

На правах рукописи

Государственное учреждение Гематологический Научный Центр
Российской Академии Медицинских Наук

Аль-Ради Любовь Саттаровна

ВОЛОСАТОКЛЕТОЧНЫЙ ЛЕЙКОЗ:

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ, СОВРЕМЕННАЯ ТАКТИКА ТЕРАПИИ

14.00.29 – Гематология и переливание крови

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель: профессор, д.м.н. А.В.Пивник

Москва, 2008 г.

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1. Историческая справка.....	10
1.2. Биологические особенности «волосатых клеток».....	13
1.3. Иммунофенотипические и цитогенетические «волосатых клеток»....	17
1.4. Клинические проявления, диагностика и дифференциальная диагностика волосатоклеточного лейкоза.....	20
1.4.1. Клиническая картина.....	20
1.4.2. Лабораторная диагностика.....	21
1.4.3. Дифференциальный диагноз.....	25
1.4.4. Вариантная форма волосатоклеточного лейкоза.....	28
1.4.5. Атипичные проявления волосатоклеточного лейкоза.....	29
1.5. Лечение волосатоклеточного лейкоза.....	36
1.5.1. Спленэктомия.....	36
1.5.2. Препараты альфа-интерферона.....	40
1.5.3. Аналоги пурина.....	43
1.5.3.1. Пентостатин (дезоксикоформицин).....	43
1.5.3.2. Кладрибин (2-хлордезоксаденозин, 2-CdA).....	45
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	48
2.1. Общая часть. Основные понятия.....	48
2.2. Протокол исследования больного волосатоклеточным лейкозом...	50
2.3. Протокол лечения больного волосатоклеточным лейкозом.....	55
2.4. Статистический анализ.....	55
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ	56
3.1. Типичная форма волосатоклеточного лейкоза.....	56
3.1.1. Клиническая характеристика.....	56
3.1.2. Результаты лечения.....	60
3.2. Вариантная форма волосатоклеточного лейкоза.....	65

3.2.1. Клиническая характеристика.....	65
3.2.2. Результаты лечения.....	68
3.3. Волосатоклеточный лейкоз у больных молодого возраста.....	72
3.3.1. Клиническая характеристика.....	72
3.3.2. Результаты лечения.....	76
3.4. Рецидивы волосатоклеточного лейкоза после терапии кладрибином.....	80
3.5. Летальность.....	82
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ.....	84
4.1. Сравнение клинических характеристик отдельных форм волосатоклеточного лейкоза.....	84
4.2. Сравнение эффективности терапии отдельных форм волосатоклеточного лейкоза.....	107
4.2.1. Сравнение эффективности различной терапии выделенных форм волосатоклеточного лейкоза.....	108
4.2.2. Эффективность и осложнения спленэктомии, терапии α-интерфероном, кладрибином	115
4.3. Оптимальный протокол лечения волосатоклеточного лейкоза.....	123
4.4. Рецидивы: частота, результаты лечения, подходы к пролонгированию ремиссии.....	125
Глава 5. РЕДКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ВОЛОСАТОКЛЕТОЧНОГО ЛЕЙКОЗА.....	127
5.1. Сочетание с парапротеинемией.....	127
5.2. Сочетание с лимфаденопатией.....	131
5.3. Сочетание с хроническим лимфолейкозом.....	133
5.4. Сочетание с Т-клональностью.....	138
5.5. Вторые опухоли у больных волосатоклеточным лейкозом.....	141
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	145
ВЫВОДЫ.....	149
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	150
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	169

Список сокращений

«ВК» - «волосатые клетки»

ВКЛ - волосатоклеточный лейкоз

л/у - лимфатические узлы

ПР - полная ремиссия

ЧР - частичная ремиссия

ОВ - общая выживаемость

БР - безрецидивная выживаемость

TRAP - тартрат-устойчивая кислая фосфатаза

α -Иф - альфа-интерферон

ХЛЛ - хронический лимфолейкоз

БГЛ - лейкоз из больших гранулярных лейкоцитов

ВВЕДЕНИЕ

Волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ) - хроническое лимфопролиферативное заболевание, выделенное из хронического лимфолейкоза в 1958г [25] в связи со своеобразием морфологии, клинического течения и тактики лечения. Заболевание протекает с вовлечением костного мозга, селезенки и проявляется цитопенией, спленомегалией. Особенностью заболевания является присутствие характерных лимфоидных клеток с «ворсинчатой» морфологией и особым иммунофенотипом.

Актуальность проблемы

Несмотря на относительную редкость (1 случай на 150 000 населения в год) [4], пациенты с ВКЛ регулярно встречаются в практике гематолога, причем в последние годы это заболевание все чаще диагностируется не только у лиц старшего возраста, но и у больных в возрасте моложе 40 лет. Довольно часто (по нашим наблюдениям примерно в 25% случаев) заболевание протекает без лейкопении – так называемая «вариантная форма ВКЛ» [198,276], что диктует необходимость проведения тщательной дифференциальной диагностики со сходными лимфопролиферативными заболеваниями. Естественное течение болезни варьирует от доброкачественного, с медленным нарастанием проявлений заболевания в течение многих лет, до быстрого прогрессирования с появлением симптомной цитопении, приводящей к гибели больных, в первую очередь от инфекционных, а также от геморрагических и анемических осложнений. Средняя продолжительность жизни больных ВКЛ без адекватного лечения составляет примерно 5 лет [27]. Подбор терапии для этого заболевания долго оставался нерешенной задачей – разные режимы моно- и полихимиотерапии, применение стероидов были неэффективны, и до 80х годов единственным методом лечения являлась спленэктомия. Прогресс в лечении ВКЛ начался в 1984г с применения α -интерферона [232], позволившего получать в 10%

случаев полные, а в 70% случаев - частичные ремиссии [276,233], что существенно улучшило течение и прогноз ВКЛ. Недостатком этого метода лечения является его длительность, малое число полных ремиссий, необходимость пожизненной поддерживающей терапии у большинства больных. Кардинальное изменение результатов лечения ВКЛ связано с применением препаратов из группы лекарственных средств - аналогов пурина: 2-дезоксикоформицина (DCF, пентостатин) и 2-хлордезоксиаденозина (2-CdA, кладрибин). DCF (пентостатин) начали применять в лечении больных ВКЛ с 1984г [170,266], что привело к достижению 60% полных и 25% частичных ремиссий [171], в том числе и у больных с неэффективностью иной терапии [52]. Однако, с учетом токсичности пентостатина (нейро-, нефро-, гепатотоксичность, инфекционные осложнения), а также в связи с меньшей эффективностью по сравнению с кладрибином, с 90х годов именно кладрибин стал препаратом выбора при лечении ВКЛ [273]. Лечение кладрибином в настоящее время наиболее эффективно: частота полных ремиссий составила 85%, частичных ремиссий - 12%. Тем не менее, даже в полной клинико-гематологической ремиссии можно выявить минимальный клон опухолевых клеток в костном мозге, и у 25-40% больных при последующем наблюдении регистрируется рецидив заболевания [96,272]. В то же время кладрибин, не обладая в терапевтических дозах нейро-, нефро- и гепатотоксичностью, имеет гематологическую токсичность, проявляющуюся в основном глубокой и длительной нейтропенией, чреватую риском развития тяжелых, подчас фатальных инфекционных осложнений [57,96,249].

Отсутствие, в связи с относительной редкостью заболевания, длительных наблюдений за достаточно большой группой больных ВКЛ, оставляет до настоящего времени нерешенным вопрос об оптимальной тактике терапии и последовательности ее отдельных этапов для получения стойкого длительного эффекта с минимизацией побочных действий. Опыт большинства центров в стране ограничен немногочисленными случаями наблюдений без единого протокола обследования и лечения. Решение данной проблемы требует многолетнего отбора больных ВКЛ и наблюдения за ними.

Все это послужило причиной начать собственную работу по отбору больных ВКЛ в нашем центре с проведением полноценного диагностического исследования, оценкой эффективности лечения и наблюдением в динамике в течение длительного периода.

Цель исследования

Охарактеризовать представительную группу больных волосатоклеточным лейкозом и разработать оптимальный протокол его лечения.

Задачи исследования

1. Сравнить клинические и лабораторно-диагностические особенности типичной и вариантной форм волосатоклеточного лейкоза.
2. Сопоставить клинико-диагностические параметры волосатоклеточного лейкоза в зависимости от возраста дебюта заболевания.
3. Сравнить эффективность спленэктомии, α -интерферона, кладрибина и их сочетаний при разных формах волосатоклеточного лейкоза и выделить группу повышенного риска развития рецидива заболевания.
4. Оценить осложнения лечения и разработать возможную их профилактику.
5. Предложить оптимальный протокол лечения волосатоклеточного лейкоза.

Научная новизна.

Впервые в стране собран большой клинический материал редкого лимфопролиферативного заболевания – волосатоклеточного лейкоза. Дана сравнительная оценка клинических и иммунофенотипических особенностей типичной и вариантной форм заболевания в старшей и молодой возрастных группах. Оценена эффективность разных методов лечения (спленэктомия, α -интерферон, кладрибин). На основании полученных данных показано, что

оптимальной тактикой лечения волосатоклеточного лейкоза является последовательное применение α -интерферона и кладрибина. Показано, что дебют заболевания в молодом возрасте является фактором риска развития рецидива, в том числе раннего, при применении стандартного протокола лечения.

Практическая ценность

В работе на большом материале проведено сравнение клинических и лабораторно-диагностических особенностей типичной и вариантной форм волосатоклеточного лейкоза. Дан алгоритм диагностики и лечения волосатоклеточного лейкоза. Продемонстрированы преимущества тактики лечения волосатоклеточного лейкоза с последовательным применением альфа-интерферона и 2-CdA. Выявлена группа риска рецидива волосатоклеточного лейкоза.

Положения, выносимые на защиту

1. Типичная и вариантная формы ВКЛ отличаются друг от друга по соотношению пола и возраста заболевших, степени выраженности спленомегалии, наличию лимфаденопатии, обнаружению дополнительных иммунофенотипических маркеров и частоте сопутствующей моноклональной секреции.
2. ВКЛ выявляется в молодом возрасте (моложе 40 лет) в четверти случаев заболевания, отличается большей частотой встречаемости вариантной формы, лимфаденопатии и выраженной спленомегалии, особенностями иммунофенотипа, а также частотой и тяжестью инфекционных осложнений течения болезни.
3. Эффективность спленэктомии, терапии α -интерфероном и кладрибином (2-CdA) при разных формах волосатоклеточного лейкоза сопоставима.

Дебют ВКЛ в молодом возрасте является фактором повышенного риска рецидива заболевания.

4. Основное осложнение применения кладрибина (2-CdA) – длительная миелотоксическая супрессия. Предварительное назначение α -интерферона позволяет избежать этого осложнения.
5. Максимально безопасной и эффективной терапией всех форм ВКЛ является последовательное применение α -интерферона и кладрибина. У больных ВКЛ молодого возраста необходимо присоединение терапии поддержания ремиссии.

ГЛАВА 1.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

1.1. Историческая справка

Волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ) – лимфопролиферативное заболевание, протекающее с вовлечением костного мозга и селезенки, проявляющееся цитопенией, спленомегалией и присутствием в костном мозге и крови опухолевых лимфоидных клеток с особой морфологией и фенотипом [8,48].

ВКЛ – отдельная нозология с характерным набором клинических и лабораторных признаков и хроническим течением, в настоящее время отличается благоприятным прогнозом при адекватном лечении. Вероятно, впервые это заболевание было отмечено Ewald в 1923г как атипичная форма хронического лимфолейкоза со спленомегалией, без увеличения лимфоузлов, с наличием в крови ворсинчатых мононуклеаров [81]. В пятидесятые годы прошлого века сходные случаи заболевания описывали эпизодически под названиями «ретикулоэндотелиоз», «гистиоцитарный лейкоз» и т.п [20,137,207]. Первое полноценное описание ВКЛ как отдельной клинической нозологии сделала Bouroncle с соавторами в 1958г, собрав 26 случаев «лейкемического ретикулоэндотелиоза» и заключив, что это отдельное заболевание, требующее особой тактики лечения [25]. В этом наблюдении были отмечены спленомегалия, преобладание среди пациентов мужчин и частота инфекционных осложнений, явившихся причиной смерти в четверти приведенных случаев. Также было указано на особенности морфологии опухолевых клеток при этом заболевании, трудность получения аспирата костного мозга и эффективность спленэктомии. Термин «волосатые клетки» при этом заболевании впервые применили Schrek и Donnelly в 1966г, привлекая внимание к волоскоподобным отросткам цитоплазмы опухолевых клеток, видимым при фазово-контрастной микроскопии, и высказав гипотезу о принадлежности этих клеток к лимфоидным [250]. Развитие морфологических (включая электронную микроскопию) и иных методов исследования в 70-х гг., способствовавших уточнению схемы кроветворения, происхождения

опухолевых клеток при гематологических заболеваниях и поиска их нормальных аналогов выдвинуло две версии относительно предшественника «волосатых клеток» («ВК»). Часть исследователей предполагали их лимфоцитарное происхождение, другие относили их к клеткам моноцитарно-макрофагального ряда, аргументируя это, в частности, присущей ВКЛ моноцитопенией [34,139,211,253]. Эти дебаты привлекали внимание к заболеванию, приводя к выработке более четких диагностических критериев и более частому распознаванию ВКЛ у гематологических больных. В результате многочисленных исследований к настоящему времени установлена принадлежность «ВК» к В-лимфоцитам. Так, в 1969г, в эру до появления представления о разделении лимфоцитов на Т- и В-популяции, Rubin и соавторы выявили, что «ВК» относятся к иммуноглобулин-секретирующим лимфоцитам [242]. В 70-е годы многочисленные исследователи (Cotovsky с соавт, Fu с соавт, Наак с соавт) установили В-клеточную лимфоидную природу ВК, подтвержденную выявлением моноклонального иммуноглобулина [48,93,121]. Постепенно был сформирован диагностический «портрет» ВКЛ, включающий клиническую картину заболевания, морфологию «ВК» и ряд лабораторных тестов, важнейшими из которых являются наличие тартрат-устойчивой кислой фосфатазы в цитоплазме «ВК» и характерный набор антигенов – кластеров дифференцировки (CD) на поверхности клеток.

История применявшейся при ВКЛ лечебной тактики отражает смену этапов терапии в лечении гематологических заболеваний, приведших к высокой результативности дифференцированного лечения отдельных нозологий, достигнутой в настоящее время. В 60-е и даже 70-е годы, хотя ВКЛ был уже выделен как самостоятельное заболевание, в связи с редкостью этой болезни его часто путали с апластической анемией, миелофиброзом и даже острым лейкозом. Наблюдения за все большим количеством больных привело к выводу о хроническом и в большинстве случаев относительно доброкачественном течении болезни. В клинических исследованиях, проведенных в 80-е годы, в одно из которых было включено 211 пациентов, средняя выживаемость составляла более 53 мес [90,102]. Довольно рано была обнаружена

эффективность спленэктомии в большинстве случаев заболевания, отсутствие хороших результатов при применении агрессивной химиотерапии, стероидов и лучевой терапии [29,101,105,187]. Причина эффективности спленэктомии при ВКЛ до сих пор окончательно не ясна, видимо, имеет значение как удаление массы опухоли, так и ликвидация явлений гиперспленизма [3,105,299]. К сожалению, стойкий эффект после спленэктомии сохраняется у небольшой части больных, у большинства в те или иные сроки болезнь прогрессирует. Спленэктомия оставалась единственным адекватным методом лечения этого заболевания до 1984г, когда Quessada с коллегами впервые с успехом применили при ВКЛ альфа-интерферон (α -ИФ) [232]. Это было началом успешного применения биологических агентов, в частности рекомбинантных белков, в лечении разнообразных опухолевых и неопухолевых заболеваний. В настоящее время α -ИФ с успехом применяют в лечении хронического миелолейкоза, лимфом, миеломы, меланомы, гепатитов и т.д. До настоящего времени точный механизм его действия неясен, тем не менее, лечение рекомбинантным α -ИФ приводило к достижению полной или частичной ремиссии при ВКЛ более, чем в 70% случаев, при эмпирически определенной длительности лечения 12 мес [138,236,275,297]. Вторым рекомбинантным белком, впервые испытанным в лечении при ВКЛ, стал гранулоцитарный колониестимулирующий ростовой фактор, примененный для уменьшения свойственной этому заболеванию нейтропении, часто сопровождающейся развитием фатальной инфекции [99]. Наибольший успех в лечении ВКЛ связан с применением с конца 80-х - начала 90-х гг. новой группы лекарственных средств – аналогов пуринов, а именно пентостатина (дезоксикоформицина, DCF) и кладрибина (2-хлордезоксиаденозина, 2-CdA) [221,266]. Эти препараты высоко эффективны в лечении ВКЛ, с большой (более 70 %) частотой достижения полных стойких ремиссий, не требующих поддерживающей терапии, что является большой редкостью при хронических лейкозах, при малой токсичности и короткой продолжительности лечения. Кладрибин чаще используется в лечении ВКЛ в связи с преимуществом короткого курса лечения и сравнительно низкой токсичностью [221]. Первоначально высокая частота

достижения полных ремиссий, вызванных единственным курсом применения препарата, дала надежду на полное излечение ВКЛ. Однако в дальнейшем было показано, что у трети больных развивается рецидив заболевания, и что у всех пациентов даже в полной ремиссии с помощью иммунологических или молекулярно-генетических методов присутствуют признаки минимальной остаточной болезни [56,79,88,123]. Таким образом, к настоящему времени стало ясно, что существующие сейчас методы лечения ВКЛ не ведут к его излечению и уничтожению опухолевого клона, но вызывают длительные стойкие ремиссии.

Тем не менее, ввиду относительной редкости ВКЛ, остаются неизученными отдельные аспекты его лечения, в частности, место отдельных видов лечения (спленэктомия, α -ИФ, кладрибин) и оптимальная последовательность их применения, способы минимизации осложнений терапии. Небольшая частота встречаемости в практике гематолога делает познавательным анализ различных этапов терапии ВКЛ на большом клиническом материале.

1.2. Биологические особенности субстрата опухоли – «волосатых клеток»

Как и при других опухолях, многие, если не все особенности патогенеза и течения ВКЛ связаны с отдельными биологическими характеристиками опухолевых «ВК».

К настоящему времени установлено, что «ВК» являются аномальным клоном резко активированных зрелых В-лимфоцитов, остановленных на поздней стадии созревания [37,162]. Эта активация, вероятно, определяет большинство специфических особенностей «ВК» и проявлений ВКЛ. Причины подобной активации до настоящего времени неизвестны. Тем не менее, несмотря на активацию, у «ВК» низкий индекс пролиферации, вследствие чего болезнь обычно протекает хронически. У «ВК» реарранжированы гены как легких, так и тяжелых цепей иммуноглобулина, это позволяет характеризовать эти клетки как зрелые В-лимфоциты и дополнительно подтверждается сильной

(клональной) экспрессией на них легких цепей поверхностных иммуноглобулинов (sIg) [168]. Показаны необычное преобладание IgG3 и экспрессия множества изотипов тяжелых цепей, сосуществующих в одной клетке [162]. Это можно связать с остановкой клеточной дифференцировки на этапе переключения изотипов. Точно не установлено, насколько «ВК» дифференцированы, однако известно, что в отличие от плазматических клеток, они не секретируют больших количеств иммуноглобулина [112,125,219]. В-клеточные маркеры подтверждают зрелую природу «ВК», не осуществивших окончательную дифференцировку. Так, зрелые В-клеточные маркеры, обычно утрачиваемые при конечных стадиях дифференцировки В-лимфоцитов (CD19, CD20, CD40 и FMC7) присутствуют на «ВК», в то время как ранние В-клеточные маркеры, такие, как CD10, обычно отсутствуют [165]. Помимо этого, «ВК» экспрессируют типичный для плазматических клеток антиген РСА-1, но без остальных иммунофенотипических признаков плазматической дифференцировки [13]. В процессе нормального иммунного ответа активация В-лимфоцитов является результатом быстрой последовательности реакций в ответ на стимуляцию антигеном, окружающими клетками и цитокинами. Многие фенотипические особенности «ВК» указывают на то, что они проходят этот этап активации, поскольку на их поверхности сильно экспрессированы маркеры активации нормальных В-лимфоцитов (CD22, CD25, CD72) [46,327], а bcl-2 и маркеры, теряемые в норме после В-клеточной активации (CD21 и CD24) экспрессируются в очень небольшом количестве [41,302]. Характерные для «ВК» антигены CD11, B-ly7 и HC2 также являются активационными антигенами, встречающимися у некоторых лимфоидных клеток [165,230,203]. Но, возможно, самым наглядным проявлением активации «ВК» является их необычная клеточная поверхность с множеством цитоплазматических отростков, отражающая изменение цитоскелета клетки при активации. Эта активация сопровождается появлением у «ВК» специфического профиля рецепторов адгезии, ответственных, вероятно, за отличительную для ВКЛ лимфоидную инфильтрацию красной пульпы селезенки и печеночных синусов [39]. Выявлена важная роль интегринов в этом процессе, в частности, $\alpha 4\beta 1$ –

основного у «ВК» интегрин связи с клетками эндотелия. Клеточным лигандом для $\alpha 4\beta 1$ является VCAM-1. В норме VCAM-1 экспрессируется только в клетках стромы костного мозга, синусоидов печени и селезенки [61,67,289]. Именно эти области поражения характерны для ВКЛ. Внеклеточным лигандом для $\alpha 4\beta 1$ является фибронектин. Интегрины $\alpha 4\beta 1$ и $\alpha 5\beta 1$ важны для взаимодействия «ВК» с фибронектином, способности его синтезировать и связывать. Этим объясняется появление характерной фиброзной ретикулиновой сети в инфильтрированных «ВК» участках костного мозга [40,291]. Еще один интегрин – $\alpha \nu \beta 3$, присутствующий на поверхности «ВК», вызывает клеточную миграцию в области, богатые витронектином, а так как витронектина особенно много в строме красной пульпы, это может быть еще одним механизмом инфильтрации именно этой области селезенки [289,39]. Более того, в красной пульпе «ВК» не только взаимодействуют с эндотелиальными клетками, но и способны стимулировать образование ими псевдосинусоидов, неся большое количество $\alpha \nu \beta 3$, необходимого для взаимодействия эпителиальных клеток с базальной мембраной [32]. Роль повышенной экспрессии «ВК» других интегринов, таких как $\alpha \text{H}\beta 7$ (HML-1) и p150,95 ($\alpha \text{x}\beta 2$) пока не ясна. Ранние стадии реализации лимфоидными клетками «инстинкта дома» связаны с неинтегриновыми рецепторами семейства селектинов. L-селектин, наиболее важный на начальных этапах миграции лимфоцитов в лимфоузлы, утрачен «ВК», что, вероятно, и является одной из причин отсутствия лимфоаденопатии в большинстве случаев ВКЛ [97]. Повышенное при ВКЛ содержание цитокина TNF α *in vitro* увеличивает выживание «ВК», а в больших количествах может вызывать пролиферативный эффект, возможно, такое же влияние продукция TNF α имеет и *in vivo*. «ВК» продуцируют все цепи рецептора интерлейкина-2 (IL-2), что является четким признаком активации для В-лимфоцитов, однако функциональное значение экспрессии IL-2 при волосатоклеточном лейкозе пока не выяснено [40]. Значение повышенного при ВКЛ содержания других цитокинов – IL-2, M-CSF, GM-CSF также пока не ясно [38,279,126].

Выявление в «ВК» тартрат-устойчивой кислой фосфатазы (TRAP) остается одним из важных цитохимических диагностических тестов в

гематологии. Однако, несмотря на то, что высокая специфичность этого показателя для ВКЛ была выяснена уже более четверти века назад, функциональное значение его пока так и не установлено, известно только, что это является очередным признаком активации «ВК», выявляемым и у обычных лимфоцитов после их стимуляции [155].

В настоящее время изучают роль и значение Т-клеток при ВКЛ. Несмотря на то, что количество Т-клеток и соотношение популяций CD4/CD8 клеток в крови чаще нормальное, выявляются функциональные дефекты и разнообразные Т-клеточные аномалии, включая клональные, а также нарушение соотношения других субпопуляций Т-лимфоцитов [163,63]. Считается, что Т-клеточные аномалии могут быть как результатом взаимодействия с «ВК» с активацией последних, так и проявлением клеточного противоопухолевого иммунитета (с формированием олигоклонов в ряде случаев). Интересно, что эти Т-клеточные нарушения могут исчезать после успешной терапии α -ИФ [164].

Выяснено, что изолированные *in vitro* «ВК» могут самостоятельно поддерживать себя в активированном состоянии при отсутствии дополнительных влияний извне. Следовательно, их активация поддерживается внутренними процессами и, видимо, связана с лежащими в ее основе онкогенными событиями. При многих онкогематологических заболеваниях первичным онкогенным событием является специфическая хромосомная поломка, однако при ВКЛ до сих пор не выявлено однозначного и устойчивого нарушения кариотипа.

Изученные к настоящему времени признаки позволяют отнести «ВК» к В-лимфоцитам, активированным Т-независимым путем. Эти клетки могут быть пулом опухолевых клеток, возникшим вследствие отмены неизвестным онкогенным событием дальнейшей дифференцировки В-клеток и блокировки Т-зависимой клеточной активации [41]. 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 «ВК», а молекулярные исследования позволят уточнить характер лежащих в ее основе генетических механизмов [168].

1.3. Иммунофенотипические и цитогенетические особенности «волосатых клеток»

1. Иммунофенотип.

Иммунофенотипическая характеристика лимфатических клеток при ВКЛ позволила охарактеризовать их как поздние активированные В-лимфоциты, с профилем CD-маркеров, как общим для многих хронических лимфопролиферативных заболеваний, так и имеющим ряд характерных отличий. Несмотря на то, что не найдено какого-либо однозначно специфического для ВКЛ маркера, выявлена характерная комбинация CD, позволяющая с высокой степенью достоверности диагностировать это заболевание.

Так, «ВК», как и все зрелые лимфоциты, несут поверхностный иммуноглобулин (sIg) и ряд общих В-клеточных маркеров (CD19, CD20, CD79a), но экспрессия sIg при этом, в отличие от хронического лимфолейкоза, выражена сильно [13,84,145,148,269]. Частота выявления легких каппа и лямбда цепей примерно одинакова ($\kappa/\lambda=1,13$), что свидетельствует об увеличенном представительстве лямбда-цепи, так как обычное соотношение $\kappa/\lambda=2$. Отмечена также большая по сравнению с другими В-клеточными лимфопролиферациями частота обнаружения тяжелой цепи sIgG, экспрессируемой нередко в сочетании с Ig других классов, чаще с Ig M или Ig D [144,162]. Такая коэкспрессия Ig разных классов на одной клетке отличается от нормального процесса дифференцировки В-клеток и встречается при ВКЛ гораздо чаще, чем при других хронических лимфопролиферативных заболеваниях [144,161].

Отличие фенотипа ВКЛ от хронического лимфолейкоза в первую очередь касается экспрессии CD5, CD23 и FMC7. Так, в отличие от хронического лимфолейкоза, «ВК» FMC7-позитивны, сильно экспрессируют CD22, но, как правило, CD5 и CD23-негативны [194]. Фенотип «ВК» характеризует их как

поздние активированные В-лимфоциты: маркеры, утрачиваемые в процессе активации В-клеток (CD21, CD24) при ВКЛ отрицательны, или экспрессированы крайне слабо.

В то же время, в отличие от других В-зрелоклеточных лимфом, в 2/3 случаев ВКЛ отсутствует CD79b [357]. Маркеры CD10 и CD38 также чаще отрицательны, хотя известны случаи CD10+ВКЛ. В большинстве случаев ВКЛ клетки позитивны по CD11c, HC2, CD103 и CD25 (альфа-цепь рецептора интерлейкина-2) [168,228,251,290]. При этом уровень растворимого рецептора интерлейкина-2 (CD25) в сыворотке крови коррелирует со степенью активности болезни и ответом на лечение [12,238].

Несмотря на то, что ни один из указанных маркеров (CD11c, HC2, CD103, CD25) не является специфичным только для ВКЛ и может обнаруживаться при других В-клеточных лимфатических нозологиях, например, при лимфоцитоме селезенки, их сочетание и высокая степень экспрессии является исключительно характерным признаком ВКЛ [195,196]. Выявлен еще целый ряд маркеров, выявляемых при ВКЛ, в частности, соответствующих рецепторам адгезии (CD18, CD54), однако отсутствие четкого дифференциально-диагностического значения для разграничения внутри В-клеточных нозологий не позволила считать их пригодными для целей диагностики [65].

Таким образом, в общем случае фенотип типичных «ВК» соответствует sIg+, CD19+, CD20+, CD79a+, CD22+, CD5-, CD23-, FMC7+, CD11c+, HC2+, CD103+, CD25+, CD10-. Для вариантной формы заболевания считается характерным отсутствие или более слабая степень экспрессии CD25, HC2 и CD103 [134,243,205].

Поскольку в крови популяция «ВК» может быть невелика, а аспират костного мозга нередко «сухой» и малоклеточный, особое значение для диагностики ВКЛ приобретает иммуногистохимическое исследование трепанобиоптата [35,36,157,180]. При этом выявляется сильная экспрессия В-клеточных маркеров CD20, CD79a и DBA.44 – высокоспецифичного маркера ВКЛ, выявляемого более чем в 95 % случаев [135,244]. Цитохимическую реакцию на TRAP невозможно провести на фиксированном материале, однако

можно провести иммуногистохимическое исследование с анти-TRAP-антителом 9C5 [140,141]. Еще одним чувствительным маркером волосатоклеточного лейкоза является CD103 [206]. Хотя эти маркеры порознь могут встречаться при других хронических лимфопролиферациях (лимфоплазмочитарная лимфома, в редких случаях - лимфома мантийной зоны), наличие CD103, DВА.44 и 9C5 в сочетании с гистологической картиной характерной инфильтрации костного мозга и характерной морфологией «волосатых клеток» позволяет установить диагноз.

2. Цитогенетика.

Сообщения о цитогенетических исследованиях при ВКЛ появляются нерегулярно, возможно в связи с относительной редкостью заболевания, но скорее из-за трудностей в получении достаточного материала для анализа. Использование В-клеточных митогенов позволило увеличить число выявляемых клональных аномалий [30,31]. Характерным для ВКЛ оказалось наличие различных комбинаций множественных клонов [122]. Но, хотя в разных исследованиях обнаруживаются разнообразные хромосомные аномалии, специфических для этого заболевания перестроек не выявлено. Так, в одном из исследований, включавшем 21 случай ВКЛ, у 30% пациентов найдена аномалия 14q+, затрагивающая локус тяжелой цепи Ig, включая 1 случай t(14;18)(q32;21), как при фолликулярной лимфоме [30,31]. У двух пациентов с вариантной формой волосатоклеточного лейкоза была найдена транслокация t(2;8)(p12;q24), характерная для лимфомы Беркитта [30,296]. Нередко находят нарушения в 12 хромосоме (12p, 12q24,12q13) [30]. В исследовании с помощью FISH с пробамми к хромосомам 1,3,6,7,8,9,10,11,12,15,16,17,18,20, выполненным в группе из 24 пациентов, была выявлена только диплоидия [183], в то время как в другом исследовании среди 10 пациентов с помощью FISH в двух случаях была выявлена трисомия 12 хромосомы [66]. В еще одном цитогенетическом исследовании среди 30 пациентов с ВКЛ у 12 (40 %) выявлялись аномалии 5 хромосомы, преимущественно трисомия, перичентричная инверсия и делеция 5q13 [122]. Наряду с аномалиями 5 хромосомы выявлялись аномалии 14 хромосомы, а также 1q42 и +del(12)(p11). Структурные нарушения 5 хромосомы

упоминались и в вышеуказанных исследованиях [30,215]. Интересно, что трисомия 12 является довольно частой аномалией при хроническом лимфолейкозе, в то время как аномалии 5 хромосомы редко обнаруживаются при лимфопролиферациях [66,152]. Выявленные количественные (чаще трисомия) и структурные нарушения в 5 хромосоме позволили предположить, что у части пациентов в патогенезе болезни может участвовать потеря супрессора опухоли, локализуемого в 5q13.3 [23].

Проявлением В-клеточной клональности при ВКЛ являются реарранжировки гена иммуноглобулинов как легких, так и тяжелых цепей. Интересно, что волосатоклеточный лейкоз является еще одним, наряду с лимфомой мантийной зоны, заболеванием, при котором выявлена гиперэкспрессия циклина D1, но в отличие от лимфомы, эта экспрессия не связана с транслокацией 11;14 (и, соответственно, реарранжировкой или амплификацией Bcl-1).

1.4. Клинические проявления, диагностика и дифференциальная диагностика ВКЛ.

1.4.1. Клиническая картина ВКЛ.

ВКЛ выявляют преимущественно у людей европейской расы среднего возраста. Медиана возраста заболевших составляет 52 года с разбросом от 23 до 80 лет [113]. Не встречено случаев заболевания у детей и подростков. Отмечено преобладание лиц мужского пола с соотношением мужчин и женщин по различным данным от 4,8:1 до 2,2:1 [247,267].

Диагностическая триада ВКЛ складывается из панцитопении, спленомегалии и выявления «ВК». Основные жалобы связаны с осложнениями цитопении и спленомегалией, но у четверти пациентов заболевание протекает бессимптомно и обнаруживается случайно [49,90]. Спленомегалия наблюдается у 90 % пациентов и бывает разной степени выраженности (от небольшой до значительной) [103,156]. Лимфоузлы очень редко увеличены, и почти всегда это увеличение касается не периферических, а внутри- и забрюшинных групп лимфоузлов в воротах печени и селезенки, и чаще встречается при вариантной

форме заболевания. С учащением использования в рутинной диагностики компьютерной томографии увеличение абдоминальных лимфоузлов выявляют примерно в четверти случаев заболевания [124,200]. Гораздо реже, примерно в 3 % случаев, заболевание дебютирует с болей в костях, в основном в проксимальном отделе бедренных костей или в костях осевого скелета [217], обследование при этом обычно выявляет очаги лизиса или, напротив, остеосклероза кости [181,231].

Инфекционные осложнения, вызванные как банальной флорой, так и относительно редкими микроорганизмами [62,214,259], встречаются у 70 % пациентов, у 20-25 % из них они бывают тяжелыми и являются самой частой (до 60 %) причиной летальности при ВКЛ [106]. В качестве возбудителей инфекции помимо банальной микрофлоры у этих пациентов чаще, чем в популяции встречаются *Legionella*, *Mycobacterium kansasii*, *Pneumocystis carinii*, *Aspergillus*, *Histoplasma*, *Cryptococcus* и *Toxoplasma* [106,174,292]. Следует учесть, что в условиях моноцитопении гранулемы при микобактериальных и грибковых инфекциях образуются хуже, поэтому эти инфекции необходимо подозревать даже при отсутствии гранулем.

В крови у большинства пациентов обнаруживается популяция «ВК», морфологически отличающихся от обычных лимфоцитов, но примерно у 10 % больных эти клетки в циркуляции не находят и обнаруживают только в костном мозге и селезенке. Для достоверной диагностики ВКЛ кроме миелограммы необходимо исследовать трепанобиоптат подвздошной кости. Плеврит и асцит практически не встречаются при классическом волосатоклеточном лейкозе [70,169]. В редких случаях заболевание протекает с различными аутоиммунными проявлениями (васкулиты, узловая эритема, синдром Рейно) [77]. Также редко встречается специфическая лейкозная инфильтрация различных негемопозитических органов и тканей.

1.4.2. Лабораторная диагностика ВКЛ.

1.4.2.1. Клинический анализ крови. Морфология лимфоцитов.

Панцитопения встречается примерно в половине случаев ВКЛ, у остальных больных отмечаются разные комбинации одно- или двухростковой цитопении [2,4,283]. Анемия чаще носит нормохромный характер и варьирует от умеренной до глубокой. Тромбоцитопения чаще умеренно выражена, в среднем около $50 \times 10^9/\text{л}$. Хотя классический ВКЛ характеризуется лейкопенией, в 10-20 % случаев может наблюдаться нормальное или повышенное (чаще незначительно, но иногда более $100 \times 10^9/\text{л}$) число лейкоцитов, такая форма болезни относится к вариантной [102].

К моменту диагностики примерно у трети пациентов обнаруживается глубокая нейтропения с содержанием гранулоцитов менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$ [8,114]. Почти во всех случаях отмечается сопутствующая нейтропении моноцитопения. Исследование мазков периферической крови выявляет среди лимфоцитов атипичную популяцию с характерной «волосатой» морфологией клеток почти во всех случаях ВКЛ. Тем не менее, количество их может быть невелико и выявляться лишь при внимательном изучении мазка, окрашенного по Романовскому-Гимзе. «ВК» размером чуть больше обычного лимфоцита, диаметром примерно 10-15 микрон, с небольшим или средним количеством цитоплазмы бледно-голубого или серо-голубого цвета. Цитоплазма этих клеток с неровным, волнистым контуром, образующим часто волосоподобные отростки. Эти отростки четче видны при фазово-контрастной микроскопии. Ядро клетки часто расположено несколько эксцентрично, обычно овальной или округлой формы, реже бобовидное. Ядерный хроматин разрыхленный, неконденсированный, ядрышки плохо различимы или отсутствуют.

1.4.2.2. Цитологическое, гистологическое и иммуногистохимическое исследование костного мозга.

Лимфоидная инфильтрация костного мозга имеется у всех пациентов, среди лимфоцитов выявляются «ВК», морфологически идентичные циркулирующим в крови [4,8]. В трепанобиоптате в большинстве случаев костный мозг гиперклеточный, с диффузной, смешанной с клетками нормального гемопоэза, или очагово-интерстициальной инфильтрацией

лимфоидными клетками. При очаговом росте скопления лимфоидных клеток образуют нечетко отграниченные очаги, без выраженной тенденции к паратрабекулярному росту. Часто наблюдается вытеснение нормальных ростков кроветворения, миелоидного в большей степени, но и эритроидного и, реже, мегакариоцитарного. Примерно в 10-20 % случаев костный мозг бывает со сниженной клеточностью, имитируя картину аплазии кроветворения, однако и в этом случае можно выявить интерстициальную лимфоидную инфильтрацию, подтверждаемую иммуногистохимическим исследованием с общими и специфическими для волосатоклеточного лейкоза В-клеточными маркерами. Инфильтрация костного мозга при ВКЛ имеет некоторые характерные особенности, так, ядра «ВК», в отличие ядер клеток при других лимфопролиферативных заболеваниях, расположены свободно и окружены широким ободком бледной, практически бесцветной цитоплазмы. Митозы клеток в костном мозге довольно редки. Часто обнаруживаются «сосудистые озёра» с периваскулярными экстравазатами эритроцитов. Характерно наличие костномозгового фиброза с нежной или более выраженной сетью ретикулиновых волокон. Причиной фиброза, располагающегося в области лимфоидной инфильтрации и распространяющегося на окружающий костный мозг, является секрция «ВК» фибронектинового матрикса. В некоторых случаях выявляется увеличенное количество тучных клеток, причина и прогностическое значение этого не выяснены. Для подтверждения диагноза проводится иммуногистохимическое исследование биоптата костного мозга с набором моноклональных антител, подтверждающих В-клеточный характер лимфопролиферации и выявляющих специфические для волосатоклеточного лейкоза маркеры – DBA.44, анти-TRAP (9C5), CD25, CD103, CD11c.

1.4.2.3. Цитохимическое исследование лимфоцитов на тартратустойчивую кислую фосфатазу.

Выявление тартратустойчивой кислой фосфатазы (TRAP) в лимфоцитах – диагностический показатель ВКЛ [184]. TRAP является железосодержащим лизосомальным белком, одним из четырех изомеров кислой фосфатазы

человека, возможно, имеющим значение в процессах транспорта и хранения железа. Многочисленными исследованиями установлено, что TRAP-позитивные клетки обнаруживаются более чем в 90 % случаев ВКЛ [301]. Тем не менее, количество TRAP-позитивных лимфоцитов и степень экспрессии этого фермента варьируют в широких пределах. Исследование на TRAP может выполняться только на нефиксированных образцах крови, костного мозга, отпечатков тканей, так как фиксация разрушает кислую фосфатазу.

1.4.2.4. Иммунофенотипирование лимфоцитов.

В настоящее время выявление характерного иммунофенотипа «ВК» считается главным диагностическим критерием ВКЛ. В образцах крови или костного мозга с помощью фазово-контрастной и люминисцентной микроскопии или проточной флуоцитометрии выявляют клональные зрелые активированные В-клетки sIg+, CD19+, CD20+, CD5-, CD10-, с выраженной экспрессией CD22+, CD11c+, FMC7+, умеренной экспрессией CD25+, CD103. Антиген CD103 (HML-1) является α^E субъединицей молекулы интегрина $\alpha^E\beta_7$, которая присутствует также на внутриэпителиальных Т-клетках и активированных лимфоцитах. Экспрессия CD103 считается высокоспецифичным маркером волосатоклеточного лейкоза, хотя известны редкие случаи CD103-негативного заболевания, а также случаи CD103-позитивных иных хронических лимфопролиферативных заболеваний [240].

1.4.2.5. Исследование биоптата селезенки, печени, других пораженных органов.

Для волосатоклеточного лейкоза характерно изолированное увеличение селезенки, обнаруживаемое у большинства больных. Гепатомегалии обычно нет, или она незначительная. При гистологическом исследовании ткани селезенки выявляется характерная для этого лейкоза инфильтрация «ВК» красной пульпы (в отличие от инфильтрации белой пульпы при других лимфопролиферациях), нередко с формированием псевдосинусов, белая пульпа при этом часто атрофирована. В биоптатах печени выявляется инфильтрация

«ВК» и порталных зон, и синусоидов. В гистологических препаратах лимфоузлов в случае их поражения выявляется очаговая инфильтрация паракортикальной и медуллярной зон, опухолевые «волосатые» лимфоциты часто окружают резидуальные фолликулы и инфильтрируют капсулу. Хотя поражение нелимфоидных органов нехарактерно, тем не менее, может встречаться специфическая инфильтрация любых других органов и тканей, в том числе кожи, легких, почек, костей. Опухолевая инфильтрация тканей подтверждается гистологическим и иммуногистохимическим исследованием с набором характерных для ВКЛ моноклональных антител.

1.4.3. Дифференциальный диагноз ВКЛ.

ВКЛ необходимо дифференцировать со всеми заболеваниями, протекающими с цитопенией и спленомегалией, в частности, с другими хроническими лимфопролиферативными заболеваниями (хронический лимфолейкоз, пролимфоцитарный лейкоз, лимфоцитоз селезенки, лейкоз из больших гранулярных лимфоцитов), апластической анемией, миелолипролиферативными заболеваниями, болезнями печени. Важность разграничения этих заболеваний от ВКЛ связана с существенным различием в тактике лечения.

Опорными пунктами диагноза ВКЛ, помимо клинической картины - цитопении с лимфоцитозом, моноцитопенией и спленомегалией, являются обнаружение в мазке крови и/или костного мозга «ВК», содержащих TRAP, выявление специфичного для заболевания фенотипа опухолевых лимфоцитов (CD19+, CD20+, CD22+, CD11c+, CD103+, CD25+, FMC7+, HC2+; CD5-, CD23- и CD10-) и наличие характерной гистологической картины костного мозга (фиброз, вид инфильтрации и морфология клеток) и селезенки (вовлечение красной пульпы, формирование псевдосинусоидов), подтверждаемой иммуногистохимически.

Дифференциальная диагностика усложняется тем, что все эти признаки не абсолютны, поэтому диагноз должен устанавливаться на основании всестороннего анализа совокупности признаков. Так, хотя тест на TRAP

считается высокоспецифичным для волосатоклеточного лейкоза, необходимо помнить, что он может быть положительным в ряде случаев хронического лимфолейкоза, пролимфоцитарного лейкоза, тучноклеточного лейкоза, лимфоцитомы селезенки, поэтому этот тест должен дополняться морфологическим и фенотипическим исследованием лимфоцитов в крови и костном мозге.

1. В-хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) следует дифференцировать с вариантной формой волосатоклеточного лейкоза. Нужно обращать внимание на типичную для ХЛЛ периферическую лимфаденопатию, морфологию лимфоцитов и характер инфильтрации в костном мозге, вовлечение белой пульпы селезенки, иммунофенотип со свойствами хроническому лимфолейкозу маркерами CD5+, CD23+, без экспрессии характерных для ВКЛ CD25, CD11c и CD103 [195].

2. В-пролимфоцитарный лейкоз, в отличие от волосатоклеточного лейкоза, сопровождается гиперлейкоцитозом, опухолевые клетки отличаются от «волосатых» большим размером, большей цитоплазмой, ядром, содержащим отчетливую нуклеолу, отсутствием цитоплазматических отростков. Массивная спленомегалия не редкость при хроническом пролимфоцитарном лейкозе, но вовлечена в процесс при этом белая пульпа, а не красная, как при ВКЛ. В иммунофенотипе, помимо общих В-клеточных маркеров CD19, CD20, могут быть слабо положительные CD11c, CD25, но CD103 обычно отрицательный [258].

3. Лимфоцитомы селезенки (лимфома маргинальной зоны селезенки, селезеночная лимфома с ворсинчатыми лимфоцитами) также может походить на ВКЛ, особенно в связи с наличием у лимфоцитов цитоплазматических выростов. Морфологические отличия опухолевых клеток при лимфоцитоме состоят в том, что хроматин ядра обычно более конденсирован, с заметной нуклеолой более чем в половине случаев. Аспират костного мозга получается легко вследствие отсутствия фиброза. В селезенке инфильтрирована белая пульпа [271]. Цитохимическая реакция на TRAP может быть слабо положительной, но чаще отрицательная [301]. Фенотип лимфоцитов может

быть сходен с «волосатыми», но экспрессия антигенов выражена слабее, CD103 чаще отрицательный [196].

4. Апластическая анемия, так же, как ВКЛ, проявляется панцитопенией и малоклеточным костным мозгом в миелограмме, однако спленомегалия при этом заболевании редка и незначительна. Отличительным признаком в этом случае является отсутствие характерной для ВКЛ лимфоидной инфильтрации в гистологическом препарате костного мозга, отсутствие TRAP-позитивных лимфоцитов с характерным иммунофенотипом, отрицательные результаты гистохимического исследования.

5. Лейкоз из больших гранулярных лейкоцитов (БГЛ) по ряду признаков (нейтропения, лимфоцитоз, спленомегалия) сходен с ВКЛ, иногда может быть положительной реакция на TRAP, однако лимфоидные клетки при БГЛ крупнее, без ворсинчатых выростов, содержат множественные крупные азурофильные гранулы в цитоплазме. При иммунофенотипировании на этих лимфоцитах, выявляют, как правило, Т-клеточные маркеры ($CD3^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD57^+$, $CD4^-$) или NK-клеточный фенотип ($CD3^-$, $CD56^+$).

6. Миелофиброз, особенно при цитопенической фазе болезни, также иногда приходится дифференцировать с ВКЛ, в связи с хроническим течением этих заболеваний со спленомегалией и фиброзом костного мозга [128]. Однако, в отличие от ВКЛ, при миелофиброзе в крови отмечают нейтрофилез с высоким содержанием щелочной фосфатазы нейтрофилов, в селезенке и костном мозге обнаруживают картину миелопролиферации (панмиелоза) и не находят клональной В-лимфопролиферации с маркерами ВКЛ.

7. Гепатит с длительным течением или цирроз печени часто могут осложняться спленомегалией и цитопенией и требовать проведения дифференциальной диагностики с ВКЛ. Опорными пунктами правильного диагноза являются симптомы нарушения печеночной функции, структуры печени, признаки портальной гипертензии, а также отсутствие типичной для ВКЛ лимфоидной инфильтрации костного мозга.

1.4.4. Вариантная форма ВКЛ.

Вариантная форма ВКЛ впервые была выделена в 1980г Cawley с соавт., ее также упоминали другие авторы под названием пролимфоцитарный вариант ВКЛ [55]. Эта форма заболевания встречается редко, составляя по данным E.Matutes с соавт. около 10 % [198], по другим данным – до 25 % случаев ВКЛ [276]. Вариантная форма ВКЛ устанавливается по отсутствию лейкопении – уровень лейкоцитов нормален ($4-10 \times 10^9/\text{л}$) или повышен ($>10 \times 10^9/\text{л}$), чаще незначительно. В литературе приводятся и другие особенности вариантной формы: средний возраст пациентов выше - около 70 лет (48-92), частота заболевания одинакова у мужчин и женщин (м:ж=1,6:1).

В середине 90х гг в Японии была выявлена особая форма, так называемый «японский вариант ВКЛ», протекающая также, как вариантная форма ВКЛ, без лейкопении. При японском варианте ВКЛ возраст заболевших старше, среди них преобладают женщины, уровень лейкоцитов выше, фиброз костного мозга менее выражен, тест на TRAP часто отрицательный, а типичные CD-маркеры экспрессируются слабо или отсутствуют [189-191].

Клинические проявления вариантного ВКЛ сходны с таковыми при типичной форме заболевания и связаны с осложнениями спленомегалии, анемии и тромбоцитопении. Вместе с тем, при вариантном ВКЛ чаще встречается массивная спленомегалия ($>+10\text{см}$), иногда значительно увеличены абдоминальные лимфоузлы.

Отличительной особенностью вариантного ВКЛ по данным литературы считается отсутствие моноцитопении и нейтропении (из-за повышенного содержания лейкоцитов абсолютное число нейтрофилов, несмотря на лимфоцитоз, не снижено). Анемия и тромбоцитопения встречаются реже - примерно в трети случаев. Морфология «ВК» при вариантной форме обычная для ВКЛ. В отличие от типичного ВКЛ, трудностей в получении аспирата костного мозга обычно не возникает, костный мозг достаточно клеточный. Специфическая лимфоидная инфильтрация костного мозга и селезенки отличается меньшей выраженностью фиброза.

Иммунофенотипически «ВК» при вариантной форме ВКЛ несут маркеры зрелых поздних активированных клональных В-лимфоцитов, однако среди типичных для заболевания маркеров CD25, HC2 чаще отрицательны, иногда отрицателен и CD103. Каких-либо характерных цитогенетических особенностей этой формы заболевания не найдено.

По литературным данным при вариантном ВКЛ спленэктомия, терапия α -ИФ и аналогами пурина менее эффективны – частичную ремиссию удается достичь лишь у половины больных. Предполагается, что спленэктомия является предпочтительным методом лечения этих больных.

Течение вариантной формы волосатоклеточного лейкоза хроническое, состояние может оставаться стабильным в течение нескольких лет. Средняя выживаемость в наблюдении за группой из 52 пациентов составила 9 лет, в отличие от типичной формы заболевания, где медиана достигнута не была в сериях наблюдения за большими группами больных [198]. Однако более чем в трети случаев причина смерти у больных вариантным ВКЛ была не связана с заболеванием. В 6% случаев при вариантном ВКЛ была отмечена саркомная трансформация заболевания, характеризующаяся бурным нарастанием лейкоцитоза до десятков и сотен тысяч с высоким бластозом, с сохранявшимся исходным фенотипом «ВК», массивной абдоминальной и/или забрюшинной лимфоаденопатией, резистентностью к терапии и быстрым летальным исходом. Оптимальная терапия для этой формы заболевания не определена.

1.4.5. Атипичные проявления ВКЛ

Описаний редких проявлений ВКЛ в литературе немного, видимо, в связи с немногочисленностью работ с анализом заболевания у большой группы пациентов [286]. Считается, что некоторые нетипичные проявления заболевания, такие, как вовлечение лимфоузлов, чаще встречаются при вариантной форме ВКЛ. Имеются единичные описания лимфопролиферативного заболевания, сочетающего признаки как волосатоклеточного, так и хронического лимфолейкоза – с лейкоцитозом, отсутствием моноцитопении и коэкспрессией на опухолевых клетках CD19 и

CD5 [11,129]. Описаны случаи «бластного варианта» ВКЛ, при котором опухолевые клетки содержат омоложенное ядро с выраженной нуклеолой, базофильную цитоплазму и азурофильные гранулы [72].

Помимо костного мозга и селезенки в патологический процесс при ВКЛ могут вовлекаться любые другие органы и ткани. В работе Vardiman с соавт. [285] при аутопсийном исследовании 22 пациентов ВКЛ специфическое поражение печени было выявлено в 100 % случаев, поражение легких – в 30 %, почек – в 60 %, надпочечников – в 27 %, желудочно-кишечного тракта – в 9 %, миокарда – в 14 %, поджелудочной железы – в 45 % случаев, центральная нервная система была поражена у 1 из 9 исследованных больных [286].

Вовлечение висцеральных лимфоузлов.

Вовлечение абдоминальных и/или медиастинальных лимфоузлов – наиболее частое нетипичное проявление ВКЛ. Nakimian с соавт. нашли 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 [124]. Авторы сделали вывод, что лимфаденопатия, вероятно, развивается на более поздних этапах заболевания. Известен ряд публикаций из клиники проф. Catovsky (J.Mercieca, E.Matutes с соавт.) о частоте встречаемости и результатах лечения волосатоклеточного лейкоза с абдоминальной лимфоаденопатией [200-202]. Авторы обнаружили увеличение абдоминальных лимфоузлов у 25 (28 %) из 88 пациентов, чаще в рецидиве, чем в дебюте заболевания (56 % и 17 % соответственно). Зависимости лимфаденопатии от возраста и пола пациентов не выявлено, отмечена зависимость от длительности заболевания и выраженности спленомегалии. У этих пациентов терапия препаратами альфа-интерферна и аналогами пуринов была менее эффективна.

Поражение костной ткани.

Несмотря на то, что инфильтрация костного мозга – постоянный признак волосатоклеточного лейкоза, поражение костей и/или их деструкция при этом заболевании наблюдается редко. Так, в исследовании Lembersky с соавт.

поражение костей было выявлено только у 9 (2,9 %) пациентов из 267 [181]. В ряде других исследований частота вовлечения костной ткани колебалась от 0 до 13 % [16,131,231]. Чаще всего был поражен осевой скелет или проксимальные отделы трубчатых костей (в основном бедренных). Встречаются и множественные поражения костей скелета [90,159]. Ведущей жалобой при специфическом поражении костей является болевой синдром, и хотя костные боли и артралгии могут беспокоить пациентов и при отсутствии поражения костей, тем не менее, эти жалобы являются показанием к рентгенологическому или МРТ исследованию скелета. В исследовании Herold с соавт., из 29 пациентов с ВКЛ с поражением костей у 4 (14 %) костные деструкции были первым выявленным симптомом заболевания, приведшим к диагностированию лейкоза [131]. Поражение костей может развиваться в развернутый период болезни и в период полной или частичной ремиссии, но чаще – при прогрессии заболевания. Уровень ЩФ и Ca^{++} в крови при этом чаще остается в пределах нормы или незначительно повышен [181]. Рентгенологическая картина неспецифична, чаще наблюдаются очаги лизиса, самая типичная картина – один или несколько литических очагов в головке и шейке бедренной кости. Известны случаи асептического некроза головки бедренной или плечевой кости вследствие выраженной специфической инфильтрации «ВК», подтвержденной гистологически [136,231]. Встречаются поражения и других костей скелета: позвоночника, таза, черепа, диафизов бедренных костей и, реже – диафизов или дистальных эпифизов плечевых и большеберцовых костей. Кроме очаговых поражений, у больных с ВКЛ могут быть выявлены диффузная деминерализация костной ткани, склеротические изменения костей, явления диффузного остеопороза и т.п [131,181]. Патологические изменения в костях могут приводить к переломам, в том числе компрессионным, что наблюдается более чем у трети больных с костными изменениями. Пока не известны причины и патогенез поражения костей при ВКЛ. Обсуждают разные факторы, в том числе нарушение регуляции пролиферации фибробластов, нарушение синтеза коллагена и факторов роста микроокружением, ведущие как к лизису, так и к остеосклерозу [128,284,288]. Установлено, что у пациентов с ВКЛ без

признаков очагового поражения костей ускорена резорбция костной ткани [33]. Это указывает на изменения в функционировании остеокластов и остеобластов. В диагностике костной патологии, кроме рентгенографии костей, используются и более чувствительные методы - изотопное сканирование костей и магнитно-резонансная томография. Диагноз необходимо подтверждать гистологическим исследованием биоптата, получаемым прицельной биопсией, а так как толстоигольная биопсия часто представлена только некротической тканью, для окончательной диагностики может быть необходима резекция пораженного участка кости [284]. Гистологическое исследование биоптата позволяет уточнить специфический характер поражения и провести дифференциальный диагноз с инфекционным (в частности, туберкулезным) или метастатическим поражением, асептическим некрозом, миеломной болезнью. Наиболее труден дифференциальный диагноз с миеломой, описано как сочетание этих заболеваний, так и трансформация одного в другое [10,15,146]. Полная регрессия очагового поражения костей при ВКЛ достигается локальным облучением в дозе от 15 до 30 Гр [131,181,231]. Также с успехом применяется протезирование участка кости. Однако в большинстве случаев требуется проведение лечения ВКЛ. Известны случаи успешной терапии с полной регрессией очагов костного поражения при длительном применении препаратов α -ИФ [181,231]. В связи с появлением эффективных медикаментозных средств лечения волосатоклеточного лейкоза, в настоящее время общепризнано, что лечение костного поражения должно быть не только локальным (резекция, протезирование, лучевая терапия) но и системным (α -ИФ, аналоги пурина). В лечении остеопатии применяются бифосфонаты, уменьшающие лизис и деминерализацию костной ткани. Таким образом, при проведении адекватного лечения, специфическое поражение костной ткани при волосатоклеточном лейкозе не является фактором, ухудшающим прогноз [131,231,288].

Поражение кожи.

Частота поражений кожи при волосатоклеточном лейкозе точно не установлена, в связи с ретроспективным характером большинства исследований

и отсутствием во многих случаях гистологического подтверждения. Поражения кожи бывают двух видов: специфические, связанные с лейкозной инфильтрацией «ВК» и неспецифические. По данным исследователей, частота специфического поражения кожи колеблется от 0 до 14 %. Так, в исследовании 600 пациентов, специфическое поражение кожи было диагностировано у 48 (8 %) пациентов, хотя гистохимическое исследование биоптата кожи было проведено только у 2 пациентов [45].

Клинические проявления специфического кожного поражения полиморфны: папулы, внутрикожные узлы, очаги инфильтрации, язвы и т.п.[270]. При гистологическом исследовании выявляют инфильтрацию дермы однородной популяцией TRAP-позитивных лимфоидных клеток с морфологией «ВК», обычно расположенных вверху сосочкового слоя дермы, без поражения эпидермиса [179]. Тест на TRAP может быть также положителен при других лимфопролиферативных заболеваниях (например, лимфогранулематозе, хроническом пролимфоцитарном лейкозе). Кожные поражения развиваются на любой стадии заболевания, не являясь прогностически неблагоприятным фактором [14,89,179]. Обычно поражение кожи исчезает на фоне специфической терапии волосатоклеточного лейкоза, иногда необходимо выполнение лейкоцитаферезов [14].

Неспецифическое поражение кожи при ВКЛ чаще связано с инфекцией [45,179]. Клинические проявления инфекционного поражения кожи также разнообразны (пустулезная сыпь, фасцииты, абсцессы, флегмоны и т.п.) [45]. В обзоре Finan с соавт. наблюдали кожные инфекционные осложнения у 42 % из 113 пациентов с волосатоклеточным лейкозом [89]. Возбудителем может быть как банальная флора, так и микобактерии и грибы [47,176].

Иногда изменения, выявляющиеся на коже больных ВКЛ, связаны с аутоиммунным процессом – васкулиты, узловая эритема, «симптом бабочки» на коже лица как при системной красной волчанке, склеродермия [85,127,293]. Эти симптомы обычно также исчезают на фоне специфической терапии волосатоклеточного лейкоза. Отмечены случаи развития вторичных опухолей кожи – базалиомы, карциномы, меланомы, саркомы, лимфомы [44,64,280].

Поражение нервной системы.

Наиболее частой причиной неврологических проявлений при ВКЛ является инфекция, что требует тщательного микробиологического исследования ликвора. Тем не менее, описано как минимум 2 случая специфического менингита при ВКЛ, успешно леченных интратекальными введениями метотрексата и краниальным облучением [212,295]. Известны случаи сенсорной и моторной нейропатии, невралгии (корешковый синдром) из-за поражения тел ребер [160] или компрессии позвоночника [28], очаговая неврологическая симптоматика в связи с лейкостазами или геморрагическим синдромом [159]. Мы не нашли описаний случаев лечения неврологических проявлений ВКЛ пуриновыми аналогами, хотя они проникают через менингоэнцефальный барьер [186].

Поражение печени.

При гистологическом исследовании биоптата печени, полученного во время спленэктомии или аутопсии, всегда выявляют инфильтрацию печеночной ткани «ВК» [241,286,300], однако это редко проявляется клиническими симптомами. Тем не менее, известен случай фулминантного специфического гепатита, развившегося при рецидиве ВКЛ [80]. Гепатомегалия не всегда связана со специфической инфильтрацией, так, при аутопсии примерно у трети пациентов выявляли гемангиому, приведшую к увеличению размеров печени [159].

Васкулит и другие аутоиммунные осложнения.

Васкулит осложняет течение ВКЛ в 2 – 20 % случаев [85,94,293], возникая на любом этапе, но чаще в течение первого года болезни. Симптомы включают разнообразные кожные проявления у 65 % больных, лихорадку и симптомы интоксикации – у 43 % больных, периферическую нейропатию – у 7 % больных, нефриты – у 9 % больных и аневризмы – у 28 % больных [83]. Наиболее часто диагностируют узелковый панартериит, реже – специфическую

инфильтрацию сосудов «ВК» [127]. Узелковый панартериит, развивающийся при ВКЛ часто на фоне или вскоре после сопутствующей инфекции, в большинстве случаев бывает генерализованным [78,100,223,226], хотя бывают случаи изолированного поражения оболочек мозга [188], височных артерий [19], яичек [185]. Как и при классическом панартериите, для панартериита, ассоциированного с ВКЛ, характерно преобладание мужского пола, сочетание с серопозитивным гепатитом В и висцеральными проявлениями, но, в отличие от классического, содержание в крови ЦИК снижено, нет ревматоидного фактора, редко формируются аневризмы периферических артерий [166]. Одной из гипотез, объясняющих развитие васкулита при ВКЛ, является образование перекрестно реагирующих аутоантител [229]. Другая гипотеза связывает частоту развития васкулита с инфекциями, причем причиной этого осложнения считают инфекционный, а не паранеопластический процесс [85]. У некоторых пациентов васкулит проходит спонтанно, иногда – после спленэктомии [235,245,293], в большинстве случаев эффективны стероиды [293] или α -ИФ [43,111]. В случае эффективного лечения ВКЛ васкулиты не ухудшают прогноза болезни в целом, хотя известны случаи летального исхода в связи тромбозами или разрывом аневризмы пораженных сосудов [166,175].

К числу других редких аутоиммунных осложнений относят гломерулонефрит [132,245], аутоиммунный гемолиз [17,75,120,237], иммунную тромбоцитопению [210], ревматоидный артрит [82], склеродермию [53], полимиозит [24], язвенный колит [220], тиреоидит [154].

Моноклональная гаммапатия.

Количественные и качественные изменения содержания иммуноглобулинов, включая поликлональную и моноклональную гаммапатию, обнаруживают по разным данным у 16-30 % пациентов с ВКЛ [54,125]. Считают, что подобные нарушения отражают рассогласованность функционирования В-клеток и могут быть причиной аутоиммунных осложнений, изредка встречающихся при этом заболевании. Иногда моноклональный иммуноглобулин продуцируют не опухолевые клетки [213].

Анализа частоты парапротеинемии в зависимости от формы ВКЛ и возраста больных в изученной литературе мы не встретили.

1.5. Лечение волосатоклеточного лейкоза.

Поскольку ВКЛ – зрелоклеточное хроническое лимфопролиферативное заболевание, а субстрат болезни – «ВК» характеризуются низким пролиферативным индексом, не все пациенты с подтвержденным диагнозом нуждаются в немедленном начале лечения, так как известны случаи многолетнего существования болезни без признаков прогрессии и клинически значимой патологии.

Показаниями к началу лечения являются:

- выраженная или нарастающая цитопения (гематокрит < 25 %, тромбоциты < 50×10^9 /л, нейтрофилы < $0,5 \times 10^9$ /л);
- симптомная или массивная спленомегалия (> +10см);
- присоединение инфекций [108].

До середины 80х гг. единственным эффективным средством лечения волосатоклеточного лейкоза была спленэктомия [197]. С 1984г в лечении заболевания начал успешно применяться α -ИФ [278]. Это позволило, несмотря на малое число полных ремиссий и длительность терапии, отчасти решить проблему лечения после или вместо спленэктомии. С 90х гг в клиническую практику вошли два препарата из группы аналогов пуринов – 2-дезоксикоформицин (DCF, пентостатин) и 2-хлордезоксиаденозин (2-CdA, кладрибин, леустатин), применение которых у большинства больных ВКЛ позволяет достигать полные стойкие ремиссии после короткого курса лечения [173,273].

1.5.1. Спленэктомия.

В 60е-80е годы удаление селезенки было единственным действенным способом лечения волосатоклеточного лейкоза, из-за его резистентности к лечению преднизолоном, а также хлорамбуцилом, циклофосфаном и прочими цитостатиками, эффективными в лечении других хронических

лимфопролиферативных заболеваниях. Попытки терапии нецитостатическими препаратами – карбонатом лития, андрогенами, другими методами – трансфузиями лейкоконцентрата, лейкоферезом и т.п. были безуспешны [192,246]. Спленэктомия приводила к быстрому улучшению гемограммы у 60-85 % больных, однако у большинства затем вновь выявляли симптомную цитопению, требующую лечения. Теперь этот метод отчасти вытеснен современными эффективными лекарственными средствами, но необходимость в нем в некоторых случаях сохраняется. Замечено, что у некоторых пациентов спленэктомия может приводить к исчезновению признаков заболевания на долгие годы и даже десятилетия.

Показания к проведению спленэктомии могут быть лечебными и диагностическими. В качестве диагностической процедуры спленэктомия выполняется в случае спленомегалии без уточненного диагноза, при цитопении с незначительным количеством опухолевых клеток в крови и костном мозге, не позволяющим точно определить диагноз. Особый вид инфильтрации селезенки (вовлечение красной, а не белой пульпы), подтвержденный при необходимости иммуногистохимическим исследованием, позволяет четко отличить ВКЛ от других лимфопролиферативных заболеваний или миелофиброза.

Показанием к спленэктомии при установленном диагнозе ВКЛ являются: разрыв селезенки; значительная спленомегалия при незначительной инфильтрации костного мозга; значительная спленомегалия с глубокой цитопенией (при любой степени инфильтрации костного мозга). Некоторые исследователи относят к показаниям к спленэктомии консолидацию ремиссии после терапии интерфероном при остаточной спленомегалии [68,69,87,218].

Критериями полной ремиссии после спленэктомии считают нормализацию показателей периферической крови (гемоглобин >110 г/л, нейтрофилы $> 1 \times 10^9$ /л и тромбоциты $> 100 \times 10^9$ /л). Частичной ремиссией считают нормализацию показателей одного или двух ростков кроветворения, а отсутствие улучшений по этим параметрам указывает на отсутствие ремиссии [49].

Разрыв селезенки – редкое событие при ВКЛ, связанное в основном с травмой на фоне массивной спленомегалии [28,299].

В качестве первой линии терапии спленэктомию традиционно применяли у пациентов с массивной спленомегалией (>+10см из подреберья) даже при отсутствии глубокой цитопении, для удаления большой массы опухоли. Хотя спленэктомия не оказывает (или почти не оказывает) влияния на лимфоидную инфильтрацию костного мозга, возможно, после нее могут улучшиться результаты последующего лечения. Присоединение в 80е годы к спленэктомии препаратов α -ИФ позволило некоторым исследователям сделать вывод о более быстром ответе на лечение в этой группе больных. Из 93 пациентов с ВКЛ, включенных в исследование эффективности α -ИФ, среди спленэктомизированных пациентов частота рецидивов была существенно меньше [282], а среди 15 пациентов, получавших лечение аналогом пурина 2-дезоксикоформицином, у спленэктомизированных больных исходный уровень CD4/CD8 был ближе к норме и скорее восстанавливался после лечения [257].

Спленэктомия также показана пациентам с глубокой цитопенией и массивной спленомегалией, вне зависимости от степени инфильтрации костного мозга, хотя при небольшой инфильтрации ожидаемый результат бывает лучше [222]. Помимо гиперспленизма и уменьшения плацдарма нормального кроветворения в костном мозге из-за лимфоидной инфильтрации, у пациентов даже с незначительной спленомегалией может быть повышена секвестрация клеток крови в селезенке. В ряде исследований [105] не найдено зависимости эффекта спленэктомии от размера селезенки, в других же отмечался лучший эффект при размере селезенки >+ 4см из подреберья, особенно в отношении уровня гемоглобина [143]. В исследовании Matutes E. и Catovsky D. в группе из 22 пациентов с ВКЛ спленэктомия привела к ремиссии у 86 % больных, в том числе полной – у 4 больных, сохранявшейся без последующей терапии в течение 16 лет [59]. Данные о длительных ремиссиях после спленэктомии без последующего лечения приведены и в ряде других исследований [26,58,104]. Неясно, насколько длительность ремиссии связана в каждом отдельном случае со спленэктомией или с биологическими

особенностями заболевания, поскольку имеются описания случаев многолетнего (более 14 лет) бессимптомного течения волосатоклеточного лейкоза и даже спонтанных ремиссий [27]. По данным исследований, включивших 444 пациентов, эффективность спленэктомии варьирует от 86 до 100 % (сюда включали полные и частичные ремиссии, а также уменьшение цитопении по отдельным показателям) [22,105,142,282,204,216]. В рандомизированном исследовании по сравнению эффективности спленэктомии и α -ИФ показано, что цитопения лучше коррегируется в группе α -ИФ, хотя эффект развивается быстрее у спленэктомизированных пациентов [262]. Различий в выживаемости в двух группах не найдено в связи с тем, что основная масса пациентов после спленэктомии получала лечение α -ИФ. В ряде рандомизированных и нерандомизированных исследований спленэктомия применялась в качестве консолидирующего этапа лечения после достижения ремиссии с помощью α -ИФ [68,69,87,218]. В одном из исследований безрецидивная выживаемость за 4 года у спленэктомизированных пациентов была выше [69]. Интересно, что почти во всех случаях в селезенках, удаленных в полной ремиссии ВКЛ после терапии α -ИФ, обнаруживалась минимальная остаточная инфильтрация «ВК» [68,218]. Осложнения при спленэктомии редки, их частота колеблется от 0 до 8 %, со смертностью 0-3 % [50,59,105,142,192,216].

ВКЛ относится к заболеваниям с длительным хроническим течением, при современном лечении медиана выживания в большинстве исследований не достигнута к 10-летнему периоду. Несмотря на то, что в прошлом основной причиной смерти этих пациентов были инфекции и прогрессия заболевания, успехи терапии привели к тому, что в настоящее время большая часть больных умирает не от ВКЛ, а от кардиоваскулярных заболеваний, других опухолей и т.п. причин, распространенных в общей популяции. До начала применения α -ИФ в 80е годы общая 4-летняя выживаемость пациентов после спленэктомии составляла около 65 %, после – увеличилась до 88 % [192]. В настоящее время, с внедрением в клиническую практику аналогов пуринов, общая выживаемость спленэктомизированных пациентов с волосатоклеточным лейкозом колеблется от

100 % с медианой наблюдения 4 года и 5 лет [59,69], до 56 % с медианой наблюдения 10 лет [197].

Таким образом, в настоящее время спленэктомия уступила свое место первой линии терапии, так как большинству больных в дальнейшем требуется продолжение лечения, но сохраняет свое значение для ряда пациентов – как диагностическая процедура, при разрыве селезенки, глубокой тромбоцитопении, при рефрактерности к лекарственной терапии. Критерии, по которым предпочтительнее спленэктомия или лекарственная терапия при массивной спленомегалии не установлены и зависят от предпочтений клинициста. Вопрос о том, не лучше ли сразу применять препараты аналогов пуринов, остается открытым. Одним из преимуществ удаления селезенки является быстрая, в течение 1-2 суток, коррекция цитопении, что уменьшает риск соответствующих осложнений и улучшает условия проведения лекарственной терапии. Тем не менее, риск хирургического вмешательства, хотя и небольшой, остается.

1.5.2. Препараты альфа-интерферона (α -ИФ).

Интерфероны – гетерогенная группа гликопротеинов, вырабатываемая в клетках в ответ на различные стимулы. Проявление биологической активности интерферонов опосредуется их связыванием со специфическими клеточными рецепторами. Интерфероны могут влиять на рост, дифференцировку и функционирование различных видов клеток иммунной системы, в частности, на взаимодействие с опухолевыми клетками, выполняя тем самым важную роль в противоопухолевом иммунитете. α -ИФ представляет большой класс интерферонов, наиболее, по сравнению с бета- и гамма-интерфероном, эффективный в лечении ВКЛ. Лекарственная форма α -ИФ представлена натуральным и рекомбинантным препаратом. Используются рекомбинантные препараты альфа-2а-интерферона (роферон А, реаферон) и альфа-2б-интерферона (интрон-А, реальдирон) и препарат натурального лейкоцитарного интерферона (велферон). Первое успешное применение α -ИФ при ВКЛ датируется 1984г, когда Quesada с соавт. опубликовали данные об

эффективном курсе лечения препаратом у 7 больных, с достижением у 3 полной ремиссии [232]. С этого времени и до внедрения аналогов пуринов α -ИФ был единственным эффективным лекарственным средством для лечения ВКЛ, применяемым в подобранной эмпирически дозировке 3 млн.ед. ежедневно или через день. Точный механизм действия α -ИФ при ВКЛ не установлен. В экспериментах показано, что α -ИФ вызывает: - увеличение исходно сниженной активности натуральных киллеров (НК-клеток) [92]; - повышение экспрессии антигенов гистосовместимости II класса на «волосатых клетках» [18]; - изменение экспрессии интегрина на «ВК» [40]; - ингибирование пролиферации «ВК» *in vitro*, индуцированной опухолю-некротическим фактором (TNF) и низкомолекулярным фактором роста В-клеток [119]; - повышение сниженной выработки интерлейкина-6 мононуклеарами периферической крови [252]; - ухудшение образования рибосомально-ламеллярных комплексов [209]; - снижение уровня внутриклеточного кальция [95]; - стимулирование 2'5'-олигоденилатсинтетазы [261]; - снижение уровня TNF-связывающего протеина и повышение секреции «ВК» TNF [73,147]. По данным экспериментальной работы Vedantham с соавт., изучающей механизм действия α -ИФ при ВКЛ, наиболее вероятной является индукция дифференцировки «ВК» в форму, менее чувствительную к действию ростовых факторов [287]. Самое большое из опубликованных исследований по изучению применения α -ИФ при ВКЛ охватывает 212 пациентов, у 25 % из которых наблюдали вариант болезни с лейкоцитозом свыше $10 \times 10^9/\text{л}$ [276]. Все пациенты получали α -2 β -интерферон в дозе 2×10^6 ед/ м^2 подкожно трижды в неделю в течение года. В результате лечения полная ремиссия была получена у 4 % больных, частичная ремиссия – у 74 % больных, улучшение – у 11 % больных, не было получено эффекта – у 11 % больных. Пациенты, ответившие на лечение, после года терапии были рандомизированы на 2 группы – продолжение лечение еще 6 мес. или наблюдение [107]. Рецидив заболевания в сроки от 1 до 19 мес (медиана 7 мес) был отмечен у 7 % больных в группе, продолжавшей лечение, и у 18 % больных в группе наблюдения. Ремиссия у пациентов, прекративших лечение, вновь была достигнута применением α -ИФ в прежней дозе [109]. В других

исследованиях была показана сходная общая эффективность лечения α -ИФ, составляющая от 70 % до 80 %. Эмпирически установленный необходимый курс лечения α -ИФ составляет 1 год, но для уменьшения вероятности рецидива целесообразна дальнейшая длительная поддерживающая терапия. В целом, переносимость длительного применения α -ИФ удовлетворительная даже у больных, принимающих препарат более пяти лет. Основными побочными эффектами являются гриппоподобный синдром (преимущественно в начале лечения), утомляемость, артралгии и миалгии, иммунокомплексные осложнения (миозит, дерматит) [278]. В ряде наблюдений отмечено увеличение побочных явлений соответственно длительности приема α -ИФ, а также появление у части больных нейтрализующих α -ИФ антител, что приводит к развитию резистентности [21, 268]. Оптимальная доза α -ИФ для лечения ВКЛ окончательно не установлена. Хотя в рандомизированном исследовании у 49 больных с применением $1/10$ стандартной дозы препарата показало существенно меньшую эффективность (22 %), но значительное улучшение переносимости лечения делает этот режим пригодным для части пациентов [2008,277]. Другое рандомизированное исследование для определения оптимального соотношения доза-эффект, выполненное у 138 пациентов показало, что α -ИФ в дозе 2×10^6 ед/ m^2 переносится лучше мега-дозы, с меньшей частотой осложнений и побочных эффектов, при равной эффективности [262], а последующие исследования продемонстрировали, что оптимальная доза альфа-интерферона составляет от $0,2 \times 10^6$ ед/ m^2 до 2×10^6 ед/ m^2 [234,282]. Поддерживающая терапия после завершения годичного курса лечения также различается и составляет от 1×10^6 ед до 3×10^6 ед трижды в неделю, более редкое применение (раз в неделю) оказалось малоэффективным [276,233]. Долгосрочные наблюдения за пациентами, получившими терапию альфа-интерфероном, продемонстрировали общую 6-летнюю выживаемость от 65 % до 85 % [265], однако у большинства пациентов в разные сроки после прекращения лечения регистрируют рецидив заболевания, требующий возобновления терапии или проведения практически пожизненной поддерживающей терапии [234]. Летальность на фоне лечения α -ИФ составляет от 5 % до 10 %, основной причиной летальности является

генерализованная инфекция на фоне нейтропении, второй, но более редкой причиной смерти бывают геморрагические осложнения тромбоцитопении.

Таким образом, α -ИФ – высокоэффективный препарат для лечения ВКЛ, но большинство вызванных им ремиссий частичные, курс лечения должен быть длительным, почти всегда необходима поддерживающая терапия. У части больных прием препарата вынужденно прекращается из-за развития побочных эффектов. С появлением в клинической практике препаратов новой группы – аналогов пуринов (пентостатин и кладрибин), дающих гораздо больший процент полных ремиссий при коротком курсе лечения, α -ИФ в зарубежной практике стал применяться очень ограниченно, при невозможности применить аналоги пуринов или при их неэффективности.

1.5.3. Аналоги пуринов.

Поводом к поиску новой группы лекарственных средств послужило обнаружение в 1972г факта, что причиной глубокой лимфопении у детей с тяжелым врожденным иммунодефицитом является отсутствие в их лимфоцитах фермента аденозиндезаминазы [74]. Последующие исследования позволили уточнить, что дефицит или ингибирование аденозиндезаминазы приводит к накоплению дезоксиаденозинтрифосфата, ведущего к апоптозу клетки [182,225,298]. Это побудило исследователей к поиску путей синтеза веществ, ингибирующих аденозиндезаминазу и запускающих тем самым цепь реакций, вызывающих разрушение лимфоидных клеток.

1.5.3.1. Пентостатин (2-дезоксикоформицин, dCF).

Пентостатин, ингибитор аденозиндезаминазы, стал первым лекарственным средством из группы аналогов пуринов, испытанным в клинике для лечения рефрактерных форм острых лейкозов [9,263]. Высокая токсичность лечения, несмотря на эффективность, оказалась связанной с применением препарата в дозах, превышающих максимально переносимую [116,117,193,227]. К 80-м гг. выяснили, что при хронических лимфопролиферативных

заболеваниях ингибирование аденозиндезаминазы, а следовательно, и лимфопенический эффект достигается существенно меньшими, низкотоксичными дозами препарата [116,117]. Дальнейшие исследования действия нового препарата при других хронических лимфопролиферативных заболеваниях выявило его исключительно высокую эффективность при ВКЛ [266]. Так, в 1986г были опубликованы результаты применения пентостатина при ВКЛ в дозе 4мг/м² раз в 2-4 недели N 8-12 при нормальной функции почек или в половинной дозе при почечной недостаточности с достижением полных ремиссии у 9 из 10 пациентов [170]. В 1989г эти данные были подтверждены сообщением об эффективности такой схемы лечения в группе из 23 больных ВКЛ – полные ремиссии были достигнуты у 20 больных, при средней длительности ремиссии более года [171]. При длительном наблюдении общая выживаемость этих больных не отличалась от общей в популяции, а возникавшие рецидивы заболевания успешно лечились повторным курсом одного из аналогов пурина [172]. В последующем проводились исследования эффективности пентостатина в разных режимах применения, а также в сочетании с α -ИФ [46,110,115,133,149,150]. Это привело к уточнению вышеуказанного режима лечения пентостатином как оптимального [51], вызывающего при типичной форме ВКЛ 74 % полных и 20 % частичных длительных ремиссий, в том числе у пациентов с прогрессией заболевания после спленэктомии и/или лечения α -ИФ [52]. Безрецидивная 5-летняя выживаемость больных при использовании пентостатина составила 86% [91]. Лечение пентостатином сопровождается дозо-зависимой токсичностью, связанной также с исходным состоянием больного. Обычные побочные эффекты – тошнота и рвота, поражение кожи, миелосупрессия, угнетение функции почек и центральной нервной системы [118]. Миелосупрессия и связанные с этим инфекции, достигающие частоты 30 %, являются одним из основных осложнений лечения пентостатином [71,173]. Кроме этого, у всех пациентов развивается длительная иммуносупрессия с выраженным снижением уровня Т-хелперов и В-лимфоцитов [91,174]. Тем не менее, достоверного

увеличения частоты связанной с этим оппортунистической инфекции или учащение вторичных опухолей после лечения не отмечено [177].

Таким образом, пентостатин показал себя высокоэффективным средством лечения ВКЛ с большой частотой достижения полных длительных ремиссий независимо от вида и эффективности предшествующей терапии. Тем не менее, осложнения терапии пентостатином – миелосупрессия и сопутствующие ей инфекции, нефро- и нейротоксичность выдвинули на первый план другой препарат из группы аналогов пурина – кладрибин (2-хлордезоксиаденозин).

1.5.3.2. Кладрибин (2-хлордезоксиаденозин, 2-CdA).

Кладрибин – еще один аналог пурина, оказавшийся высокоэффективным в лечении ВКЛ. Препарат получается из натурального нуклеозида дезоксиаденозина замещением одной гидроксильной группы хлором. Кладрибин, в отличие от пентостатина, не ингибирует адениндезаминазу, а резистентен к ее действию [260]. Он аккумулируется в виде 2-хлордезоксиаденозинтрифосфата, преимущественно в лимфоидных клетках, так как они содержат много фосфорилирующего фермента дезоксицитидинкиназы [60]. Внутриклеточное накопление фосфорилированной формы препарата ведет к разрыву спирали ДНК, нарушению репарации ДНК вследствие угнетения ДНК-полимеразы, снижению накопления АТФ и клеточной гибели посредством апоптоза [130,254,255]. Важной особенностью кладрибина является его способность действовать не только на делящиеся, но и на покоящиеся клетки [42].

С 90х годов исследователи публикуют результаты успешного применения кладрибина в дозе 0,1мг/кг/сут постоянной внутривенной инфузии в течение последовательных 7 дней [221], позднее было показано, что применение 2-часовой инфузии также эффективно [153,239,248]. Такой курс лечения кладрибином был эффективен почти у всех больных, вызывая у 76 % (50 - 91 %) полные ремиссии, у 20 % (7 – 24 %) частичные ремиссии [273]. Препарат оказался одинаково эффективным как у больных с впервые установленным ВКЛ, так и у пациентов, уже получавших лечение (спленэктомия, α -ИФ,

пентостатин) [57]. Применение этого препарата не сопровождается свойственной цитостатикам токсичностью, в частности не отмечено тошноты и рвоты, аллопеции, кардио-, гепато-, нефро- и нейротоксичности, лишь иногда возникает повышение температуры без признаков инфекции, связанное с цитолизом [134]. Однако у всех больных отмечается миелотоксический эффект, выражающийся длительным агранулоцитозом и длительная глубокая иммуносупрессия с понижением уровня CD4+ лимфоцитов [151,256]. Среднее время до восстановления уровня CD4+ лимфоцитов составляет около 40 мес. Долгосрочное наблюдение за больными ВКЛ после курса терапии кладрибином показало общую 5-летнюю выживаемость свыше 90 %, с безрецидивной 5-летней выживаемостью около 80 % и частотой рецидива 20-30 % [57,86,134,178,249,256,272]. Отличный эффект терапии кладрибином вселял на начальных этапах применения препарата надежду на возможность излечения заболевания, однако иммуногистохимические и молекулярно-биологические исследования выявляют минимальную остаточную болезнь практически у всех пациентов в полной клинической ремиссии [79,88,123,167,294]. Тем не менее, четкой корреляции между наличием остаточной болезни и сроками рецидива не выявлено, также неясно, продлит ли ремиссию дополнительное лечение, предпринятое не дожидаясь рецидива. Повторный курс кладрибина в случае развития рецидива эффективен у 40 – 60 % пациентов [249,272]. Таким образом, кладрибин и пентостатин обладают сопоставимой эффективностью в лечении ВКЛ, наблюдение за результатами лечения пока не выявило преимуществ одного из препаратов в увеличении общей выживаемости, тем не менее, короткий 7-дневный курс лечения и меньшая токсичность делают кладрибин препаратом выбора в лечении этого заболевания.

При анализе литературы и собственных данных мы обнаружили, что наши результаты обследования и лечения больных с вариантной формой ВКЛ отличаются по ряду показателей. Кроме того, мы не нашли в литературе отдельного анализа особенностей течения и эффективности терапии у больных ВКЛ моложе 40 лет, а эта необычная для ВКЛ категория больных встречалась в

нашем исследовании довольно часто. Помимо этого, длительный миелотоксический эффект лечения аналогами пуринов у часто исходно инфицированных больных ВКЛ, вынудил нас искать оптимальные сочетания схем терапии разными препаратами для минимизации осложнений лечения при сохранении его эффективности. Все вышесказанное явилось причиной проведения нами исследования особенностей течения ВКЛ, лабораторных проявлений, а также эффективности различных видов лечения в большой группе больных с этим редким заболеванием.

ГЛАВА 2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая часть

С 1995г по 2006г были собраны данные о 160 пациентах с ВКЛ в возрасте от 27 до 83 лет (57 женщин, 103 мужчин). В исследование были включены больные, наблюдавшиеся в Гематологическом научном центре РАМН (отделения химиотерапии гематологических заболеваний и интенсивной терапии, консультативно-поликлиническое, хирургическое, стационар дневного пребывания), городской клинической больницы N40 (отделение гематологии), городской клинической больницы N60 (отделение терапии), института биофизики (отделение гематологии).

Больных включали в исследование после верификации диагноза ВКЛ морфологическим исследованием лимфоцитов крови и костного мозга (заведующая лабораторией клинической морфологии – Л.Ю.Тихонова), цитохимическим исследованием лимфоцитов лейкоконцентрата и/или костного мозга на тартрат-устойчивую кислую фосфатазу (заведующий лабораторией гемоцитологии - д.м.н. Г.И.Козинец), гистологическим исследованием биоптата костного мозга или селезенки (руководитель патологоанатомического отделения – член-корр РАМН проф.Г.А.Франк), иммунофенотипическим исследованием лимфоцитов крови и/или костного мозга (заведующая лабораторией клинической иммунологии – профессор, д.м.н. Т.И.Булычева, заведующий лабораторией функциональной морфологии гемобластозов – д.б.н. И.А.Воробьев). При невозможности проведения иммунофенотипического исследования на начальном этапе диагностики выполняли иммуногистохимическое исследование трепанобиоптата по блокам (заведующая патологоанатомическим отделением – к.м.н. И.Б.Капланская).

Основные понятия

Под типичной формой ВКЛ подразумевали типичную клиническую картину (цитопения с абсолютным лимфоцитозом и моноцитопенией,

спленомегалия разной степени выраженности). Лейкопению считали определяющей в отнесении заболевания к типичной форме (количество лейкоцитов $< 4 \times 10^9/\text{л}$).

Цитопения включала в себя одно-, двухростковую и панцитопению. Лейкопенией считали уровень лейкоцитов менее $4 \times 10^9/\text{л}$, нейтропенией – число нейтрофилов менее $1.5 \times 10^9/\text{л}$, моноцитопенией – число моноцитов менее 3%. Анемией считали уровень гемоглобина менее 120 г/л. Тромбоцитопенией считали количество тромбоцитов менее $150 \times 10^9/\text{л}$.

Под вариантной формой ВКЛ подразумевали ту же клиническую и лабораторную картину, но без лейкопении. Характерным для вариантной формы было нормальное ($4-10 \times 10^9/\text{л}$) или повышенное ($>10 \times 10^9/\text{л}$) количество лейкоцитов.

Характерными для ВКЛ считали выявление в крови и/или костном мозге, селезенке «ВК» с фенотипом поздних зрелых активированных В-лимфоцитов, экспрессирующие $CD19^+$, $CD20^+$, $CD22^+$, $CD23^-$, $CD5^-$, $CD10^-$, $CD103^+$, $CD11c^+$, $CD25^+$, $FM\text{C}7^+$, $CD85^+$, $HC2^+$, анти-ВКЛ⁺.

«ВК» с aberrантным фенотипом считали клетки со слабой экспрессией или отсутствием экспрессии любого из характерных для ВКЛ маркеров ($CD103$, $CD11c$, $CD25$, $FM\text{C}7$, $CD85$, $HC2$, анти-ВКЛ), или экспрессирующие другие, нехарактерные для ВКЛ, маркеры ($CD5$, $CD10$, $CD23$).

Под полной ремиссией (ПР) подразумевали:

1. Нормализация размеров селезенки и лимфоузлов.
2. Отсутствие в крови «волосатых клеток».
3. $< 5\%$ «волосатых клеток» в костном мозге.
4. Гемоглобин ≥ 120 г/л.
5. Нейтрофилы $> 1,5 \times 10^9/\text{л}$.
6. Тромбоциты $> 100 \times 10^9/\text{л}$.

За частичную ремиссию (ЧР) принимали:

1. Уменьшение размеров селезенки и лимфоузлов $> 50\%$.
2. В крови $< 5\%$ «волосатых клеток».
3. Уменьшение «волосатых клеток» в костном мозге $> 50\%$.

4. Нв ≥ 120 г/л.

5. Нейтрофилы $> 1,5 \times 10^9$ /л.

6. Тромбоциты $> 100 \times 10^9$ /л.

Улучшением считали нормализацию одного из параметров без ухудшения других.

Рефрактерностью к лечению считали отсутствие вышеуказанных критериев ремиссии или улучшения.

Рецидивом считали появление хотя бы одного клинического признака (цитопения, спленомегалия) с появлением «волосатых клеток» в крови и/или костном мозге, или только появление ранее исчезнувших «волосатых клеток» в крови и/или костном мозге.

2.2. Протокол обследования больного волосатоклеточным лейкозом

Предложен протокол обследования первичного больного с диагнозом волосатоклеточного лейкоза (Приложение, схема 1), включающий в себя: опрос больного и физикальный осмотр; рутинные лабораторные исследования, ЭКГ, рентгенография грудной клетки, УЗИ брюшной полости; специальные лабораторные исследования – миелограмма, трепанобиопсия с гистологическим и иммуногистохимическим исследованием костного мозга, иммунохимическое исследование сыворотки крови и мочи, цитохимическое исследование лимфоцитов лейкоконцентрата и/или костного мозга на тартрат-устойчивую кислую фосфатазу, иммунофенотипирование лимфоцитов крови и/или костного мозга, кариологическое исследование костного мозга.

Для больных из других лечебных учреждений были проведены дополнительные исследования и обработаны имеющиеся данные.

Методики исследований

I. Рутинные исследования.

1. Цитологическое исследование мазков периферической крови и костного мозга проводилось в клинико-диагностической лаборатории ГНЦ

РАМН (зав. лабораторией – к.м.н. Л.Ю.Тихонова). Использовались стандартные методы фиксации и окраски.

2. Гистологическое исследование костного мозга (трепанобиопсия) проводилось в патологоанатомическом отделении ГНЦ РАМН (руководитель – член-корр. РАМН, проф. Г.А.Франк). Гистологическое исследование выполнялось на срезах толщиной 3-5 мкм, окрашенных гематоксилин-эозином. Иммуногистохимическое исследование (в.н.с., к.м.н. И.Б.Капланская) выполняли на срезах толщиной 3-5 мкм, помещенных на адгезивные стекла, покрытые L-полилизин. Использовался авидин-биотин-пероксидазный метод с панелью моноклональных и поликлональных антител к: CD21, CD21, CD45RO, CD43, CD3, CD79a, CD5, Cyclin D1, bcl-2, Ki-67, CD25, DBA.44.

II. Специальные исследования.

1. Имунофенотипирование лимфоцитов проводили в лаборатории клинической иммунологии (зав. лабораторией – профессор, д.м.н. Т.И.Булычева, в.н.с. лаборатории к.б.н. Р.С.Самойлова). Во всех включенных в анализ случаях определялись общие В-клеточные маркеры CD19, CD20, CD22, клональность В-лимфоцитов по легким цепям Ig каппа (κ) и лямбда (λ), специфические для ВКЛ антигены CD103, анти-ВКЛ, CD85, HC2, активационные антигены CD11c, CD25, CD38 и прочие дифференциально-диагностические антигены - FMC7, CD10, CD23, CD5. Лимфоциты крови выделяли центрифугированием в градиенте плотности фекола. Выделенные лимфоидные клетки трижды отмывались холодным 0,9% раствором NaCl с 0,01M фосфатным буфером pH 7,2-7,4 (PBS).

Методика непрямого иммунофлюорисцентного маркирования мембранных антигенов: концентрацию опухолевых клеток в суспензии довели до 4-5 млн./мл. По 100 мкл суспензии опухолевых клеток в данной концентрации вносили в 96-луночные круглодонные плашки. Клетки осаждали путем центрифугирования 300g – 5 мин. После удаления надосадочной жидкости, согласно выбранной панели антител, в каждую лунку вносили по 20 мкл

немеченых мышинных моноклональных антител в заранее отработанном рабочем разведении в PBS с 1% добавкой бычьего сывороточного альбумина (БСА) для блокирования неспецифического связывания антител. В контрольные лунки вместо вместо моноклональных антител вносили 20 мкл среды : 0,01М PBS рН 7,4 – 100мл, БСА – 1г (1%), прогретая эмбриональная телячья сыворотка – 2% (v/v), NaN₃ до 0,1%. Инкубировали 30 мин при t+4°. Далее, после 2-кратной отмывки холодным PBS, наносили F(ab)₂-фрагменты поликлональных козьих антител против мышинных иммуноглобулинов, конъюгированных с флюоресцин-изотиоцианатом (FITC), в в подобранном рабочем разведении. Инкубировали 30 мин при t+4° с последующей 3-кратной отмывкой. 8-луночные предметные стекла (Flow, Великобритания) покрывали 15-20мкл раствора L-полилизина 25 мкг/мл на физ. растворе (Sigma, США), для чего их инкубировали во влажной камере в течение 30 мин., перед нанесением клеточной суспензии стекла промывали PBS. После последней отмывки клетки ресуспендировали в 50 мкл PBS, 25 мкл полученной суспензии наносили на предметные стекла. Клетки осаждались на стекле в результате 30-минутной инкубации во влажной камере. Излишки раствора удаляли, клетки заключали в забуференный фосфатным буфером 1:1 глицерин, предметное стекло герметично закрывали покровным. Результаты анализировали путем флюоресцентной и фазово-контрастной микроскопии (микроскоп «Ахiophot» фирмы «Opton», Германия). Кроме количественного определения числа позитивных клеток (%) оценивалась степень экспрессии антигенов по интенсивности флюоресценции. Интенсивность свечения нормальных В-лимфоцитов из крови донора принималась за умеренную (+). Соответственно этой точке отсчета отмечалось отсутствие свечения (-), слабое (±) или сильное свечение (++) . Использувавшиеся моноклональные антитела приведены в таб.1.

Таблица 1. Панель использованных при иммунофенотипировании моноклональных антител.

Кластер дифференцировки	Специфичность
CD3	Т-клетки, входит в состав Т-антигенного рецептора
CD4	Т-хелперы/индукторы
CD5	Зрелые Т-клетки, часть В-лимфоцитов, лиганд CD72
CD8	Т-супрессии/киллеры
CD10	Пре-В, В-лимфоциты центра фолликула, гранулоциты, мембранная эндопептидаза
CD19	Предшественники и зрелые В-лимфоциты
CD20	Часть предшественников и зрелые В-лимфоциты
CD21	Предшественники и зрелые В-лимфоциты, CR2 рецептор комплемента и EBV
CD22	Предшественники (сначала в цитоплазме) и зрелые В-лимфоциты, медиатор адгезии к другим клеткам
CD23	Часть В-лимфоцитов, моноциты, эозинофилы, дендритные клетки
CD25	Активированные В- и Т-лимфоциты, α -рецептор ИЛ-2
CD35	Гранулоциты, моноциты, В-лимфоциты, эритроциты, CR1 рецептор комплемента
CD38	Плазмациты, тимоциты, активированные Т- и В-лимфоциты
CD43	Зрелые Т-лимфоциты, часть В-лимфоцитов
CD71	Рецептор трансферрина
-	FMС7 – конформационный эпитоп антигена CD20, иммунологически зрелые В-лимфоциты
-	Anti-kappa/lambda – моноклональные антитела к легким цепям Ig
-	Ki-67 – ядерный антиген делящихся клеток фазы G1-M
CD11c	«ворсинчатые» В-лимфоциты
CD103	Активированные CD8 ⁺ Т-лимфоциты, «ворсинчатые» В-лимфоциты
Анти-ВКЛ (DBA.44)	В-лимфоциты, моноциты, «ворсинчатые» В-лимфоциты
CD85	Имуноглобулин-подобный рецептор Т-лимфоцитов, НК-клеток

2. Тартрат-устойчивую кислую фосфатазу (TRAP) лимфоцитов определяли в лаборатории гемцитологии (заведующий – профессор, д.м.н. Г.И.Козинец, в.н.с. лаборатории к.б.н. О.А.Дягилева, с.н.с. к.б.н. И.Н.Наумова) на фиксированных мазках лейкоконцентрата или костного мозга, инкубированных в смеси реактивов в течение 2 часов при 37°.

3. Иммунохимическое исследование белков крови и мочи проводили в лаборатории гуморального иммунитета ГНЦ РАМН (зав. лабораторией к.м.н. Е.Ю.Варламова). Содержание в сыворотке IgA, IgG, IgM, легких цепей каппа и лямбда определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле агарозы. Для выявления секрета моноклонального иммуноглобулина исследовали образцы сыворотки и концентрированной мочи методом электрофореза в геле агарозы и иммунофиксации. Уровень ЦИК определяли методом осаждения в ПЭГ-6000.

По результатам проведенного обследования из 160 включенных больных были сформированы следующие группы:

I. По форме заболевания –

а) с типичной формой ВКЛ - 118 пациентов;

б) с вариантной формой ВКЛ (без лейкопении) - 42 пациента.

II. По возрасту –

больные ВКЛ молодого возраста (≤ 40 лет) - 41 пациент;

В каждой из выделенных групп больных оценивали клинические особенности течения заболевания, данные лабораторных исследований, эпидемиологические данные по полу и возрасту, по частоте выявления типичного и аберрантного иммунофенотипа.

Проведен сравнительный анализ эффективности различных вариантов хирургического (спленэктомия) и консервативного (α -Иф, кладрибин) лечения во всех группах. Охарактеризован спектр и тяжесть осложнений проводимого лечения. Проанализированы редкие случаи заболевания: ВКЛ с секрецией парапротеина, с выраженной лимфаденопатией, с хроническим лимфолейкозом, с Т-клеточной клональностью. Приведены данные о встречаемости вторых опухолей у включенных в исследование больных ВКЛ.

Проведен анализ рецидивов заболевания за 12-летний период и результаты их лечения.

2.3. Протокол лечения больных ВКЛ

Предложен протокол лечения (Приложение, схема 2), в соответствии с которым предполагается терапия α -Иф в течение 3-4 мес с последующим недельным курсом химиотерапии кладрибином, после чего пациента наблюдают без лечения.

Показаниями к началу терапии считали:

- выраженную или нарастающую цитопению (гематокрит $< 25\%$, тромбоциты $< 50 \times 10^9/\text{л}$, нейтрофилы $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$);
- симптомную или массивную спленомегалию ($> 20 \times 6 \text{ см}$);
- присоединение инфекционных осложнений.

При наличии тяжелой симптомной тромбоцитопении выполняли спленэктомию с последующим наблюдением и, при отсутствии ремиссии, лечением последовательно α -Иф и кладрибином.

2.4. Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили совместно с отделом компьютеризации ГНЦ РАМН (зав. отд. Б.В.Зингерман) методами описательной статистики и анализа выживаемости. В работе использовались кривые выживания типа «общая выживаемость»: время от начала лечения до смерти или последнего сообщения о больном (цензурирование), и «безрецидивная выживаемость»: время от начала ремиссии до наступления рецидива или последнего сообщения о больном (цензурирование). Использован метод построения кривых Каплан-Маера. Достоверность рассчитывали по тестам Wilcoxon-Gehan, Mantel-Haenszel (обобщенный Хи-квадрат), Logrank, показатели считали достоверными при $p < 0.05$ для всех трех критериев.

ГЛАВА 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Типичная форма ВКЛ

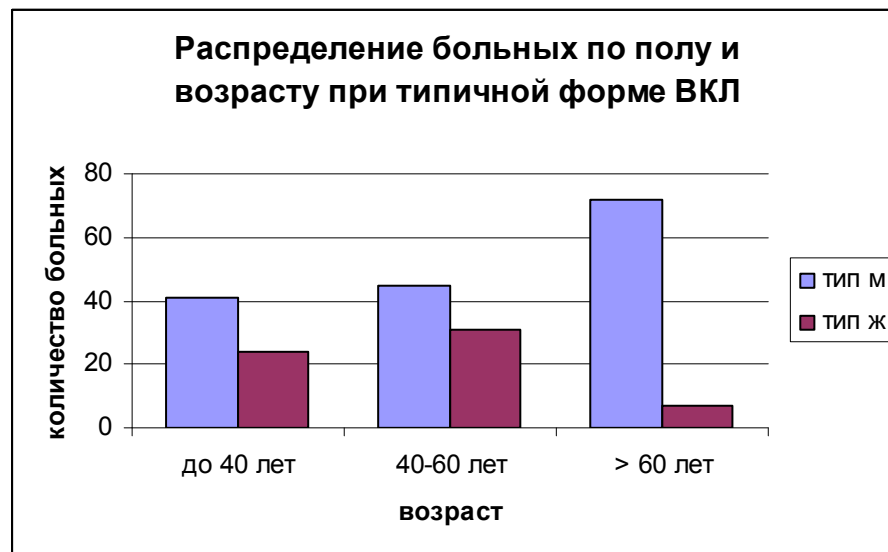
3.1.1. Клиническая характеристика типичной формы ВКЛ

Из 160 больных ВКЛ типичная форма отмечена у 118 (74 %) пациентов в возрасте от 27 до 81 года (медиана – 50 лет), м:ж=2:1, со следующим распределением по полу и возрасту:

- 39 женщин в возрасте от 30 до 65 лет (медиана – 48 лет)
- 79 мужчин в возрасте от 27 до 81 года (медиана – 52 года)

На диаграмме 1 приведено распределение по полу и возрасту среди больных с типичной формой ВКЛ.

Диаграмма 1.



Давность заболевания у больных с типичной формой ВКЛ составила от 1 года до 30 лет (медиана – 5 лет).

Проявления заболевания у всех больных этой группы включали в себя цитопению с абсолютным лимфоцитозом и спленомегалию разной степени выраженности. В клинической картине доминировали признаки астении (слабость, сниженная переносимость нагрузок), у 24 (22 %) больных

наблюдали кожный геморрагический синдром, у 47 (40 %) больных отмечено развитие в дебюте заболевания инфекционно-воспалительных осложнений. У 23 (19 %) больных жалоб не было, заболевание выявлено при случайном исследовании показателей крови или УЗИ брюшной полости.

Мы выявляли следующие изменения в анализе крови у больных с типичной формой ВКЛ:

Анемия была выявлена у 99 (84 %) больных с колебаниями уровня гемоглобина от 26г/л до 117г/л (медиана – 85г/л). У большинства пациентов наблюдалась анемия средней степени тяжести, необходимость гемотрансфузий отмечена у 12 % больных. У 19 (16 %) больных с типичной формой ВКЛ анемии не было.

Тромбоцитопения была выявлена практически у всех больных – в 111 (94 %) случае, с минимальным количеством тромбоцитов $10 \times 10^9/\text{л}$, максимальным – $150 \times 10^9/\text{л}$ (медиана – $73 \times 10^9/\text{л}$). При этом тромбоцитопения с количеством тромбоцитов $< 100 \times 10^9/\text{л}$ отмечена у 92 (78 %) больных, в том числе глубокая тромбоцитопения ($< 50 \times 10^9/\text{л}$) – у 42 (36 %) больных. Геморрагический синдром при этом был выражен реже – у 24 (22 %) больных с тромбоцитопенией.

Лейкопения была отмечена у всех больных этой группы – количество лейкоцитов было ниже нормы с диапазоном $0,6-4,0 \times 10^9/\text{л}$ (медиана – $2,3 \times 10^9/\text{л}$). Количество лейкоцитов $3-4 \times 10^9/\text{л}$ отмечено у 22 (18 %) больных, $2-3 \times 10^9/\text{л}$ – у 41 (35 %) больных, $1-2 \times 10^9/\text{л}$ – у 47 (40%) больных и менее $1 \times 10^9/\text{л}$ – у 8 (7 %) больных с типичной формой ВКЛ.

Лимфоцитоз выявляли у всех больных, диапазон составлял от 56 % до 98 % (медиана – 80 %). Частота выявления «волосатых клеток» в крови составляла от единичных до 80 % (медиана – 27 %).

Моноцитопения была выявлена у большинства больных – в 81 % случаев число моноцитов в крови составляло 0-2 %, лишь у 12 % больных моноциты составляли 3-4 %, а у 7 % число моноцитов превышало 4 %.

Миелограмма была исследована у всех больных, при этом у 106 (90%) больных отмечали лимфоцитоз от 18 до 86 % (медиана – 37 %), у 12 (10 %)

пациентов количество лимфоцитов в костном мозге было в норме. У всех больных среди лимфоцитов костного мозга выявлялись «ворсинчатые» формы в количестве от 3 % до 60 % (медиана – 31 %).

Трепанобиопсия: у всех больных в гистологическом препарате выявляли диффузную или диффузно-очаговую лимфоидную инфильтрацию костного мозга неплотно расположенными лимфоидными клетками средних размеров округлой или бобовидной формы, с довольно широким ободком бледной цитоплазмы, иногда выявляли признаки костномозгового фиброза.

Тартрат-устойчивая кислая фосфатаза (TRAP) была исследована в цитологическом препарате лейкоконцентрата крови или костного мозга у 117 (99 %) больных, была положительна у всех больных с содержанием TRAP+ клеток от 5 % до 76 % (медиана – 32 %).

Имунофенотипирование лимфоцитов было проведено у 64 больных с типичной формой ВКЛ. В связи с малым числом определяемых маркеров или отсутствием указаний на степень экспрессии из анализа было исключено 19 больных, в итоге фенотип был проанализирован у 45 пациентов. В основном исследовали лимфоциты крови, реже – костного мозга (у 2 больных) или селезенки (у 6 больных), в 3 случаях исследовали лимфоциты крови и селезенки. У всех больных с типичной формой ВКЛ лимфоциты экспрессировали CD19, CD20, CD22, CD11c, CD103, CD85 и HC2, у 98 % - активационный антиген CD25, у 93 % - анти-ВКЛ и у 90 % - FMC7. При определении клональности в 65 % случаев был выявлен клон λ и в 35 % случаев клон κ , цепь μ выявлялась в 70 % случаев. Что касается других дифференциально-диагностических антигенов, то в этой группе больных антиген CD23 выявлялся только у 23% пациентов, антиген CD10 – у 12% пациентов, антиген CD5 отсутствовал во всех случаях. Активационный антиген CD38 выявлялся у 37 % больных. Поскольку при анализе иммунофенотипа лимфоцитов важно учитывать не только факт экспрессии отдельных антигенов, но и степень этой экспрессии, мы оценили степень экспрессии CD и сравнили с другими формами ВКЛ, результаты этой работы приведены и обсуждены отдельно в главе 4.

Моноклональная и поликлональная секреция была исследована у 54 (46%) из 118 больных с типичной формой ВКЛ, при этом у 25 (46%) больных показатели были в норме, в то время как у 29 (54 %) больных были обнаружены различные отклонения. Однако наибольший удельный вес этих отклонений пришелся на повышение количества циркулирующих иммунных комплексов и поликлональную гипергаммаглобулинемию (воспалительную диспротеинемию) – 25 % и 32 % пациентов соответственно. Моноклональная секреция иммуноглобулина в сыворотке крови выявлена у 1, а секреция белка Бенс-Джонса – у 3 из 54 обследованных больных.

Спленомегалия была выявлена у 116 (98 %) из 118 больных, в том числе значительная (> 20х6см) у 46 (39 %) больных. При этом среди мужчин количество больных со значительной, умеренной и незначительной спленомегалией было примерно одинаково, в то время как среди женщин в половине случаев отмечали значительную спленомегалию.

Лимфаденопатия с увеличением абдоминальных л/у была отмечена у 11 (9 %) из 118 больных с типичной формой ВКЛ. Увеличенные л/у чаще располагались в воротах селезенки, печени, в малом сальнике, и редко были значительно увеличены – у большинства больных с висцеральной лимфаденопатией размеры л/у составляли 12-30 мм (медиана – 17 мм). Только у 2 больных наблюдали значительно увеличенные л/у, сливающиеся в конгломераты, в одном случае – до 120х70 мм. Увеличения периферических лимфоузлов не выявлено.

Инфекционно-воспалительные осложнения в дебюте или на ранних этапах лечения заболевания были выявлены у 47 (40 %) из 118 больных с типичной формой ВКЛ, из них у 15 (32 %) – тяжелые угрожающие жизни инфекции, приведшие к смерти у 6 (13 %) из 47 инфицированных больных. Смерть от инфекционного процесса мы наблюдали при прогрессии ВКЛ на фоне отсутствия специфической терапии, и в случае неэффективности или непереносимости препаратов α -Иф. У 4 больных причиной смерти был сепсис, у 2 – диссеминированный туберкулез. Спектр и частота инфекционно-воспалительных процессов при разных формах ВКЛ рассмотрены в гл.4.

3.1.2. Результаты лечения типичной формы ВКЛ

Эффективность спленэктомии при типичной форме ВКЛ

Спленэктомия была выполнена у 19 (16 %) больных из 118 с типичной формой ВКЛ, при этом у 17 (89 %) больных – со значительным увеличением селезенки (> 20х6см).

В качестве первой линии терапии спленэктомия была применена у 11 больных с типичной формой ВКЛ. У 3 больных были достигнуты стойкие многолетние ремиссии (16 лет, 24 года, +6 лет), у 2 больных неполный эффект сохранялся более 1 года, у 6 больных – неполный нестойкий эффект длился менее одного года, что стало показанием к продолжению лечения.

В качестве второй линии терапии (при отсутствии ремиссии ВКЛ на фоне длительного лечения α -Иф) спленэктомию выполняли 4 больным, при этом во всех случаях эффект был неполный или незначительный, требующий проведения дальнейшего лечения.

В рецидиве (после полученной ранее полной или частичной ремиссии) спленэктомия применялась у 4 больных, однако только у 1 больной эффект длился более 1 года, у остальных 3 больных спленэктомия оказалась неэффективной.

Таким образом, стойкий эффект от спленэктомии был отмечен у 3 (16 %) из 19 спленэктомизированных больных. Еще у 3 (16 %) из 19 больных неполный эффект сохранялся более 1 года. У 13 больных эффект был минимальным, что стало основанием для дальнейшей терапии. В результате почти всем больным этой группы (17 пациентов – 89 %) назначался α -Иф, а в последующем у 15 больных (79 %) был проведен курс терапии кладрибином.

Эффективность α -Иф при типичной форме ВКЛ

Препараты α -ИФ (реаферон, роферон, интрон) применяли в стандартной дозе 3 млн ед ежедневно или через день у 109 (92 %) из 118 больных с типичной формой ВКЛ, у 2 больных препарат был отменен после нескольких инъекций в связи с кожной аллергической реакцией, у 3 больных нет

сведений. Эффективность терапии α -Иф анализировалась у 104 больных, распределенных на две группы –

- 1) с длительным приемом α -Иф (≥ 1 года) – 57 больных,
- 2) с коротким приемом α -Иф (< 1 года) – 47 больных.

В 1 группе из 57 больных (36 муж + 21 жен) длительность применения α -ИФ составила от 1 года до 15 лет (медиана – 2,7 лет). В результате лечения у 14 (25 %) больных была достигнута полная ремиссия, у 39 (68 %) больных – частичная ремиссия, у 4 (7 %) эффекта не отмечено.

Полная ремиссия была достигнута у 14 больных со сроком применения α -Иф от 1 до 15 лет (медиана – 3 года). Из числа этих 14 больных у 2 сразу проведен консолидирующий курс 2-CdA, о 2 больных сведений нет, а из оставшихся 10 больных полная ремиссия была стойкой и сохраняется по настоящее время только у 3 пациентов (эти больные получали α -ИФ непрерывно в течение 3, 6 и 9 лет), в то время как у 7 больных полная ремиссия при отмене α -Иф после длительного применения носила нестойкий характер, с развитием рецидива через 0,5-2 года (медиана – 1 год).

Частичная ремиссия была получена у 39 больных с длительностью применения α -Иф от 1 до 9 лет (медиана – 2,5 года). Из числа этих 39 больных у 14 был проведен курс лечения 2-CdA, о 3 больных нет сведений, а из оставшихся 22 больных частичная ремиссия после отмены α -Иф сохранялась у 10 (26 %), при этом была стойкой и сохранялась более 2 лет после отмены α -Иф у 6 (15 %) больных, тем не менее к настоящему времени у всех этих больных развился рецидив заболевания. У 12 (31 %) больных с частичной ремиссией продолжалась поддерживающая терапия α -Иф, несмотря на которую у 5 пациентов началось прогрессирование заболевания, этим больным также проведен курс 2-CdA.

Неэффективным несмотря на длительное применение α -Иф оказалось лечение у 4 (7 %) больных с типичной формой ВКЛ, 2 из них были молодого возраста (37 лет) и двое старшей возрастной группы (56 и 62 года). У 3 из них был проведен курс 2-CdA с достижением полной ремиссии, сохраняющейся к настоящему времени у двух больных старшего возраста (1,5+ и 5+ лет), у 1

была выполнена спленэктомия, также оказавшаяся неэффективной. У одного больного молодого возраста спустя 4,5 года полной ремиссии после применения кладрибина развился рецидив заболевания.

Во 2 группе из 47 больных (32 муж + 15 жен) длительность применения α -Иф составила от 1 до 10 мес (медиана – 4,7 мес). У 12 (26 %) больных была достигнута полная ремиссия, у 27 (57 %) – частичная ремиссия, у 6 (13 %) – улучшение и у 2 (4 %) эффекта не отмечено.

Полная ремиссия была получена у 12 (26 %) больных после короткого курса α -Иф, что соответствует числу полных ремиссий, достигаемых длительным применением α -Иф (25 %). После отмены короткого курса α -Иф у 10 больных с полной ремиссией сразу был проведен консолидирующий курс 2-CdA, из 2 оставшихся больных у одного полная ремиссия была короткой (8 мес), после чего был проведен курс 2-CdA, у второго полная ремиссия оказалась стойкой и длилась 2 года, после чего развился рецидив заболевания, успешно леченый последовательным применением α -Иф и 2-CdA.

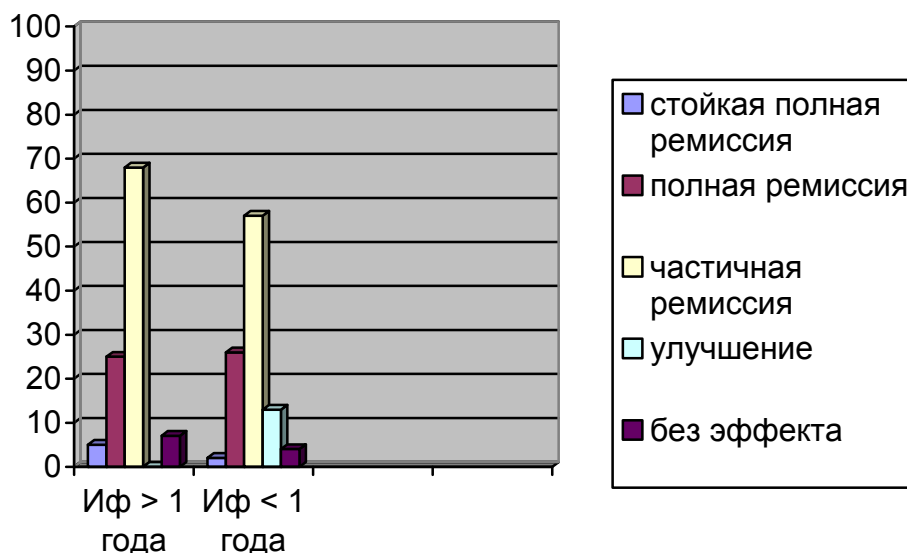
Частичная ремиссия была получена у 27 (57 %) больных с коротким курсом α -Иф, что меньше, чем при длительном применении α -Иф (68 %), однако еще у 6 (13 %) за время короткого курса применения α -Иф было достигнуто улучшение, вероятнее всего затем перешедшее бы в частичную ремиссию. Всем этим больным сразу после достижения частичной ремиссии или улучшения был проведен один курс 2-CdA.

Неэффективным короткое (2 мес) применение α -Иф оказалось у 2 (4 %) больных с типичной формой ВКЛ (43 и 59 лет), после чего им было проведено лечение курсом 2-CdA с достижением полной ремиссии (см. табл.2 и диагр. 2).

Таблица 2. Результаты применения α -ИФ при типичном ВКЛ.

	Число больных	Полная ремиссия	Частичная ремиссия	Улучше ние	Без эффекта
Длительное применение α -ИФ (≥ 1 год) в ср. 2,7 г	57	14 (25 %)	39 (68 %)	-	4 (7 %)
Короткое применение α -ИФ (<1год) в ср. 4,5 мес	47	12 (26 %)	27 (57 %)	6 (13 %)	2 (4 %)
ВСЕГО	104	26 (25 %)	66 (63 %)	6 (6 %)	6 (6 %)

Диаграмма 2. Результаты применения α -ИФ при типичном ВКЛ.



Эффективность кладрибина при типичной форме ВКЛ

Препараты 2-CdA (кладрибин, леустатин) применяли в стандартной дозе 0,1мг/кг/сут в/в капельно в течение 7 последовательных дней у 88 (75 %) из 118 больных типичной формой ВКЛ. Об 1 больном нет сведений. У 81 (92 %) больных в результате лечения получены стойкие ремиссии, сохраняющиеся без поддерживающей терапии более двух лет. У 6 пациентов достигнуты ремиссии 1,5 – 2 года, расцененные нами как нестойкие (табл.3) При анализе случаев нестойких ремиссий после курса 2-CdA у пациентов с типичной формой ВКЛ нами обращено внимание, что практически все эти случаи отмечены у пациентов молодого возраста от 34 до 45 лет (медиана – 43 года).

Это явилось для нас одним из поводов обратить особое внимание на случаи ВКЛ в необычно молодом для этой болезни возрасте, анализ которых приведен далее отдельно.

Таблица 3. Результаты применения кладрибина при типичном ВКЛ.

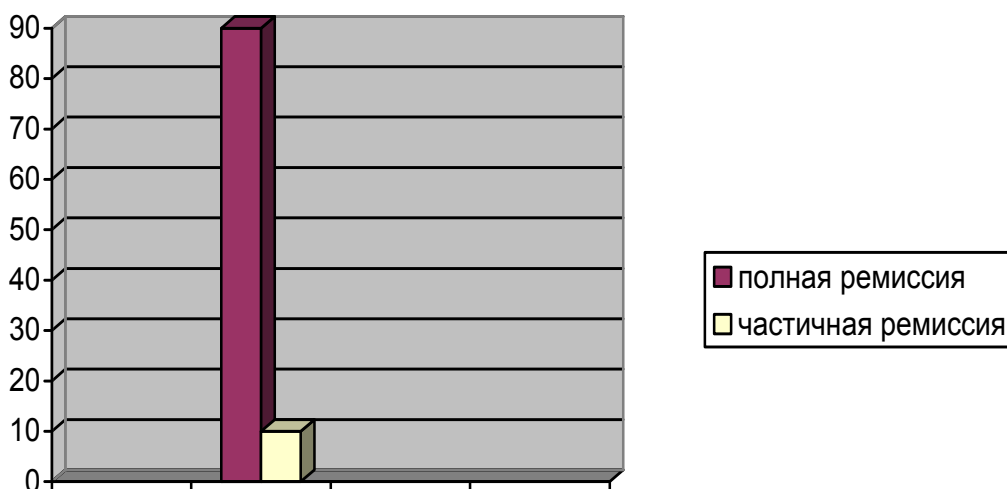
Лечение	Число больных	Стойкий эффект (ПР +ЧР > 2лет)	Нестойкий эффект (ПР +ЧР <2л)	Неэффективность
Кладрибин 1 курс	88	81 (92 %)	6 (7 %)	-

Анализ полноты ремиссии был проведен у 87 пациентов и включал у всех развернутый клинический анализ крови, УЗИ брюшной полости с определением размеров селезенки и л/у. Подсчет миелограммы и исследование трепанобиоптата проводилось у 37 больных (табл.4. и диагр.3).

Таблица 4. Частота достижения полных и частичных ремиссий после 1 курса кладрибина при типичном ВКЛ.

Лечение	Число больных	Полная ремиссия	Частичная ремиссия
Кладрибин 1 курс 7 дней	87	78 (90 %)	9 (10 %)

Диаграмма 3. Ремиссии после 1 курса кладрибина при типичном ВКЛ.



Таким образом, после проведения 1 курса терапии кладрибином мы получили полные ремиссии у 90 %, частичные – у 10 % больных с типичной формой ВКЛ.

3.2. Вариантная форма ВКЛ

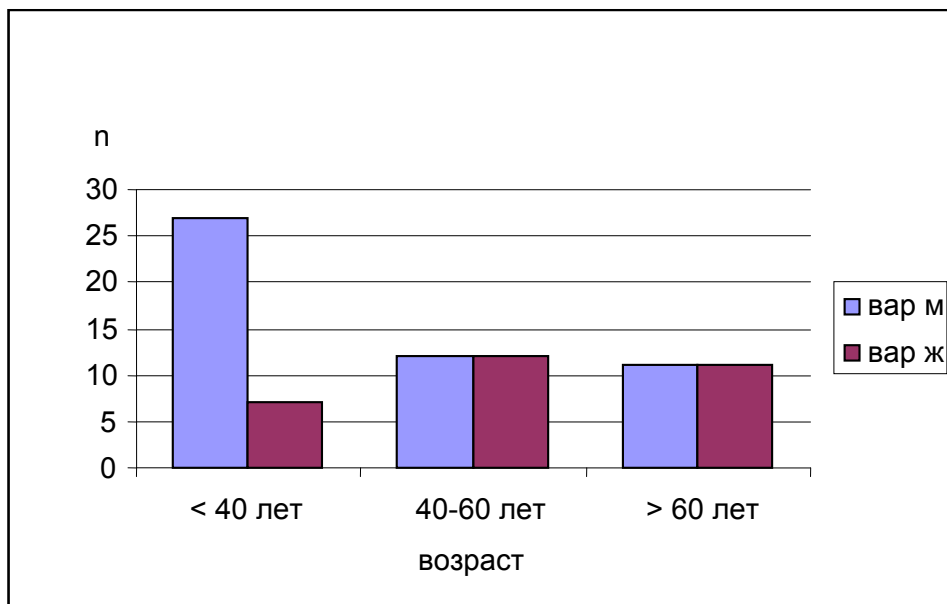
3.2.1. Клиническая характеристика вариантной формы ВКЛ

Из 160 больных ВКЛ вариантная форма отмечена у 42 (26 %) пациентов в возрасте от 27 до 81 года (медиана – 46 лет), м:ж=1,3:1 со следующим распределением по полу и возрасту:

- 18 женщин в возрасте от 34 до 81 года (медиана – 49 лет)
- 24 мужчины в возрасте от 27 до 73 лет (медиана – 45 лет)

На диаграмме 4 приведено распределение по полу и возрасту среди больных с вариантной формой ВКЛ.

Диаграмма 4. Распределение больных по полу и возрасту при вариантном ВКЛ.



Давность заболевания среди больных с вариантной формой ВКЛ составила от 1 года до 28 лет (медиана – 7 лет).

Проявления заболевания у всех больных этой группы включали в себя цитопению без лейкопении, с абсолютным лимфоцитозом, и спленомегалию разной степени выраженности. В клинической картине, так же, как при

типичной форме, доминировали неспецифические признаки - астения, потливость, у 5 (12 %) больных мы наблюдали кожный геморрагический синдром, у 13 (31 %) больных отмечено развитие в дебюте заболевания инфекционно-воспалительных осложнений. У 6 (14 %) больных жалоб не было, заболевание выявлено при случайном исследовании показателей крови или УЗИ брюшной полости.

Мы выявляли следующие изменения в анализе крови у больных с вариантной формой ВКЛ:

Анемия была выявлена у 31 (74 %) больных, с диапазоном значений гемоглобина от 36 г/л до 117 г/л (медиана – 90 г/л). У 11 (26 %) больных с вариантной формой ВКЛ анемия не отмечена.

Тромбоцитопения была отмечена практически у всех больных – в 41 (98 %) случае, с минимальным количеством тромбоцитов $12 \times 10^9/\text{л}$, максимальным – $150 \times 10^9/\text{л}$ (медиана – $70 \times 10^9/\text{л}$). При этом тромбоцитопения с уровнем тромбоцитов $< 100 \times 10^9/\text{л}$ отмечена у 32 (76 %) больных, в том числе глубокая тромбоцитопения ($< 50 \times 10^9/\text{л}$) – у 9 (21 %) больных, у 5 (12 %) больных – с геморрагическим синдромом.

Лейкоциты у 25 (60 %) больных были в норме ($4-9 \times 10^9/\text{л}$), у 17 (40 %) – повышены - от $10 \times 10^9/\text{л}$ до $36 \times 10^9/\text{л}$ (медиана – $11 \times 10^9/\text{л}$).

Лимфоцитоз был отмечен у всех больных, с диапазоном количества лимфоцитов от 58 % до 97 % (медиана – 85 %). Частота выявления «волосатых клеток» в крови составляла от 15 % до 90 % (медиана – 58 %).

Моноцитопения: у 32 (76 %) больных моноциты были снижены (0-2 %, медиана 1 %), у 10 (24 %) больных моноциты были в норме или слегка повышены (4-10 %, медиана 5 %).

Миелограмма была исследована у всех пациентов, у 38 больных (90 %) отмечался лимфоцитоз от 20 до 76 % (медиана 40 %), у 4 пациентов (10%) число лимфоцитов в костном мозге было в норме. У всех больных среди лимфоцитов костного мозга выявлялись «ворсинчатые» формы числом от 5 % до 43 % (медиана 26 %).

Трепанобиоптат костного мозга был исследован у всех больных, картина лимфоидной инфильтрации была аналогична таковой при типичной форме заболевания.

Тартрат-устойчивая кислая фосфатаза была исследована в цитологическом препарате лейкоконцентрата крови или костного мозга у всех больных, у всех была положительна, с диапазоном содержания TRAP+ клеток от 12 % до 65 % (медиана – 27 %).

Имунофенотипирование лимфоцитов проводилось у 36 больных с вариантной формой ВКЛ. В связи с малым числом определяемых маркеров или отсутствием указаний на степень экспрессии из анализа было исключено 6 пациентов, и фенотип был проанализирован у 30 больных. У 29 больных исследовали лимфоциты крови, в 1 случае исследовали лимфоциты костного мозга. В результате иммунофенотипического исследования было выявлено, что лимфоциты у 100 % включенных в анализ больных с вариантной формой ВКЛ экспрессировали антигены CD19, CD20, CD22, CD11c, CD103, CD85, HC2, анти-ВКЛ, у 94 % - FMC7 и у 86% - CD25. При определении клональности в 61 % случаев был выявлен клон λ и в 36 % случаев – клон κ , у 1 больного клональность определить не удалось. Тяжелая цепь иммуноглобулинов μ выявлялась в 57 % случаев. Что касается других дифференциально-диагностических антигенов, то в этой группе больных антиген CD23 выявлялся у 12 %, антиген CD10 – у 22 % и антиген CD5 – у 7 % больных. Активационный антиген CD38 выявлялся у 23 % больных. Подробный анализ иммунофенотипа лимфоцитов вариантной формы рассматривается далее при обсуждении результатов в главе 4.

Моноклональная и поликлональная секреция исследована у 18 больных вариантной формой ВКЛ, при этом у 8 (44 %) из этих больных выявлена та или иная гаммапатия. У 5 больных обнаружено повышение поликлонального IgA, у 2 больных в моче выявлена секреция белка ВJ (в одном случае в сочетании с повышением поликлонального IgA), у 2 больных выявлена секреция моноклонального IgG λ (при этом у одной больной определялся κ -клон волосатых В-лимфоцитов - субстрата опухоли). Таким образом, у 4 (22

%) из 18 обследованных больных с вариантной формой ВКЛ была выявлена моноклональная секреция.

Спленомегалия отмечена у 39 (93 %) из 42 больных вариантной формой ВКЛ, в том числе значительная (>20х6см) у 24 (57 %) больных.

Лимфаденопатия с увеличением абдоминальных лимфоузлов выявлена у 14 (33%) из 42 больных с вариантной формой ВКЛ. Увеличенные л/у чаще были расположены в воротах селезенки, печени, в малом сальнике, размер их редко был значительным – у всех больных с висцеральной лимфаденопатией размеры л/у составляли 10-32 мм (медиана – 19 мм). Только у 2 больных отмечено незначительное увеличение единичных периферических л/у (шейных и подмышечных до 15 мм).

Инфекционно-воспалительные осложнения в дебюте или на ранних этапах лечения заболевания были выявлены у 13 (31 %) из 42 больных с вариантной формой ВКЛ, из них у 4 (31 %) – тяжелые угрожающие жизни инфекции, приведшие к смерти у 3 (23 %) из 13 больных с инфекционными осложнениями.

В целом, наши результаты клинического обследования больных с вариантной формой ВКЛ по ряду параметров отличались от данных литературы. Сравнение полученных нами и литературных данных по клинико-лабораторным характеристикам вариантной формы ВКЛ мы приводим далее при обсуждении результатов в главе 4.

3.2.2. Результаты лечения вариантной формы ВКЛ

Эффективность спленэктомии при вариантной форме ВКЛ

Спленэктомию применяли у 11 (26 %) из 42 больных вариантной формой ВКЛ, во всех случаях – при значительно увеличенной селезенке (>20 х6см).

В качестве первой линии терапии спленэктомию выполняли у 8 больных, при этом стойкий эффект от спленэктомии отмечен у 3 (27 %)

больных с длительностью полной ремиссии 19 лет, 10 лет и одна ремиссия сохраняется +11 лет.

В качестве второй линии терапии (при отсутствии ремиссии ВКЛ на фоне длительного лечения α -Иф) спленэктомия применяли у 3 больных, при этом у всех больных эффект был неполный или незначительный, что явилось показанием к проведению дальнейшего лечения.

Таким образом, у 8 из 11 больных (73 %) в сроки от 1 месяца до 1 года после спленэктомии был выявлен рецидив заболевания. Всем этим больным, а также 2 больным с рецидивом после 10 и 19 лет ремиссии, назначался α -ИФ, а в последующем у 8 был проведен курс терапии кладрибином.

Эффективность α -Иф при вариантной форме ВКЛ

Препараты α -ИФ (реаферон, роферон, интрон) применяли в стандартной дозе 3 млн ед ежедневно или через день у 39 (93 %) из 42 больных вариантной формой ВКЛ. Эффективность лечения α -ИФ анализировали в двух группах больных –

- 1) с длительным приемом α -Иф (≥ 1 года) – 20 больных,
- 2) с коротким приемом α -Иф (< 1 года) – 19 больных.

В 1 группе из 20 больных (13 муж + 7 жен) длительность применения α -Иф составила от 1 года до 15 лет (медиана – 3,5 года). В результате лечения у 6 больных была достигнута полная ремиссия, у 13 больных – частичная ремиссия и у 1 больного улучшение. Однако при отмене α -Иф все частичные ремиссии не сохранялись, а полные ремиссии сохранялись только у 2 больных, из которых у одного спустя 1,5 года после отмены лечения развился рецидив заболевания, таким образом, только у одной больной из 20 пациентов, получивших длительный (более 1 года) курс терапии α -Иф, ремиссия сохраняется 2 года (по настоящее время). Из 19 рецидивировавших больных 5 пациентов была возобновлена терапия α -Иф, а 14 пациентам была проведена терапия 1 курсом кладрибина с достижением стойкого эффекта у 13 больных, у 1 больного с трансформацией заболевания эффект был нестойким, с летальным исходом от прогрессии заболевания через 6 мес терапии.

Во 2 группе из 19 больных (10 муж + 9 жен) длительность применения α -ИФ составила от 1 мес до 10 мес (медиана – 4,5 мес). Из-за развития осложнений α -ИФ был отменен у 4 больных после 1 мес терапии, анализ осложнений рассмотрен далее в главе 4. Из 15 больных короткое (несколько месяцев) применение α -ИФ привело к развитию полной ремиссии у 3 больных и частичной ремиссии у 10 больных, у 2 больных получено улучшение. 1 больной из этой группы продолжает прием α -ИФ, остальные 18 больных получили 1 курс кладрибина, после чего у всех развилась стойкая ремиссия.

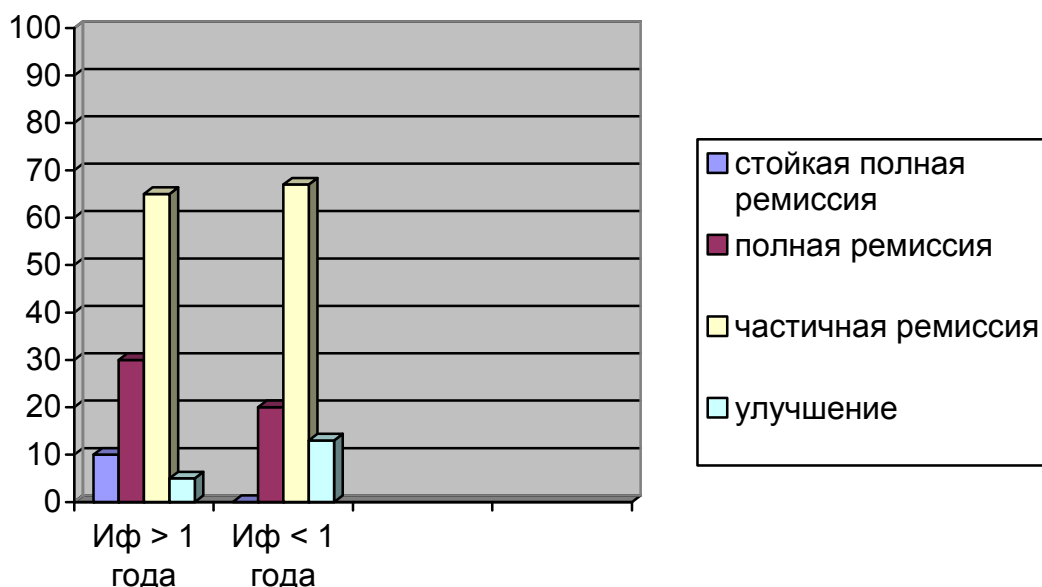
Таким образом, учитывая то, что из-за развития осложнений α -ИФ был отменен у 4 больных, оценить эффект применения α -ИФ было возможно у 35 пациентов. Полная ремиссия при применении α -ИФ была получена у 9 (26 %) из 35 больных, и сохранялась после отмены α -ИФ у 2 (6 %) больных. Частичная ремиссия при применении α -ИФ была получена у 23 (66 %) из 35 больных, улучшение без достижения ремиссии получено у 3 (8 %) больных (табл.5).

Таблица 5. Результаты применения α -ИФ при варианном ВКЛ.

	Число больных	Полная ремиссия	Частичная ремиссия	Улучшение
Длительное применение α -ИФ (≥ 1 года) в среднем 3,5 г	20	6 (30 %)	13 (65 %)	1 (5 %)
Короткое применение α -ИФ (< 1 года) в среднем 4,5 мес	15	3 (20 %)	10 (67 %)	2 (13 %)
ВСЕГО	35	9 (26 %)	23 (66 %)	3 (8 %)

Следует отметить, что, хотя при длительном применении α -ИФ полная ремиссия была достигнута в 30 % случаев, стойкой она не была – при отмене дальнейшего лечения α -ИФ ремиссия сохранялась более 1 года только у 2 (10 %) больных (диагр. 5).

Диаграмма 5. Результаты применения α -ИФ при вариантном ВКЛ.



Эффективность кладрибина при вариантной форме ВКЛ

Препараты 2-CdA (кладрибин, леустатин) применяли в стандартной дозе 0,1мг/кг/сут в/в капельно в течение 7 последовательных дней у 32 (76%) из 42 больных вариантной формой ВКЛ. У 31 (97%) из 32 больных в результате лечения получена стойкая ремиссия, сохраняющаяся без поддерживающей терапии более двух лет, у 1 больного с прогрессией и трансформацией заболевания отмечен непродолжительный (6 мес) эффект с дальнейшей прогрессией и летальным исходом (табл.6).

Таблица 6. Результаты применения кладрибина при вариантном ВКЛ.

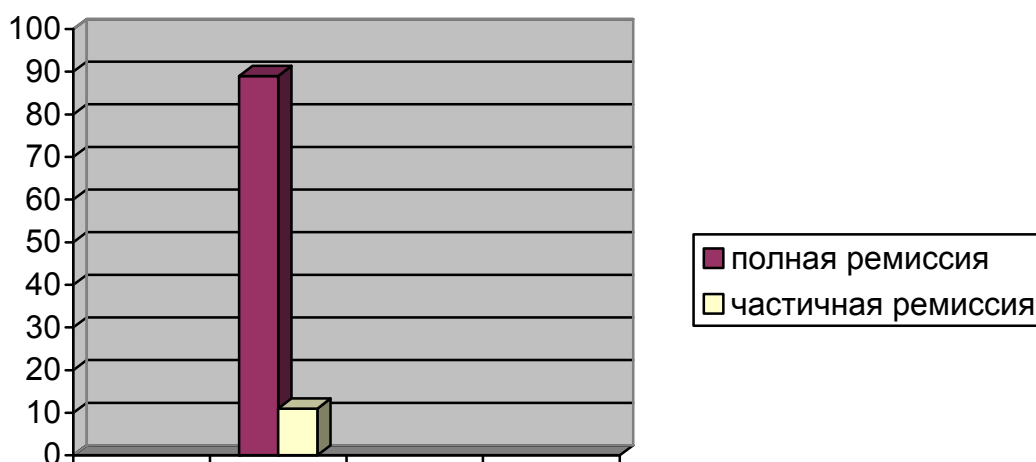
Лечение	Число больных	Стойкий эффект (ПР +ЧР)	Неэффективность
Кладрибин 1 курс	32	31 (97%)	1 (3%)

Анализ полноты ремиссии был проведен у 27 больных из 31 (у тех больных, где срок наблюдения после окончания курса 2-CdA составлял \geq 6 мес). Полная ремиссия была достигнута у 24 (89 %) из 27 больных, частичная ремиссия – у 3 (11 %) больных (табл.7 и диагр.6).

Таблица 7. Частота достижения полных и частичных ремиссий после 1 курса кладрибина при вариантном ВКЛ.

Лечение	Число больных	Полная ремиссия	Частичная ремиссия
Кладрибин 1 курс	27	24 (89 %)	3 (11 %)

Диаграмма 6. Полные и частичные ремиссии после 1 курса кладрибина при вариантном ВКЛ.



3.3. ВКЛ у больных моложе 40 лет.

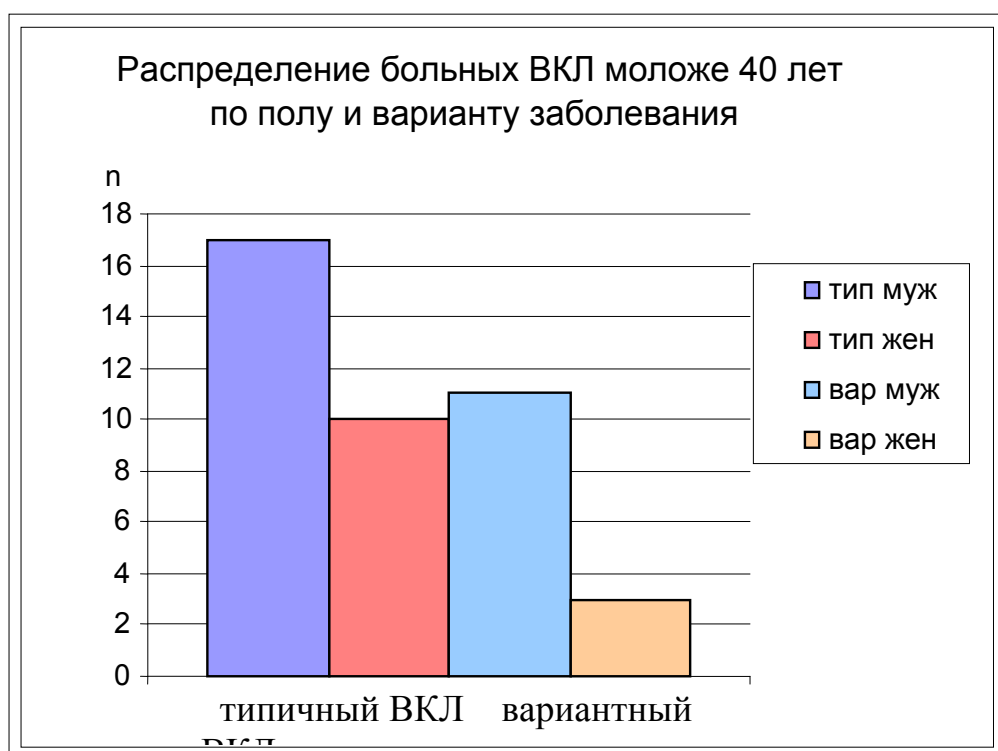
3.3.1. Клиническая характеристика «молодого» ВКЛ

В известной нам литературе ВКЛ у больных молодого возраста не выделяется в отдельную группу, соответственно, не представлена клиническая характеристика, анализ эффективности лечения и результаты долгосрочного наблюдения за этими больными. Несмотря на то, что молодой возраст дебюта заболевания считается нехарактерным для ВКЛ, в нашей работе, охватывающей большую группу больных с длительным сроком наблюдения, возраст моложе 40 лет не являлся казуистически редким, что стало поводом для проведения анализа клинико-лабораторной характеристики ВКЛ у этой группы. Последующий анализ частоты рецидивов при длительном наблюдении подтвердил правомочность выделения этой формы ВКЛ. Так как

ВКЛ традиционно – и по клиническому опыту, и по литературным данным, считается болезнью старшей возрастной группы, с медианой возраста больных около 50 лет, мы относили пациентов к молодой группе при возрасте дебюта ВКЛ до 40 лет включительно.

Из 160 наблюдавшихся нами больных ВКЛ 41 (26 %) пациентов были молодого возраста – от 27 до 40 лет (медиана – 35 лет), в том числе 28 мужчин и 13 женщин. У 27 (66 %) больных (17 мужчин и 10 женщин, м:ж=1,7) выявлена типичная форма ВКЛ, у 14 (34 %) больных (11 мужчин и 3 женщины, м:ж=3,7) – вариантная форма ВКЛ (диагр.7).

Диаграмма 7.



Таким образом, вариантную форму ВКЛ в молодом возрасте мы диагностировали чаще, чем в старшем возрасте (в 34 % и 23 % случаев соответственно) и преимущественно у мужчин (м:ж=3,7).

Нами выявлены следующие изменения в анализе крови у больных с ВКЛ в молодом возрасте:

Анемия была выявлена у 32 (78 %) из 41 больных с колебаниями уровня гемоглобина от 36г/л до 114г/л (медиана – 80г/л). У большинства пациентов наблюдалась анемия средней степени тяжести, необходимость гемотрансфузий отмечена у 18 % больных. У 9 (22 %) больных с «молодым ВКЛ» анемии не было.

Тромбоцитопения была выявлена практически у всех больных – у 39 (95 %) из 41 больного с минимальным количеством тромбоцитов $15 \times 10^9/\text{л}$, максимальным – $140 \times 10^9/\text{л}$ (медиана – $76 \times 10^9/\text{л}$). При этом глубокая тромбоцитопения ($< 50 \times 10^9/\text{л}$) была отмечена у 10 (26 %) больных.

Лейкоциты были снижены ($< 4 \times 10^9/\text{л}$) в 66 % случаев, нормальны или повышены ($> 4 \times 10^9/\text{л}$) в 34% случаев.

Лимфоцитоз выявляли у всех больных, медиана составила 82 %, Частота выявления «волосатых клеток» в крови составляла от единичных до 80 % (медиана – 40 %).

Моноцитопения была выявлена у 33 (80 %) из 41 больных.

Миелограмма была исследована у всех пациентов, у 35 больных (85 %) отмечался лимфоцитоз от 23 до 70 % (медиана 36 %), у 6 пациентов (15 %) число лимфоцитов в костном мозге было в норме. У всех больных среди лимфоцитов костного мозга выявлялись «ворсинчатые» формы числом от 4 % до 45 % (медиана 21 %).

Трепанобиоптат костного мозга был исследован у всех больных, картина лимфоидной инфильтрации не отличалась от характерного для ВКЛ вида.

Тартрат-устойчивая кислая фосфатаза (TRAP) была исследована в цитологическом препарате лейкоконцентрата крови или костного мозга у 39 (95%) больных, была положительна у всех больных с содержанием TRAP+ клеток от 5 % до 58 % (медиана – 18 %).

Иммунофенотипирование лимфоцитов было проведено у 30 больных с «молодым» ВКЛ. В связи с малым числом определяемых маркеров или отсутствием указаний на степень экспрессии из анализа было исключено 6больных, в итоге фенотип был проанализирован у 24 пациентов. У 22 больных исследовали лимфоциты крови, у 1 – костного мозга и у 1 –

селезенки. У всех больных ВКЛ молодого возраста «ВК» экспрессировали CD19, CD22, CD11c, CD103, CD85, анти-ВКЛ, FMC7 и HC2, у 96 % - CD20 и CD25. При определении клональности в 60 % случаев был выявлен клон λ и в 40 % случаев клон κ . Что касается других, aberrантных для ВКЛ дифференциально-диагностических антигенов, то в этой группе больных антиген CD23 выявлялся у 16 % пациентов, антиген CD10 – у 25 % пациентов, антиген CD5 отсутствовал во всех случаях. Подробнее данные о степени экспрессии антигенов и сравнение с другими группами больных ВКЛ приведены далее в главе 4.

Моноклональная и поликлональная секреция была исследована у 20 (49 %) из 41 пациента с «молодым» ВКЛ (11 пациентов с типичной и 9 с вариантной формой заболевания). У 10 (50 %) больных (6 с типичной и 4 с вариантной формой ВКЛ) иммунохимические показатели были в норме, в то время как у других 10 (50 %) больных (5 с типичной и 5 с вариантной формой ВКЛ) были обнаружены различные отклонения. Наибольшее количество этих отклонений – до 80 %, было связано с неспецифическими изменениями (повышение количества циркулирующих иммунных комплексов, поликлональная гипергаммаглобулинемия). Моноклональной секреции иммуноглобулина в сыворотке крови не было выявлено ни у одного больного, олигоклоны обнаруживались (и сохранялись при наблюдении в динамике) у 2 больных, а секреция белка Бенс-Джонса λ отмечена у 1 из обследованных пациентов.

Спленомегалия была выявлена у 40 (98 %) из 41 больных, в том числе значительная ($> 20 \times 6 \text{ см}$) у 17 (41 %) больных, а у 12 больных (29 %) она была выражена незначительно и составляла 12-15 см.

Лимфаденопатия с увеличением абдоминальных л/у была отмечена у 13 (32 %) из 41 больных с «молодым» ВКЛ. Л/у располагались в воротах селезенки, печени, в малом сальнике, и редко были значительно увеличены, однако у 2 больных наблюдали л/у, сливающиеся в крупные конгломераты.

Инфекционно-воспалительные осложнения в дебюте или на ранних этапах лечения осложнили течение ВКЛ у 19 (46 %) из 41 пациентов в

возрасте моложе 40 лет, тяжело протекали (флегмона, абсцессы, парапроктит, туберкулез, сепсис) - у 8 (42 %) из 19 больных и привели к летальному исходу в 3 случаях (16 %).

Атипичные проявления ВКЛ мы наблюдали у 2 (5 %) из 41 больных ВКЛ молодого возраста: у 1 специфическая инфильтрация ткани легкого, доказанная гистологически и купированная применением α -интерферона, у 1 – сочетание ВКЛ с аутоиммунной гемолитической анемией (проба Кумбса +) и с наличием нетипичного для ВКЛ маркера CD10+.

Таким образом, ВКЛ у группы больных молодого возраста по сравнению с больными старшей возрастной группы характеризовался чуть большим преобладанием лиц мужского пола, большей частотой вариантной формы ВКЛ и лимфаденопатии, при обычной частоте и степени выраженности спленомегалии. При анализе частоты возникновения инфекционно-воспалительных осложнений при ВКЛ в зависимости от возраста оказалось, что среди пациентов молодого возраста инфекции встречаются чаще и имеют более тяжелое течение, что может быть связано с повышенной реактивностью молодого организма. Не все выявленные отличия ВКЛ молодого возраста оказались статистически достоверными, их анализ приведен ниже в гл.4.

3.3.2. Результаты лечения «молодого» ВКЛ

Эффективность спленэктомии при «молодом» ВКЛ

Спленэктомия была применена у 15 из 41 больных ВКЛ молодого возраста (37%).

В качестве первой линии терапии спленэктомию применили у 9 больных, в результате у 3 были достигнуты стойкие многолетние ремиссии (18 лет, 19 лет и 24 года), у 4 наблюдалось кратковременное улучшение, у 2 больных после спленэктомии сразу проводилась терапия α -интерфероном и/или аналогом пурина.

В качестве второй линии терапии – при отсутствии ремиссии ВКЛ или развитии рецидиве заболевания на фоне длительного лечения α -

интерфероном, спленэктомию применили у 6 больных: с эффектом длительностью 1 год у 2 больных, без эффекта – у 3 больных, у 1 больного сразу после спленэктомии проводилась цитостатическая терапия аналогом пурина.

Результаты применения α -интерферона у больных ВКЛ молодого возраста

Препараты α -интерферона применялись у 40 из 41 больных ВКЛ молодого возраста (98%).

У 3 больных (7%) ИФ был отменен из-за плохой переносимости, у 20 (49%) больных ИФ применялся менее 1 года (от 3 до 10 мес, в среднем 4,8 мес), у 17 (41%) больных ИФ применялся 1 год и более (от 1 года до 9 лет, в среднем 2,4 года). Результаты применения α -интерферона представлены в таблице 8.

Таблица 8. Результаты применения α -интерферона у больных ВКЛ молодого возраста.

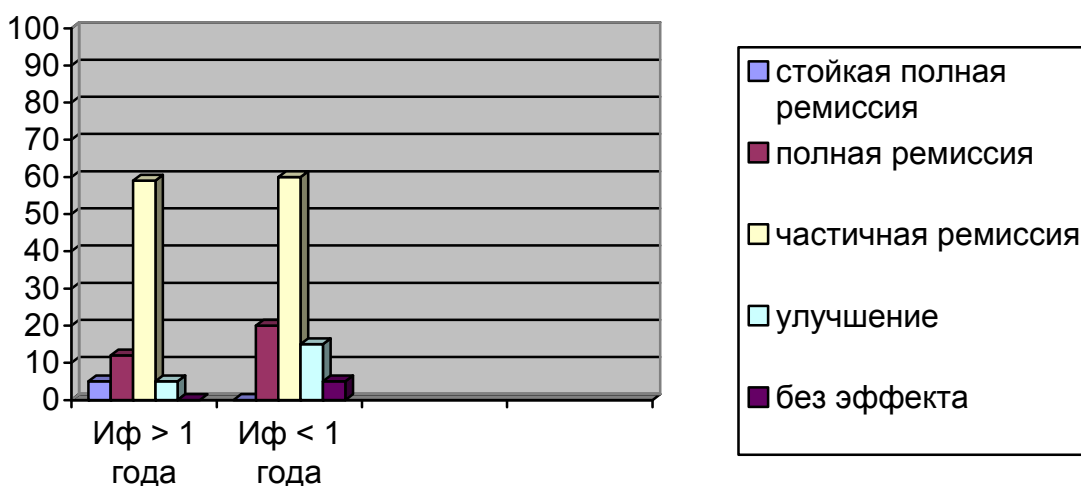
α -Иф	Число больных	ПР	ЧР	Улучшение	Без эффекта
Длительное применение α -ИФ (≥ 1 года) медиана 2,4 г	17	2 (12 %)	10 (59 %)	5 (29 %)	-
Короткое применение α -ИФ (< 1 года) медиана 4,8 мес	20	4 (20 %)	12 (60 %)	3 (15 %)	1 (5 %)
ВСЕГО	37	6 (16 %)	22 (59 %)	8 (22 %)	1 (3 %)

В группе из 20 больных с приемом Иф менее 1 года у 4 (20 %) развилась полная ремиссия, у 12 (60 %) частичная ремиссия, у 3 (15 %) улучшение, у 1 (5 %) терапия α -Иф была неэффективной. В дальнейшем в этой группе (« α -Иф <1 года») у 17 больных был проведен плановый консолидирующий ремиссию курс ХТ кладрибином с последующим наблюдением без поддерживающей терапии. У 1 больного продолжается терапия α -Иф, 2

больных умерли (1 с частичной ремиссией, рецидивом после прекращения лечения, 1 с минимальным улучшением без достижения ремиссии).

В группе из 17 больных с приемом α -Иф от 1 года и более полная ремиссия отмечена у 2 (12 %) больных, частичная ремиссия отмечена у 10 (59 %) больных, улучшение у 5 (29 %) больных. Полные ремиссии у 2 больных в этой группе достигнуты после 1 года и после 5 лет непрерывного применения Иф и длились 1,5г и 5 лет соответственно, с последующим развитием рецидива. В связи с развитием рецидива им был возобновлен прием Иф с неполным эффектом, затем проведен курс ХТ кладрибином. Длительность частичной ремиссии после отмены терапии в этой группе (« α -Иф >1 года») составляла от 6 мес до 6 лет (в среднем 1 год), в большинстве случаев требовалась и, соответственно, проводилась постоянная поддерживающая терапия Иф. В последующем, для снятия с терапии или в связи с прекращением ее эффективности, 15 больным был проведен курс ХТ кладрибином с последующим наблюдением без поддерживающей терапии (диагр.8).

Диаграмма 8. Результаты применения α -ИФ у больных ВКЛ молодого возраста.



Результаты применения кладрибина при ВКЛ у больных молодого возраста

Кладрибин (леустатин, 2-CdA) применялся в лечении ВКЛ у 36 (88 %) больных молодого возраста и оказался эффективным у 35 (97 %) больных, эффект отсутствовал только у 1 (3 %) больного с длительным (более 27 лет) анамнезом заболевания (табл.9).

Таблица 9. Результаты применения кладрибина
у больных ВКЛ молодого возраста.

Лечение	Число больных	Эффект (ПР +ЧР)	Неэффективность
Кладрибин 1 курс	36	35 (97 %)	1 (3 %)

Применение кладрибина привело к развитию полной ремиссии у 31 (86 %) больных, частичной ремиссии у 3 (7 %) больных, у 1 больного полноту достигнутой ремиссии предстоит оценить. Полные ремиссии были длительностью от 1 года до 9+ лет (медиана не достигнута), частичные ремиссии длятся 2+ года, медиана не достигнута (табл.10 и диагр.9).

Таблица 10. Частота достижения полных и частичных ремиссий после
1 курса кладрибина у больных ВКЛ молодого возраста.

Лечение	Число больных	Полная ремиссия	Частичная ремиссия
Кладрибин 1 курс	36	31 (86 %)	3 (8 %)

Диаграмма 9. Частота достижения полных и частичных ремиссий после 1 курса кладрибина у больных ВКЛ молодого возраста.



К настоящему времени из 36 пациентов с ВКЛ молодого возраста, получивших терапию кладрибином, нет сведений о 5 больных (2 в I ремиссии и 3 во II ремиссии). Из 31 больного в ремиссии находится 27 (87 %) больных, (из них 20 больных в I ремиссии после кладрибина, 5 больных во II ремиссии после кладрибина, 2 больных в ремиссии на фоне приема α -интерферона), 2 больных начали терапию α -интерфероном, 2 больных умерли от прогрессии заболевания.

3.4. Рецидивы волосатоклеточного лейкоза после терапии кладрибином

Рецидивы заболевания зарегистрированы нами у 21 (18 %) из 120 больных ВКЛ, получивших один курс терапии кладрибином, развившиеся в сроки от 1,3 года до 6 лет (медиана 3,5 года). Естественно, частота рецидивов возрастает с длительностью наблюдения больных. Так, в группе из 45 больных, получавших кладрибин в 2005-2007гг, со сроком наблюдения от полугода до 2 лет (медиана 1,8 лет) рецидив отмечен пока только у одной больной (возраст 42 года, с aberrантным иммунофенотипом CD10⁺). В группе из 61 больного, получавшего лечение кладрибином в 2002-2004гг, со сроком наблюдения от 3 до 5 лет (медиана 4,5 года), рецидив отмечен у 13 (23 %) из 56 больных, о которых имеются сведения. В группе из 24 пациентов,

достигших ремиссии после 1 курса кладрибина в 1995-1998гг, со сроком наблюдения от 9 до 12 лет (медиана 11,6 лет), рецидив зафиксирован у 7 (32 %) из 22 больных, сведениями о которых мы располагаем.

Медиана возраста больных с рецидивом ВКЛ составила 42 года с диапазоном от 27 до 72 лет (таб. 11).

Таблица 11. Рецидивы ВКЛ после лечения кладрибином.

N, ФИО	пол	возраст	Форма ВКЛ	Длит.ремиссии (годы)
1. А.Ф.Т.	ж	45	типичный	1,8
2. Б.В.Н.	м	72	типичный	3
3. В.Д.Д.	м	54	типичный	2
4. Г.А.В.	м	42	типичный	2
5. Г.В.И.	ж	40	типичный	1,3
6. Е.Е.С.	м	34	типичный	1,5
7. З.В.Н.	м	35	типичный	3,5
8. З.Е.Е.	м	39	вариантный	6
9. И.И.С.	ж	40	типичный	2
10. И.Ю.Д.	м	37	типичный	4
11. К.А.М.	м	34	вариантный	2
12. Л.Е.В.	ж	39	типичный	4
13. М.А.В.	м	42	типичный	4
14. П.А.В.	м	44	типичный	5
15. С.Е.В.	ж	41	типичный	4
16. С.Е.А.	м	45	типичный	6
17. Т.С.В.	м	27	типичный	4
18. Х.Л.И.	ж	42	вариантный	1,5
19. Х.Л.Д.	ж	47	вариантный	3,5
20. Х.Ю.В.	м	34	типичный	6
21. Ч.Н.Ф.	м	39	типичный	5
Всего:	14м + 7ж м:ж=2:1	ср.возр. 42 г	17 типВКЛ + 4 варВКЛ	ср. длит. ремиссии 3,5 года

Как видно из таблицы, рецидив заболевания после курса терапии кладрибином был отмечен у 11 (34 %) из 32 оставшихся под наблюдением больных ВКЛ молодого возраста. Рецидивы были зарегистрированы в сроки от 1,3 года до 6 лет (медиана 3,6 года).

Большая часть больных с развившимся рецидивом ВКЛ после 1 курса кладрибина – 15 из 21 (71 %) получили 2й курс кладрибина. У 14 больных (93 %) повторное применение кладрибина было эффективно, у 1 больного эффекта не получено, также неэффективным у него оказались спленэктомия и α -интерферон. Из 14 больных, получивших 2й курс кладрибина, нет сведений о 1 больной, полная ремиссия достигнута у 8 (62 %) больных, частичная ремиссия у 3 (23 %), еще у 2 пациентов полноту ремиссии предстоит оценить в дальнейшем. 5 больных получают терапию препаратами α -интерферона как первый этап терапии перед применением кладрибина.

Умерло 2 (10 %) из 21 рецидивировавших больных – одна больная от других причин в полной ремиссии после 2го курса кладрибина и один больной с неэффективностью лечения от прогрессии заболевания.

3.5. Летальность

Анализ летальности при ВКЛ проведен нами на основе сведений о 135 больных. Общая летальность составила 9 % (12 больных из 135). Структура летальности при разных формах ВКЛ приведена в таб. 12.

Таблица 12. Летальность при разных формах ВКЛ.

Летальность	Форма ВКЛ			Всего
	Типичный ВКЛ	Вариантный ВКЛ	Молодой ВКЛ	
От прогрессии заболевания	3 (2 без лечения)	1	4	4
От инфекции	3 (2 от туберкулеза)	1	1	4
От других причин	3 (2 от опухоли)	1	-	4
Всего: 12/135 (9 %)	9/98 (9 %)	3/37 (8 %)	5/30 (17 %)	12

При анализе данных из приведенной таблицы видно, что летальность в группах типичной и вариантной форм ВКЛ не отличалась (9 % и 8 % соответственно), в то же время летальность в группе больных ВКЛ молодого возраста была в два раза выше (17 %), однако различие статистически недостоверно ($p > 0.25$). При анализе структуры летальности мы выявили, что среди инфекций в 2х случаях из 4х причиной смерти был генерализованный туберкулез – в одном случае у молодого больного с развившейся на 5 году болезни неэффективностью α -интерферона, в другом – у больной с аллергической реакцией на α -интерферон, препятствовавшей его применению. Четыре смерти (33 %) произошли в ремиссии ВКЛ и были вызваны другими причинами – сердечно-сосудистые осложнения и вторые опухоли (все у больных старшего возраста). Таким образом, летальность в старшем возрасте редко была связана с проявлениями ВКЛ, в то время как в молодом возрасте летальность была связана в основном с прогрессией заболевания на фоне неэффективности терапии. Как видно из таблицы, летальность от осложнений лечения отсутствовала, в то время как в литературе указывается небольшой (1,5 %) процент летальности от лечения кладрибином из-за развития тяжелых инфекционных осложнений в период агранулоцитоза после терапии [249].

ГЛАВА 4.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

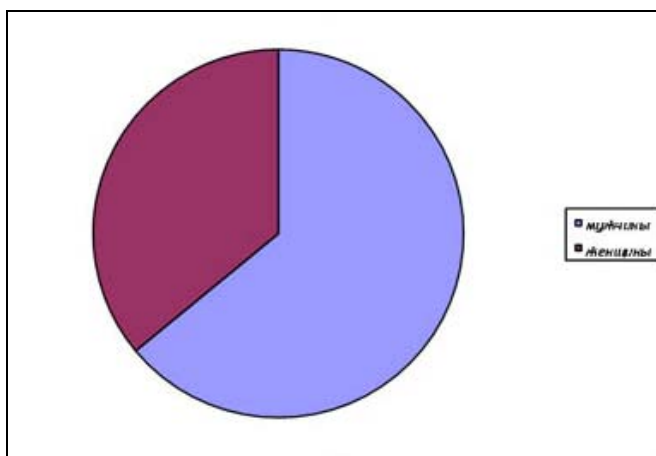
Собранные за 12-летний период (с 1995г по 2007г) данные о 160 больных ВКЛ (мужчин – 103, женщин – 57, м:ж=1,8) в возрасте от 27 лет до 81 года (медиана – 49 лет) рассмотрены в двух группах пациентов – с типичной (118 больных) и вариантной (42 больных) формой заболевания. Клинико-лабораторные данные и результаты лечения проанализированы отдельно в каждой группе и сравнены между собой. Большое количество наблюдавшихся больных позволило нам впервые отдельно охарактеризовать группу молодых (≤ 40 лет) пациентов с ВКЛ (41 больной) и проанализировать результаты их лечения. Давность заболевания в нашем исследовании составила от 1 года до 30 лет (медиана – 5,5 лет). Минимальный срок наблюдения составил 1 год, максимальный – 12 лет, медиана наблюдения - 6 лет.

4.1. Сравнение клинических характеристик отдельных форм ВКЛ

Распределение пациентов по возрасту, полу и форме заболевания

Распределение больных ВКЛ по возрасту, полу и форме заболевания приведены на рисунках 1 - 5.

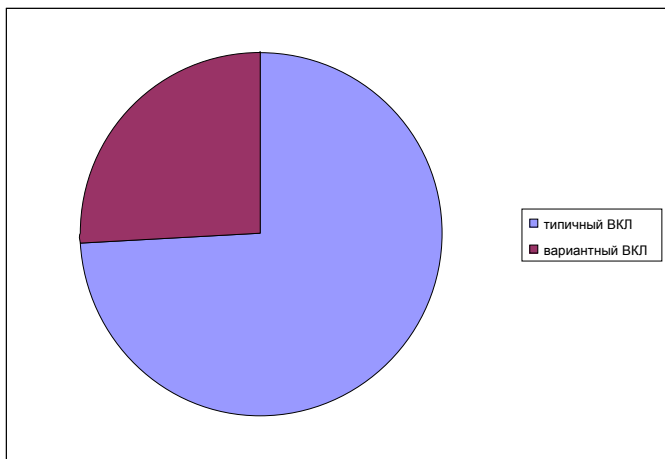
Рис. 1. Распределение больных ВКЛ по полу.



Как видно из рис.1, отмечалось почти двукратное преобладание больных мужского пола (м:ж=1,8), однако не столь выраженное, как указано в большинстве литературных данных (до 4,8 :1).

Анализ частоты выявления отдельных форм ВКЛ выявил, что среди включенных в исследование больных мы выявляли типичную форму в 74 % случаев, а вариантную – в 26 % случаев (рис.2).

Рис. 2. Распределение больных ВКЛ по формам заболевания.



В нашем исследовании частота выявления вариантной формы ВКЛ была достоверно чаще, чем указывается в исследовании Matutes [198] ($p < 0.0001$), и сравнима с данными Thompson [276]. Среди заболевших ВКЛ женщин вариантная форма встречалась чаще (32 %), чем среди больных ВКЛ мужчин (23 %) – рис.3 и 4, хотя эти различия не были статистически достоверны ($p = 0.25$).

Рис. 3. Частота встречаемости типичной и вариантной формы ВКЛ среди мужчин.

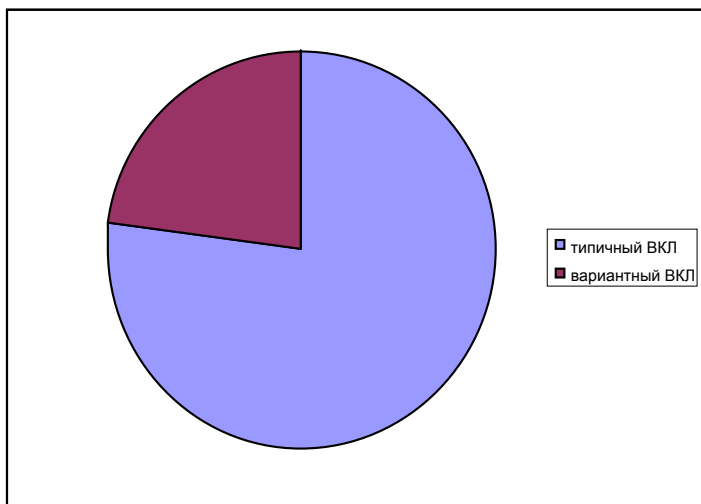
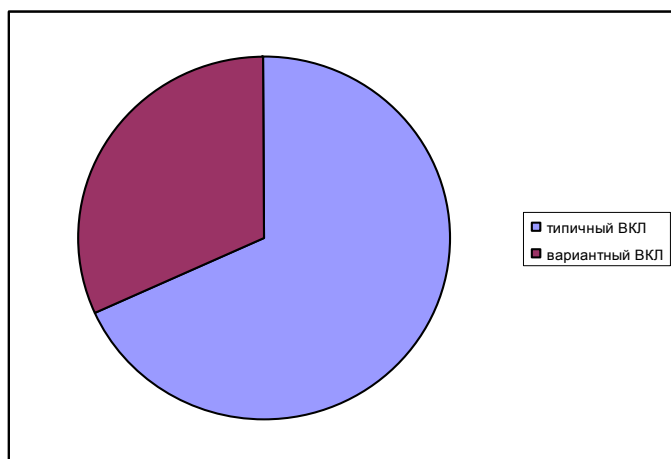
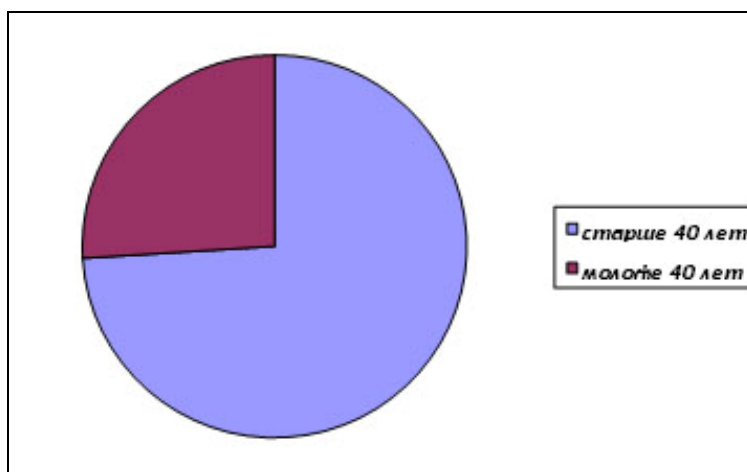


Рис. 4. Частота встречаемости типичной и вариантной формы ВКЛ среди женщин.



При анализе возраста пациентов с ВКЛ, считающегося заболеванием старшего возраста нами было выявлено, что, несмотря на то, что средний возраст всех заболевших составлял 49 лет (диапазон от 27 лет до 81 года), 26 % больных были в возрасте моложе 40 лет (рис. 5).

Рис. 5. Распределение больных ВКЛ по возрасту (старше и моложе 40 лет).



Среди молодых пациентов с ВКЛ было 28 мужчин и 13 женщин. Таким образом, в этой группе м:ж=2,2:1, что несколько выше, чем в общей группе больных ВКЛ (1,8:1), а также чем при типичной (2:1) и вариантной (1,3:1) формах ВКЛ.

Возможно, частота выявления молодых больных ВКЛ в нашем исследовании оказалась несколько завышена по отношению к истинной в

связи с тем, что больных молодого возраста с отклонениями в анализах крови чаще направляли в центральное гематологическое учреждение страны для уточнения диагноза. Тем не менее, в работе сотрудников нашего центра по эффективности спленэктомии при ВКЛ, выполненной в 1985г [3] и в работе гематологов Онкологического центра РАМН, посвященной изучению эффективности α -Иф, выполненной в 1996г [6], указывается сходное количество больных в возрасте моложе 40 лет – 29 % и 21 %, соответственно.

При типичной форме ВКЛ из 118 больных мы наблюдали:

- 39 женщин в возрасте от 30 до 65 лет (медиана – 48 лет)

Возраст	Количество	%
< 30	1	18 %
31 - 40	6	
41 - 50	16	77 %
51 - 60	14	
61 - 70	2	5 %
> 71	-	
Всего	39	100 %

- 79 мужчин в возрасте от 27 до 81 года (медиана – 52 года)

Возраст	Количество	%
< 30	2	19 %
31 - 40	13	
41 - 50	27	56 %
51 - 60	17	
61 - 70	17	25 %
> 71	3	
Всего	79	100 %

Возрастные распределения мужчин и женщин при типичной форме ВКЛ отличались статистически достоверно: доля мужчин и женщин молодого возраста (до 40 лет включительно) была примерно равна – 19 и 18 % соответственно ($p=0.89$), среди женщин преобладали больные среднего возраста ($p<0.025$) года), а среди мужчин преобладали пациенты старшего возраста ($p<0.01$).

При вариантной форме ВКЛ из 42 больных мы наблюдали:

- 18 женщин в возрасте от 34 до 81 года (медиана – 49 лет)

Возраст	Количество	%
< 30	0	22 %
31 - 40	4	
41 - 50	9	61 %
51 - 60	2	
61 - 70	2	17 %
> 71	1	
Всего	18	100 %

Лейкоциты 5-32 тыс (ср.10,758)

- 24 мужчины в возрасте от 27 до 73 лет (медиана – 45 лет)

Возраст	Количество	%
< 30	3	42%
31 - 40	7	
41 - 50	7	46%
51 - 60	4	
61 - 70	2	12%
> 71	1	
Всего	24	100 %

Лейкоциты 6-36 тыс (ср.10,428)

Возрастные распределения мужчин и женщин при вариантной форме ВКЛ различались, однако эти отличия не были статистически достоверны: доля мужчин молодого возраста (до 40 лет включительно) была выше, чем женщин – в 42 % и 22 % случаев соответственно ($p=0.19$), среди женщин вариантная форма ВКЛ встречалась чаще, чем среди мужчин – в 32 % и 23 % случаев соответственно ($p=0.25$).

При ВКЛ молодого возраста у 66 % больных была выявлена типичная форма заболевания, а у 34 % больных – вариантная форма ВКЛ. Таким образом, вариантная форма ВКЛ в молодом возрасте встречалась чаще, чем в старшем возрасте (в 34 % и 23 % случаев соответственно) и отмечалась преимущественно у мужчин – м:ж=3,7:1, хотя отличия статистически не были достоверны ($p=0.22$ и $p=0.31$ соответственно).

Сравнительная характеристика больных разными формами ВКЛ

Для удобства оценки частоты встречаемости клинических признаков при разных формах ВКЛ отдельные клинические параметры сведены в таблицу (табл.13).

Таблица 13. Клиническая характеристика разных форм ВКЛ.

Клинический признак	Типичная форма ВКЛ	Вариантная форма ВКЛ	ВКЛ молодого возраста
Частота выявления (%)	74 %	26 %	26 %
Возраст (диапазон) медиана	27 – 81 лет 50 лет	27 – 81 лет 46 лет	27 – 40 лет 35 лет
Соотношение М : Ж	2 : 1	1,3 : 1	типВКЛ 1,7 : 1 варВКЛ 3,7 : 1
Анемия	84 %	74 %	78 %
Тромбоцитопения	94 %	98 %	95 %
Лейкоциты – медиана –	↓100 % 2,3 x10 ⁹ /л	Н или ↑ 60% : 4–10 x10 ⁹ /л 40% : > 10 x10 ⁹ /л	↓ 66 % Н или ↑ – 34 %
Лимфоцитоз – медиана – в т.ч. ВК –	100 % 80 % 27 %	100 % 85 % 58 %	100 % 82 % 40 %
Моноцитопения	81 %	76 %	80 %
Спленомегалия – в т.ч. > 20хбсм –	98 % 39 %	93 % 57 %	98 % 41 %
Лимфаденопатия	9 %	33 %	32 %
Моноклональная гаммапатия	6 %	22 %	5 %
Иммунофенотип типичный аберрантный	83 % 17 %	58 % 42 %	65 % 35 %
Инфекции в т.ч. тяжелые - инф.летальность -	40 % 31 % 9 %	31 % 28 % 8 %	46 % 42 % 16 %

Как видно из приведенной таблицы, некоторые параметры (частота и выраженность анемии, тромбоцитопении, лимфоцитоза) были однотипны во всех рассматриваемых формах. Остальные параметры имели некоторые отличия, обсуждаемые ниже.

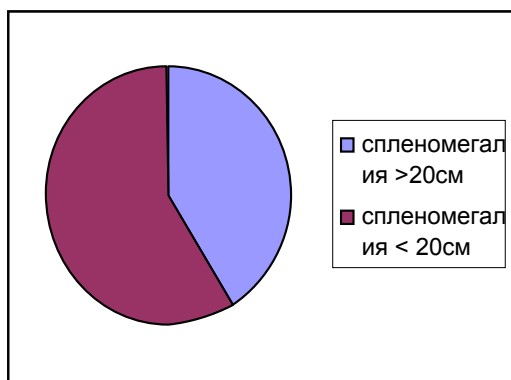
Сравнение частоты спленомегалии и лимфоаденопатии

при разных формах ВКЛ

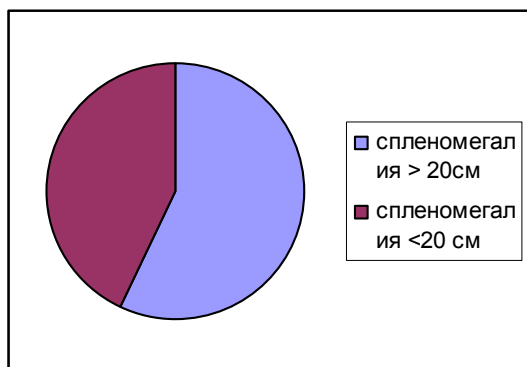
Спленомегалия была выявлена у 155 (97 %) из 160 больных ВКЛ, с одинаковой частотой при разных формах заболевания – у 98 % больных с типичной формой ВКЛ, у 93 % - с вариантной формой ВКЛ и у 98 % - с ВКЛ молодого возраста (рис.6). У 5 (3 %) из 160 больных размеры селезенки были нормальными. Значительная спленомегалия (более 20х6см) чаще, но статистически недостоверно (57 % против 39 %, $p=0.076$) встречалась при вариантной, чем при типичной форме ВКЛ. При типичной форме ВКЛ значительную спленомегалию чаще наблюдали среди женщин (51 % против 33 %, $p=0.05$), а при вариантной форме ВКЛ соотношение мужчин и женщин со значительной спленомегалией было примерно равным (58 и 50 % соответственно, $p=0.59$). Учащение случаев значительной спленомегалии (>20см) у больных молодого возраста (41 % против 36 % старшего возраста) было статистически недостоверным ($p=0.80$).

Рис 6. Частота выявления спленомегалии:

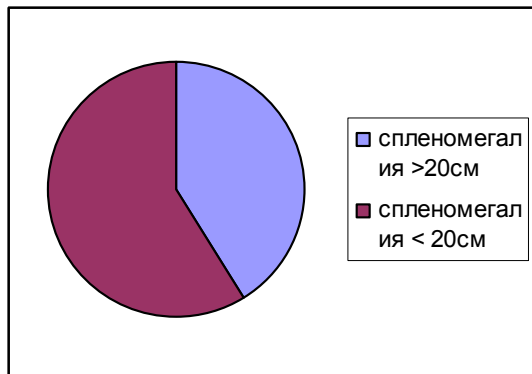
а) при типичной форме ВКЛ



б) при вариантной форме ВКЛ



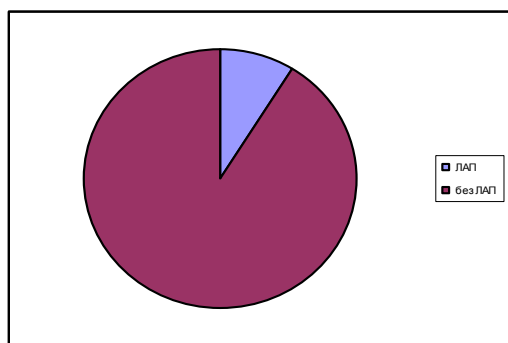
в) при ВКЛ в молодом возрасте



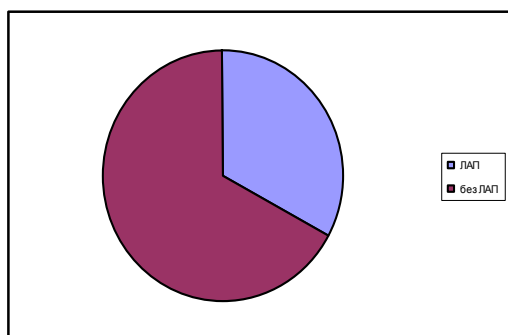
В то же время статистически достоверным было учащение случаев абдоминальной лимфоаденопатии у больных с вариантной формой ВКЛ (33 %) и у больных ВКЛ молодого возраста (32 %), по сравнению с типичной формой ВКЛ (9 %), $p < 0.001$. Причем, если в старшем возрасте абдоминальная лимфоаденопатия была умеренной, то у больных молодого возраста встречали значительное увеличение абдоминальных лимфоузлов в виде крупных конгломератов (рис.7).

Рис 7. Частота выявления лимфоаденопатии:

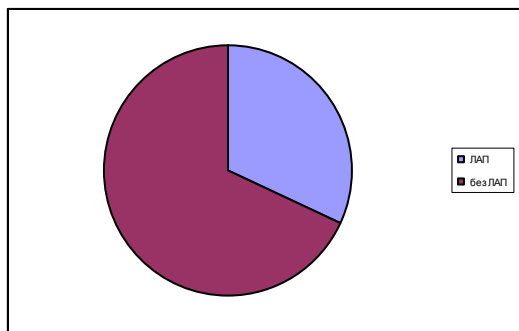
а) при типичной форме ВКЛ



б) при вариантной форме ВКЛ



в) при ВКЛ в молодом возрасте.



Также статистически достоверным оказалось различие в частоте выявления aberrантного фенотипа при типичной и вариантной форме ВКЛ ($p < 0.05$), эти данные рассмотрены далее при анализе результатов иммунофенотипирования лимфоцитов.

Сравнение собственных и литературных данных при вариантной форме ВКЛ

По ряду параметров наши результаты обследования больных с вариантной формой ВКЛ отличались от данных литературы. В связи с редкостью выявления, вариантная форма ВКЛ в основном описывается в виде единичных наблюдений. Наиболее крупный обзор, охватывающий 52 пациента, принадлежит E. Matutes, с результатами которой мы и проводили сравнение (табл.14).

Таблица 14. Сравнение данных литературы и собственных данных при вариантной форме ВКЛ.

Признак	Данные литературы (Е. Matutes, 2003г, 52 больных)	Собственные данные (2007г 42 больных)
Частота (%)	10	26
М : Ж	1,6 : 1	1,3 : 1
Медиана возраста	71 (48-92)	46 (27-81)
Спленомегалия	85 % у большинства > +10см	93 % 57 % > 20х6см
Гепатомегалия	< 1/3 пациентов	< 1/3 пациентов
Лимфаденопатия	15 %	33 %
Лейкоциты медиана (диапазон)	34 x10 ⁹ /л (4-346) >10x10 ⁹ /л - у 90 % 4-10x10 ⁹ /л – у 10 %	11x10 ⁹ /л (5-36) >10x10 ⁹ /л – у 40 % 4-10x10 ⁹ /л – у 60 %
«ВК» в крови	20-95 %	15-90 %
Моноцитопения	отсутствует	отсутствует - 24%, присутствует – 76 %
Анемия+тромбоцитопения	1/3 больных	> 2/3 (74 %)
Инфильтрация к/м	меньше, чем при типВКЛ	-
Стерн.пунктат	«сухой» пунктат реже, чем при типичной форме ВКЛ	-
Фенотип лф	CD25 – 6 % CD103 – 60 % CD11c – 87 % HC2 – 7% CD5 - 0 CD10 – 15 % κ-43 %, λ-57 %, k/λ=0,75	CD25 – 86 % CD103 – 100 % CD11c – 100 % HC2 – 100 % CD5 – 7 % CD10 – 22 % κ-36 %, λ-61 %, k/λ=0,6
Монокл. секреция	-	22 %

Как видно из представленных данных, мы отмечали значительно большую частоту выявления вариантной формы ВКЛ (26 % против 10 %, $p < 0.0001$), и более молодой средний возраст в этой группе (46 лет против 71 года), при сходном соотношении мужчин и женщин (1,3:1 против 1,6:1). Среди признаков заболевания у наших пациентов этой группы в два раза чаще, отмечали лимфаденопатию (33 % против 15 %), однако различия не были статистически достоверны ($p=0.11$). При анализе результатов иммунофенотипирования мы не выявили, в отличие от зарубежных авторов,

отсутствия экспрессии антигенов CD25 и HC2 и снижения частоты выявления CD103, CD11c в большинстве случаев вариантом формы ВКЛ, однако обнаружили статистически достоверное увеличение случаев aberrантного фенотипа ($p < 0.05$). Подробный анализ данных иммунофенотипирования вариантной формы ВКЛ с учетом степени экспрессии антигенов приведен далее. В то же время довольно часто (22 % случаев) мы находили у этих больных моноклональную гаммапатию, хотя в связи с малочисленностью группы, эти данные не были статистически достоверны ($p = 0.083$). Данные о парапротеинемии у больных вариантной формой в доступной нам отечественной и зарубежной литературе не найдены. Возможно, выявленные в нашей популяции больные отличия характеристик вариантной формы ВКЛ могут быть связаны с этническими особенностями населения нашей страны (по аналогии с японским вариантом ВКЛ, выявляемым только среди японцев).

Сравнение частоты инфекционно-воспалительных осложнений при разных формах ВКЛ

Инфекции в дебюте заболевания или на ранних этапах лечения отмечали у 60 (38 %) больных ВКЛ. Наблюдали как учащение и затяжное течение банальных ОРВИ и герпетической инфекции, так и более серьезные инфекционные осложнения ВКЛ – синусит, пневмония, отит, абсцесс, флегмона, гнойный бурсит, проктосигмоидит, флегмонозный аппендицит, сепсис, туберкулез (табл.15).

Таблица 15. Инфекционно-воспалительные осложнения у больных ВКЛ

Инфекционно-воспалительные осложнения	Количество случаев (%) n = 60*
Флегмона, абсцесс	15 (25 %)
ОРВИ	11 (18 %)
Пневмония	10 (17 %)
Сепсис	7 (12 %)
Синусит	7 (12 %)
Парапроктит	4 (7%)
Герпес	4 (7 %)
Туберкулез	3 (5 %)
Отит	2 (3 %)
Бурсит	2 (3 %)
Флегмонозный аппендицит	1 (2 %)

* у некоторых больных отмечено более одного инфекционно-воспалительного осложнения.

Таким образом, наиболее часто течение ВКЛ осложняло развитие абсцессов и флегмон подкожной клетчатки, также часто отмечали респираторные инфекции, парапроктиты. У 12 % пациентов течение инфекционного процесса генерализовалось в сепсис.

Отличия в частоте развития и тяжести течения инфекционно-воспалительных осложнений были статистически недостоверны, хотя при типичной форме ВКЛ инфекционные осложнения встречали чаще, чем при вариантной форме ВКЛ – в 40 % и 31 % случаев соответственно ($p=0.30$), при этом частота возникновения тяжелых, угрожающих жизни инфекций была примерно равной при обеих формах заболевания – 32 % и 31 % соответственно ($p=0.94$). Эти данные представлены в табл. 16.

Таблица 16. Частота инфекционных осложнений при ВКЛ

Форма ВКЛ, n	Инфекционные осложнения n (%)		
	Частота	Тяжелые инфекции	Летальность
Типичный ВКЛ – 118	47 (40 %)	15 (32 %)	4/47 (9 %)
Вариантный ВКЛ – 42	13 (31 %)	4 (31 %)	1/13 (8 %)
Всего – 160	60 (38 %)	19 (32 %)	5/60 (8 %)

Летальность от тяжелых инфекций также была практически одинакова при обеих формах ВКЛ и составляла 8 – 9 %. При оценке частоты инфекционно-воспалительных осложнений при ВКЛ в зависимости от возраста оказалось, что среди пациентов молодого возраста инфекции встречаются чаще и имеют более тяжелое течение, что может быть связано с повышенной реактивностью молодого организма. Так, разнообразные инфекции осложнили течение ВКЛ у 19 (46 %) из 41 пациентов в возрасте моложе 40 лет, чаще протекали тяжело (флегмона, абсцессы, парапроктит, туберкулез, сепсис) - у 8 (42 %) из 19 больных и привели к летальному исходу на фоне прогрессии заболевания в 3 (16 %) случаях, однако выявленные отличия были статистически недостоверны ($p > 0.32$).

Сравнение фенотипа «волосатых клеток» при разных формах ВКЛ

Имунофенотипирование лимфоцитов было проведено у 100 больных ВКЛ (64 больных с типичной формой и 36 больных с вариантной формой заболевания). В анализ включено 75 больных (45 с типичной и 30 с вариантной формой ВКЛ, из них 24 больных ВКЛ молодого возраста), у которых исследовали максимально полный набор CD-антигенов и указывали степень их экспрессии.

При анализе уровня экспрессии антигенов-кластеров дифференцировки у больных с типичной формой ВКЛ выявлено следующее распределение исследуемых маркеров (табл.17).

Таблица 17. Иммунофенотип лимфоцитов при типичном ВКЛ.

CD	Число позитивных случаев (%)	Степень экспрессии (%)	Возраст	
CD19	42/42 (100 %)	сильная 27 % умеренная 72 %	молодой	25 %
			старший	28 %
CD20	44/44 (100 %)	сильная 86% умеренная 14%	молодой	75 %
			старший	69 %
CD22	45/45 (100 %)	сильная 56 % умеренная 44%	молодой	80 %
			старший	91%
k / λ	k – 14/40 (35 %)	сильная 9% умеренная 84%	молодой	40 %
			старший	72 %
	λ – 26/40 (65 %)	сильная 27% умеренная 71%	молодой	60 %
			старший	28 %
CD25	42/43 (98 %)	сильная 3 % умеренная 63% слабая 33% отсутствует 1%	молодой	0 %
			старший	17 %
			молодой	100 %
			старший	67 %
CD11c	44/44 (100 %)	сильная 68% умеренная 27% слабая 5%	молодой	20 %
			старший	33 %
			молодой	80 %
			старший	62 %
CD103	23/23 (100 %)	сильная 0% умеренная 91% слабая 9%	молодой	0 %
			старший	7 %
			молодой	80 %
			старший	45%
			молодой	20 %
			старший	45%
			молодой	0 %
			старший	3%
			молодой	60%
			старший	76%
			молодой	30%
			старший	24%
			молодой	10%
			старший	0%
			молодой	0 %
			старший	0 %
			молодой	100 %
			старший	83 %
			молодой	0 %
			старший	17 %
			молодой	50 %

FMC7	19/21 (90 %)	умеренная 49%	старший 47 %
		слабая 40%	молодой 50 % старший 29 %
анти-ВКЛ	27/29 (93 %)	сильная 69%	молодой 80 % старший 58 %
		умеренная 25%	молодой 20 % старший 30 %
HC2	20/20 (100 %)	сильная 15 %	молодой 25 % старший 6 %
		умеренная 25 %	молодой 25 % старший 25 %
		слабая 60 %	молодой 50 % старший 69 %
CD23	5/39 (13 %)	умеренная 9 %	молодой 12 %
		слабая 3 %	старший 6 %
CD10	2/25 (8 %)	слабая 8 %	молодой 11 % старший 5 %
CD5	0/41	отсутствует	отсутствует

Видно, что при типичной форме ВКЛ экспрессия общих В-клеточных антигенов CD19, CD20 и CD22 была выявлена у всех больных, хотя степень экспрессии этих антигенов была разная. Так, антиген CD19 чаще (в 72 % случаев) экспрессировался умеренно в обеих возрастных группах, CD20 чаще (в 86 % случаев) экспрессировался сильно также в обеих возрастных группах, CD22 экспрессировался почти с одинаковой частотой сильно (56 %) и умеренно (44 %), однако сильная экспрессия CD22 была характерна для пациентов старшего возраста (72 %), а умеренная экспрессия CD22 наблюдалась в большинстве случаев у молодых пациентов (60 %). Экспрессия легких цепей иммуноглобулина κ и λ в большинстве случаев была выражена умеренно в обеих возрастных группах, соотношение κ / λ составило 0,54, т.е. число λ + случаев почти вдвое превышало число κ + случаев.

Характерные для ВКЛ маркеры CD11c, CD103, HC2 были обнаружены при типичной форме ВКЛ у всех больных, при этом для CD11c была характерна в основном сильная степень экспрессии, а для CD103 – умеренная степень экспрессии в обеих возрастных группах. Характерный для ВКЛ активационный антиген CD25 был обнаружен в 98 % случаев у больных с типичной формой заболевания и отсутствовал только у одного больного,

причем более выраженная его экспрессия была характерна для молодых пациентов (80%), а слабая – для больных старшего возраста (45 %).

Антигены анти-ВКЛ и FMC7 экспрессировались при типичной форме ВКЛ в 93 % и 90 % случаев соответственно, причем для анти-ВКЛ была характерна сильная степень экспрессии, а для FMC7 – умеренная или слабая степень экспрессии в обеих возрастных группах.

Дифференциально-диагностические маркеры, нехарактерные для ВКЛ – CD23, CD10 и CD5 – в большинстве случаев типичной формы ВКЛ, как и следовало ожидать, отсутствовали, однако в небольшом проценте случаев была выявлялась слабая или умеренная экспрессия этих антигенов, что расценивалось как aberrantный иммунофенотип. Так, CD23 был выявлен у 5 (13 %) больных, чаще молодого возраста, слабая экспрессия CD10 – только у 2 (8 %) больных, а CD5 во всех исследованных случаях не экспрессировался.

При оценке уровня экспрессии антигенов-кластеров дифференцировки у больных с вариантной формой ВКЛ выявлено следующее распределение исследуемых маркеров (табл.18).

Таблица 18. Иммунофенотип лимфоцитов при вариантном ВКЛ.

CD	Число позитивных случаев (%)	Степень экспрессии (%)	Возраст	
			молодой	старший
CD19	27/27 (100 %)	сильная 60 %	73 %	47 %
			молодой	старший
		умеренная 34 %	27 %	40 %
		слабая 6 %	0 %	13 %
			молодой	старший
CD20	28/28 (100 %)	сильная 93 %	92 %	94 %
			молодой	старший
		умеренная 7 %	8 %	6 %
		слабая 0 %	0 %	0 %
			молодой	старший
CD22	28/28 (100 %)	сильная 65 %	67 %	63 %
			молодой	старший
			25 %	

		умеренная 28 %	старший 31 %
			молодой 8 %
		слабая 7 %	старший 6 %
k / λ	k – 10/28 (36 %)	умеренная 100 %	молодой 100 %
			старший 100 %
	λ – 17/28 (61 %)	умеренная 76 %	молодой 72 %
			старший 80 %
CD25	24/28 (86 %)	сильная 0 %	молодой 0 %
			старший 0 %
		умеренная 58 %	молодой 75 %
			старший 40 %
		слабая 32 %	молодой 25 %
		старший 40 %	
		отсутствует 10 %	молодой 0 %
			старший 20 %
CD11c	28/28 (100 %)	сильная 48 %	молодой 59 %
			старший 37 %
		умеренная 39 %	молодой 33 %
			старший 44 %
		слабая 13 %	молодой 8 %
			старший 19 %
CD103	15/15 (100 %)	сильная 7 %	молодой 0 %
			старший 14 %
		умеренная 86 %	молодой 100 %
			старший 72 %
		слабая 7 %	молодой 0 %
			старший 14 %
FMC7	16/17 (94 %)	умеренная 60 %	молодой 63 %
			старший 56 %
анти-ВКЛ	21/21 (100 %)	сильная 36 %	молодой 22 %
			старший 50 %
		умеренная 48 %	молодой 45 %
			старший 50 %
		слабая 16 %	молодой 33 %
			старший 0 %
HC2	12/12 (100 %)	сильная 0 %	молодой 0 %
			старший 0 %
		умеренная 50 %	молодой 67 %
			старший 33 %
		слабая 50 %	молодой 33 %
			старший 67 %
CD23	3/25 (12 %)	умеренная 30 %	молодой 70 %
		слабая 70 %	старший 30 %

CD10	5/18 (28 %)	умеренная 28 %	молодой 72 %
		слабая 72 %	старший 28 %
CD5	2/28 (7 %)	умеренная 50 %	молодой 0 %
		слабая 50 %	старший 100 %

Видно, что иммунофенотип вариантной формы ВКЛ в исследованной популяции больных в целом сходен с фенотипом типичной формы ВКЛ, с наличием некоторых различий. Также как при типичной форме ВКЛ, при вариантной форме экспрессия общих В-клеточных антигенов CD19, CD20 и CD22 была выявлена у всех больных, но, в отличие от типичной формы ВКЛ, CD19 чаще (в 60 % случаев) экспрессировался сильно и в основном в группе больных молодого возраста (72 %). Антигены CD20 и CD22, как и при типичной форме ВКЛ, экспрессировались сильно (93 % и 65 % соответственно), но различной степени экспрессии CD22 в разных возрастных группах, в отличие от типичной формы ВКЛ, при этом не было. Экспрессия легких цепей иммуноглобулина κ и λ , как и при типичной форме ВКЛ, в большинстве случаев была выражена умеренно в обеих возрастных группах, соотношение κ / λ также было сходным и составило 0,59.

Характерные для ВКЛ маркеры CD11c, CD103, HC2 в нашем исследовании были обнаружены при вариантной форме ВКЛ, также как при типичной форме, у всех больных, при этом для CD11c была характерна сильная степень экспрессии, а для CD103 и HC2 – умеренная, особенно у больных молодого возраста. Антиген CD25 не был экспрессирован только у 4 (14 %) больных с вариантной формой ВКЛ, относящихся к старшей возрастной группе, в то время как остальные 86 % случаев были CD25 позитивны, что ненамного ниже, чем при типичной форме ВКЛ ($p=0.05$). Следует, однако, отметить, что сильной экспрессии CD25 не было ни в одном случае вариантной формы ВКЛ, умеренная степень его экспрессии была характерна для молодых пациентов (75 %), а слабая – для больных старшего возраста (40 %).

Антигены анти-ВКЛ и FMC7 экспрессировались при вариантной форме ВКЛ в 100 % и 94 % случаев соответственно, для анти-ВКЛ была характерна

сильная степень экспрессии, а для FMC7 – умеренная или слабая в обеих возрастных группах, что в целом соответствует характеристикам типичной формы ВКЛ.

Дифференциально-диагностические маркеры, нехарактерные для ВКЛ – CD23, CD10 и CD5 – в большинстве случаев вариантной формы ВКЛ, как и при типичной форме, отсутствовали, однако aberrантный иммунофенотип со слабой или умеренной экспрессией этих антигенов изредка был выявлен. Так, слабая степень экспрессии CD23 была обнаружена у 3 (12 %) больных (из них 2 – молодого возраста), слабая экспрессия CD10 выявлена у 5 (28 %) больных, (из них 3 – молодого возраста). Антиген CD5 был выявлен только у 2 больных вариантной формой ВКЛ старшего возраста – с умеренной (1 больной) и слабой (1 больной) степенью экспрессии.

Наши данные по результатам определения иммунофенотипа вариантной формы ВКЛ неожиданно для нас отличались от литературных данных зарубежных авторов, которые указывают на типичное для вариантной формы ВКЛ отсутствие CD25 и HC2, а также частое по сравнению с типичной формой ВКЛ отсутствие CD11c и CD103 (табл.19).

Видно, что мы, в отличие от зарубежных авторов, не выявили значительного снижения числа позитивных случаев при определении основных характерных для ВКЛ маркеров CD11c, CD25, CD103 и HC2 ($p < 0.005$). В нашем исследовании все указанные маркеры, кроме CD25, были выявлены в 100 % случаев, с той или иной степенью экспрессии. Антиген CD25 отсутствовал только у 4 (14 %) и присутствовал у 24 (86 %) больных с вариантной формой ВКЛ. Тем не менее, сильной экспрессии CD25 не было ни в одном случае вариантной формы ВКЛ, умеренная степень его экспрессии была характерна для молодых пациентов, а слабая – для больных старшего возраста. Возможно, именно с разным возрастным составом отчасти связана разница в определении CD25 – в нашем случае средний возраст больных с вариантной формой ВКЛ гораздо ниже (и, соответственно, выше доля молодых больных). Кроме того, неясно, учитывалась ли зарубежными

авторами степень экспрессии, возможно, они исключали случаи со слабой степенью экспрессии CD25.

Таблица 19. Результаты иммунофенотипирования при вариантном ВКЛ.

Маркер	Данные литературы (E.Matutes, 2003г) число + случаев /число больных (%)	Собственные данные (2007г) число + случаев /число больных (%)
sIg - сильная экспрессия - умеренная экспрессия	46/48 -	2/28 (p<0.00001) 23/28
каппа	18/42 – 43 %	10/28 – 36 % (p=0.55)
лямбда	24/42 – 57 %	17/28 – 61 % (p=0.77)
CD22 - сильная экспрессия - умеренная экспрессия	37/39 – 95 % -	19/28 – 68 % 9/28 – 32 % (p<0.005)
FMC7	45/46 – 98 %	16/17 – 94 % (p=0.46)
CD11c	25/40 – 87 %	28/28 – 100 % (p<0.001)
CD25	3/46 – 6 %	24/28 – 86 % (p<0.0001)
CD103	18/30 – 60 %	15/15 – 100 % (p<0.005)
HC2	3/40 – 7 %	12/12 – 100 % (p<0.0001)
CD23	1/34 – 3 %	3/25 – 12 % (p=0.17)
CD10	6/39 – 15 %	5/18 – 28 % (p=0.27)
CD5	0/45 – 0 %	0/28 – 0 %

При анализе уровня экспрессии антигенов-кластеров дифференцировки у больных ВКЛ молодого возраста выявлено следующее распределение исследуемых маркеров (табл.20).

Таблица 20. Иммунофенотип лимфоцитов при ВКЛ молодого возраста.

Маркер	Число позитивных случаев (%)	Вариант ВКЛ и степень экспрессии
CD19	20/20 (100 %)	Вариантная форма - сильная экспрессия у 73 % Типичная форма – умеренная экспрессия у 75 %
CD20	22/23 (96 %)	Вариантная форма - сильная экспрессия у 92 % Типичная форма – сильная экспрессия у 80 %
CD22	22/22 (100 %)	Вариантная форма - сильная экспрессия у 67 %, умеренная у 25 % Типичная форма – сильная экспрессия у 40 %, умеренная у 60 %
k / λ	k – 8/20 (40 %)	Умеренная экспрессия у 100 % при типичной и вариантной формах
	λ – 12/20 (60 %)	Умеренная экспрессия у 75 % при типичной и вариантной формах
CD25	22/23 (96 %)	Умеренная экспрессия у 75 % при типичной и вариантной формах
CD11c	22/22 (100 %)	Сильная экспрессия у 60 % при типичной и вариантной формах Умеренная экспрессия у 30 % при типичной и вариантной формах
CD103	13/13 (100 %)	Умеренная экспрессия у 100 % при типичной и вариантной формах
FMC7	12/12 (100 %)	Сильная экспрессия у 57 % при вариантной и 67 % при типичной форме Умеренная экспрессия у 43 % при вариантной и 33 % при типичной форме
анти-ВКЛ	14/14 (100 %)	Вариантная форма - сильная экспрессия у 22 %, умеренная у 45% Типичная форма – сильная экспрессия у 80 %, умеренная у 20%

HC2	10/10 (100 %)	Вариантная форма - умеренная экспрессия у 67 % Типичная форма – слабая экспрессия у 50 %
CD23	5/19 (26 %)	Вариантная форма - слабая экспрессия у 67 % Типичная форма – умеренная экспрессия у 100 %
CD10	3/12 (25 %)	Только при вариантной форме, экспрессия слабая
CD5	0/20	Отсутствует

Видно, что у больных ВКЛ молодого возраста были представлены все маркеры, свойственные этому заболеванию. Различия иммунофенотипа в молодой и старшей возрастных группах состояли в степени экспрессии разных антигенов (от слабой до сильной) и частоте выявления aberrантного фенотипа (CD25⁻, CD23⁺, CD10⁺). При этом aberrантный фенотип с отсутствием экспрессии CD25 оказался редким у больных молодого возраста (выявлен только у одного больного).

Сравнение полученных нами данных по фенотипу разных форм ВКЛ приведены ниже (табл.21).

Таблица 21. Иммунофенотип лимфоцитов при разных формах ВКЛ.

Маркер	Весь ВКЛ	Типичная форма ВКЛ	Вариантная форма ВКЛ	ВКЛ молодого возраста
sIg	67/68	40/40	27/28	21/21
каппа	36 %	35 %	36 %	40 %
лямбда	63 %	65 %	61 %	60 %
k / λ	0,57	0,54	0,59	0,67
CD22	73/73–100 %	45/45 – 100 %	28/28 – 100 %	23/23 – 100 %
FMС7	35/38 – 92 %	19/21 – 90 %	16/17 – 94 %	11/12 – 92 %
CD11c	72/72–100 %	44/44 – 100 %	28/28 – 100 %	22/22 – 100 %
CD25	66/71 – 93 %	42/43 – 98 %	24/28 – 86 %	22/23 – 96 %
CD103	38/38–100 %	23/23 – 100 %	15/15 – 100 %	13/13 – 100 %
HC2	32/32–100 %	20/20 – 100 %	12/12 – 100 %	11/11 – 100 %
CD23	7/64 – 11 %	4/39 – 10 %	3/25 – 12 %	5/19 – 26 %
CD10	7/43 – 16 %	2/25 – 8 %	5/18 – 28 %	3/12 – 25 %
CD5	2/69 – 3 %	0/41 – 0 %	2/28 – 7 %	0/23 – 0 %

Таким образом, выявленные фенотипические различия характеризовались небольшим и статистически недостоверным снижением частоты экспрессии антигена CD25 ($p=0.054$) и увеличением частоты выявления aberrантного фенотипа CD10⁺ ($p=0.08$) при вариантной форме ВКЛ, а также статистически достоверным учащением случаев aberrантного фенотипа CD23⁺ ($p<0.01$) у пациентов молодого возраста. Более частое выявление CD10⁺ лимфоцитов у молодых больных ВКЛ было статистически недостоверно ($p=0.15$).

Аберрантный иммунофенотип был выявлен у 19 (25 %) из 75 больных ВКЛ (табл. 22).

Таблица 22. Аберрантный иммунофенотип при разных формах ВКЛ.

Маркер	Весь ВКЛ	молодой возр.	Типичный ВКЛ	Вариантный ВКЛ
		старший возр.		
CD25(-)	5/72 (7 %)	1/23 (4 %)	1/43 (2 %)	4/29 (14 %)
		4/49 (8 %)		
CD10(+)	7/43 (16 %)	3/12 (25 %)	2/25 (8 %)	5/18 (28 %)
		4/31 (13 %)		
CD5(+)	2/69 (7 %)	0	0	2/28 (7 %)
		2/47 (4 %)		
CD23(+)	7/64 (11 %)	5/19 (26 %)	4/39 (10 %)	3/25 (12 %)
		2/45 (4 %)		

Из таблицы видно, что аномальное отсутствие экспрессии CD25 выявляли чаще при вариантной форме ВКЛ у больных старшей возрастной группы ($p=0.06$), аномальное присутствие экспрессии CD23 ($p<0.01$) и CD10 ($p=0.33$) – чаще в молодом возрасте, при этом CD10 в 3,5 раза чаще был выявлен при вариантной форме ВКЛ ($p=0.08$), в отличие от CD23, одинаково часто встречавшимся при типичной и вариантной формах заболевания ($p=0.83$). Экспрессия нетипичного для ВКЛ антигена CD5 была редкой и выявлена только у больных типичной формой ВКЛ старшего возраста.

4.2. Сравнение эффективности терапии отдельных форм волосатоклеточного лейкоза

Большинству больных в нашем исследовании тот или иной вид лечения назначался сразу после установления диагноза в связи с симптомной цитопенией, спленомегалией или инфекционными осложнениями. У 14 пациентов (13 мужчин и 1 женщина, 12 с типичной и 2 с вариантной формой ВКЛ) до начала терапии проводилось наблюдение от 1 года до 6 лет (в

среднем 3 года), с последующим назначением лечения в связи с прогрессией заболевания. Только один пациент 50 лет наблюдается в настоящее время без лечения в течение 3 лет с установленным диагнозом ВКЛ без признаков прогрессии. Следует отметить, что 19 (13 %) пациентов по месту жительства назначалась химиотерапия или стероиды, часть этих случаев была связана с ошибочным диагнозом миелодиспластического синдрома (при типичной форме ВКЛ) или лимфомы (чаще при вариантной форме ВКЛ). В большинстве случаев (14 больных) назначался преднизолон в виде монотерапии (10 больных) или в комбинации с цитостатиком (лейкеран, циклофосфан, гидреа, винкристин). Двум больным назначалась монотерапия циклофосфаном в суммарной дозе 6 гр. Трое больных получали полихимиотерапию – COP, CNOP, ProMACE/CytaBOM, непрограммную химиотерапию циклофосфаном, винкристином, адриабластином и метатрексатом. Только у одного больного 40 лет с типичной формой ВКЛ длительное (в течение года) применение терапии винкристином и преднизолоном было эффективным и привело к развитию длительной полной ремиссии продолжительностью 18 лет, после чего развился рецидив заболевания. У остальных 18 пациентов моно- и полихимиотерапия была неэффективна, так как не купировала спленомегалию, цитопению и лимфоцитоз, а в ряде случаев усугубляла цитопению и повышала риск развития инфекционных осложнений.

4.2.1. Сравнение эффективности различной терапии при выделенных формах волосатоклеточного лейкоза

Мы начали применять аналог пурина кладрибин с 1995г, таким образом, максимальный срок наблюдения за больными, получавшими химиотерапию кладрибином составляет в нашем исследовании 12 лет. Максимальная давность заболевания в нашем исследовании составила 30 лет (диапазон 1 – 30 лет, медиана 5,8 лет), во многих случаях в лечении применялась спленэктомия и терапия α -Иф. Поэтому, учитывая то, что почти у 20 % пациентов проводилась спленэктомия и более, чем у 90 % применялся α -Иф, нами проведен сравнительный анализ эффективности каждого из используемых

методов лечения ВКЛ при разных формах заболевания (типичной, вариантной, молодого возраста) для уточнения показаний и определения оптимальной последовательности лечебных мероприятий. Помимо изучения эффективности кладрибина, мы сравнили эффективность спленэктомии при типичной, вариантной формах ВКЛ и при ВКЛ молодого возраста, а также эффективность спленэктомии как первой линии терапии и при рецидиве заболевания. Кроме этого, мы сравнили эффективность применения α -Иф в указанных группах, так как наши результаты его применения при вариантной форме ВКЛ отличаются от приведенных в литературе, а данные по эффективности при ВКЛ молодого возраста в литературе отсутствуют.

Сравнение эффективности лечения у больных с типичной формой ВКЛ

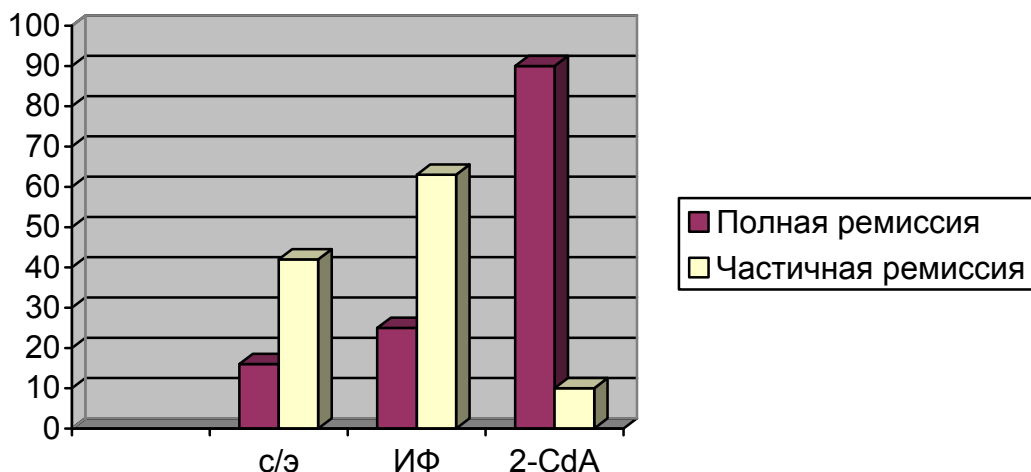
Стойкую ремиссию после спленэктомии мы отметили у 3 (16 %) пациентов из 19 больных с типичной формой ВКЛ, при этом в группе больных, где спленэктомию проводили при рецидиве и/или недостаточной эффективности терапии α -Иф, стойкой ремиссии достигнуто не было.

Применение α -Иф было эффективным и привело к развитию полной или частичной ремиссии у 98 (94 %) больных с типичной формой ВКЛ. При этом большинству из них требовалось проведение постоянной поддерживающей терапии для поддержания ремиссии, так как стойкой после отмены лечения ремиссия была только у 10 (10 %) больных, а сохраняется в настоящее время у 3 (3 %) больных. В связи с этим большинству больных в дальнейшем был проведен курс терапии кладрибином.

Применение кладрибина было эффективным у 87 (99 %) из 88 больных с типичной формой ВКЛ, с развитием стойкой многолетней ремиссии у 81 больного (92 %).

Сравнение частоты получения стойкого эффекта (т.е. полной или частичной ремиссии, не требующей проведения поддерживающей терапии) при использовании различных видов лечения у больных с типичной формой ВКЛ приведено ниже (диагр.10).

Диаграмма 10. Частота достижения полных и частичных ремиссий при типичном ВКЛ.



Однако следует указать, что так как не отмечено корреляции между полнотой ремиссии и ее длительностью, не всем больным в клинической ремиссии после применения кладрибина (впрочем, как и после спленэктомии и α -ИФ) проводилось исследование костного мозга, поэтому истинная частота полных ремиссий может оказаться ниже, что не влияет на суммарную частоту полных и частичных ремиссий. Тем не менее, учитывая это, мы сопоставили и частоту достижения стойкого (многолетнего) эффекта, вне зависимости от полноты ремиссии (табл.23).

Таблица 23. Эффективность лечения при типичном ВКЛ.

Вид лечения	Количество больных n	Стойкий эффект n (%)
Спленэктомия	19	3 (16 %)
α -Интерферон	105	10 (10 %)
Кладрибин	87	81 (92 %)

Сравнение эффективности разных видов лечения у больных с вариантной формой ВКЛ

Стойкую ремиссию после спленэктомии мы наблюдали у 3 (27 %) пациентов из 11 больных с вариантной формой ВКЛ, при этом в группе больных, где спленэктомия использовалась при рецидиве и/или недостаточной эффективности терапии α -Иф, стойкой ремиссии достигнуто не было.

Применение α -Иф было эффективным и привело к развитию полной или частичной ремиссии у 33 (85 %) больных с вариантной формой ВКЛ, но стойкой она была только у 2 (5 %) больных, поэтому большинству больных требовалось проведение постоянной поддерживающей терапии для поддержания ремиссии. Ремиссия после применения α -Иф сохраняется по настоящее время у 1 больной.

Применение кладрибина было эффективным у 31 (97 %) из 32 больных с вариантной формой ВКЛ, с развитием у 24 (89 %) больных полной ремиссии.

Сравнение частоты получения стойкого эффекта (т.е. полной или частичной ремиссии, не требующей проведения поддерживающей терапии) при использовании различных видов лечения у больных с вариантной формой ВКЛ приведено ниже (диагр.11 и табл. 24).

Диаграмма 11. Частота достижения полных и частичных ремиссий при вариантном ВКЛ.

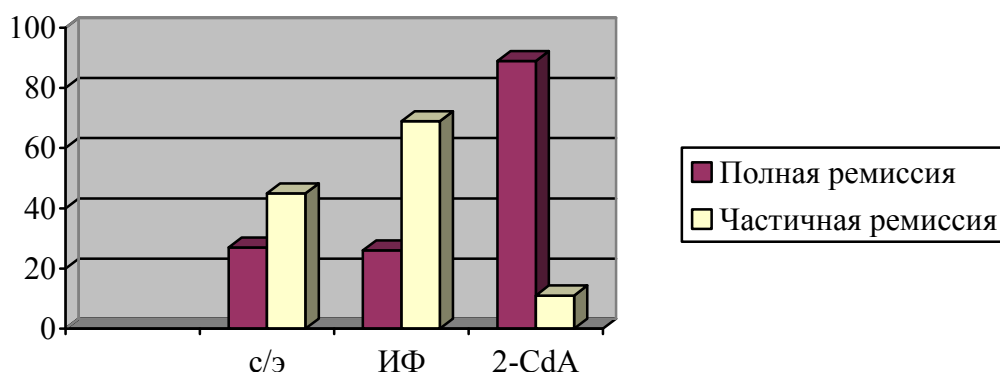


Таблица 24. Эффективность различных видов лечения при вариантном ВКЛ.

Вид лечения	Количество больных	Стойкий эффект
Спленэктомия	11	3 (27 %)
α -Интерферон	39	2 (5 %)
Кладрибин	32	31 (97 %)

При анализе эффективности лечения вариантной формы ВКЛ нами не выявлено существенных отличий результатов по сравнению с типичной формой заболевания, как это указывается в зарубежных источниках (табл.25). Так, по нашим данным, терапия α -Иф была эффективной у 92 %, а кладрибином – у 97 % больных с вариантной формой ВКЛ.

Таблица 25. Сравнение литературных и собственных данных по эффективности лечения при вариантной форме ВКЛ.

Вид лечения	Данные литературы (Е. Matutes, 2003г, 52 больных)			Собственные данные (2007г, 42 больных)			
	n	ЧР	б/эф	n	ПР	ЧР	б/эф
спленэктомия	19	13 (74 %)	4 (22 %)	11	3 (27 %)	6 (55 %)	2 (18 %)
α -интерферон	14	2 (14 %)	12 (86 %)	35	9 (26 %)	23 (66 %)	3 (8 %)
пентостатин	15	8 (54 %)	7 (46 %)	-	-	-	-
кладрибин	8	4 (50 %)	4 (50 %)	28	24 (86 %)	3 (11 %)	1 (3 %)
флударабин	3	1 (33 %)	2 (66 %)	-	-	-	-

Из таблицы видно, что в отличие от литературных данных самого представительного исследования по эффективности лечения вариантной формы ВКЛ, мы не обнаружили худших результатов при применении спленэктомии, α -Иф и кладрибина, поэтому у нас отсутствовала необходимость попыток применения других аналогов пуринов – пентостатина и флударабина. По всей видимости, отсутствие кардинальных отличий в результатах лечения вариантной и типичной форм ВКЛ в нашем исследовании

напрямую связано с отсутствием существенных различий фенотипа этих двух форм среди нашей популяции пациентов с ВКЛ.

Сравнение эффективности разных видов лечения у больных ВКЛ молодого возраста

Стойкую ремиссию после спленэктомии мы отметили у 3 (20 %) пациентов из 15 больных ВКЛ молодого возраста, при этом у больных, где спленэктомия использовалась при рецидиве и/или недостаточной эффективности терапии α -Иф, стойкой ремиссии достигнуто не было.

Применение α -Иф было эффективным и привело к развитию полной или частичной ремиссии у 28 (75 %) из 37 больных ВКЛ молодого возраста. При этом большинству из них требовалось проведение постоянной поддерживающей терапии для поддержания ремиссии, и тем не менее, у 9 из 17 больных (53 %), несмотря на продолжение приема α -Иф, в разные сроки развился рецидив заболевания с отсутствием или минимальным эффектом от продолжения терапии препаратами α -Иф в разных режимах и дозах. Максимальный срок «удержания ремиссии» даже при непрерывном применении α -Иф в группе больных ВКЛ молодого возраста составил 9 лет.

Применение кладрибина было эффективным у 35 (97 %) больных ВКЛ молодого возраста.

Сравнение частоты получения стойкого эффекта (т.е. полной или частичной ремиссии, длительно не требующей проведения поддерживающей терапии) при использовании различных видов лечения у больных ВКЛ молодого возраста приведено ниже (диагр.12 и табл.26).

Диаграмма 12. Эффективность лечения ВКЛ молодого возраста.

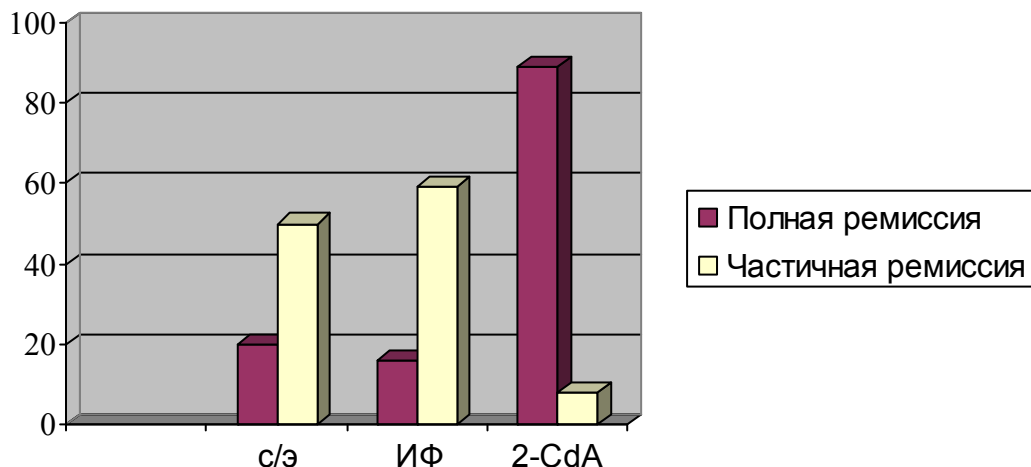
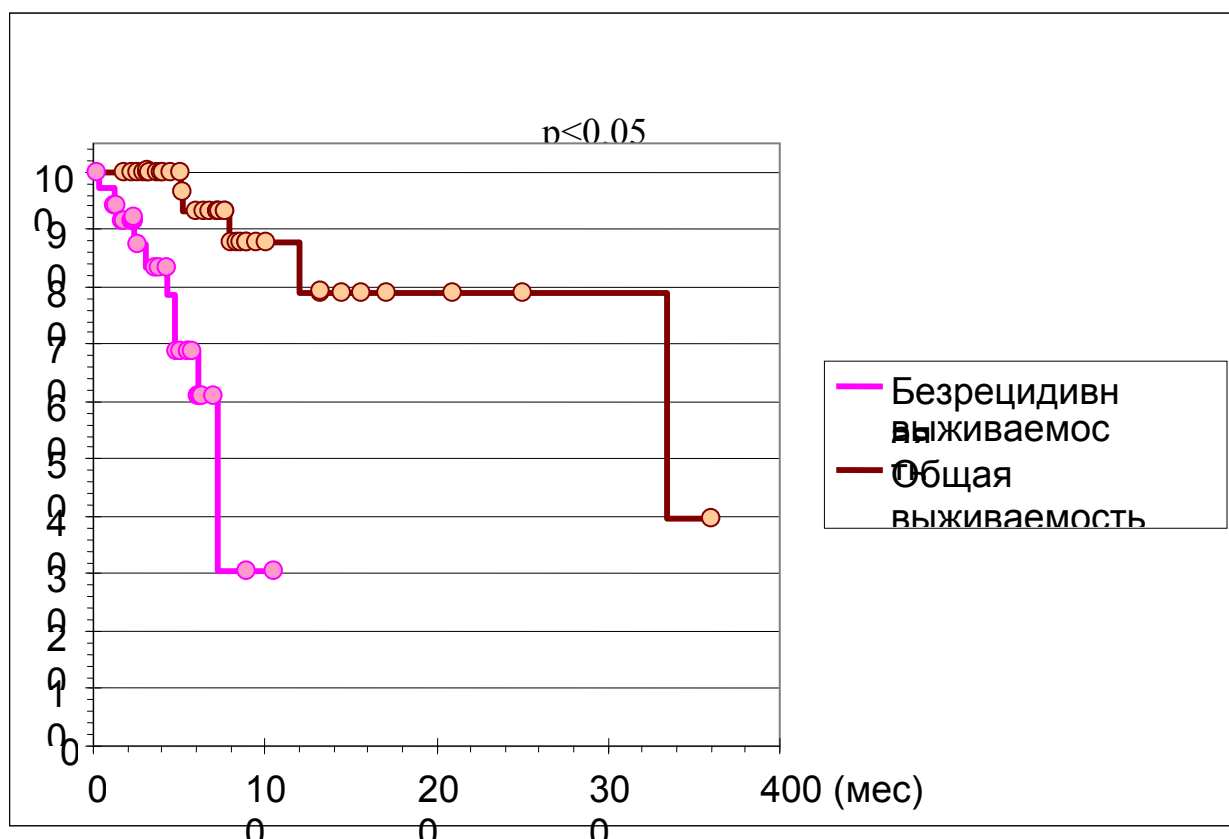


Таблица 26. Эффективность разных видов лечения ВКЛ молодого возраста.

Вид лечения	Количество больных	Стойкий эффект
Спленэктомия	15	3 (20 %)
α -Интерферон (длительно)	17	1 (6 %)
Кладрибин	36	32 (89 %)

Тем не менее, несмотря на высокую общую эффективность лечения кладрибином, именно в группе молодых больных в ряде случаев были достигнуты ремиссии длительностью только 1,3 – 2 года, расцененные нами как нестойкие, и общая частота рецидивов в этой группе больных оказалось выше, чем у больных старшего возраста (рис.8).

Рис 8. Общая и безрецидивная выживаемость больных ВКЛ
 молодого возраста после терапии кладрибином.



Подробнее эти случаи рассмотрены ниже в разделе «Рецидивы».

4.2.2. Эффективность и осложнения спленэктомии, терапии α -интерфероном, кладрибином

Сравнение эффективности спленэктомии при разных формах ВКЛ

При типичной форме ВКЛ спленэктомию применяли у 19 (16 %) больных, с достижением стойкой многолетней ремиссии, не требовавшей поддерживающей терапии у 3 больных (16 %), длительностью 16 лет, 24 года и +6 лет. У 8 больных в рецидиве или с развившейся резистентностью к α -Иф спленэктомия была неэффективна, или эффект был короткий.

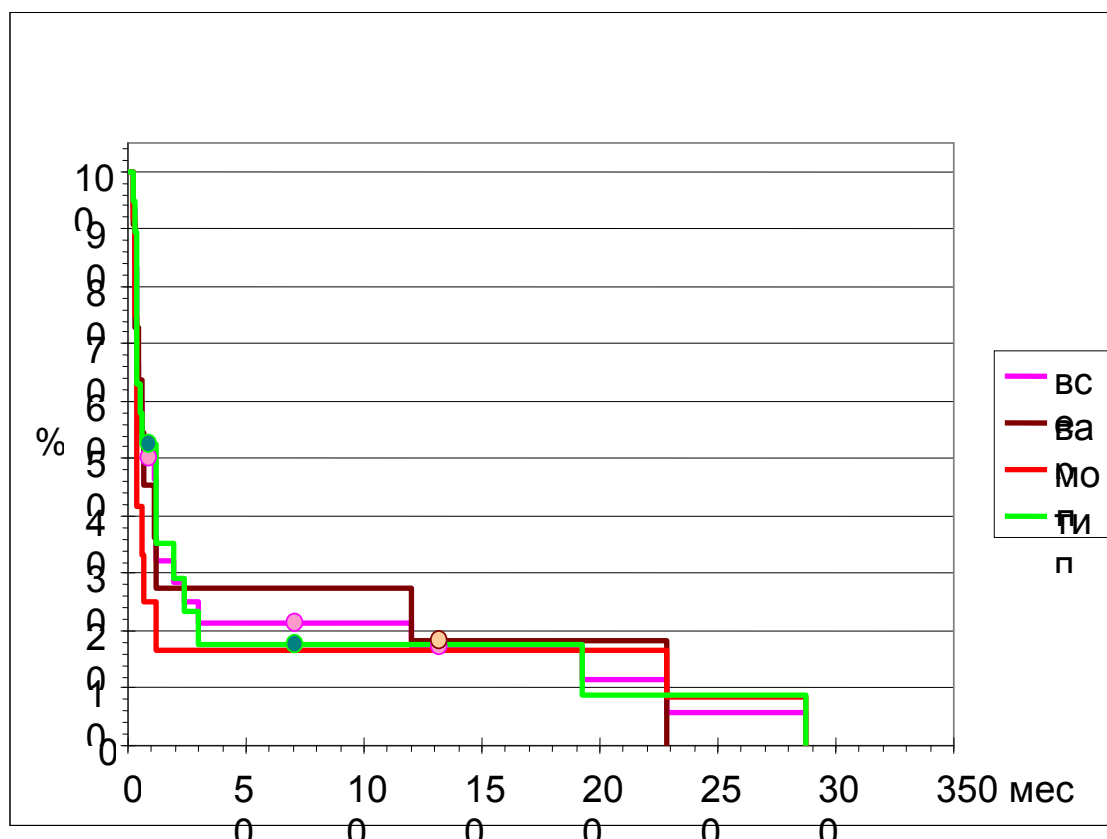
При вариантной форме ВКЛ спленэктомию применяли у 11 (28 %) больных, с достижением стойкой многолетней ремиссии, не требовавшей поддерживающей терапии у 3 больных (28 %), длительностью 10, 19 и + 11 лет. У 2 больных с неэффективностью или непереносимостью α -Иф спленэктомия была неэффективна, или эффект был короткий .

Из 30 пациентов, подвергнутых спленэктомии, 15 (50 %) больных были молодого возраста. Длительный стойкий эффект спленэктомии был достигнут у 3 (33 %) из 9 пациентов, оперированных вскоре после установления диагноза, но не был отмечен ни у одного из 6 пациентов, где спленэктомия осуществлялась как вторая линия терапии.

Таким образом, всего у 6 (20 %) из 30 больных после спленэктомии сохранялась многолетняя стойкая ремиссия, длительностью от 10 до 24 лет, (медиана 14 лет), из них 3 – с типичным ВКЛ (16 %) и 3 – с вариантным ВКЛ (28 %). Две ремиссии (у 1 больной с типичной формой ВКЛ и у 1 больной с вариантной формой ВКЛ) сохраняются в настоящее время (6+ и 11+ лет соответственно). Мы не отметили худшего результата спленэктомии в группе больных вариантной формой ВКЛ, как это указывается в данных E.Matutes [197,198].

Безрецидивная выживаемость после спленэктомии при разных формах ВКЛ приведена на рис.9.

Рис. 9. Безрецидивная выживаемость больных после спленэктомии при разных формах ВКЛ.



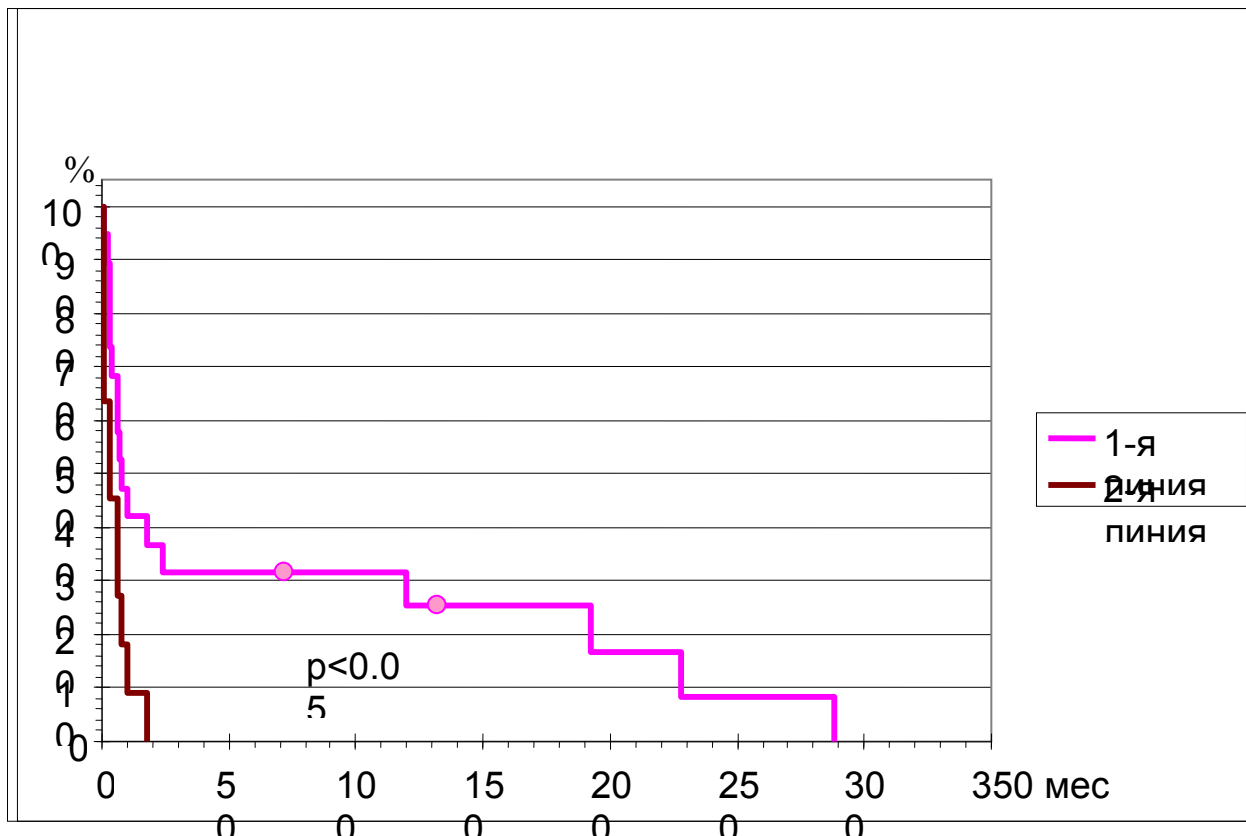
Из графиков видно, что эффект спленэктомии не зависел от формы ВКЛ и возраста дебюта заболевания.

В то же время, раздельно анализируя результаты спленэктомии, мы обнаружили связь эффективности операции со временем ее применения – как первой или как второй линии лечения (табл.27 и рис 10).

Таблица 27. Эффективность спленэктомии при ВКЛ в качестве I и II линии лечения.

Спленэктомия	Типичный ВКЛ	Вариантный ВКЛ	Молодой ВКЛ
I линия (n=20) стойкий эффект	11 3	9 3	9 3
II линия (n=10) стойкий эффект	8 -	2 -	6 -

Рис. 10. Безрецидивная выживаемость больных после спленэктомии (1 и 2 линия лечения).



Таким образом, 6 (30 %) из 20 пациентов, у которых спленэктомия применялась в качестве первой линии лечения, достигли стойких многолетних

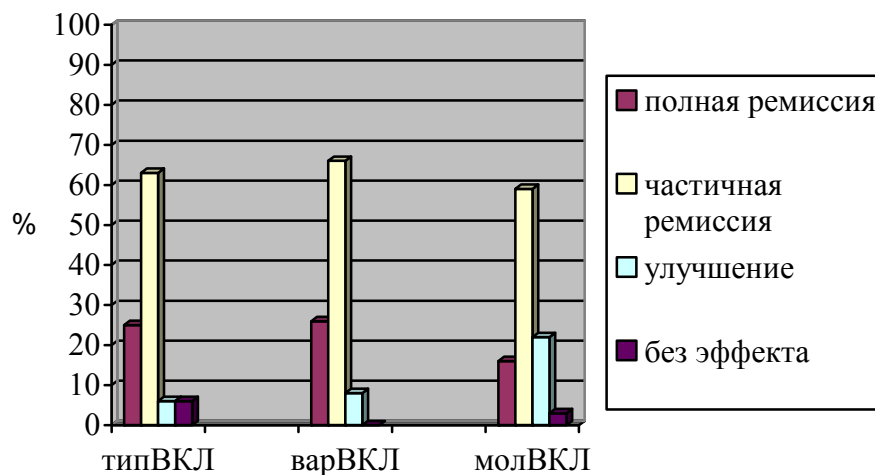
ремиссий, в то время как ни у одного из 10 пациентов, где спленэктомия применялась в при неэффективности предшествующей терапии (как вторая линия лечения) стойких ремиссий не было получено ($p < 0.05$).

24 (80 %) из 30 больных после спленэктомии в связи с отсутствием стойкой ремиссии мы проводили дальнейшее лечение, в последующем к ним добавилось еще 3 больных с рецидивом после длительной ремиссии, обусловленной спленэктомией, таким образом всего 27 больных (90 %) получали терапию после спленэктомии: 4 больным проводилась терапия только препаратами α -интерферона, 23 больным после спленэктомии кроме лечения препаратом α -интерферона проводился 1 курс терапии 2-CdA с достижением полной или стойкой частичной ремиссии у 22 больных. Неэффективным курс 2-CdA был только у 1го больного с прогрессией заболевания и трансформацией в лимфосаркому.

Сравнение результатов применения α -интерферона при разных формах ВКЛ

Мы применяли α -ИФ у 148 пациентов ВКЛ (109 с типичной и 39 с вариантной формой заболевания), 40 пациентов из них были молодого возраста. При сравнении эффективности применения α -ИФ мы не обнаружили отличий в частоте достигаемых полных (ПР) и частичных (ЧР) ремиссий при типичной и вариантной формах ВКЛ – 25 % и 26 % ПР; 63 % и 66 % ЧР соответственно. В то же время, у больных ВКЛ молодого возраста частота достижения полных ремиссий была ниже (19 %) и у этих больных результатом применения α -ИФ чаще было только улучшение гематологических показателей, не достигающее критериев ремиссии (16 %) – $p < 0.05$ (диагр.13).

Диаграмма 13. Результаты применения α -ИФ в зависимости от формы ВКЛ и возраста.

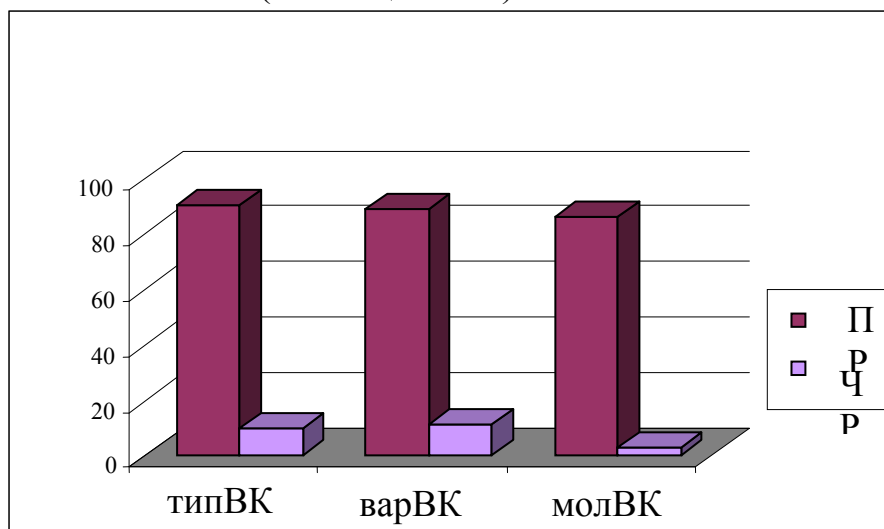


Видно, что эффективность терапии α -ИФ не отличалась существенно в разных группах больных, однако у больных молодого возраста мы выявили меньшую частоту достижения полных ремиссий, при большей частоте достижения лишь улучшения.

Сравнение результатов применения кладрибина при разных формах ВКЛ

Мы применяли кладрибин у 120 больных ВКЛ (88 с типичной и 32 с вариантной формой заболевания), из них 36 больных молодого возраста. При сравнении частоты достижения ПР и ЧР мы не выявили отличий в эффективности применения 1 курса кладрибина (диагр.14) при разных формах ВКЛ ($p > 0.20$).

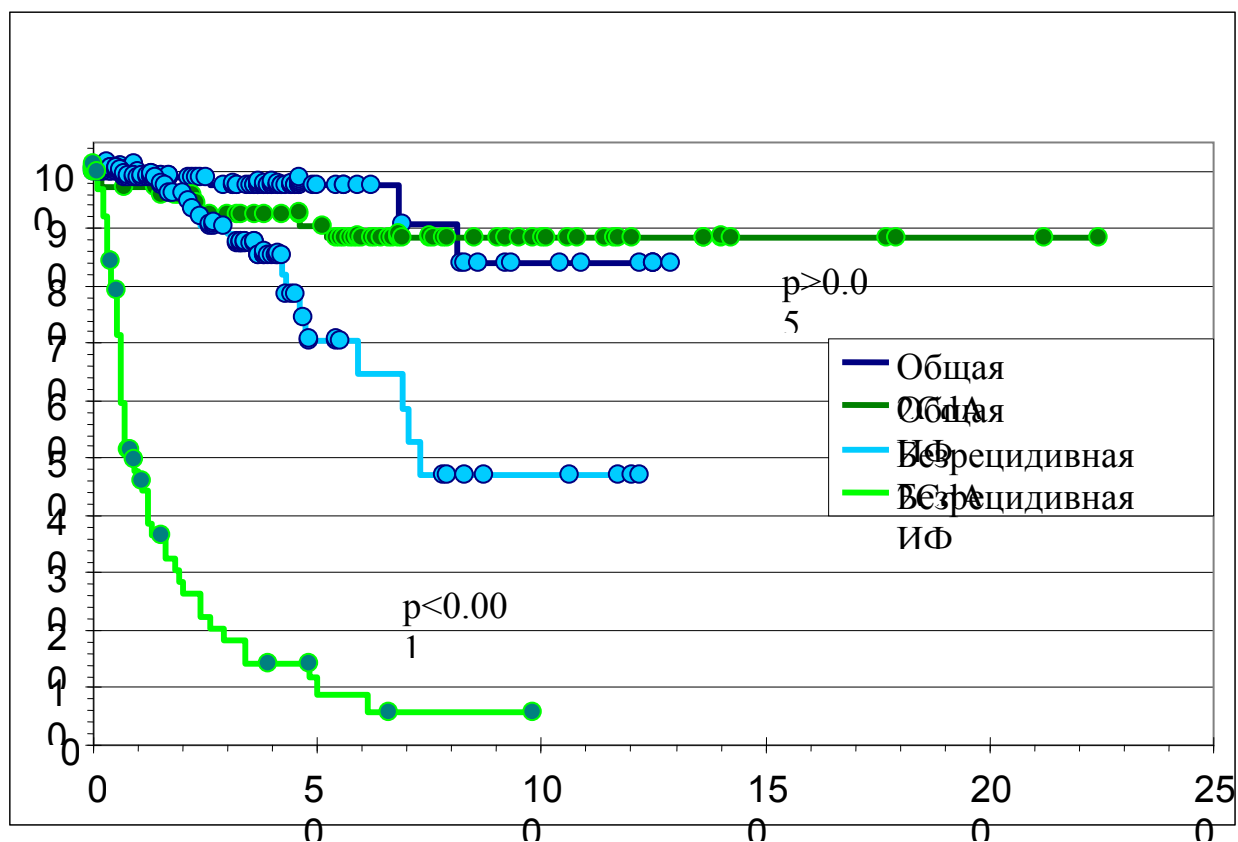
Диаграмма 14. Эффективность 2-СдА при разных формах ВКЛ (120 пациентов)



Тем не менее, у 11 (34 %) из 32 больных с ВКЛ молодого возраста, оставшихся под наблюдением, в дальнейшем был зафиксирован рецидив заболевания. Таким образом, несмотря на одинаковую непосредственную эффективность применения курса кладрибина при разных формах ВКЛ, частота развития рецидива после лечения кладрибином в молодом возрасте оказалась выше, чем в группе старшего возраста – 10 (12 %) из 84 пациентов. Подробнее эти данные приведены далее в разделе «Рецидивы».

При сравнении общей и безрецидивной выживаемости у всех больных с терапией α -ИФ и кладрибином мы отметили одинаковую общую выживаемость. Существенные отличия, как и ожидалось, мы выявили в частоте безрецидивной выживаемости, которая на фоне применения кладрибина была значительно выше (рис.11).

Рис. 11. Общая и безрецидивная выживаемость больных ВКЛ при терапии α -интерфероном и кладрибином.



Видно, что почти половина больных ВКЛ остается в 1й ремиссии после одного курса кладрибина через 10 лет после завершения лечения ($p < 0.001$).

Сравнение эффективности различных видов лечения при отдельных формах ВКЛ приведено ниже (табл.28).

Таблица 28. Эффективность разных видов лечения ВКЛ в зависимости от формы заболевания и возраста.

Вид лечения	Типичный ВКЛ стойк.эф / число больных (%)	Вариантный ВКЛ стойк.эф / число больных (%)	Молодой ВКЛ стойк.эф / число больных (%)
Спленэктомия	3/19 (16 %)	3/11 (27 %)	3/15 (20 %)
α -Интерферон (длительно)	10/105 (10 %)	2/39 (5 %)	1/17 (6 %)
Кладрибин	81/87 (92 %)	31/32 (97 %)	32/36 (89 %)

Из таблицы видно, что результаты всех методов лечения – спленэктомии ($p>0.40$), терапии α -ИФ ($p>0.39$) или кладрибином ($p>0.20$) достоверно не различаются в разных группах больных, и что наиболее эффективным видом лечения ВКЛ является терапия кладрибином, со сравнимой эффективностью при всех формах заболевания.

Осложнения различных видов лечения ВКЛ

Осложнения спленэктомии

Осложнения спленэктомии среди 30 больных, подвергнутых оперативному лечению, наблюдались нами редко, чаще характеризовались ранними послеоперационными осложнениями – образование гематомы в ложе селезенки у 3 больных (10 %), реактивный панкреатит у одного больного (3 %). У 5 (16 %) больных отмечались бронхолегочные осложнения воспалительно-инфекционного характера, связанные непосредственно не со спленэктомией, а с интубацией, постельным режимом, повышенной инфекциозностью больных с ВКЛ. Все осложнения не носили тяжелого характера, купировались назначением антибактериальной терапии. Послеоперационной летальности не отмечено.

Осложнения терапии α -интерфероном

Основным ожидаемым осложнением среди 147 больных, лечившихся α -ИФ, явился гриппоподобный синдром, отмеченный у 132 (90 %) больных, в том числе тяжелый, потребовавший отмены препарата, у 2 пациентов.

У 7 (5%) больных ВКЛ на фоне применения α -ИФ отмечено появление кожных высыпаний, чаще в виде эритематозной мелкой зудящей сыпи. Однако у одной больной отмечена более тяжелая кожная реакция - в виде узловатой эритемы, сочетавшийся с лихорадкой, протеинурией. У этой больной помимо отмены препаратов α -ИФ потребовалось дополнительное лечение – стероиды, плазмаферез.

У 9 (6 %) пациентов отмечался умеренный суставной синдром.

У 12 (8 %) пациентов отмечались мышечные боли, в том числе у одного больного – с развитием иммунокомплексного индуративного миозита, потребовавшего помимо отмены препарата терапии плазмаферезами.

У 5 (3 %) развивалось транзиторное повышение трансаминаз, в одном случае в 3 раза превысившее норму. Во всех случаях маркеры гепатитов В и С были отрицательны.

В целом, осложнения, потребовавшие отмены лечения α -ИФ, отмечены нами у 6 (4 %) из 147 больных, однако еще у 19 (13 %) пациентов осложнения (в основном слабость и мышечно-суставные боли) постоянно сопутствовали лечению или присоединялись со временем при длительном использовании препаратов α -ИФ.

Осложнения терапии кладрибином

В отличие от многих применяемых гематологами цитостатиков, кладрибин в используемых дозах 0,1мг/кг/сут в течение 7 дней или 0,14мг/кг/сут в течение 5 дней не имеет таких грозных побочных эффектов, как гепато-, нефро-, нейро-, кардиотоксичность. Субъективная его переносимость очень хорошая, так как он не обладает эметическим действием, а также не вызывает аллопецию. Единственным отмеченным в литературе и нами токсическим эффектом применяемого режима лечения является

миелотоксичность, проявляющаяся практически у всех больных глубоким и длительным агранулоцитозом.

4.3. Оптимальный протокол лечения ВКЛ

В процессе лечения пациентов с ВКЛ нами было отмечено, что в тех случаях, где применению кладрибина предшествовало применение α -ИФ, агранулоцитоз не развивался или был существенно короче. Так, при анализе осложнений химиотерапии кладрибином у наших первых 22 больных ВКЛ мы отметили, что агранулоцитоз развился у 100 % больных, получивших кладрибин сразу – в качестве первой линии терапии, или в качестве второй линии терапии там, где α -ИФ был малоэффективен. Причем мы заметили, что в случае даже короткого или малоэффективного предварительного использования α -ИФ продолжительность агранулоцитоза была ниже. Эти наблюдения подтвердились в дальнейшем на большем количестве пациентов (табл.29).

Таблица 29. Частота и длительность агранулоцитоза после курса химиотерапии кладрибином.

Группа больных	Количество больных n	Агранулоцитоз n (%)	Длительность агранулоцитоза дни (диапазон)
1. Без α -ИФ	4	4 (100 %)	30 дней (12-42)
2. Короткий курс α -ИФ	12	10 (83 %)	21 день (3-37)
3. α -ИФ без ремиссии	15	8 (53 %)	13 дней (3-18)
α -ИФ с эффектом	83	5 (6 %)	4 дня (3-6)

В связи с полученным опытом, во избежание длительного агранулоцитоза, мы перестали назначать кладрибин в качестве первой линии терапии, а обязательно применяли в качестве первого этапа лечения курс α -ИФ длительностью 3-4 мес. По нашим наблюдениям, такая последовательность терапии, видимо, постепенно уменьшает специфическую инфильтрацию костного мозга с параллельным приростом клеток нормального гемопоэза и позволяет в большинстве случаев избежать развития агранулоцитоза и риска тяжелых воспалительно-инфекционных осложнений у этих больных. По данным литературы, инфекционные осложнения после применения

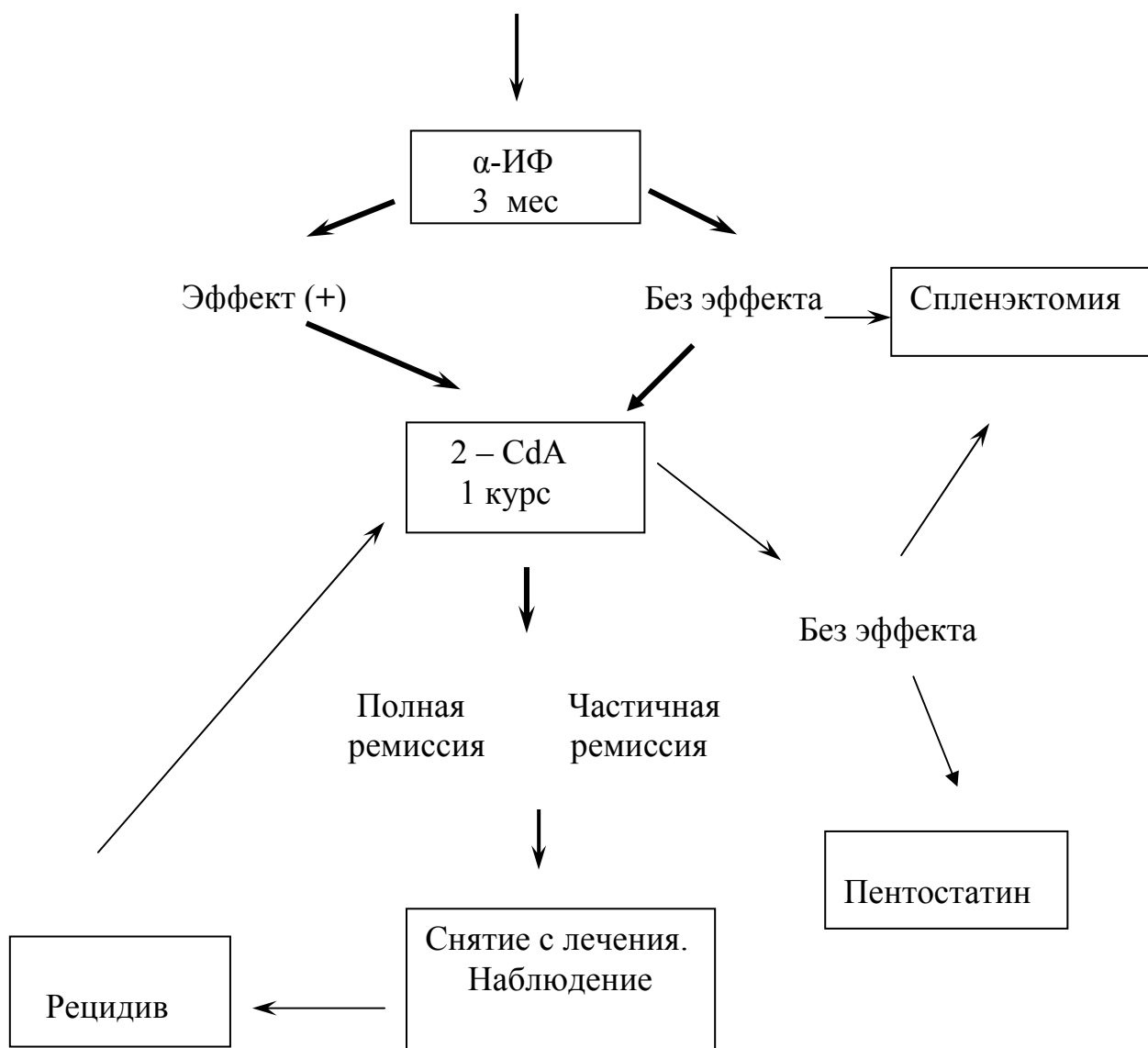
кладрибина составляют до 25 %, в том числе тяжелые, угрожающие жизни – 6 %, со смертностью от осложнений около 1,5 % [249]. Используя такой двухэтапный подход к лечению ВКЛ, мы наблюдали инфекционные осложнения только у 3 (2,5 %) больных, носившие нетяжелый характер и купированные стандартной антибактериальной терапией в короткие сроки. Летальность от осложнений химиотерапии отсутствовала, ростовые факторы не применялись. Таким эмпирическим образом мы отработали оптимальный, на наш взгляд, протокол лечения ВКЛ, который применяем у всех больных.

I этап:

α -ИФ 3 млн ед подкожно через день 3-4 мес.

II этап:

Кладрибин 0,1 мг/кг/сут 2-часовыми внутривенными инфузиями
7 последовательных дней.



4.4. Рецидивы: частота, результаты лечения, подходы к пролонгированию ремиссии

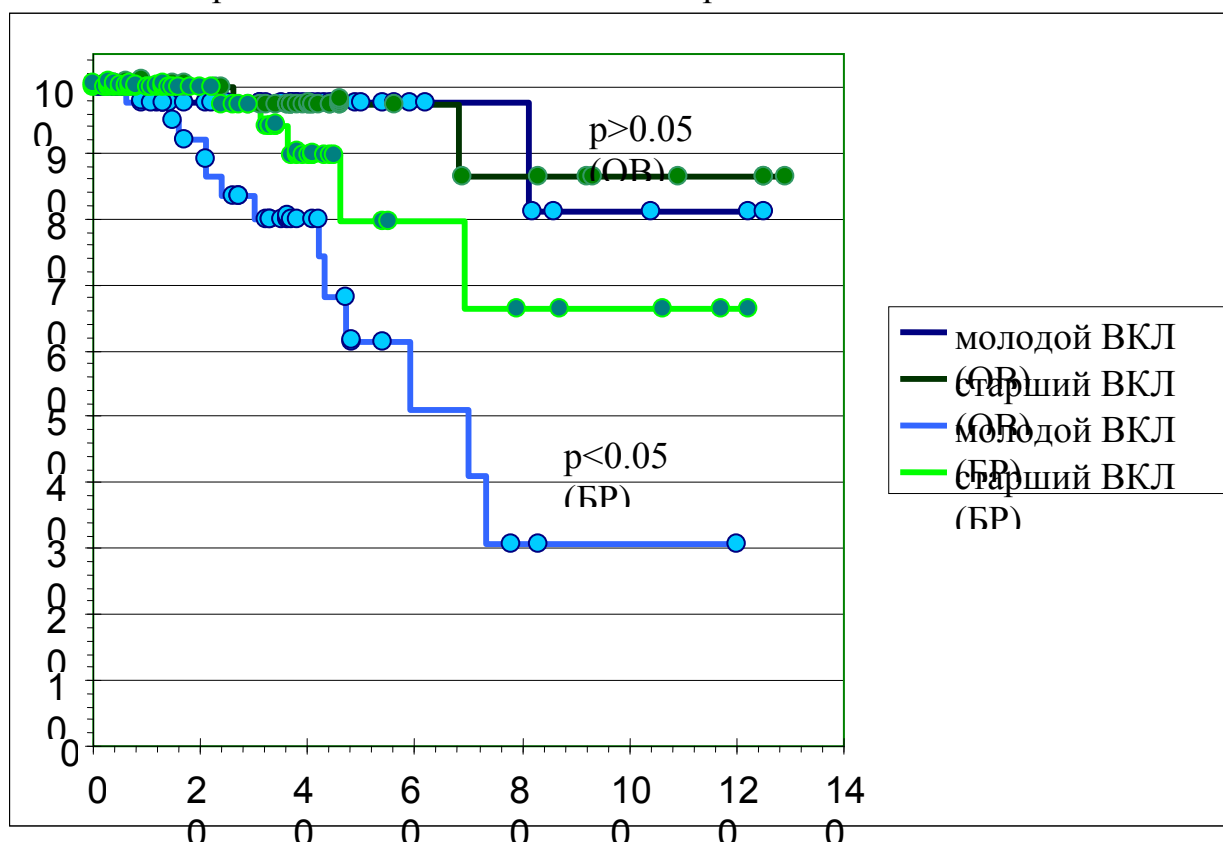
Как указано в главе 3, рецидивы ВКЛ возникли у 21 (18 %) из 120 больных ВКЛ, в сроки от 1,3 года до 6 лет (медиана 3,5 года). Это сопоставимо с данными литературы, где частота развития рецидива после курса кладрибина при ВКЛ указывается от 26 % с медианой наблюдения 4,8 лет до 39 % с медианой наблюдения 8,5 лет. В ряде исследований есть указания на большую частоту рецидивов у больных с выявляемой минимальной остаточной болезнью [79,123,272]. Однако большинство исследователей считает, что при использовании широкой панели антител или применении молекулярно-биологических методов исследования у всех пациентов в полной ремиссии можно обнаружить признаки остаточной специфической инфильтрации костного мозга, таким образом, ее выявление не коррелирует с частотой развития рецидива [167,274,294].

Среди наших больных с рецидивом ВКЛ 17 (81 %) из 21 пациента были с типичной и 4 (19 %) – с вариантной формой заболевания, таким образом, нами не отмечено более частого развития рецидива при вариантной форме ВКЛ. Так, рецидивы отмечены у 17 (20 %) из 88 больных с типичным ВКЛ и у 4 (13 %) из 32 больных с вариантным ВКЛ. Соотношение мужчин и женщин среди больных с рецидивом заболевания соответствовало таковому среди заболевших ВКЛ и составило 2:1. Также не отмечено связи рецидива с полнотой достигнутой ремиссии – у 16 (76 %) из 21 рецидивировавших больных исходно была достигнута полная ремиссия, и только у 5 (24 %) больных ремиссия была частичной.

В то же время, мы обратили внимание на взаимосвязь рецидивов и возраста возникновения заболевания: так, среди пациентов молодого возраста рецидивы случились у 11 (34 %) из 32 остающихся под наблюдением больных, в то время как в группе старшего возраста рецидив был зарегистрирован только у 10 (12 %) из 84 пациентов. Медиана возраста больных с рецидивом ВКЛ составила 40 лет, в отличие от больных без рецидива заболевания, медиана возраста которых равнялась 50 годам ($p < 0.005$). Половина больных с рецидивом

– 11 (52 %) из 21 больного были моложе 40 лет, а 6 из 8 больных с ранним (менее 2 лет ремиссии) рецидивом были моложе 45 лет (рис.12).

Рис. 12. Общая (ОВ) и безрецидивная (БР) выживаемость после терапии кладрибином в зависимости от возраста дебюта заболевания.



С чем связан повышенный риск развития рецидива в молодом возрасте, пока неясно. Во всяком случае, связи частоты рецидивов с особенностями фенотипа «волосатых клеток» у больных молодого возраста нами не отмечено. Так, хотя aberrantный фенотип с экспрессией CD10 или CD23 выявлялся в нашем исследовании чаще в молодом возрасте (в 25 % случаев), рецидивов у молодых больных с таким фенотипом не отмечено.

Таким образом, несмотря на высокую непосредственную эффективность терапии кладрибином у больных ВКЛ молодого возраста, такую же, как и в старшей возрастной группе, у молодых больных повышен риск рецидива заболевания. В связи с этим нам представляется целесообразным у больных молодого возраста после проведения курса химиотерапии кладрибином проводить поддерживающий (продолжающий ремиссию) курс терапии моноклональным антителом анти-CD20 или анти-CD22, эта работа нами только начата, результаты ее будут ясны в будущем.

Глава 5.

РЕДКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ВОЛОСАТОКЛЕТОЧНОГО ЛЕЙКОЗА

5.1. Сочетание ВКЛ с парапротеинемией

Иммунохимическое исследование сыворотки крови и суточной мочи с определением уровня белковых фракций в сыворотке, количества IgA, IgG, IgM, ЦИК, криоглобулинов, выявлением моноклональной секреции методом электрофореза и иммунофиксации мы проводили у 72 (45 %) из 160 больных ВКЛ, в том числе у 54 больных с типичной и у 18 больных с вариантной формами ВКЛ, при этом у 35 (49 %) больных показатели были в норме, в то время как у 37 (51 %) обнаруживались различные отклонения.

1. Результаты иммунохимического исследования у больных с типичной формой ВКЛ

Иммунохимическое исследование проводили у 54 (46 %) из 118 больных с типичной формой ВКЛ, при этом у 29 (54 %) из 54 больных обнаруживали различные отклонения (табл.30).

Таблица 30. Иммунохимические изменения при типичной форме ВКЛ.

Выявленные иммунохимические изменения	Число позитивных случаев*	Частота встречаемости у обследованных больных (n=54)
Всего:	29 больных	54 %
Повышение уровня ЦИК	7	13 %
Поликлональная гипо- или гипергаммаглобулинемия	19	35 %
Олигоклоны	4	7 %
Моноклональная секреция:		
- IgGk	1	2 %
- белок ВJ	3	4 %

* у некоторых больных наблюдалось сочетание нескольких изменений.

Таким образом, у половины обследованных больных с типичной формой ВКЛ мы выявляли отклонения в иммунохимическом анализе крови и

мочи, однако наибольший удельный вес этих отклонений пришелся на повышение количества циркулирующих иммунных комплексов и поликлональную гипо- или гипергаммаглобулинемию. Олигоклоны обнаруживали у 4 (7 %) больных, эти изменения сохранялись при наблюдении в динамике. Моноклональную секрецию иммуноглобулина в сыворотке крови мы выявили у одного больного, секрецию белка Бенс-Джонса у 3 (10 %) из 29 пациентов с отклонениями в иммунохимическом анализе.

2. Результаты иммунохимического исследования

У больных с вариантной формой ВКЛ

Иммунохимическое исследование проводили у 18 (43 %) из 42 больных с вариантной формой ВКЛ, и у 8 (44 %) из 18 больных обнаруживали различные отклонения (табл.31).

Таблица 31. Иммунохимические изменения при вариантной форме ВКЛ.

Выявленные иммунохимические изменения	Число позитивных случаев*	Частота встречаемости у обследованных больных (n=18)
Всего:	8 больных	44 %
Поликлональная гипергаммаглобулинемия	5	28 %
Криоглобулины	1	6 %
Моноклональная секреция:		
- IgG λ	2	11 %
- белок BJ	2	11 %

* у некоторых больных наблюдалось сочетание нескольких изменений.

Таким образом, у моноклональная секреция выявлена нами у 4 (22%) из 18 обследованных больных с вариантной формой ВКЛ – моноклональный IgG λ в сыворотке крови выявлен у 2 больных, секреция белка Бенс-Джонса (в одном случае – κ и в одном случае – λ) также у 2 больных. В одном случае секреции белка BJ (у больной вариантной формой, в возрасте 81 года), легкая цепь иммуноглобулина в сыворотке крови или моче не совпадала с легкой цепью клона «волосатых» лимфоцитов – субстрата заболевания.

3. Результаты иммунохимического исследования

у больных ВКЛ молодого возраста

Иммунохимическое исследование выполнили у 17 (41 %) из 41 молодых больных с ВКЛ, при этом у 8 пациентов была диагностирована типичная, а у 9 пациентов – вариантная форма заболевания. У 10 (59 %) больных (5 с типичной и 5 с вариантной формой ВКЛ) обнаруживались различные иммунохимические отклонения (табл.32).

Таблица 32. Иммунохимические изменения при ВКЛ в молодом возрасте.

ПОКАЗАТЕЛЬ	Число позитивных случаев*	Частота встречаемости у обследованных больных (n=17)
Всего:	10 больных	59 %
Повышение уровня ЦИК	3	18 %
Поликлональная гипо- или гипергаммаглобулинемия	7	41 %
Олигоклоны	2	12 %
Моноклональная секреция: - полного Ig - белок ВJλ	- 1	- 6 %

* у некоторых больных наблюдалось сочетание нескольких признаков.

Таким образом, чуть больше чем у половины (10 из 17) обследованных больных молодого возраста мы выявили отклонения в иммунохимическом анализе крови и мочи, однако наибольшее количество этих отклонений было связано с неспецифическими изменениями (повышение количества циркулирующих иммунных комплексов, поликлональная гипо- или гипергаммаглобулинемия). Моноклональной секреции полного иммуноглобулина в сыворотке крови не было выявлено ни у одного больного, а секреция белка Бенс-Джонса λ – у 1 больной из 10 пациентов с отклонениями в иммунохимическом анализе.

4. Сравнение результатов иммунохимического исследования при разных формах ВКЛ

При сравнении собственных данных по частоте выявления моноклональной секрети при разных формах ВКЛ мы обнаружили, что при вариантной форме моноклональная гаммапатия выявляется в 3,7 раз чаще, чем при типичной форме заболевания, в основном в старшей возрастной группе (см. табл.33). По литературным данным, количественные и качественные изменения содержания иммуноглобулинов, включая поликлональную и моноклональную гаммапатию, обнаруживают у 16-30 % пациентов с ВКЛ [54,125]. Показано, что иногда моноклональный иммуноглобулин продуцируют не опухолевые клетки [213]. Данных о частоте моноклональной секрети в зависимости от возраста и формы ВКЛ в доступной нам отечественной и зарубежной литературе не встречено.

Таблица 33. Частота выявления моноклональной гаммапатии при разных формах ВКЛ.

Моноклональная гаммапатия	Форма ВКЛ		
	типичная n=54	вариантная n=18	молодого возраста n=17
Секреция P ₁ g	1 (2 %)	2 (11 %)	0
Белок ВJ	3 (6 %)	2 (11 %)	1 (6 %)
Всего	4 (7 %)	4 (22 %)	1 (6 %)

Несмотря на то, что моноклональную секрецию в процентном отношении чаще обнаруживали при вариантной форме ВКЛ, статистически эти различия не были достоверны.

Вероятно, наличие моноклональной секрети не имеет сколько-нибудь существенного значения для прогноза заболевания. Так, при анализе течения заболевания, ответа на терапию и продолжительности ремиссии каких-либо

отличий у больных с моноклональной секрецией мы не выявили. Кроме того, большинство случаев моноклональной секреции приходилось на старшую возрастную группу, где и в норме отмечается увеличение случаев незначительной секреции парапротеина вне связи с конкретным заболеванием. Однако секреция белка VJ крайне редко является маркером неопухолевой секреции. То, что у 6 из 9 секретирующих пациентов выявлялся белок VJ, к тому же у 5 из них совпадающий с типом опухолевого клона, заставляет думать о связи секреции с основным заболеванием. Сохраняющаяся секреция белка VJ в полной клинико-гематологической ремиссии ВКЛ может, таким образом, являться проявлением минимальной остаточной болезни.

5.2. Сочетание ВКЛ с лимфаденопатией

ВКЛ с абдоминальной лимфаденопатией по литературным данным выявляют в 15-28 % случаев, и эту форму часто характеризуют как неблагоприятную по результату лечения[200-202]. Мы выявили лимфаденопатию у 25 (16 %) из 160 больных ВКЛ, с преобладанием у пациентов с вариантной формой болезни. Тем не менее, значительное увеличение лимфоузлов было крайне редким – в 1% случаев. Приводим наблюдение случая ВКЛ с выраженной лимфаденопатией у молодой больной.

У пациентки П.М.А., 29 лет, на ранних сроках второй беременности возникли слабость, головокружения, носовые кровотечения. В анализах крови отмечались анемия и тромбоцитопения, в связи с чем больная получала заместительную гемотрансфузионную терапию и препараты железа. Клинико-гематологического обследования не проводилось. На сроке беременности 35 недель в связи с глубокой панцитопенией (уровень гемоглобина 50г/л, тромбоцитов 40×10^9 /л, лейкоцитов $3,0 \times 10^9$ /л) больной выполнено кесарево сечение, ребенок здоров (вес 1,9кг, рост 43 см). С подозрением на острый лейкоз больная была переведена в нашу клинику в тяжелом состоянии, с панцитопенией и двухсторонней нижнедолевой пневмонией. При обследовании больной в нашем центре были выявлены абсолютный лимфоцитоз в крови и гигантская спленомегалия со значительной

абдоминальной лимфаденопатией. Лимфоциты в гемограмме составляли 90%, из них 25% характеризовались как крупные лимфоциты округлой формы с неровными контурами светло-серой цитоплазмы и слабо выраженными ворсинками, со стертой, неплотной структурой хроматина, отсутствием перинуклеарного просветления. Цитохимическое исследование на TRAP выявило 26% клеток с тартрат-устойчивой кислой фосфатазой в виде диффузно-гранулярного и гранулярного распределения. Иммунофенотипирование лимфоцитов костного мозга выявило λ -клон В-лимфоцитов с маркерами ВКЛ (CD 103⁺, CD11c⁺, CD25⁺). В миелограмме выявляли лимфоцитоз до 70 %, при этом до 40 % лимфоидных клеток составляли «ворсинчатые», со стертой структурой ядра и обрывчатым краем цитоплазмы. В трепанобиоптате основная масса миелокариоцитов была представлена «рыхло» расположенными лимфоидными клетками небольших размеров, с маркерами CD20⁺, CD45RA⁺, CD79a⁺, DВА44⁺, CD25⁺, CD68⁺, CD23⁻, CD5⁻. Увеличенная селезенка занимала всю брюшную полость – ее размеры по УЗИ превышали 30x12см, кроме этого визуализировались конгломераты внутрибрюшных и забрюшинных лимфоузлов, сливающиеся в массу общим размером до 12x7см.

После купирования антибактериальной терапией клиники пневмонии больной провели лечение α -интерфероном в стандартной дозе 3млн ед. ежедневно, а затем через день. Терапию осложняло развитие на фоне лейкопении инфекций – гнойного бурсита, абсцесса ягодицы, потребовавших кроме консервативного антибактериального лечения хирургического пособия. Через 2 мес терапии α -интерфероном была достигнута стабилизация состояния пациентки с улучшением показателей гемограммы (уровень гемоглобина 100г/л, тромбоцитов 90×10^9 /л, лейкоцитов $2,0 \times 10^9$ /л, лимфоциты 60 %), сокращением размеров селезенки до 20x9см и абдоминального конгломерата до отдельных лимфоузлов 4x2см. Терапию α -интерфероном проводили суммарно 6 мес, что привело к существенному улучшению – нормализация гемоглобина (120г/л), увеличение тромбоцитов (100×10^9 /л), однако сохранялись лейкопения $2,0 \times 10^9$ /л с лимфоцитозом 45% и

специфическая лимфоидная инфильтрация в костном мозге (в миелограмме лимфоциты 45%, из них 15% «ворсинчатые», в трепанобиоптате уменьшение лимфоидной инфильтрации). Сразу после завершения 6 мес лечения α -интерфероном больной был проведен один курс химиотерапии кладрибином в стандартной дозе 0,1мг/кг/сут в течение 7 дней, прошедший без агранулоцитоза и каких-либо осложнений. При контроле после курса химиотерапии в гемограмме уровень гемоглобина составил 130г/л, тромбоцитов – 190×10^9 /л, лейкоцитов – $8,0 \times 10^9$ /л, лимфоцитов – 28 %. При УЗИ брюшной полости выявлены нормальные размеры селезенки (11х6см), отсутствие лимфаденопатии. Мы наблюдаем больную без лечения в ремиссии заболевания в течение 2 лет, дети пациентки здоровы.

По данным литературы увеличение абдоминальных лимфоузлов значительно чаще встречается в рецидиве (56 %), чем в дебюте (17 %) ВКЛ, без связи с возрастом и полом пациентов, чаще при длительном сроке заболевания и значительной выраженности спленомегалии, при этом у пациентов лимфоаденопатией наблюдался меньший эффект терапии препаратами альфа-интерферона и аналогами пуринов [200-202]. Мы также чаще выявляли случаи лимфоаденопатии при выраженном увеличении селезенки, но не отметили связи с давностью заболевания и рецидивом. Среди наших пациентов статистически достоверно ($p < 0.001$) более частое выявление абдоминальной лимфоаденопатии отмечено у больных молодого возраста (32 %) и у больных с вариантной формой ВКЛ (31 %), при этом снижения эффекта терапии препаратами альфа-интерферона и кладрибином мы не выявили.

5.3. Сочетание ВКЛ с хроническим лимфолейкозом

Известно, что в процессе уточнения клинических и иммунофенотипических характеристик ВКЛ обособился как отдельная нозология из хронического лимфолейкоза (ХЛЛ). Хорошо изученый и гораздо чаще встречающийся в практике гематолога, ХЛЛ (также как ВКЛ) относится к группе В-клеточных хронических лимфопролиферативных заболеваний.

Клиническая картина и четко очерченные иммунофенотипические маркеры позволяют отличить эти заболевания. Сочетание ХЛЛ и ВКЛ встречается крайне редко, в литературе нам встретилось описание случаев трансформации ХЛЛ в ВКЛ и сочетания ХЛЛ и ВКЛ [76,98,264]. В числе наших больных с ВКЛ мы наблюдали один случай сочетания этих заболеваний.

У 65-летнего больного Т.В.Б., в течение 4 лет отмечено медленно нарастающее бессимптомное увеличение селезенки от 13х6см до 17х9см без лимфаденопатии и изменений гемограммы. Через 4 года на фоне умеренной спленомегалии выявлены небольшие тромбоцитопения - $120 \times 10^9/\text{л}$ и лейкоцитоз - $11 \times 10^9/\text{л}$ с лимфоцитозом 57 %. Миелограмма характеризовалась клеточным костным мозгом с достаточным количеством мегакариоцитов, незначительным лимфоцитозом до 23 %. Гистологическое исследование трепанобиоптата выявило существенное преобладание деятельного костного мозга над жировым. Среди плотно лежащих миелокариоцитов в небольшом количестве были рассеяны лимфоциты, на этом фоне имелись множественные узловатые разрастания мелких лимфоидных клеток.

Имунофенотипирование методом проточной цитофлуориметрии с использованием стандартной панели в лимфоцитарном полигоне (60 % от общего числа клеток) выявило соотношение Т- и В-клеток равное 1:1. В-лимфоциты имели фенотип, характерный для ХЛЛ с низким уровнем активации: $CD19^+$, $CD20^+$, $CD22^+$, $CD23^+$, $CD5^+$, $CD79a^+$, $FMC7^-$, $CD10^-$, $CD38^-$. Легкие цепи иммуноглобулинов каппа и лямбда на поверхности и в цитоплазме В-клеток не экспрессировались.

При цитогенетическом исследовании лимфоцитов крови с использованием многоцветного зонда на aberrации, наиболее характерные для ХЛЛ, хромосомных перестроек выявлено не было. При иммунохимическом исследовании концентрация нормальных иммуноглобулинов оставалась в пределах нормы, моноклональной секреции выявлено не было.

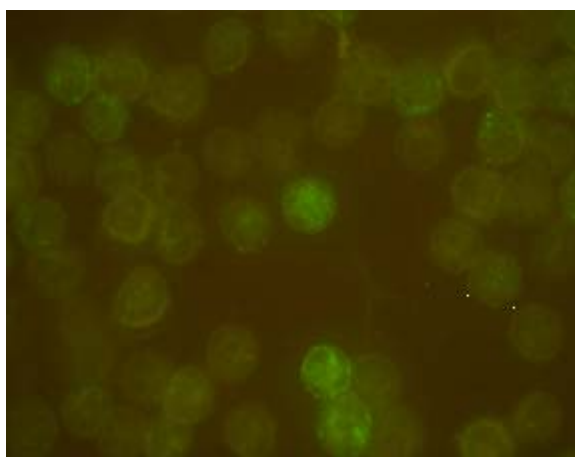
У пациента был диагностирован ХЛЛ, но, учитывая удовлетворительные показатели крови, умеренную спленомегалию, отсутствие лимфаденопатии, специфического лечения не проводили.

При контрольном обследовании спустя 8 мес размеры селезенки составляли 18x8см, тромбоциты снизились до $90 \times 10^9/\text{л}$, содержание гемоглобина и лейкоцитов оставалось прежним – 140г/л и $11,6 \times 10^9/\text{л}$ соответственно, но среди лимфоцитов (58 %) около 12 % были представлены более крупными клетками с обрывчатым краем цитоплазмы и рыхлым хроматином ядра. При исследовании в 62 % лимфоцитов выявили тартрат-устойчивую кислую фосфатазу в виде диффузно-гранулярного и гранулярного распределения, что характерно для ВКЛ.

Для уточнения иммунофенотипа лимфоцитов крови был проведен повторный иммунофенотипический анализ 2 способами – методом непрямой иммунофлюорисценции с фазово-контрастной микроскопией и повторный методом проточной цитофлюориметрии.

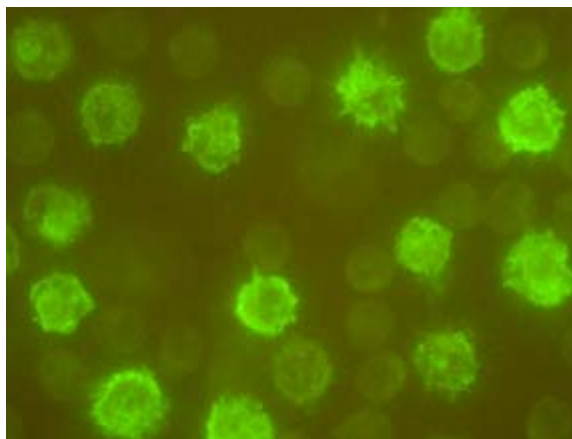
Иммунофенотипирование методом непрямой иммунофлюорисценции с фазово-контрастной микроскопией выявило, что 36 % лимфоидных клеток составляли мелкие лимфоидные клетки с фенотипом В-ХЛЛ: $\text{CD}19^{\pm}$, $\text{CD}20^{-}$, $\text{CD}22^{-}$, $\text{CD}23^{\pm}$, $\text{CD}5^{\pm}$, $\text{CD}43^{\pm}$, $\text{CD}10^{-}$ со слабой экспрессией мембранных иммуноглобулинов (Ig) $\mu\lambda$, т.е. клональных по λ -цепи Ig (рис. 13).

Рис. 13. Клон лимфоцитов ХЛЛ, экспрессия CD19.



Однако одновременно с этим около 25 % клеток были с характерной «ворсинчатой» морфологией и фенотипом «волосатых клеток»: $\text{CD}19^{++}$, $\text{CD}20^{++}$, $\text{CD}22^{++}$, $\text{CD}103^{+}$, анти-ВКЛ $^{++}$, $\text{CD}85^{+}$, $\text{FMC}7^{+}$, $\text{CD}11c^{++}$, $\text{CD}25^{\pm}$, также клональных по λ -цепи Ig (тяжелая цепь μ отсутствовала) – рис.14.

Рис. 14. Клон «волосатых лимфоцитов», экспрессия CD25.



Еще 36 % лимфоидных клеток были представлены Т-клетками с нормальным соотношением хелперов и супрессоров. Таким образом, В-клетки были представлены λ -клоном и четко различались по уровню дифференцировки: в популяции клеток с фенотипом ХЛЛ уровень созревания В-клеток соответствовал иммунологически незрелым В-лимфоцитам, тогда как популяция клеток ВКЛ характеризовались как иммунологически зрелые поздние ($CD19^{++}$, $CD20^{++}$, $CD22^{++}$, sIg^{+}), активированные ($CD11c^{++}$, $CD25^{++}$) В-лимфоциты.

При повторном исследовании методом проточной флюориметрии также было обнаружено две популяции клеток – с фенотипом ХЛЛ с низким уровнем активации ($CD19^{+}$, $CD20^{+}$, $CD22^{+}$, $CD5^{+}$, $CD25^{-}$, $CD38^{-}$) без экспрессии легких цепей иммуноглобулинов, и с фенотипом ВКЛ ($CD19^{+}$, $CD20^{++}$, $CD22^{++}$, $CD5^{-}$, $CD103^{+}$, $CD11c^{+}$, $CD25^{+}$, $CD38^{+}$) с высоким уровнем экспрессии λ -цепи иммуноглобулинов. При повторном анализе данных первичной флюориметрии оказалось, что, хотя в лимфоцитарном полигоне все В-клетки имели фенотип, характерный для ХЛЛ, в моноцитарном полигоне присутствовали В-лимфоциты, часть которых экспрессировала $CD20/CD22$ на высоком уровне, были активированы ($CD38^{+}$), клональны (λ -цепь) и не экспрессировали $CD79a$.

При исследовании костного мозга в этот период лимфоциты в миелограмме составили 27 %, часть из них (10-12 %) имели омоложенную структуру ядра и обрывчатую цитоплазму. В трепанобиоптате отмечалось неравномерное распределение миелокариоцитов, умеренное сужение

эритропоэза и тромбоцитопоэза, резкое сужение гранулоцитопоэза. Было обнаружено несколько небольших узловатых разрастаний плотно лежащих мелких лимфоидных клеток. Между элементами миелопоэза были рассеяны лимфоидные клетки средних размеров с ядрами неправильной формы и довольно широкой бесцветной цитоплазмой, во многих полях зрения они составили большинство визуализируемых клеток. При иммуногистохимическом исследовании лимфоидные клетки были CD20⁺, CD45RA⁺, CD79a⁺, небольшая часть клеток, формирующих узловатые скопления, были CD5⁺, CD23⁺, DBA44⁻. Лимфоидные клетки с диффузно-интерстициальным характером роста были CD5⁻, CD23⁻, DBA44⁺, CD68⁺. Кроме В-клеток выявляли немногочисленные CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки. Повторное цитогенетическое исследование лимфоцитов крови и костного мозга хромосомных перестроек не выявило.

Таким образом, у больного было выявлено сочетание двух лимфопролиферативных заболеваний – ХЛЛ и ВКЛ. Минимальные клинические проявления ХЛЛ у больного не требовали лечения, в то время как симптомы ВКЛ – прогрессирующая спленомегалия, тромбоцитопения, нарастание инфильтрации в костном мозге, заставили начать терапию α -интерфероном в дозе 3 млн. ед. через день. Лечение α -интерфероном переносилось удовлетворительно, продолжалось 4 мес и привело к сокращению размеров селезенки с 19х8см до 16х6см, снижению уровня лейкоцитов с 12×10^9 /л до $6,8 \times 10^9$ /л и лимфоцитоза с 60 % до 40 %. На этом этапе лечение α -интерфероном было прекращено и проведен один курс химиотерапии кладрибином в дозе 0,1мг/кг/сут двухчасовыми в/в инфузиями в течение 7 последовательных дней. Осложнений терапии не отмечено, после завершения лечения гемограмма нормализовалась – гемоглобин 158г/л, тромбоциты 165×10^9 /л, лейкоциты $6,6 \times 10^9$ /л, лимфоциты 35 %, размеры селезенки составили 14х5см. Для оценки полноты ремиссии спустя 6 мес после завершения лечения было проведено контрольное обследование с исследованием костного мозга и иммунофенотипированием лимфоцитов крови. В миелограмме выявлен клеточный костный мозг с нормальным соотношением всех ростков кроветворения, без лимфоцитоза (лимфоциты составили 14 %). В

трепанобиоптате на фоне гипопластичного костного мозга отмечены единичные лф и мелкие их группы. При иммунофенотипировании лимфоцитов крови после лечения выявлено два клона лимфоцитов, при этом размер клона с маркерами ХЛЛ (CD5/19/23/43) был примерно прежним и составил 38 %, а клон ВКЛ (CD19/103/11с/25) значительно сократился и составил < 1 % клеток. Это подтверждает данные литературы [98,264], указывающие на то, что лечение ВКЛ у больных с сочетанием ХЛЛ и ВКЛ не приводит к уменьшению популяции лимфоцитов с маркерами ХЛЛ, и только применение трансплантации аутологичных стволовых клеток в одном из описаний привело к исчезновению обеих популяций лимфоидных клеток.

Возможно, детальное изучение подобных редких случаев сочетания двух хронических лейкозов – ХЛЛ и ВКЛ - позволит уточнить механизм их возникновения и уровень поломки лимфоидной клетки, приводящий к развитию заболевания. Для того чтобы выявить подобные случаи, необходимо обращать внимание на морфологию лимфоцитов при постановке диагноза ХЛЛ и, при наличии «подозрительных» клеток, использовать более широкую панель антител при установлении фенотипа. Поскольку срок наблюдения за больными с подобным сочетанием двух лейкозов (ХЛЛ и ВКЛ) еще недостаточно продолжительный, остается неясным как влияет такое сочетание на течение и прогноз этих заболеваний.

5.4. Сочетание ВКЛ с Т-клональностью

ВКЛ является В-клеточным лимфопролиферативным заболеванием, однако нарушения могут быть выявлены и среди Т-лимфоцитов. К тому же известно, что лечение аналогами пуринов вызывает длительное и глубокое снижение уровня Т-лимфоцитов, а именно CD4⁺ Т-хелперов. Кроме этого описаны отдельные случаи Т-клеточного варианта ВКЛ с носительством вируса HTLV-II и случаи типичного по клинике и морфологии лимфоцитов Т-клеточного ВКЛ с реаранжировкой генов Т-клеточного рецептора [164,168]. Выявляют также случаи сосуществования Т-клеточных клонов при В-клеточном ВКЛ, но природа этого явления неясна, возможно, появление Т-

клеточных клонов является иммунной реакцией на возникновение В-клеточной опухоли [63,163]. Тем не менее, такие случаи являются единичными, и мы приводим собственное наблюдение случая Т-клеточной клональности у больного в ремиссии ВКЛ.

У больного В.Д.Д., 54 лет, в декабре 1997г был установлен диагноз ВКЛ на основании панцитопении с лимфоцитозом (гемоглобин 79г/л, тромбоциты 25×10^9 /л, лейкоциты $1,2 \times 10^9$ /л, лимфоциты 80 %) и умеренной спленомегалии (13x5см) без лимфаденопатии. Клиническая картина складывалась из признаков астении и повышенной инфекциозности пациента. Диагноз ВКЛ был подтвержден «ворсинчатой» морфологией части лимфоцитов в крови (5%) и костном мозге (16 % «ВК» из 65 % лимфоцитов), типичной лимфоидной инфильтрацией в трепанобиоптате с повышенной клеточностью, где основная масса миелокариоцитов была представлена диффузно расположенными лимфоидными клетками небольших размеров с ядрами неправильной формы и широким ободком бесцветной цитоплазмы на фоне очагов фиброза и резко сниженного количества элементов нормального гемопоэза. Цитохимическое исследование на TRAP в связи с малой клеточностью костного мозга провести не удалось, однако при иммунофенотипировании лимфоидных клеток крови 5 % было с морфологией и фенотипом ВКЛ – $CD20^+$, $CD11c^+$, $CD25^+$, $HC2^+$. Большинство же лимфоидных клеток было представлено Т-клетками, но исследование Т-клеточной клональности на момент диагностики не проводилось. При иммунохимическом исследовании выявлена следовая секреция белка Бенс-Джонса. При цитогенетическом исследовании клеток крови был найден клон $del(11)(q22;q24)$.

Пациенту проводили терапия α -интерфероном в дозе 3 млн ед/сут в течение 1го месяца, затем в связи с малым эффектом доза α -интерферона было повышена вдвое – до 6 млн ед/сут в течение 2го месяца. На фоне лечения отмечен рост уровня тромбоцитов до 90×10^9 /л, уменьшение лимфоцитоза вдвое, однако сохранялись анемия 70г/л и глубокая лейкопения $0,7-1,0 \times 10^9$ /л, прежние размеры селезенки, неоднократно рецидивировала бронхо-легочная

инфекция. Терапия α -интерфероном была заменена на аналог пурина 2-DCF (пентостатин), выполнено 3 инъекции с интервалами в 2 недели, пациент тяжело переносил лечение – нарушения сердечного ритма, приступы тахикардии, кратковременные синкопальные состояния, в связи с чем пентостатин был отменен и проведен 7-дневный курс кладрибина в дозе 0,1 мг/кг/сут круглосуточными внутривенными инфузиями. Терапию кладрибином пациент перенес без осложнений, после завершения лечения была констатирована ремиссия заболевания с нормализацией гемограммы (гемоглобин 129 г/л, тромбоциты 189×10^9 /л, лейкоциты $4,2 \times 10^9$ /л, лимфоциты 26 %) и размеров селезенки. Ремиссия ВКЛ сохранялась 2 года, после чего отмечен рецидив – нарастание панциопении (гемоглобин 68 г/л, тромбоциты 75×10^9 /л, лейкоциты $1,2 \times 10^9$ /л, лимфоциты 65 %) и увеличение размеров селезенки до 17х6 см. Рецидив был подтвержден исследованием миелограммы (54 % «ворсинчатых лимфоцитов»), трепанобиоптата (угнетение нормального гемопоэза и диффузная лимфоидная инфильтрация типичных для ВКЛ лимфоидных клеток) и цитохимическим исследованием на TRAP. Попытка лечения рецидива моноклональным антиCD20 антителом (мабтера) у больного не удалась в связи с отсроченными осложнениями после 1го введения препарата в стандартной дозе 375 мг/м^2 (гипертермия, нарушения ритма в виде миграции водителя ритма и экстрасистолии с эпизодами бигеминии). После стабилизации состояния больного в план лечения была включена спленэктомия. При гистологическом исследовании удаленной селезенки в бедной клетками красной пульпе вокруг артерий были найдены разрастания рыхло расположенных лимфоидных клеток средних размеров с широкой цитоплазмой, аналогичные клетки инфильтрировали лимфоузлы ворот селезенки, полностью стирая структуру лимфоузла и прорастая его капсулу. После спленэктомии достигнута нормализация уровня тромбоцитов (322×10^9 /л), но сохранялись анемия и лейкопения (88 г/л и $2,5 \times 10^9$ /л соответственно), нарастал лимфоцитоз до 72 % с единичными «ворсинчатыми» формами. Таким образом, полного эффекта после спленэктомии не было достигнуто, в связи с чем больному был проведен 2й

курс терапии кладрибином в стандартной дозе. После курса лечения отмечена нормализация гемограммы (гемоглобин 146г/л, тромбоциты 352×10^9 /л, лейкоциты $9,4 \times 10^9$ /л, лимфоциты 20 %) и миелограммы (костный мозг клеточный, лимфоциты 18 %). При дальнейшем наблюдении через 2 года после 2го курса кладрибина на фоне отсутствия цитопении вновь был отмечен лимфоцитоз до 55 %, однако в трепанобиоптате был выявлен трехростковый гемопоэз без признаков рецидива ВКЛ, а при иммунофенотипировании лимфоцитов выявлено абсолютное преобладание Т-клеток за счет $CD8^+$ Т-лимфоцитов, при отсутствии клеток с морфологией и фенотипом ВКЛ. Выполненное впервые исследование Т-клеточной клональности методом полимеразной цепной реакции – амплификации с олигонуклеотидами, специфичными семействам гамма-цепи Т-клеточного рецептора и анализ конформационного полиморфизма полученных амплификатов – выявило клональную реарранжировку гамма-цепи Т-клеточного рецептора с V генами I семейства. Это позволило подтвердить наличие Т-клеточного клона, составляющего около 15 % от общего числа мононуклеаров. При наблюдении в течение 4 последующих лет у больного сохраняется умеренный лимфоцитоз до 50 % без цитопении и без признаков лимфоидной инфильтрации костного мозга, повторные неоднократные исследования реарранжировки генов гамма-цепи Т-клеточного рецептора продолжают выявлять Т-клеточную клональность. Вторая ремиссия ВКЛ сохраняется у больного в течение 6 лет.

5.5. Вторые опухоли у больных волосатоклеточным лейкозом

Поскольку ВКЛ является В-клеточной лимфатической опухолью, при нем возникают разнообразные количественные и качественные нарушения количественного состава и функционирования В-лимфоцитов, а также, вероятно, нарушение взаимодействия В- и Т-лимфоцитов. Это обстоятельство, также как длительная иммуносупрессия, вызываемая применением пуриновых аналогов при лечении ВКЛ, и пожилой возраст большинства больных, может являться причиной учащения развития вторых опухолей у пациентов с ВКЛ.

По данным литературы, суммирующим частоту развития вторых опухолей при ВКЛ [177,206], среди 3104 больных, охваченных исследованиями за период с 1973 по 2002гг со средним сроком наблюдения 6,5 лет, было зарегистрировано 358 случаев возникновения вторых опухолей. В числе них было 274 случая солидных опухолей (в т.ч. 30 случай опухоли кишечника), 53 случая возникновения лимфомы (в большинстве – В-клеточной), 5 случаев лимфогранулематоза и 5 случаев ХЛЛ. Авторы приходят к выводу о небольшом и статистически недостоверном повышении риска вторых опухолей у больных ВКЛ без повышения смертности от этой причины по сравнению с общей популяцией.

Вторые опухоли отмечены нами у 6 (4 %) из 135 больных ВКЛ, сведения о которых мы имеем к настоящему времени (табл.34).

Таблица 34. Вторые опухоли у больных ВКЛ.

Время возникновения опухоли	Количество больных	Вид опухоли
1. До лечения ВКЛ	1	1.Аденокарцинома матки
2. На фоне (после) α -ИФ	3	1.Аденокарцинома сигмы 2.Низкодифференцированный рак желудка 3.Саркома мягких тканей
3. После кладрибина	2	1.Аденокарцинома сигмы 2.Рак мочевого пузыря
Всего	6	

Медиана возраста у этой группы больных составила 64 года (диапазон от 50 до 82 лет).

1.Опухоли до лечения ВКЛ.

У больной 55 лет опухоль (аденокарцинома матки) была обнаружена в дебюте ВКЛ до начала лечения. Больной было выполнено оперативное

лечение (ампутация матки) с последующим лечением ВКЛ препаратами α -интерферона в течение 2 лет. В настоящее время больная наблюдается в ремиссии ВКЛ без лечения.

2. Опухоли на фоне лечения α -интерфероном.

У 3 больных с ВКЛ вторая опухоль была выявлена на фоне терапии α -интерфероном с давностью заболевания 17 лет, 7 лет и 2 года:

- у пациента 62 лет с 17-летним стажем заболевания (дебютом заболевания в 46 лет, непродолжительным эффектом спленэктомии) на фоне продолжающейся терапии α -интерфероном была выявлена аденокарцинома сигмы и выполнена резекция сигмы. Тем не менее, спустя 8 мес у больного были обнаружены метастазы в печени. Так как терапия α -интерфероном была уже малоэффективной, больному проведен курс терапии кладрибином с достижением ремиссии. В течение года больной наблюдается в удовлетворительном состоянии, в ремиссии ВКЛ, получает паллиативную химиотерапию по поводу метастазов аденокарциномы в печень;

- у пациентки 50 лет с полной ремиссией ВКЛ на фоне года лечения α -интерфероном развилась бурно прогрессирующая саркома мягких тканей плеча, резистентная к химиотерапии. За время попыток лечения второй опухоли без продолжения терапии ВКЛ у больной развился рецидив ВКЛ, вновь купированный назначением α -интерферона. Больная умерла от прогрессии саркомы, резистентной к проведенной полихимиотерапии (СНОР, МАСОР-В), находясь в частичной ремиссии ВКЛ;

- сведений о пациенте с низкодифференцированным раком желудка, диагностированным на 7 году лечения ВКЛ α -интерфероном с достижением нестойкой частичной ремиссии, на сегодняшний день нет.

3. Опухоли после лечения кладрибином.

У 2 больных вторая опухоль была выявлена в ремиссии ВКЛ после лечения кладрибином:

- у больного 60 лет, получившим терапию ВКЛ последовательно α -интерфероном и кладрибином в полной ремиссии заболевания спустя 1 год после завершения терапии возникла вторая опухоль – аденокарцинома сигмы

с метастазами в печень. Химиотерапия оказалась неэффективной, больной умер от прогрессии второй опухоли, на фоне сохраняющейся полной ремиссии ВКЛ;

- у больного 82 лет, с 9-летним анамнезом ВКЛ, получившим 2 курса кладрибина с интервалом в 5 лет, на втором году II полной ремиссии, был выявлен рак мочевого пузыря. Больной успешно оперирован, в настоящее время находится в ремиссии.

Таким образом, из 6 больных с развившимися вторыми опухолями сведения имеются о 5, из них 3 пациента живы, 2 умерли от прогрессии второй опухоли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Первое описание больного ВКЛ в стране выполнено в 1976г сотрудниками нашего центра [1]. С этого времени проблема дифференциальной диагностики и поиск оптимальной тактики лечения ВКЛ привлекала внимание как гематологов-клиницистов, так и сотрудников научно-лабораторных подразделений [5,7].

К настоящему времени спектр клинико-лабораторных изменений, свойственных ВКЛ, и ответ на терапию позволяют прийти к выводу о гетерогенности этого заболевания, а это, в свою очередь, диктует необходимость анализа различий между отдельными формами ВКЛ и усовершенствования методов их лечения.

Нами проанализированы данные клинической картины и лабораторных методов исследования у 160 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом ВКЛ, наблюдавшихся в течение 12-летнего периода (с 1995 по 2007гг). Методы исследования включали морфологический анализ лимфоцитов крови и костного мозга, цитохимическое исследование лимфоцитов лейкоконцентрата или костного мозга на TRAP, гистологическое исследование биоптата костного мозга и селезенки, иммунофенотипирование лимфоцитов крови или костного мозга с определением как характерных для ВКЛ, так и дополнительных маркеров. При невозможности проведения иммунофенотипического исследования на начальном этапе диагностики выполняли иммуногистохимическое исследование биоптатов по блокам.

Мы выявили, что клинико-лабораторная характеристика типичной формы заболевания среди исследованной нами популяции больных ВКЛ в целом соответствовала известным литературным данным, в то время, как вариантная форма ВКЛ характеризовалась рядом отличий от литературных описаний. Так, мы выявили в два раза большую, чем в большинстве опубликованных исследований, частоту встречаемости вариантной формы заболевания, составившую в нашем исследовании 26% случаев. Кроме того, медиана возраста при вариантной форме заболевания в нашем исследовании (46 лет)

была значительно ниже описываемой (71 год), мы реже отмечали выраженный лейкоцитоз, при этом в 33 % случаев обнаруживали лимфаденопатию, а в 22 % случаев выявляли моноклональную секрецию. Самое существенное отличие полученных нами лабораторных данных при вариантной форме ВКЛ касается особенностей иммуфенотипа – мы выявили, что считающееся характерным для большинства случаев вариантной формы отсутствие маркеров CD25 и HC2 и снижения частоты выявления CD103 и CD11c не подтвердилось в исследованной нами популяции. В нашем исследовании при вариантной форме болезни характерные для ВКЛ маркеры CD103, CD11c и HC2 присутствовали во всех случаях, и только CD25 выявлялся незначительно реже – в 86% случаев, при этом мы выявили более частое присутствие нетипичных для данной болезни CD23, CD10. Кроме того, при сравнении результатов лечения при разных формах ВКЛ, в отличие от известного ранее, мы не выявили существенных различий в эффективности применения альфа-интерферона и 2-CdA, а также различий в частоте развития рецидивов при этих двух формах заболевания.

При анализе возрастного состава исследованной популяции мы показали, что, хотя это заболевание диагностируется чаще в пожилом возрасте, больные ВКЛ молодого возраста (с дебютом заболевания в возрасте моложе 40 лет) составляют значительную группу – 26 %. Данные о частоте выявления ВКЛ у больных молодого возраста в зарубежных исследованиях отсутствуют. Не исключено, что большая частота выявления больных ВКЛ молодого возраста отчасти связана со статусом центрального гематологического учреждения, куда направляют с мест для уточнения диагноза пациентов со сколько-нибудь нетипичными проявлениями гематологических заболеваний, тем не менее, по данным изучения ВКЛ в нашем центре в 1985г и в работе из Онкологического центра РАМН, посвященной изучению эффективности α -Иф, выполненной в 1996г, указывается сходное количество больных в возрасте моложе 40 лет – 29 % и 21% [3,6]. В изученной отечественной и зарубежной литературе анализ особенностей проявления заболевания, длительность ремиссии и частота рецидивов у молодых больных ранее не был проведен.

Мы показали, что ВКЛ у больных молодого возраста, по сравнению со старшей возрастной группой, характеризуется большим преобладанием лиц мужского пола, большей частотой вариантной формы лейкоза, большей частотой абдоминальной лимфаденопатии, при обычной частоте и степени выраженности спленомегалии. При исследовании фенотипа у больных молодого возраста мы выявляли все характерные для ВКЛ CD-маркеры, однако дополнительно чаще обнаруживали CD10 и достоверно чаще – CD23. Течению ВКЛ у пациентов молодого возраста чаще сопутствовали тяжелые инфекционные осложнения с повышенной летальностью до 17 %. В этой же группе – больных ВКЛ молодого возраста – нами была выявлена статистически достоверно большая частота развития рецидивов при меньшей продолжительности ремиссии. Каких-либо параллелей с особенностями клиники и лабораторных данных, объясняющих это, мы пока не обнаружили.

При оценке эффективности лечения различных форм ВКЛ мы показали, что эффективность применения спленэктомии как первой линии лечения приводит к достижению стойких ремиссий у трети пациентов, независимо от формы заболевания, в то время, как применение спленэктомии при прогрессии болезни не дает стойкого эффекта. Применение α -Иф в нашем исследовании было эффективно при всех формах заболевания, однако частота достижения полных ремиссий у больных ВКЛ молодого возраста оказалась достоверно ниже. Терапия кладрибином также была эффективна при типичной, вариантной и «молодой» форме ВКЛ, однако, как указывалось выше, у больных ВКЛ молодого возраста статистически достоверно чаще выявлялись рецидивы, в том числе, ранние.

При анализе результатов применения кладрибина нами показано, что последовательная терапия 3-месячным курсом α -Иф с последующим применением 1 недельного курса кладрибина позволяет избежать основного проявления гематологической токсичности этой химиотерапии – агранулоцитоза, сохраняя при этом высокую эффективность лечения [7,8].

Проведенные исследования позволяют заключить, что, несмотря на высокую эффективность лечения ВКЛ препаратами нового поколения –

аналогами пуринов, позволившую достигать полные ремиссии у большинства больных, а у остальных – стойкие частичные ремиссии, не требующие проведения поддерживающей терапии, надежды на исцеление заболевания, возникшие в 90е годы в начале применения этих препаратов, не оправдались. Последующими исследованиями было показано, что у всех больных с картиной полной и тем более частичной клинико-гематологической ремиссии выявляется минимальная остаточная болезнь в костном мозге. Таким образом, наличие минимальной остаточной болезни само по себе не может являться фактором риска развития рецидива заболевания. Длительное наблюдение за пациентами, получившими курс лечения кладрибином, показали, что рецидив волосатоклеточного лейкоза встречается в 26-39% случаев со средней длительностью ремиссии около 5 лет, без существенного различия в сроке и частоте развития рецидива у больных с полной и частичной ремиссией, с хорошим результатом повторного применения кладрибина. Наши наблюдения за 120 больными ВКЛ, получившими курс лечения кладрибином, согласуются с этими данными, за исключением выявленной нами повышенной частоты рецидивов среди молодых больных ВКЛ, часто с более короткой продолжительностью ремиссии. Таким образом, в заключение необходимо отметить, что именно группа больных ВКЛ молодого возраста является прогностически неблагоприятной и требует поиска дополнительных путей повышения эффективности терапии. Вероятно, методом продления ремиссии может быть присоединение к лечению ВКЛ, после лечения α -Иф и кладрибином, в группе риска – у пациентов молодого возраста – курса терапии моноклональными антителами (анти-CD22 или анти-CD20). Это обосновано литературными данными об эффективности этих моноклональных антител в ряде случаев при рецидивах и резистентности к стандартной терапии, однако долгосрочных результатов и, соответственно, выводов о преимуществах такого лечения пока еще не имеется. Эта работа нами начата, ожидаемые преимущества такой схемы лечения будут ясны после анализа достаточного числа случаев с длительным сроком наблюдения.

ВЫВОДЫ

1. Выделена в отдельную группу форма «волосатоклеточный лейкоз молодого возраста», диагностируемая у 26 % у больных, чаще встречающаяся у мужчин и характеризующаяся большей частотой вариантного типа заболевания, лимфаденопатии, значительной спленомегалии, аберраций иммунофенотипа.

2. Установлено, что молодой возраст больных волосатоклеточным лейкозом является фактором риска рецидива заболевания, в том числе раннего.

3. Выявлено, что в исследованной популяции больных волосатоклеточным лейкозом вариантная форма выявляется в два раза чаще и отличается по ряду признаков от известных описаний: характеризуется примерно равным соотношением полов, большей выраженностью спленомегалии и лимфаденопатии, частотой выявления моноклональной секрети и аберраций иммунофенотипа.

4. Показано, что использование протокола лечения волосатоклеточного лейкоза с последовательным применением альфа-интерферона и кладрибина, позволяет избежать развития длительного миелотоксического агранулоцитоза при сохранении эффективности терапии.

5. Установлено, что эффективность лечения кладрибином одинакова для всех изученных форм волосатоклеточного лейкоза, однако при этом у больных молодого возраста для сохранения достигнутого эффекта требуется усиление терапии.

6. Показано, что применение спленэктомии как метода лечения первой линии одинаково результативно при типичной и вариантной форме волосатоклеточного лейкоза независимо от возраста и приводит к стойкому эффекту у 30% пациентов, в то время, как при прогрессии или резистентности заболевания стойкого эффекта от применения спленэктомии не отмечено.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альпидовский В.К., Полянская А.М., Дульцина С.М. и др. «О ворсинчатоклеточном лейкозе». Пробл. гематол., 1976, 3:54-58.
2. Атлас «Опухоли лимфатической системы» под редакцией А.И.Воробьева и А.М.Кременецкой, М:Ньюдиамед, 2007г, с. 92-97
3. Ахмедов А.Г. «Клинические особенности, кроветворение и иммунитет при волосатоклеточном лейкозе», дис. ...канд. мед. наук: ЦОЛИПК, М., 1985. с. 77-80
4. Волкова М.А. «Волосатоклеточный лейкоз». Клиническая онкогематология, Руководство для врачей под ред. проф. М.А.Волковой, изд второе, М: Медицина, 2007, гл. 26: 396- 410.
5. Григорьева М.А., Цыба Н.Н., Ковалева Л.Г. и др. «Рекомбинантный интерферон-альфа в лечении волосатоклеточного лейкоза: многолетние наблюдения». Гематол.и трансфузиол., 2001, 46, 1: 15-18.
6. Лепков С.В. «Клиника, диагностика и лечение волосатоклеточного лейкоза»: автореф. дис. ... канд. мед. наук: М., 1996, с. 4.
7. Пивник А.В., Кременецкая А.М., Яхнина Е.И. и др. «Первый опыт лечения зрелоклеточных лимфопролиферативных заболеваний аналогами пуринов». Пробл.гематол., 1996, 2: 55-62
8. Руководство по гематологии по ред. академика А.И.Воробьева, изд третье, М: Ньюдиамед; 2003, 2: 69-82
9. Agarival P.: Inhibitors of adenosine deaminase. Pharmacol ther 1982, 17: 399-429.
10. Algino K., Henderix L., Henderson C., et al.: Multiple myeloma with hairy cell leukemia. American Journal of Clinical Pathology 1997, 107: 665-671.
11. Aljurf M., Cornbleet P., Michel F.: CD5+ chronic B-cell leukemia with features intermediate to chronic lymphocytic leukemia and hairy cell leukemia. Hematol Pathol 1994, 8: 99-109.
12. Ambrosetti A., Semenzato G., Prior M., et al.: Serum levels of soluble interleukin-2 receptor in hairy cell leukemia: a reliable marker of neoplastic bulk. British Journal of Haematology 1989, 73: 181-186.
13. Anderson K., Boyd A., Fisher D., et al.: Hairy cell leukemia: a tumour of pre-plasma cells. Blood 1985, 65: 620-629.
14. Arai E., Ideka S., Itoh S., Katayama I.: Specific skin lesions as the presenting symptom of hairy cell leukemia. American Journal of Clinical Pathology 1988, 90: 459-464.
15. Aranowitz J., Baral E., Dala B.: Late transition of hairy cell leukemia to multiple myeloma. Am J Hematol. 1993, 44: 216-217.
16. Arkel Y., Lake lewin D., Savopoulos A., Berman E.: Bone lesions in hairy cell leukemia. A case report and response of bone pains to steroids. Cancer 1984, 53: 2401-2403.
17. Arruda V., Bizzacchi J., Metze I.: Hairy cell leukemia and multiple autoimmune manifestations in a human immunodeficiency virus-infected patient. Ann Hematol 1993, 66: 325-327.

18. Baldini L., Cortelezzi A., Polli N., et al.: Human recombinant interferon alpha-2C enhances the expression of Class II HLA antigens on hairy cells. *Blood* 1986, 67: 458-464.
19. Behn A., Sykes H.: Polyarteritis nodosa and hairy cell leukaemia. *Rheumatol Rehabil* 1982, 21: 164-166.
20. Belding H., Daland G., Parker F.: Histiocytic and monocytic leukemia. A clinical, hematological and pathological differentiation. *Cancer* 1955, 8: 237.
21. Berman E., Heller G., Kempin S., et al.: Incidence of response and long-term follow-up in patients with hairy cell leukemia treated with recombinant interferon alfa-2a. *Blood* 1990, 75: 839-845.
22. Bezwoda W., Derman D., Bothwell T., et al.: The diagnosis and management of hairy cell leukemia. *South African Medical Journal* 1979, 55: 577-583.
23. Bishop D., Westbrook C.: Report of the Committee on the Genetic Constitution of chromosome 5. *Cytogenetics and Cell Genetics* 1990, 55: 111-117.
24. Blanche P., Bachmeyer C., Mikdame M., et al.: Scleroderma, polymyositis, and hairy cell leukemia. *J Rheumatol* 1995, 22: 1384-1385.
25. Bouroncle B., Wiseman B., Doan C.: Leukemic reticuloendotheliosis. *Blood* 1958, 13: 609-630.
26. Bouroncle B.: Leukemic reticuloendotheliosis (hairy cell leukemia). *Blood* 1979, 53: 412-436.
27. Bouroncle B.: The history of hairy cell leukemia: characteristics of long-term survivors. *Seminars in Oncology* 1984, 11, suppl 2: 479-485.
28. Bouroncle B.: Unusual presentations and complications of hairy cell leukemia. *Leukemia* 1987, 1: 288-293.
29. Bouza E., Burgaleta C., Golde D.: Infections in hairy cell leukemia. *Blood* 1978, 51: 851-859.
30. Brito-Babapulle V., Pittman S., Melo J., et al.: The 14 q+ marker in hairy cell leukemia: a Cytogenetic study of 15 cases. *Leukemia Research* 1986, 10: 131-138.
31. Brito-Babapulle V., Matutes E., Oscier D., et al.: Chromosome abnormalities in a variant form of hairy cell leukemia. *Genes Chromosomes and Cancer* 1994, 10: 197-202.
32. Brookes P., Montgomery A., Rosenfeld M., et al.: Integrin alpha v beta3 antagonists promote tumor regression by inducing apoptosis of angiogenic blood vessels. *Cell* 1994, 79: 1157-1164.
33. Buethem J., Cawley J.: The bone marrow fibrosis of hairy cell leukemia is caused by the synthesis and assembly of fibronectin matrix by the hairy cell. *Blood* 1994, 83: 497-504.
34. Burke J., Byrne G. Jr, Rappaport H.: Hairy cell leukemia (leukemic reticuloendotheliosis). A clinical pathologic study of 21 patients. *Cancer* 1974, 33: 1399-1410.

35. Burke J.: The value of the bone-marrow biopsy in the diagnosis of hairy cell leukemia. *American Journal of Clinical Pathology* 1978, 70: 876-884.
36. Burke J., Rappaport H.: The diagnosis and differential diagnosis of hairy cell leukemia in bone marrow and spleen. *Seminars in Oncology* 1984, 11: 334-346.
37. Burns G., Cawley J., Worman C., et al.: Multiple heavy chain isotypes on the surface of the cells of hairy cell leukemia. *Blood* 1978, 52: 1132-1136.
38. Burthem J., Baker P., Hunt J., Cawley J.: The action of M-CSF on B cells: M-CSF stimulates HC movement. *Blood* 1994, 83: 1381-1389.
39. 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: 873-882.
40. Burthem J., Vincent A., Cawley J.: Integrin receptors and hairy cell leukemia. *Leukemia & Lymphoma* 1996, 21: 211-215.
41. Burthem J., Zuzel M., Cawley J.: What is the nature of the hairy cell and why should we be interested? *British Journal of Haematology* 1997, 97: 511-514.
42. Carson D., Wasson D., Taettle R., Yu A.: Specific toxicity of 2-chlorodeoxyadenosine toward resting and proliferating human lymphocytes. *Blood* 1983, 62: 737-743.
43. Carpenter M., West S.: Polyarteritis nodosa in hairy cell leukemia: treatment with interferon- α . *J Rheumatol* 1994, 21: 1150-1152.
44. Carsuzaa F., Aubert L., Pierre C., et al.: Malignant melanoma and hairy cell leukemia. Two cases. *Nouv Rev Fr Hematol.* 1992, 34: 211-214.
45. Carsuzaa F., Pierre C., Jaubert D., Viala J.: Cutaneous findings in hairy cell leukemia. *Nouv Rev Fr Hematol.* 1993, 35: 541-543.
46. Cassileth P., Chevvrort B., Spiers A., et al.: Pentostatin induces durable remissions in hairy cell leukemia. *J Clin Oncol* 1991, 9:243-246.
47. Castor B., Juhlin I., Henriques B.: Septic cutaneous lesions caused by mycobacterium malmoeense in a patient with hairy cell leukemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1994, 13: 145-148.
48. Catovsky D., Pettit J., Galton D., et al.: Leukaemic reticuloendotheliosis ("hairy" cell leukaemia): A distinct clinico-pathological entity. *British Journal of Haematology* 1974, 26: 9-27.
49. Catovsky D.: Hairy cell Leukemia and prolymphocytic leukemia. *Clinics in Hematology* 1977, 6: 245-268.
50. Catovsky D., Foa R.: *The lymphoid leukemias.* London. Butterworth's. 1990.
51. Catovsky D., Matues E., Talavera J., et al.: Long term results with 2'deoxycoformycin in hairy cell leukemia. *Leukemia & Lymphoma* 1994, 14: 109-113.
52. Catovsky D.: Clinical experience with 2'deoxycoformycin. *Hematol Cell Ther* 1996, 38: 103-107.

53. Cavallero G., Bonferroni M., Gallamini A., et al.: Scleroderma and hairy cell leukemia [letter]. *Eur J Haematol* 1994, 52: 189-190.
54. Cawley J., Burns G., Bevan A., et al.: Typical hairy cell leukaemia with IgG paraproteinaemia. *British Journal of Haematology* 1979, 43: 215-221.
55. Cawley J., Burns G., Hayhoe R.: A chronic lymphoproliferative disorder with distinctive features: A distinct variant of hairy cell leukaemia. *Leukemia Research* 1980, 4: 547-559.
56. Di Celle P., Reato G., Raspadori D., et al.: Molecular evaluation of clonal remission in hairy cell leukemia patients treated with 2-chlorodeoxyadenosine. *Leukemia & Lymphoma* 1994, 14 suppl 1: 139.
57. Cheson B., Sorensen J., Vena D., et al.: Treatment of hairy cell leukemia with 2-chloro-deoxyadenosine via the Group C protocol mechanism of the National Cancer Institute: A report of 979 patients. *J Clin Oncol* 1998, 16: 3007-3015.
58. Chrobak L., Podzimek K., Kerekes Z., et al.: Long term results in hairy cell leukemia treated by splenectomy. *Neoplasma* 1993, 40: 133-136.
59. Coad J., Matutes E., Catovsky D.: Splenectomy in lymphoproliferative disorders: a report on 70 cases and review of the literature. *Leukemia & Lymphoma* 1993, 10: 245-264.
60. Cohen H., Hirshhorn R., Horowitz S., et al.: Deoxyadenosine triphosphate as a potentially toxic metabolite in adenosine deaminase deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978, 75: 472-476.
61. Cordingley F., Bianchi A., Hoffbrand A., et al.: Tumour necrosis factor as an autocrine growth factor for chronic B-cell malignancies. *Lancet* 1988, 1: 969-971.
62. Cordonnier C., Farcet J., Desforges L., et al.: Legionnaires' disease and hairy cell leukemia. An unfortuitous association? *Arch Intern Med* 1984, 144: 2373-2375.
63. van de Corput L., Kester M., Falkenburg J., et al.: TCR gamma delta+ cells expressing Vgamma 9V delta 2, which normally predominate the blood, are found in the spleens of patients with hairy cell leukemia. *Leukemia* 1997, 11: 106-109.
64. Crump M., Sutton D., Patently D.: Sezary syndrome in a patient with hairy cell leukemia in remission. *Cancer* 1991, 68: 829-833.
65. Csanaky G., Matutes E., Vass J., et al.: Adhesion receptors on peripheral blood leukemic B cells. A comparative study on B cell chronic lymphocytic leukemia and related lymphoma/leukemias. *Leukemia* 1997, 11: 408-415.
66. Cuneo A., Bigoni R., Balboni M., et al.: Trisomy 12 in chronic lymphocytic leukemia and hairy cell leukemia: a cytogenetic and interphase cytogenetic study. *Leukemia & Lymphoma* 1994, 15: 167-172.
67. 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: 965-970.

68. Damasio E., Resegotti L., Capnist G., et al.: Hairy cell leukemia: splenectomy after α -Interferon therapy. *Blood* 1991, 79: 1381.
69. Damasio E., Frassoldati A.: Splenectomy following complete response to alpha Interferon (IFN) therapy in patients with hairy cell leukemia (HCL): Results of the HCL88 protocol. *Leukemia & Lymphoma* 1994, 14, suppl 1: 95-98.
70. Davies G., Wiernik P.: Hairy cell leukemia with chylous ascites. *JAMA* 1977, 238: 1541.
71. van Den Neste E., Delannoy A., Vandercam B.: Infectious complications after 2-chloro-deoxyadenosine therapy. *Eur J Haematol* 1996, 56: 235-240.
72. Dies Martin J., Li C., Banks P.: Blastic variant of hairy cell leukemia. *American Journal of Clinical Pathology* 1987, 87: 576-583.
73. Digel W., Porsolt F., Schmid M., et al.: High levels of circulating soluble receptors for tumor necrosis factor in hairy cell leukemia and type B chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Invest* 1992, 89: 1690-1693.
74. Dissing J., Knudsen B.: Adenosine deaminase deficiency and combined immunodeficiency syndrome. *Lancet* 1972, 1316.
75. Domingo A., Crespo N., Fernandez de Sevilla A. et al.: Hairy cell leukemia and autoimmune hemolytic anemia. *Leukemia* 1992, 6: 606-607.
76. Duchayne E., Delsol G., Kuhlein E. et al. "Hairy cell transformation of a B-cell chronic lymphocytic leukemia: a morphological, cytochemical, phenotypic and molecular study" *Leukemia* 1991, 5(2):150-155.
77. Dorsey J., Penick G.: The association of hairy cell leukemia with unusual immunologic disorders. *Arch Intern Med* 1982, 142: 902-903.
78. Elkon K., Hughes G., Catovsky D., et al.: Hairy cell leukaemia with polyarteritis nodosa. *Lancet* 1979, ii: 280-282.
79. Ellison D., Sharpe R., Robbins B., et al.: Immunomorphologic analysis of bone marrow biopsies after treatment with 2-chlorodeoxyadenosine for hairy cell leukemia. *Blood* 1994, 84: 4310-4315.
80. Evans M., Gastineau D., Ludwig J.: Relapsing hairy cell leukemia presenting as fulminant hepatitis. *Am J Med* 1992, 92: 209-212.
81. Ewald O.: Die leukämische reticuloendotheliose. *Deutsches Arch Klin Med* 1923, 142: 222-228.
82. Facchini A., Mariani E., Ferrolli A., et al.: Hairy cell leukemia and rheumatoid arthritis: cause or effect? *Arthritis Rheum* 1981, 24: 1587.
83. Fain O., Guillevin L., Kaplan G., et al.: Vascularites et neoplasies. Quatorze observations. *Ann Med Interne* 1991, 142: 486-504.
84. Falini B., Schwarting R., Erber W., et al.: The differential diagnosis of hairy cell leukemia with a panel of monoclonal antibodies. *American Journal of Clinical Pathology* 1985, 83: 289-300.
85. Farcet J., Weschsler J., Wirquin V., et al.: Vasculitis in hairy cell leukemia. *Arch Intern Med* 1987, 147: 660-664.

86. Fayad L., Kurzrock R., Keating M., et al.: Treatment of hairy cell leukemia (HCL) with 2-CdA: Long-term follow-up at M.D. Anderson Cancer Center. *Blood abstr*, 1997, 90(10): 2363.
87. Federico M., Frassoldati A., Lamparelli T., et al.: Long-term results of alpha interferon as initial therapy and splenectomy as consolidation therapy in patients with hairy cell leukemia. *Annals of Oncology* 1994, 5: 725-731.
88. Filleul B., Delannoy A., Ferrant A., et al.: A single course of 2-chlorodeoxyadenosine (2-Cda) does not eradicate leukemic cells in hairy cell leukemia (HCL) patients in complete remission. *Leukemia* 1994, 8: 1153-1156.
89. Finan M., Su W., Li C.: Cutaneous findings in hairy cell leukemia. *J Am Acad Dermatol.* 1984, 11: 788-797.
90. Flandrin G., Sigaux F., Sebahoun G., Boufette P.: Hairy cell leukemia: Clinical presentation and follow-up of 211 patients. *Seminars in Oncology* 1984, 11 (Suppl 2): 458-471.
91. Flinn I., Kopecky K., Foucar M.: Long term result in hairy cell leukemia treated with Pentostatin. *Blood abstr*, 1997, 90: 578a.
92. Foon K., Maluish A., Abrahms P., et al.: Recombinant leukocyte A interferon therapy for advanced hairy cell leukemia. *Am J Med* 1986, 80: 351-356.
93. Fu S., Winchester R., Rai K., Kunkel H.: Hairy cell leukemia: Proliferation of a cell with phagocytic and B-lymphocyte properties. *Scand J Immunol* 1974, 3: 847-851.
94. Gabriel S., Conn D., Phyliky R., et al.: Vasculitis in hairy cell leukemia: review of literature and consideration of possible pathogenic mechanisms. *J Rheumatol* 1986, 13: 1167-1172.
95. Genot E.: Interferon alpha and intracytoplasmic free calcium in hairy cell leukemia cells. *Leukemia & Lymphoma* 1994;12:373-381.
96. Gidron A., Tallman M.: 2-CdA in the treatment of hairy cell leukemia: a review of long-term follow-up. *Leukemia & Lymphoma* 2006; 47(11): 2301-2307.
97. Girard J., Springer T.: High endothelial venules (HEVs): specialised endothelium for lymphocyte migration. *Immunology* 1995, 16: 449-457.
98. Gine E., Bosch F., Villamor N. et al.: Simultaneous diagnosis of hairy cell leukemia and chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma: a frequent association? *Leukemia* 2002, 16: 1454-1459.
99. Glaspy J.A., Souza L., Scates S., et al.: Treatment of hairy cell leukemia with granulocyte colony-stimulating factor and recombinant consensus interferon or recombinant interferon alpha 2b. *J Immunother* 1992, 11: 198-208.
100. Goedert J., Neefe J., Smith F., et al.: Polyarteritis nodosa, hairy cell leukemia and splenosis. *Am J Med* 1981, 71: 323-326.
101. Golde D.: Therapy of hairy cell leukemia (Editorial). *New England Journal of Medicine* 1982, 307: 495-496.

102. Golomb H., Catovsky D., Golde D.: Hairy cell leukemia: a clinical review based on 71 cases. *Annals of Internal Medicine* 1978, 81: 677-683.
103. Golomb H.: Hairy cell leukemia. An unusual lymphoproliferative disease: A study of 24 patients. *Cancer* 1978, 42: 946.
104. Golomb H., Catovsky D., Golde D.: Hairy cell leukemia: A five-year update on seventy-one patients. *Annals of Internal Medicine* 1983, 99: 485-486.
105. Golomb H., Vardiman J.: Response to splenectomy in 65 patients with hairy cell leukemia: An evaluation of spleen weight and bone marrow involvement. *Blood* 1983, 61: 349-352.
106. Golomb H., Hadad L.: Infectious complications in 127 patients with hairy cell leukemia. *Am J Hematol* 1984, 16: 393-401.
107. Golomb H., Fefer A., Golde D., et al.: Sequential evaluation of alpha-2b interferon treatment in 128 patients with hairy cell leukemia. *Seminars in Oncology* 1987, 14: 13.
108. Golomb H.: The treatment of hairy cell leukemia. *Blood* 1987, 69: 979-983.
109. Golomb H., Ratain M., Fefer A., et al.: Randomized study of the duration of treatment with interferon alfa-2b in patients with hairy cell leukemia. *N Natl Cancer Inst* 1988, 80: 369-373.
110. Golomb H., Dodge R., Mick R., et al.: Pentostatin treatment for hairy cell leukemia in patients who failed initial therapy with recombinant alpha interferon. *Leukemia* 1994, 8: 2037-2040.
111. Gomez-Almaguer D., Herrera-Garza J., Garcia-Taboada B.: Vasculitis in hairy cell leukemia: rapid response to interferon alpha. *Am J Hematol* 1989, 30: 261-262.
112. Gordon J., Smith J.: Free immunoglobulin light chain synthesis by neoplastic cells in leukaemic reticuloendotheliosis. *Clinical and Experimental Immunology* 1978, 31: 224-250.
113. Goyal R., Bajpai S., Chopra S., et al.: Hairy cell leukemia: An unusual presentation. *Leukemia Research* 1995, 19: 485-487.
114. Goyette R.: Hairy cell leukemia. In: *Hematology: A Comprehensive Guide to the Diagnosis and Treatment of Blood Disorders*, Goyette R. (Ed). Los Angeles, PMIC, 1997, pp. 576-582.
115. Grem J., King S., Cheson B., et al.: Pentostatin in hairy cell leukemia: treatment by the special exception mechanism. *JNCI* 1989, 81: 448-453.
116. Grever M., Siaw M., Jacob W., et al.: The biochemical and clinical consequences of 2'-deoxycoformycin in refractory lymphoproliferative malignancy. *Blood* 1981, 57: 406-416.
117. Grever M., Leiby J., Kraut E.: Low dose deoxycoformycin in lymphoid malignancy. *J Clin Oncol* 1996, 3: 1985.

118. Grever M., Kopecky K., Foucar M., et al.: A randomized comparison of pentostatin vs alpha-interferon in previously untreated patients with hairy cell leukemia an intergroup study. *J Clin Oncol* 1995, 13: 974-981.
119. Griffiths S., Cawley J.: The effect of cytokines, including IL-1, IL-4, IL-6, in hairy cell proliferation/differentiation. *Leukemia* 1990, 4: 337-340.
120. Guler N., Kansu E., Turker A., et al.: Severe autoimmune hemolytic anemia in hairy cell leukemia [letter]. *Eur J Haematol* 1997, 58: 205-206.
121. Haak H., de Man J.C.H., Hijmans W., et al.: Further evidence for the lymphocytic nature of leukaemic reticuloendotheliosis (hairy cell leukaemia). *British Journal of Haematology* 1974, 27: 31-38.
122. Hagland U., Julliusson G., Stellan B., Gahrton G.: Hairy cell leukemia is characterized by clonal chromosome abnormalities clustered to specific regions. *Blood* 1994, 83: 2637-2645.
123. Hakimian D., Tallman M., Kiley C., Peterson L.: Detection of minimal residual disease by immunostaining of bone marrow biopsies after 2-chlorodeoxyadenosine for hairy cell leukemia. *Blood* 1993, 82: 1978-1802.
124. Hakimian D., Tallman M., Hogan D., et al.: Jr. Prospective evaluation of internal adenopathy in a cohort of 43 patients with hairy cell leukemia. *Journal Clinical Oncology* 1994, 12: 268-272.
125. Hansen D., Robbins B., Bylund D., et al.: Identification of monoclonal immunoglobulins and quantitative immunoglobulin abnormalities in hairy cell leukemia and chronic lymphocytic leukemia. *American Journal of Clinical Pathology* 1994, 102: 580-585.
126. Harris R., Pettitt A., Schmultz C., et al.: GM-CSF as an autocrine survival factor for mature normal and malignant B lymphocytes. Submitted for publication. 1998.
127. Hasler P., Kistler H., Gerber H.: Vasculitides in hairy cell leukemia. *Semin Arthritis Rheum* 1995, 25: 134-142.
128. Hasselbalch H.: Idiopathic myelofibrosis: a clinical study of 80 patients. *American Journal of Hematology* 1990, 34: 291-300.
129. Heimann P., Vardiman J., Stock W., et al.: CD5+, CD11c+, CD20+ hairy cell leukemia. *Blood* 1991, 77: 1617-1618.
130. Hentosh P., Koob R., Blakley R.: Incorporation of 2-halogeno-2'-deoxyadenosine 5-triphosphates into DNA during replication by human polymerases alpha and beta. *J Biol Chem* 1990, 265: 4033-4040.
131. Herold C., Wittich G., Schwarzingler I., et al.: Skeletal involvement in hairy cell leukemia. *Skeletal Radiol* 1988, 17: 171-175.
132. Herrman J., Gabriel F.: Membranoproliferative glomerulonephritis in a patient with hairy cell leukemia treated with alpha-II interferon [letter]. *N Engl J Med* 1987, 316: 112-113.

133. Ho A., Thaler J., Mandelli F., et al.: Response to pentostatin in hairy cell leukemia refractory to interferon alpha. *J Clin Oncol* 1989, 7: 1533-1538.
134. Hoffman M., Janson D., Rose E., Rai K.: Treatment of hairy cell leukemia with cladribine: Response, toxicity and long-term follow-up. *J Clin Oncol* 1997, 15: 1138-1142.
135. Hounieu H., Chittal S., al Saati T., et al.: Hairy cell leukemia. Diagnosis of bone marrow involvement in paraffin-embedded sections with monoclonal antibody DBA.44. *American Journal of Clinical Pathology* 1992, 98: 26-33.
136. Huo M., Moran M., Salvati E., et al.: Hairy cell leukemia affecting the hip joint. *Orthopedics* 1992, 15: 1345-1348.
137. Israels MCG: The reticuloses. *Lancet* 1953, 2: 725.
138. Jacobs A., Champlin R., Golde D.: Recombinant α -2-interferon for hairy cell leukemia. *Blood* 1985, 65: 1017-1020.
139. Jaffe E., Shevach E., Frank M., Green I.: Leukemic reticuloendotheliosis: Presence of a receptor for cytophilic antibody. *Am J Med* 1974, 57: 108-114.
140. Janckila A., Cardwell E., Yam L., Li C.: Hairy cell identification by immunohistochemistry of tartrate-resistant acid phosphatase. *Blood* 1995, 85: 2839-2844.
141. Janckila A., Cardwell E., Yam L.: Characterization of monoclonal antibodies specific to human tartrate-resistant acid phosphatase. *Hybridoma* 1997, 16: 175-182.
142. Jansen J., Hermans J.: Splenectomy in hairy cell leukemia: a retrospective multicenter analysis. *Cancer* 1981, 47: 2066-2076.
143. Jansen J., Hermans J.: Clinical staging system for hairy cell leukemia. *Blood* 1982, 60: 571-577.
144. Jansen J., Schuit H., Meijer J., et al.: Cell markers in hairy cell leukemia studied in cells from 51 patients. *Blood* 1982, 59: 52-60.
145. Jansen J., LeBien T., Kersey J.: The phenotype of the neoplastic cells of hairy cell leukemia studied with monoclonal antibodies. *Blood* 1982, 59: 609-614.
146. Jansen J., Bolhuis R., van Nieuwkoop J., et al.: Paraproteinaemia plus osteolytic lesions in typical hairy cell leukemia. *British Journal of Haematology* 1983, 54: 531-541.
147. Jansen J., Wientjens G., Willemz R., Kluin-Nelemans J.: Production of tumor necrosis factor-alpha by normal and malignant B lymphocytes in response to interferon-gamma, and interleukin-4. *Leukemia* 1993, 7: 331-332.
148. Jennings C., Foon K.: Recent advances in flow cytometry: Application to the diagnosis of hematologic malignancy. *Blood* 1997, 90: 2863-2892.
149. Johnston J., Glazer R., Pugh L.: The treatment of hairy cell leukemia with 2'deoxycoformycin. *British Journal of Hematology* 1986, 63: 525-534.

150. Johnston J., Eisenhauer E., Corbett W., et al.: Efficacy of 2'2'-deoxycoformycin in hairy cell leukemia. A study of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group JNCI 1988, 80: 765-769.
151. Juliusson G., Liliemark J.: Rapid recovery from cytopenia in hairy cell leukemia after treatment with 2-chloro-2'-deoxyadenosine (CdA): Relationship to opportunistic infections. Blood 1992, 79: 888-894.
152. Juliusson G., Gahrton G: Cytogenetics in CLL and related disorders, Baillieres Clinical hematology . Philadelphia, P.A. Saunders 1993, 6: 821-848.
153. Juliusson G., Liliemark J.: Long-term survival following cladribine (2-chlorodeoxadenosine) therapy in previously treated patients with chronic lymphocytic leukemia. Ann Oncol 1996, 7: 373-379.
154. Kalkner M., Hagberg H., Karlsson Parra A.: Autoantibody occurrence in hairy cell leukemia during prolonged interferon treatment [letter]. Eur J Haematol 1990, 45: 233-234.
155. Katayama I., Li C.Y., Yam L.T.: Histochemical study of acid phosphatase isoenzyme in leukemic reticuloendothelios. Cancer 1972, 29: 157-164.
156. Katayama I., Finkel H.: Leukemic reticuloendotheliosis. A clinicopathologic study with review of the literature. Am J Med 1974, 57: 115-125.
157. Katayama I.: Bone marrow in hairy cell leukemia. Hematology 1988, 2: 585-602.
158. Keating M.: Chronic lymphoproliferative disorders: Chronic lymphocytic leukemia and hairy cell leukemia. Curr Opin Oncol 1993, 5: 35.
159. Keidan A., Liu Yin J., Cordon-Smith E.: Uncommon complications of hairy cell leukemia. British Journal of Haematology 1984, 57: 176-177.
160. Kimmel D., Hermann R., Jr, O'Neill B.: Neurologic complications of hairy cell leukemia. Arch Neurol 1984, 41: 202-203.
161. Kinashi T., Godal T., Noma Y., et al.: Human neoplastic B cells express more than two isotypes of immunoglobulins without deletion of heavy constant region genes. Genes and Development 1987, 1: 465-470.
162. Kluin-Nelemans H., Krouwels M., Jansen J., et al.: Hairy cell leukemia preferentially expresses the IgG3-subclass. Blood 1990, 75: 972-975.
163. Kluin-Nelemans J., Kester M., Melenhorst J., et al.: Persistent clonal excess and skewed T-cell repertoire in T cells from patients with hairy cell leukemia. Blood 1996, 87: 3795-3802.
164. Kluin-Nelemans J., Kester M., van de Corput L., et al.: Correction of abnormal T-cell receptor repertoire during interferon-alpha therapy in patients with hairy cell leukemia. Blood 1998, 91: 4224-4231.
165. Knapp W., Dorken B., Gilks W., et al.: Leukocyte Typing. IV. White cell Differentiation Antigens. Oxford University Press: 1989.

166. Komadina K., Houk R.: Polyarteritis nodosa presenting as recurrent pneumonia following splenectomy for hairy cell leukemia. *Semin Arthritis Rheum* 1989, 18: 252-257.
167. Konwalinka G., Schirmer M., Hilbe W., et al.: Minimal residual in hairy cell leukemia after treatment with 2-chlorodeoxyadenosine. *Blood cells, Molecules, and Diseases* 1995, 21: 142-151.
168. Korsmeyer S., Greene W., Cossman J., et al.: Rearrangement and expression of immunoglobulin genes and expression of Tac antigen in hairy cell leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1983, 80: 4522-4526.
169. Krause J., Dekker A.: Hairy cell leukemia (leukemic reticuloendotheliosis) in serous effusions. *Acta Cytol* 1978, 22: 80.
170. Kraut E., Bouroncle B., Grever M.: Low dose deoxycoformycin in hairy cell leukemia. *Blood* 1985, abstr, 66 (1): 203A.
171. Kraut E., Grever M.: Past and present role of pentostatin in HCL. In "Advances in Blood Disorders" 2000, Vol. 5, pp. 151-161.
172. Kraut E., Bouroncle B., Grever M.: Pentostatin in the treatment of advanced hairy cell leukemia. *J Clin Oncol* 1989, 7: 168-172.
173. Kraut E., Grever M., Bouroncle B.: Long term followup of patients with hairy cell leukemia after treatment with 2' deoxycoformycin. *Blood* 1984: 4061-4066.
174. Kraut E., Neff J., Bouroncle B., et al.: Immunosuppressive effects of pentostatin. *Journal Clinical Oncology* 1990, 8: 848-855.
175. Krol T., Robinson J., Bekeris L., Messmore H.: Hairy cell leukemia and fatal periarteritis nodosa like syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 1983, 107: 583-585.
176. Kumar S., Kumar D., Gourley W., Alperin J.: Sporotrichosis as a presenting manifestation of hairy cell leukemia. *Am J Hematol.* 1994, 46: 134-137.
177. Kurzrock R., Stroms S., Estey E., et al.: Second cancer risk in hairy cell leukemia patients: analysis of 350 patients. *JCO* 1997, 15: 1813-1810.
178. Lauria F., Rondelli D., Zinzani P., et al.: Long-lasting complete remission in patients treated with 2-CdA: A 5-year survey. *Leukemia* 1997, 11: 629-632.
179. Lawrence D., Sun N., Mena R., Moss R.: Cutaneous lesions in hairy cell leukemia: case report and review of the literature. *Arch Dermatol.* 1983, 119: 322-325.
180. Lee W., Beckstead J.: Hairy cell leukemia with bone marrow hypoplasia. *Cancer* 1982, 50: 2207-2210.
181. Lembersky B., Ratain M., Golomb H.: Skeletal complications in hairy cell leukemia: Diagnosis and therapy. *Journal of Clinical Oncology* 1988, 6: 1280-1284.
182. Leoni L., Chao Q., Cottam H.: Induction of an apoptotic program in cell free extracts by 2-chloro 2' deoxyadenosine 5' triphosphate and cytochrome C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95: 9567-9595.

183. Lewis J., Tanke H., Raap A., et al.: Hairy cell leukemia, an interphase cytogenetic study. *Leukemia* 1993, 7: 1334-1338.
184. Li C., Yam L., Lam K.: Studies of acid phosphatase isoenzymes in human leukocytes: Demonstration of isoenzyme specificity. *J Histochem Cytochem* 1970, 18: 901-910.
185. Lie J.: Isolated polyarteritis of testis in hairy cell leukemia. *Arch Pathol Lab Med* 1988, 112: 646-647.
186. Liliemark J., Juliusson G.: On the pharmacokinetics of 2-chloro-2'-deoxyadenosine (CdA) in cerebrospinal fluid (CSF). *Blood* 1992, 80 suppl 1: 471a.
187. Lill M.C.C., Golde D.: Treatment of hairy cell leukemia. *Blood* 1990, Rev 42: 238-244.
188. Lowe J., Russell N.: Cerebral vasculitis associated with hairy cell leukemia. *Cancer* 1987, 60: 3025-3028.
189. Machii T., Tokumine Y., Inoue R., Kitani T.: A unique variant of hairy cell leukemia in Japan. *Jpn J Med* 1990, 29: 379-383.
190. Machii T., Tokumine Y., Inoue R., Kitani T.: Predominance of a distinct subtype of hairy cell leukemia in Japan. *Leukemia* 1993, 7: 181-186.
191. Machii T., Yamaguchi M., Inoue R., et al.: Polyclonal B cell lymphocytosis with features resembling hairy cell leukemia Japanese variant. *Blood* 1997, 89: 2008-2014.
192. Magee M., Mckenzie S., Filippa D., et al.: Hairy cell leukemia: durability of response to splenectomy in 26 patients and treatment of relapse with androgens in six patients. *Cancer* 1985, 56: 2557-2562.
193. Major P., Agarwal R., Kufe D.: Deoxycoformycin: neurological toxicity. *Cancer chemother Pharmacol* 1981, 193-196.
194. Matutes E., Owusu-Ankomah K., Morilla R., et al.: The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoringsystem for the diagnosis of CLL. *Leukemia* 1994, 8: 1640-1645.
195. Matutes E., Morilla R., Owusu-Ankomah K., et al.: The immunophenotype of hairy cell leukemia (HCL). Proposal for a scoring system to distinguish HCL from B-cell disorders with hairy or villous lymphocytes. *Leukemia & Lymphoma* 1994, 14 suppl 1: 57-61.
196. Matutes E., Morilla R., Owusu-Ankomah K., et al.: The immunophenotype of splenic lymphoma with villous lymphocytes and its relevance to the differential diagnosis with other B-cell disorders. *Blood* 1994, 83: 1558-1562.
197. Matutes E., Catovsky D.: The role of splenectomy in hairy cell leukemia. In "Advances in Blood Disorders" 2000, Vol. 5, pp 127-139.
198. Matutes E., Wotherspoon A., Catovsky D.: The variant form of hairy-cell leukaemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 2003, Vol. 16, No. 1, pp 41-56.

199. Melo J., Robinson D., Gregory C., Catovsky D.: Splenic B cell lymphoma with “villous” lymphocytes in the peripheral blood: A disorder distinct from hairy cell leukemia. *Leukemia* 1987, 1: 294-298.
200. Mercieca J., Matutes E., Moskovic E., et al.: Massive abdominal lymphadenopathy in hairy cell leukaemia: A report of 12 cases. *British Journal of Haematology* 1992, 82: 547.
201. Mercieca J., Puga M., Matutes E., et al.: Incidence and significance of abdominal lymphadenopathy in hairy cell leukaemia. *Leukemia & Lymphoma* 1994, 14 suppl 1: 79-83.
202. 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. *British Journal of Haematology* 1996, 93: 409-411.
203. Micklem K., Dong Y., Willis A., et al.: HML-1 antigen on mucosa-associated T cells, activated cells, and hairy leukemic cells is a new integrin containing the beta 7 subunit. *American Journal of Pathology* 1991, 139: 1297-1301.
204. Mintz U., Golomb H.: Splenectomy as initial therapy in twenty six patients with leukemic reticuloendotheliosis (hairy cell leukemia). *Cancer Research* 1979, 39: 2366.
205. Miyawaki S., Machii T., Hirabayashi H., et al.: Splenic lymphoma with villous lymphocytes with CD5+, CD11c+ B-cell phenotype. *Internal Medicine* 1993, 32: 472-475.
206. Michie H., Bingshu E., Elaine S. Et al. Second cancer incidence and cause-specific mortality among 3104 patients with hairy cell leukemia: a population-based study. *J Natl Cancer Inst* 2007, 99: 215 – 22.
207. Monasterio G., Gigli G.: Histiocytic leukaemias and acute leukaemias. *Acta Med Scand* 1951, 140: 381.
208. Moormeier J., Ratain M., Westbrook C., et al.: Low dose interferon alpha-2b in the treatment of hairy cell leukemia. *J Natl Cancer Inst* 1989, 81: 1172.
209. Morroni M., Cinta S.: Hairy cell leukemia: an ultrastructural study of cells before and after interferon therapy. *Tumori* 1995, 81: 249-255.
210. Moullet I., Salles G., Dumontet C., et al.: Severe immune thrombocytopenic purpura and haemolytic anaemia in a hairy cell leukaemia patient [letter]. *Eur J Haematol* 1995, 54: 127-129.
211. Naeim F., Smith G.: Leukemic reticuloendotheliosis. *Cancer* 1974, 34: 1813-1821.
212. Navarrete D., Bodega E.: Leukemic meningitis in a patient with hairy cell leukemia. A case report. *Nouv Rev Fr Hematol* 1987, 29: 247-249.
213. Newell D., Sattar M., Hannam Harris A.: Hairy cell leukemia occurring with an unrelated paraproteinaemia. *Scand J Haematol* 1982, 28: 441-450.

214. Nielsen H., Bangsberg J., Rechnitzer C., et al.: Defective monocyte function in Legionnaires' disease complicating hairy cell leukaemia. *Acta Med Scand* 1986, 220: 381-383.
215. Nishida K., Taniwaki M., Misawa S., Abe T.: Nonrandom rearrangement of chromosome 14 at band q32.3 in human lymphoid malignancies with mature B-cell phenotype. *Cancer Research* 1989, 49: 1275-1278.
216. van Norman A., Nagorney D., Martin J., et al.: Splenectomy for hairy cell leukemia: a clinical review of 63 patients. *Cancer* 1986, 57: 644-648.
217. Olson D., Schields A., Scheurich C., et al.: Magnetic resonance imaging of the bone marrow in patients with leukemia, aplastic anemia, and lymphoma. *Invest Radiol* 1986, 21: 540.
218. Pangalis G., Boussiotis V., Kittas C., et al.: Hairy cell leukemia: splenectomy after $\alpha 2b$ -Interferon therapy. *Blood* 1991, 78: 1385.
219. Pascali E., Pezzoli A.: The clinical spectrum of pure Bence-Jones proteinuria: a study of 66 patients. *Cancer* 1988, 62: 2408-2415.
220. Pecorari P.: Ulcerative colitis in hairy cell leukemia. A case report. *Recenti Prog Med* 1991, 82:269-271.
221. Piro L., Carrera C., Carson D., Beutler E.: Lasting remissions in hairy cell leukemia induced by a single dose of 2-chlorodeoxyadenosine. *New England Journal of Medicine* 1990, 322: 1117-1121.
222. Plataniias L., Golomb H.: Hairy cell leukemia. *Baillieres Clinics in Hematology* 1993, 6: 887-898.
223. Le Pogamp P., Ghandour C., Le Prise P.: Hairy cell leukemia and polyarteritis nodosa. *J Rheumatol* 1982, 9: 441-442.
224. Polliack A: Hairy cell leukemia and allied chronic lymphoid leukemias: Current knowledge and new therapeutic. *Leukemia & Lymphoma* 1997, 26 suppl 1: 41-51.
225. Polomar S.: Lymphocyte enzyme deficiencies and the metabolic basis of immunodeficiency disease. *Clin Haematol* 6: 423.
226. Pope A., Lazarchick J., Hoyer L., Weinstein A.: Hairy cell leukemia and vasculitis. *J Rheumatol* 1980, 7: 895-899.
227. Poplack D., Sullan S., Rivera G., et al.: Phase I study of 2' deoxycoformycin in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res* 1981, 4: 3343-3346.
228. Possnett D., Chiorazzi N., Kunkel H.: Monoclonal antibodies reactive with hairy cell leukemia. *Journal Clinical Investigation* 1982, 70: 254-261.
229. Possnett D., Marboe C., Knowles D., et al.: A membrane antigen (HC1) selectively present on hairy cell leukemia cells, endothelial cells, and epidermal basal cells. *J Immunol* 1984, 132: 2700-2702.
230. Possnett D., Duggan A., McGrath H.: Hairy cell leukemia-associated antigen

- (HC2) is an activation antigen of several haemopoietic cell lineages, inducible on monocytes by IFN-gamma. *Journal of Immunology* 1990, 144: 929-933.
231. Quesada J., Keating M., Libshitz H., Llamas L.: Bone involvement in hairy cell leukemia. *American Journal of Med* 1983, 74: 228.
 232. Quesada J., Reuben J., Manning J., et al.: Alpha interferon for the induction of remission in hairy cell leukemia. *New England Journal of Medicine* 1984, 310: 15-18.
 233. Quesada J., Hersh E., Manning M., et al.: Treatment of hairy cell leukemia with recombinant alpha-interferon. *Blood* 1986, 68: 493.
 234. Rai K., Davey F., Peterson B., et al.: Recombinant alpha-2b interferon in therapy of previously untreated hairy cell leukemia: long-term follow-up results of a study by the Cancer and Leukemia Group B. *Leukemia* 1995, 9: 1116-1120.
 235. Raju S., Chapman S., Dreiling B., Tavassoli M.: Hairy cell leukemia with the appearance of mixed cryoglobulinemia and vasculitis. *Arch Intern Med* 1984, 144: 1300-1302.
 236. Ratain M., Golomb H., Vardiman J., et al.: Treatment of hairy cell leukemia with recombinant alpha 2 interferon. *Blood* 1985, 65: 644-648.
 237. Richard C., Sedano M., Mazorra F., et al.: Hairy cell leukaemia associated with auto-immune disorders in the form of a "lupus-type" anticoagulant and a positive direct Coombs' test. *Acta Haematol* 1986, 75: 181-182.
 238. Richards J., Mick R., Latta J., et al.: Serum soluble interleukin-2 receptor is associated with clinical and pathological disease status in hairy cell leukemia. *Blood* 1990, 76: 1941-1945.
 239. Robak T., Blasinska-Morawiec M., Krykowski E., et al.: 2-Chlorodeoxyadenosine (2cdA) in 2-hour versus 24-hour intravenous infusion in the treatment of patients with hairy cell leukemia. *Leukemia Lymphoma* 1996, 22: 107-111.
 240. Robbins B., Ellison D., Spinosa J., et al.: Diagnostic application of two-color flow cytometry in 161 cases of hairy cell leukemia. *Blood* 1993, 82: 1277-1287.
 241. Roquet M., Zafrani E., Farcet J., et al.: Histopathological lesions of the liver in hairy cell leukemia: A report of 14 cases. *Hepatology* 1985, 5: 496-500.
 242. Rubin A., Douglas S., Chessin L., et al.: Chronic reticulolymphocytic leukemia. Reclassification of "leukemic reticuloendotheliosis" through functional characterization of the circulating mononuclear cell. *Am J Med* 1969, 47: 149-162.
 243. Sainati L., Matutes E., Mulligan S., et al.: A variant form of hairy cell leukemia resistant to alpha-interferon clinical and phenotypic characteristics of 17 patients. *Blood* 1990, 76: 157-162.
 244. Salomon-Nguyen F., Valensi F., Troussard X., Flandrin G.: The value of the monoclonal antibody, DBA44, in the diagnosis of B-lymphoid disorders. *Leukemia Research* 1996, 20: 909-913.

245. Salvarani C., Capozzoli N., Baricchi R., et al.: Autoimmune disease in hairy cell leukemia: systemic vasculitis and anti cardiolipin syndrom. *Clin Exp Rheum* 1989, 7: 329-330.
246. Saven A., Piro L.: Treatment of hairy cell leukemia. *Blood* 1992, 79: 1111-1120.
247. Saven A., Piro L.: Hairy cell leukemia. In: *Hematology: Basic Principles and Practice*, Hoffman R., et al. New York, Churchill Livingstone 1995, pp. 1322-1329.
248. Saven A., Cheung W., Smith I., et al.: Pharmacokinetic study of oral and bolus intravenous 2-chlorodeoxyadenosine in patients with malignancy. *J Clin Oncol* 1996, 14: 978-983.
249. Saven A., Burian C., Koziol J., Piro L.: Long-term follow-up of patients with hairy cell leukemia after cladribine treatment. *Blood* 1998, 92: 1918-1926.
250. Schrek R., Donnelly W.: "Hairy" cells in blood in lymphoreticular neoplastic disease and "flagellated" cells of normal lymph nodes. *Blood* 1966, 27: 199-211.
251. Schwarting R., Stein H., Wang C.: The monoclonal antibodies S-HCL1 (Leu-14) and S-HCL3 (Leu-M5) allow the diagnosis of hairy cell leukemia. *Blood* 1985, 65: 974-983.
252. Schwarzmeier J., Hilgarth M., Nguyen S., et al.: Inadequate production of hematopoietic growth factors in hairy cell leukemia: up-regulation of interleukin-6 by recombinant IFN-alpha in vitro. *Cancer Res* 1996, 56: 4679-4685.
253. Seshadri R., Brown E., Zipursky A.: Leukemic reticuloendotheliosis. A failure of monocyte production. *New England Journal of Medicine* 1976, 295: 181-184.
254. Seto S., Carrera C., Kubota M., et al.: Mechanism of deoxyadenosine and 2-chlorodeoxyadenosine toxicity to nondividing human lymphocytes. *J Clin Invest* 1985, 75: 377-383.
255. Seto S., Carrera C., Wasson D., Carson D.: Inhibition of DNA repair by deoxyadenosine in resting human lymphocytes. *J Immunol* 1986, 136: 2839-2843.
256. Seymour J., Kurzrock R., Freireich E., Estey E.: 2-Chlorodeoxyadenosine induces durable remissions and prolonged suppression of CD4+ lymphocyte counts in patients with hairy cell leukemia. *Blood* 1994, 83: 2906-2911.
257. Seymour J., Talpaz M., Kurzrock R.: Response duration and recovery of CD4+ lymphocytes following deoxycoformycin in interferon-alpha-resistant hairy cell leukemia: 7 year follow-up. *Leukemia* 1997, 11: 42-47.
258. Sheibani K., Burke J., Swartz W., et al.: Monocytoid B-cell lymphoma: Clinicopathologic study of 21 cases of unquie type of low-grade lymphoma. *Cancer* 1988, 62: 1531-1538.
259. Siegal F., Shodell M., Shah K., et al.: Impaired interferon alpha response in hairy cell leukemia is corrected by therapy with 2-chloro-2'-deoxyadenosene:

- Implications for susceptibility to opportunistic infections. *Leukemia* 1994, 8: 1474-1479.
260. Simon L., Bauer R., Tolman R., Robbins R.: Calf adenosine deaminase substrate specificity. *Biochemistry* 1970, 9:573-577.
261. Sissolak G., Hoffbrand A., Mehta A., Ganshaguru K.: Interferon alpha inducible 2'-5'oligoadenylate synthetase transcripts in lymphoid and myeloid leukemias. *Leukemia* 1993, 7: 712-716.
262. Smalley R., Anderson S., Tuttle R., et al.: A randomized comparison of two doses of human lymphoblastoid interferon-alpha in hairy cell leukemia. *Blood* 1991, 78: 3133-3144.
263. Smyth J., Poplack D., Holiman B., et al.: Correlation of adenosine deaminase activity with cell surface markers in acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest* 1978, 62: 710-712.
264. Sokol L., Agosti S.J.: Simultaneous manifestation of chronic lymphocytic leukemia (CLL) and hairy cell leukemia (HCL). *Am J Hematol* 2004 Feb, 75(2):107-9.
265. Spielberger R., Mick R., Ratain M., Golomb H.: Interferon treatment for hairy cell leukemia: an update on a cohort of 69 patients treated from 1983 to 1986. *Leukemia Lymphoma* 1994, 14 suppl 1: 89-93.
266. Spiers A., Parekh S., Bishop M.: Hairy cell leukemia: Induction of complete remission with pentostatin (2'-deoxycoformycin). *J Clin Oncol* 1984, 2: 1336-1342.
267. Staines A., Cartwright R.: Hairy cell leukaemia: descriptive epidemiology and a case-control study. *British Journal of Haematology* 1993, 85: 714-717.
268. Steis R., Smith J., Urba W., et al.: Resistance to recombinant interferon alfa-2a in hairy cell leukemia associated with neutralizing anti-interferon antibodies. *New Engl J Med* 1988, 318: 1409-1413.
269. Stroup R., Sheibani K.: Antigenic phenotypes of hairy cell leukemia and monocytoid B-cell lymphoma: An immunohistochemical evaluation of 66 cases. *Human Pathology* 1992, 23: 172-177.
270. Su W.: Clinical, histopathologic, and immunohistochemical correlation in leukemia cutis. *Sem Dermatol.* 1994, 13: 223-230.
271. Sun T., Susin M., Brody J., et al.: Splenic lymphoma with circulating villous lymphocytes: Report of seven cases and review of the literature. *American Journal of Hematology* 1994, 45: 39-50.
272. Tallman M., Hakimian D., Rademaker A., et al.: Relapse of hairy cell leukemia after 2-chlorodeoxyadenosine long-term follow-up of the Northwestern University experience. *Blood* 1996, 88: 1954-1959.
273. Tallman M., Hakimian D., Hoffman M., et al.: Treatment of hairy cell leukemia with 2-chlorodeoxyadenosine. In "Advances in Blood Disorders" 2000, Vol. 5: 171-179.

274. Tallman M., Hakimian D., Kopecky K. et al.: Minimal residual disease in patients with hairy cell leukemia in complete remission treated with 2-chlorodeoxyadenosine or 2-deoxycoformycin and prediction of early relapse. *Clinical Cancer Research* 1999, 5: 1665-1670.
275. Thompson J., Brady J., Kidd P., Fefer A.: Recombinant alpha-2-interferon in the treatment of hairy cell leukemia. *Cancer Treatment Rep* 1985, 69: 791-793.
276. Thompson J., Fefer A.: Interferon in the treatment of hairy cell leukemia. *Cancer* 1987, 59: 605-609.
277. Thompson J., Kidd P., Rubin E., Fefer A.: Very low dose alpha-2b interferon for the treatm of hairy cell leukemia. *Blood* 1989, 73: 1440-1443.
278. Thompson J.: Past and present role of interferon in hairy cell leukemia. "Advances in Blood Disorders" 2000, Vol. 5, pp 127-139.
279. Till K., Burthem J., Lopez A., Cawley J.: GM-CSF receptor: stage-specific expression and function on late B cells. *Blood* 1996, 88: 479-486.
280. Toner G., Holmes R., Kennedy J., Schwarz M.: Lethal skin cancers in hairy cell leukemia (two case reports). *Eur J Hematol.* 1987, 39: 82-85.
281. Trentin L., Zambello R., Saucetta R., et al.: B lymphocytes from patients with chronic lymphoproliferative disorders are equipped with different costimulating molecules. *Cancer Research* 1997, 57: 4940-4947.
282. Troussard X., Flandrin G.: Hairy cell leukemia. An update on a cohort of 93 patients treated in a single institution. Effects of interferon in patients relapsing after splenectomy and in patients with or without maintenance treatment. *Leukemia Lymphoma* 1994, suppl 1: 99-105.
283. Turner A., Kjeldsberg C.: Hairy cell leukemia: A review. *Medicine* 1978, 57: 477-499.
284. Vander Molen L., Urba W., Longo D., et al.: Diffuse osteosclerosis in hairy cell leukemia. *Blood* 1989, 74: 2066-2099.
285. Vardiman J., Variakojis D., Golomb H.: Hairy cell leukemia: An autopsy study. *Cancer* 1979, 43: 1339-1349.
286. Vardiman J., Golomb H.: Autopsy findings in hairy cell leukemia. *Seminars in Oncology* 1984, 11: 370-380.
287. Vedantham S., Gamliel H., Golomb H.: Mechanism of action in hairy cell leukemia: a model of effective cancer biotherapy. *Cancer Res* 1992, 52: 1056-1066.
288. Verhoef G., De Wolf Peters C., Zachee P., Boogaerts M.: Regression of diffuse osteosclerosis in hairy cell leukemia after treatment with interferon. *British Journal of Haematology* 1990, 76: 469-475.
289. 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: 3945-3952.

290. Visser L., Shaw A., Slupsky J., et al.: Monoclonal antibodies reactive with hairy cell leukemia. *Blood* 1989, 74: 320-325.
291. Wah C., Keivens V., O'Toole T., et al.: Integrin activation and cytoskeletal interaction are essential for the assembly of a fibronectin matrix. *Cell* 1995, 83: 715-724.
292. Westbrook C., Golde D.: Clinical problems in hairy cell leukemia: diagnosis and management. *Semin Oncol* 1984, 11 suppl 2: 514-522.
293. Westbrook C., Golde D.: Autoimmune disease in hairy cell leukaemia: clinical syndromes and treatment. *British Journal of Haematology* 1985, 61: 349-356.
294. Wheaton S., Tallman M., Hakimian D., Peterson L.: Minimal residual disease may predict bone marrow relapse in patients with hairy cell leukemia treated with 2-chloro-deoxyadenosine. *Blood* 1996, 87: 1556-1560.
295. Wolfe D., Scopelliti J., Boselli B.: Leukemic meningitis in a patient with hairy cell leukemia. A case report. *Cancer* 1984, 54: 1085-1087.
296. Wong K., Kwong Y., Hui P.: Hairy cell leukemia variant with t(2;8) (p12;q24) abnormality. *Cancer genetics and cytogenetics* 1997, 98: 102-105.
297. Worman C., Catovsky D., Bevan P., et al.: Interferon is effective in hairy cell leukemia. *British Journal of Haematology* 1985, 60: 759-763.
298. Wortmann R., Mitchell B., Edwards N., et al.: Biochemical basis for differential deoxy-adenosine toxicity to T and B lymphoblasts. *Proc Natl Acad. Sci* 1979, 76: 2434-2437.
299. Yam L., Crosby W.: Early splenectomy in lymphoproliferative disorders. *Archives of Internal Medicine* 1974, 133: 270-274.
300. Yam L., Janckila A., Chan C., Li C.: Hepatic involvement in hairy cell leukemia. *Cancer* 1983, 51: 1497-1504.
301. Yam L., Janckila A., Li C., Lam W.: Cytochemistry of tartrate-resistant acid phosphatase: 15 years experience. *Leukemia* 1987, 1: 285-288.
302. Zaja F., Di Loretto C., Amoroso V., et al.: BCL-2 immunohistochemical evaluation in B-cell chronic lymphocytic leukemia and hairy cell leukemia before treatment with fludarabine and 2-chloro-deoxy-adenosine. *Leukemia & Lymphoma* 1998, 28: 567-572.
303. Zomas A., Matutes E., Morilla R., et al.: Expression of the immunoglobulin-associated protein B29 in B-cell disorders with the monoclonal antibody SN8 (CD79b). *Leukemia* 1996, 10: 1966-1970.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Схема 1

Протокол обследования больного с волосатоклеточным лейкозом

1. Жалобы (следует обратить внимание на гипертермию с очагом воспаления, астенические симптомы, геморрагический синдром, признаки наличия в брюшной полости объемного образования).

2. Опрос (уточняются давность симптомов, наличие в семье гематологических заболеваний, обращается внимание на учащение эпизодов воспалительно-инфекционных заболеваний).

3. Осмотр больного (оценка размеров и консистенции периферических лимфоузлов, миндалин, печени и селезенки, наличия геморрагий и воспалительных инфильтратов на коже и слизистых, функции дыхания и кровообращения).

4. Рутинные лабораторные исследования:

- клинический анализ крови с оценкой морфологии лимфоцитов (сохранить окрашенный мазок);
- клинический анализ мочи;
- коагулограмма;
- исследование на гепатиты, ВИЧ, сифилис;
- группа крови, резус-фактор;
- электрокардиография;
- рентгенография грудной клетки;
- ультразвуковое исследование органов брюшной полости и забрюшинного пространства;

5. Специальные диагностические исследования:

- иммунохимический анализ сыворотки крови и мочи;
- трепанобиопсия и миелограмма (с оценкой морфологии лимфоцитов, характера лимфоидной инфильтрации, наличия фиброза, иммуногистохимическим исследованием на общие Т- и В-клеточные маркеры, DBA.44, CD25, CD11c);

- определение тартрат-устойчивой кислой фосфатазы в лимфоцитах крови (лейкоконцентрат) или костного мозга;
- иммунофенотипирование лимфоцитов крови (или костного мозга, селезенки) с определением общих Т- и В-клеточных маркеров, дифференциально-диагностических CD5, CD10, CD23 и специфических для ВКЛ анти-ВКЛ, FMC7, CD 11c, CD25, CD103;
- кариологическое исследование костного мозга с анализом кариотипа и исследованием 5, 12 хромосом (FISH);
- при наличии экстранодальных очагов поражения (инфильтрация кожи, легкого, поражение костей и т.п.) – биопсия с морфологическим и фенотипическим анализом.

Схема 2

Протокол лечения больного с волосатоклеточным лейкозом

1 этап - α-интерферон по 3 млн ед x 3 р/нед подкожно 3-4 мес.

2 этап - кладрибин 0,1 мг/кг/сут 7 дней подряд в/в капельно двухчасовыми инфузиями на 500мл физиологического раствора.

Учитывая гриппоподобный синдром с гипертермией, развивающийся на фоне начальных введений α-Иф у большинства больных, терапию начинали с дозы 1 млн ед ежедневно или через день на фоне антипиретиков, с последующим увеличением дозы α-интерферона по мере уменьшения выраженности гипертермии до 3 млн ед трижды в неделю и отменой антипиретика.

Терапию α-интерфероном проводили под контролем показателей периферической крови (уровень гемоглобина, количество тромбоцитов, лейкоцитов – еженедельно, лейкоцитарная формула – раз в 2 недели). Оценку эффективности проводили не ранее 1-2 мес непрерывного лечения. Критерием эффективности считали постепенную нормализацию показателей гемограммы, снижение числа лимфоцитов и «ВК», увеличение числа

моноцитов, сокращение размеров селезенки (если исходно была отмечена спленомегалия).

В случае развития инфекционных осложнений ВКЛ α -Иф применяли на фоне антибактериальной, противовирусной и противогрибковой терапии, в единичных случаях терапию α -Иф временно прерывали до купирования острого инфекционного процесса.

При подтверждении эффективности терапии α -Иф продолжали в той же дозе 3 млн ед x 3 р/нед до снижения (обычно через 3-4 мес непрерывного лечения) уровня лимфоцитов < 50 %. После этого терапию α -Иф отменяли и проводили 1 курс химиотерапии кладрибином.

При отсутствии эффекта через 2 мес терапии α -Иф или появлении тяжелых осложнений на фоне его применения (явления индивидуальной непереносимости, иммунокомплексные осложнения) препарат отменяли и проводили 1 курс химиотерапии кладрибином или спленэктомиию.

Терапию кладрибином проводили в течение 7 последовательных дней внутривенными капельными инфузиями продолжительностью не менее 2 часов, без премедикации. Терапию проводили под контролем уровня лейкоцитов. При выраженной лейкопении применяли профилактическую антибактериальную терапию (бисептол 480 x 2 р/сут). Оценка эффективности лечения кладрибином проводили по нормализации уровня лимфоцитов к концу курса химиотерапии, сокращению размеров селезенки, приросту показателей гемограммы после лечения. Полноту ремиссии оценивали спустя 6 мес после проведения курса химиотерапии кладрибином. Оценка полноты ремиссии включала в себя исследование клинического анализа крови с оценкой морфологии лимфоцитов, миелограммы с подсчетом лимфоцитов и «волосатых клеток», трепанобиопсии с оценкой степени лимфоидной инфильтрации и фиброза (по показаниям – с иммуногистохимическим исследованием), УЗИ брюшной полости с определением размеров селезенки, лимфоузлов.

Спленэктомиию проводили как диагностическую процедуру при невозможности получения достаточного материала для установления диагноза

иным образом; при выраженной спленомегалии (>20х6см) на фоне незначительной инфильтрации костного мозга; при глубокой симптомной тромбоцитопении на момент диагностики ВКЛ; при рефрактерности к лекарственной терапии. После спленэктомии оценивали эффект: при достижении полной ремиссии пациента наблюдали без лечения с периодичностью раз в квартал, при отсутствии полной ремиссии или прогрессии после периода наблюдения в полной ремиссии проводили терапию α -Иф и кладрибином по указанному протоколу.