ВГН.
- Пациенты, включаемые в исследование, должны подписать форму информированного согласия.
- Женщины детородного возраста (не достигшие менопаузы) и их партнеры должны использовать надежные методы контрацепции до и во время исследования.

Критерии исключения: психические расстройства; сопутствующие онкологические заболевания; тяжелые заболевания сердца (частые приступы стенокардии, клинически значимые перикардиты или наличие электрокардиографически доказанных ишемических эпизодов либо поражений проводящей системы сердца, подозрение на амилоидоз); тяжелые заболевания печени (активные формы гепатита), легких (активные формы туберкулеза), положительный анализ на ВИЧ; язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки в период обострения; острые инфекционные процессы (после их купирования и нормализации состояния больного он может быть включен в исследование); плохо контролируемое течение артериальной гипертонии, сахарного диабета; повышенная чувствительность к бортезомибу, бору, манниту; предсуществующая периферическая нейропатия (ПН) II степени или более тяжелой степени, нейропатическая боль (после разрешения ПН может быть рассмотрен вопрос о целесообразности включения больного в протокол).

Ранее все пациенты, вошедшие в исследование, получали различное лечение. Число линий предшествующей терапии колебалось от 1 до 9 (медиана 4). 8 больных ММ ранее лечились бортезомибом в монорежиме (каждый получил по 8 циклов). В связи с недостаточным и нестойким ответом (3 мес.) им была назначена терапия VD. В исследование вошло также 10 пациентов с рецидивом ММ, возникшим после аутологичной трансплантации периферических стволовых клеток (ауто-ТПСК). Более подробная характеристика больных ММ, включенных в исследование, представлена в табл. 1.

Таблица 1. Характеристика пациентов с множественной миеломой (n = 110; химиорезистентность/рецидив)

Параметр	Значение
Возраст, годы	
Средний	67 (38–82)
< 65 лет	64
> 65 лет	46
Мужчины/женщины	50:60
Варианты секреции парапротеина	
G/A	52/43
Бенс-Джонса	15
Стадии ММ по Durie, Salmon: II/III стадии	60/50
Подстадии ММ: A/B	85/25
Число предшествующих линий терапии, медиана (диапазон)	4 (1–9)
Предшествующее лечение глюкокортикоидами (дексаметазон/преднизолон; пульс-терапия), *n*	18
Предшествующая ХТ: ВЦАП, ЦМВП, АРА-ЦОП, МП, М2, МОССА, средние дозы мелфалана и др., *n*	50
Предшествующее лечение по программе ВАД/ВАМП, *n*	36/2
Предшествующее лечение по программе ЦВАД, *n*	8
Предшествующее лечение по программе Гипер-ЦВАД, *n*	6
Предшествующее лечение с проведением ауто-ТПСК, *n*	10
Предшествующее лечение бортезомибом в монорежиме, *n*	8

Бортезомиб (Велкейд) назначался в сочетании с дексаметазоном (VD): бортезомиб 1,3 мг/м^2 в/в в 1, 4, 8 и 11-й дни с последующим 10-дневным перерывом (дни 12–21) + дексаметазон 20 мг внутрь или в/в в 1, 2, 4, 5, 8, 9, 11 и 12-й дни каждого 21-дневного цикла; до 8 циклов (изредка 9) терапии. После достижения объективного ответа (ОО) больным проводили еще два таких же цикла консолидирующей терапии, а далее их переводили на поддерживающее

[1] Формула Cockroft—Gault (общепринятая) для точного расчета почечного клиренса: Ccr = (140 – возраст) × масса тела (кг) / креатинин сыворотки (мг/дл) × 72. Для женщин полученная цифра умножается на 0,85.

лечение, которое заключалось в следующем: бортезомиб в дозе 1,3 мг/м^2 в/в в 1, 8, 15 и 22-й дни, затем 12-дневный перерыв (дни 23–35, 5-недельный цикл). Таких циклов каждый больной, достигший ответа, получал три (далее — наблюдение). Таким образом, суммарное количество циклов (с учетом консолидирующих и поддерживающих циклов) колебалось от 11 до 13 (изредка 14).

Всем больным в течение всего периода применения бортезомиба (но не более 2 лет) ежемесячно вводили бисфосфонаты (золедронат, бондронат). При развитии глубокой нейтропении (IV степени) назначали колониестимулирующие факторы (нейпоген, граноцит), снижении гемоглобина менее 100 г/л — рекомбинантные эритропоэтины (эпрекс, рекормон, эпокрин), менее 80 г/л — трансфузии эритроцитной массы, тяжелой тромбоцитопении — тромбоконцентраты.

Оценка эффективности лечения проводилась у больных ММ, получивших не менее трех 3-недельных циклов VD. Результаты лечения оценивали с использованием критериев EBMT.[13] Выделяли полную ремиссию (ПР), частичную ремиссию (ЧР), минимальный ответ (МО) и стабилизацию опухолевого процесса. ПР (ответ) диагностировали у больных ММ, у которых в пунктате костного мозга число плазматических клеток нормальной морфологии было менее 5 %, моноклональный иммуноглобулин и легкие цепи в моче не обнаруживались. Для уточнения полноты ремиссии использовали тест иммунофиксации, что позволяло верифицировать у больных ПР при отрицательном результате теста либо ремиссию, близкую к полной (бПР), при положительном результате. ЧР (ответ) устанавливали в том случае, если наблюдалось более чем 50%-е уменьшение количества моноклонального иммуноглобулина и более чем 90%-е уменьшение уровня легких цепей в суточной моче; для МО было характерно более чем 25%-е и 50%-е снижение соответственно. Прогрессирование болезни (рецидив) устанавливали при 25%-м увеличении (или появлении) уровня моноклонального иммуноглобулина (в сыворотке крови — более 10 г/л, в моче — более 200 мг/сут), выявлении новых очагов деструкции в костях скелета или формировании костной или мягкотканной плазмоцитомы, возникновении или усугублении гиперкальциемии (более 11,5 мг/дл, или 2,8 ммоль/л, либо 6,3 мг/дл, или 1,5 ммоль/л, в ионизированной форме), необъяснимой какими-либо другими причинами, кроме ММ.

Статистическая обработка данных проведена с использованием компьютерных программ Microsoft Office Excel 2003 и STATISTICA 6.0 в среде Windows XP. Расчет выживаемости осуществлялся по методу Каплана—Мейера. Вычисляли время общей (промежуток времени от даты включения в протокол (среди всех больных) до смерти от любой причины или до даты последней явки больного), бессобытийной (промежуток времени от момента включения в протокол (среди ответивших больных) до любого события — прогрессии, перехода на другую линию терапии, рецидива, смерти от любой причины) и безрецидивной (промежуток времени от даты констатации ПР до даты рецидива или последней явки больного) выживаемости, а также время до прогрессирования заболевания (срок от даты включения в протокол до даты первого обнаружения прогрессии заболевания (или рецидива) у больных, достигших ответа). Медиану (Ме) выживаемости вычисляли с использованием 50-го процентиля. Для сравнения кривых выживаемости в группах больных применяли лог-ранговый тест, а для отдельных показателей — лог-ранговый критерий Спирмена. Различие считали статистически достоверным при $p < 0,05$. Общую токсичность бортезомиба оценивали согласно критериям ВОЗ; тяжесть астенического синдрома и нейротоксичность — с использованием критериев Национального института рака США (the National Cancer Institute Common Toxicity Criteria — NCI CTC), версия 3.0 (Cancer Therapy Evaluation Program, Department of Health and Human Services, December 2003).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объективный ответ (ПР + ЧР + МО) в целом в группе пациентов независимо от стадии болезни и функции почек составил 69 %. Как видно на рис. 1, у 20 (18,2 %) больных удалось получить ПР и у 24 (21,8 %) — бПР, т. е. суммарный показатель ПР + бПР равен 40 %. ЧР зарегистрирована у 17 (15,4 %) пациентов, а МО — у 15 (13,6 %). Еще у 22 (20 %) больных наблюдалась стабилизация опухолевого процесса. Только у 12 (11 %) больных добиться положительного ответа не удалось. Число циклов VD до получения ПР колебалось от 3 до 9 (в зависимости от числа линий предшествующей терапии) и в среднем составило 5, ЧР — от 3 до 8 (в среднем 4 цикла). Продолжительность ответа на лечение зависела от его полноты (рис. 2). Так, Ме длительности ПР на момент подсчета результатов исследования равнялась 19,5 мес., бПР — 15,4 мес., ЧР — 11,8 мес. (различие с ПР существенно; $p < 0,05$; лог-ранговый тест Спирмена). Продолжительность МО при сравнении с ПР/бПР была еще меньше (Ме — 6 мес.; $p < 0,05$).

Как уже указывалось выше, период наблюдения за пациентами, вошедшими в протокол VD, колебался от 4 до 41 мес. Через 12 мес. от начала исследования в живых оставалось 91,8 % больных, включенных в протокол, а через 36 мес. — 67,3 %. Кривая общей выживаемости (ОВ) за весь период наблюдения показана на рис. 3. Ме ОВ составила 31,7 мес., а Ме бессобытийной и безрецидивной выживаемости за этот же период наблюдения — 24 и 26 мес. соответственно (рис. 4 и 5).

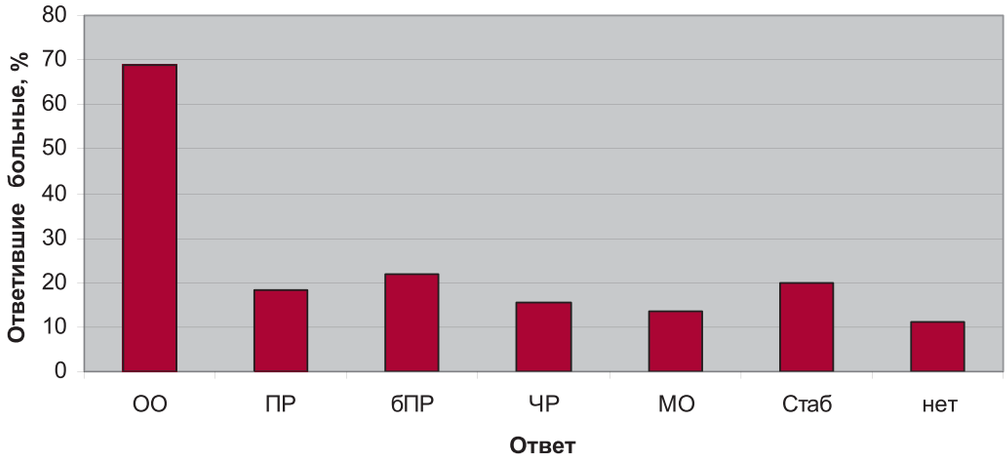


Рис. 1. Эффективность бортезомиба в комбинации с дексаметазоном при рецидиве и рефрактерных формах множественной миеломы

Стаб — стабилизация.

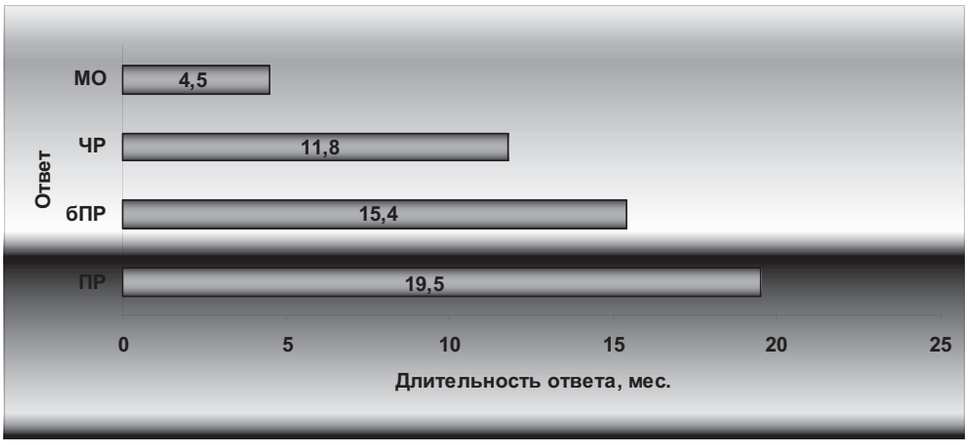


Рис. 2. Медиана длительности ответа у больных, получавших бортезомиб в сочетании с дексаметазоном

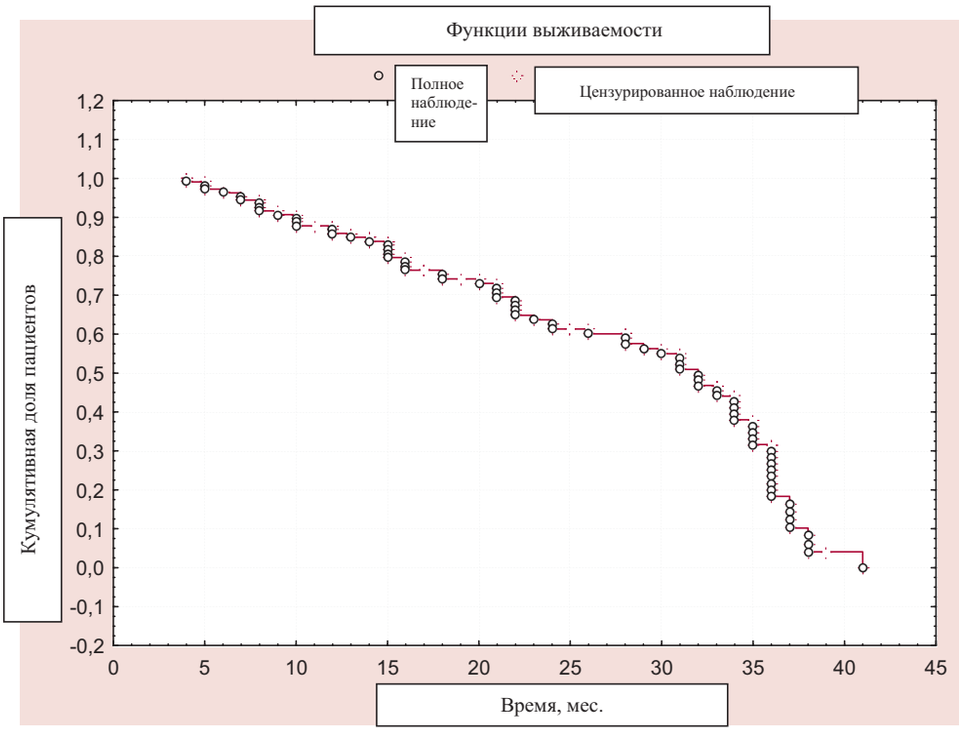


Рис. 3. Общая выживаемость пациентов с множественной миеломой, получавших бортезомиб в сочетании с дексаметазоном

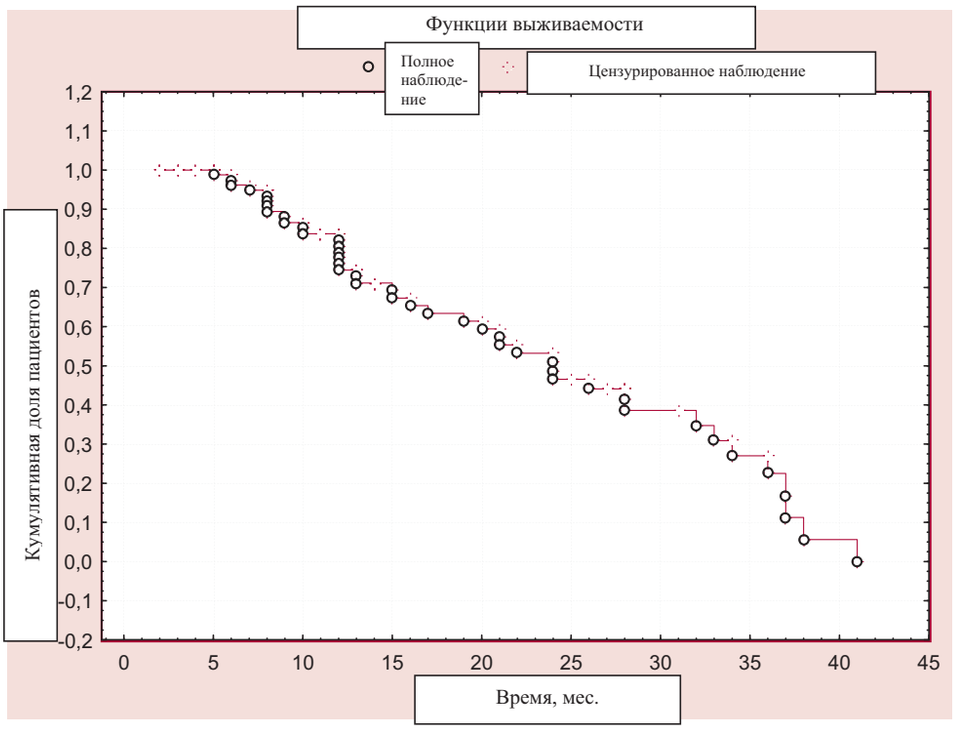


Рис. 4. Бессобытийная выживаемость пациентов с множественной миеломой, получавших бортезомиб в сочетании с дексаметазоном

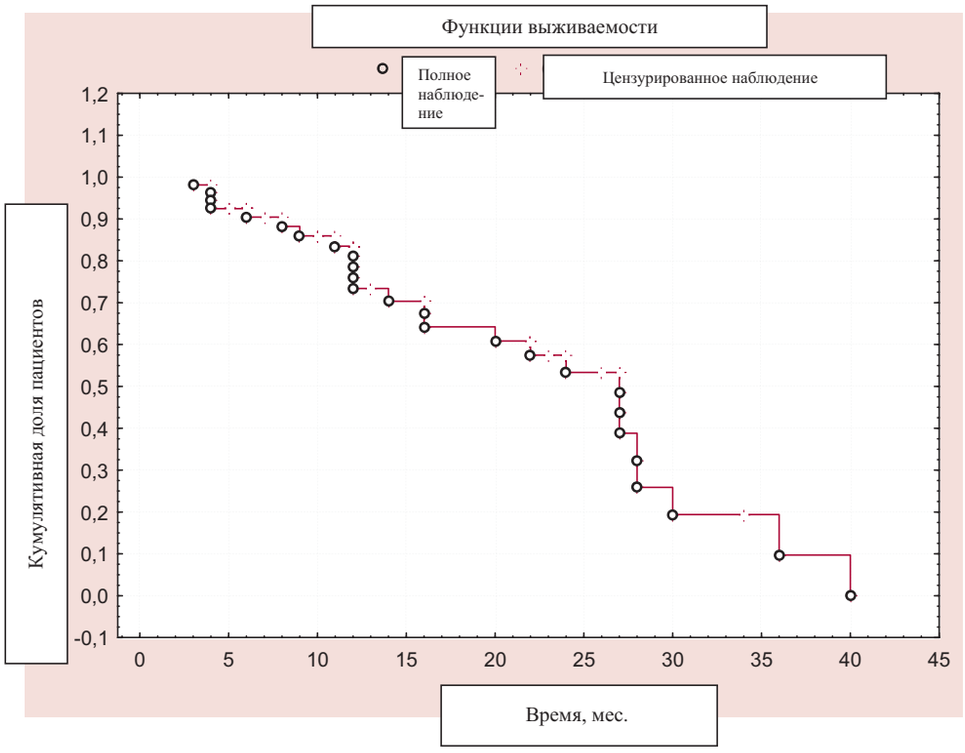


Рис. 5. Безрецидивная выживаемость пациентов с множественной миеломой, получавших бортезомиб в сочетании с дексаметазоном

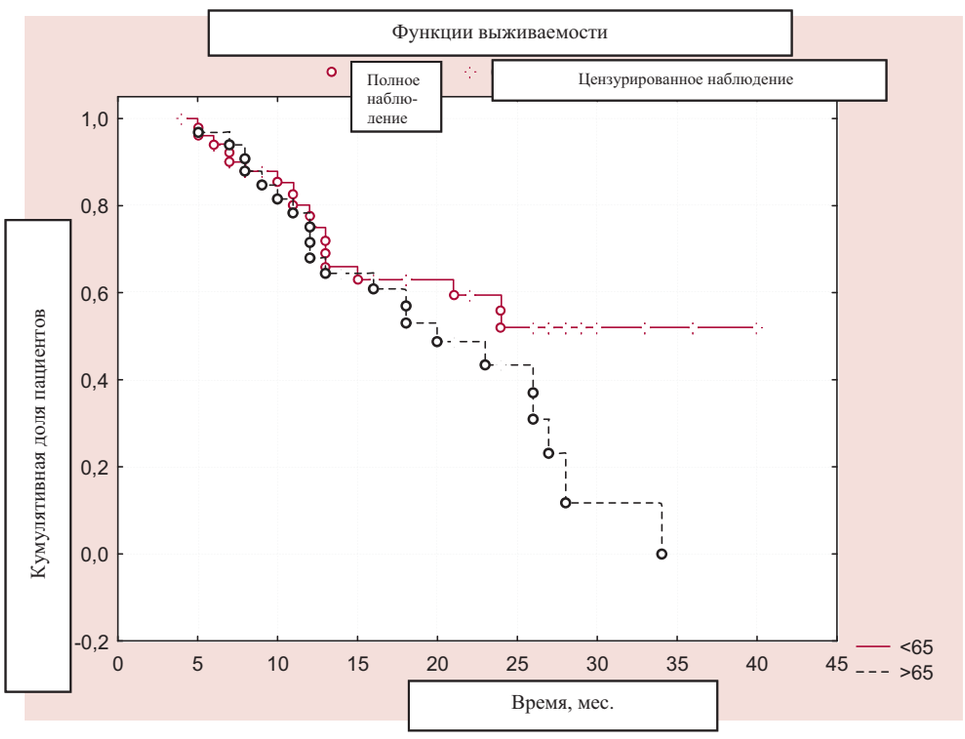


Рис. 6. Время до прогрессирования множественной миеломы при использовании бортезомиба в комбинации с дексаметазоном с учетом возраста больных (< 65 *vs* > 65 лет)

Мы оценили время до прогрессирования болезни с учетом возраста пациентов (< 65 *vs* > 65 лет). В группе было 46 (42 %) больных старше 65 лет. Среди них у 26 (56,5 %) пациентов верифицирована III стадия ММ (по Durie, Salmon) и у 15 (32,6 %) — выявлены признаки хронической почечной недостаточности (клиренс креатинина более 30 мл/мин, но менее 60 мл/мин). Установлено, что Me времени до прогрессирования у больных старше 65 лет составила 19,4 мес., в то время как у лиц моложе 65 лет за время наблюдения, равное 40 мес., она не была достигнута (рис. 6).

Ранее мы сообщали об эффективности повторного назначения бортезомиба.[11,12] На момент анализа результатов лечения больных для данного сообщения в протокол VD включены 8 пациентов, которые ранее лечились бортезомибом в монорежиме (каждый получил по 8 циклов). В связи с недостаточным ответом (МО — 3 мес., стабилизация, отсутствие ответа) они были переведены на схему VD. После 3–8 циклов терапии у 1 пациента достигнута ПР, у 2 — бПР, у 2 — ЧР и у 1 — МО (ОО — 75 %). Ответ у 4 пациентов сохраняется до настоящего времени (от 3 до 16 мес.). У 2 больных через 8 и 10 мес. соответственно развился рецидив. В качестве противорецидивной терапии использован бортезомиб с доксорубицином (стандартный 3-недельный цикл бортезомиба + доксорубицин 30 мг в/в на 4-й день). После 4 циклов у больных достигнута ЧР, сохраняющаяся уже в течение 10 мес.

Отдельно нами проанализированы результаты применения VD у 10 больных с рецидивами, развившимися после проведения ауто-ТПСК. У 2 больных была получена ПР, у

2 — бПР, у 3 — ЧР (ОО — 70 %), еще у 2 — стабилизация опухолевого процесса, и только в одном случае ответа не было. Количество циклов VD, необходимых до получения ОО либо стабилизации, колебалось от 5 до 9. У 3 пациенток ПР/бПР сохраняется в течение 10–22 мес. Среди этих 10 больных так же, как и в предыдущей подгруппе, были те, которым бортезомиб назначался неоднократно и каждый раз успешно. Так, у одной пациентки, достигшей ПР после 6 циклов VD, через 5 мес. развился рецидив. Бортезомиб с дексаметазоном был назначен повторно. После 8 циклов снова удалось получить ПР. Однако уже через 3 мес. выявлен рецидив заболевания. Тогда больная была переведена на программу PAD (бортезомиб 1,3 мг/м^2 в/в в 1, 4, 8 и 11-й дни, дексаметазон 40 мг в 1–4, 8–11 и 15–18-й дни; в течение 1–4 дней дополнительно вводился доксорубицин в дозе 9 мг/м^2). После 3 циклов достигнута ЧР, которая сохранялась 15 мес.

Мы уже сообщали о побочных эффектах бортезомиба.[10-12] Результаты заключительного анализа показали, что существенных отличий в частоте неблагоприятных побочных явлений по сравнению с обнаруженными ранее в целом нет (табл. 2). С частотой более 30 % наблюдались: астения (54,5 %), желудочно-кишечные явления (в основном, тошнота — 40 %). Реже больные предъявляли жалобы на рвоту (18,2 %), жидкий стул (26,4 %) или, наоборот, запор (23,6 %). Однако тяжелая рвота III степени встретилась лишь у 5 (4,5 %) пациентов, а диарея — у 4 (3,6 %). Астенический синдром (усталость, слабость, недомогание) чаще наблюдался при проведении первых 3 циклов терапии и лишь в редких случаях соответствовал III–IV степени (табл. 3), что было основанием для временного прекращения терапии (задержка очередного цикла не более чем на 10 дней). Двум (1,8 %) пациентам доза бортезомиба была снижена на 25 %. У большинства больных усталость была временной, и они могли продолжать лечение.

Наиболее частым осложнением при применении бортезомиба было развитие ПН, которая наблюдалась у 62 (56,4 %) из 110 больных. Обращало на себя внимание, что у 30 (27,3 %) из 110 пациентов, вошедших в исследование, уже исходно были признаки ПН I степени (у 3 больных — диабетическая). У всех этих пациентов, несмотря на то что лечение их начинали с назначения витаминов группы В, мильгаммы, на фоне применения бортезомиба отмечалось нарастание симптоматики ПН с максимальной выраженностью после 3–5 циклов.

Таблица 2. Побочные эффекты у пациентов (n = 110) с множественной миеломой с рецидивом/рефрактерностью, получавших VD

Побочный эффект	Число больных, n (%)
Астенический синдром (усталость/слабость)	60 (54,5)
Тошнота	44 (40,0)
Рвота	20 (18,2)
Жидкий стул	30 (26,4)
Запор	26 (23,6)
Снижение аппетита и массы тела	27 (26,0)
Периферическая нейропатия	62 (56,4)
Лихорадка	30 (27,2)
Инфекции	38 (34,5)
Гипертензия	22 (20,0)
Ортостатическая гипотония	8 (7,3)
Головокружение	12 (11,0)
Боли в эпигастральной области	5 (4,5)
Кожный зуд, сыпь	12 (11,0)
Гипергликемия/глюкозурия	8 (7,6)/4(3,6)
Снижение уровня тромбоцитов	40 (36,4)
I–II степени	23 (21,0)
III степени	13 (11,8)
IV степени	4 (3,6)
Анемия	34 (31,0)
I–II степени	19 (17,4)
III степени	12 (10,9)
IV степени	3 (2,7)
Нейтропения	27 (24,5)
I–II степени	17 (15,5)
III степени	8 (7,2)
IV степени	2 (1,8)

Таблица 3. Астенический синдром у пациентов с множественной миеломой, получающих программу VD

Тяжесть астенического синдрома	Число больных, %
Общая частота	54,5
III степень	18,2
IV степень	1,8
Периодическая усталость	3,6

У остальных 32 (29,1 %) больных появление первых признаков ПН наблюдалось в процессе проведения 3–5 циклов VD. Однако в преобладающем большинстве случаев диагностирована ПН I–II степени и только у 11 и 4,5 % больных — III и IV степени соответственно (рис. 7). Следует подчеркнуть, что у 8 (47 %) из 17 больных с развившейся ПН III–IV степени признаки нейропатии отмечалсиь уже при включении их в протокол, в то время как среди 45 больных с нейропатией I–II степени аналогичная симптоматика исходно была выявлена только в 10 (22 %) случаях.

Лечение ПН — сложная задача. При использовании бортезомиба главным следует считать своевременную диагностику нейротоксичности, уточнение степени ее тяжести и строгое соблюдение рекомендаций по коррекции дозы препарата.[14] Сенсорная нейропатия I степени не влияла на ход лечения больных. В случае обнаружении нейропатии I степени с болевым синдромом или II степени проводилась редукция дозы на 25 % (с 1,3 до 1,0 мг/м^2). При развитии нейропатии II степени с болевым синдромом или III степени бортезомиб отменяли. После снятия симптомов токсичности использовалась доза бортезомиба 0,7 мг/м^2 или прежняя доза, которая вводилась не 2 раза в неделю, а 1 раз. Одновременно при обнаружении признаков ПН больным назначались витамины группы В, мильгамма или α-липоевая кислота. При нарастании симптоматики ПН, появлении болевого синдрома применяли габапентин (Тебантин) или прегабалин (Лирику), а в тяжелых случаях — карбамазепим, амитриптилин.[14] У 47 (75,8 %) из 62 пациентов верифицирована ПН ≥ II степени. На фоне указанной сопроводительной терапии постепенно отмечалось улучшение самочувствия больных, которые четко указывали на уменьшение интенсивности боли в нижних и верхних конечностях, восстановление температурной и тактильной чувствительности и функциональной подвижности конечностей. У 34 (72,3 %) больных с ПН ≥ II степени удалось либо купировать ее полностью, либо существенно понизить тяжесть (до сенсорной I степе-

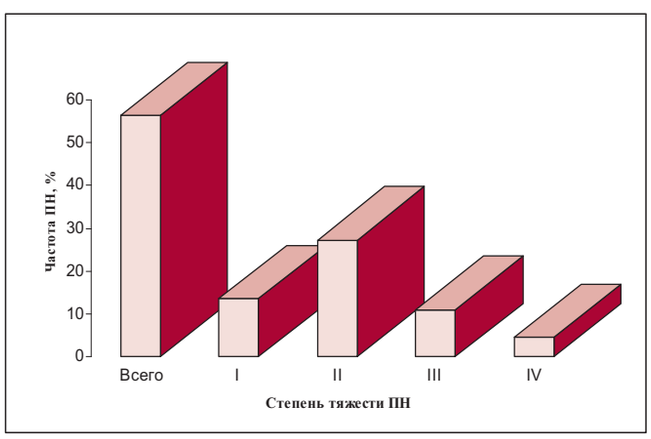


Рис. 7. Частота периферической нейропатии у пациентов с множественной миеломой (рецидив/рефрактерность), получавших бортезомиб в сочетании с дексаметазоном

ни) и продолжить лечение бортезомибом. Ме времени до снижения проявлений ПН или ее купирования составила 114 дней (колебания от 30 до 140 дней). В целом по группе отмена препарата в связи с нейротоксичностью проведена у 7 (6,3 %) из 110 пациентов, у которых наблюдалась тяжелая нейропатия. У 3 из этих больных нейропатия сохраняется уже в течение 1 года. Самочувствие их значительно лучше, но возобновить применение бортезомиба не удается.

Из других негематологических побочных явлений мы наблюдали преходящую лихорадку (подъем температуры до 38 °С в день введения бортезомиба или на следующий день, не связанный с присоединением инфекции) у 27,2 % больных и инфекции (34,5 %). Среди инфекционных осложнений преобладал *herpes zoster*. Однако следует отметить, что если по результатам промежуточного анализа частота *herpes zoster*, инфекции составляла 15 %,[12] то по данным заключительного анализа — 9 %. В последнее время больным в течение всех циклов VD мы профилактически назначаем противовирусный препарат ацикловир, с чем и связываем снижение частоты возникновения *herpes zoster*. Реже встречались острые респираторные аденовирусные инфекции (9,2 %), острый бронхит (8,2 %), отит (2,7 %), инфекции мочевых путей (1,8 %), которые в целом не повлияли на ход лечения основного заболевания. Наиболее серьезным осложнением была пневмония. Ее возникновение наблюдалось у 4 (3,6 %) больных после 2–5 циклов VD, что было основанием для прекращения терапии в 2 случаях. У одной пациентки одновременно отмечено развитие *herpes zoster*, ПН III степени и гипергликемии. У другой больной острая пневмония возникла после 5-го цикла лечения. Учитывая то, что ответа на VD к этому времени не было получено, дальнейшее его использование было признано нецелесообразным. У остальных 2 больных после полной ликвидации очага воспаления лечение было продолжено, но разовая доза бортезомиба снижена до 1 мг/м^2. Еще реже встречалась гипертензия (20 %) или гипотония (7,3 %). У 11 % больных наблюдались изменения со стороны кожи в виде эритематозной сыпи на коже шеи, груди, плечевом поясе, иногда — пигментации или зуда кожных покровов. Однако эти симптомы были преходящими и к началу очередного курса исчезали. Изредка возникали и другие осложнения: гипергликемия/глюкозурия, рост активности лактатдегидрогеназы (3,6 %), гиперурикемия (2,7 %), пароксизмы мерцательной аритмии (2,7 %) и отеки (1,8 %).

Суммарная частота негематологических побочных эффектов III–IV степени (за исключением ПН) в целом по группе больных составила 33,5 %, только IV степени — 5,4 %.

Что касается гематологической токсичности, то, как было показано ранее, бортезомиб вызывает обратимую миелосупрессию.[7,9,11,15] Согласно результатам заключительного анализа, снижение уровня тромбоцитов обнаружено у 36,4 % больных (см. табл. 2). При этом развитие токсичности III–IV степени зарегистрировано только у 15,4 % больных, из них IV степени — у 3,6 %. Снижение уровня тромбоцитов в основном регистрировалось к 11-му дню лечения и восстанавливалось в период отдыха. Важно отметить, что у 12 (70,5 %) из 17 больных с развившейся тромбоцитопенией III–IV степени содержание тромбоцитов исходно было менее 50×10^9/л. Нейтропения наблюдалась у 24,5 % пациентов, но III степени — у 7,2 %, а IV степени — у 1,8 %. В большинстве случаев нейтропения имела такой же характер, как и тромбоцитопения. В каждом цикле лечения абсолютное содержание нейтрофилов снижалось, а в период отдыха — возвращалось к исходному уровню. Развитие анемии наблюдалось у 31 % больных, однако III и IV степени — в 7,2 и 1,8 % случаев соответственно. Необходимо отметить, что развитие тяжелой анемии и нейтропении чаще обнаруживалось у больных ММ, многократно леченных (получивших более 4 линий предшествующей терапии), после 6–8 циклов VD и не ответивших на лечение или достигших лишь МО. Суммарная частота гематологических побочных эффектов III–IV степени в группе больных составила 38 %, только IV степени — 8,1 %.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты многоцентрового исследования эффективности бортезомиба (Велкейд) с дексаметазоном (схема VD) при рецидивирующих/рефрактерных формах ММ, проведенного в рамках протокола М-06-09, подтвердили его высокую эффективность. Большинство больных ММ, включенных в протокол с февраля 2006 г. по февраль 2009 г., положительно ответили на терапию. Объективный ответ (ПР + ЧР + МО) составил 69 %, включая 40 % ПР/бПР. Только у 11 % пациентов добиться положительного ответа не удалось. Число циклов VD, необходимых для получения ПР, в среднем составило 5, а ЧР — 4. Важно отметить, что продолжительность ОО на VD зависела от его качества. Ме длительности ПР была гораздо выше, чем ЧР и МО ($p < 0,05$). Ме ОВ у больных, вошедших в исследование, при максимальном периоде наблюдения 41 мес. составила 31,7 мес.; Ме бессобытийной и безрецидивной выживаемости за этот же период наблюдения — 24 и 26 мес. соответственно. Как показали результаты промежуточного анализа, чем качественнее достигнутый ответ, тем длительнее выживаемость больных ММ.[12]

Бортезомиб можно успешно применять у больных ММ с различными факторами прогноза. Так, анализ Ме ОВ у пациентов с IgG- и IgA-миеломой не выявил достоверных различий.[12] К факторам прогноза относится также возраст. Большинство больных пожилого возраста имеют IIIB стадию ММ (по Durie, Salmon), что нередко предопределяет неблагоприятный прогноз заболевания. Больные старше 65 лет обычно хуже отвечают на лечение, имеют более короткую выживаемость и Ме времени до прогрессирования.[16-18] Между тем исследование III фазы VISTA показало, что пожилые пациенты с ММ отвечают на терапию бортезомибом. Комбинация бортезомиб + МР оказалась одинаково эффективной в группах больных моложе или старше 75 лет.[15] Среди 110 пациентов, вошедших в наше исследование, 42 % были в возрасте 65–82 года. У 56,5 % из них установлена III степень заболевания, а у 32,6 % больных — подстадия В. По результатам промежуточного анализа эффективности VD,[12] ПР в группе больных моложе 65 лет было больше, чем у лиц старше 65 лет (23 *vs* 17 %; $p < 0,05$). Пациенты старшей возрастной группы чаще имели ЧР или МО, а летальность среди них выше.[11] Однако число циклов VD, необходимых для достижения ПР/ЧР, не зависело от возраста и в среднем составило 5, а положительный ответ с учетом стабилизации опухолевого процесса составил 87 %.[12] Такие результаты лечения, безусловно, выше, чем при применении стандартных методов ХТ.

Что касается выживаемости, то, как оказалось, 1-летняя ОВ в группе больных до 65 лет была выше ($p < 0,05$). Но при дальнейшем наблюдении кривая ОВ у пациентов в возрасте до 65 лет начинала снижаться, и к 22 мес. отмечалось ее совпадение с кривой ОВ у лиц старше 65 лет.[12] Никаких различий не получено и при анализе безрецидивной и бессобытийной выживаемости больных разного возраста. При заключительном анализе мы оценили время до прогрессирования болезни с учетом возраста пациентов (< 65 *vs* > 65 лет). Выяснилось, что Ме времени до прогрессирования у больных старше 65 лет составила 19,4 мес., в то время как у лиц моложе 65 лет за время наблюдения, равное 40 мес., она не была достигнута.

Таким образом, применение VD позволяет преодолеть негативное влияние, связанное с определенным типом секретируемого иммуноглобулина на эффективность лечения химиорезистентных/рецидивирующих форм ММ. Непосредственные результаты применения VD выше у лиц молодого возраста. Пожилые пациенты чаще имеют ЧР, у них короче Me времени до прогрессирования болезни. Однако число циклов лечения до достижения ПР/ЧР не зависит от возраста. Нет различий в общей, бессобытийной и безрецидивной выживаемости больных моложе или старше 65 лет.

С практической точки зрения важным представляется факт повторного применения бортезомиба. Согласно опубликованным результатам,[19,20] повторное введение бортезомиба в большинстве случаев эффективно. Причем повторно можно использовать как монорежим, так и комбинированную терапию. Однако, когда неэффективен монорежим, следует применять бортезомиб в комбинации с другими препаратами. Как выяснилось, качество ответа зависит от продолжительности интервала времени, свободного от лечения бортезомибом (после прекращения первичной терапии). Так, по данным I. Hrusovsky и соавт.,[20] если интервал после предыдущего лечения бортезомибом менее 6 мес., количество ПР/бПР равно 9,1 %, а если более 6 мес. — 18,5 %. Анализ эффективности повторного применения бортезомиба в нашем исследовании показал, что у больных, не ответивших на лечение в монорежиме, достигших короткого МО или стабилизации заболевания, назначение VD позволило получить ОО, равный 75 %. У 2 пациентов через 8 и 10 мес. соответственно наблюдался рецидив. Им снова был назначен бортезомиб, но с доксорубицином, что позволило достичь длительной ЧР.

Необходимо отметить, что схему VD можно применять и у больных с рецидивом после ауто-ТПСК. По нашим данным, эффективность ее составила 70 %. Среди пациентов этой подгруппы бортезомиб в различных комбинациях назначался неоднократно и каждый раз успешно. У одной пациентки схема VD была использована повторно через 5 мес. в связи с рецидивом и снова получена ПР, но длительность ее составила 3 мес. Между тем применение в последующем иной комбинации (PAD) дало ЧР, которая сохранялась 15 мес.

Таким образом, бортезомиб при повторном назначении эффективен. Однако если интервал, свободный от лечения, короткий, то в таких ситуациях более оправдано применение иных сочетаний с бортезомибом.

Что касается переносимости бортезомиба, то она вполне удовлетворительная. Наиболее частыми негематологическими побочными эффектами являются астенический синдром, ПН и желудочно-кишечные проявления, а гематологическими — тромбоцитопения и анемия. Однако астенический синдром III–IV степени возникает редко. Тяжелая желудочно-кишечная токсичность в виде рвоты и диареи III степени встретилась лишь у 4,5 и 3,6 % пациентов соответственно.

Тромбоцитопения у большинства больных была преходящей, возникала к концу цикла лечения и исчезала в интервале между циклами. Тромбоцитопения III–IV степени обнаружена у 15,4 % больных, причем в подавляющем большинстве только у тех из них, у которых исходно содержание тромбоцитов было менее 50×10^9/л, что указывает на необходимость осторожного использования бортезомиба у этой категории пациентов. Развитие анемии и нейтропении наблюдалось реже. Обращало на себя внимание, что развитие анемии и нейтропении III–IV степени чаще выявлялось у больных ММ, получивших более 4 линий предшествующей терапии, на фоне проведения 6–8 циклов VD и не ответивших на него или достигших минимального снижения парапротеина.

Согласно результатам промежуточного анализа, частота ПН в группе больных, получавших VD, составила 55,7 %,[12] а по данным заключительного анализа — 56,4 %. При этом у 27,3 % пациентов, вошедших в исследование, исходно наблюдались признаки ПН. Только у 29,1 % больных появление признаков нейротоксичности обнаружено в процессе проведения 3–5 циклов VD. В преобладающем большинстве случаев была диагностирована нейропатия I–II степени. Следует подчеркнуть, что практически у 50 % больных с развившейся ПН III–IV степени признаки нейропатии были при включении их в протокол, в то время как среди пациентов с ПН I–II степени аналогичная симптоматика наблюдалась в 2 раза реже. Этот факт указывает на необходимость тщательного обследования больных ММ перед назначением бортезомиба. Мы уже обращали внимание на то, что ПН чаще встречалась среди больных, леченных ранее ВАД, ЦВАД, гипер-ЦВАД, а появление нейропатической боли и токсичности выше II степени регистрировалось у больных, получивших более 3 линий предшествующей ХТ.[10,14] Между тем, руководствуясь рекомендациями по коррекции дозы бортезомиба и своевременно назначая больным ПН последовательно различные лекарственные препараты (витамины группы В, мильгамма, α-липоевая кислота, габапентин или прегабалин, карбамазепим или амитриптилин), нам удалось у 72,3 % больных с ПН ≥ II степени либо полностью купировать ее симптомы (Me 114 дней), либо существенно понизить тяжесть проявлений нейротоксичности. Только в 6,3 % случаев в связи с тяжелой нейротоксичностью терапию бортезомибом пришлось прервать.

Среди инфекционных осложнений преобладал *herpes zoster*. Между тем назначение больным с целью профилактики одновременно ацикловира позволило практически в 2 раза снизить частоту этой инфекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, бортезомиб (Велкейд) является эффективным лечебным препаратом, играющим важную роль в терапии химиорезистентных и рецидивирующих форм ММ. Результаты проведенного многоцентрового исследования эффективности бортезомиба с дексаметазоном (VD) при рецидивирующих/рефрактерных формах ММ позволяют нам сделать следующие выводы.

1. Эффективность бортезомиба в сочетании с дексаметазоном (VD) не зависит от вида предшествующей терапии. Эта программа одинаково эффективна у больных, получавших ранее кортикостероиды, различные программы ХТ, высокодозные режимы, трансплантацию периферических стволовых клеток, бортезомиб.
2. Пациентам с констатацией объективного ответа показаны два консолидирующих цикла, а в последующем — не менее трех 5-недельных циклов поддерживающей терапии бортезомибом.
3. Непосредственные результаты лечения VD выше, а время до прогрессии длительнее у больных моложе 65 лет, однако число циклов до достижения ПР/ЧР и показатели выживаемости не зависят от возраста пациентов.
4. Применение VD позволяет достичь высоких отдаленных результатов лечения как в благоприятной, так и неблагоприятной прогностической группе больных ММ. Получение ПР позволяет существенно увеличить длительность ОВ у больных ММ.
5. Высокая клиническая эффективность и достаточно хорошая переносимость позволяет рассматривать комбинацию бортезомиб + дексаметазон (схема VD) в качестве программы выбора в терапии рецидивирующих/рефрактерных форм ММ.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Kyle R.A.* Multiple myeloma. Diagnosis challenges and standard therapy. Semin. Hematol. 2001; 38(2 Suppl. 3): 11–24.

2. *Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М.* Множественная миелома. Современный взгляд на проблему. Алматы, 2007; 480 с.

3. *Sonneveld P.* Multidrug resistance in haematological malignancies. J. Intern. Med. 2000; 247: 521–34.

4. *Hideshima T., Richardson P., Chauhan D.* et al. The proteasome inhibitor PS-341 inhibits growth, induces apoptosis, and overcomes drug resistance in human multiple myeloma cells. Cancer Res. 2001; 61: 3071–6.

5. *Montagut C., Rovira A., Mellado B.* et al. Preclinical and clinical development of the proteasome inhibitor bortezomib in cancer treatment. Drugs Today (Barc.) 2005; 41: 299–315.

6. *Orlowski R.Z., Stinchcombe T.E., Mitchell B.S.* et al. Phase I trial of the proteasome inhibitor PS-341 in patients with refractory hematologic malignancies. J. Clin. Oncol. 2002; 20: 4420–7.

7. *Richardson P.G., Barlogie B., Berenson J.* et al. A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. N. Engl. J. Med. 2003; 348: 2609–17.

8. *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.

9. *Mikhael J.R., Belch A.R., Prince H.M.* et al. High response rate to bortezomib with or without dexamethasone in patients with relapsed or refractory multiple myeloma: results of a global phase 3b expanded access program. Br. J. Haematol. 2008 Nov 19 (online publication, 24 November 2008; doi:10.1038/bmt.2008.384).

10. *Бессмельцев С.С., Стельмашенко Л.В., Подольцева Э.И.* и др. Первый отечественный опыт применения бортезомиба (велкейда) в лечении рефрактерных и рецидивирующих форм множественной миеломы. Вестн. гематол. 2007; 1: 16–23.

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. *Бессмельцев С.С., Карягина Е.В., Стельмашенко Л.В.* и др. Бортезомиб (велкейд) и дексаметазон в лечении рефрактерных/рецидивирующих форм множественной миеломы (результаты промежуточного анализа). Вестн. гематол. 2008; 4: 14–22.

13. *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.

14. *Бессмельцев С.С., Карягина Е.В., Стельмашенко Л.В.* и др. Частота, характеристика и методы лечения периферической нейропатии у больных множественной миеломой, получающих бортезомиб (велкейд). Онкогематология 2008; 3: 52–62.

15. *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.

16. *Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М.* Особенности течения множественной миеломы у пожилых пациентов. Вестн. гематол. 2006; 2: 5–10.

17. *Facon T., Menard J.F., Michaux J.L.* et al. Prognostic factors in low tumor mass asymptomatic multiple myeloma: a report on 91 patients. The Group d'Etudes et de recherche sur le Myeloma. Am. J. Hematol. 1995; 48: 71–5.

18. *Rodon P., Linassier C., Gauvain J.B.* et al. Multiple myeloma in elderly patients: presenting features and outcome. Eur. J. Haematol. 2001; 66: 11–7.

19. *Wolf J., Richardson P.G., Schuster M.* et al. Utility of bortezomib retreatment in relapsed or refractory multiple myeloma patients: a multicenter case series. Clin. Adv. Hematol. Oncol. 2008; 6: 755–9.

20. *Hrusovsky I., Emmerich B., Enhgelhardt M.* et al. Response to bortezomib retreatment is determined by duration of preceding treatment free interval — results from a retrospective multicenter survey. Haematologica 2008; 93(Suppl. 1): 259 (Abstr. 0645).

Результаты амбулаторной терапии иматинибом (Гливек) в хронической фазе хронического миелолейкоза в зависимости от возраста и длительности предшествующей терапии

С.А. Волкова [1], *Н.Н. Боровков* [1], *Е.А. Гостюжова* [2], *А.С. Балабанов* [3], *И.Н. Самарина* [4]

РЕФЕРАТ

Осуществлен анализ эффективности амбулаторной терапии гливеком у 100 пациентов (моложе 60 лет — 81 человек, старше 60 лет — 19 человек) в хронической фазе ХМЛ в зависимости от возраста и длительности предшествующего лечения. Оценена частота достижения цитогенетического и молекулярного ответов, общая выживаемость, выживаемость без прогрессии и бессобытийная выживаемость. Не выявлено статистически значимых различий эффективности терапии гливеком в зависимости от возраста больных. У больных с длительностью предшествующего лечения более 6 мес. при амбулаторной терапии гливеком получены результаты, сопоставимые с таковыми в рамках клинических исследований.

Ключевые слова

хронический миелолейкоз, хроническая фаза, иматиниб (Гливек), амбулаторная терапия, возраст.

Results of out-patient therapy with imatinib (Glivec) in the chronic phase of chronic myeloid leukemia depending on the age of patients and duration of the previous treatment

S.A. Volkova [1], *N.N. Borovkov* [1], *E.A. Gostjuzhova* [2], *A.S.Balabanov* [3], *I.N. Samarina* [4]

SUMMARY

Analysis of effective out-patient therapy with imatinib (Glivec) in 100 patients in a chronic phase of chronic myeloid leukemia depending on the age of patients and duration of the previous treatment was made. 81 patients were younger than 60 years and 19 patients were elder than 60 years. The incidence of the cytogenetic, molecular responses and the overall, progress free and events free survival were estimated. Statistically relevant differences of Glivec therapy effectiveness depending on age of patients were not revealed. Out-patients treatment with Glivec for not more than 6 months previous treated patients showed the results similar to these within the research protocols.

Keywords:

chronic myeloid leukemia, chronic phase, imatinib (Glivec), age, out-patient therapy.

[1] Nizhny Novgorod State Medical Academy
[2] Nizhny Novgorod Regional Clinical Hospital of N.A. Semashko
[3] Nizhny Novgorod State University of N.I. Lobachevsky
[4] Hospital of emergency care, Dzerzhinsk

Контакты: vsvetl@gmail.com

Принято в печать: 27 июня 2009 г.

ВВЕДЕНИЕ

Хронический миелолейкоз (ХМЛ) с полным правом можно назвать болезнью пожилых лиц. По данным онкологических регистров США и Великобритании, медиана возраста пациентов на момент установления диагноза ХМЛ составляет 67 лет.[1,2] Это значительно выше, чем возраст заболевших, по данным клинических исследований. Интенсификация терапии ХМЛ, начавшаяся с внедрения интерферона, сопровождалась снижением числа пациентов старше 60 лет, включаемых в проспективные клинические исследования, с 53–64 % в 80-е годы до 12–23 % в 90-е годы прошлого столетия.[3-5] С появлением ингибиторов тирозинкиназы иматиниба (Гливек), а в последующем — нилотиниба (Тасигна) и дазатиниба (Спрайсел) медиана возраста и число больных старше 60 лет, включаемых в исследовательские протоколы, вновь начали возрастать. В исследовании IRIS медиана возраста пациентов, получавших гливек, составила 50 лет, число пациентов старше 60 лет — 20,6 %.[6] В START-C при исследовании эффективности и переносимости дазатиниба в хронической фазе ХМЛ у пациентов с резистентностью или непереносимостью гливека медиана возраста возросла уже до 59 лет.[7]

При использовании стандартной миелосупрессивной химиотерапии и интерферонотерапии на первых этапах были получены достоверно более низкие показатели выживаемости у пациентов старших возрастных групп.[8,9] Возраст как фактор неблагоприятного прогноза был включен в системы прогнозирования ХМЛ.[10,11] Однако в 2003 г. U. Berger и соавт. на примере данных исследовательской группы из Германии по изучению и лечению ХМЛ показали, что лечение интерфероном-альфа (ИФН-α) в дозе 5 000 000

[1] Нижегородская государственная медицинская академия
[2] Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко
[3] Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
[4] Больница скорой медицинской помощи г. Дзержинска

МЕ/м² в сутки устранял дискриминационное влияние фактора возраста на выживаемость пациентов.[5] В этом же году J. Cortes и соавт. на примере 747 больных, включенных в 13 исследований эффективности и переносимости гливека, сделали вывод, что у пациентов, получавших гливек, возраст перестает быть независимым фактором неблагоприятного прогноза.[12] Эти обнадеживающие выводы были сделаны на основании анализа исследовательских протоколов. Возникает вопрос: насколько эти данные могут быть воспроизведены при лечении пациентов в обычной амбулаторной практике?

Цель настоящего исследования — анализ эффективности амбулаторной терапии гливеком у пациентов в ранней и поздней хронической фазах ХМЛ в зависимости от возраста и длительности предшествующего лечения.

С учетом поставленной цели у пациентов моложе и старше 60 лет при амбулаторном лечении гливеком оценены: частота достижения полного гематологического ответа (ПГО), полного цитогенетического ответа (ПЦГО), большого цитогенетического ответа (БЦГО), складывающегося из суммы ПЦГО (Ph+ 0 %) и частичного цитогенетического ответа (Ph+ 1–35 %), большого молекулярного ответа (БМО) в соответствии с критериями European Leukemia Net (ELN).[13] Кроме того, были рассчитаны показатели общей выживаемости (ОВ), выживаемости без прогрессии (ВБП) (время до развития фазы акселерации или бластного криза), бессобытийной выживаемости (БСВ). Оцениваемые события: смерть от ХМЛ, смерть, не связанная с ХМЛ, потеря гематологического ответа (ГО), потеря ГО с прогрессией, потеря ПЦГО, потеря БМО, возникновение второй опухоли.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Амбулаторное лечение гливеком в Нижегородской области началось с апреля 2005 г. по программе дополнительного лекарственного обеспечения инвалидов, а с января 2008 г. — по программе «7 нозологий». До этого времени препарат получали только 6 человек, все моложе 60 лет: 5 — по программе благотворительного обеспечения гливеком и 1 — за счет средств регионального бюджета. В настоящее исследование из общего числа больных ХМЛ — жителей Н. Новгорода и районов области, получивших лечение гливеком на апрель 2009 г., включено 100 взрослых пациентов (48 мужчин и 52 женщины). К моменту начала терапии гливеком возраст больных составлял от 17 до 74 лет (медиана возраста 49 лет). У всех больных диагностирована хроническая фаза ХМЛ как при установлении диагноза, так и в момент начала терапии гливеком. 81 (81 %) больной был моложе 60 лет, 19 (19 %) — старше 60 лет. Характеристика больных по демографическим показателям, длительности лечения и характеру лечения до начала и во время терапии гливеком представлена в табл. 1. В каждой возрастной группе для анализа результатов терапии ХМЛ были выделены две группы: группа А — больные, получавшие до начала терапии гливеком другое лечение не более 6 мес. (ранняя хроническая фаза), и группа Б — получавшие до начала терапии гливеком другое лечение более 6 мес. (поздняя хроническая фаза).

Диагноз хронической фазы ХМЛ устанавливали на основании общепринятых критериев.[13-15] У всех больных перед началом терапии гливеком проводили цитогенетическое исследование методом стандартной цитогенетики (цитогенетическая лаборатория Нижегородской областной клинической больницы им. Н.А. Семашко, цитогенетическая лаборатория НИИ гематологии и переливания крови г. Кирова, цитогенетическая лаборатория Гематологического научного центра РАМН). Количество Ph-позитивных митозов на момент начала лечения гливеком составляло от 97 до 100 %. При решении вопроса о терапии гливеком помимо гематологических показаний оценивали коморбидность. С каждым больным проводили беседу об особенностях терапии гливеком, получали добровольное информированное согласие на соблюдение правил приема препарата и плана обследований, необходимых для оценки эффективности лечения гливеком. Обследования пациентов при лечении гливеком включали общий анализ крови 1 раз в неделю до достижения ПГО, далее 1–2 раза в месяц; консультацию гематолога; исследование основных биохимических показателей функции внутренних органов 1 раз в месяц до достижения ПГО, далее 1 раз в 3 мес.; пункционное исследование костного мозга с цитогенетическим исследованием 1 раз в 6 мес. до момента достижения ПЦГО, далее 1 раз в год; мониторинг молекулярного ответа 1 раз в 3 мес. с момента достижения ПЦГО. Мониторинг достижения молекулярного ответа осуществляли в молекулярно-биологической лаборатории ГНЦ РАМН.

Таблица 1. Характеристика больных хроническим миелолейкозом в хронической фазе, получивших лечение гливеком

Число больных в возрасте менее и более 60 лет	< 60 лет (*n* = 81)	≥ 60 лет (*n* = 19)
Возраст на начало терапии гливеком, лет, медиана (диапазон)	48 (17–59)	66 (60–74)
Мужчины, *n* (%)	41 (51)	7 (37)
Женщины, *n* (%)	40 (49)	12 (63)
Продолжительность болезни с момента установления диагноза, мес., медиана (диапазон)	49 (5–171)	41 (2–139)
Длительность предшествующего лечения, мес., медиана (диапазон)	11 (1–126)	6 (1–105)
Предшествующее лечение, *n* (%)		
Миелосан, гидроксимочевина	—	3 (16)
Гидроксимочевина	38 (47)	11 (58)
Гидроксимочевина, ИФН-α	43 (53)	5 (26)
Длительность лечения гливеком, мес., медиана (диапазон)	34 (2–94)	34 (1–44)
Число больных в зависимости от длительности лечения гливеком, *n* (%)		
1–6 мес.	8 (10)	3 (16)
7–12 мес.	12 (15)	1 (5)
13–18 мес.	7 (9)	0
19–24 мес.	2 (2)	0
> 24 мес.	52 (67)	15 (79)
Максимальная доза гливека		
400 мг/сут	44 (54)	13 (68)
600 мг/сут	29 (35)	4 (21)
800 мг/сут	8 (10)	2 (11)
Число больных с проявлениями гематологической токсичности, *n* (%)		
III–IV степени	2 (2)	2 (10)
Число больных с признаками негематологической токсичности, *n* (%)		
III–IV степени	4 (5)	0
Число больных с различными причинами прекращения лечения гливеком, *n* (%)		
Всего	10 (12)	1 (5)
Отсутствие ПЦГО	1 (1)	
Потеря ПГО без прогрессии в фазе акселерации/бластного криза	1 (1)	—
Потеря ПГО с прогрессией в фазе акселерации/бластного криза	5 (6)	—
Вторая опухоль	3 (4)	—
Смерть, не связанная с ХМЛ	—	1 (5)
Число больных в группе А, получавших до гливека другое лечение 6 мес. и более, *n* (%)	28 (35)	10 (53)
Длительность другого лечения до гливека в группе А, мес., медиана (диапазон)	3 (1–6)	2 (1–6)
Число больных в группе Б, получавших до гливека другое лечение более 6 мес., *n* (%)	53 (65)	9 (47)
Длительность другого лечения до гливека в группе Б, мес., медиана (диапазон)	22 (7–126)	25 (9–105)

Терапию гливеком в хронической фазе ХМЛ начинали с дозы 400 мг/сут. Строгое соблюдение рекомендаций по увеличению дозы гливека в случае неудачи лечения в соответствии с критериями ELN было начато с января 2008 г. Все пациенты независимо от возраста хорошо переносили лечение гливеком. При увеличении дозы до 600 и 800 мг основными нежелательными явлениями были усиление задержки жидкости, прежде всего периорбитальные отеки и диарея, которые преодолевались использованием симптоматических средств без отмены препарата или снижения дозы. Перерывы в лечении гливеком по медицинским показаниям имели место в случае гематологической токсичности и/или негематологической III–IV степени у 8 человек. Прекратили лечение гливеком 11 пациентов. Причинами отмены гливека были: 1 случай отсутствия ПЦГО после 79 мес. терапии (пациентка переведена на лечение тасигной по протоколу); 5 случаев потери ПГО с прогрессией в фазу акселерации и бластного криза соответственно после 3, 10, 13, 13 и 28 мес. лечения гливеком (все больные умерли); 1 случай потери ПГО с сохранением хронической фазы болезни у пациентки без какого-либо цитогенетического ответа (ЦГО) после 34 мес. лечения гливеком в целом и 12 мес. лечения в дозе 600 мг/сут (переведена на лечение тасигной); 3 случая возникновения второй опухоли, в клинической картине которой у пациентов наблюдали симптомы, усиливавшиеся при приеме гливека: рак яичников с метастазами в печень и асцитом (смерть от проявлений опухоли), опухоль надпочечника с гиперкортицизмом (смерть от проявлений опухоли), недифференцированная карцинома с метастазами в кости, токсический гепатит с более чем 10-кратным повышением активности аминотрансфераз в течение 4 мес. после 8 мес. терапии гливеком (в настоящее время получает лечение ИФН-α).

Статистические методы, использованные при анализе данных, включали вычисление долей и медианных значений, построение кривых выживаемости по методу Каплана—Мейера. Различия долей в таблицах сопряженности 2 × 2 проверялись по точному критерию Фишера, различия кривых выживаемости — по лог-ранговому критерию. Обработка проводилась с помощью пакета SPSS.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На апрель 2009 г. программа федерального финансирования лечения больных ХМЛ ингибитором тирозинкиназы I поколения — препаратом гливек — реализуется уже 52 мес. В Нижегородской области срок реализации данной программы составляет 48 мес. Максимальная длительность лечения гливеком у пациентов моложе 60 лет составляет 94 мес., старше 60 лет — 44 мес. при медиане длительности лечения 34 мес. в обеих группах больных. 52 (67 %) и 15 (79 %) больных моложе и старше 60 лет получали лечение гливеком длительностью более 24 мес.

ОВ больных в хронической фазе ХМЛ, получавших лечение гливеком в течение 44 мес. терапии, составила 91,2 % (табл. 2). При этом у лиц старше 60 лет ОВ и ВБП оказались несколько выше по сравнению с пациентами до 60 лет и составили 93,8 *vs* 90,5 % (p = 0,722) и 93,3 *vs* 91,2 % соответственно, хотя различия статистически недостоверны (p = 0,950). БСВ в целом составила 69,5 %, в группах моложе и старше 60 лет — соответственно 72,5 и 61,9 %, также при отсутствии достоверных различий (p = 0,207).

Не выявлено статистически достоверных различий показателей выживаемости в зависимости от возраста больных как в группе пациентов, получавших другое лечение по поводу ХМЛ не более 6 мес. (группа А), так и в группе с длительностью предшествующего лечения более 6 мес. (группа Б) (рис. 1–3; см. табл. 2).

Таблица 2. Показатели выживаемости больных хроническим миелолейкозом после 44 мес. лечения гливеком в амбулаторной практике

Показатель выживаемости	Возраст пациентов, лет									
	Всего	< 60	≥ 60	p	Группа А			Группа Б		
					< 60	≥ 60	p	< 60	≥ 60	p
ОВ, %	91,2	90,5	93,8	0,722	84,3	100,0	0,283	93,2	88,9	0,597
ВБП, %	91,2	91,2	93,3	0,950	96,2	100,0	0,579	90,5	87,5	0,662
БСВ, %	69,5	72,5	61,9	0,207	84,7	26,7	0,184	71,1	77,8	0,702

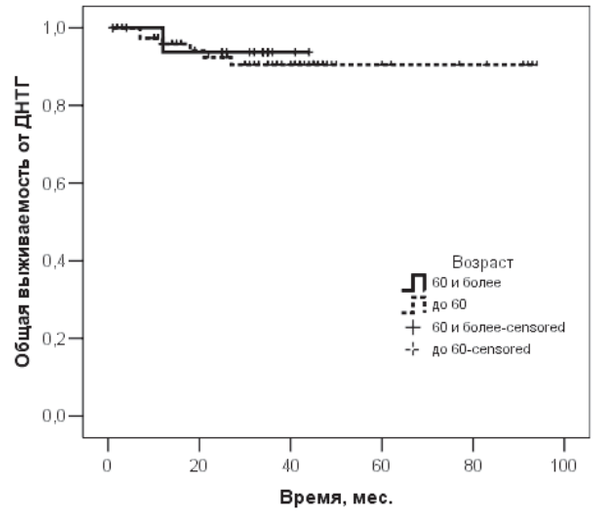


Рис. 1. Общая выживаемость от даты начала терапии гливеком (ДНТГ) у больных в хронической фазе ХМЛ в возрасте < 60 *vs* ≥ 60 лет

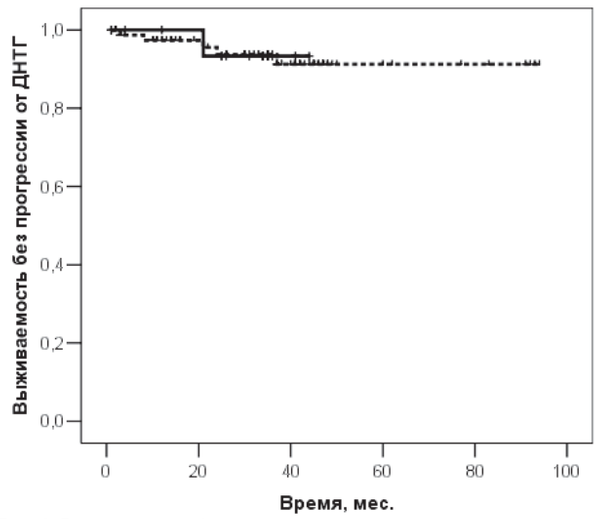


Рис. 2. Выживаемость без прогрессии от даты начала терапии гливеком (ДНТГ) у больных в хронической фазе ХМЛ в возрасте < 60 *vs* ≥ 60 лет

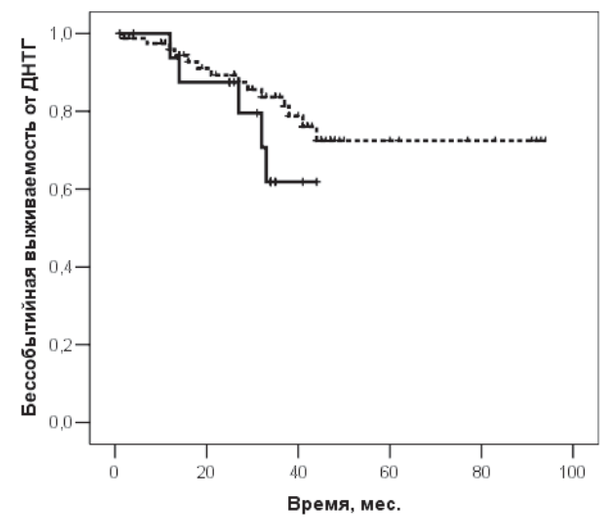


Рис. 3. Бессобытийная выживаемость от даты начала терапии гливеком (ДНТГ) у больных в хронической фазе ХМЛ в возрасте < 60 *vs* ≥ 60 лет

Таблица 3. Частота достижения цитогенетических и молекулярного ответов при терапии гливеком в зависимости от возраста больных хроническим миелолейкозом

Ответ на терапию	Возраст пациентов, лет									
	Всего (n = 88)	< 60 (n = 72)	≥ 60 (n = 16)	p	Группа А			Группа Б		
					< 60 (n = 23)	≥ 60 (n = 7)	p	< 60 (n)= 49	≥ 60 (n = 9)	p
Никакого ЦГО, n (%)	20 (23)	13 (18)	7 (44)	0,046	3 (13)	2 (29)	0,565	10 (21)	5 (56)	0,044
БЦГО, n (%)	59 (67)	50 (70)	9 (56)	0,374	17 (74)	5 (71)	1,000	33 (69)	4 (44)	0,253
ПЦГО, n (%)	41 (47)	36 (50)	5 (31)	0,268	10 (44)	1 (14)	0,215	26 (53)	4 (44)	0,726
БМО, n (%)	25 (28)	23 (35)	2 (13)	0,129	8 (35)	0	0,143	15 (35)	2 (22)	0,700

Анализ результатов терапии гливеком по частоте достижения цитогенетического и молекулярного ответов осуществлен у 88 больных, получивших лечение данным препаратом в течение более 6 мес., по данным на апрель 2009 г. К этому моменту прошло 48 мес. от начала применения гливека в амбулаторной практике в Нижегородской области (табл. 3).

Наилучшие результаты по достижению БЦГО, ПЦГО, БМО выявлены у пациентов, получавших другое лечение до начала терапии гливеком не более 6 мес. (группа А). Несмотря на наличие более высоких процентных показателей в обеих группах (А и Б) у лиц моложе 60 лет, статистически значимых различий по частоте достижения ответов на терапию гливеком в зависимости от возраста больных не выявлено. Преимущества у лиц моложе 60 лет, вероятно, случайны и связаны, скорее всего, с небольшим числом наблюдений. Однако нельзя исключить, что при большем количестве больных старше 60 лет различия могут стать статистически значимыми. Полученные результаты показали, что, к сожалению, в целом 20 (23 %) из 88 больных не имеют никакого ЦГО, т. е. выявляется кариотип Ph+ в 100 % исследованных метафаз с максимальной частотой у лиц старше 60 лет в группе Б. Уровень значимости у пациентов моложе и старше 60 лет в целом и в группе Б, показавших отсутствие какого-либо ЦГО (p = 0,046 и p = 0,044), не следует считать надежным статистическим доказательством меньшей вероятности получения ЦГО у пациентов старше 60 лет. Наиболее простым объяснением большей частоты неудач в лечении у пациентов старше 60 лет служат более частые перерывы в приеме гливека. Однако с учетом наличия у пожилых лиц большей коморбидности, необходимости приема других лекарственных средств, возрастных изменений обменных процессов есть основания предполагать, что лечение ХМЛ в этой ситуации становится процессом, зависимым от большего количества внешних факторов, чем у молодых пациентов. К сожалению, в рамках данного исследования не представляется возможным проанализировать влияние этих факторов на эффективность терапии гливеком.

Насколько полученные результаты лечения больных в обычной амбулаторной практике сопоставимы с данными клинических исследований эффективности гливека? Предполагается, что результаты клинических исследований должны быть воспроизведены в амбулаторной практике. Однако этого трудно ожидать из-за влияния на эффективность терапии гливеком в обычной амбулаторной практике ряда немедицинских факторов. В число последних, к сожалению, входит наличие перерывов в приеме гливека до 7 дней из-за отсутствия препарата, имевших место в период реализации программы дополнительного лекарственного обеспечения инвалидов, а также до сих пор сохраняющаяся невозможность назначения препарата с момента установления диагноза.

Сравнительные исследования эффективности гливека в зависимости от возраста больных в клинических исследованиях ограничены несколькими работами. Так, по данным J. Cortes и соавт.,[12] в ранней хронической фазе при лечении гливеком у лиц < 60 *vs* ≥ 60 лет частота достижения БЦГО составила 90 *vs* 98 % (p = 0,12), ПЦГО — 79 *vs* 87 % (p = 0,28). Эти результаты, безусловно, превосходят полученные нами. В то же время в поздней хронической фазе, после неудачи терапии ИФН-α проведенный анализ показал частоту достижения БЦГО у пациентов < 60 *vs* ≥ 60 в 66 *vs* 57 % случаев (p = 0,1), а ПЦГО — лишь в 56 и 44 % случаев соответственно (p = 0,05).[12] Наши результаты оказались вполне сопоставимыми с этими данными (см. табл. 3). В группе Б у лиц < 60 *vs* ≥ 60 БЦГО достигнут в 69 *vs* 44 % случаев (p = 0,253), а ПЦГО — в 53 *vs* 44 % (p = 0,726).

Сравнение результатов эффективности лечения гливеком у пациентов с ХМЛ после неудачи терапии ИФН-α в зависимости от возраста больных (< 65 *vs* ≥ 65 лет) было осуществлено итальянской исследовательской группой (GIMEMA CML Working Party).[16] Частота достижения БЦГО и ПЦГО в группе старше 65 лет оказалась статистически достоверно ниже, чем у пациентов моложе 65 лет, и составила соответственно 53 *vs* 74 % (p = 0,003) и 36 *vs* 58 % (p = 0,002). Однако эти различия не оказали никакого влияния на ОВ и ВБП больных, которые в обеих группах равнялись 91 % после 48 мес. лечения.[16]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, сравнительный анализ эффективности лечения гливеком в обычной амбулаторной практике у пациентов с ХМЛ в зависимости от возраста показал следующее.

1. Гливек в равной степени эффективен у пациентов до и старше 60 лет в хронической фазе ХМЛ по данным ОВ, БСВ и ВБП при раннем назначении препарата и у больных с длительностью предшествующего лечения более 6 мес.
2. Лучшие результаты лечения гливеком в амбулаторной практике по частоте достижения БЦГО, ПЦГО и БМО получены у пациентов с длительностью предшествующего лечения менее 6 мес. при отсутствии статистически достоверных различий в зависимости от возраста больных.
3. В целом после 44–48 мес. терапии гливеком в амбулаторной практике у 23 % больных с диапазоном от 13 (пациенты до 60 лет с длительностью предшествующего лечения не более 6 мес.) до 56 % (пациенты 60 лет и старше с предшествующим лечением более 6 мес.) не удалось получить никакого ЦГО. В связи с этим необходимо для дальнейшей реализации рациональной терапии ХМЛ, чтобы ингибиторы тирозинкиназ второй линии стали доступны в повседневной лечебной практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ries L.A.G., Eisner M.P., Kosary C.L.* et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2001, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2001/, 2004.

2. Review. Chronic myeloid leukemia. Br. J. Haematol. 2000; 111: 993–1009.

3. *Brincker H.* Population-based age- and sex-specific incidence rates in the 4 main types of leukemia. Scand. J. Haematol. 1982; 29: 241–9.

4. *Kantarjian H.M., Deisseroth A., Kurzrock R.* et al. Chronic myelogenous leukemia: A concise update. Blood 1993; 82: 691–703.

5. *Berger U., Engelich G., Maywald O.* et al. Chronic myeloid leukemia in the elderly: long-term results from randomized trials with interferon alpha. Leukemia 2003; 17(9): 1820–6.

6. *O'Brien S.G., Guilhot F., Larson R.A.* 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.

7. *Hochhaus A., Kantarjian H.M., Baccarani M.* et al. Blood 2007; 109: 2303–9.

8. *Brincker H.* Population-based age- and sex-specific incidence rates in the 4 main types of leukemia. Scand. J. Haematol. 1982; 29: 241–9.

9. *Kantarjian H.M., Keating M.J., McCredie K.B.* et al. Old age: a sing of poor prognosis in patients with chronic myelogenous leukemia. S. Med. J. 1987; 80(10): 1228–32.

10. *Sokal J.E., Cox E.B., Baccarani M.* et al. Prognostic discrimination in «good-risk» chronic granulocytic leukemia. Blood 1984; 63: 789–95.

11. *Hasford J., Pfirrmann M., Hehlmann R.* et al. A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. J. National Cancer Inst. 1998; 90(11): 850–8.

12. *Cortes J., Talpaz M., O'Brien S.* et al. Effects of age on prognosis with imatinib mesylate therapy for patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia. Cancer 2003; 98(6): 1105–13.

13. *Baccarrani M., Saglio G., Goldman J., Hochhaus A.* Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia recommendations from the an expert panel on behalf of the European Leukemia Net. Blood 2006; 108: 1809–20.

14. *Воробьев А.И., Бриллиант М.Д.* Руководство по гематологии. М.: Медицина, 1985; 1: 234–44.

15. Клиническая онкогематология. Руководство для врачей / Под ред. *М.А. Волковой*. М.: Медицина, 2001; 237–63.

16. *Rosti G., Iacobucci I., Bassi S.* et al. Impact of age on the outcome of patients with chronic myeloid leukemia in late chronic phase: results of a phase II study of the GIMEMA CML Working Party. Haematologica 2007; 92: 101–5.

Благодарности

Авторы выражают благодарность врачам-гематологам областного и городских консультативных приемов, гематологических отделений города и области, а также врачам-терапевтам (онкологам) лечебно-профилактических учреждений по месту жительства больных, принимающим участие в лечении пациентов с ХМЛ.

Авторы благодарят компанию «Новартис» за поддержку в обеспечении цитогенетического и молекулярно-биологического мониторинга ответа на терапию гливеком.

Тактика ведения беременности у женщин с онкогематологическими заболеваниями (Часть II — миелопролиферативные заболевания)

Е.С. Полушкина [1], *Р.Г. Шмаков* [1], *Н.Д. Хорошко* [2], *М.А. Соколова* [2], *Н.В. Цветаева* [2]

Р Е Ф Е Р А Т

В связи с тем, что в последние годы наблюдается тенденция к увеличению частоты выявления хронических миелопролиферативных заболеваний у женщин во время беременности, требуется совершенствование терапевтической тактики и разработка особого подхода к ведению беременности, родов и послеродового периода.

В статье проанализировано течение 58 беременностей у 30 женщин с различными хроническими миелопролиферативными заболеваниями. Проведена ретроспективная оценка осложнений беременности в группе женщин, не получавших лечения, на основании которой, а также с учетом накопленного мирового опыта разработан алгоритм динамического наблюдения и терапии хронических миелопролиферативных заболеваний у пациенток во время беременности. Основные методы лечения включали лекарственные препараты, направленные на снижение числа тромбоцитов, а также на коррекцию показателей гемостаза при наличии дополнительных факторов тромбофилии.

Неблагоприятные исходы беременности отмечены у 73,3% женщин, не получивших адекватной терапии. При создании алгоритма ведения беременных, медикаментозной коррекции гемостазиологических параметров частота репродуктивных потерь снизилась до 13,04%. Осложнения беременности отмечены в 26,7% случаев при использовании разработанного алгоритма и в 57,1% — при отсутствии лечения.

Родилось 30 живых детей, при оценке показателей физического развития не выявлено существенных различий по сравнению с детьми в общей популяции.

Ключевые слова

хронические миелопролиферативные заболевания, эссенциальная тромбоцитемия, истинная полицитемия, идиопатический миелофиброз, хронический миелолейкоз, беременность, рекомбинантный интерферон альфа.

Pregnancy management in women with oncohematological diseases (Part II: Myeloproliferative diseases)

E.S. Polushkina [1], *R.G. Shmakov* [1], *N.D. Horoshko* [2], *M.A. Sokolova* [2], *N.V. Tsvetaeva* [2]

SUMMARY

Nowadays the occurrence of chronic myeloproliferative diseases has increased. That is why there is a need to improve the treatment and to develop a special protocole of pregnancy, labour and postpartum period management. 58 pregnancies in 30 women with different chronic myeloproliferative diseases were analysed. The protocol of pregnancy management was based on estimated pregnancy complications and the results of contemporary foreign investigations. The main treatment strategies included the cytoreductive therapy and drugs for the correction of hemostasis.

The rate of miscarriage was 73.3% in women with no treatment and 13.04% — with the use of a protocol. The same tendency was in the rate of pregnancy complications: 26.7% of complications were during the treatment management and 57.1% — in patients without treatment.

30 neonates were born, there was no significant difference in physical development between them and newborns of healthy mothers.

Keywords:

chronic myeloproliferative diseases, essential thrombocythemia, polycythemia vera, idiopathic myelofibrosis, chronic myeloid leukemia, pregnancy, Interferon alpha.

[1] Federal State Enterprise Research Centre for Obstetrics, Gynaecology and Perinatology, V.I. Kulakov, Moscow

[2] Hematology Research Centre RAMS, Moscow

Контакты: epolushkina@mail.ru

Принято в печать: 29 июля 2009 г.

ВВЕДЕНИЕ

Сочетание хронических миелопролиферативных заболеваний (хМПЗ) с беременностью встречается достаточно редко, т.к. в большинстве случаев миелопролиферативные заболевания наблюдаются у лиц пожилого возраста. В последние годы отмечается тенденция к увеличению частоты выявления этих заболеваний у женщин во время беременности в связи с возросшей частотой наступления беременности в возрасте старше 30–35 лет, а также с совершенствованием диагностики хМПЗ. При данных заболеваниях требуется особый подход к ведению беременности, родов и послеродового периода, а также коррекция разных схем лечения хМПЗ применительно к особенностям беременности. Одной из причин совершенствования диагности-

[1] ФГУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова Росмедтехнологий», Москва

[2] Гематологический научный центр РАМН, Москва

ки хМПЗ является внедрение в последние годы в клиническую практику автоматических анализаторов клеток крови, в т.ч. и при рутинном обследовании во время беременности, что позволяет своевременно выявлять пациенток с повышенным числом тромбоцитов и/или эритроцитов на начальных стадиях заболевания. Кроме того, появились новые возможности дифференциальной диагностики хМПЗ. Это в первую очередь молекулярно-генетические методы, позволяющие чаще выделять опухолевые нарушения кроветворения и дифференцировать их с реактивными состояниями.[1] Ведение беременности, родов и послеродового периода у женщин с хМПЗ — достаточно сложная задача. Если в прошлом в большинстве случаев беременность у женщин с хМПЗ прерывали, то в настоящее время применение новых подходов к лечению хМПЗ и их отдельных проявлений (тромбо- и эритроцитоз, вторичный миелофиброз), а также профилактика тромбогеморрагических осложнений и нарушений микроциркуляции позволили в большинстве случаев сохранять беременность.[1-3] В отечественной и зарубежной литературе опубликовано незначительное число исследований анализа течения и ведения беременностей у женщин с хМПЗ, поэтому до сих пор отсутствует единая тактика лечения этих заболеваний во время беременности, ведения беременности, родов и послеродового периода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Прослежено течение 58 беременностей (в 31 случае без лечения во время беременности и в 27 — с лечением) у 30 женщин в возрасте от 21 до 44 лет (средний возраст 36,5 года) с хМПЗ, включающими эссенциальную тромбоцитемию, истинную полицитемию, идиопатический миелофиброз и хронический миелолейкоз.

У всех женщин диагноз хМПЗ был установлен на основании общепринятых критериев с изучением пунктата и трепанобиоптата костного мозга, с помощью морфологического, цитогенетического и молекулярно-генетического методов. У 7 (23,3 %) из 30 беременных хМПЗ было впервые выявлено во время беременности. У остальных женщин время от момента диагностики заболевания до наступления беременности было различным — от 1 до 10 лет.

Всем пациенткам проводили исследование показателей периферической крови с подсчетом числа тромбоцитов, коагулограммы с определением агрегации тромбоцитов, маркеров внутрисосудистого свертывания крови, физиологических антикоагулянтов, маркеров антифосфолипидного синдрома — АФС (волчаночный антикоагулянт, антикардиолипиновые антитела), мутаций генов, сопряженных с наследственной тромбофилией (мутации генов метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР), фактора V Лейден и протромбина), уровня гомоцистеина, биохимического анализа крови, а также УЗИ плода, допплерометрию с исследованием фетоплацентарного и маточно-плацентарного кровотоков, кардиотокографию. У 8 пациенток определены мутации гена Jak2-киназы — *Jak2V617F*.

Дизайн исследования состоял из двух основных направлений:

1) оценка осложнений беременности в группе женщин, не получавших лечения по поводу хМПЗ (ретроспективное исследование);

2) разработка алгоритма динамического наблюдения и терапии хМПЗ у пациенток во время беременности на основании полученных данных и патогенеза заболевания, а также накопленного мирового опыта (проспективное исследование).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Структура миелопролиферативных заболеваний представлена в табл. 1. В исследовании отмечена наибольшая встречаемость эссенциальной тромбоцитемии — у 11 (36,7 %) из 30 беременных.

Таблица 1. Структура распределения хронических миелопролиферативных заболеваний у беременных (n = 30)

Нозологическая форма	Число пациенток
Хронический миелолейкоз	8
Идиопатический миелофиброз	6
Эссенциальная тромбоцитемия	11
Истинная полицитемия	5

Во время беременности у 14 женщин по данным УЗИ определялось незначительное увеличение селезенки по сравнению с нормативными показателями (50 см^2). Выраженная спленомегалия (+15 см ниже реберной дуги, по данным УЗИ — 160 см^2) отмечена только у одной пациентки в период развития тромбоза печеночных вен (синдром Бадда—Киари). Увеличение печени диагностировано у 4 женщин. Необходимо отметить, что у 12 (40 %) женщин во время беременности определялся тромбоцитоз. Клинико-лабораторные показатели хМПЗ во время беременности представлены в табл. 2.

Таблица 2. Клинико-лабораторные показатели у женщин с хроническими миелопролиферативными заболеваниями во время беременности (n = 30)

Параметр	Показатель	Число пациенток
Спленомегалия	Селезенка выступает на 4–15 см из-под реберной дуги	14
Гепатомегалия	Печень выступает на 2–10 см	4
Тромбоцитоз	460–2500 × 10^9/л	12
Эритроцитоз	5–8 × 10^{12}/л	3
Лейкоцитоз	18–325 × 10^9/л	2

Одно из частых проявлений хМПЗ — гипертромбоцитоз, ведущий к развитию тромбозов и кровотечений. В связи с высоким риском тромбогеморрагических осложнений во время беременности проводился тщательный контроль параметров системы гемостаза, представленных в табл. 3.

Таблица 3. Параметры системы гемостаза во время беременности у женщин с хроническими миелопролиферативными заболеваниями на фоне адекватной терапии (n = 20)

Параметр	I триместр (n = 20)	II триместр (n = 19)	III триместр (n = 17)
Количество тромбоцитов, n			
Норма	12	14	10
Тромбоцитоз (460–2500 × 10^9/л)	8	5	7
Тромбоцитопения	—	—	—
Агрегационная активность тромбоцитов, n			
Повышенная (78–85 %)	2	1	—
Норма	12	12	9
Сниженная (20–45 %)	6	6	8
Плазменное звено гемостаза, n			
Изокоагуляция (АЧТВ 20–40 с, ПТИ 80–120 %)	12	11	5
Гипокоагуляция (АЧТВ более 40 с, ПТИ < 80 %)	2	1	1
Гиперкоагуляция (АЧТВ менее 20 с, ПТИ > 120 %)	6	7	11
Маркеры внутрисосудистого свертывания, n			
Растворимые комплексы мономеров фибрина (положительные)	3	7	1
Увеличено количество продуктов деградации фибиногена/фибрина (10–90 мг/л)	2	2	4

Сокращения: АЧТВ — активированное частичное тромбопластиновое время; ПТИ — протромбиновый индекс.

У 12 женщин с хМПЗ проводилось исследование на наличие дополнительных факторов тромбофилии. У каж-

дой второй пациентки наряду с миелопролиферативным заболеванием определялся тот или иной фактор тромбофилии (гомо- или гетерозиготная мутация генов МТГФР, фактора V, ингибитора активатора плазминогена, гетерозиготные мутации генов фибриногена, интегрина 2α, а также гипергомоцистеинемия, наличие волчаночного антикоагулянта и/или антикардиолипиновых антител). Волчаночный антикоагулянт и гетерозиготная аномалия гена МТГФР выявлены у 41,7 % женщин, гипергомоцистеинемия — у 33,3 %. АФС диагностирован у 4 из 12 беременных с хМПЗ (табл. 4).

Таблица 4. Дополнительные факторы тромбофилии у беременных с хроническими миелопролиферативными заболеваниями (n = 12)

Фактор тромбофилии	Число пациенток
Волчаночный антикоагулянт	5
Антикардиолипиновые антитела	3
Мутация гена МТГФР C677T	5
Мутация гена фактора V (Лейден)	1
Гипергомоцистеинемия	4
Мутация гена фибриногена	4
Мутация гена интегрина 2α	2
Повышение уровня фактора Виллебранда	3
Мутация гена ингибитора активатора плазминогена (*4G/5G*)	5

В связи с тем, что все Ph-негативные хМПЗ имеют много общих клинико-морфологических характеристик, принципы ведения беременности и лечебная тактика у данной группы пациенток во многом сходны. На основании анализа данных разработан **алгоритм обследования женщин с хМПЗ во время беременности,** включающий:

- исследование показателей периферической крови и гемостаза, включающее количество тромбоцитов, их функциональную активность, состояние плазменного звена гемостаза, а также исследование содержания маркеров внутрисосудистого свертывания каждые 2 нед.;
- диагностику АФС (волчаночный антикоагулянт, антикардиолипиновые антитела), а также исследование мутаций генов, сопряженных с наследственной тромбофилией, уровня гомоцистеина, в случае если эти исследования не были проведены до беременности;
- УЗИ плода дважды в каждом триместре;
- допплерометрию с исследованием фетоплацентарного и маточно-плацентарного кровотока и кровотока в средней мозговой артерии плода (наиболее информативного показателя для определения гипоксии плода) начиная с 22 нед. каждые 4 нед.;
- кардиотокографию плода с 33 нед. беременности (на 33, 36 и 38-й неделях).

Основные методы лечения хМПЗ во время беременности включали лекарственные препараты, направленные на снижение числа тромбоцитов, рекомбинантный интерферон альфа (ИФН-α) — препарат, безопасный во время беременности (циторедуктивная терапия), а также на коррекцию показателей гемостаза при наличии дополнительных факторов тромбофилии (антиагреганты, антикоагулянты, плазмаферез). Для циторедуктивной терапии использовали ИФН-α, алгоритм назначения которого состоял в следующем:

- при тромбоцитозе более 600×10^9/л ИФН-α вводили в дозе 3 000 000 МЕ в день (или через день), позволяющей поддерживать число тромбоцитов на уровне $200–300 \times 10^9$/л;
- при тромбоцитозе более 400×10^9/л введение ИФН-α продолжали, если это лечение проводилось еще до беременности и/или существовал высокий тромбогенный риск.

Согласно разработанному протоколу, представленному на рис. 1, все женщины с хМПЗ во время беременности получали ацетилсалициловую кислоту (тромбо АСС) в дозе 50–100 мг в сутки. Показаниями для проведения антикоагулянтной терапии (в сочетании с циторедуктивной и антиагрегантной терапией) в исследовании служили гиперкоагуляция, не характерная для определенного срока беременности, признаки активации внутрисосудистого свертывания крови, а также наличие дополнительных факторов тромбофилии. При наличии дополнительных показаний (АФС, выраженная гиперкоагуляция, не поддающаяся медикаментозной коррекции) применяли экстракорпоральные методы воздействия, в частности плазмаферез, проводившийся в объеме 15–20 % объема циркулирующей плазмы с интервалом 1–2 дня, всего от 2 до 7 сеансов. Две пациентки из 8 с Ph-позитивным хроническим миелолейкозом принимали препарат из группы ингибиторов тирозинкиназы (иматиниба мезилат) до 9 нед. беременности. Одной из них выполнено искусственное прерывание беременности по медицинским показаниям (в связи с отсутствием цитогенетической ремиссии и невозможностью смены препарата с возможным тератогенным действием (иматиниб) на иной; у другой женщины беременность была пролонгирована. При нарушении маточно-плацентарного кровотока (по данным допплерометрии) вместе с проводимой специфической терапией и лечением плацентарной недостаточности (метаболическая терапия, включающая депротеинизированный гемодериват и комбинированный препарат, содержащий гексобендин, этамиван, этофиллин) назначалась антиоксидантная терапия витаминами С и Е.

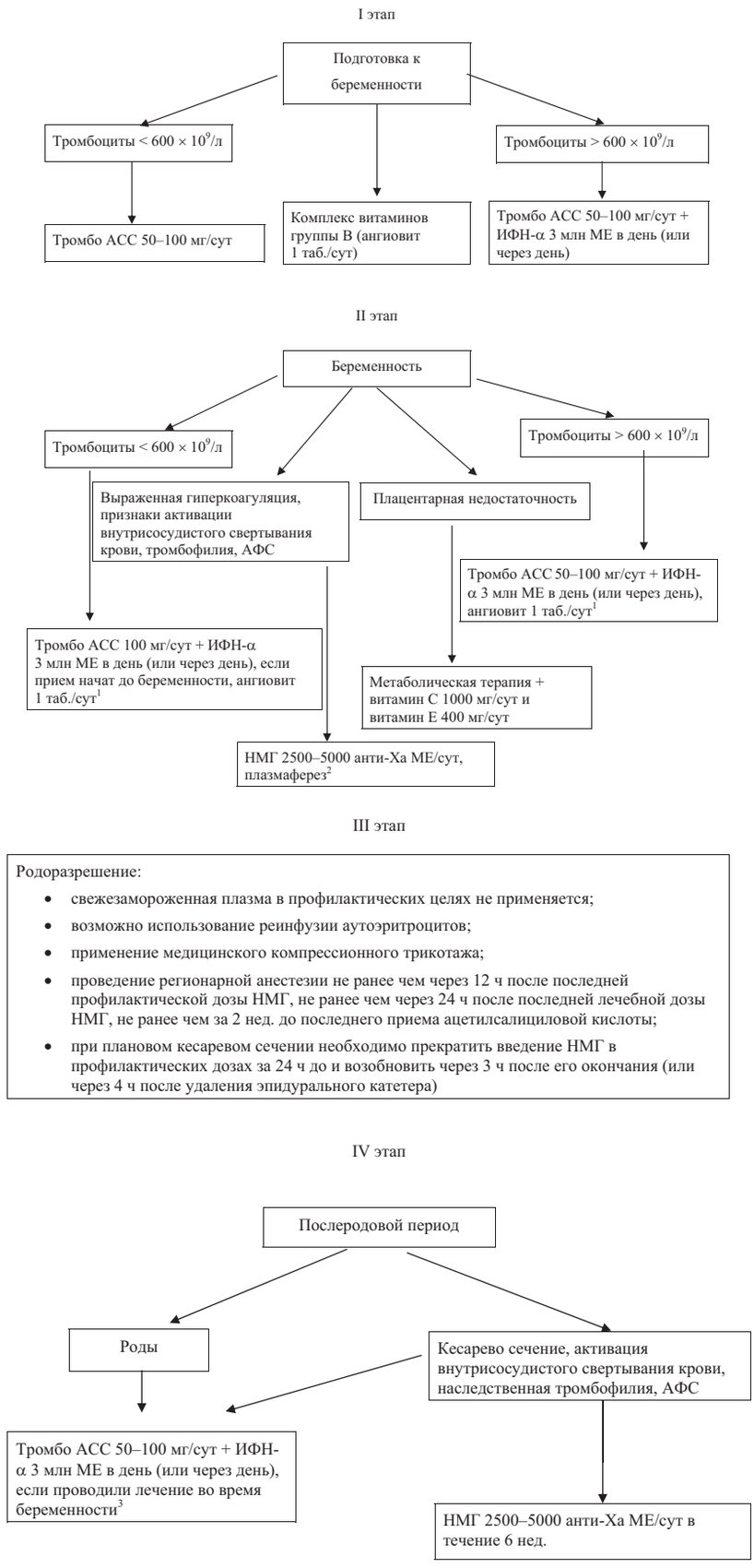
Четырем беременным с хроническим миелолейкозом проводилось лечение во время беременности (ИФН-α — в 2 случаях, гидроксимочевина — в 2) в связи с впервые выявленным во время беременности заболеванием в 3 случаях, с нарастающим лейкоцитозом — в одном. Двум женщинам с хроническим миелолейкозом лечение во время беременности не проводилось, на протяжении всей беременности показатели периферической крови у этих пациенток оставались в пределах нормы. Для оценки эффективности разработанного алгоритма лечения у женщин с хМПЗ был проведен анализ исходов беременностей (табл. 5).

Таблица 5. Исходы беременностей у 30 женщин с хроническими миелопролиферативными заболеваниями (n = 58)

Исход беременности	Число беременностей	
	Лечение (n = 27)	Без лечения (n = 31)
Искусственный аборт	4	1
Самопроизвольный выкидыш	3	16
Неразвивающаяся беременность	—	2
Антенатальная гибель плода	—	4
Своевременные роды	17	4
Преждевременные роды	3	4

Из 58 беременностей 5 (8,6 %) закончились искусственным прерыванием. В 3 случаях искусственный аборт был выполнен по медицинским показаниям: у 2 женщин — в связи с приемом иматиниба и впервые выявленным заболеванием в 12–13 нед. беременности, проявляющимся глубокой анемией, у третьей — в связи с панцитопеническим синдромом со сдвигом лейкоцитарной формулы влево.

Следует отметить, что неблагоприятные исходы беременности (выкидыши, неразвивающаяся беременность, антенатальная гибель плода) отмечены у 22 (73,3 %) из 30 женщин, не получавших адекватной терапии. При создании алгоритма ведения беременных с хМПЗ, медикаментозной коррекции гемостазиологических параметров



[1] Дополнительно к поливитаминам для беременных.

[2] Проводится в объеме 300–400 мл с интервалом 1–2 дня, всего от 2 до 7 сеансов.

[3] При возобновлении терапии препаратами ИФН-α осуществляется подавление лактации.

Рис. 1. Лечебная тактика при подготовке и ведении беременности, родов, послеродового периода у женщин с хроническими миелопролиферативными заболеваниями

НМГ — низкомолекулярный гепарин.

частота репродуктивных потерь снизилась до 13,04 % (у 3 из 23 женщин) ($p < 0,001$).

Осложнения беременности отмечены в 26,7 % случаев при использовании разработанного алгоритма и в 57,1 % — при отсутствии лечения ($p < 0,001$). Из осложнений беременности наиболее часто наблюдалась угроза прерывания беременности — 8 женщин. В большинстве случаев угроза прерывания выявлялась только в одном из триместров, но у 5 женщин эти симптомы сохранялись в двух или трех триместрах. При многоплодной беременности у одной женщины наблюдались плацентарная недостаточность и синдром задержки внутриутробного развития одного из плодов. У одной пациентки беременность осложнилась развитием преэклампсии тяжелой степени и плацентарной недостаточностью с выраженными нарушениями состояния плода.

Перед родоразрешением всем беременным проводилась профилактика тромбогеморрагических осложнений:

1) применение медицинских компрессионных чулок во время родоразрешения;

2) прием ацетилсалициловой кислоты прекращали за 2 нед. до родоразрешения в связи с высоким риском гематом эпидурального пространства;

3) регионарную аналгезию (в родах по желанию женщины) или анестезию (во время кесарева сечения) проводили не ранее чем через 12 ч после последней профилактической дозы низкомолекулярного гепарина (НМГ) и не ранее чем через 24 ч после последней лечебной дозы НМГ;

4) при плановом кесаревом сечении введение НМГ в профилактических дозах прекращали за 24 ч до и возобновляли через 3 ч после его окончания (или через 4 ч после удаления эпидурального катетера).

Из 23 наблюдений с применением разработанного алгоритма лечения беременность закончилась родами в 20 случаях, тогда как без лечения — лишь в 8 из 30. Преждевременные роды отмечены в 3 (15 %) случаях при проводимой терапии и в 4 (50 %) — при отсутствии лечения (см. табл. 5). Частота самопроизвольных родов и оперативного родоразрешения у женщин с хМПЗ не отличалась от таковой в общей популяции и составила 74,07 и 25,93 % соответственно. Среди причин оперативного родоразрешения преобладали акушерские показания. Кровопотеря после родов и кесарева сечения была физиологической.

Тактика ведения послеродового периода заключалась в следующем:

1) все пациентки с хМПЗ с нормальным и повышенным уровнем тромбоцитов получали ацетилсалициловую кислоту в дозе 50–100 мг/сут;

2) введение ИФН-α продолжали, если это лечение проводилось во время беременности и/или существовал высокий тромбогенный риск;

3) при наличии дополнительных факторов тромбофилии и/или высоком тромбогенном риске назначали НМГ в профилактических дозах в течение 6 нед. послеродового периода;

4) терапию иматинибом возобновляли у пациенток с хроническим миелолейкозом, если это лечение проводилось до беременности и при диагностике заболевания во время беременности.

Всем пациенткам проводилось исследование параметров гемостаза в 1, 3, 7 и 14-е сутки после родов. Осложнения послеродового периода отмечены только у одной пациентки с идиопатическим миелофиброзом, у которой развилось раннее послеродовое кровотечение (1000 мл). Кровотечение было купировано консервативными методами (наружновнутренний массаж послеродовой матки, переливание свежезамороженной плазмы).

Родилось 30 живых детей (две двойни). При оценке показателей физического развития детей выявлено, что новорожденные у женщин с хМПЗ чаще имели меньшую массу тела и рост по сравнению с этими показателями в общей популяции. Средняя масса тела детей составила 2976,5 ± 558,2 г, рост — 48,9 ± 3,4 см. Из 30 детей 6 (20 %) были маловесные (менее 2500 г). С признаками асфиксии легкой степени родилось 5 (16,7 %) детей, с асфиксией средней степени тяжести — 2 (6,7 %), тяжелой — 1 ребенок на сроке беременности 29 нед. у матери с истинной полицитемией, не получавшей лечения во время беременности, что, возможно, послужило причиной преждевременных родов. У остальных детей признаков асфиксии не было, оценка по шкале Апгар составила 8–9 баллов. Своевременные роды были в 21 случае, в 7 — преждевременные роды: у одной пациентки с идиопатическим миелофиброзом и двойней; у другой — в связи развитием тяжелой преэклампсии и плацентарной недостаточностью с выраженными нарушениями состояния плода; в 4 случаях — у матерей с истинной полицитемией, не получавших лечения; в 1 случае — в связи с преждевременным излитием околоплодных вод.

ОБСУЖДЕНИЕ

В 1978 г. H. C. Hoagland и M. N. Silverstein впервые описали случай неосложненного течения беременности у двух женщин с эссенциальной тромбоцитемией. В настоящее время в литературе приведены данные приблизительно о 300 беременностях у больных с эссенциальной тромбоцитемией и о 49 беременностях у женщин с истинной полицитемией, однако они в основном являются ретроспективными и описывают разные подходы к лечению.[4] Идиопатический миелофиброз, отличающийся наихудшим прогнозом, встречается очень редко у женщин репродуктивного возраста. Так, в базе данных Pubmed описано всего 4 случая беременности у женщин с идиопатическим миелофиброзом; в исследовании U. Taylor и соавт. приведено наблюдение 19 беременностей у 6 женщин с этим диагнозом.[5]

В данной работе наряду с анализом ретроспективных данных проведена проспективная оценка течения беременностей с использованием разработанного алгоритма терапии. По данным литературы, у женщин с хМПЗ достоверно чаще по сравнению с общей популяцией встречаются самопроизвольные выкидыши в I триместре (26–36 % по сравнению с 15–20 % в общей популяции) и антенатальная гибель плода на поздних сроках беременности (5–9,6 *vs* 0,5 %). Кроме того, в 4,0–5,1 % беременностей отмечают синдром задержки внутриутробного развития плода, в 5,6–8,0 % — преждевременные роды, в 2,8 % — отслойку нормально расположенной плаценты.[3,4,6-8] Наиболее частым следствием тромбоза сосудов плаценты является самопроизвольное прерывание беременности. В ретроспективной части данного исследования прерывание беременности в разные сроки отмечено в 22 (73,3 %) случаях, осложнения беременности — в 57,1 %, что было связано с отсутствием адекватной терапии. Так, у одной женщины наблюдалось 7 самопроизвольных выкидышей, у другой пациентки первая беременность была прервана искусственным абортом, завершившимся профузным маточным кровотечением, что послужило причиной дополнительного обследования и установления диагноза эссенциальной тромбоцитемии.

Предложены различные схемы лечения хМПЗ во время беременности, включавшие циторедуктивную, антиагрегантную, антикоагулянтную терапию и экстракорпоральные методы. Однако четких показаний к применению того или иного вида лечения при этих заболеваниях во время беременности пока нет. Так, ряд авторов ограничиваются использованием антиагрегантной терапии, а циторедуктивную терапию ИФН-α применяют при тромбоцитозе только более 1000×10^9/л и/или при наличии предшествующих тромбогеморрагических осложнений вне или во время беременности. Антикоагулянтную терапию рекомендуют использовать при высоком риске развития тромбогеморрагических осложнений (наличие тромбогеморрагических осложнений вне и во время предыдущих беременностей, тромбоцитоз более 1000×10^9/л) и в послеродовом периоде всем женщинам.[2-8] В данном исследовании для циторедуктивной терапии применяли ИФН-α. В настоящее время ИФН-α является препаратом выбора для циторедуктивной терапии при всех хМПЗ во время беременности. ИФН-α имеет ряд преимуществ: он эффективно контролирует тромбоцитоз и редуцирует миелофиброз, обладает антипролиферативным свойством, не обладает лейкемогенным свойством и не оказывает токсического действия на плод, поскольку не проникает через плацентарный барьер.[2,9]

С учетом патогенеза хМПЗ, а также изменений системы гемостаза во время беременности необходимость применения ацетилсалициловой кислоты также не вызывает сомнений. Кроме того, по мнению многих исследователей, ацетилсалициловая кислота является препаратом выбора для профилактики и лечения микрососудистых тромбофилических осложнений во время беременности и при отсутствии миелопролиферативного заболевания.[3,7,8,10] Назначение антиагрегантов патогенетически обосновано еще и тем, что при хМПЗ сосуществуют различные формы дисфункции тромбоцитов в виде нарушений, обусловленных внутрисосудистой агрегацией, тромбообразованием, воздействием мини-доз агрегирующих агентов и метаболитов, образующихся в зонах гипоксии. После применения антиагрегантов функция тромбоцитов у этих больных значительно улучшается.[11] Частым симптомом хМПЗ является гипертромбоцитоз, способствующий развитию как тромбоза, так и кровотечения. Следует отметить, что сочетание гипертромбоцитоза и беременности само по себе служит фактором риска развития тромботических осложнений. Однако этот риск еще более возрастает при наличии дополнительных факторов — наследственной и приобретенной тромбофилии, особенно во время беременности, при которой наблюдается повышение коагуляции. Так, у женщин с хМПЗ и АФС на протяжении всей беременности отмечается гиперактивность плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза. Всем пациенткам с гиперкоагуляцией, не характерной для определенного срока беременности, признаками активации внутрисосудистого свертывания крови с наличием дополнительных факторов тромбофилии проводилась антикоагулянтная терапия при контроле гемостазиологических параметров (количество тромбоцитов, концентрация растворимых комплексов мономеров фибрина). Поэтому при ведении беременности врач постоянно находится «на лезвии бритвы», т. к. любое нарушение баланса гемостаза приводит к изменениям, проявляющимся тромбозом либо кровотечением.

В связи с описанными выше особенностями системы гемостаза при хМПЗ во время беременности и высоким риском развития тромбоза сосудов плаценты часто развивается плацентарная недостаточность и синдром внутриутробной задержки развития плода. Поэтому функциональные методы исследования для мониторинга за фетоплацентарным и маточно-плацентарным кровотоками и развитием плода должны быть особенно тщательными и регулярными.

В данном исследовании был разработан алгоритм ведения пациенток с хМПЗ во время беременности, родов и послеродового периода (см. рис. 1). При применении этого алгоритма отмечено достоверное уменьшение частоты репродуктивных потерь до 13,04 % ($p < 0{,}001$) и осложнений беременности до 26,7 % ($p < 0{,}001$). При анализе неудач беременности при проводимой терапии были определены основные причины: несвоевременное начало лечения, в основном при впервые выявленном заболевании во время беременности, наличие сопутствующей акушерской патологии.

В настоящее время пристальное внимание уделяется изучению молекулярного маркера — соматической точечной мутации гена Jak2-киназы, локализованного на коротком плече хромосомы 9, — *Jak2V617F*. Данная мутация была впервые обнаружена у 90–95 % пациентов с истинной полицитемией, у 50–70 % — с эссенциальной тромбоцитемией и у 40–50 % — с идиопатическим миелофиброзом. Отсутствие данной мутации не исключает наличия хМПЗ. Опубликованы единичные исследования о взаимосвязи мутации *Jak2V617F* с развитием тромботических осложнений. В исследовании F. Passamonti и соавт. 49 % женщин с эссенциальной тромбоцитемией были носителями мутации *Jak2V617F*, уровень гемоглобина у них был значительно выше, чем у *Jak2V617F*-негативных пациенток. Показано, что выявление этого молекулярного маркера служит независимым фактором риска развития осложнений беременности, однако влияние мутации недостаточно изучено и требует дальнейшего исследования.[12] В данном исследовании мутация *Jak2V617F* была обнаружена у 3 (37,5 %) из 8 женщин, в т. ч. у пациентки с антенатальной гибелью плода и привычным невынашиванием беременности в анамнезе.

Тактика ведения беременности, родов и послеродового периода у пациенток с хМПЗ зависит от течения заболевания, исходов предшествующих беременностей и гематологического статуса женщины. C. Harrison (2005) указывает на факторы риска осложнений у беременных с хМПЗ, среди которых выделяет венозные или артериальные тромбозы и кровотечения в анамнезе (вне или во время беременности), осложнения предыдущих беременностей, обусловленные миелопролиферативным заболеванием (3 самопроизвольных выкидыша и более в I триместре, или 1 — во II триместре, или преждевременные роды), неразвивающуюся беременность или антенатальную гибель плода, массивное кровотечение до или после родов, тяжелую преэклампсию, уровень тромбоцитов более 1500×10^9/л.[3]

Важным вопросом является необходимость применения трансфузионной терапии препаратами свежезамороженной плазмы во время родоразрешения. Перед родами имеется физиологическая гиперкоагуляция, необходимая для надежной остановки кровотечения из плацентарной площадки. Вторым механизмом, обеспечивающим надежный гемостаз как в родах, так и во время кесарева сечения, является выброс большого количества тромбопластина при отделении плаценты. Поэтому женщинам с миелопролиферативными заболеваниями при нормальном количестве тромбоцитов, с физиологической гиперкоагуляцией перед родами проведение трансфузий свежезамороженной плазмы во время родов или кесарева сечения считаем нецелесообразным.

Наиболее опасным по развитию тромбоэмболических осложнений является послеродовой период. При проведе-

нии соответствующей терапии осложнений в послеродовом периоде отмечено не было. Тактика ведения послеродового периода представлена на рис. 1. При необходимости продолжения лечения препаратами ИФН-α и ингибиторами тирозинкиназ у женщин с миелопролиферативными заболеваниями грудное вскармливание противопоказано, поскольку эти препараты экскретируются с молоком.[4,13] Так, при терапии препаратами ИФН-α во время грудного вскармливания у новорожденных развивалась тромбоцитопения.

Особый интерес представляют случаи беременности у женщин с хроническим миелолейкозом. В данном исследовании у пациенток с хроническим миелолейкозом репродуктивных потерь не было, что, по-видимому, связано с отсутствием значимых изменений в системе гемостаза. Тромбогеморрагические осложнения у беременных с хроническим миелолейкозом встречаются редко. Самым дискутабельным и сложным вопросом ведения беременности при хроническом миелолейкозе является терапевтическая тактика: с одной стороны, это возможность прогрессирования заболевания в случае отмены лечения во время беременности, а с другой — возможное тератогенное действие лекарственных средств.[14] В данной работе беременные с хроническим миелолейкозом получали ИФН-α при необходимости проведения лечения во время беременности, т. к. иматиниба мезилат обладает тератогенным свойством.

При отсутствии показаний для терапии в случае наличия полного цитогенетического и большого молекулярного ответов лечение во время беременности не проводилось.

В литературе, касающейся течения беременности у женщин с хМПЗ, данных о состоянии здоровья новорожденных немного. В проведенном исследовании анализ частоты врожденной и приобретенной патологии новорожденных от матерей с хМПЗ не показал достоверного их отличия от аналогичных показателей у новорожденных в общей популяции. Основная патология новорожденных от матерей с хМПЗ была обусловлена, по всей видимости, особенностями кровотока в системе «мать—плацента—плод» вследствие нарушений параметров системы гемостаза и развитием хронической плацентарной недостаточности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У женщин с хроническими лейкозами миелоидного происхождения возможны нормальные беременность и роды только при проведении адекватной терапии. Без специального лечения беременность у женщин с миелопролиферативными заболеваниями характеризуется следующими особенностями:

- высокая частота репродуктивных потерь (73,3 % случаев в данном наблюдении);
- высокая частота осложнений беременности, проявляющихся угрозой прерывания беременности, развитием плацентарной недостаточности, задержки внутриутробного развития плода, преэклампсии (57,1 % случаев в данном наблюдении);
- высокий риск тромбогеморрагических осложнений во время беременности, родов и в послеродовом периоде.

Разработанный алгоритм ведения беременности и терапия хМПЗ во время беременности позволили снизить частоту репродуктивных потерь до 13,04 % ($p < 0,001$), частоту осложнений беременности до 26,7 % ($p < 0,001$) и избежать тромбогеморрагических осложнений. Все женщины с хМПЗ нуждаются в тщательном совместном наблюдении акушером и гематологом. Родоразрешение беременных с хМПЗ должно проводиться в специализированных учреждениях. Новорожденные от матерей с хМПЗ не отличаются от детей в общей популяции по частоте врожденной и приобретенной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Хорошко Н.Д., Цветаева Н.В., Туркина А.Г.* и др. Новые тенденции в лечении хронических миелопролиферативных заболеваний, протекающих с экстремальным тромбоцитозом. Гематол. и трансфузиол. 2001; 46(3): 35–8.
2. *Цветаева Н.В., Хорошко Н.Д., Соколова М.А.* и др. Хронические миелопролиферативные заболевания и беременность. Тер. арх. 2006; 10: 68–73.
3. *Harrison C.* Pregnancy and its management in the Philadelphia negative myeloproliferative diseases. Br. J. Haematol. 2005; 129: 293–306.
4. *Griesshammer M., Struve S., Harrison C.* Essential thrombocythemia/Polycythemia vera and pregnancy: the need for a observational study in Europe. Leuc. Net.: 1–19.
5. *Taylor U., Bardequez A., Iglesias N.* et al. Idiopathic myelofibrosis in pregnancy: a case report and review of the literature. Am. J. Obstet. Gynecol. 1992; 167(1): 8–9.
6. *Elliott M.A., Tefferi A.* Thrombocythaemia and pregnancy. Best Pract. Res. Clin. Haematol. 2003; 16(2): 227–42.
7. *Robinson S., Bewley S., Hunt B.* et al. The management and outcome of 18 pregnancies in women with polycythemia vera. Haematologica 2005; 90(11): 1477–83.
8. *Vantroyen B., Vanstraelen D.* Management of essential thrombocythemia during pregnancy with aspirin, interferon alpha-2a and no treatment. A comparative analysis of the literature. Acta Haematol. 2002; 107(3): 158–69.
9. Клиническая онкогематология: Руководство для врачей / Под ред. *М.А. Волковой*. М.: Медицина, 2007; 1120 с.
10. *Barbui T., Barosi G., Grossi A.* et al. Practice guidelines for the therapy of essential thrombocythemia. A statement from the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. Haematologica 2004; 89(2): 215–32.
11. *Баркаган З.С., Момот А.П.* Основы диагностики нарушений гемостаза. М.: Ньюдиамед-АО, 2000; 224 с.
12. *Passamonti F., Randi M.L., Rumi E.* et al. Increased risk of pregnancy complications in patients with essential thrombocythemia carrying the Jak2 (V617F) mutation. Blood 2007; 110(2): 485–9.
13. *Russell M.A., Carpenter M.W., Akhtar M.S.* et al. Imatinib mesylate and metabolite concentrations in maternal blood, umbilical cord blood, placenta and breast milk. J. Perinat. 2007; 27: 241–3.
14. *Shapira T., Pereg D., Lisher M.* How I treat acute and chronic leukemia in pregnancy. Bl. Rew. 2008: 1–13.

Современное состояние неродственного донорства гемопоэтических стволовых клеток в Российской Федерации (по материалам отчета Всемирной ассоциации доноров костного мозга за 2008 г.)

Ю. Г. Иоффе

Modern condition of hematopoietic stem cells donation in Russia (On the basis of World Marrow Donor Association Annual Report, 2008)

Y. Ioffe

SUMMARY

This article presents information on the modern condition of unrelated hematopoietic stem cells donation in Russia that is taken as the basis of the data from World Marrow Donor Association Annual Report 2008.

Keywords:

registers of hematopoietic stem cells donors, unrelated donation of hematopoietic stem cells donors.

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

Контакты: karelian.bmd@onego.ru

Принято в печать: 31 августа 2009 г.

РЕФЕРАТ

Представлены данные современного состояния неродственного донорства гемопоэтических стволовых клеток в Российской Федерации по материалам отчета Всемирной ассоциации доноров костного мозга (WMDA) за 2008 г.

Ключевые слова

регистры доноров гемопоэтических стволовых клеток, неродственное донорство гемопоэтических стволовых клеток.

ВВЕДЕНИЕ

Для осуществления аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) необходим продукт донорских клеток, который может быть получен как у родственного, так и неродственного взрослого донора, а также из пуповинной крови. Следует отметить, что неродственные ТГСК (источником ГСК является взрослый неродственный донор) занимают весомое место в структуре алло-ТГСК. Так, согласно данным Европейской группы по трансплантациям костного мозга (EBMT), в Европе в 2006 г. всего было выполнено 9661 алло-ТГСК. Из них в 9154 (94,8 %) случаях источником ГСК был взрослый донор, а в 507 (5,2 %) — пуповинная кровь. Среди алло-ТГСК от взрослых доноров родственные ТГСК составили 5371 (59 %), неродственные — 3783 (41 %).[1] Согласно другим данным EBMT, в 2007 г. частота неродственных алло-ТГСК в Европе составила 47 %.[2] Таким образом, неродственные ТГСК от взрослого донора составляют чуть менее 50 % от всех выполняемых в Европе алло-ТГСК. Следует полагать, что такое же соотношение сохраняется и в остальном мире.

Всемирная ассоциация доноров костного мозга (WMDA) — международное сообщество, объединяющее организации и частных лиц, занимающихся неродственным донорством ГСК, а также трансплантацией этих клеток. Основными ее миссиями являются обеспечение международного сотрудничества с целью облегчить обмен по всему миру высококачественными неродственными ГСК для проведения трансплантаций, а также поддержка интересов неродственных доноров. В WMDA входит 71 регистр неродственных доноров ГСК со всего мира. Россию в WMDA представляют 3 регистра: Российский регистр доноров костного мозга (г. Москва), Российский регистр доноров костного мозга Банков крови (г. Пушкин, Санкт-Петербург) и Карельский регистр неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток (г. Петрозаводск, Республика Карелия). В настоящее время в Российской Федерации нет единой структуры, занимающейся проблемой неродственного донорства ГСК, что не позволяет получить какую-либо объективную информацию по этой важной проблеме от российских органов здравоохранения и трансплантационных клиник. Поэтому все данные относительно состояния неродственного донорства ГСК в Российской Федерации представлены на основании ежегодного отчета WMDA

Благотворительный Фонд «Карельский регистр неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток», г. Петрозаводск

за 2008 г. Поскольку этот документ составлен на основе отчетов отдельных регистров доноров ГСК, входящих в WMDA, данная информация является объективной и отражает реальное положение дел с неродственным донорством ГСК в нашей стране. Для сравнения были отобраны данные по некоторым странам мира, отличающимся численностью населения и количеством неродственных доноров ГСК. В выборку вошла информация и по Литве — одной из бывших республик СССР. В данной статье не рассматриваются вопросы, касающиеся родственного донорства ГСК, а также донорства пуповинной крови.

ОСНОВНЫЕ ДАННЫЕ

Количество неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток

На 31 декабря 2008 г. в мире всего насчитывалось **14 620 931** неродственных доноров ГСК.[3] В табл. 1 представлена информация о количестве доноров ГСК в некоторых странах мира, включая Россию.

Таблица 1. Количество неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток в некоторых странах мира[3]

Страна	Численность населения в 2008 г.[4]	Количество доноров ГСК (данные на 31.12.2008 г.)	Доля доноров от общего числа жителей в стране, %	Доля доноров от общего числа доноров в мире, %	Количество новых доноров ГСК, привлеченных за 2008 г.
Россия	**141 900 000**	**23 478**	**0,016**	**0,16**	**559**
США	305 000 000	5 290 019	1,73	36,0	448 482
Мексика	107 700 000	9926	0,009	0,06	699
Германия	82 200 000	3 357 693	4,08	22,0	294 422
Великобритания	61 300 000	761 900	1,24	5,2	35 803
Израиль	7 500 000	469 492	0,625	3,2	87 812
Финляндия	5 300 000	21 156	0,399	0,14	256
Норвегия	4 800 000	27 771	0,57	0,18	1771
Литва	3 400 000	3001	0,088	0,02	761
Кипр	1 100 000	108 179	9,83	0,7	1517

В табл. 2 представлены данные о количестве неродственных доноров ГСК в России по каждому из российских регистров доноров ГСК, входящих в WMDA.

Таблица 2. Количество доноров неродственных гемопоэтических стволовых клеток в российских регистрах ГСК

Регистр	Местонахождение, контактные данные	Количество новых доноров, привлеченных в регистр за 2008 г.	Количество доноров (данные на 31.12.2008 г.)
Российский регистр доноров костного мозга	Москва, Гематологический научный центр РАМН Тел.: (495) 613-24-76 Тел./факс: (495) 612-43-02 E-mail: zar@blood.ru	Нет данных	17 276
Российский регистр доноров костного мозга Банков крови	г. Санкт-Петербург, Пушкин Тел./факс: (812) 451-90-52, 451-90-53	150	3744
Карельский регистр неродственных доноров гемопоэтических стволовых клеток	г. Петрозаводск Тел.: (8142) 670-180 Факс: (8142) 765-897 E-mail: karelian.bmd@onego.ru Сайт: bmd.onego.ru	409	2458
Всего		**559**	**23 478**

Количество осуществленных донаций гемопоэтических стволовых клеток от неродственных доноров в 2008 г.

В табл. 3 представлены данные о количестве осуществленных донаций ГСК от неродственных доноров за 2008 г. в некоторых странах мира, включая и Россию.

Таблица 3. Количество донаций гемопоэтических стволовых клеток от неродственных доноров в некоторых странах мира[3]

Страна	Количество доноров ГСК	Число донаций	Число донаций по отношению к числу доноров, %
Германия	3 357 693	4166	0,124
Норвегия	27 771	30	0,108
Великобритания	761 900	576	0,076
Финляндия	21 156	15	0,071
Мексика	9926	5	0,050
США	5 290 019	2445	0,046
Литва	3001	1	0,033
Израиль	469 492	143	0,030
Кипр	108 179	28	0,026
Россия	**23 478**	**0**	0

Количество продуктов гемопоэтических стволовых клеток от неродственных доноров, предоставленных российским трансплантационным клиникам за 2008 г.

В табл. 4 приводится информация о количестве продуктов ГСК от неродственных доноров, предоставленных в 2008 г. трансплантационным клиникам Российской Федерации по их запросам. Эти данные позволяют узнать о количестве осуществленных за 2008 г. в России неродственных трансплантаций гемопоэтических клеток и о том, откуда был предоставлен донорский продукт.

Таблица 4. Количество продуктов донорских гемопоэтических стволовых клеток от неродственных доноров, предоставленных российским трансплантационным клиникам в 2008 г.[3]

Страна, предоставившая донорский продукт ГСК	Количество донорских продуктов
Германия	58
Израиль	3
Италия	2
Австрия	1
Швеция	1
Великобритания	1
США	1
Россия	**0**
Всего	67

В табл. 5 приводятся данные EBMT о российских трансплантационных клиниках, предоставивших в эту организацию информацию о своей трансплантационной активности за 2006 г.

Таблица 5. Российские трансплантационные клиники, предоставившие информацию о своей трансплантационной активности в EBMT за 2006 г.[5]

Клиника	Количество первичных алло-ТГСК	Количество первичных ауто-ТГСК	Общее количество (включая и повторные ТГСК)
Екатеринбургская областная больница №1	5	18	28
Российская детская клиническая больница, Москва	35	8	43
Российский онкологический научный центр, Москва	1	34	35
Российский онкологический научный центр, отделение детской онкогематологии, Москва	8	19	27
Институт биофизики, Москва	0	10	15
Гематологический научный центр РАМН, Москва	20	15	39
Главный военный клинический госпиталь, Москва	0	23	27
Институт клинической иммунологии, Новосибирск	0	45	45
Областная клиническая больница, Самара	1	7	8
НИИ гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург	0	14	14
Медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург	42	13	55
Ленинградская областная клиническая больница, Санкт-Петербург	0	7	7
Ярославская областная клиническая больница	0	8	8
Всего	**112**	**221**	**358**

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленная выше информация позволяет сделать следующие выводы.

1. Неродственные алло-ТГСК занимают существенное место среди всех осуществляемых алло-ТГСК в Европе, а также, по всей вероятности, в мире.
2. В настоящее время в России существуют регистры неродственных доноров ГСК, обладающие определенной, хотя и небольшой, базой данных.
3. В России имеется достаточный опыт выполнения алло-ТГСК. Об этом свидетельствуют данные 6 российских клиник, осуществивших такую операцию в 2006 г.
4. Все осуществляемые в России неродственные трансплантации ГСК проводятся **исключительно** от иностранных доноров, при этом гематологами-трансплантологами **практически не учитывается** уже имеющаяся база данных неродственных доноров в российских регистрах доноров ГСК.
5. Малочисленность существующих российских регистров неродственных доноров ГСК, а также низкий уровень рекрутирования новых доноров (при имеющейся большой популяции населения и несомненном желании многих россиян стать донорами ГСК) объясняются:

   а) отсутствием осознания важности данной проблемы как в федеральных органах управления здравоохранением, так и в среде российских практических гематологов-трансплантологов. Дискуссии на эту тему, периодически возникающие как в СМИ, так и среди медицинской общественности, никак не меняют общей негативной картины;

   б) отсутствием в России национальной программы развития неродственного донорства ГСК, финансируемой из федерального бюджета и внебюджетных источников.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Gratwohl A., Baldomero H.* et al. Why are there regional differences in stem cell transplantation activity? An EBMT analysis. Bone Marrow Transplant. 2008; 42: 7–10.

2. *Gratwohl A., Baldomero H.* et al. The EBMT activity survey 2007 with focus on allogeneic HSCT for AML and novel cellular therapies. Bone Marrow Transplant. 2009; 43: 275–91.

3. World Marrow Donor Association, Annual Report, 2008. (Неопубликованные данные, использованы с разрешения WMDA.)

4. «Демоскоп weekly» — электронная версия бюллетеня «Население и общество» http://www.demoscope.ru/weekly/app/world2008_1.php

5. *Gratwohl A., Baldomero H.* et al. The EBMT activity survey 2006 on hematopoietic stem cell transplantation: focus on the use of cord blood products. Bone Marrow Transplant. 2008; 41: 687–705.

Роль урокиназы в профилактике и лечении катетер-ассоциированных инфекционных и тромботических осложнений у пациентов с опухолевыми заболеваниями

А. Д. Ширин

РЕФЕРАТ

Настоящая статья представляет собой обзор литературы по профилактике и лечению осложнений, связанных с наличием у онкологических больных центрального венозного катетера (ЦВК). Приводятся результаты использования антикоагулянтов, антагонистов витамина К и тромболитиков (фибринолитиков) у больных с ЦВК-ассоциированными инфекционными осложнениями. В статье рассматривается руководство 2008 г. по уходу за ЦВК (стандарты, опции и рекомендации). В работе основное внимание уделяется урокиназе; детально излагаются показания и противопоказания к ее применению, предписанные фармацевтической компанией Medac.

Ключевые слова

центральный венозный катетер, ЦВК, тромбоз, урокиназа.

The role of urokinase in the prophylaxis and treatment of central venous catheter-associated infectious and thrombotic complications in cancer patients

A.D. Shirin

SUMMARY

This article is a literature review on prophylaxis and treatment of the complications associated with central venous catheter (CVC) in cancer patients. We observe results of therapy with anticoagulating agents, vitamin K antagonists and thrombolytic drugs (fibrinolytic agents) in patients with CVC-associated infectious complications. The article presents the guidelines (2008) concerning CVC management (Standards, Options and Recommendations).
The main attention is concentrated on urokinase; we specify indication and contraindications prescribed by the pharmaceutical company Medac.

Keywords:

central venous catheter, CVC, thrombosis, urokinase.

N.N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, Moscow

Контакты: shirin-anton@mail.ru

Принято в печать: 17 сентября 2009 г.

ВВЕДЕНИЕ

Современную медицину сложно представить без использования венозных катетеров. Историю первой внутривенной инъекции (1656 г.) связывают с именем английского ученого Christopher Wren, который вводил различные субстанции животным через внутривенную канюлю.[1-3]

Christopher Wren (1632–1723)

В 1667 г. Johann D. Major и Johann Esholtz пытались использовать катетеры для введения компонентов крови, слабительных средств и других веществ как животным, так и людям, что приводило к их гибели.[4-6] В связи с этим интерес к применению венозных катетеров был надолго утрачен. Относительно недавно — около 30–35 лет тому назад — с появлением современных технологий вновь возрос интерес к катетеризации вен, что позволило осуществлять парентеральное питание, проводить химиотерапию, противомикробную терапию и т. д.

Однако наряду с преимуществами венозных катетеров обнаружились и осложнения, связанные с их установкой и нахождением в сосудистом русле (особенно в течение длительного времени). Среди всех осложнений **наиболее частыми ранними осложнениями** являются аритмия (до 13 % случаев) и случайная артериальная пункция (до 3,8 %), значительно чаще наблюдаются **поздние осложнения:** инфекции (4–38 %), тромбозы (12–74 %) и др.[7]

Следует отметить, что наличие катетера у больного является одной

РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

из наиболее частых причин нозокомиальной (от лат. *nosocomium* — больница, греч. *nosokomeo* — ухаживать за больным) инфекции, выявляемой при микробиологическом исследовании крови. Так, по данным за 2001 г., в США ежегодно устанавливается около 5 млн центральных венозных катетеров (ЦВК) и в 3–8 % случаев при микробиологическом анализе крови регистрируется инфекция.[8] Этот вид инфекции характеризуется 12–25%-й частотой летальных исходов.[9]

Важную проблему борьбы с ЦВК-ассоциированной инфекцией представляет образование биооболочки, препятствующей адекватному иммунному ответу организма и противодействующей антибиотикам. Биооболочка представлена бактериальными экстрацеллюлярными полисахаридами, связанными с фибрином и фибронектином. Для ликвидации бактерий, присутствующих в сформированной биооболочке катетера, требуется 100–1000-кратная концентрация антибиотиков, воздействующая на протяжении нескольких часов, по сравнению с их минимальной ингибирующей концентрацией.

На основании исследования V. L. Jr. Hoshal и соавт. было показано, что после установления ЦВК в течение 24 ч вокруг него формируется фибриновая оболочка.[10] Венографическое исследование позволило выявить фибриновую оболочку на катетерах у 83 (87 %) из 95 больных.[11] Это явление не приводит к развитию тромбозов сосудов, в которых установлен катетер, случаи эмболии фибриновой оболочкой наблюдаются редко и протекают преимущественно бессимптомно. Образование фибриновой оболочки может быть причиной ЦВК-ассоциированной инфекции. Однако существуют данные, не подтверждающие это положение.

Так, для оценки микробной колонизации фибриновой оболочки на внутренней и наружной поверхности ЦВК I. Raad и соавт.[12] использовали электронную микроскопию 39 силиконовых катетеров у больных с онкологическими заболеваниями с катетерной инфекцией (с выявленным ростом культур микроорганизмов), 26 катетеров из контрольной группы и 10 катетеров у умерших больных (без выявления роста культур микроорганизмов). Ультраструктурная колонизация и образование слоя микроорганизмов обнаруживались преимущественно на внутренней поверхности ЦВК при нахождении катетера в сосудистом русле более 30 дней и не зависели от частоты клинически выявленной катетер-ассоциированной инфекции. Отсутствие этой связи, вероятно, может объясняться не самим фактом колонизации, а ее выраженностью. При исследовании 250 удаленных внутривенных катетеров полуколичественный анализ культур микроорганизмов выявил колонизацию в 225 случаях (менее 15 колоний). Ни в одном из этих случаев септицемия не наблюдалась. При исследовании 25 (10 %) катетеров был получен рост более 15 колоний. Септицемия была констатирована в 4 из этих 25 наблюдений.[13]

Одним из осложнений, связанных с длительным пребыванием катетера в сосудистом русл, является ЦВК-ассоциированный тромбоз. Согласно определению, указанному в «Руководстве по предотвращению и лечению тромбозов, ассоциированных с центральным венозным катетером, у больных с онкологическими заболеваниями» (2008), ЦВК-ассоциированный тромбоз представляет собой пристеночный тромбоз, распространяющийся из катетера в просвет сосуда и приводящий к частичной или полной окклюзии катетера с наличием клинических симптомов или без таковых.[14] На основании анализа литературы за 1990–2007 гг. ЦВК-ассоциированный тромбоз встречается с частотой от 0 до 66 % и приводит к эмболии сосудов легких в 10–15 % случаев.

Обычно внутрипросветный тромбоз ЦВК выявляется при невозможности взятия крови через катетер или невозможности осуществления инфузии через него. Так, по данным J. R. Gould и соавт.,[15] этот феномен наблюдался у 57 % пациентов с тромбозом и у 27 % пациентов без тромбоза ЦВК. Следует иметь в виду, что указанные признаки могут быть также вызваны перегибом катетера или соприкосновением дистального конца катетера (его просвета) со стенкой сосуда. В исследованиях сообщается о различной частоте образования тромба внутри просвета ЦВК. A. J. Anderson и соавт.[16] сообщили об этом осложнении у 40 из 43 больных, в то время как R. E. Schwarz и соавт.[17] обнаружили внутрипросветный тромбоз ЦВК у 122 из 923 больных.

Тромбоз катетера может быть как спонтанным, так и индуцированным состояниями, связанными с повышенным риском тромбообразования, — онкологическими заболеваниями или лечением (особенно L-аспарагиназой). Тромбоз ЦВК представляет собой основной фактор риска катетер-ассоциированной инфекции. Впервые это предположение было высказано O. W. Press и соавт., которые проанализировали данные литературы и собственные наблюдения (1088 катетеров Хикмана у 992 пациентов с онкологическими заболеваниями). Наиболее частым инфекционным осложнением была септицемия (30,8 %). Анализ факторов риска 129 случаев установленных катетеров показал, что тромбоз катетеров был основной причиной катетерной инфекции.[18]

ПРОФИЛАКТИКА ЦВК-АССОЦИИРОВАННЫХ ТРОМБОЗОВ

Ранее с целью предотвратить тромбообразование рекомендовалось промывание ЦВК физиологическим раствором и гепарином.[19] Как показал более поздний анализ литературы (2008),[14] было проведено только одно рандомизированное исследование применения гепарина по сравнению с введением физиологического раствора. Частота ЦВК-ассоциированных тромбозов оказалась достоверно меньше при использовании гепарина, чем в группе, получавшей физиологический раствор. Однако, по мнению исследователей, одного исследования по сравнению гепарина и физиологического раствора недостаточно для внесения гепарина в группу рекомендованных препаратов для профилактики ЦВК-ассоциированного тромбоза у онкологических больных.

По данным M. M. Bern и соавт., применение малых доз варфарина (ингибитор витамина К) может быть эффективно у больных с ранее наблюдавшимся тромбозом катетера. В это исследование не были включены пациенты с числом тромбоцитов менее 125×10^9/л и с коагулопатиями.[20] На основании более обширного исследования — метаанализа применения варфарина у пациентов с онкологическими заболеваниями — не было показано его преимущества в предотвращении ЦВК-асссоциированного тромбоза по сравнению с контрольной группой. Низкомолекулярный гепарин (далтепарин и надропарин) не отличался большей эффективностью по сравнению с варфарином.[14]

Помимо применения антикоагулянтов и ингибиторов витамина К в арсенале клиницистов появился **препарат урокиназа, относящийся к группе фибринолитических средств (тромболитиков).** Урокиназа является протеолитическим ферментом и по своему действию относится к прямым активаторам плазминогена. Она проникает в тромб и превращает плазминоген в плазмин. Плазмин разрушает фибрин, в результате чего происходит растворение тромба. Механизм действия урокиназы направлен на деградацию фибрина, биологических пленок, локализирующихся на внутренней поверхности стенок ЦВК, и тромбов на внутренней поверхности стенок сосудов.

Урокиназа метаболизируется в печени. Неактивные продукты деградации выводятся с желчью и мочой. Период полувы-

ведения урокиназы составляет 10—20 мин. Клиническое время действия зависит от продолжительности действия активного плазмина. Снижение уровня плазминогена и фибриногена, а также повышение содержания продуктов разложения фибрина и фибриногена, вызванные введением урокиназы, сохраняются в течение 12—24 ч после окончания инфузии.

С целью профилактики тромбоза ЦВК у детей с онкологическими заболеваниями было проведено исследование M. Kalmanti и соавт.[21] Больные были разделены на две группы. В 1-й группе урокиназа вводилась в ЦВК на 4 ч 1 раз в неделю в дозе 10 000 ЕД, а затем удалялась из просвета катетера. Во 2-й группе профилактика тромбозов не проводилась. Дисфункция катетеров была значительно меньшей в 1-й группе (3 из 16 *vs* 13 из 19 во 2-й группе). В 1-й группе ЦВК-ассоциированная бактериемия также встречалась реже (2 из 16 *vs* 8 из 19) и из-за персистирующей бактериемии было удалено меньшее число ЦВК (1 из 16 *vs* 5 из 19). Геморрагические осложнения при использовании урокиназы не наблюдались. Таким образом, профилактика тромбообразования урокиназой продемонстрировала ее безопасность и эффективность. Однако из-за незначительного числа больных и проведения только 1 исследования авторы метаанализа не сочли возможным рекомендовать урокиназу для профилактики ЦВК-ассоциированных тромбозов.[14] Тем не менее, учитывая результаты исследования урокиназы для профилактики ЦВК-ассоциированных инфекций, в которых также оценивалась частота тромботической окклюзии катетеров, можно сделать вывод о ее достаточно высокой эффективности в этой области применения.

ЛЕЧЕНИЕ ЦВК-АССОЦИИРОВАННЫХ ТРОМБОЗОВ

Число работ, посвященных изучению роли антикоагулянтов в лечении ЦВК-ассоциированных тромбозов у онкологических больных, крайне ограничено. Одно нерандомизированное проспективное исследование было направлено на определение эффективности и безопасности низкомолекулярного гепарина (далтепарин) у пациентов с ЦВК-ассоциированным тромбозом верхних конечностей.[22] После проведения терапии далтепарином (не менее 5 дней) больным назначался варфарин. В исследование было включено небольшое число пациентов, а лечение далтепарином было непродолжительным. Эти обстоятельства не позволили включить представленный вид терапии в современные рекомендации по лечению.[14]

Обнадеживающие результаты показали исследования длительной монотерапии низкомолекулярным гепарином ЦВК-ассоциированных тромбозов нижних конечностей или тромбоэмболии сосудов легких у онкологических больных.[23]

Высокую эффективность при терапии ЦВК-ассоциированных тромбозов продемонстрировали фибринолитики. В 1980 г. группа исследователей из M. D. Anderson Cancer Center (США) опубликовала данные о применении стрептокиназы и урокиназы для восстановления функции 325 ЦВК с окклюзией тромботическими массами. Стрептокиназа использовалась в 266 случаях, урокиназа — в 59. После первого введения фибринолитиков в катетер его функция восстановилась у 77 % больных в среднем через 22 мин. Для ликвидации тромботической окклюзии остальных 23 % катетеров потребовалось два введения препаратов и более, а среднее время от введения препаратов до восстановления функции ЦВК составило 45 мин. Согласно ранее полученным данным этих авторов, около 25 % ЦВК удалялись из-за их окклюзии, в то время как на протяжении 6 мес. проведения этого исследования возникла необходимость удаления только 1 катетера.[24]

По данным T. Wachs, использование урокиназы при тромботической окклюзии ЦВК (одно-, двухпросветных и оснащенных имплантируемыми портами) позволило восстановить функцию 101 из 103 катетеров.[25]

Согласно метаанализу, указанному выше, роль тромболитиков в терапии ЦВК-ассоциированного тромбоза была оценена в двух нерандомизированных проспективных исследованиях[26,27] и в одном ретроспективном.[28]

В первом исследовании у 5 пациентов со злокачественными опухолями наблюдался ЦВК-ассоциированный тромбоз, по поводу которого проводилось лечение рекомбинантным тканевым активатором плазминогена и гепарином. Терапия была эффективной: ликвидация обструкции крупных сосудов без признаков кровотечения у 3 из 5 больных. Частичный лизис тромба с умеренно выраженным геморрагическим синдромом был констатирован у 2 пациентов.[26]

Во второе исследование было включено 18 больных с развитием ЦВК-ассоциированного тромбоза и онкологическими заболеваниями, по поводу которых пациенты получали высокодозную химиотерапию. Этим больным вводили урокиназу (75 000–150 000 ЕД/ч в течение 24–96 ч) в поверхностную вену той же конечности, где наблюдался тромбоз. У всех пациентов отмечено полное или частичное разрешение клинических признаков тромбоза. Затем осуществлялась терапия гепарином в течение 5–7 дней с последующим применением варфарина продолжительностью не менее 3 мес. В 12 случаях удалось восстановить функцию катетера, а у 6 больных катетеры были удалены из-за сохранявшегося тромбоза. Только у 1 больного развилось желудочно-кишечное кровотечение, потребовавшее прекращения лечения урокиназой.[27]

В третьем исследовании проводилось ретроспективное сравнение эффективности тромболитиков и низкомолекулярного гепарина при ЦВК-ассоциированном тромбозе у 57 больных. 32 пациента получали тромболитики (стрептокиназа — 16, урокиназа — 5, активатор тканевого плазминогена — 4, комбинация стрептокиназы и урокиназы — 7). У 50 % больных был получен эффект по данным допплеровской эхографии. Тяжелых побочных эффектов не было. При лечении 25 пациентов только эноксапарином с последующим назначением варфарина восстановление кровотока отмечено только в 1 случае.[28]

Для определения оптимальной дозы урокиназы с целью восстановить функцию ЦВК при его окклюзии тромботическими массами у онкологических больных было проведено рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование.[29] Пациентам осуществляли одно или два введения препарата в просвет катетера в дозе 5000, 15 000 и 25 000 ЕД/мл. В исследование было включено 104 больных. Введение урокиназы во всех исследуемых дозах имело достоверно лучшие результаты по сравнению с плацебо. Принципиальных различий между эффективностью разных доз урокиназы не было. Геморрагические осложнения наблюдались только при использовании урокиназы в дозе 15 000 и 25 000 ЕД/мл. Это исследование показало эффективность и безопасность урокиназы в дозе 5000 ЕД/мл у взрослых больных и у детей старше 1 года.

В исследовании урокиназы в разных дозах (5000 и 25 000 ЕД/мл) у детей с гемобластозами[30] окклюзия ЦВК была устранена в 92,5 % случаев (75 наблюдений окклюзии ЦВК). Урокиназа в дозе 5000 ЕД/мл была эффективна у 89 % детей, а в дозе 25000 ЕД/мл — в 97 % (различия статистически недостоверны). В случае неэффективности внутрипросветного введения урокиназы (9 больных) препарат в малых дозах вводили системно, положительный результат получен у 7 детей, у оставшихся 2 больных ЦВК были удалены.

Полученные результаты применения тромболитиков позволяют сделать вывод об их достаточно высокой эффективности. Однако, по мнению экспертов, **назначение тромболитиков для лечения ЦВК-ассоциированного тромбоза следует ограничить случаями, при которых риск тромбоза превышает риск побочных эффектов, например тромбоз верхней полой вены при наличии недавно имевшегося и тяжело протекавшего синдрома верхней полой вены (по крайней мере, доказанного с помощью компьютерной томографии и/или контрастирования верхней полой вены) или обязательное сохранение функции ЦВК**.[14]

ПРОФИЛАКТИКА ЦВК-АССОЦИИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИЙ

Применение ферментов, направленных на растворение фибрина, может уменьшить риск ЦВК-ассоциированных инфекций. С этой точки зрения урокиназа является препаратом, разрушающим сформированную биооболочку на поверхности катетера. Недавно были представлены результаты исследования урокиназы в профилактике ЦВК-ассоциированной инфекции, вызванной коагулазанегативным стафилококком (CoNS) у больных гемобластозами.[31] В двойном слепом исследовании пациентам проводилась промывка ЦВК урокиназой (5 мл, содержащие 5000 ЕД/мл) или плацебо (физиологический раствор) 3 раза в неделю. Число больных с одним и более положительным исследованием роста CoNS было меньше в группе, получавшей урокиназу, чем в группе плацебо (26 *vs* 42 % соответственно). Системные ЦВК-ассоциированные инфекции встречались реже в случае применения урокиназы по сравнению с плацебо (1,2 *vs* 14,1 %). Кроме того, у больных, которым вводилась урокиназа, было отмечено меньшее число ЦВК-ассоциированных тромбозов (1,3 *vs* 9,0 %).

Исследователи из Германии (Department for Paediatric Haematology and Oncology, University of Bonn) рекомендуют применять урокиназу при катетер-ассоциированных инфекциях у детей с онкологическими заболеваниями следующим образом: при массе тела 3–10 кг — 2500 ЕД, 10–25 кг — 5000 ЕД и более 25 кг — 10 000 ЕД. После более чем 4-часового периода урокиназного «замка» препарат следует аспирировать в стерильных условиях и направить на бактериологическое исследование. Далее ЦВК промывается физиологическим раствором, содержащим гепарин в дозе 10 000 ЕД/л, а затем сразу же через катетер осуществляется инфузия антибиотиков. Эта процедура повторяется через 24 ч.[32]

Исследователи из США провели проспективное двойное слепое рандомизированное исследование урокиназы, которая использовалась для предотвращения ЦВК-ассоциированной бактериемии.[33] С 1994 по 1998 г. дети с онкологическими заболеваниями были рандомизированы на две группы. 40 больным проводилось не менее 6 промываний катетера урокиназой и гепарином (1-я группа), 34 — только гепарином (2-я группа). В 1-й группе ЦВК-ассоциированная инфекция выявлялась реже, чем во 2-й группе, но различия не были статистически значимыми.

P.W. Dillon и соавт. было предпринято проспективное рандомизированное исследование эффективности гепарина и урокиназы у детей с туннельными катетерами и катетерами, оснащенными имплантируемыми портами. Препараты вводили в катетер каждые 2 нед. на протяжении 12 мес., продолжительность нахождения исследуемых препаратов в просвете катетера составила от 1 ч до 2 нед. В исследовании приняло участие 577 пациентов. При применении урокиназы отмечались достоверно меньшая частота окклюзии ЦВК по сравнению с гепарином (23 *vs* 31 %), достоверно больший

период до возникновения первого тромбоза ЦВК, меньшая в 1,4 раза частота инфекций и большее время до развития инфекции при использовании туннельных катетеров.[34]

Таким образом, базовыми принципами ухода за ЦВК, по данным современного «Руководства по предотвращению и лечению тромбозов, ассоциированных с центральным венозным катетером, у больных с онкологическими заболеваниями» (2008), считаются следующие.[14]

Профилактика ЦВК-ассоциированного тромбоза

1. Дистальный просвет катетера должен находиться между верхней полой веной и правым предсердием.
2. Первичная профилактика ЦВК-ассоциированного тромбоза антикоагулянтами не рекомендуется у пациентов с онкологическими заболеваниями.

Примечание. Предпочтительным следует считать правостороннюю установку ЦВК. Авторы рекомендаций отмечают, что под термином «примечания» подразумеваются действия, требующие дальнейших подтверждений или опровержений.

Лечение ЦВК-ассоциированного тромбоза

1. Лечение ЦВК-ассоциированного тромбоза основывается на длительном применении низкомолекулярного гепарина.
2. При выраженной почечной недостаточности лечение должно базироваться на применении гепарина с последующим назначением ингибиторов витамина К (в максимально короткие сроки, например на следующий день после окончания терапии гепарином).
3. Сохранение катетера оправдано, если его наличие является необходимым, он функционирует, находится в правильном положении, не инфицирован, при этом наблюдается положительная клиническая картина при мониторировании состояния больного. В этом случае терапию антикоагулянтами следует проводить до тех пор, пока установлен катетер.
4. В случае удаления катетера дальнейшие стандарты терапии антикоагулянтами с точки зрения начала их применения отсутствуют.

Примечания:

- При необходимости установки нового катетера следует оценить состояние верхней полой вены с помощью сканирования или допплеровской эхографии.
- При невозможности продолжения терапии низкомолекулярным гепарином или отказе больного от этого вида лечения необходим короткий перерыв с последующим назначением ингибиторов витамина К.
- Тромболитики могут применяться в определенных дозах при неблагоприятных по прогнозу клинических случаях (синдром верхней полой вены) и при отсутствии каких-либо противопоказаний.
- После удаления ЦВК оптимальная продолжительность терапии антикоагулянтами не определена.

Учитывая доказанную эффективность урокиназы в онкологии, **препарат рекомендуется компанией-производителем (Medac) в следующих ситуациях.**

Применение урокиназы у взрослых с опухолевыми заболеваниями

Для профилактики окклюзии ЦВК у взрослых урокиназа назначается в дозе 25 000 ЕД/5 мл (5000 ЕД/мл) в виде 4-часовой инфузии 3 раза в неделю.

При окклюзии ЦВК необходимо длительное (не менее 3 ч) введение 25 000 ЕД урокиназы (5000 ЕД/мл).

Применение урокиназы у детей с опухолевыми заболеваниями

В случае окклюзии ЦВК у детей для восстановления проходимости необходимо 3-часовое введение урокиназы в ЦВК в дозе 1000 ЕД/кг/ч, но не более 20 000 ЕД, концентрация раствора — 5000 ЕД/мл. В случае окклюзии обоих каналов ЦВК в двухканальном катетере рассчитанную дозу урокиназы делят пополам и вводят в каждый канал. Также возможно создание «замка» раствором урокиназы в концентрации 5000 ЕД/мл, если требуется как можно быстрее достичь восстановления проходимости ЦВК (через час «замок» следует удалить).

Для профилактики развития катетер-ассоциированной инфекции и окклюзии ЦВК возможно введение 5000 ЕД/2 мл урокиназы в течение 4 ч 1 раз в неделю в сочетании с созданием гепаринового «замка» (струйное введение 50 ЕД/5 мл раствора гепарина) 3 раза в неделю.

Противопоказания к применению длительного введения урокиназы

Противопоказаниями являются снижение уровня тромбоцитов менее 20×10^9/л и проведение люмбальной пункции в течение 24 ч до или после предполагаемого введения урокиназы, а также аллергическая реакция на урокиназу.

Восстановления проходимости гемодиализных и инфузионных центральных венозных катетеров с помощью урокиназы

Методика использования урокиназы следующая:

1. Растворить лиофилизат урокиназы в 2 мл 0,9% раствора натрия хлорида так, чтобы концентрация раствора была 2500–5000 МЕ в 1 мл.
2. Приложить шприц к канюле ЦВК и медленно ввести урокиназу.
3. Пациенту разрешается поворачиваться и двигаться, но необходимо наблюдение медицинского персонала.
4. После 2–4 ч аспирировать урокиназу. Не нужно беспокоиться, если не удается удалить урокиназу полностью.
5. Если попытка разблокировать катетер была успешной, кровь должна начать аспирироваться.

Образец крови из катетера должен быть отправлен для бактериологического исследования после удаления урокиназы из катетера.

После восстановления проходимости катетера рекомендуется промыть его 3–5 мл раствора гепарина в физиологическом растворе (10 ЕД гепарина на 1 мл физиологического раствора).

При неудаче в восстановлении прохождения катетера следует повторить процедуру через 4 ч для однопросветного ЦВК или через 24 ч — для двухпросветного.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, **урокиназа может рассматриваться как эффективное фибринолитическое средство** для профилактики катетер-ассоциированных инфекций и ликвидации тромбоза центральных венозных катетеров у пациентов с онкологическими заболеваниями. На настоящий момент применение тромболитиков ограничено достаточно узким спектром показаний.[14] Однако исследования этой группы препаратов в онкологии продолжаются.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Bennett J.A.* A study of Parenteralia, with two unpublished letters of Sir Christopher Wren. Ann. Sci. 1973; 30: 129–47.

2. *Bergman N.A.* Early intravenous anesthesia: an eyewitness account. Anesthesiology 1990; 72: 185–186.

3. *Buess H.* Christopher Wren and the discovery of intravenous injections. Z. Krankenphl. 1973; 66: 274–5.

4. *Major J.D.* Prodromus Inventae a se Chirurgiae Infusoriae. Leipzig, 1664.

5. *Major J. D.* Chirurgia Infusoria. Kiel, 1667.

6. *Elsholtz J.S.* Clysmatica Nova, Sive Ratio, Qua in Venam Sectam Medicamenta Immitti Possint. Berlin, 1667.

7. *Kuter D.J.* Thrombotic Complications of Central Venous Catheters in Cancer Patients. Oncologist 2004; 9: 207–16.

8. *Darouiche R.* Device-associated infections: a macroproblem that starts with microadherence. Clin. Infect. Dis. 2001; 33: 1567–72.

9. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. MMWR Morb. Mortal Wkly Rep. 2002; 51: 1–29.

10. *Hoshal V.L.Jr., Ause R.G., Hoskins P.A.* Fibrin sleeve formation on indwelling subclavian central venous catheters. Arch. Surg. 1971; 102: 253–8.

11. *Balestreri L., De Cicco M., Matovic M.* et al. Central venous catheter-related thrombosis in clinically asymptomatic oncologic patients: a phlebographic study. Eur. J. Radiol. 1995; 20: 108–11.

12. *Raad I., Costerton W., Sabharwal U.* et al. Ultrastructural analysis of indwelling vascular catheters: a quantitative relationship between luminal colonization and duration of placement. J. Infect. Dis. 1993; 168(2): 400–7.

13. *Maki D.G., Weise C.E., Sarafin H.W.* A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. N. Engl. J. Med. 1977; 296: 1305–9.

14. *Debourdeau P., Kassab Chahmi D., Le Gal G.* et al. 2008 SOR guidelines for the prevention and treatment of thrombosis associated with central venous catheters in patients with cancer: report from the working group. Ann. Oncol. 2009; 20: 1459–71.

15. *Gould J.R., Carloss H.W., Skinner W.L.* Groshong catheter-associated subclavian venous thrombosis. Am. J. Med. 1993; 95: 419–23.

16. *Anderson A.J., Krasnow S.H., Boyer M.W.* et al. Thrombosis: the major Hickman catheter complication in patients with solid tumor. Chest 1989; 95: 71–5.

17. *Schwarz R.E., Coit D.G., Groeger J.S.* Transcutaneously tunneled central venous lines in cancer patients: an analysis of device-related morbidity factors based on prospective data collection. Ann. Surg. Oncol. 2000; 7: 441–9.

18. *Press O.W., Ramsey P.G., Larson E.B.* et al. Hickman catheter infections in patients with malignancies. Medicine (Baltimore) 1984; 63(4): 189–200.

19. BCSH guidelines on the insertion and management of central venous lines. Br. J. Haematol. 1997; 98: 1041–7.

20. *Bern M.M., Lokich J.J., Wallach S.R.* et al. Very Low Doses of Warfarin Can Prevent Thrombosis in Central Venous Catheters. Ann. Intern. Med. 1990; 112: 423–8.

21. *Kalmanti M., Germanakis J., Stiakaki E.* et al. Prophylaxis with urokinase in pediatric oncology patients with central venous catheters. Pediatr. Hematol. Oncol. 2002; 19: 173–9.

22. *Savage K.J., Wells P.S., Schulz V.* et al. Outpatient use of low molecular weight heparin (Dalteparin) for the treatment of deep vein thrombosis of the upper extremity. Thromb. Haemost. 1999; 82: 1008–10.

23. *Debourdeau P., Elalamy I., de Raignac A.* et al. Long-term use of daily subcutaneous low-molecular-weight heparin in cancer patients with venous thromboembolism: why hesitate any longer? Supp. Care Cancer 2008; 16: 1333–41.

24. *Hurtubise M.R., Bottino J.C., Lawson M., McCredie K.B.* Restoring Patency of Occluded Central Venous Catheters. Arch. Surg. 1980; 115: 212–3.

25. *Wachs T.* Urokinase administration in pediatric patients with occluded central venous catheters. J. Intraven. Nurs. 1990; 13: 100–2.

26. *Rodenhuis S., van't Hek L.G., Vlasveld L.T.* et al. Central venous catheter associated thrombosis of major veins: thrombolytic treatment with recombinant tissue plasminogen activator. Thorax 1993; 48: 558–9.

27. *Schindler J., Bona R.D., Chen H.H.* et al. Regional thrombolysis with urokinase for central venous catheter-related thrombosis in patients undergoing high-dose chemotherapy with autologous blood stem cell rescue. Clin. Appl. Thromb. Hemost. 1999; 5: 25–9.

28. *Pucheu A., Dierhas M., Leduc B.* et al. Fibrinolyse des thromboses veineuses profondes sur dispositifs de perfusion implantables. A propos d'une serie conse. Consecutive de 57 thromboses et de 32 fibrinolyses. Bull. Cancer 1996; 83: 293–9.

29. *Deitcher S.R., Fraschini G., Himmelfarb J.* et al. Dose-ranging trial with a recombinant urokinase (urokinase alfa) for occluded central venous catheters in oncology patients. J. Vasc. Interv. Radiol. 2004; 15: 575–80.

30. *Molinari A.C., Haupt R., Saracco P.* et al. Urokinase for restoring patency of malfunctioning or blocked central venous catheters in children with hemato-oncological diseases. Supp. Care Cancer 2004; 12(12): 840–3.

31. *van Rooden C.J., Schippers E.F., Guiot H.F.L.* et al. Prevention of Coagulase-Negative Staphylococcal Central Venous Catheter-Related Infection Using Urokinase Rinses: A Randomized Double-Blind Controlled Trial in Patients With Hematologic Malignancies. J. Clin. Oncol. 2008; 26: 428–33.

32. *Simon A., Bode U., Beutel K.* Diagnosis and treatment of catheter-related infections in paediatric oncology: an update. Clin. Microbiol. Infect. 2006; 12: 606–20.

33. *Aquino V.M., Sandler E.S., Mustafa M.M.* et al. A prospective double-blind randomized trial of urokinase flushes to prevent bacteremia resulting from luminal colonization of subcutaneous central venous catheters. J. Pediatr. Hematol. Oncol. 2002; 24: 710–3.

34. *Dillon P.W., Jones G.R., Bagnall-Reeb H.A.* et al. Prophylactic Urokinase in the Management of Long-Term Venous Access Devices in Children: A Children's Oncology Group Study. J. Clin. Oncol. 2004; 22: 2718–23.

Благодарности

Автор благодарит компанию Medac за информационную поддержку.

Волосатоклеточный лейкоз с массивным увеличением лимфоузлов

Л.С. Аль-Ради, О.В. Марголин, С.К. Кравченко, А.М. Кременецкая, Н.В. Гайдамака, А.Н. Соколов, В.Г. Исаев, Е.Н. Устинова

Р Е Ф Е Р А Т

Увеличение лимфоузлов является наиболее частым из атипических проявлений волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ), выявляемым в 10–25% случаев, преимущественно в абдоминальной области. В то же время лимфаденопатия при ВКЛ очень редко бывает значительной. В настоящей работе приведено описание случая ВКЛ у молодой пациентки 29 лет с массивным увеличением абдоминальных лимфоузлов. Стандартная терапия интерфероном-α и кладрибином позволила достичь полной ремиссии с исчезновением лимфаденопатии. Тем не менее продолжительность ремиссии оказалась короткой — 2,5 года, и в рецидиве вновь было выявлено увеличение абдоминальных лимфоузлов.

Ключевые слова

волосатоклеточный лейкоз, лимфоузлы, молодой возраст.

Hairy cell leukemia with massive lymph node enlargement

L.S. Al-Radi, O.V. Margolin, S.K. Kravchenko, A.M. Kremenetskaja, N.V. Gaidamaka, A.N. Sokolov, V.G. Isaev, E.N. Ustinova

SUMMARY

Lymphadenopathy is the most common unusual clinical manifestation which may be encountered in 10–25% of patients with hairy cell leukemia (HCL), mostly in the abdomen. However, massive lymphadenopathy is rather rare. The present paper presents a case of HCL in a young woman 29 years old with massive abdominal lymph node enlargement. The standard therapy by interferon-α followed cladribine led to complete remission with full resorption of the enlarged lymph nodes. At the same time the remission was quite short — only 2.5 years, and in the time of relapse lymph node enlargement also occured.

Keywords:

hairy cell leukemia, lymph nodes, young age.

Hematological Research Center RAMS, Moscow

Контакты: lalradi@gmail.com

Принято в печать: 18 сентября 2009 г.

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, классическим проявлением волосатоклеточного лейкоза (ВКЛ) является изолированное увеличение селезенки без увеличения лимфоузлов, что до некоторой степени служит одним из дифференциально-диагностических признаков этого заболевания. Увеличение лимфоузлов изредка встречается при ВКЛ, тем не менее лимфаденопатия очень редко бывает значительной, и почти всегда это увеличение касается не периферических, а внутри- и забрюшинных групп лимфоузлов в воротах печени и селезенки. Однако с распространением применения компьютерной томографии в рутинной диагностике увеличение абдоминальных лимфоузлов при этом заболевании стали выявлять примерно в 25 % случаев.[1,2] Таким образом, вовлечение абдоминальных (гораздо реже — медиастинальных) лимфоузлов — наиболее частое нетипичное проявление ВКЛ. Так, среди необычных проявлений заболевания у 11 пациентов, опубликованных B. Bouroncle (автор первого описания ВКЛ в качестве отдельной нозологии) с соавторами в 1987 г., наиболее частым атипичным проявлением ВКЛ было поражение лимфоузлов (абдоминальных, медиастинальных и паравертебральных), изредка достигающих степени «bulky-disease».[3] D. Hakimian и соавт. выявили увеличение висцеральных лимфоузлов у 6 (14 %) из 43 пациентов, при этом ни у кого из 19 больных с впервые диагностированным ВКЛ лимфаденопатия не была обнаружена.[1] Авторы сделали вывод, что лимфаденопатия, вероятно, развивается на более поздних стадиях заболевания. Известен ряд публикаций из клиники проф. D. Catovsky о частоте встречаемости и результатах лечения ВКЛ с абдоминальной лимфаденопатией.[2,4,5] Авторы обнаружили увеличение абдоминальных лимфоузлов у 25 (28 %) из 88 пациентов, чаще в рецидиве, чем в дебюте заболевания (56 и 17 % соответственно). Связи возникновения лимфаденопатии с возрастом и полом пациентов выявлено не было, однако была отмечена зависимость от длительности заболевания и выраженности спленомегалии. Также было показано, что вовлечение лимфоузлов чаще встречалось при вариантной форме ВКЛ и что терапия препаратами интерферона-α и аналогами пуринов у этих пациентов была менее эффективной.

Гематологический научный центр РАМН, Москва

В результате наблюдения за более чем 200 больными ВКЛ мы выявили увеличение лимфоузлов лишь у 30 (15 %) больных, причем только у двух отмечалось незначительное увеличение периферических (шейных и подмышечных) лимфоузлов до 15 мм, у остальных пациентов были увеличены абдоминальные лимфоузлы. Увеличенные лимфоузлы были расположены в воротах селезенки, печени, в малом сальнике, и у 28 (93 %) больных их размер был небольшим (10–32 мм, медиана 19 мм). Лишь у 2 пациентов мы наблюдали значительно увеличенные лимфоузлы, сливающиеся в крупные конгломераты. Оказалось, что в нашей популяции больных лимфаденопатия гораздо чаще встречалась как при вариантной форме ВКЛ (33 %), так и при возникновении заболевания в молодом возрасте (32 % вне зависимости от формы болезни), при типичной же форме ВКЛ увеличение лимфоузлов было редким — 9 % случаев. В 27 (90 %) случаях увеличение лимфоузлов наблюдалось у больных сразу же при установлении диагноза, и только у 3 (10 %) больных лимфаденопатия развилась в рецидиве болезни. Мы в своем исследовании так же, как другие авторы,[2,4,5] чаще выявляли случаи лимфаденопатии при выраженном увеличении селезенки. Снижения эффекта терапии препаратами интерферона-α и аналогами пуринов мы не отметили.

Изученные к настоящему времени признаки позволяют отнести «волосатые клетки» к В-лимфоцитам, активированным Т-независимым путем. Предполагается, что эти клетки могут быть опухолевым пулом, возникшим вследствие отмены неизвестным онкогенным событием дальнейшей дифференцировки В-клеток и блокировки Т-зависимой клеточной активации.[6] С большой степенью вероятности онкогенная трансформация В-лимфоцитов при этом лейкозе связана с блокадой межклеточных взаимодействий и сигналов к дальнейшей дифференцировке. Прогресс в изучении этих проблем позволяет надеяться на скорое выяснение ключевых событий в трансформации активированных В-лимфоцитов в опухолевые «волосатых клеток», а молекулярные исследования позволят уточнить характер лежащих в ее основе генетических механизмов.

Причины, приводящие к вовлечению в опухолевый процесс лимфоузлов в отдельных случаях ВКЛ, пока точно не выяснены. Несомненно, многие, если не все, особенности патогенеза и течения ВКЛ связаны с отдельными биологическими характеристиками опухолевых «волосатых клеток». К настоящему времени установлено, что «волосатые клетки» являются аномальным клоном резко активированных зрелых В-лимфоцитов, достигших поздней стадии созревания.[7,8] Эта активация, по-видимому, определяет большинство специфических особенностей «волосатых клеток» и проявлений ВКЛ, т. к. сопровождается появлением у этих клеток специфического профиля рецепторов адгезии, ответственных, вероятно, за характерную для ВКЛ лимфоидную инфильтрацию красной пульпы селезенки и печеночных синусов.[9] В то же время ранние стадии реализации лимфоидными клетками «инстинкта дома» связаны с рецепторами семейства селектинов, при этом L-селектин — наиболее важный на начальных этапах миграции лимфоцитов в лимфоузлы — утрачен «волосатыми клетками», что, вероятно, служит одной из причин отсутствия лимфаденопатии в большинстве случаев ВКЛ.[13] Возможно, варианты ВКЛ, протекающего с увеличением лимфоузлов (особенно при развитии лимфаденопатии в дебюте болезни, при исходной массивной лимфаденопатии, при вовлечении периферических и медиастинальных лимфоузлов), могут быть связаны с сохранением в ряде случаев на поверхности «волосатых клеток» субстанций, способствующих миграции лимфоцитов в лимфоузлы. С другой стороны, поражение преимущественно абдоминальных лимфоузлов в области ворот селезенки при длительно существующем или прогрессирующем заболевании может быть следствием миграции лимфоцитов из пораженной селезенки в регионарные лимфоузлы. Приводим описание ВКЛ с выраженной лимфаденопатией у молодой больной.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

У пациентки П. М. А., 29 лет, на ранних сроках второй беременности возникли слабость, головокружения, носовые кровотечения. В крови отмечалась анемия и тромбоцитопения, в связи с чем больная получала заместительную гемотрансфузионную терапию и препараты железа. На сроке беременности 35 нед. в связи с глубокой панцитопенией (уровень гемоглобина 50 г/л, тромбоциты 40×10^9/л, лейкоциты $3{,}0 \times 10^9$/л) пациентке было выполнено кесарево сечение, родился здоровый ребенок (масса тела 1,9 кг, рост 43 см). С подозрением на острый лейкоз больная была переведена в клинику ГНЦ РАМН в тяжелом состоянии с панцитопенией и двусторонней нижнедолевой пневмонией. При обследовании выявлены абсолютный лимфоцитоз и гигантская спленомегалия с абдоминальной лимфаденопатией. Лимфоциты в гемограмме составляли 90 %, из них 25 % характеризовались как крупные лимфоциты округлой формы с неровными контурами светло-серой цитоплазмы и слабовыраженными ворсинками, со стертой неплотной структурой хроматина, отсутствием перинуклеарного просветления. При цитохимическом исследовании на тартрат-устойчивую кислую фосфатазу (TRAP) обнаружено 26 % клеток TRAP+. Иммунофенотипирование лимфоцитов костного мозга выявило В-лимфоциты, клональные по легкой λ-цепи, несущие маркеры ВКЛ (CD103+, CD11c+, CD25+). В миелограмме определялся лимфоцитоз до 70 %, при этом до 40 % лимфоидных клеток составляли ворсинчатые клетки со стертой структурой ядра и обрывчатым краем цитоплазмы. В трепанобиоптате основную массу миелокариоцитов составляли диффузно расположенные лимфоидные клетки небольшого размера с маркерами CD20+, CD45RA+, CD79a+, DBA44+, CD25+, CD68+, CD23–, CD5–. Увеличенная селезенка занимала всю брюшную полость, ее размер по УЗИ превышал 300 × 120 мм. Помимо этого визуализировались сливающиеся в общую массу конгломераты внутрибрюшных и забрюшинных лимфоузлов в области ворот печени, малого сальника, мезентериальных сосудов, вокруг аорты и нижней полой вены с переходом на подвздошные области, общим размером более 120 × 70 мм (рис. 1).

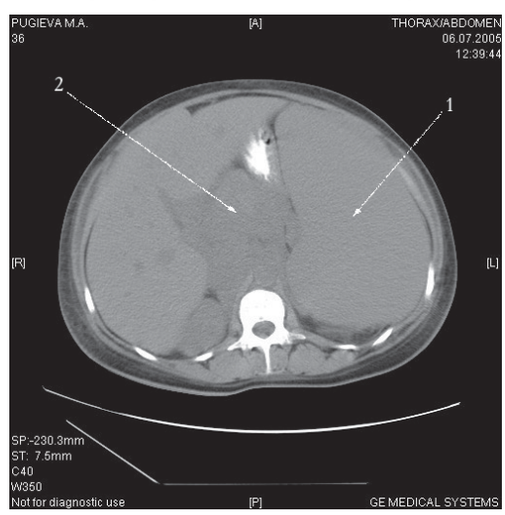


Рис. 1. Спленомегалия и массивная лимфаденопатия у больной волосатоклеточным лейкозом:
1 — увеличенная селезенка; *2* — конгломерат лимфоузлов

ЛИТЕРАТУРА

1. *Hakimian D., Tallman M., Hogan D.* et al. Prospective evaluation of internal adenopathy in a cohort of 43 patients with hairy cell leukemia. J. Clin. Oncol. 1994; 12: 268–72.

2. *Mercieca J., Matutes E., Moskovic E.* et al. Massive abdominal lymphadenopathy in hairy cell leukaemia: A report of 12 cases. Br. J. Haematol. 1992; 82: 547.

3. *Bouroncle B.* Unusual presentations and complications of hairy cell leukemia. Leukemia 1987; 1(4): 288–93.

4. *Mercieca J., Puga M., Matutes E.* et al. Incidence and significance of abdominal lymphadenopathy in hairy cell leukaemia. Leuk. Lymph. 1994; 14(Suppl. 1): 79–83.

5. *Mercieca J., Matutes E., Emmett E.* et al. 2-Chlorodeoxyadenosine in the treatment of hairy cell leukaemia: differences in response in patients with and without abdominal lymphadenopathy. Br. J. Haematol. 1996; 93: 409–11.

6. *Burthem J., Zuzel M., Cawley J.* What is the nature of the hairy cell and why should we be interested? Br. J. Haematol. 1997; 97: 511–4.

7. *Burns G., Cawley J., Worman C.* et al. Multiple heavy change isotypes on the surface of the cells of hairy cell leukemia. Blood 1978; 52: 1132–6.

8. *Kluin-Nelemans H., Krouwels M., Jansen J.* et al. Hairy cell leukemia preferentially expresses the IgG3-subclass. Blood 1990; 75: 972–5.

9. *Burthem J., Baker P., Hunt J., Cawley J.* Hairy cell interactions with extracellular matrix: expression of specific integrin receptors and their role in the cell's response to specific adhesive proteins. Blood 1994; 84: 873–82.

10. *Cordingley F., Bianchi A., Hoffbrand A.* et al. Tumour necrosis factor as an autocrine growth factor for chronic B-cell malignancies. Lancet 1988; 1: 969–71.

11. *Curlos T., Schwartz B., Kovach N.* et al. Vascular cell adhesion molecule 1 mediates lymphocyte adherence to cytokine activated cultured human endothelial cells. Blood 1990; 76: 965–70.

12. *Vincent A., Burthem J., Brew R., Cawley J.* Endothelial interactions of hairy cells; the importance of $\alpha 4\beta 1$ in the unusual tissue distribution of hairy cell leukemia. Blood 1996; 88: 3945–52.

13. *Girard J., Springer T.* High endothelial venules (HEVs): specialized endothelium for lymphocyte migration. Immunology 1995; 16: 449–57.

Специфическое поражение костей с гиперкальциемией при хроническом лимфолейкозе

М.А. Волкова, Н.А. Фалалеева, Т.Е. Бялик, Е.А. Османов, В.Б. Ларионова, И.А. Курмуков, Ш.Р. Кашия, О.П. Трофимова, М.А. Френкель, Н.Н. Тупицын, А.М. Ковригина

Р Е Ф Е Р А Т

В работе приводится описание больной, у которой в возрасте 32 лет установлен хронический лимфолейкоз (ХЛЛ), а через 7 лет спокойного течения заболевания развилось специфическое поражение с переломом плечевой кости и гиперкальциемией. Излагаются данные литературы о частоте и возможных причинах специфического поражения костей при ХЛЛ.

Ключевые слова

хронический лимфолейкоз, гиперкальциемия, специфическое поражение костей.

Specific bone lesions and hypercalcemia in chronic lymphocytic leukemia

M.A. Volkova, N.A. Falaleeva, T.E. Bialik, E.A. Osmanov, V.B. Larionova, I.A. Kurmucov, Sh.P. Kashia, O.P. Trofimova, M.A. Frenkel, N.N. Tupitsyn, A.M. Kovrigina

SUMMARY

This paper reports a rare case of CLL with hypercalcemia and osteolytic humerus lesion in a 39 years old patient who suffered from benign CLL during 7 years. A brief review of the literature with description of possible etiologic mechanisms responsible for these complications is presented.

Keywords:

chronic lymphocytic leukemia, hypocalcaemia, specific bone lesions.

N.N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, Moscow

Контакты: volkova@orc.ru

Принято в печать: 13 сентября 2009 г.

ВВЕДЕНИЕ

Поражение костей с развитием гиперкальциемии, являющееся нередким осложнением при множественной миеломе, в качестве отдельных наблюдений описано при лимфоме Ходжкина, злокачественных неходжкинских лимфомах и хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ), при котором оно встречается наиболее редко. Так, S.A. Rosenberg и соавт. в обзоре, касающемся 1269 случаев неходжкинской лимфомы, указывают, что специфическое очаговое поражение костей отмечалось в 1–9 % наблюдений при различных вариантах лимфомы, а при ХЛЛ — менее чем в 1 % случаев.[1] Из проанализированных M. Vaturi и соавт. данных 1200 больных ХЛЛ только у 7 были обнаружены гиперкальциемия и специфическое поражение костей.[2] В опубликованной в 2006 г. работе S. Ailawadhi и соавт. указывают, что до сих пор при ХЛЛ всего описано не более 30 случаев поражения костей и гиперкальциемии.[3]

В начале заболевания поражение костей при ХЛЛ встречается как казуистическая редкость,[4] в поздних стадиях, по данным M.M. Hansen, длительно наблюдавшего течение болезни у 189 больных ХЛЛ и проанализировавшего имеющиеся публикации, оно составляет в разных сериях наблюдений от 3 до 18 %.[5] В некоторых из описанных случаев одновременно с появлением симптомов поражения костей отмечалось значительное увеличение одного или нескольких лимфоузлов, морфологическое исследование которых выявило развитие синдрома Рихтера,[6,7] в других — признаков такой трансформации не было и при гистологическом исследовании остеолитического очага обнаруживалась только инфильтрация зрелыми лимфоцитами.[8]

Как следует из опубликованных данных, во всех наблюдениях пациенты жаловались на локальную интенсивную боль, а при рентгенологическом исследовании обнаруживались очаговые остеолитические поражения костей.[9] Иногда специфическое поражение костей является причиной переломов, чаще всего — длинных трубчатых или костей таза,[10] как единичное наблюдение описано поражение нижней челюсти с ее двусторонним переломом.[11]

Во всех известных нам публикациях сообщается об одном, максимум двух случаях, которыми ограничен опыт авторов, а в большинстве руководств об этом осложнении ХЛЛ даже не упоминается. Длительно изучая более 300 больных ХЛЛ, мы располагаем лишь одним наблюдением поражения костей с гиперкальциемией.

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Больная Б. Н. И. Диагноз ХЛЛ, подтвержденный иммунологическим исследованием биопсированного лимфоузла, а позже — и костномозгового пунктата, установлен в 1999 г. в возрасте 32 лет. Отмечалась генерализованная лимфаденопатия, размер периферических лимфоузлов составлял 3–4 см в диаметре, внутригрудные лимфоузлы по данным УЗИ не были увеличены, размер забрюшинных лимфоузлов — от 2 до 6 см в диаметре. Печень не пальпировалась, селезенка выступала из-под края реберной дуги на 2 см. В картине крови при нормальных показателях уровня гемоглобина, числа эритроцитов и тромбоцитов имелся незначительный лейкоцитоз ($12–13 \times 10^9$/л) с умеренным лимфоцитозом (47–68 % лимфоцитов), в костномозговом пунктате при нормальной клеточности (126×10^9/л) лимфоциты составляли 59,6 %. В трепанате подвздошной кости интерстициально и в виде очажков определялись мелкие лимфоидные клетки. При иммунофенотипировании костномозгового пунктата клетки с иммунофенотипом CD19+ CD5+ составляли 63,5 %, определялась экспрессия CD20, антиген CD38 экспрессировался на 65,9 % лимфоцитов.

С 1999 г. по май 2004 г. больная периодически получала лечение лейкераном: курсы по 10 мг в день, 50 мг в неделю до суммарной дозы 500 мг, всего за это время получила 5 таких курсов с интервалами 8–12 мес. Лечение давало сдерживающий эффект: размер лимфоузлов оставался незначительно увеличенным, селезенка пальпировалась в глубине подреберья, внутригрудные и забрюшинные лимфоузлы по данным УЗИ не превышали 2–3 см в диаметре, уровень гемоглобина и число тромбоцитов оставались нормальными, нормализовалось число лейкоцитов ($6–7 \times 10^9$/л), но оставался умеренный лимфоцитоз — в гемограмме 50–55 % лимфоцитов. В миелограмме количество лимфоцитов (июль 2002 г.) составляло 52 %. До мая 2004 г. состояние больной оставалось удовлетворительным. В мае 2004 г. отметила увеличение периферических лимфоузлов, при исследовании крови обнаружено увеличение количества лейкоцитов до 41×10^9/л и лимфоцитов до 91 %. Получила 2 курса лечения по схеме COP без отчетливого эффекта, после чего была назначена терапия сочетанием флударабина и циклофосфана (схема FC). С начала 2005 г. по апрель 2006 г. получила 6 циклов FC с вынужденными большими перерывами из-за развития генерализованного фурункулеза после 3-го курса терапии. Отмечалось сокращение размера лимфоузлов, лейкопения после каждого курса при нормальном количестве эритроцитов и тромбоцитов. В мае 2006 г. вновь стали увеличиваться лимфоузлы, особенно шейные, и появилась боль в области правого плеча. В июне 2006 г. обратилась в РОНЦ РАМН им. Н. Н. Блохина.

При осмотре отмечалось увеличение шейных лимфоузлов с образованием конгломератов до 5–7 см в диаметре, селезенка выступала из-под реберной дуги на 2 см, печень не пальпировалась. Движения в правой руке резко ограничены из-за боли в плече. В анализе крови: гемоглобин — 129 г/л, тромбоциты — 83×10^9/л, лейкоциты — $5{,}5 \times 10^9$/л, лимфоциты — 41 %. В миелограмме при нормальной клеточности 26 % лимфоцитов. В трепанобиоптате картина мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы/ХЛЛ. При рентгенологическом исследовании правой руки в нижней половине диафиза обнаружена зона мелкоячеистой литической деструкции с истончением, вздутием и разрушением коркового слоя и патологическим переломом плечевой кости (рис. 1). В других отделах признаков деструкции не выявлено. При радионуклидном исследовании обнаружено повышенное накопление радиофармпрепарата в области правого плечевого сустава, правой лопатки, правой плечевой кости. В других местах накопления препарата нет.

Рис. 1. Рентгенограмма правой плечевой кости. Специфическое поражение

В связи с ухудшением состояния, появлением тошноты, рвоты и нарастанием слабости больная госпитализирована в отделение химиотерапии гемобластозов РОНЦ. При биохимическом исследовании крови установлено увеличение уровня креатинина до 181 мкмоль/л (норма — до 115 мкмоль/л) и кальция до 4,08 ммоль/л (норма — 2–2,6 ммоль/л). Больная получала дезинтоксикационную терапию и преднизолон, однократно было введено 4 мг зометы. Лечение быстро привело к нормализации уровня кальция в крови и улучшению общего состояния пациентки, после чего в связи с предполагаемым развитием синдрома Рихтера была выполнена биопсия плечевой кости и биопсия шейного лимфатического узла. При морфологическом и иммуногистохимическом исследованиях материала, полученного при обеих биопсиях, обнаружена картина, полностью соответствующая субстрату В-ХЛЛ, без признаков развития крупноклеточной лимфомы.

Проведено лечение мабтерой в сочетании с препаратами схемы CHOP: мабтера — 700 мг, доксорубицин — 90 мг, циклофосфан — 1400 мг, винкристин — 2 мг, преднизолон — по 50 мг 5 дней. В период цитостатической панцитопении после проведенного курса у больной развился грибковый язвенный мукозит, сопровождавшийся лихорадкой, отмечались проявления геморрагического диатеза — мелко- и крупноточечные кровоизлияния на коже туловища и нижних конечностей. Больная получала антибиотики, противогрибковые препараты, проводилась заместительная терапия (переливания эритроцитной массы, концентрата тромбоцитов). Через месяц после поступления вновь отмечено нарастание уровня кальция в крови до 3,1 ммоль/л, в связи с чем опять введено 4 мг зометы. С 24.08. по 8.09.2006 г. больная получала лучевую терапию на правое плечо. Суммарная очаговая

доза на область костной деструкции составила 34 Гр. После окончания лучевой терапии вновь отмечено увеличение уровня кальция до 3,12 ммоль/л, в связи с чем введено 6 мг бондроната.

Несмотря на проводимое лечение, состояние больной прогрессивно ухудшалось, отмечалась почти постоянная лихорадка, резкая слабость, боль в правом плече. Сохранялась панцитопения, нарастала гипопротеинемия и гипоальбуминемия. Исследование костномозгового пунктата 6.10.2006 г. показало следующее: костный мозг клеточный, 96,6 % составляют лимфоидные элементы, из которых 28,6 % — пролимфоциты и 68 % — лимфоциты, гранулоцитарный, эритроидный и тромбоцитарный ростки резко угнетены, их элементы — единичные в препарате.

Несмотря на активную заместительную, антибиотическую и противогрибковую терапию, 29.10.2006 г. больная скончалась. Родственники не дали разрешения на аутопсию.

ОБСУЖДЕНИЕ

Клиническая картина заболевания в нашем наблюдении сходна с имеющимися описаниями. Как и в большинстве опубликованных случаев, у нашей больной не было признаков развития диффузной крупноклеточной лимфомы (синдром Рихтера), несмотря на быстрое увеличение лимфоузлов и специфическое поражение кости с образованием перелома. Отличием является редкое, встречающееся не более чем у 10 % больных ХЛЛ, нарастание числа пролимфоцитов в терминальной стадии болезни. Нам удалось найти лишь одно описание прогрессирующего увеличения числа пролимфоцитов при ХЛЛ с одновременным развитием гиперкальциемии, послужившей причиной летального исхода. Проведенная аутопсия не выявила опухоли паращитовидных желез или наличия другой патологии, с которой можно было бы связать развитие гиперкальциемии.[12] Следует подчеркнуть, что увеличение количества пролимфоцитов при ХЛЛ необязательно демонстрирует переход в терминальную стадию, поскольку может быть преходящим и исчезать при успешной терапии.[13,14]

Поражение костей при ХЛЛ и индолентных лимфомах также необязательно знаменует терминальную стадию болезни, имеются наблюдения, когда после успешной терапии больные в течение длительного времени оставались в удовлетворительном состоянии и вели активный образ жизни.[15]

Существуют различные предположения о причинах развития поражения костей и гиперкальциемии при ХЛЛ. Во всех описанных наблюдениях вокруг очагов лимфоидной инфильтрации в костной ткани обнаруживалось большое количество остеокластов, свидетельствующее об активном процессе разрушения кости. Еще в 1988 г. в журнале «Cancer» была опубликована работа C. Marcelli и соавт., изучавших состояние костной ткани у больных с В-клеточными опухолями, исключая множественную миелому. Авторы изучили данные у 8 больных ХЛЛ, 3 — волосатоклеточным лейкозом (ВКЛ) и 7 — с болезнью Вальденстрема (БВ). Исследование проводилось вскоре после установления диагноза, никто из них ранее не получал лечения. Ни у кого из обследованных больных не было каких-либо жалоб на боль в костях, так же как клинически или рентгенологически доказанного поражения костей и каких-либо метаболических нарушений, позволяющих заподозрить наличие такого поражения. Морфологический анализ, тем не менее, показал, что у 12 из 18 больных, в т.ч. у 6 из 8 больных ХЛЛ, у 4 из 7 больных БВ и у всех 3 больных ВКЛ, имелись признаки повышенной резорбции кости. Эти очаги рассасывания кости, однако, не были полностью аналогичны наблюдаемым у пациентов с множественной миеломой. В то время как при множественной миеломе вокруг очагов разрушения кости всегда имеется большое количество крупных многоядерных остеокластов, при всех анализируемых в данной работе заболеваниях остеокласты были мелкими и одноядерными. Изучение соотношения резорбции кости и ее активного восстановления показало, что повышенное образование остеоида, как это бывает у здоровых лиц при костных травмах, наблюдалось только у 2 (14 %) больных.[16]

Причины поражения костей при ХЛЛ остаются не вполне ясными. Поскольку в некоторых случаях у больных с такими поражениями на секции обнаруживают опухоли паращитовидных желез, высказываются предположения, что гиперпаратиреоидизм является причиной разрушения костной ткани даже при отсутствии анатомических изменений в паращитовидных железах, поскольку опухолевые клетки могут продуцировать гормон, аналогичный гормону паращитовидных желез.[17] Однако проведенные исследования показали, что этот механизм, действительно наблюдаемый при некоторых солидных опухолях, не является сколько-нибудь значимым при ХЛЛ.

Работами последних лет установлено, что основная роль в остеогенезе принадлежит системе цитокинов RANK/RANKL/OPG, относящихся к суперсемейству рецепторов фактора некроза опухоли.[18] RANK — рецептор-активатор нуклеарного фактора каппа В (NF-κB) является трансмембранным гликопротеидом, имеющим в своем составе 616 аминокислот, он локализуется на гемопоэтических клетках (дендритных клетках и циркулирующих моноцитах) и считается важнейшим цитокином, контролирующим метаболизм кальция, остеокластогенез и активацию остеокластов. Экспрессия RANK обнаружена также на опухолевых клетках при опухолях, часто метастазирующих в кости, — раке молочной железы и простаты. Ген, кодирующий образование RANK, локализован на хромосоме 18. RANKL — лиганд RANK, это белок, продуцируемый остеобластами, клетками стромы костей, В-лимфоцитами, активированными Т-лимфоцитами, мегакариоцитами. Он стимулирует резорбцию остеоцитов. В 1997 г. независимо в двух лабораториях было показано, что остеобласты, стромальные костные клетки и Т-лимфоциты продуцируют специфический гликопротеид, который стимулирует соединение RANKL с RANK. Был установлен кодирующий его ген, локализующийся на хромосоме 8. Этот гликопротеид блокирует дифференцировку остеокластов из их предшественников, предотвращая тем самым остеопороз, что было показано на мышах с удаленными яичниками. В одной из лабораторий он был назван OSIF — остеокластогенез — ингибирующий фактор,[19] в другой OPG — остеопротегерин (протектирующий остеогенез).[20] Именно это название стало общеупотребительным.

В регуляции функционирования указанной выше системы участвуют многие цитокины (интерлейкины 1 и 11, фактор некроза опухоли α), а также паратиреоидные гормоны, витамин D, простагландин E2.[21] Активное изучение этой системы, ведущееся в последние годы, показало, что причиной ряда известных костных заболеваний (болезнь Педжета, системный ранний остеопетроз, наследственный остеолизис, наследственная гиперфосфатазия) являются мутации генов, ведущие к нарушению передачи сигналов, обеспечивающих нормальное функционирование процессов образования и разрушения кости.[22,23] Весьма вероятно, что причиной остеолизиса при ХЛЛ также служат мутации генов, ответственных за функционирование системы костеобразования и разрушения. Это предположение согласуется с увеличением частоты остеолизиса при ХЛЛ в поздних стадиях заболевания и при развитии синдрома Рихтера.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Rosenberg S.A., Diamond H.D., Jaslowitz B., Craver L.F.* Lymphosarcoma: a review of 1269 cases. Medicine 1961; 40: 31–84.

2. *Vaturi M., Prokocimer M., Sidi Y.* Hypercalcemia in chronic lymphatic leukemia patients. Am. J. Hematol. 1996; 53: 245–7.

3. *Ailawadhi S., Baddoura F.K., Haumesser J.C.* et al. Hypercalcemia and osteolytic bone lesions in B-cell chronic lymphocytic leukemia. A case report. Clin. Leuk. 2006; 1(1): 57–60.

4. *McMillan P., Mundy G.* Hypercalcaemia and osteolytic bone lesions in chronic lymphocytic leukemia. Br. Med. J. 1980; 281: 1107.

5. *Hansen M.M.* Chronic lymphocytic leukemia. Clinical studies based on 189 cases followed for a long time. Scand. J. Haematol. 1973; 18(Suppl.): 1–286.

6. *Larberboym M., Kim Chun, Wisch N.* Richter's syndrome Findings on Ga-67 and Bone Marrow Imaging. Clin. Nucl. Med. 1996; 21(4): 319–20.

7. *Briones G., Cervantes E., Monserrat E., Rozman C.* Hypercalcaemia in a patient with chronic lymphocytic leukemia evolving into Richter's syndrome. Leuk. Lymph. 1996; 21(5–6): 521–3.

8. *Prescott L.F., Critchley J.A.J.H., Balali-Mood M.* Hypercalcaemia and osteolytic bone lesions in chronic lymphocytic leukemia. Br. Med. J. 1980; 281: 1107.

9. *Van der Castelle M., Verhoef G.E., Demuwink H., Zachee P., Boogqerts M.A.* Hypercalcemia, monoclonal protein, and osteolytic bone lesions in chronic lymphocytic leukemia. Ann. Hematol. 1994; 69(2): 79–80.

10. *Littlewood T.J., Lydon A.P.M., Barton C.J.* Hypercalcaemia and osteolytic lesions associated with chronic lymphocytic leukemia — CLL. J. Clin. Pathol. 1990; 43: 877.

11. *Wright G.W., Wiesenfeld D., Seymour J.F.* Bilateral fracture of the mandible in chronic lymphocitic leukemia. Case report. Austral. Dent. J. 2008; 42: 20–4.

12. *Lerner D., Esteves S., de Olivera M.S.* B-CLL in PLL transformation associated with hypercalcemia. Leuk. Lymph. 1994; 12: 321–5.

13. *Matutes E., Brito-Babapulle V., Yullie M.R.* et al. Prolymphocytic Leukemia of B- and T-Cell Types. In: Chronic Lymphoid Leukemias. Basel: Marcel Dekker, 2001; 525–41.

14. *Potel D., Rai K.R.* Chronic lymphocytic Leukemia. In: Hematology, Basic Principles and Practice. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2005; 1437–54.

15. *Prescott L.F., Critchley J.A.J.H., Balali-Mood M.* Hypercalcaemia and osteolytic bone lesions in chronic lymphocytic leukemia. Br. Med. J. 1980; 281: 1107.

16. *Marcelli Ch., Chappard D., Rossi J.-F.* et al. Histologic evidence of an abnormal bone remodeling in B-cell malignancies other than multiple myeloma. Cancer 1988; 62: 1163–70.

17. *Chin Wang J., Steier W., Kyaw Aung M., Tobin M.S.* Primary hyperparathyroidism and chronic lymphocytic leukemia. Cancer 1978; 42: 1964–9.

18. *Wright H.I., McCarty H.S., Middleton J., Marshall M.J.* Rank, Rankl and osteoprotegerin in bone biology and disease. Curr. Rev. Musculoskelet. Med. 2009; 2: 56–64.

19. *Tsuda E., Goto M., Mochizuki S.I.* et al. Isolation of novel cytocine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1997; 234: 137–42.

20. *Simonet W.S., Lacey D.L., Dunstan C.R.* et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. Cell 1997; 89(21): 159–61.

21. *Wada T., Nakashima T., Hiroshi N., Penninger J.M.* RANKL-RANK signaling in osteoklastogenesis and bone disease. TRENDS Mol. Med. 2006; 12: 17–25.

22. *Whyte M.P., Huhges A.E.* Expansive skeletal hyperphosphatasia is caused by a 15-base pair tandem duplication in TNFRSF11A encoding RANK and is allelic to familial expansile osteolysis. J. Bone Min. Res. 2002; 17: 26–9.

23. *Sobacchi C., Frattini A., Guerrini M.M.* et al. Osteoclast-poor human osteopetrosis due to mutations in the gene encoding RANKL. Nat. Genet. 2007; 39: 960–2.

Развитие хронического лимфолейкоза у пациента с синдромом Сезари. Клиническое наблюдение

Н.В. Ильин [1], *Е.Н. Николаева* [2], *Ю.Н. Виноградова* [1], *А.В. Карташев* [1], *Е.Е. Леенман* [1]

Р Е Ф Е Р А Т

Синдром Сезари (лейкозная форма грибовидного микоза) является Т-клеточной лимфомой кожи и характеризуется эритродермией, лимфаденопатией и наличием опухолевых Т-клеток (клеток Сезари) в коже и периферической крови. Частота развития при первичных лимфомах кожи неоплазий других лимфоидных линий недостаточно изучена, возникновение синдрома Сезари и хронического лимфолейкоза у одного больного встречается редко. В статье приведено клиническое наблюдение сочетания синдрома Сезари и развившегося через 8 лет после его диагностики хронического лимфолейкоза.

Ключевые слова

синдром Сезари, электронный пучок, хронический лимфолейкоз.

The development of chronic lymphocytic leukemia in patient with Sezary syndrome. A case report

N.V.Ilyin [1], *E.N. Nikolaeva* [2], *J.N. Vinogradova* [1], *A.V.Kartashof* [1], *E.E. Leenman* [1]

SUMMARY

Sezary syndrome is T-cell lymphoma which is characterized by erythroderma, generalize lymphadenopathy and the presence of neoplastic T-cells (Sezary cells) in skin, peripheral blood and lymph nodes. This article presents a case report of Sezary syndrome in combination with chronic lymphocytic leukemia.

Keywords:

Sezary syndrome, electron beam, chronic lymphocytic leukemia.

[1] Russian Scientific Center for Radiology and Surgical Technologies, St-Petersburg

[2] Saint-Petersburg Medical Academy of Postgraduate Studies, St-Petersburg

Контакты: crirr@peterlink.ru

Принято в печать: 14 сентября 2009 г.

ВВЕДЕНИЕ

Синдром Сезари (лейкозная форма грибовидного микоза) является Т-клеточной лимфомой кожи и характеризуется эритродермией, лимфаденопатией и наличием опухолевых Т-клеток (клеток Сезари) в коже и периферической крови.[1] Клинически проявляется эритродермией с генерализованным кожным зудом, увеличением периферических лимфатических узлов, наличием ладонно-подошвенного гиперкератоза и ониходистрофии. Предложены следующие критерии для диагностики синдрома Сезари (для подтверждения диагноза необходимо наличие одного или более критериев): абсолютное количество клеток Сезари в периферической крови не менее 1000/мкл; наличие расширенной CD4+ Т-клеточной популяции, приводящее к увеличению соотношения CD4/CD8 более чем в 10 раз, и потеря Т-клеточных антигенов CD2, CD3, CD4, CD5; определение Т-клеточного моноклонального пролифератa в периферической крови.[2]

Развитие у больных с Т-клеточными лимфомами, и в частности с синдромом Сезари, различных вторых новообразований описано в достаточно большом количестве публикаций. Так, A. F. Kantor[3] в 1989 г. в группе из 544 пациентов, получавших лечение с 1973 по 1983 г., было выявлено 35 (6 %) случаев вторых новообразований, причем наиболее часто наблюдались рак легкого, прямой кишки и неходжкинские лимфомы. В исследовании K.P. Huang и соавт.,[4] в которое с 1984 по 2001 г. было включено 1798 больных с грибовидным микозом и синдромом Сезари, выявлено 197 вторых опухолей. Из них наибольший риск развития отмечался для лимфомы Ходжкина (9 случаев) и неходжкинских лимфом (27 больных).

Частота развития при первичных лимфомах кожи неоплазий других лимфоидных линий недостаточно изучена и, возможно, недооценивается. Так, A. Barzilai и соавт.[5] описали 11 больных грибовидным микозом, у которых были диагностированы В-клеточные новообразования (у 7 — неходжкинские лимфомы, у 3 — хронический лимфоцитарный лейкоз и у 1 — множественная миелома). У 7 из этих пациентов первым развился грибовидный микоз, а у 4 — первичными были В-клеточные новообразования. Время до возникновения второго заболевания колебалось от 4 до 22 лет (в среднем

[1] ФГУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий», Санкт-Петербург

[2] ГОУ ДПО Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования Росздрава

12 лет). В исследовании C. Hallermann и соавт.[6] описаны 82 пациента с первичными лимфомами кожи, у 62 из которых были Т-клеточные лимфомы (включая синдром Сезари). У 7 (8,5 %) больных в течение 4 лет наблюдения выявлены лимфомы другой клеточной линии. Из них у 4 больных с синдромом Сезари развились В-клеточные лимфомы. Еще у 3 больных с различными кожными лимфомами (синдром Сезари, грибовидный микоз и лимфома маргинальной зоны) была диагностирована лимфома Ходжкина.

E. Herro[7] в 2009 г. опубликовал обзор сочетания грибовидного микоза и В-клеточных лимфом в клинике Mayo, Rochester и Mayo Scottsdale. За период с 1990 по 2007 г. выявлено 23 таких случая. Первым диагнозом у 10 больных был грибовидный микоз, у 7 — В-клеточная лимфома, у 6 — оба заболевания были диагностированы одновременно. Развитие у пациента с синдромом Сезари В-клеточной крупноклеточной лимфомы после терапии кэмпасом описано N. Roch и соавт.[8] S. D. Gibbs и соавт.[9] опубликовали случай успешного лечения синдрома Сезари и хронического лимфоцитарного лейкоза с применением кэмпаса, однако лечение сопровождалось выраженными инфекционными осложнениями и развитием панцитопении. В публикации S. Karsai и соавт.[10] описан пациент с хроническим лимфоцитарным лейкозом и синдромом Сезари, у которого в последующем возникла прогрессия синдрома Сезари с поражением внутренних органов. Больной погиб от сепсиса.

Из сказанного ясно, что развитие синдрома Сезари и хронического лимфоцитарного лейкоза у одного больного встречается редко. Приводим наше клиническое наблюдение сочетания данных заболеваний.

Рис. 1. Поражение кожи при синдроме Сезари

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Пациент В., 1945 г. р., в 2000 г. впервые отметил появление новообразований на коже конечностей и туловища. В апреле 2000 г. в Пскове была проведена биопсия кожи и установлен диагноз грибовидного микоза, а в последующем при определении клинического стадирования в связи с выявлением поражения костного мозга диагноз был изменен на синдром Сезари. С 2001 г. пациент по месту жительства получал химиотерапию циклофосфаном, хлорбутином, винкристином, интерфероном. Резкое прогрессирование заболевания развилось в октябре 2006 г. в виде генерализованной эритродермии (рис. 1), поражения периферических и забрюшинных лимфатических узлов. Пациент был впервые направлен на консультацию в отделение лучевой терапии системных заболеваний ФГУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» и госпитализирован для проведения тотального электронного облучения кожи.

При поступлении в РНЦРХТ 27.11.2006 г. больной предъявлял жалобы на выраженный кожный зуд, покраснение, шелушение и отечность кожи всего тела, мокнутие кожи, одышку при физической нагрузке. При осмотре обращали на себя внимание генерализованная эритродермия, отечность кожи, эрозивные изменения на коже спины и нижних конечностей, увеличение шейных, паховых, подмышечных лимфатических узлов до 1,0–1,5 см. Имелись отеки нижних конечностей, распространявшиеся до середины голени, обусловленные гипопротеинемией.

В клиническом анализе крови от 29.11.2006 г.: лейкоциты — 22,1 × 10^9/л, палочкоядерные — 4 %, сегментоядерные — 51 %, эозинофилы — 3 %, лимфоциты — 17 %, клетки Сезари — 15 %, эритроциты — 3,82 × 10^{12}/л, гемоглобин — 152 г/л, тромбоциты — 133 × 10^9/л, СОЭ — 2 мм/ч. По данным биохимического анализа крови снижены общий белок (42 г/л), железо (2,2 ммоль/л), повышены ЛДГ (250 ЕД/л, норма 123–243 ЕД/л) и СРБ (144 мг/л). По данным УЗИ в забрюшинном пространстве парааортально, в брюшной полости, в подвздошных областях определялись множественные разнокалиберные лимфатические узлы с максимальным размером до 33 мм в диаметре, размер селезенки составлял 116 × 61 мм.

При иммуногистохимическом исследовании биоптатов кожи в РНЦРХТ выявлено: в опухолевых клетках выраженная экспрессия CD2, CD3, CD5, CD4, CD7; на крупных клетках экспрессия CD30; небольшая часть клеток инфильтрата позитивна на CD8 и CD20; пролиферативная активность около 30 %. Заключение: морфология и иммунофенотип выявленных изменений не противоречат диагнозу грибовидного микоза, однако требуют четких корреляций с клиникой.

С 04.12.2006 г. проведены тотальное облучение кожи электронами энергией 6 МэВ в СОД 10 Гр, профилактика синдрома лизиса опухоли, инфузионная, антибактериальная терапия. Отмечено уменьшение кожного зуда, гиперемии кожи. В связи с достижением улучшения самочувствия и начальными проявлениями лучевого эпидермита лечение было прервано. После перерыва терапия продолжена с применением энергии электронов 4 МэВ до СОД 38 Гр (январь — февраль 2007 г.). Лечение перенес удовлетворительно, достигнута частичная ремиссия поражения кожных покровов, сохранялась лимфаденопатия (рис. 2).

В клиническом анализе крови после завершения тотального облучения кожи от 14.02.2007 г.: лейкоциты — 8,61 × 10^9/л, бласты — 2 %, палочкоядерные — 2 %, сегментоядерные — 52 %, эозинофилы — 6 %, лимфоциты — 30 %, моноциты — 5 %, плазматические клетки — 3 %, эритроциты — 3,66 × 10^{12}/л, гемоглобин — 105 г/л, тромбоциты — 102 × 10^9/л, СОЭ — 36 мм/ч.

Было продолжено лекарственное лечение. С 30.05.2007 г. пациенту был проведен цикл CCNU-COP

Рис. 2. Через 2 мес. после лучевой терапии

(ломустин 120 мг внутрь в 1-й день, циклофосфан 400 мг в/м в 1, 3, 5, 9, 11 и 13-й дни, винкристин 2 мг в/в в 1-й и 8-й дни, преднизолон 60 мг/сут внутрь) с положительным эффектом. С 18.09.2007 г. больной был включен в исследование по протоколу GPI 04-0001, проведено 3 еженедельных введения исследуемого препарата в дозе 26,5 мг. В процессе исследования развилось прогрессирование заболевания с эритродермией, отеком кожи. По жизненным показаниям пациенту с 30.10.2007 г. проведено тотальное облучение кожи быстрыми электронами энергией 4 МэВ, РОД 2 Гр до СОД 10 Гр (ранее было подведено на кожу 38 Гр, СОД составила 48 Гр) с выраженным положительным эффектом в виде купирования эритродермии и отека. Уменьшился кожный зуд. С 12.11.2007 г. проведен цикл CCNU-COP (CCNU — 120 мг, винкристин — 2 мг в/в в 1-й и 8-й дни, циклофосфан 400 мг в/м в 1, 3, 5, 9, 11 и 13-й дни, преднизолон 60 мг/сут внутрь в течение 14 дней).

При иммунологическом исследовании в лаборатории клинической иммунологии и молекулярной диагностики СПбГМУ им. И. П. Павлова от 23.11.2007 г. относительное содержание клеток Сезари среди лимфоцитов CD4+ составляло 16,86 %, абсолютное содержание клеток Сезари — $0{,}6 \times 10^9$/л.

С 13.02.2008 г. и с 02.04.2008 г. проведено 2 цикла лечения: митоксантрон 20 мг в 1-й день, флударабин по 50 мг в 1–3-й день. Состояние кожи стабилизировалось, сохранялась лимфаденопатия. В клиническом анализе крови от 26.03.2009 г. впервые был выявлен лимфоцитоз. Пациент проконсультирован гематологом по месту жительства, состояние было расценено как прогрессирование синдрома Сезари. В анализе крови: лейкоциты $7{,}73 \times 10^9$/л, палочкоядерные — 4 %, сегментоядерные — 14 %, эозинофилы — 5 %, лимфоциты — 71 %, моноциты — 6 %, эритроциты — $3{,}12 \times 10^{12}$/л, гемоглобин — 111 г/л, тромбоциты — 89×10^9/л, СОЭ — 2 мм/ч.

Летом 2008 г. по месту жительства проведен курс монотерапии флударой, с 01.10.2008 г. — цикл FMP (митоксантрон 20 мг в 1-й день, флударабин по 50 мг в 1–3-й день, преднизолон по 60 мг в 1–5-й день). В ноябре в связи с прогрессированием поражения кожи проведен цикл FCP (флударабин, циклофосфан, преднизолон) с незначительным положительным эффектом.

Пациент был госпитализирован в РНЦРХТ в декабре 2008 г. по поводу прогрессирования поражения кожи. При обследовании в анализе крови: лейкоциты — $10{,}3 \times 10^9$/л, сегментоядерные — 9 %, лимфоциты — 84 %, моноциты — 7 %, эритроциты — $3{,}55 \times 10^{12}$/л, гемоглобин — 134 г/л, тромбоциты — 78×10^9/л, СОЭ — 10 мм/ч.

Иммунологическое исследование клеток крови проводилось на проточном цитометре FACS Callibur, оснащенном двумя лазерами с возможностью одновременной регистрации по шести каналам флюоресценции. Исследовались Т-лимфоциты (CD3+, CD45+), Т-супрессоры (CD3+, CD8+, CD45), Т-хелперы (CD3+, CD4+, CD45), естественные киллеры (CD16+, CD56+, CD45+), В-лимфоциты (CD19+, CD45+). Анализ результатов проводился в автоматическом режиме в программе MultiSET с применением готового тест-набора (рис. 3). Полученные результаты в виде абсолютного лимфоцитоза и пролиферации В-лимфоцитов (74 %) при депрессии Т-клеточного пула позволили предположить наличие у пациента хронического лимфолейкоза.

27.01.2009 г. была повторно выполнена трепанобиопсия костного мозга. Клеточность костного мозга неравномерная, колеблется от 40 до 60 %. Соотношение клеток миелоидного и эритроидного ростков около 1:1. Эритропоэз нормобла-

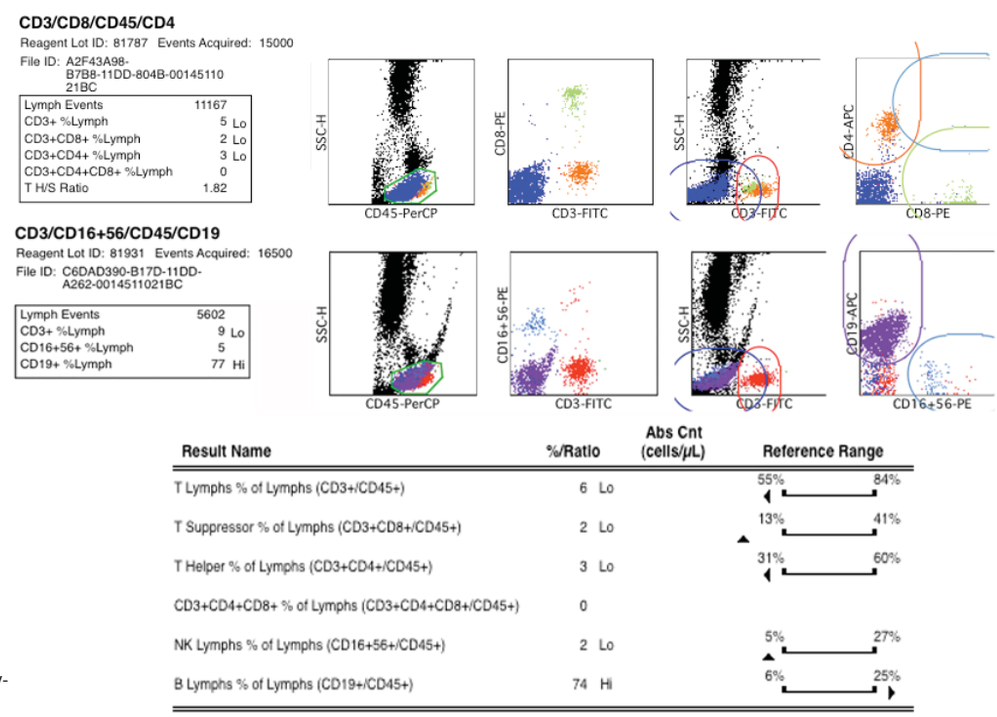


Рис. 3. Итоговый протокол иммунологического исследования

стический. Гранулопоэз представлен клетками более зрелого типа. Мегакариоциты немногочисленные, полиморфные. Около 50 % клеточного состава приходятся на лимфоидные клетки мелкого размера, инфильтрирующие костный мозг интерстициально и с образованием очагов среднего размера. Ядра лимфоцитов округлые, хроматин грубый, глыбчатый, ядрышки не выражены, цитоплазма скудная. Строма с явлениями ретикулинового фиброза. Иммуногистохимическое заключение: клетки, составляющие лимфоидные инфильтраты, выраженно экспрессируют CD20, CD5, CD23, негативны по циклину D1, CD3. В костном мозге рассеяны в небольшом количестве Т-клетки CD3+, которые представлены субпопуляциями CD4+ и CD8+ в соотношении 1:1. Заключение: морфология и иммунофенотип изменений костного мозга соответствуют диагнозу В-клеточной лимфомы из малых лимфоцитов и хроническому лимфолейкозу.

В связи с выявлением второго новообразования с высокой экспрессией CD20 терапия пациенту была модифицирована, начат цикл химиотерапии R-CVP (мабтера — 700 мг в 1-й день, винкристин — 2 мг во 2-й день, циклофосфан — 1000 мг во 2-й день, преднизолон — по 60 мг во 2–6-й день). Отмечена положительная динамика. Клинический анализ крови от 10.03.2009 г.: лейкоциты — $6{,}25 \times 10^9$/л, палочкоядерные — 1 %, сегментоядерные — 23 %, лимфоциты — 72 %, моноциты — 4 %, эритроциты — $3{,}3 \times 10^{12}$/л, гемоглобин — 125 г/л, тромбоциты — 158×10^9/л, СОЭ — 2 мм/ч. В настоящее время пациент получает лечение по схеме R-CVP по месту жительства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, применение современных методов исследования позволило установить у данного пациента довольно редкое сочетание двух заболеваний — Т-клеточного поражения кожи и В-клеточного хронического лимфолейкоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Le Boit P., Burg G., Weedon D., Sarasin A.* (eds.) Tumors of the skin. Lion: WHO IARC, 2005.

2. *Vonderheid E.C., Bernengo M.G., Burg G.* et al. Update on erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma: report of the International Society for Cutaneous Lymphomas. J. Am. Acad. Dermatol. 2002; 46: 95–106.

3. *Kantor A.F., Curtis R.E., Vonderheid E.C.* et al. Risk of second malignancy after cutaneous T-cell lymphoma. Cancer 1989; 15–63(8): 1612–5.

4. *Huang K.P., Weinstock M.A., Clarke C.A.* et al. Second lymphomas and other malignant neoplasms in patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome: evidence from population-based and clinical cohorts. Arch. Dermatol. 2007; 143(1): 45–50.

5. *Barzilai A., Trau H., David M.* et al. Mycosis fungoides associated with B-cell malignancies. Br. J. Dermatol. 2006; 155(2): 379–86.

6. *Hallermann C., Kaune K.M., Tiemann M.* et al. High frequency of primary cutaneous lymphomas associated with lymphoproliferative disorders of different lineage. Ann. Hematol. 2007; 86(7): 509–15.

7. *Herro E., Dicaudo D.J., Davis M.D.* et al. Review of contemporaneous mycosis fungoides and B-cell malignancy at Mayo Clinic. J. Am. Acad. Dermatol. 2009; 61(2): 271–5.

8. *Roch N., Salameire D., Gressin R.* et al. Fatal adenoviral and enteroviral infections and an Epstein-Barr virus positive large B-cell lymphoma after alemtuzumab treatment in a patient with refractory S zary syndrome. Scand. J. Infect. Dis. 2008; 40(4): 343–6.

9. *Gibbs S.D., Herbert K.E., McCormack C.* et al. Alemtuzumab: effective monotherapy for simultaneous B-cell chronic lymphocytic leukaemia and S zary syndrome. Eur. J. Haematol. 2004; 73(6): 47–9.

10. *Karsai S., Hou J.S., Telang G.* et al. S zary syndrome coexisting with B-cell chronic lymphocytic leukemia: case report and review of the literature. Dermatology 2008; 216(1): 68–75.

КЛИНИЧЕСКАЯ ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

СЕМИНАР ПО ОНКОЛОГИИ

«Постгеномный взгляд» на проблемы онкогенеза

Д.Ю. Блохин

РЕФЕРАТ

Процессы злокачественной трансформации клеток и последующей опухолевой прогрессии, вероятно, являются следствием общей причины — генетической нестабильности, возникающей при повреждении одного из генов системы самоконтроля генома («генов стабильности»). Инактивирующие мутации в этих генах ведут к значительному снижению эффективности выявления и репарации последующих генетических повреждений и ошибок репликации ДНК. Потомки такой мутантной клетки воспроизводят фенотип толерантности к новым генетическим повреждениям (мутаторный фенотип), вследствие чего в них резко возрастает скорость накопления мутаций, изменяющих фенотип и дискоординирующих генные программы. На фоне массового накопления каждой гипермутабельной клеткой случайного набора мутаций возможна опухолевая трансформация одной или нескольких из них. В результате того же процесса дальнейшего накопления мутаций первично возникшая моноклональная опухоль подвержена клональному расщеплению и прогрессии.

Ключевые слова

«гены стабильности», мутаторный фенотип, онкогенез, опухолевая трансформация, опухолевая прогрессия.

«Postgenomic view» on problems of oncogenesis

D.Yu.Blokhin

SUMMARY

Processes of malignant transformation of cells and the subsequent tumoral progression, possibly, are a consequence of common reason — the genetic instability arising at damaging one of the genes of the system of genomic self-checking («stability genes»). Mutations in these genes provide considerable decrease in efficiency of revealing and a reparation of the subsequent genetic damages and errors of DNA replication. Descendants of such mutant cell reproduce a tolerance phenotype to new genetic damages owing to what rate of accumulation of the mutations changing a phenotype and breaking gene programs sharply increases in them. Against mass accumulation of every cell of a casual set of mutations malignant transformation one or several of them is possible. As a result of the same process of the further accumulation of mutations initially monoclonal tumour is subject to clonal splitting and a progression.

Keywords:

«stability genes», mutator phenotype, oncogenesis, malignant transformation, tumoral progression.

N.N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, Moscow

Контакты: blokhin@yandex.ru

Принято в печать: 16 сентября 2009 г.

В третье тысячелетие человечество вступило, громко заявив об окончании первого этапа исследований по расшифровке собственного генома.[1] Ценой масштабных кооперированных международных исследований с высокой точностью (1 ошибка на 100 тыс. нуклеотидов) прочитана нуклеотидная последовательность ДНК человеческого организма.

Суммарная длина ДНК гаплоидной половой клетки человека (именно гаплоидный набор хромосом содержит полный геном) составляет около 1 м, молекула состоит из 3,2 млрд пар нуклеотидов; диплоидные соматические клетки содержат удвоенное количество ДНК, т.е. несут в себе по два генома, один из которых унаследован от матери, второй — от отца. Как зримо представить 3,2 млрд нуклеотидных пар? Запись всей последовательности нуклеотидов однобуквенным обозначением на стандартных листах формата А4 составит библиотеку из 3,5 тыс. 1000-страничных томов! Эта величина характеризует геном человека, так сказать, «брутто», т.е. не только всю совокупность генов с их промоторами, энхансерами и другими регуляторными последовательностями (геном «нетто»), но и участки молекулы, не несущие генетической информации. Поиск собственно генов, т.е. участков ДНК, кодирующих белки, а также рибосомные и транспортные РНК, стал следующим этапом исследований генома человека.

Однако по мере получения и анализа этих результатов заметно нарастало

РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

разочарование исследователей. «Венец Природы», как сам себя гордо величает Homo sapiens, с генетической точки зрения представляется существом вовсе не выдающимся.

Расшифрованный геном оказался значительно короче ожиданий: по последним оценкам, в него входит менее 25 тыс. генов (первоначально предполагали обнаружить более 100 тыс. генов, но с каждой последующей оценкой число расшифрованных генов уменьшалось, что связано с совершенствованием методов анализа и исключением предыдущих ошибок), функция более 50 % из которых до сих пор не установлена.[2] Таким образом, число генов человека не только немногим отличается от генома миниатюрной нематоды *Caenorhabditis elegans*, организм которой состоит всего из тысячи клеток,[3] но и сопоставимо с геномом одноклеточной инфузории *Tetrahymena thermophila*.[4] Многие гены человека прошли все ступени эволюции, претерпев минимальные изменения, — велика степень их гомологии с генами беспозвоночных животных и даже растений, а различия с геномом шимпанзе составляют менее 1 %.

Реальное содержание ДНК в каждой клетке человека является абсолютно избыточным: вся совокупность генов вместе с их промоторами и регуляторными областями занимает не более 3 % всей суммарной нуклеотидной последовательности. А на собственно экзоны, кодирующие белковые молекулы (в большинстве генов кодирующие участки экзонов перемежаются с некодирующими интронами, копии которых впоследствии вырезаются из мРНК при ее созревании), приходится всего около 1,5 % совокупной длины молекулы.[1] Биологическая функция основной части (97 %) молекулы ДНК неизвестна; установлено лишь, что ее составляют по меньшей мере три группы участков: повторы (в т.ч. микросателлитные последовательности), транспозоны (мобильные диспергированные элементы) и псевдогены. Неопределенность биологической роли этой части молекулы даже породило ее название как «мусорной ДНК», что, впрочем, не совсем верно. Уже сегодня известно, что, например, транспозоны, занимающие у человека около 30 % всей нуклеотидной последовательности, играют важную роль в миграции генов, приводя к реаранжировкам генома, делециям и транслокациям отдельных его участков. Таким образом, «мусорной» эта значительная часть молекулы является только в том смысле, что в ней нет никакой информации для белкового синтеза. Клетка же не считает ее излишней, и в каждом цикле деления происходит скрупулезное копирование всей гигантской цепи, за исключением небольших участков повторяющихся концевых последовательностей — теломер. Недорепликация последних ведет к их укорочению в каждом цикле, что ограничивает потенциально возможное число клеточных делений, — феномен, открытый в 1961 г. Леонардом Хейфликом[5] и с тех пор известный как «лимит Хейфлика» (Hayflik's limit). Укорочение теломер нормальной соматической клетки достигает критического уровня в течение 50—60 ее удвоений, после чего способность к самовоспроизведению необратимо утрачивается. Известно лишь два исключения из этого общего правила: только эмбриональные стволовые клетки и клетки злокачественных опухолей способны делиться неограниченно, что связано с активностью в этих клетках теломеразы, которая достраивает утраченные в процессе очередного деления теломеры, «обнуляя» таким образом биологический счетчик произошедших удвоений.[6]

Результаты расшифровки генома человека позволяют взглянуть на проблему онкогенеза под несколько непривычным углом зрения, что, учитывая модные тенденции современной биологии, уместно назвать «постгеномным взглядом».

Теоретически опухоль возникнуть не может, но практически — возникает!

Принятая в настоящее время молекулярно-генетическая теория канцерогенеза консолидировала существовавшие ранее теории химического, радиационного, вирусного и наследственного происхождения опухолей. Сегодня причиной опухолевой трансформации считают накопление в одной клетке некоторого критического количества соматических мутаций. Не установлен ни только набор таких необходимых и достаточных для малигнизации клетки мутаций, но даже их минимальное число. Наиболее пессимистичные оценки выражаются числами в 4—5 мутаций, другие авторы называют 6—7, а откровенные оптимисты говорят о 8—10 мутациях, предшествующих опухолевой трансформации. Эти оценки основаны на совокупности характерных фенотипических признаков, которые приобретаются клеткой в процессе опухолевого перерождения:

- самообеспечение митогенными стимулами;
- постоянное деление и нечувствительность к антимитогенным сигналам;
- неограниченный репликативный потенциал (утрата «лимита Хейфлика»);
- снижение способности к апоптозу;
- способность к тканевой инвазии и метастазированию.

Считается, что за каждым из приведенных признаков стоит по меньшей мере одно генетическое событие, связанное с активацией протоонкогенов и/или репрессией генов-онкосупрессоров.

Мутация — это устойчивое наследуемое изменение нуклеотидной последовательности ДНК. Возникновению мутации предшествует появление ошибки в первичной последовательности нуклеотидов. Такие ошибки возможны в результате действия внешних или эндогенных факторов, приводящих к химической модификации оснований, составляющих молекулу ДНК. Делеции и транслокации, как уже сказано выше, могут возникать в результате продольной миграции транспозонов, захватывающих с собой и перетаскивающих в другой локус участки соседних генов. Однако основной источник ошибок — неполная точность копирования молекулы ДНК-полимеразой в процессе ее репликации. Результатом этого является встраивание в отдельные сайты дочерней цепочки ДНК оснований, не комплементарных соответствующим основаниям материнской цепи, — появляется участок неспаренных оснований, несущий ошибку генетической информации в дочерней цепи, именуемую точечной заменой (mismatch). Точечные замены подлежат оперативному исправлению как в самом процессе синтеза ДНК, так и после его завершения — пострепликативная репарация с участием специализированных ферментных систем.

Ошибка в единичном нуклеотиде для исправления требует расщепления и последующей повторной сборки довольно длинного участка дочерней цепи. Весь процесс такой репарации насколько сложен, настолько и изящен. Он подробно изучен у бактерий, а в клетках животных и человека отличается от него лишь некоторыми деталями. Так, в цепи ДНК на расстоянии от одной до нескольких тысяч пар оснований друг от друга разбросаны последовательности нуклеотидов ГАТЦ (гуанозил-аденозил-тимидил-цитидин), которые являются маркерными сайтами для ферментов репарации. Замечательно, что эта последовательность точно воспроизводится в комплементарной цепи при ее чтении в противоположном направлении. В составе этой последовательности аденин (у бактерий) может метилироваться специальными ферментами семейства ДНК-метилаз; у эукариот метилированию

подлежит гуанин. Процесс необратимого метилирования оснований в ГАТЦ-сайтах дочерней цепи происходит только после завершения репликации всей молекулы ДНК и исправления обнаруженных ошибок, что позволяет до завершения этого процесса отличить материнскую цепь молекулы от дочерней. Если после завершения репликации обнаруживается участок неспаренных оснований, репаративный ферментный комплекс начинает движение вдоль дуплекса ДНК в поисках ближайшего ГАТЦ-сайта, найдя который, идентифицирует материнскую цепь по наличию в нем метилированного основания. Затем дочерняя цепь разрывается, и репаративный комплекс начинает движение в обратном направлении, последовательно отщепляя основания дочерней цепи, пока не достигает места обнаруженной ошибки. После выщепления ошибочно вставленного основания репаративный комплекс (или его полимеразная часть) поворачивает назад, застраивая образованную в дочерней цепи брешь длиной в сотни, а иногда и тысячи нуклеотидов.[7] Если ошибка (неспаренные основания) не обнаружена или не исправлена до метилирования ГАТЦ-сайтов дочерней цепи, позднее распознать материнскую (истинную) последовательность становится невозможным — в следующем делении точечная замена закрепляется в виде гетерозиготной мутации. Единственным способом избавления от такой ошибки становится полная самоликвидация клетки — апоптоз. В результате нормальных репаративных процессов вероятность закрепления ошибки в виде мутации крайне мала — генетики оценивают ее как 1 мутация на 1 млн клеток в одном цикле деления.

Учитывая такую низкую вероятность спонтанного мутагенеза, простой арифметический расчет показывает вероятность появления двух независимых мутаций в одной клетке, равную 1 на 1 трлн клеток, а для возникновения трех мутаций в организме просто не хватает клеточного субстрата: взрослый человек состоит из приблизительно 100 трлн клеток, 25 % из которых представлены безъядерными эритроцитами, в то время как возникновение трех независимых мутаций возможно в 1 клетке из 1000 квадриллионов.

Согласно другому расчету, исходно возникшая в одной из 1 млн клеток мутация через 20 делений даст потомство в 1 млн мутантных клеток (2^{20} = 1048576, или ≈ 1 мл), в одной из которых появляется вторая мутация; еще через 20 делений поколение клеток, несущих по две мутации, также составит 1 млн клеток, в одной из которых вероятно появление третьей мутации (рис. 1). Вот только лимит клеточных делений к этому моменту исчерпывается, что не оставляет никакого шанса для дальнейшего продолжения процесса! Таким образом, теоретический расчет частоты

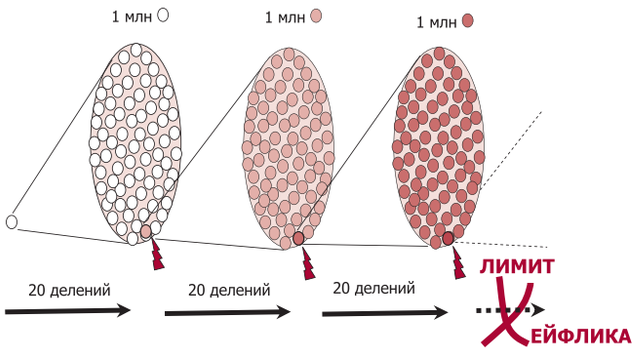


Рис. 1. Теоретический расчет вероятности накопления в одной соматической клетке трех независимых мутаций. В результате первых 20 делений потомство одной клетки достигает миллиона, в одной из которых возможна единичная мутация. Через 20 делений мутантной клетки образуется 1 млн мутантов, в одном из которых возможна дополнительная независимая мутация. Еще через 20 делений потомки двойного мутанта образуют миллионный клон, в одной клетке которого можно ожидать появление третьей независимой мутации. **Но** к этому моменту лимит клеточных делений исчерпывается (цит. по [6], с изменениями)

возникновения злокачественно трансформированных клеток делает этот процесс настолько маловероятным, что этот результат никак не соотносится с действительностью, выдвигающей онкологические заболевания на 2-е место в мире в качестве причины смертности. Если теоретический расчет входит в столь вопиющее противоречие с реальностью, то господствующая теория подлежит серьезной ревизии.

Сколько все же мутаций необходимо и достаточно для малигнизации?

Взглянем критически на перечень фенотипических признаков опухолевой клетки. Видим, что в приведенных формулировках универсальность каждого из этих признаков относительна — возражения по каждому пункту выделены противительным союзом **Но**.

- *Самообеспечение митогенными стимулами.*

Но вопреки этому утверждению о самодостаточности митогенных стимулов подавляющее большинство опухолевых клеточных линий требует наличия в питательной среде ростовых факторов из эмбриональной сыворотки, а гормонозависимые опухоли молочной железы и простаты прекращают рост в отсутствие соответствующих гормонов, что используется в лечебной практике.

- *Постоянное деление и нечувствительность к антимитогенным сигналам.*

Но пролиферативный пул (фракция роста) опухоли никогда не достигает 100 %, т. е. часть опухолевых клеток (зачастую — весьма значительная) находится вне цикла деления, не переставая при этом оставаться опухолевыми.

- *Неограниченный репликативный потенциал (утрата «лимита Хейфлика»).*

Экспериментально это абсолютно доказано для перевиваемых опухолей животных и клеточных культур, которые удалось перевести в линии.

Но такой результат достигается далеко не с каждой спонтанно или индуцированно возникшей опухолью. Правда, с позиции клинической онкологии этот признак опухоли не имеет большого практического значения, поскольку заложенный «лимитом Хейфлика» средний потенциал в 50–60 делений легко позволяет потомству одной малигнизированной клетки преодолеть барьер в 1 тонну клеточной биомассы!

- *Снижение способности к апоптозу.*

Но клетки большинства опухолевых моделей (клеточных линий и перевиваемых опухолевых штаммов животных) способны активно вступать в апоптоз после их облучения или применения противоопухолевых химиотерапевтических средств, а в организме больного противоопухолевые лекарства преимущественно поражают клетки опухоли, которые погибают по механизму апоптоза.

- *Способность к тканевой инвазии и метастазированию.*

Но рак *in situ* не обнаруживает эндофитного роста и не метастазирует, однако при этом остается раком. К слову, данное свойство является по сути единственным из всего списка отличием злокачественных опухолей от доброкачественных, что представляется нам ошибочным. К этому вопросу мы вернемся ниже.

Приведенные возражения вовсе не направлены на потрясание устоявшихся догматов. **Но** отказ от безусловной абсолютизации канонических признаков опухолевого роста приводит к смещению оценки количества необходимых и достаточных для опухолевой трансформации мутаций в пессимистическом направлении. При этом важно отметить, что каждый из перечисленных фенотипических признаков по сути является вторичным, не обязательным абсолютно в каждом случае или появляющимся по мере роста и прогрессии уже

возникшей опухоли. В таком контексте онкогенез проявляет свойства не революционного, но эволюционного процесса, при котором отдельные специфические опухолевые признаки постепенно приобретаются клетками независимо друг от друга и в любой их очередности.

А какое из генетических событий должно обязательно предварять опухолевую трансформацию клетки?

Даже в сокращенном виде перечень фенотипических признаков опухолевой клетки не может быть следствием только одной мутации. Следовательно, для трансформации необходимо несколько генетических событий — мутаций, транслокаций или генных потерь. Такие потенциально трансформирующие мутации должны затрагивать исключительно «онкогенно значимые» гены — протоонкогены и/или гены-онкосупрессоры, которых сегодня известно не более 150 из 25 000 генов, составляющих геном человека, т. е. чуть более 0,5 % от их общего числа.

Учитывая случайный характер мутагенеза, неизбежно приходим к заключению, что каждая мутация генов, вовлеченных в онкогенез, сопровождается параллельным появлением около 200 мутаций в прочих генах, а также возникновением ошибок в некодирующих областях «мусорной ДНК» — микросателлитная нестабильность. Следовательно, опухолевой трансформации клетки предшествует накопление не 4–5 соматических мутаций, а в сотни раз больше!

Если же принять во внимание факт абсолютной избыточности, содержащейся в каждой клетке ДНК, в которой собственно кодирующая белковые продукты информация не превышает 1,5 %, то счет возникающих в трансформирующейся клетке нуклеотидных дефектов пойдет уже на десятки и сотни тысяч! Здесь, правда, уместно заметить, что как-либо фенотипически обнаруживать себя могут лишь мутации, возникающие в кодирующих участках экзонов (возможно появление дефектного белка с измененными свойствами и функциями) или регуляторных участках генов (возможно изменение экспрессии гена и ее неадекватное регулирование). Мутации в некодирующих областях генома никак не обнаруживают себя фенотипически, в связи с чем носят безразличный характер, не отражаясь на жизнедеятельности клетки. Однако они все же являются мутациями, которые происходят из невыявленной или не устраненной в надлежащем порядке ошибки нуклеотидной последовательности.[8] Как такое возможно? Ведь вероятность появления спонтанных мутаций чрезвычайно мала, обнаружение клеткой генетического изменения активирует механизм исправления ошибки, а при невозможности такого исправления запускается программа клеточной гибели.

В нормальной клетке, проходящей цикл деления, весь процесс удвоения жестко контролируется в контрольных (сверочных) точках цикла (check-points): до начала синтеза ДНК (G_1/S-переход), в процессе синтеза (S), перед началом митоза (G_2) и в метафазе последнего. Механизмы контроля сводятся к обнаружению нитевых разрывов молекулы и участков неспаренных оснований материнской и дочерней цепей. Если в ходе такого контроля обнаруживается дефект ДНК, цикл временно приостанавливается и активируются процессы репарации. После их завершения цикл деления возобновляется. Если же попытка репарации не привела к устранению повреждения, клетка вступает в апоптоз, активируя генетическую программу собственной гибели. Академик В. П. Скулачев образно описал такое поведение клетки самурайским законом: лучше умереть, чем ошибиться! Этот механизм позволяет сохранять генотип всех клеток организма в первозданном виде, пусть даже ценой множественных клеточных потерь. Он минимизирует количество и темп накопления мутаций; никакой трагедии для организма не произойдет: если генетически дефектная клетка будет уничтожена, на ее место тут же встанет новая с исправной генетической программой.

Механизм контроля и репарации состоит из трех взаимодействующих компонентов, по аналогии с промышленным производством назовем их «Контролер», «Мастер» и «Слесарь». Контролер обнаруживает ошибку и сообщает о ней Мастеру; Мастер останавливает конвейер, анализирует ситуацию и выписывает заказ-наряд на выполнение ремонта; Слесарь производит ремонт и предъявляет результат Мастеру, который либо возвращает исправленное изделие на конвейер и запускает его, либо отправляет неисправное изделие в утиль как неремонтопригодное. Выпадение любого из трех компонентов нарушает весь процесс: либо ошибка не выявлена вовсе, либо не обеспечены условия для ее исправления, либо некому выполнить работу. Результат во всех случаях один — ошибка сохраняется. Последующее деление клетки приводит к генотипическому закреплению этой ошибки в виде гетерозиготной мутации и тиражированию ее во всех следующих поколениях.

В S-фазе клеточного цикла роль всех трех участников процесса выполняет ДНК-полимеразный ферментный ансамбль. В двух других контрольных точках цикла (G_1/S и G_2) роль Контролера выполняют ДНК-зависимые протеинкиназы (ATM, ATR, CHK1/2 и др.). В случае обнаружения повреждения ДНК они фосфорилируют неактивный белок p53 (Мастер), который при этом становится активным транскрипционным фактором множества респонсивных генов и, в свою очередь, трансактивирует, например, ген *WAF1*, белковый продукт которого $p21^{WAF1}$ останавливает прогрессию клеточного цикла (фаза G_1). В фазе G_2 вместо гена *WAF1* активируется ген *INK4a*, кодирующий два белковых продукта: $p16^{INK4a}$ и $p14^{ARF}$, которые останавливают прогрессию цикла деления. В работу вступают ферменты репарации (Слесарь). Если к определенному времени повреждение не ликвидировано, p53 дополнительно фосфорилируется, что приводит его в «стрессовую» форму с измененным сродством к респонсивным генам, в результате чего активируются проапоптозные гены *AIP1*, *Bax* и *PUMA*. В клетке запускается программа гибели. Так в общих чертах выглядит изящный молекулярный механизм генетического самоконтроля, сохраняющий в неприкосновенности геном делящейся клетки.[9]

Но все участвующие в этих процессах белки сами являются продуктами соответствующих генов, именуемых «генами стабильности», которые, как и прочие гены, потенциально подвержены мутагенезу. И если в результате мутации, транслокации или делеции поврежден участок ДНК, содержащий «гены стабильности», из стройного триумвирата Контролер — Мастер — Слесарь может выпасть необходимое звено. Результатом станут вовремя не выявленные и неисправленные генетические ошибки — путь к накоплению мутаций открыт! В клетке возникает состояние толерантности к последующим генетическим изменениям — мутаторный фенотип, что приводит к дестабилизации генома.

Генетические ошибки, вновь приобретаемые толерантной к мутациям клеткой, в первую очередь появляются в генах, прямо не вовлеченных в онкогенез; их доля в геноме более 99 %, в то время как «онкогенно значимые» гены составляют лишь менее 1 %. Но рано или поздно необходимое критическое количество мутаций в «онкогенно значимых» генах будет накоплено (если, конечно, раньше организм не погибнет от иного заболевания, травмы или старости). Дли-

тельность процесса объясняет возрастание риска развития онкологических заболеваний с возрастом. Предсуществование в организме полученных по наследству герминальных мутаций, затрагивающих «гены стабильности», повышает вероятность и увеличивает скорость накопления этого критического количества, в связи с чем возрастает риск развития злокачественной опухоли в раннем и молодом возрасте, а также первично-множественных форм рака. Наиболее часто такие герминальные мутации наблюдаются в генах, кодирующих ДНК-зависимые протеинкиназы, например *ATM* (**A**taxia **t**elangiectasia **m**utated), *ATR* (**AT**M **r**elated), *CHK1/2* (**Ch**eckpoint **k**inase **1/2**), в генах-онкосупрессорах, например *TP53* (кодирует белок p53), а также в генах ферментов репарации, например *BRCA1/2* (**Br**east **ca**ncer **1/2**), и других кодирующих белки суперсемейства Контролер — Мастер — Слесарь. Результат таких мутаций — множественные опухоли различного генеза в молодом возрасте.[9]

Продолжая рассуждать в этом направлении, мы неумолимо приходим к наиболее пессимистичному варианту ответа на вопрос, вынесенный в заглавие предыдущего раздела: для опухолевой трансформации клетки на ее первом этапе минимально необходима всего одна мутация, но не любая, а возникшая в гене, повреждение которого сопровождается становлением мутаторного фенотипа. Примерно в 50 % всех исследованных опухолей человека обнаружены мутации упоминавшегося гена *TP53*, который часто именуют «стражем генома». Это обстоятельство позволило рассматривать данный ген как исключительно важный для онкогенеза. Оказалось, что даже в отсутствие мутации этого гена путем прямого ингибирования кодируемого им белкового продукта можно открыть ворота для волны генетических повреждений в клетке. Так, пифитрин-α — синтетический ингибитор белка p53 — защищает клетки мышей от гибели вследствие побочных эффектов противоопухолевой химиотерапии и облучения,[10,11] но значительно усиливает генетическую нестабильность лимфоидных клеток человека в культуре.[12] Белковый продукт гена *E6* вируса папилломы человека также инактивирует белок p53, результатом чего является развитие рака шейки матки, вирусная этиология которого абсолютно доказана.[13]

Напрашивается вопрос: если ген *TP53* столь критичен для онкогенеза, почему же его мутации обнаружены только в 50 % исследованных опухолей? Ведь вторая половина опухолей не имеет мутаций в этом гене, что не мешает им оставаться злокачественными новообразованиями. Ответ содержится в середине данного раздела: белок p53 является важным, но не единственным действующим лицом в системе генетического самоконтроля, и утрата любого из них (Контролер — Мастер — Слесарь) разрушает всю цепочку в целом. Другими словами, для становления мутаторного фенотипа достаточно инактивирующей мутации в одном из «генов стабильности», остальные при этом могут сохранять свой «дикий тип».

Роль опухолевой прогрессии в онкогенезе

Теория опухолевой прогрессии разработана в 1960-е годы L. Foulds. Согласно этой теории, происходит постоянный стадийный рост опухоли с прохождением ею ряда качественно различных стадий,[14] под которыми понимается новый набор фенотипических признаков. Стадийность изменений связана со сменой популяций опухолевых клеток, происходящей в результате конкурентной борьбы более агрессивных клонов с менее приспособленными. Однако само появление таких клонов является следствием определенных генетических событий — мутаций в соответствующих генах. Следовательно, молекулярно-генетическая природа опухолевой прогрессии состоит в накоплении отдельными опухолевыми клетками дополнительных к уже существующим соматических мутаций. В этом контексте термин «прогрессия» следует рассматривать не только применительно к опухоли как тканевому новообразованию, но и в отношении отдельных клеток, фенотип с повышением степени злокачественности которых изменяется соответственно мутационному изменению их генотипа.

Но тот же процесс лежит в основе онкогенеза: по мере накопления мутаций в генах, прямо не вовлеченных в онкогенез, изменяется фенотип клетки (возникает клеточная атипия, приводящая по мере деления мутантной клетки к атипии тканевой), появляется и нарастает метаплазия клеток, переходящая в их дисплазию, клетки прогрессивно утрачивают морфофункциональные черты гомологичной ткани. В результате формируются «раковые поля» уже мутантных и атипичных, но еще не опухолевых клеток. Вновь приобретенные мутации тиражируются потомками, давая начало новым клонам (рис. 2). По мере независимого накопления генетических изменений отдельными потомками первично гипермутабельной клетки, в некоторых из них весьма вероятны мутации, вызывающие опухолеспецифические признаки, которые в конечном итоге приводят к опухолевой трансформации. Строго говоря, в пределах одного «ракового поля» возможно появление более одной первично трансформированной клетки с разными фенотипическими и

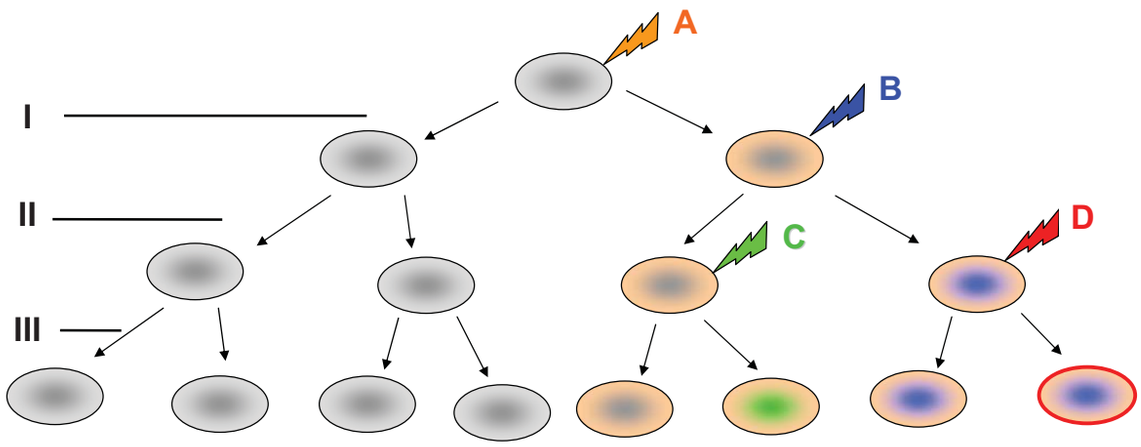


Рис. 2. Схема клонального расщепления потомства мутантной клетки. Случайно возникшая гетерозиготная мутация A в процессе первого (*I*) деления передается одной из дочерних клеток, вторая останется с прежним неизмененным генотипом. В мутантной клетке произошла новая мутация B, которая после второго (*II*) деления изменит генотип одной из дочерних клеток — возникнет генотип AB, вторая клетка сохранит генотип A. Вновь приобретенные дочерними клетками мутации C и D после очередного (*III*) деления также закрепятся в их генотипах, создавая генетическое разнообразие клонов

генотипическими признаками, следовательно, более одного первичного опухолевого клона.

Другими словами, молекулярно-генетические механизмы клеточной трансформации и опухолевой прогрессии являются общими. Более того, прогрессия в ряду *нормальная ткань → метаплазия → дисплазия → анаплазия* **предшествует** малигнизации. Прогрессия предполагает расщепление исходно моноклональной опухоли на многочисленные конкурирующие клональные субпопуляции, в которых с каждым поколением клеток увеличиваются признаки злокачественности и исчезают тканеспецифические черты — последствия вновь приобретаемых мутаций. Так, отметившая свой 100-летний юбилей перевиваемая мышиная опухоль Эрлиха к сегодняшнему дню утратила все специфические морфологические черты аденокарциномы молочной железы, из которой она возникла.

Таким образом, наиболее общим фенотипическим признаком злокачественной опухоли следует считать ее генетическую нестабильность (мутаторный фенотип, гипермутабельность, толерантность к вновь возникающим мутациям) и склонность к прогрессии. Этот концептуальный признак является главным отличием не только опухолевых клеток от нормальных, но и злокачественных опухолей от доброкачественных. Несмотря на сходство многих признаков этих типов опухолей, генетически, морфологически и клинически они относятся к совершенно разным заболеваниям. Клетки последних, как известно, в ряде случаев могут малигнизироваться (как и клетки нормальных тканей), однако для возникновения злокачественной опухоли вовсе не обязательно предсуществование доброкачественной. Малигнизации предшествует «предраковое состояние» в виде клона первичной гипермутабельной клетки, который является субстратом для опухолевой трансформации. А генетическая нестабильность опухолей является не следствием трансформации, а ее причиной.

Суммируя изложенное, следует отметить, что к моменту собственной злокачественной трансформации будущая опухолевая клетка подходит с поломанным механизмом распознавания и устранения генетических ошибок, а главное — с уже заметно изуродованным геномом. При этом набор случайных генетических поломок индивидуален не только для каждой опухоли, но и для различных клеточных клонов в пределах одного опухолевого узла. В этой связи модное в последние годы и дорогостоящее направление по составлению «генетического портрета» индивидуальных опухолей вряд ли имеет смысл для клинической онкологии: воспроизводя генотипические признаки своих предшественников, дочерние клоны добавляют к ним все вновь приобретенные, быстро изменяя уже нарисованный портрет.

Что из этого следует?

Известно, что гены функционируют не как обособленные единицы генома, а в составе так называемых генных сетей. Массовые мутации в самых различных генах приводят к дискоординации «генных сетей» и поломке генетических программ. В первую очередь в опухолевой клетке страдает программа дифференцировки, состоящая из направленной последовательной активации одних генов и репрессии других. Вряд ли такая ситуация оставляет шанс направить ее «на путь истинный» путем принудительной «нормализации» или индукции дифференцировки.

Следующая генетическая программа, подверженная дискоординации, — программа деления. Результатом этого может явиться асимметричный митоз, после которого дочерние клетки становятся генетически неравноценными: в одной — происходят генные потери, в другой — напротив, приобретение избыточных генов, т. е. возникает анеуплоидия, что считается неблагоприятным прогностическим признаком большинства опухолей.[15]

Наконец, поломки генетической программы клеточной гибели приводят к появлению фенотипа множественной лекарственной устойчивости опухолей. Так, в нашем институте получена линия Т-лимфобластных клеток человека с полностью утраченной программой апоптоза, в результате чего эти клетки в сравнении с гомологичными родительскими клетками (также лимфобластными) приобрели резистентность к действию всех испытанных нами химиотерапевтических препаратов в диапазоне от 10- до 300-кратной, т. е. на 1–2,5 порядка концентраций.[16]

Резюмируя сказанное, следует отметить, что известная клиницистам-онкологам зависимость эффективности лечения онкологических больных от «эволюционной истории» конкретной опухоли имеет не только анатомическое обоснование (опухоль крупного размера, прорастающая в соседние органы, давшая отдаленные метастазы и др., труднее поддается лечению в сравнении с маленькой, локализованной и не имеющей метастазов опухолью), но и молекулярно-генетическую природу: до тех пор, пока опухолевая клетка жива, вектор ее прогрессии неуклонно направлен «от плохого к худшему».

ЛИТЕРАТУРА

1. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 2001; 409(6822): 860–921.

2. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. Nature 2004; 431(7011): 931–45.

3. C. elegans Sequencing Consortium. Genome Sequence of the Nematode C. elegans: A Platform for Investigating Biology. Science 1998; 282(5396): 2012–8.

4. *Eisen J.A., Coyne R.S., Wu M.* et al. Macronuclear genome sequence of the ciliate Tetrahymena thermophila, a model eukaryote. PLoS Biol. 2006; 4(9): e286, 1620–42.

5. *Hayflick L., Moorhead R.S.* The serial cultivation of human diploid cell strains. Exp. Cell Res. 1961; 25(3): 585–621.

6. *Егоров Е.Е.* Теломераза и канцерогенез. В кн.: Клиническая онкогематология / Под ред. М.А. Волковой. М.: Медицина, 2007; 126–40.

7. *Сойфер В.Н.* Репарация генетических повреждений. Соросовский образов. журн. 1997; 8: 4–13.

8. *Глазер В.М.* Конверсия гена. Соросовский образов. журн. 2000; 1: 23–31.

9. *Копнин Б.П.* Опухолевые супрессоры и мутаторные гены. В кн.: Канцерогенез / Под ред. Д.Г. Заридзе. М.: Медицина, 2004; 125–57.

10. *Komarov P.G., Komarova E.A., Kondratov R.V.* et al. A chemical inhibitor of p53 that protects mice from the side effects of cancer therapy. Science 1999; 285: 1733–7.

11. *Комарова Е.А., Гудков А.В.* Супрессия p53: новый подход к преодолению побочных эффектов противоопухолевой терапии. Биохимия 2000; 65(1): 48–56.

12. *Bassi L., Carloni M., Fonti E.* et al. Pifithrin-α, an inhibitor of p53, enhances the genetic instability induced by etoposide (VP16) in human lymphoblastoid cells treated in vitro. Mut. Res. Fund. Mol. Mech. Mutagen. 2002; 499(2): 163–76.

13. *Киселев Ф.Л.* Вирусы папиллом и их роль в канцерогенезе шейки матки. В кн.: Канцерогенез / Под ред. Д.Г. Заридзе. М.: Медицина, 2004; 287–97.

14. *Коган Е.А.* Автономный рост и прогрессия опухоли. Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 2002; 12(4): 45–9.

15. *Добрынин Я.В., Николаева Т.Г.* Метод проточной ДНК-цитометрии в прогнозировании течения опухолевого процесса при опухолях человека. В кн.: Экспериментальная онкология на рубеже веков / Под ред. М.И. Давыдова, А.Ю. Барышникова. М.: Изд-во РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2003; 483–510.

16. *Блохин Д.Ю., Соколовская А.А., Власенкова Н.К.* и др. Множественная лекарственная устойчивость опухолевых клеток, резистентных к апоптозу. Вестн. РАМН 2007; 10: 41–6.

Материалы 14-го конгресса Европейской гематологической ассоциации — EHA (Берлин, июнь 2009 г.)

В настоящее время Европейская гематологическая ассоциация насчитывает 3200 членов из 100 стран мира.
В этом году на конгресс было прислано более 2000 абстрактов и прочитаны 54 лекции, касающиеся наиболее актуальных вопросов гематологии.
Ниже мы публикуем короткую информацию по основным и наиболее значимым онкогематологическим проблемам, обсуждавшимся на заседаниях конгресса.

ОСТРЫЕ ЛЕЙКОЗЫ

Подготовила *М. А. Волкова*

Острые лимфобластные лейкозы

Одно из важнейших направлений исследований при острых лимфобластных лейкозах (ОЛЛ) в последние годы — изучение генетических изменений, лежащих в основе лейкемогенеза, поскольку знание этих изменений необходимо для разработки таргетной терапии. В настоящее время с помощью экспериментальных моделей установлено, что часть хромосомных аберраций, связанных с определенными прогностическими группами при ОЛЛ, появляется задолго до развития заболевания, доказывая тем самым, что при всей важности указанных изменений для «запуска» лейкемогенеза необходимы добавочные генетические или эпигенетические нарушения.

Известно, что в отличие от солидных опухолей при ОЛЛ редко обнаруживаются несбалансированные транслокации. Характерные для ОЛЛ реципрокные транслокации вовлекают гены, являющиеся опухолевыми супрессорами, регуляторами апоптоза, стероидными рецепторами или лимфоидными сигнальными молекулами.

При ОЛЛ, связанных с реаранжировкой гена *MLL* t(v;11q23), обнаруживается менее одного добавочного изменения на один случай лейкоза. Это показывает, что для развития вариантов лейкоза с вовлечением гена *MLL* нужно небольшое количество добавочных генетических изменений. В то же время при В-ОЛЛ, ассоциированных с вовлечением генов *BCR-ABL1* t(9;22)(q34;q11.2) и *ETV6-RUNX1* t(12;21)(p13;q22), наблюдается более 6 добавочных аберраций на каждый случай лейкоза, что свидетельствует об абсолютной необходимости добавочных изменений для развития этих вариантов ОЛЛ.

Более чем в 40 % ОЛЛ из В-предшественников отмечается вовлечение генов, регулирующих развитие В-лимфоцитов. Чаще всего это транскрипционные факторы, необходимые для дифференцировки В-лимфоцитов.

Известно, что гиподиплоидия является неблагоприятным прогностическим фактором при В-ОЛЛ. Недавно в лаборатории St. Jude Children Research Hospital (Мемфис, США) на большой группе больных было показано, что чем более выражена гипоплоидия, тем хуже прогноз. В этой же лаборатории было установлено, что все гиподиплоидные случаи лейкозов у детей имеют делецию гена *PAX5*, локализованного в районе 9p13 и являющегося одним из ключевых транскрипционных факторов, кодирующих развитие ранних предшественников В-лимфоцитов, нервной и тестикулярной тканей.

При Ph-позитивном ОЛЛ почти всегда обнаруживается делеция другого гена — *IKZF-1* (*IKAROS*), локализованного в районе 7p12 и участвующего в регуляции В- и Т-клеточной дифференцировки. Делеция гена *IKAROS* встречается и при других вариантах ОЛЛ, всегда ассоциируясь с плохим прогнозом. При хроническом миелолейкозе делеция гена *IKAROS* никогда не встречается в хронической фазе заболевания и при миелоидном бластном кризе, но очень часто обнаруживается при лимфоидном бластном кризе, что подтверждает роль этого гена в лимфогенезе.

При длительном изучении в St. Jude Children Research Hospital когорты детей с ОЛЛ, включавшей 221 пациента, было зафиксировано 73,4 % рецидивов в течение 5 лет наблюдения у больных с мутациями гена *IKAROS* и только 25 % у пациентов без изменений этого гена. Показано, что мутации этого гена связаны с высокой частотой минимальной резидуальной болезни после терапии.

При повторных исследованиях генома больных ОЛЛ детей с помощью полимеразной цепной реакции выявлено, что у многих пациентов в момент установления диагноза было несколько лейкозных клонов, причем в большинстве случаев присутствовал и тот клон, который оказывался доминирующим

при рецидиве, но из-за его малой величины не мог быть обнаружен с помощью микрочипов.

Известно, что реаранжировка 11q23 определяется более чем у 70 % больных ОЛЛ и ОМЛ (острый миелобластный лейкоз) детей в возрасте до 1 года. При ОЛЛ эта реаранжировка чаще всего связана с t(4;11), при ОМЛ — с t(9;11). Дети с аберрацией 11q23 имеют длительную (более чем 5-летнюю) выживаемость только в 50 % случаев, в то время как при других транслокациях этот показатель у детей превышает 80 %.

В последние годы уделяется большое внимание изучению особенностей острых лейкозов у детей с синдромом Дауна. На 14-м конгрессе EHA особенностям биологии и подходам к лечению таких лейкозов была посвящена отдельная лекция.

Практически у всех детей с синдромом Дауна и ОМЛ имеется приобретенная мутация гена мегакариоцитарного транскрипционного фактора GATA1. В то же время ОЛЛ при синдроме Дауна более гетерогенен. Известно, что частота ОЛЛ у детей с этим синдромом в 10–20 раз выше, чем у остальных. В большинстве многоцентровых исследований детского ОЛЛ от 1 до 3 % случаев приходятся на долю детей с синдромом Дауна.

Как правило, это лейкоз из клеток-В-предшественников, Т-клеточных и более зрелых В-ОЛЛ при синдроме Дауна не встречается. Помимо трисомии 21, характерной для синдрома Дауна, наиболее часто при ОЛЛ у детей с этим синдромом встречается добавочная Х-хромосома, обнаруживаемая у 50 % больных. Комбинация трисомии 21 и добавочной Х-хромосомы в качестве единственной хромосомной аберрации практически уникальна и характерна только для сочетания ОЛЛ с синдромом Дауна. Второй частой хромосомной аберрацией, встречающейся у $^1/_3$ больных, является t(8;14). У 20 % больных ОЛЛ с синдромом Дауна обнаруживается мутация гена Jak2-киназы. В отличие от Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний, для которых характерна мутация V617F, при ОЛЛ у больных с синдромом Дауна обнаруживается мутация R683, вовлекающая аргинин и какую-нибудь другую аминокислоту. Так же как мутация V617F, мутация R683 приводит к активации Jak/STAT-сигнального пути, результатом чего является пролиферация лимфоцитов, независимая от ростовых факторов.

Результаты терапии ОЛЛ у детей с синдромом Дауна значительно хуже таковых в общей детской популяции с ОЛЛ: при терапии по протоколам, применяемым для лечения детей из группы стандартного риска, 10-летняя бессобытийная выживаемость составляет 56 %, в то время как в общей популяции она достигает 74 % ($p < 0{,}001$). При лечении детей с ОЛЛ и синдромом Дауна по протоколам для ОЛЛ высокого риска результаты приближаются к таковым у детей без синдрома Дауна.

В докладах, касающихся лечения ОЛЛ, заслуживают интереса работы, посвященные применению ингибиторов тирозинкиназ. Продолжают привлекать внимание результаты терапии пожилых больных с Ph-позитивным ОЛЛ. В многоцентровом исследовании из Франции 30 больных Ph-позитивным ОЛЛ старше 55 лет лечились по протоколу, включавшему префазу терапии кортикостероидами, индукционную химиотерапию, фазу консолидации иматинибом и кортикостероидами и 10 блоков поддерживающей терапии, в т.ч. два 2-месячных блока терапии иматинибом. Всего лечение продолжалось 2 года, за это время иматиниб назначался в течение 6 мес. У 27 из 30 больных были получены полные ремиссии. Медиана продолжительности жизни составила 25 мес., что достоверно больше ($p = 0{,}005$) продолжительности жизни пожилых больных в эру до появления ингибиторов тирозинкиназ. В настоящее время 20 % пожилых больных с этим, ранее наиболее неблагоприятным вариантом ОЛЛ живут более 3 лет. Эти данные подтверждены в многоцентровом международном исследовании. 30 больных Ph-позитивным ОЛЛ, у 88 % которых наряду с Ph были комплексные хромосомные аберрации, с медианой возраста 71 год получили лечение, в котором наряду с обычной химиотерапией ОЛЛ на всех этапах (индукция, консолидация и поддерживающая терапия) назначался дазатиниб (по 140 мг в день в период индукции, по 100 мг в день в периоды консолидации и поддерживающей терапии). Лишь один пациент умер во время индукционной терапии, у остальных 29 (96,6 %) достигнута полная гематологическая ремиссия, у 33 % — полная молекулярная ремиссия. Количество молекулярных ремиссий продолжало увеличиваться во время поддерживающей терапии. Через 2–11 мес. у 8 больных развился рецидив, у 7 из них была обнаружена мутация T315I, у одного — также неблагоприятная мутация F317L. Все эти пациенты умерли в течение 212 дней после констатации рецидива. В течение периода наблюдения 12,4 мес. медианы общей и безрецидивной выживаемости не были достигнуты.

В международном многоцентровом исследовании применения иматиниба после трансплантации у больных с Ph-позитивным ОЛЛ (40 пациентов) было показано, что ни у кого из 35 больных, получивших трансплантацию в период ремиссии и получавших иматиниб после трансплантации, не было рецидива в течение 1,5 года наблюдения.

Интересное наблюдение опубликовано финскими гематологами. Больной ОЛЛ 40 лет получил два курса индукционной терапии без эффекта. Цитогенетический анализ показал, что бластные клетки этого пациента содержали t(1;9), а FISH-анализ, что транслокация произошла между геном *ABL1* и неизвестным геном, локализованным на хромосоме 1q24–25. Вовлечение гена *ABL1* послужило основанием для назначения пациенту дазатиниба по 140 мг в день. Через 2 нед. такого лечения была получена полная гематологическая ремиссия и через 4 нед. — полная цитогенетическая.

Доложены результаты многоцентрового рандомизированного исследования из Германии, оценивающего эффективность применения ритуксимаба у CD20+ Ph-негативных больных ОЛЛ. Всего в исследование включено 185 пациентов. 117 из них наряду с химиотерапией получали ритуксимаб по 375 мг/м^2 в период индукции, консолидации и поддерживающей терапии, всего 8 введений, остальные — только химиотерапию, идентичную получаемой в первой группе. В обеих группах получено одинаковое количество полных ремиссий и зафиксировано одинаковое количество ранних смертей, но количество и быстрота достижения молекулярных ремиссий были значительно выше в группе получавших ритуксимаб. Расчеты показали, что в группе, получавшей ритуксимаб, предполагаемая 3-летняя общая и безрецидивная выживаемость должны быть достоверно выше, чем в группе, получавшей такую же терапию, но без ритуксимаба.

Острые миелоидные лейкозы

В последние годы доказано, что при всех вариантах острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) нарушен баланс между воспроизведением стволовых клеток и их дифференцировкой. При ОМЛ всегда имеются мутации генов, важных для воспроизведения нормальных стволовых клеток. Это прежде всего гены группы *HOX*. В нормальном гемопоэзе эти гены всегда экспрессированы в стволовых клетках, их экспрессия снижается по мере созревания клеток. Возможно, мутации именно этих генов играют основную роль в воспроизведе-

нии лейкозных стволовых клеток, с чем связаны рецидивы заболевания.

Среди генов, с которыми связана нормальная дифференцировка клеточных предшественников, важнейшими являются *CEPPA* и *PU.1*. Мутации гена *CEPPA* обнаруживаются у 10 % больных ОМЛ, гена *PU.1* — у 20 %. При современной терапии получены хорошие результаты лечения больных с мутациями этих генов.

В вопросах терапии ОМЛ сейчас не вызывает сомнений важность определения минимальной резидуальной болезни (МРБ), поскольку установлена корреляция между сохранением или исчезновением и временем исчезновения МРБ и длительностью ремиссии. Для определения МРБ используют наличие хромосомных аберраций, а у больных с их отсутствием — экспрессию некоторых генов с помощью флюорометрических методов. Такими маркерами могут служить гены *FLT3* и *NPM1*, если имеется их мутация. Однако у 30–40 % больных ОМЛ нет мутаций этих генов. В последние годы установлено, что у 85 % больных ОМЛ уровень экспрессии гена опухоли Вильмса (ген *WT1*) по крайней мере на 3 lg (в 1000 раз) выше, чем у здоровых лиц. В настоящее время некоторые клиники, например в Италии, используют определение экспрессии этого гена с помощью полимеразной цепной реакции для контроля МРБ.

Главное направление исследований по терапии ОМЛ в настоящее время — это наиболее точное, учитывающее все известные прогностические факторы определение индивидуального прогноза (группы риска) для каждого пациента.

Известно, что 25–35 % больных ОМЛ нуждаются в двух курсах терапии для достижения полной ремиссии. У этих больных риск рецидива выше, чем у пациентов, у которых ремиссия достигнута после одного курса. Особенно часто не достигается ремиссия после первого курса терапии у лиц пожилого возраста. В нескольких исследованиях показано, что у пациентов старше 70 лет риск умереть после первого индукционного курса составляет 30–50 %.

Больных до 55 лет, у которых не достигнута полная ремиссия после первого курса, следует рассматривать как кандидатов для аллогенной трансплантации стволовых кроветворных клеток. Однако во многих исследованиях остается высокой (15–30 %) смертность, связанная с процедурой трансплантации, что нередко нивелирует преимущества этого метода терапии. Тем не менее имеющиеся результаты показывают, что у пациентов, относящихся к группам промежуточного и высокого риска, установленного на основании данных цитогенетического исследования, безрецидивная выживаемость после трансплантации достоверно превышает таковую у не получивших трансплантации. В то же время у больных без цитогенетических нарушений и у больных с мутациями нуклеофозмина без одновременной мутации FLT3-тирозинкиназы трансплантация не дает преимуществ в общей и безрецидивной выживаемости.

До настоящего времени нет единого мнения о том, сколько консолидационных курсов терапии необходимо для достижения длительной ремиссии. Известно, однако, что пациенты с вовлечением CBF (core binding factors) имеют два транскрипционных фактора: α и β. Фактор α участвует в транслокации (8;21), β — в транслокации (16;16) и инверсии 16. Оба фактора регулируют развитие гемопоэза, получившие 3–4 курса высоких доз цитозина-арабинозида имеют достоверно более низкий риск рецидива, чем получившие меньшее число таких курсов. У пациентов этой группы после указанных консолидационных курсов в 70–80 % случаев наблюдается многолетняя безрецидивная выживаемость.

Интересное наблюдение сделано в университетской клинике Туниса. На основании исследования и лечения 39 пациентов с острым промиелоцитарным лейкозом авторы пришли к выводу, что частота возникновения и тяжесть ATRA-синдрома коррелировала с массой тела пациентов. У пациентов с индексом массы тела, превышающим 35, что соответствует ожирению II степени, частота этого синдрома и его тяжесть были достоверно выше.

В течение многих лет комбинация цитозина-арабинозида и антрациклинов остается наиболее эффективным методом лечения ОМЛ, однако постоянно ведутся поиски новых подходов к терапии, которые дали бы возможность улучшить имеющиеся результаты. На конгрессе было несколько сообщений о новых препаратах или комбинациях, некоторые из них после окончания клинических испытаний могут войти в лечебный арсенал.

Известно, что мутации FLT-тирозинкиназы ухудшают прогноз при ОМЛ.

В сообщении из США были доложены результаты исследования нового ингибитора многих тирозинкиназ — сорафениба (Sorafenib). Из 48 включенных в исследование пациентов с рецидивом ОМЛ 14 имели мутации FLT-тирозинкиназы. Терапия включала высокие дозы цитозина-арабинозида (1,5 г/м^2 в течение 4 дней), стандартные дозы идарубицина (12 мг/м^2 в течение 3 дней) и сорафениб по 400 мг 2 раза в день. Оценены ко времени доклада данные 45 больных, 14 из них — с мутациями FLT-тирозинкиназы. Полные ремиссии получены у 38 (84 %) пациентов, в т. ч. у всех 14 с мутациями FLT-тирозинкиназы.

В другом сообщении из США были доложены результаты применения клофарабина в качестве единственного препарата для лечения 116 больных ОМЛ старше 70 лет. Клофарабин назначался по 30 мг/м^2 в течение 5 дней для индукции и по 20 мг/м^2 в течение 5 дней (всего 6 циклов) для консолидации. Полные ремиссии получены у 45,5 % пациентов, общая выживаемость для всей группы составила 41 нед., у пациентов с полной ремиссией — 72 нед.

Французская исследовательская группа доложила результаты использования комбинации цитозина-арабинозида, идарубицина и ломустина (CCNU) для лечения больных ОМЛ старше 60 лет. Пациенты были рандомизированы: одна группа (339 человек) получала идарубицин по 8 мг/м^2 в сутки в течение 5 дней и цитозин-арабинозид по 100 мг/м^2 в течение 7 дней, вторая (508 человек) — ту же терапию с добавлением ломустина в дозе 10 мг/м^2 в 1-й день терапии. В первой группе 45 % больных, во второй — 55 % были старше 69 лет ($p = 0{,}0001$). Несмотря на это, частота полных ремиссий была достоверно выше во второй группе: 67 и 57 % соответственно ($p = 0{,}002$). Средняя выживаемость также была выше во второй группе: 12,7 и 8,7 мес. соответственно ($p = 0{,}004$).

Доложены также первые результаты исследования эффективности линтузумаба — антитела к антигену CD33. Препарат хорошо переносился и показал свою эффективность, но это была только I фаза клинических испытаний.

Приходится признать, что в настоящее время нет изменений в терапии ОМЛ, которые позволили бы принципиально улучшить имеющиеся результаты.

ХРОНИЧЕСКИЙ МИЕЛОЛЕЙКОЗ

Подготовили *А. Ю. Зарицкий, Е. Г. Ломаиа*

В разделе хронического миелолейкоза по-прежнему остается наиболее интересным и важным с практической точки зрения терапия ингибиторами тирозинкиназ. Каких-либо неожиданных результатов на данном конгрессе не отмечено. Кривая выживаемости больных, леченных иматинибом, по-прежнему на очень высоком уровне, а количество неблагоприятных событий (смерть, прогрессия в фазы акселерации и бластного криза) с годами уменьшается. Остались неизменными и данные о равной эффективности (очень высокой) и разной токсичности нилотиниба и дазатиниба в качестве первой и второй линий терапии.

Многообещающий препарат гомохаррингтонин не показал себя в качестве высокоэффективного средства при резистентных формах хронического миелолейкоза, в т. ч. при мутации T315I.

Заслуживает внимания клиническое исследование по отмене гливека (F. Mahon). В исследование включались больные с молекулярной ремиссией в течение 2 лет. Оказалось, что примерно в 50 % случаев рецидивов не было. Это, по-видимому, свидетельствует о возможности полной эрадикации лейкозных клеток при применении ингибиторов тирозинкиназ. Очень частый мониторинг заболевания позволил выявить ранний молекулярный рецидив (в течение первых 6 мес. после отмены иматиниба) у остальных больных. Почти (!) у всех из них удалось получить повторную молекулярную ремиссию после возобновления терапии иматинибом. Это наводит исследователей на мысль, что необходимо у больных с молекулярной ремиссией использовать методы иммунотерапии с целью полной эрадикации стволовых лейкозных клеток (вакцины, интерферон). Важно понимать, что отмена иматиниба может проводиться только в рамках строго очерченного клинического исследования, при возможности регулярного молекулярного исследования и незамедлительного предоставления всех возможных методов лечения в случае рецидива болезни.

Важным аспектом конгресса был пересмотр критериев эффективности терапии (критерии European Leukemia Net, ELN). Группа исследователей (M. Baccarani, R. Hehlmann и др.), подготовившая рекомендации 2006 г., предложила внести в них изменения. Основные из них сводятся к тому, что эффективностью лечения (оптимальный ответ) следует считать достижение цитогенетического ответа менее 65 % Ph+ клеток к 3 мес. терапии гливеком. Не выявлено какой-либо значимости патологии хромосомы 9, поэтому данный признак исключен из факторов, требующих особого внимания. Существенным представляется включение факторов эффективности второй линии терапии. Так, оптимальным ответом на терапию ингибиторами второй линии следует считать достижение большого и полного цитогенетического ответов к 3 и 6 мес. соответственно. Высказывались и другие соображения — прогнозирование эффективности второй линии в зависимости от результатов лечения иматинибом (J. Goldman). В любом случае авторы подчеркивали, что их критерии носят рекомендательный характер.

Представляется, что раннее реагирование на отсутствие оптимального ответа повышением доз гливека или сменой терапии является весьма прогрессивным.

Высокую эффективность раннего использования аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток отметила исследовательская группа из Германии (***R. Hehlmann***).

Много внимания было уделено и лабораторным исследованиям. ***S. Soverini*** продемонстрировала, что с использованием высокоразрешающих методов исследования можно выявить мутации у многих больных ХМЛ и Ph+ ОЛЛ до начала терапии иматинибом. Кроме того, развитие резистентности сопровождалось появлением новых мутаций. Это свидетельствует о важной научной значимости исследования мутаций, по-видимому, как проявления нестабильности генома. Однако с практической точки зрения не представляется важным широкое исследование больных для выбора терапии.

F. Mahon в очередной раз приводил данные о разной эффективности терапии у больных с неодинаковой концентрацией гливека в крови. Отношение к практической значимости данного теста более чем критическое.

К сожалению, не так много было представлено исследований, посвященных биологии заболевания. В докладе на пленарном заседании были доложены наиболее интересные данные, полученные в последние годы. Оказалось, что лейкозные стволовые клетки, составляющие основу минимальной остаточной болезни при хроническом миелолейкозе, чувствительны к иматинибу. Однако для их выживания и функционирования в состоянии покоя принципиален не ген *bcr-abl*, а ген β-катенина. Это еще раз показывает, что для эрадикации лейкозных клеток нужно использовать принципиально новые подходы (иммунотерапии?), а не просто увеличивать активность новых и новых ингибиторов тирозинкиназ.

ХРОНИЧЕСКИЙ ЛИМФОЛЕЙКОЗ

Подготовила *М. А. Волкова*

В последние годы изучение патогенеза и внедрение протоколов современного лечения хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) стало одной из ключевых проблем в гематологии. Важнейшим вопросом исследования В-клеточных опухолей является выяснение того, из какого нормального клеточного пула происходит конкретная опухоль. Определение этого пула — первый шаг в изучении патогенеза данной опухоли. В течение 1990-х годов было установлено, что почти все типы лимфом имеют гипермутации генов вариабельных регионов иммуноглобулинов. Это привело к пониманию того, что реакции герминального центра и те изменения, которым лимфоциты там подвергаются, играют ключевую роль в генезе В-клеточных опухолей.

В большинстве известных лимфом (фолликулярная лимфома, лимфома Беркитта, диффузная В-крупноклеточная лимфома) клетки, состав-

ляющие морфологический субстрат опухоли, имеют признаки соматических гипермутаций генов тяжелых цепей иммуноглобулинов.

Только два вида В-клеточных опухолей имеют как вариант с признаками мутаций генов иммуноглобулинов, так и вариант без таковых. Это лимфома мантийной зоны, которая в 80 % случаев имеет морфологическим субстратом лимфоциты без признаков соматических гипермутаций генов иммуноглобулинов, и ХЛЛ, при котором примерно в 50 % случаев морфологический субстрат опухоли составляют лимфоциты, не имеющие соматических гипермутаций генов иммуноглобулинов, и в 50 % случаев — лимфоциты с мутациями этих генов. Это обстоятельство, казалось бы, позволяет считать, что разные виды ХЛЛ происходят из разных популяций нормальных клеток, однако в последние годы получены доказательства того, что это не так. Изучение профиля экспрессии генов при ХЛЛ показало, что все случаи имеют практически одинаковый профиль, независимо от наличия или отсутствия гипермутаций генов иммуноглобулинов, так же как и от экспрессии молекул, являющихся прогностическими маркерами при ХЛЛ.

Более того, в последние годы установлено, что лимфоциты больных ХЛЛ — не родственников часто имеют идентичные В-клеточные рецепторы. Иными словами, ХЛЛ является В-клеточной опухолью, морфологический субстрат которой составляют лимфоциты, экспрессирующие стереотипный В-клеточный рецептор. Это может быть только результатом определенной и практически однотипной антигенной стимуляции. Недавно стало возможным идентифицировать специфические антигены, распознаваемые клеточным рецептором при ХЛЛ, — это антигены, происходящие из клеток организма хозяина, подвергающихся апоптозу, а также некоторые эпитопы, одинаковые с микробными антигенами. Полученные данные позволяют считать, что антигенная стимуляция играет основополагающую роль в развитии ХЛЛ. Это подтверждается тем обстоятельством, что иммунофенотип патологических В-клеток при ХЛЛ не напоминает иммунофенотип никаких нормальных В-клеток, а похож на иммунофенотип антиген-активированных В-клеток CD27+.

В 2002 г. были опубликованы данные, показавшие, что среди больных ХЛЛ существует группа (примерно 10 %), лимфоциты которых имеют соматические гипермутации генов иммуноглобулинов, но несмотря на это, прогноз у этих пациентов плохой. Лимфоциты этих больных всегда содержали гены *IgVH* семейства 3–21, кроме того, в лимфоцитах 50 % этих больных оказался практически одинаковым CDR3 (complementary determining region 3) — участок иммуноглобулинового рецептора В-лимфоцита, определяющий взаимодействие с конкретным антигеном. Это также демонстрирует очень высокую вероятность того, что антигенная стимуляция служит причиной развития ХЛЛ. Недавно были опубликованы данные, показывающие, что и в других группах ХЛЛ (*IgVH* 1–69, *IgVH* 4–39) у более чем 20 % больных имеется одинаковый CDR3. Это также подтверждает предположение о роли определенных антигенов в развитии ХЛЛ.

В настоящее время появляются наблюдения, показывающие, что помимо группы больных с *IgVH* 3–21 плохой прогноз с повышенной частотой трансформации в диффузную В-крупноклеточную лимфому (синдром Рихтера) наблюдается в группе ХЛЛ с *IgVH* 4–39 и однотипным CDR3. В доложенных на конгрессе наблюдениях этот риск в группе пациентов с указанными признаками за 5 лет составил 68,7 %.

В последние годы все большее внимание уделяется изучению при ХЛЛ роли микросателлитов (miR, microRNA) — молекул РНК, которые не кодируют образование белка, а регулируют экспрессию определенных генов. Недавно был сделан анализ miR практически всего генома у больных ХЛЛ, показавший, что имеется по крайней мере 13 miR, специфичных для ХЛЛ, и что сниженная активность miR29c и miR223 связана с плохим прогнозом. На конгрессе доложена работа из Бельгии, в которой было показано, что экспрессия miR29c и miR223 достоверно снижается по мере прогрессирования ХЛЛ от стадии А к В и С и что экспрессия указанных микросателлитов достоверно меньше у больных, имеющих другие прогностически неблагоприятные признаки: неблагоприятные цитогенетические аберрации, высокий уровень β_2-микроглобулина, липопротеидлипазы, экспрессия Zap-70, высокий уровень экспрессии CD38. У пациентов со сниженной активностью указанных микросателлитов была достоверно ниже общая и безрецидивная выживаемость.

Было констатировано, что в лечении ХЛЛ рационально применять подход, учитывающий прогностические факторы, прежде всего данные цитогенетического анализа.

На конгрессе была доложена работа из Италии, в которой показано, что больные с делецией 13q имеют особый генный профиль, который выявляется с помощью высокоразрешающей техники с использованием микрочипов.

Один из главных вопросов в настоящее время: нужно ли назначать лечение больным с плохим прогнозом, но находящихся в стадии А и не имеющих признаков прогрессирования? В настоящее время в Германии и Франции начаты рандомизированные исследования, которые должны дать ответ на этот вопрос.

Кажется рациональным не употреблять алкилирующие агенты для лечения больных с изменениями p53 (с делецией 17p). Во многих случаях у больных с делецией 17p имеются мутации гена *TP53* на второй хромосоме 17. Это ведет к тому, что в результате терапии клетки оказываются поврежденными, но не способными подвергнуться апоптозу. Такая ситуация может быть потенциально неблагоприятной.

В настоящее время большими рандомизированными исследованиями подтверждено, что методом выбора в терапии ХЛЛ является схема RFC — комбинация ритуксимаба, флударабина и циклофосфана. Рандомизированное исследование германской исследовательской группы (CLL8), которое включило 800 ранее нелеченных больных ХЛЛ, показало, что полные ремиссии в группе получавших ритуксимаб достигались в 2 раза чаще (27 % при лечении комбинацией флударабина и циклофосфана — схема FC, 52 % — при добавлении к этим препаратам ритуксимаба — схема RFC). В тех случаях, когда флударабин не может быть назначен, например когда он вызывает гемолиз, рационально использовать алкилирующие агенты, прежде всего хлорамбуцил, который может быть применен в сочетании с мабтерой.

Кооперированные исследования, проведенные в Чешской Республике, включившие 107 пациентов, показали, что общий ответ составил 92 %, полные ремиссии достигнуты в 47 % случаев. Медиана беспрогрессивной выживаемости составила 30 мес., медиана общей выживаемости не достигнута.

Исследовательская группа из США доложила результаты рандомизированного исследования эффективности добавления облимерсена (Oblimersen) к сочетанию флударабина с циклофосфаном у ранее леченных больных ХЛЛ с рецидивом заболевания. Всего иссле-

дован 241 больной: 120 получали FC в стандартных дозах, 121 — такую же терапию + облимерсен. У пациентов, чувствительных к флударабину, получено наибольшее увеличение эффекта от добавления облимерсена.

Были доложены результаты лечения ХЛЛ с наиболее неблагоприятным прогностическим признаком — делецией 17p — комбинацией алемтузумаба (Кэмпас) и метилпреднизолона. Больные получали кэмпас по 30 мг 3 раза в неделю в течение 16 нед., первые 4 нед. внутривенно, затем подкожно. Метилпреднизолон назначался по 1 г/м^2 в сутки в течение 5 последовательных дней на протяжении 1, 5, 9 и 13-й недель. Частота полных ремиссий составила 24 % в общей популяции и 37 % у ранее нелеченных больных. У 3 пациентов достигнута молекулярная ремиссия.

На конгрессе также были доложены результаты международного исследования по использованию алемтузумаба с целью достичь молекулярную ремиссию у пациентов, получивших лечение флударабин-содержащими режимами, у части пациентов — с добавлением ритуксимаба. Алемтузумаб назначался по 30 мг подкожно 3 раза в неделю на протяжении 6–12 нед. В результате такой консолидации у 18 из 24 больных получены молекулярные ремиссии. Однако лечение сопровождалось многими инфекционными осложнениями.

Были сообщены также результаты аллогенной трансплантации стволовых кроветворных клеток у больных ХЛЛ, по данным регистра EBMT за 10 лет. За это время трансплантация была проведена 374 больным. 5-летняя выживаемость после трансплантации строго коррелировала со статусом до трансплантации: после трансплантации, сделанной в полной ремиссии, она составила 73 %, у больных с частичной ремиссией — 57 % и у больных, получивших трансплантацию при прогрессировании заболевания, — 35 % ($p < 0{,}00001$).

Несколько докладов было посвящено новым лекарственным средствам, в частности, была продемонстрирована высокая эффективность нового антитела к антигену CD20 — офатумумаба (Ofatumumab).

ЛЕЙКОЗ ИЗ БОЛЬШИХ ГРАНУЛЯРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ

Подготовил *В. А. Доронин*

Большие гранулярные лимфоциты (БГЛ) составляют приблизительно 10–15 % общего количества мононуклеаров периферической крови. Большинство этих лимфоцитов (85 %) представлено CD3-негативными NK-клетками. Цитологическими особенностями БГЛ являются эксцентрично расположенное ядро и обильная цитоплазма, содержащая азурофильные гранулы. Пролиферация БГЛ может быть как поли-, так и моноклональной. Поликлональная пролиферация обычно преходящая и часто наблюдается при различных вирусных инфекциях (например, вызванных вирусом Эпштейна—Барр), солидных опухолях, диффузных заболеваниях соединительной ткани, после спленэктомии. Олиго- или моноклональная пролиферация БГЛ отмечена у пациентов с В-клеточными опухолями, после аллогенной трансплантации костного мозга, на фоне терапии ритуксимабом и как результат глубокого В-клеточного дефицита. В новой классификации ВОЗ опухолей кроветворной и лимфоидной тканей 2008 г. выделяют два варианта лейкоза из БГЛ: Т-клеточный лейкоз из БГЛ (Т-ЛБГЛ) и NK-клеточное хроническое лимфопролиферативное заболевание (NK-ХЛПЗ).

Большинство случаев Т-ЛБГЛ характеризуется экспансией активированных цитотоксических Т-лимфоцитов памяти, имеющих иммунофенотип, представленный Т-клеточным рецептором α/β (TKP), CD8+, CD4–, реже фенотип $CD4^+CD8^{-/+dim}$ и лишь в незначительной части — лимфоцитами γ/δ+.

E. Matutes были представлены современные аспекты этиологии, патогенеза, клиники, диагностики и лечения Т-ЛБГЛ.

До настоящего времени этиология Т-ЛБГЛ неизвестна. В ряде работ выдвигается предположение о роли хронической антигенной стимуляции как ауто-, так и чужеродными антигенами в качестве первичного онкогенного события. Это приводит к пролиферации цитотоксических клеток памяти, которые в последующем не подвергаются элиминации из-за нарушений в системе апоптоза. На роль хронической антигенной стимуляции в развитии Т-ЛБГЛ указывает частое сочетание с различными аутоиммунными заболеваниями, такими как ревматоидный артрит, синдром Шегрена, тиреоидит Хасимото, системная красная волчанка и др. В ранних работах, посвященных Т-ЛБГЛ, в качестве этиологических агентов рассматривали вирус Эпштейна—Барр и вирус Т-клеточного лейкоза человека. Однако в последующих исследованиях эти предположения не были доказаны.

В физиологических условиях после осуществления необходимого иммунного ответа происходит элиминация стимулированных антигеном эффекторных Т-клеток за счет Fas-опосредованного апоптоза, который индуцируется сигнальным комплексом DISC (death-inducing signaling complex). Этот сигнальный комплекс формируется в течение нескольких секунд после связывания лиганда с одним из рецепторов апоптоза, например CD95/Fas, а также некоторых других белков, относящихся к семейству фактора некроза опухоли (TNF). Клональные БГЛ экспрессируют на своей поверхности большое количество молекул Fas и Fas-лиганда, однако резистентны к Fas-индуцированному апоптозу. Мутаций генов Fas-рецептора при Т-ЛБГЛ обнаружено не было, поэтому, очевидно, в нарушении Fas-зависимого апоптоза играют роль другие механизмы. Один из них — это избыточная экспрессия белка-ингибитора DISC, который получил название c-FLIP. c-FLIP в большом количестве представлен на БГЛ, что препятствует формированию DISC и, соответственно, Fas-зависимому апоптозу. Существуют и другие нарушения, препятствующие реализации нормального механизма программированной клеточной гибели. В экспериментах с микрочипами установлено, что клетки при Т-ЛБГЛ имеют существенные отличия от нормальных наивных и активированных Т-клеток памяти. В основном это относится к категории генов, регулирующих апоптоз. Так, в клетках Т-ЛБГЛ по сравнению с нормальными клетками CD8+ чрезвычайно высока экспрессия TNFAIP3 (tumor necrosis factor alpha induced protein 3). Этот белок подчиняется NF-κB и защищает Т-лимфоциты от апоптоза, вызываемого TNF. Активация Т-клеток сопровождается снижением экспрес-

сии TNFAIP3, в состоянии активации Т-лимфоциты склонны к апоптозу. В клетках Т-ЛБГЛ этого не происходит. Кроме того, установлено, что в клетках Т-ЛБГЛ усилена экспрессия генов, регулирующих метаболизм церамидов. Церамиды относятся к сфинголипидам — одним из основных компонентов клеточных мембран. Долгое время считалось, что сфинголипиды являются просто структурным компонентом мембраны. Однако к настоящему времени накоплены данные о том, что они обладают проапоптозным свойством. Увеличение концентрации сфинголипидов в мембране приводит к апоптозу. Установлено, что в клетках Т-ЛБГЛ гиперэкспрессирована церамидаза, катализирующая деградацию церамидов и, следовательно, препятствующая апоптозу.

Интересные данные получены при изучении патогенеза редкой формы Т-ЛБГЛ, представленной иммунофенотипом ТКР α/β, $CD4^{+}CD8^{-/+dim}$. Установлено, что хроническая стимуляция Т-лимфоцитов цитомегаловирусом (ЦМВ) приводит к клональной пролиферации $CD4^{+}CD8^{-/+dim}$ БГЛ. Эти клетки экспрессируют идентичный вариант β-цепи Т-клеточного рецептора — ТКР-Vbeta13.1, и у больных с этим фенотипом отмечается ассоциация с определенным HLA-генотипом — HLA-DRB1*0701. В CD4+ БГЛ, специфичных для ЦМВ, происходят изменения в генах, регулирующих апоптоз, клеточный цикл, а также отвечающих за генетическую стабильность. По-видимому, ТКР α/β, $CD4^{+}CD8^{-/+dim}$ вариант Т-ЛБГЛ развивается у лиц с генетической предрасположенностью в результате хронической стимуляции ЦМВ.

Т-ЛБГЛ диагностируется в основном у пожилых лиц. Приблизительно $^{1}/_{3}$ больных на момент установления диагноза не имеет каких-либо клинических симптомов, а из лабораторных изменений отмечается только небольшой лимфоцитоз и нейтропения. Для бессимптомной клональной пролиферации Т-лимфоцитов даже предложен термин «Т-клеточная клонопатия неопределенного значения». Рецидивирующие инфекции обусловлены преимущественно нейтропенией и наблюдаются в дебюте у 20–40 % больных. У 50 % пациентов отмечается спленомегалия, около 20 % имеют кожные поражения. Гепатомегалия и лимфаденопатия — редкие клинические проявления заболевания. У больных с фенотипом $CD4^{+}CD8^{-/+dim}$ цитопении и аутоиммунные заболевания отмечаются редко. Часто эта форма заболевания сочетается с другими опухолями. Уровень лейкоцитов при Т-ЛБГЛ может быть нормальным или незначительно повышенным. Заболевание далеко не всегда сопровождается абсолютным лимфоцитозом, а у некоторых пациентов может наблюдаться даже лимфопения, но во всех случаях повышено количество БГЛ. В $^{1}/_{3}$ случаев отмечается анемия и тромбоцитопения. Наиболее частым лабораторным отклонением является нейтропения, степень которой не зависит от объема инфильтрации костного мозга или гиперспленизма. У больных Т-ЛБГЛ часто обнаруживают серологические изменения, характеризующие различные аутоиммунные заболевания (ревматоидный фактор, антинуклеарные антитела, иммунные комплексы, поликлональная гипергаммаглобулинемия).

Диагноз Т-ЛБГЛ может быть заподозрен при повышении количества БГЛ > 2000/мкл в течение более 6 мес. Однако этот критерий не является абсолютным и для установления диагноза необходимы соответствующие морфологические, иммунологические и молекулярно-генетические изменения. Предложены следующие диагностические подходы.

1. Определяется циркуляция повышенного количества лимфоцитов с морфологией БГЛ.
2. Имеется соответствующий иммунофенотип Т-ЛБГЛ.
3. Необходимо подтверждение клональности молекулярно-генетическими методами.
4. Сопоставление всех перечисленных выше характеристик с клинической картиной.

По мере накопления данных стало понятно, что у 25–35 % больных с впервые выявленным Т-ЛБГЛ опухолевых клеток меньше 2000/мкл. Поэтому этот критерий в настоящее время больше не используется.

Исследование костного мозга не требуется для установления диагноза. Оно может иметь диагностическое значение у пациентов, у которых опухолевая популяция в крови мала. Несмотря на глубокую нейтропению, в миелограмме может наблюдаться увеличение количества миелоидных предшественников и «левый сдвиг». Число лимфоцитов может быть разным. По данным трепанобиопсии инфильтрация костного мозга может быть очень небольшой. Для установления диагноза, особенно в случаях с цитопенией и отсутствием значимого лимфоцитоза в периферической крови, необходимо подробное иммуногистохимическое исследование костного мозга. В большинстве случаев костный мозг нормо- или гиперклеточный. У 97 % больных обнаруживается интерстициальная лимфоидная инфильтрация. Лимфоидные узелки выявлялись у 55 % пациентов. Во многих обзорах упоминается, что типичным для Т-ЛБГЛ является обнаружение опухолевых клеток в синусоидах. При иммуногистохимическом исследовании опухолевые клетки CD8+ образовывают преимущественно интерстициальные инфильтраты. Нодулярные же скопления образованы клетками CD20+, по периферии которых располагаются лимфоциты CD4+. Типичной гистологической картиной Т-ЛБГЛ в костном мозге является интерстициальная инфильтрация клетками CD8+, а также узлы, состоящие из неклональных В-лимфоцитов, окруженных поликлональными клетками CD4+.

Типичный иммунофенотип Т-ЛБГЛ характеризуется экспрессией на опухолевых клетках антигенов CD2, CD3, CD8, CD16, CD57. Экспрессия антигена CD56 отмечается редко и связана с более агрессивным клиническим течением заболевания. Небольшое количество случаев представлено фенотипом $CD4^{+}CD8^{-/+dim}$ или $CD4/CD8^{-}$. Для характеристики иммунофенотипа Т-ЛБГЛ в последнее время также используют панель моноклональных антител, характеризующую NK-клетки. Эти антитела обнаруживают рецепторы, относящиеся к суперсемейству иммуноглобулинов. Они получили название иммуноглобулиноподобных рецепторов киллеров (KIR — killer cell immunoglobulin-like receptors). Эти рецепторы обозначены как CD158a, CD158b, CD158e, CD158i, CD94, CD161. В норме Т-лимфоциты не экспрессируют CD158a и очень слабо экспрессируют CD94 и/или CD161. При Т-ЛБГЛ отмечается аберрантная экспрессия CD94 и одного или более KIR, что может рассматриваться в качестве одного из маркеров клональности.

G. Semenzato дана характеристика новой нозологической формы, представленной в классификации ВОЗ 2008 г., которая получила название «хроническое NK-клеточное лимфопролиферативное заболевание».

NK-клетки являются основным компонентом системы врожденного иммунитета. Они имеют морфологию БГЛ и не экспрессируют на своей поверхности молекулы, ассоциированные с Т-клеточным рецептором (CD3, CD4, CD8). Для них характерна экспрессия антигенов CD16 и CD56. CD16 выполняет функции рецептора IgG,

посредством которого распознаются клетки-мишени, имеющие на своей поверхности антитела. Таким образом, осуществляется антителозависимая клеточная цитотоксичность. CD56 представляет собой изоформу адгезивной молекулы NCAM. Как уже упоминалось, NK-клетки экспрессируют в различном сочетании KIR, которые играют ключевую роль в регуляции их функции.

NK-ХЛПЗ встречается в основном у пожилых лиц. Средний возраст заболевших — 60 лет, без каких-либо расовых и половых различий. В противоположность другим NK-клеточным пролиферациям, в опухолевых клетках не обнаруживается геномная последовательность вируса Эпштейна—Барр. Предполагается, что клетками-мишенями для этого вируса являются дендритные клетки (ДК). При исследовании костного мозга у пациентов с NK-ХЛПЗ обнаружена топографическая взаимосвязь между ДК и NK-клетками. ДК являются источником интерлейкина (IL-15). Установлено, что этот цитокин играет важную роль в пролиферации NK-клеток. Опухолевые NK-клетки экспрессируют CD16, активирующие формы KIR и обычно имеют низкий уровень экспрессии CD56 и CD57. На поверхности клеток отмечается высокая плотность антигена CD94, особенно его ингибиторной изоформы NKG2A. Патологические клетки также характеризуются экспрессией цепей β и γ рецептора IL-2 и IL-15, что подтверждает патогенетическую значимость этих цитокинов в развитии заболевания.

NK-ХЛПЗ имеет хроническое доброкачественное течение. Оно может сочетаться с парциальной красноклеточной аплазией, васкулитами, нейропатией, аутоиммунными заболеваниями. Недавно показано развитие NK-ХЛПЗ у пациентов с хроническим миелолейкозом, получавших терапию дазатинибом. Предполагается, что пролиферация NK-клеток обеспечивает терапевтический противоопухолевый эффект в отношении Ph+ лейкозного клона. Цитопении, органомегалия, кожные поражения в противоположность Т-ЛБГЛ встречаются нечасто. В редких случаях, особенно у больных с вирусом Эпштейна—Барр, отмечается трансформация в агрессивный NK-клеточный лейкоз. Сообщается о нескольких случаях спонтанного регресса заболевания.

В NK-клетках гены Т-клеточного рецептора не перестроены. В прошлом для подтверждения диагноза можно было использовать цитогенетическое исследование (выявление клональных хромосомных аберраций) или анализ клональности по характеру инактивации Х-хромосомы. Непрямым методом подтверждения клональности может служить характер экспрессии KIR.

Принципы терапии Т-ЛБГЛ и NK-ХЛПЗ идентичны. Учитывая доброкачественный характер ЛБГЛ, у 1/3 больных в течение заболевания необходимости в проведении терапии вообще не возникает. Показаниями к началу лечения служат частые рецидивирующие инфекции, глубокая нейтропения, трансфузионно-зависимые анемия и/или тромбоцитопения, органомегалия. Цель лечения — коррекция цитопении без существенной редукции опухолевого клона, что может быть достигнуто назначением иммуномодулирующих препаратов. Выбор терапии первой линии включает монотерапию метотрексатом в относительно небольших дозах (10 мг/м2 в неделю), монотерапию циклофосфаном (50—100 мг/сут внутрь), циклоспорин А (5—10 мг/кг/сут). Кортикостероиды могут использоваться в начале лечения для достижения более быстрого ответа. Такая терапия оказывается эффективной приблизительно у 50 % больных. Длительность лечения должна составлять не менее 4 мес. Если эффекта нет в течение 4 мес., пациенту предлагают альтернативный вариант лечения. Пациентам, у которых удалось добиться ремиссии или улучшения, как правило, требуется поддерживающая терапия неопределенной длительности. К сожалению, в настоящее время нет многоцентровых рандомизированных исследований, сравнивающих различные варианты терапии. Самым представительным является анализ клинико-лабораторных характеристик и вариантов терапии ЛБГЛ, представленный французской группой исследователей (***T. Lamy***). Всего проанализировано 229 случаев. Диагноз Т-ЛБГЛ установлен у 201 пациента, а NK-ХЛПЗ — у 27. Медиана наблюдения составила 58 мес. За этот период лечение было назначено 100 (44 %) пациентам в основном по причине нейтропении и часто рецидивирующих инфекций. Варианты терапии включали кортикостероидные гормоны ($n = 33$), метотрексат ($n = 62$), циклофосфан ($n = 32$), циклоспорин ($n = 24$). Препараты назначались в качестве первой, второй, третьей или четвертой линии терапии без определенной закономерности. Оценивали общий ответ (ОО) и полный ответ (ПО). Результаты терапии были следующими:

- кортикостероиды — ОО 12 %, ПО 3 %;
- метотрексат — ОО 55 %, ПО 21 %;
- циклофосфан — ОО 66 %, ПО 45 %;
- циклоспорин — ОО 21 %, ПО 5 %.

Как видно из приведенных данных, циклофосфан демонстрирует лучший эффект в сравнении с другими вариантами терапии. В этом исследовании 5-летняя общая выживаемость составила 75 %, что еще раз подчеркивает доброкачественный характер течения ЛБГЛ.

Пациентам, у которых нет эффекта при терапии первой линии, назначают аналоги пуринов (флударабин, кладрибин) или кэмпас (моноклональное антитело к CD52).

Есть описания успешной терапии рефрактерных цитопений на фоне БГЛ с помощью антитимоцитарного глобулина с преднизолоном и циклоспорином, однако речь идет об описании нескольких случаев.

Спленэктомия не играет самостоятельной роли в терапии ЛБГЛ. Она может применяться при выраженной спленомегалии и рефрактерных цитопениях. В настоящее время проводится несколько клинических исследований новых препаратов в терапии ЛБГЛ (ингибитор фарнезилтрансферазы типифарниб, анти-CD2 моноклональное антитело сиплизумаб).

МНОЖЕСТВЕННАЯ МИЕЛОМА, МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ ГАММАПАТИИ, НЕХОДЖКИНСКИЕ ЛИМФОМЫ

Подготовил *Ю. М. Кучма*

Образовательная программа 14-го конгресса Европейской гематологической ассоциации включала три лекции по множественной миеломе.

Лекция 1. Патобиология, генетика и клинические результаты лечения миеломы (G. Morgan и K. Boyd, Котсуолд, Великобритания)

В Великобритании ежегодно выявляется более 3000 новых пациентов с множественной миеломой (ММ), 40 % из них в возрасте до 60 лет. В лекции анализируются пути определения индивидуального прогноза пациентов с ММ на основе выявляемых генетических нарушений. Традиционные стадирующие системы (Durie-Salmon и Международная стадирующая система — International Stading System, ISS) разделяют пациентов на прогностические группы, однако они не могут достоверно определить индивидуальный прогноз. Это деление по группам не учитывает современных знаний биологической и молекулярной характеристик клетки ММ и роли костномозгового микроокружения в патогенезе заболевания. В лекции подробно описываются молекулярные механизмы нормальной плазмоклеточной дифференцировки, микроокружение и сигнальные пути плазматических клеток, генетические механизмы и молекулярное моделирование ММ. Приводится цитогенетическая классификация, в которой выделяют две главные подгруппы миеломы: гипердиплоидная и негипердиплоидная. Гипердиплоидная подгруппа (плазматические клетки злокачественного клона содержат более 46 хромосом) имеет несколько лучший прогноз. Негипердиплоидная подгруппа характеризуется высокой частотой рекомбинантных событий, сосредоточенных на IgH в локусе 14q32. Идентифицировано пять главных транслокаций:

1) t(4;14)(p16;q32) обнаруживается у 10 % больных ММ и приводит к дисрегуляции двух генов (*FGFR3* и *MMSET*). Она ассоциируется с IgA-миеломой и является независимым предиктором плохого исхода. Большинство t(4;14) случаев также имеют del(13);
2) t(6;14)(p21;q32) приводит к повышенной экспрессии CCND3 (4 % первичных больных);
3) t(11;14)(q13;q32) встречается у 15 % больных ММ и ведет к повышенной экспрессии циклина D1 (CCND1), регулятора клеточного цикла;
4) t(14;16)(q32;q23) приводит к повышенной экспрессии транскрипционного фактора c-MAF и ассоциируется с плохим прогнозом. Эту группу характеризует повышенная экспрессия циклина D2 (CCND2), промотора клеточного цикла;
5) t(14;20)(q32;q21) приводит к повышенной экспрессии MAFB, транскрипционного фактора, который ведет к увеличению экспрессии CCND2 и также ассоциируется с плохим прогнозом.

Предложена классификация, учитывающая молекулярные изменения, которые возникают в результате разных типов транслокаций, вовлекающих гены иммуноглобулинов, и вызывают повышенную экспрессию разных циклинов группы D. Высокий уровень циклинов D1, D2 и D3 обусловлены транслокациями, которые нарушают их регуляцию. Используя эти две основные черты, можно разграничить 8 отдельных групп пациентов. Большой раздел лекции посвящен генному картированию и его значению у больных ММ. Генное картирование высокого разрешения определило регионы и гены, которые значимы для патогенеза миеломы. Некоторые из них имеют прогностическое значение, достаточное для изменения традиционного лечения пациента. Но пока более значимые генетические повреждения обнаруживаются с помощью FISH. Больные с 17p- и транслокациями (4;14), (14;16), (14;20) имеют худший прогноз, чем без них. Поэтому они называются транслокациями высокого риска.

Альтернативным подходом, выявляющим индивидуальные повреждения, является определение профиля экспрессии генов (gene expression signatures). Первый прогностический профиль экспрессии генов был разработан на пациентах, которые получили тандемную аутологичную трансплантацию. Было определено 70 генов, профиль экспрессии которых идентифицировал 13 % пациентов с риском ранней смерти, связанной с заболеванием. Он был более значимым прогностическим индикатором, чем ISS. Недавно тем же методом был разработан 15-генный профиль выживаемости в группе пациентов, леченных химиотерапией с последующим высокими дозами мелфалана и пересадкой стволовых клеток. Пациенты из группы высокого риска имели повышенную экспрессию генов, вовлекаемых в клеточный цикл, и 3-летнюю общую выживаемость (overall survival, OS) — 47 %. Пациенты из группы низкого риска показывали гипердиплоидность и имели 3-летнюю OS 90 %. Этот профиль также разграничил пациентов с лучшим и худшим прогнозом более эффективно, чем ISS. Авторы приводят собственный прогностический профиль экспрессии генов, основанный на шести генах. Они делают **вывод, что понимание генетических нарушений, связанных со злокачественными свойствами плазматических клеток, вероятно, является лучшим путем предсказания индивидуального прогноза.** Некоторые профили экспрессии генов, обнаруженные в последнее время, могут иметь достаточную прогностическую силу и стать наиболее эффективным способом идентификации пациентов высокого риска. Однако они сравнительно новые при миеломе, технология не доступна широко в клинической практике и продолжает оставаться экспериментальным инструментом. В настоящее время нарушения, выявляемые методом FISH, в комбинации с такими независимыми факторами риска, как уровень β_2-микроглобулина, — наиболее точный прогностический инструмент, который мы имеем для впервые выявленного пациента с ММ.

Лекция 2. Экспериментальные агенты, «стучащиеся в дверь» лечения миеломы (N. C. Munshi, Бостон, США)

Для того, чтобы преодолеть резистентность к современным методам терапии и улучшить результаты лечения пациентов, разрабатываются новые лечебные подходы, основанные на знании биологии опухолевой клетки и ее костномозгового микроокружения. Для изучения внутренних и внешних факторов роста и выживания клеток ММ, устойчивости к лекарствам, миграции клеток ММ в костномозговое микроокружение авторы разработали системы моделирования *in vitro* и *in vivo*. Эти моделирующие системы способствовали развитию биологиче-

ски обоснованных методов лечения, которые нацелены на клетки ММ и их костномозговое микроокружение и преодолевают классическую лекарственную устойчивость. Теперь все новые препараты тестируются в мышиных моделях миеломы человека. И талидомид, и леналидомид, и бортезомиб подавляют рост человеческих клеток ММ, уменьшают ассоциированный ангиогенез и продлевают выживаемость хозяина в животных моделях. Однако, несмотря на высокий уровень успеха этих новых агентов, болезнь рецидивирует и пациенты нуждаются в новых целенаправленных методах лечения.

Изучение молекулярного патогенеза ММ с помощью профиля экспрессии генов показало последовательные генетические изменения в плазматических клетках от нормальных до злокачественных и выявило пути трансформации нормальных плазматических клеток в моноклональную гаммапатию неопределенного значения и далее в ММ. Геномные и белковые исследования обеспечивают доклинический базис для клинического применения новых целенаправленных методов терапии. Для идентификации новых мишеней терапии необходимо понимание молекулярных сигнальных путей.

Обсуждается список из 20 молекул на поверхности клетки и 23 препарата, направленные на эти молекулы, которые находятся в I и II фазах клинических испытаний. Большинство из них представлено различными антителами к молекулам на поверхности клетки (IL-6, CD40, CD52, CD56, CD74, CD138 и др.). Внутри клеток ММ выделено 17 молекул, к которым 27 новых препаратов также находятся в I и II фазах клинических исследований. Профиль экспрессии генов пациентов все больше используется в клинических протоколах. С его помощью предстоит определить лекарственную чувствительность или резистентность и предсказывать, какие пациенты будут отвечать на традиционные и новые методы лечения. В настоящее время для того, чтобы выбор новых препаратов был более эффективным, можно исследовать генный и белковый профиль экспрессии в индивидуальных образцах опухоли больного.

Лекция 3. Лечебные опции для миеломы в 2009 г. (J. Blade и L. Rosinol, Барселона, Испания)

До недавнего времени медиана выживаемости пациентов с ММ составляла около 3 лет и число длительно живущих было мало. Введение высокодозной химиотерапии с поддержкой аутологичными стволовыми клетками (high-dose therapy/autologous stem cell transplantation, HDT/ASCT) и внедрение новых лекарств (талидомид, леналидомид, бортезомиб) с новыми механизмами действия привели к большему противоопухолевому эффекту и продлению выживания. Это произошло вследствие лучшей начальной терапии для кандидатов и некандидатов на HDT/ASCT и/или более эффективных режимов «спасения» для пациентов с рецидивирующей/рефрактерной болезнью, а также вследствие лучшей сопроводительной терапии. Новые режимы индукции приводят к более высокой претрансплантационной циторедукции с более высокой долей пациентов, достигающих полной ремиссии (complete response, CR) после трансплантации. Это обусловливает более продолжительную выживаемость без прогрессии по сравнению с предыдущими исследованиями. Аллогенная трансплантация с редуцированной интенсивностью кондиционирования является многообещающим подходом, который заслуживает дальнейшего исследования. Значительные улучшения были достигнуты в лечении пожилых пациентов, особенно при сравнении режима MP с MPT (MP + талидомид), MPV (MP + бортезомиб) или MPR (MP + леналидомид) либо с режимом леналидомид + дексаметазон. В рецидивной группе наличие талидомида, бортезомиба и леналидомида привело к более эффективным режимам «спасения». Продолжаются испытания III фазы различными национальными кооперативными группами как среди кандидатов, так и некандидатов для HDT/ASCT. Есть надежда, что результаты этих испытаний позволят выбрать более индивидуализированную антимиеломную терапию, возможно основанную на молекулярно-генетическом статусе.

HDT/ASCT рассматривается как «золотой стандарт» первоначальной терапии больных ММ моложе 65 лет. Полностью опубликованы результаты пяти испытаний, сравнивающих ASCT с традиционной химиотерапией. Два из них показали, что ASCT имела преимущества в достижении CR, бессобытийной выживаемости (event free survival, EFS) и OS, в то время как остальные три не показали преимуществ ASCT в длительности EFS и OS. Ответ на вопрос, является ли ASCT предпочтительной для большинства пациентов или общее преимущество получено за счет определенных подгрупп пациентов, предстоит определить.

Представляется, что достижение CR является наиболее важным шагом для продолжительного ответа и длительной выживаемости у пациентов с ММ. С другой стороны, чувствительность к начальной химиотерапии, измеряемая наличием М-протеина на момент трансплантации, — наиболее достоверный предиктор CR после ASCT. Согласно этой концепции, в последнем метаанализе Van de Velde и соавт. была найдена строгая взаимосвязь между максимальным ответом на индукционную терапию и отдаленным исходом. Претрансплантационная индукционная терапия различными традиционными режимами химиотерапии приводила к пре- и посттрансплантационной иммунохимически негативной CR в 5–10 и около 35 % случаев соответственно, а медиана OS имела продолжительность до 6 лет.

В лекции дается анализ результатов новых претрансплантационных индукционных режимов, сравниваются результаты одиночной и двойной аутологичной трансплантации стволовых клеток, приводятся данные по аллогенной трансплантации. Обсуждается лечение пациентов — некандидатов для HDT/ASCT и больных с рецидивирующей/резистентной миеломой.

Образовательная программа конгресса по диффузной В-крупноклеточной лимфоме также была представлены тремя лекциями.

Лекция 1. Молекулярные основы агрессивных В-клеточных неходжкинских лимфом (E. Hartmann и A. Rosenwald, Институт патологии университета Вюрцбурга)

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) и лимфома Беркитта (Burkitt lymphoma, BL) представляют большие нозологические единицы в классификации ВОЗ.

Генетические перестройки при DLBCL включают транслокации *BCL6* (30–40 %), *BCL2* (20–30 %) и *MYC* (10 %) и инактивацию опухолевого супрессора *TP53* (20 %); никакая из них не специфична для DLBCL. Аберрантная соматическая гипермутация может затрагивать различные протоонкогены, включая *PIM1*, *MYC* и *PAX5*. На уровне экспрессии генов могут быть распознаны два типа опухоли: В-клеточный тип герминального центра (GCB DLBCL) и активированный В-клеточный тип (ABC DLBCL). Они показывают различия в основополагающих генетических перестройках, активации онкогенных путей и клинической картине. Более благоприятное клиническое течение у

пациентов с GCB DLBCL, леченных с помощью CHOP, продолжает оставаться значительным в эру R-CHOP. Молекулярно-генетические исследования выявили новые потенциальные терапевтические мишени при DLBCL.

BL характеризуется транслокацией онкогена *MYC*. Экспрессия генов и молекулярные исследования подтверждают наличие серой зоны между DLBCL и BL, которая привела к новой предварительной категории «В-клеточная лимфома, неклассифицированная, с характеристиками, промежуточными между DLDCL и BL» в новой классификации ВОЗ 2008 г.

Лекция 2. Использование молекулярных характеристик для определения рациональных терапевтических мишеней при диффузных В-крупноклеточных лимфомах (B. Chapuy и M. Shipp, Бостон, США)

DLBCL являются гетерогенными заболеваниями со значительными различиями в клинических исходах, множественных генетических нарушениях и общепризнанных патологических подтипах. Клинические прогностические классификации, используемые для идентификации пациентов высокого риска, не позволяют определить альтернативные стратегии лечения. Транскрипционное профилирование и ассоциированные генетические и функциональные исследования улучшили наше понимание общепризнанных патологических подтипов DLBCL и дополнительных групп опухолей с общими чертами и дали надежду на выявление целенаправленных путей выживания. Обзор сфокусирован на рациональных терапевтических мишенях, которые были идентифицированы с помощью сравнительного молекулярного анализа DLBCL, начаты клинические испытания препаратов, воздействующих на них.

Лекция 3. Лечебные опции для пациентов с рецидивами диффузной В-крупноклеточной лимфомы (C. Gisselbrecht, Париж, Франция)

Химиотерапия «спасения» с последующей HDT/ASCT является стандартным лечением для химиочувствительных рецидивов при DLBCL. Выбор режима «спасения» никогда не изучался в рандомизированных исследованиях. Для ответа на вопрос об оптимальном режиме «спасения» было проведено исследование CORAL, включившее пациентов с DLBCL CD20+ в первом рецидиве и пациентов, рефрактерных после первой линии терапии, которые были рандомизированы на группы R-DHAP и R-ICE. Ответившие пациенты получили BEAM и ASCT. Анализ был выполнен на 396 рандомизированных пациентах (R-ICE — 202, R-DHAP — 194). Общий ответ составил 63 %, включая 38 % полных ремиссий. Не было разницы в частоте ответа между схемами R-ICE (63,5 %) и R-DHAP (62,8 %). ASCT была выполнена у 206 пациентов. Не было существенной разницы между R-ICE и R-DHAP для 3-летней EFS: 26 *vs* 35 % ($p = 0,6$) и OS 47 *vs* 51 % ($p = 0,5$). EFS зависела от предшествующего лечения ритуксимабом, раннего рецидива (менее чем через 12 мес.), международного прогностического индекса на момент рецидива заболевания (2–3). Продолжающиеся исследования включают новые режимы кондиционирования с радиоиммунотерапией, другие комбинации химиотерапии и иммунотерапию после трансплантации, как в исследовании CORAL. Пациенты с ранними рецидивами и рефрактерные к начальной химиотерапии с ритуксимабом имеют низкую частоту ответа и плохой прогноз. Требуются лучшее биологическое понимание особенностей болезни у этих пациентов и новые подходы к терапии.

В программе конгресса было представлено 72 стендовых доклада по множественной миеломе и другим моноклональным гаммапатиям, из них 30 — в разделе «Биология» и 42 — в разделе «Клиника», а также 92 доклада по неходжкинским лимфомам, из них 20 — в разделе «Биология» и 72 — в разделе «Клиника». Обзор первой сессии клинических докладов по множественной миеломе и моноклональным гаммапатиям приведен ниже.

Martinez и соавт. приводят результаты продолжающегося проспективного сравнительного исследования эффективности и токсичности режимов кондиционирования при ММ: бусульфан + мелфалан (BUMEL) против мелфалан-200 (MEL). Кондиционирование BUMEL характеризуется более длительной PFS, но OS одинаковая с режимом MEL. Отсутствие различий в OS может быть связано с ограниченными возможностями новых режимов «спасения» у пациентов, кондиционированных BUMEL. Поскольку был использован пероральный бусульфан без мониторинга уровня в сыворотке и соответствующего регулирования дозы, авторы предполагают, что использование внутривенного бусульфана уменьшило бы токсичность и привело бы к более высокой эффективности.

P.G. Richardson и соавт. опубликовали заключительные результаты исследования I–II фазы тенеспимицина и бортезомиба у пациентов с рецидивирующей и резистентной ММ. Комбинация тенеспимицина и бортезомиба эффективна и хорошо переносима при рецидивирующей и резистентной ММ с длительными ответами у больных, ранее не получавших бортезомиб или резистентных к нему. Медиана длительности ответа на эту комбинацию сравнима с историческим контролем монотерапии бортезомибом. При этом не наблюдалось серьезной периферической нейропатии. Частота и выраженность нейтропении сравнимы с таковой при монотерапии бортезомибом. Продолжается исследование III фазы комбинации тенеспимицина и бортезомиба в сравнении с монотерапией бортезомибом.

M. Offidani приводит результаты II фазы исследования комбинации талидомида, пегилированного липосомного доксорубицина, дексаметазона и бортезомиба (ThaDD-V) при рецидивирующей и резистентной ММ. ThaDD-V — высокоэффективный и хорошо переносимый режим для пациентов с рецидивирующей и резистентной ММ. Он вызывает длительные ремиссии, несмотря на неблагоприятные прогностические факторы, обеспечивает, по крайней мере, достижение очень хорошей частичной ремиссии (very good partial remission, VGPR).

A. Palumbo и соавт. доложили результаты многоцентрового клинического исследования II фазы леналидомида, мелфалана, преднизолона и талидомида (RMPT) у пациентов с рецидивирующей и резистентной ММ. RMPT — эффективная терапия «спасения» с высокой долей ответов. Побочные эффекты были предсказуемыми и управляемыми. Тромбоэмболических осложнений не было.

Группой авторов под руководством ***H. Ludwig*** представлены результаты трех исследований. В первом исследовании сравнивали талидомид + интерферон против интерферона в поддерживающей терапии после индукции Thal-DEX или MP у пожилых пациентов с ММ. Исследовали поддерживающую терапию талидомидом в комбинации с интерфероном альфа-2b (Thal-IFN) по сравнению с интерфероном альфа-2b (IFN) в монорежиме после индукции талидомид + дексаметазон или мелфалан + преднизолон у 289 пожилых пациентов с ММ (средний возраст 72 года). Поддерживающая терапия Thal-IFN привела к значительно более длительной PFS, но OS не различалась у больных обеих групп.

Эта же группа авторов представила результаты исследования II фазы по разрешению острой почечной недостаточности режимом бортезомиб-доксорубицин-дексаметазон при ММ. Режим BDD приводил к уменьшению степени почечной недостаточности в 62 % случаев (общий ответ) и давал полный ответ — в 31 %. Значительная антимиеломная активность (CR/nCR/VGPR) была отмечена у 58 % пациентов и общая эффективность (CR-PR) — у 67 %. Режим BDD хорошо переносился после корректировки дозы.

В третьем докладе изучены выживаемость и годы утраченной жизни в различных возрастных категориях пациентов с ММ. Показано, что медиана относительной выживаемости увеличивается в 2 раза (5,2 *vs* 2,6 года) у пациентов моложе 50 лет по сравнению с теми, кому более 80 лет, но среднее число лет потерянной жизни было почти в 8 раз больше (36,1 *vs* 4,6 года) в самой молодой когорте по сравнению с самой пожилой.

B. Paiva и соавт. с помощью мультипараметрической проточной цитометрии (MFC) выявляли резидуальные нормальные плазматические клетки в костном мозге пациентов с ММ на момент диагноза. Иммунофенотипирование путем MFC позволяет выделить нормальные плазматические клетки и миеломные клетки из общего костномозгового пула плазматических клеток (BMPC). Присутствие более 5 % резидуальных нормальных плазматических клеток в костном мозге, выявляемое с помощью MFC у больных ММ на момент диагноза, идентифицирует хорошую прогностическую подгруппу.

D. Siegel и соавт. представили предварительные данные исследования I фазы комбинированной терапии вориностатом, леналидомидом и дексаметазоном у пациентов с рецидивирующей и резистентной ММ. Вориностат в комбинации с леналидомидом и дексаметазоном представляется удобной пероральной терапевтической комбинацией, эффективной и хорошо переносимой для лечения рецидивирующей и резистентной ММ. Продолжается повышение дозы для определения максимально переносимой.

A. Gozzetti и соавт. в исследовании «Бортезомиб, пегилированный липосомальный доксорубицин и дексаметазон (BDD) как терапия для пожилых пациентов с рецидивирующей и резистентной ММ» показали, что еженедельная схема введения бортезомиба уменьшает токсичность, сохраняя ту же самую эффективность.

Комбинация Bortezomib-PegLD-D — высокоэффективный режим для пожилых пациентов с рецидивирующей и резистентной ММ с общей частотой ответа (overall response rate, ORR) 70 % и 25 % CR и неподтвержденных полных ответов (nCR) также у антрациклин-резистентных пациентов. Лучшие и более длительные ответы наблюдались у больных, леченных менее чем 3 линиями предшествующей химиотерапии, и у больных, достигающих по крайней мере VGPR. Самые пожилые пациенты в возрасте более 70 лет имеют быстрые и длительные ответы с приемлемой и управляемой токсичностью. Этот режим может использоваться у старших пациентов с ММ.

D. Rossi и соавт. показали, что уровень β_2-микроглобулина являлся независимым предиктором прогрессии при бессимптомной ММ. Значение полученных результатов двойное: 1) β_2-М предсказывает прогрессию бессимптомной ММ в симптомную, независимо от обычных факторов риска; 2) β_2-М меняет обычную модель для предсказания прогрессии бессимптомной ММ, позволяя идентифицировать группу пациентов очень низкого риска, которые никогда не прогрессируют до симптоматической ММ, и группу пациентов высокого риска, которые фактически все склонны к прогрессии.

S.Y. Kristinsson и соавт. в популяционном исследовании изучили структуру выживаемости и причины смерти у больных с диагнозом моноклональной гаммапатии неопределенного значения (MGUS). Полученные данные уменьшенной продолжительности жизни пациентов с MGUS, самые явные среди пожилой популяции, объясняются двумя факторами: злокачественная трансформация и незлокачественные причины, которые важны в клиническом ведении пациентов с MGUS.

A. Corso и соавт. утверждают, что бортезомиб в комбинации с дексаметазоном преодолевает потребность в дополнительной химиотерапии перед высокодозной терапией с аутотрансплантацией у пациентов с ММ. Бортезомиб в комбинации с дексаметазоном — безопасная и эффективная программа индукции для пациентов ММ — кандидатов на высокодозную терапию. Консолидация с DCEP (Dexamethasone, Cyclophosphamide, Etoposide, Cysplatinum) не способна улучшить ответ на Vel-Dex, в то время как высокие дозы мелфалана ведут к дальнейшему увеличению ORR. Сокращение интервала между индукцией и высокими дозами мелфалана может помочь в поддержании уровня ответа, предотвращая прогрессию, которая может быть наблюдаема в течение постиндукционной/консолидирующей фазы.

M. Zangari и соавт. изучили влияние эритропоэтинов и венозной тромбоэмболии на выживаемость больных ММ, леченных леналидомидом и высокими дозами дексаметазона. Пациенты с рецидивирующей и резистентной ММ, леченные комбинацией леналидомид + высокие дозы дексаметазона, у которых развивалась венозная тромбоэмболия или которые получали эритропоэтины, не имели более короткой OS или PFS.

R. Baz и соавт. показали, что терапия леналидомидом приводит к улучшению состояния гуморальной иммунной системы у пациентов с рецидивирующей и рефрактерной ММ, которые отвечают на терапию. Терапия, основанная на леналидомиде, приводит к нормализации уровня резидуального поликлонального IgA у значительного числа рецидивирующих/резистентных больных ММ, которые отвечали на терапию. Эти пациенты также достигли более длительной PFS и OS.

M. Krejci и соавт. предложили первичную терапию «спасения» мелфаланом 100 мг/м^2 в качестве первой линии при фульминантной прогрессии ММ и консолидацию новыми препаратами. Мелфалан 100 мг/м^2 — безопасный режим «спасения» в первой линии для быстро прогрессирующей ММ с хорошей частотой ответа (ORR 58 %) и приемлемой токсичностью. Эта стратегия лечения в комбинации с новыми препаратами может продлить выживаемость на более чем 12 мес. у 33 % пациентов с этой фатальной формой ММ.

K.C. Weisel и соавт. представили первые результаты немецкого протокола ММ-019, в котором изучали скорость ответа на леналидомид и дексаметазон у пациентов с рецидивирующей или резистентной ММ. Несмотря на значительное предшествующее лечение, по крайней мере PR был достигнут у 74 % пациентов. Предшествующее лечение талидомидом, бортезомибом или пересадка стволовых клеток не влияли на частоту ответа. 50%-е сокращение уровня М-протеина и свободных легких цепей сыворотки было достигнуто 50 % пациентов в пределах 28 дней и 72 % — в течение 32 дней.

G. Benevolo и соавт. предлагают использовать поддерживающую терапию бортезомибом и дексаметазоном (VD) при прогрессирующей ММ. Комбинация бортезомиба-дексаметазона как терапия поддержки при реци-

дивирующей и резистентной ММ эффективна и хорошо переносима. Предварительные данные показывают, что поддерживающая терапия бортезомибом-дексаметазоном может увеличить продолжительность ремиссии, а также качество ответа с приемлемой токсичностью.

M. Leiba и соавт. исследовали новый перорально биодоступный препарат галофугинон, имеющий *in vitro* и *in vivo* антимиеломную активность, связанную с регуляцией проапоптотических белков C-JUN, JNK и p53. Галофугинон является многообещающим новым перорально биодоступным антимиеломным препаратом, который нуждается в дальнейшей оценке для возможных клинических испытаний при ММ.

A. Goerke и соавт. изучали сывороточный уровень TOTAL-RANKL при ММ. RANKL (лиганд рецептора-активатора ядерного фактора κB) играет ключевую роль в активации остеокластов при ММ. Исследование впервые показало, что сывороточный RANKL отражает прогрессирующую болезнь, литическое разрушение кости и плохой прогноз при ММ.

новейшие издания по онкологии

Издательство «практическая медицина» выпустило лучшие книги по онкологии

ведущих зарубежных ...

Серия руководств Dana-Farber Cancer Institute написана ведущими онкологами. Они представляет собой полноцветные издания с большим количеством иллюстраций. Наряду с наглядными фотографиями, схемами и рисунками, книги содержат информацию о распространенности, эпидемиологии, этиологии, гистопатологии и клинических проявлениях данных заболеваний. Включены сведения о современных диагностических исследованиях и методах оценки стадии заболевания на основании клинических и патологоанатомических критериев. Подробные таблицы включают информацию о гистопатологической классификации, диагностических исследованиях и, при необходимости, прогностических факторах. Также детально обсуждаются современные методы лечения в сочетании с эффективными алгоритмами. Отдельная глава посвящена практическим вопросам ведения больных, и включает, в частности, коррекцию системных и кожных реакций на химиотерапию.

Краткое руководство по лечению опухолевых заболеваний
(пер. с английского под ред. С.А. Тюляндина и И.В. Поддубной)

Книга содержит современные сведения по лечению всех наиболее распространенных опухолевых заболеваний. Новейшие схемы представлены подробно и включают данные по эпидемиологии, обследованию, наблюдению, патоморфологии, критериям стадирования, хирургическому лечению, выживаемости и др. Обсуждаются стандартные подходы к лечению, в зависимости от ситуации, а также побочные эффекты терапии и методы их коррекции.

... и отечественных авторов

Подробное описание книг смотрите на сайте издательства «практическая медицина»

www.medprint.ru

заказ на книги с почтовой доставкой по издательской цене можно осуществить на нашем сайте