

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

**Микрочипы: новый этап
в развитии онкогематологии**

**Лечение лимфомы Ходжкина
у подростков и молодых взрослых**

**Ювенильный миеломоноцитарный
лейкоз у детей:
дифференцировочная терапия**

Инвазивный аспергиллез легких

**Диспансерное наблюдение
онкогематологических больных**

1-2

Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов, в которых публикуются основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

ONCOHEMATOLOGY

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Е.В. Самочатова

Заместители главного редактора

В.В. Птушкин, Б.В. Афанасьев

Ответственный секретарь

Ю.В. Румянцева

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

О.В. Алейникова (Минск)

А.К. Голенков (Москва)

А.И. Карачунский (Москва)

Е.Н. Паровичникова (Москва)

Ю.А. Криволапов (С.Петербург)

М.Л. Минков (Австрия)

Н.В. Мякова (Москва)

Е.А. Никитин (Москва)

О.А. Руквицын (Москва)

С.А. Румянцев (Москва)

Г.И. Сидорович (Москва)

Л.Г. Фечина (Екатеринбург)

А.Л. Усс (Минск)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Е.А. Лукина (Москва)

И.В. Поддубная (Москва)

А.Г. Румянцев (Москва)

В.В. Россиев (Самара)

А.Г. Талалаев (Москва)

EDITOR-IN-CHIEF

Ye.V.Samochatova

Deputy Editor

V.V.Ptushkin, B.V.Afanasyev

Executive Secretary

Yu.V.Rumyantseva

EDITORIAL BOARD

O.V. Oleynikova (Minsk)

A.K. Golenkov (Moscow)

A.I. Karachunskiy (Moscow)

Ye.V. Parovichnikova (Moscow)

Yu.A. Krivolapov (St. Petersburg)

M.L. Minkov (Austria)

N.V. Myakova (Moscow)

Ye.A. Nikitin (Moscow)

O.A. Rukavitsin (Moscow)

S.A. Rumyantsev (Moscow)

G.I. Sidorovich (Moscow)

L.G. Fechina (Yekaterinburg)

A.L. Uss (Minsk)

EDITORIAL COUNCIL

Ye.A. Lukina (Moscow)

I.V. Poddubnaya (Moscow)

A.G. Rumyantsev (Moscow)

V.V. Rossiyeв (Samara)

A.G. Talalayev (Moscow)

О с н о в а н в 2 0 0 5 г .

Адрес редакции:

г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, стр. 15

НИИ канцерогенеза, 3-й этаж

тел./факс: 8(495) 252-96-19

e-mail: www.abvgr.ru

www.netoncology.ru

Заведующая редакцией Е.В. Колесникова

Редактор А.Г. Шерай

Корректор Т.С. Овчинникова

Дизайн и верстка А.В. Амаспюр

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия 9 июня 2005 г.

ПИ № ФС77-21308

При перепечатке материалов ссылка на журнал «Онкогематология» обязательна

ISSN 1818-8346

Онкогематология. 2008.

№ 1-2. 1-88

© ООО «АБВ-пресс», 2008

Подписной индекс

в каталоге

«Почта России» — 12313

Отпечатано в типографии

ЗАО «Д-графикс»

Тираж 1500 экз.



ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Е.А. Никитин, А.Б. Судариков, А.В. Баранова

Микрочипы: новый этап в развитии онкогематологии 6

БИОЛОГИЯ ГЕМОБЛАСТОЗОВ

А.М. Вакульчук, Н.Н. Третьяк, С.Е. Калинина, А.И. Коваль, Т.П. Перехрестенко

Острый нелимфобластный лейкоз: особенности цитогенетических аномалий и обусловленное ими клиническое течение заболевания 13

ГЕМОБЛАСТОЗЫ: ЛЕЧЕНИЕ, СОПРОВОДИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

С.В. Семочкин, С.С. Лория, А.Г. Румянцев, В.М. Сотников

Лечение лимфомы Ходжкина у подростков и молодых взрослых 18

Ю.Р. Залялов, Б.А. Гананиев, В.Г. Потапенко, Н.Б. Михайлова, Б.В. Афанасьев

Использование антитимоцитарного глобулина при проведении аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток 27

Н.А. Афанасьева, Г.А. Гусарова

Пример успешной терапии нилотинибом пациентки с РН-позитивным хроническим миелолейкозом в хронической фазе с резистентностью к интерферону и Гливеку 31

Л.А. Хачатрян, М.А. Масчан, Е.В. Самочатова, М.М. Шнейдер, Д.Д. Байдильдина, Г.Г. Солопова, Е.В. Сунцова, Л.И. Жарикова, У.Н. Петрова, В.В. Сеницына, Г.А. Новичкова, А.А. Масчан

Дифференцировочная терапия с использованием 13-цис-ретиноевой кислоты и низких доз цитозин-арабинозида у детей с ювенильным миеломоноцитарным лейкозом 34

Е.А. Стадник, Е.А. Никитин, Б.В. Бидерман, Г.Н. Салогуб, Ю.Ю. Лорие, Н.Н. Цыба, Ю.А. Алексеева, В.А. Доронин, В.Н. Мащук, Р.И. Вабищевич, А.Л. Меликян, Т.И. Колошейнова, Л.Ю. Колосова, А.Б. Судариков, Л.Г. Ковалева, А.Ю. Зарицкий

Ретроспективное сравнение эффективности и токсичности режимов лечения FC и FCR у первичных больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом 39

Г.А. Клясова, А.А. Масчан, А.В. Веселов

Лечение инвазивного аспергиллеза легких на основании рекомендаций американского общества по инфекционным болезням 47

В.В. Птушкин

Лечение скелетных осложнений у пациентов с множественной миеломой 58

КАЧЕСТВО ЖИЗНИ И ДИСПАНСЕРНОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

С.Р. Варфоломеева, Д.Ю. Качанов, М.М. Шнейдер, К.В. Добренчиков, Т.В. Шаманская, Е.В. Самочатова, А.Г. Румянцев

Диспансерное наблюдение детей и подростков с онкологическими заболеваниями педиатром общей практики 63

НОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Л.С. Зубаровская, Е.В. Семенова, Е.В. Бабенко, А.А. Головачева, Б.В. Афанасьев, В.Б. Ларионова, К.Н. Мелкова, О.А. Рукавицын, С.В. Шаманский, В.Г. Савченко, Л.П. Менделеева, Н.Г. Тюрина, И.А. Лисуков, Т.С. Константинова, В.В. Птушкин, Р.А. Иванов, А.В. Солодахин

Эффективность мобилизации периферических стволовых клеток крови с помощью препарата Лейкостим у больных злокачественными новообразованиями 70

О.А. Рукавицын, В.П. Поп

Современные возможности применения пегилированного липосомального доксорубина (келикс) в гематологии 75

КОНФЕРЕНЦИИ, СИМПОЗИУМЫ, СОВЕЩАНИЯ

Резолюция экспертного совещания по использованию эритропоэзстимулирующих препаратов в онкологии от 3 ноября 2007 г. 85

C O N T E N T S

CONTEMPORARY FUNDAMENTAL RESEARCHES

Ye.A. Nikitin, A.B. Sudarikov, A.V. Baranova

Microarrays: a new era in development of oncohematology 6

BIOLOGY OF HEMATOLOGIC MALIGNANCIES

A.M. Vakulchuk, N.N. Tretyak, S.Ye. Kalinina, A.I. Koval, T.P. Perekhrestenko

Acute non-lymphoblastic leukemia: characteristics of cytogenetic anomalies and their influence on clinical course of the disease 13

HAEMATOLOGIC MALIGNANCIES: TREATMENT, ANCILLARY THERAPY

S.V. Semochkin, S.S. Loriya, A.G. Rumyantzev, V.M. Sotnikov

Treatment of Hodgkin's lymphomas in adolescent and young adults. 18

Yu.R. Zalyalov, B.A. Ganapiyev, V.G. Potapenko, N.B. Mikhaylova, B.V. Afanasyev

Anti-monocyte globulin in allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells 27

N.A. Afanasyeva, G.A. Gusarova

The case of successful therapy with Nilotinib in patients with Ph-positive chronic myelogenous leukemia of chronic phase resistant to Interferon and Gleevec 31

L.A. Khachatryan, M.A. Maschan, Ye.V. Samochatova, M.M. Schneider, D.D. Baidildina, G.G. Solopova, Ye.V. Suntzova, L.I. Zjarikova, U.N. Petrova, V.V. Sinitsina, G.A. Novichkova, A.A. Maschan

Results of differential treatment of children with juvenile myelomonocytic leukemia with 13-cis retinoic acid and low dose cytosine-arabioside 34

Ye.A. Stadnik, Ye.A. Nikitin, B.V. Biderman, G.N. Salogub, Yu. Yu. Lorie, N.N. Tsyba, Yu.A. Alexeeva, V.A. Doronin, V.N. Mashuk, R.I. Vabishevich, A.L. Melikyan, T.I. Kolosheina, L. Yu. Kolosova, A.B. Sudarikov, L.G. Kovaleva, A. Yu. Zaritsky

Comparison of efficacy and toxicity of FC and FCR regimens in primary B-cell chronic lymphocytic leukemia: a retrospective study 39

G.A. Klyasova, A.A. Maschan, A.V. Veselov

Treatment of invasive pulmonary aspergillosis according to recommendations of Infectious Diseases Society of America 47

V.V. Ptushkin

Treatment of bone complications in multiple myeloma patients 58

QUALITY OF LIFE AND DISPENSARY OBSERVATION

S.R. Varfolomeyeva, D. Yu. Kachanov, M.M. Shneyder, K.V. Dobrenkov, T.V. Shamanskaya, Ye.V. Samochatova, A.G. Rumyantzev

Observation of oncohematologic patients by general pediatricians 63

NEW DRUG

L.S. Zubarevskaya, Ye.V. Semenova, Ye.V. Babenko, A.A. Golovacheva, B.V. Afanasyev, V.B. Larionova, K.N. Melkova, O.A. Rukavitsin, S.V. Shamanskiy, V.G. Savchenko, L.P. Mendeleyeva, N.G. Tjurina, I.A. Lisukov, T.S. Konstantinova, V.V. Ptushkin, R.A. Ivanov, A.V. Solodakhin

Efficacy of blood peripheral stem cells mobilization after Leukostim administration in patients with malignant tumors. 70

O.A. Rukavitsin, V.P. Pop

Pegylated liposomal doxorubicin (Caelyx): contemporary aspects of its application in hematology. 75

CONFERENCES, SYMPOSIUMS, COUNCILS

Expert Council resolution on application of Erythropoiesis-Stimulating Agents in clinical oncology (November 3, 2007) 85

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!



Представляем Вам очередной номер журнала «Онкогематология». Созданием журнала, доступного широкому кругу не только ученых, но и практических врачей, мы во многом обязаны его главному редактору — талантливому ученому и практическому врачу Майе Александровне Волковой.

Идея восполнить недостаток информации в области онкогематологии — основополагающего раздела науки о злокачественных заболеваниях — была прекрасно претворена в жизнь. Журнал получился и нашел своего читателя! Мы благодарны за это его создателям.

С этого номера редколлегия журнала работает в новом составе, который предложен руководством Гематологического научного центра РАМН, Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии Росздрава, НИИ гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой, Санкт-Петербургского медицинского университета им. И.П.Павлова и гематологическими отделениями МОНИКИ и ЦВГ им. Н.Н.Бурденко.

Новая редколлегия продолжит публикацию материалов о достижениях в этой чрезвычайно важной и интересной области современной медицины. В планах журнала — организация дискуссий по спорным вопросам, например, по такой пока неоднозначной для нашей страны проблеме, как стандартизация медицинских технологий и ее целесообразность для улучшения комплексного лечения опухолевых заболеваний, публикация актуальных материалов из зарубежных журналов, в частности, обзоров и рекомендаций Европейской, Американской и Международной ассоциации по диагностике и лечению онкогематологических заболеваний. Отдельный раздел будет посвящен описанию клинических случаев — бесценной школе практики.

Мы планируем расширить информацию для специалистов в области молекулярной диагностики и таргетной терапии миелопролиферативных и лимфопролиферативных заболеваний, сопроводительной и интенсивной терапии лейкозов, злокачественных лимфом и гистиоцитозов.

Специальные разделы будут посвящены онтогенезу кроветворной и иммунной системы и вопросам возрастной онкогематологии, трансплантации гемопоэтических и мезенхимальных клеток в терапии онкогематологических заболеваний.

Начиная работу, новая редколлегия журнала сознает сложность и ответственность стоящих перед ней задач и надеется на понимание, участие и поддержку читателей.

Ждем ваши статьи, тем более, что с этого года наш журнал включен в список изданий ВАК, письма, дискуссионные замечания и предложения!

Главный редактор журнала
*Заслуженный врач РФ, заместитель директора
 по науке Федерального научно-клинического центра
 детской гематологии, онкологии и иммунологии
 Росздрава, профессор кафедры клинической
 гематологии ФУВ РГМУ им. Н.И.Пирогова*
Е.В.Самочатова

МИКРОЧИПЫ: НОВЫЙ ЭТАП В РАЗВИТИИ ОНКОГЕМАТОЛОГИИ

Е.А. Никитин¹, А.Б. Судариков¹, А.В. Баранова²

¹Гематологический научный центр РАМН, Москва; ²Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

Появление иммунофенотипирования в 70–80-х годах прошлого века привело к радикальному изменению представлений о гемобластозах, к созданию более совершенной классификации. Новой вехой в развитии медицины, и в частности онкогематологии, стала функциональная геномика. Задача этого раздела молекулярной гематологии — изучение функций новых генов и генных сетей в нормальном развитии и жизнедеятельности тканей, а также при различных заболеваниях. Информация, полученная в ходе расшифровки генома человека, носит статичный характер. Функциональная геномика изучает динамические аспекты функционирования генов, такие как транскрипция, трансляция мРНК, белковые взаимодействия. Одним из методов функциональной геномики является технология биологических микрочипов, позволяющая одновременно анализировать уровень активности тысяч генов в одном эксперименте, причем масштаб измерений может приближаться к геномному. В данном обзоре мы рассматриваем технологию микрочипов, ее клинические приложения и кратко суммируем результаты экспериментов с микрочипами при лимфатических опухолях.

Ключевые слова: микрочипы, лимфомы, лейкозы

MICROARRAYS: A NEW ERA IN DEVELOPMENT OF ONCOHEMATOLOGY

Ye.A. Nikitin, A.B. Sudarikov, A.V. Baranova

Research Center for Hematology of Russian Academy of Medical Sciences;
Medical Genetic Research Center of Russian Academy of Medical Sciences

Introduction of the immunophenotyping in 70-ties and 80-ties of the past century has led to significant revision of conception of hematological malignancies. A new era in development of medicine and oncology in particular is related to functional genomics. This field of molecular biology attempts to make use of the vast wealth of data produced by genomic projects for studying gene functions and interactions. Functional genomics focus on the dynamic aspects such as gene transcription, mRNA translation, and protein-protein interactions, as opposed to the static aspects of the genomic information such as DNA sequence or structure. Several genomic technologies have been developed to study gene expression. Gene expression profiling on DNA microarrays has been particularly useful in analyzing expression of thousands genes in parallel. Modern microarrays contain comprehensive probe sets which are able to measure the majority of genes encoded in human genome. Here we focus on microarray technology, discuss its clinical applications and briefly review some results obtained by this method in researches of hematological malignancies.

Key words: microarrays, lymphoma, leukemia

Появление иммунофенотипирования в 70–80-х годах прошлого века привело к радикальному изменению представлений о гемобластозах, к созданию более совершенной классификации. Новой вехой в развитии медицины, и в частности онкогематологии, стала функциональная геномика. Предпосылкой этого научного направления стала расшифровка генома человека, в результате которой к настоящему времени идентифицировано и картировано большинство генов человека. Однако это лишь первый этап исследования генома. Информация о нуклеотидной последовательности гена и его положении в геноме не имеет практического значения, если мы не знаем, какие он выполняет функции, как осуществляется его регуляция и как его активность сказывается на других генах. Задача функциональной геномики — изучение функций новых генов и генных сетей в нормальном развитии и жизнедеятельности тканей, а также при различных заболеваниях.

Исследование тонкой взаимной регуляции генов и их продуктов является одной из наиболее фундаментальных задач молекулярной биологии нормальной и опухолевой клетки. До последнего времени основная составляющая нормального научного процесса заключалась в постепенном «разборе» клеточного механизма путем независимых экспериментальных исследований регуляции каждого отдельного гена, выполняемых отдельными научными группами. Процесс начинается с идентификации повреждений данного гена при определенной опухоли. Далее необходимо воспроизвести повреждение потенциального протоонкогена или тумор-супрессорного гена в культуре клеток или в эксперименте с мышами и исследовать полученный фенотип, что позволяет оценить функцию гена. Последовательная оценка функции одного за другим каждого из генов цепочки создает представление о взаимодействии продуктов генов в цепи и ее нарушениях в онкогенезе [1].

В настоящее время разработан более современный исследовательский подход, основанный на технологии биологических микрочипов, позволяющий одновременно анализировать уровень активности каждого гена клетки в одном эксперименте. Передача генетической информации осуществляется в процессе транскрипции (в результате чего образуется мРНК) и трансляции (превращение мРНК в белки). В каждый данный момент времени клетке нужны не все гены, имеющиеся в геноме. Совокупность экспрессии всех актуальных для жизнедеятельности клетки в данный момент времени генов называется «транскриптом». Транскриптом зависит от линейной принадлежности клетки, функции клетки, активности в ней сигнальных путей, ответа на внешние сигналы. Микрочипы позволяют измерить количество мРНК, соответствующей разным генам, причем масштаб измерений может приближаться к геномному. Иными словами, в одном эксперименте с микрочипами можно исследовать уровень экспрессии всех известных генов в данном образце. Анализ транскриптома выборки образцов позволяет увидеть характерный для опухоли фенотип (профиль экспрессии), чего практически невозможно достичь при последовательном анализе генов-участников процесса.

Получаемые в экспериментах с микрочипами данные высокопроизводимы и представляют собой цифры. В связи с этим их можно анализировать с помощью многовариантных статистических методов. Различные биологические фенотипы, такие как уровень пролиферативной активности, состояние сигнальных путей, сходство с нормальным аналогом, примесь и природа тумор-инфильтрирующих клеток, теперь можно измерить количественно: все фенотипы отражены в генетическом профиле экспрессии. С этой точки зрения биология опухолей становится привлекательной областью для математики. Каждый биологический фенотип ассоциируется с экспрессией определенного набора генов. Группа генов, имеющая биологическое или клиническое значение, называется «генетическая экспрессионная роспись», или «генетический профиль экспрессии». Экспрессия генов этой группы служит количественной характеристикой фенотипа [2]. Вычленение определенного генетического профиля экспрессии дает возможность сопоставить его с выживаемостью и другими клиническими параметрами.

В настоящее время биологические микрочипы — главный инструмент определения состояния экспрессии генов в разнообразных биологических образцах.

Технологическая цепочка

Микрочип представляет собой нанесенный на твердый носитель (стекло, мембрана) упорядоченный набор тысяч различающихся фрагментов

ДНК, каждый из которых соответствует определенному гену. Чтобы измерить экспрессию генов, необходимо выделить из образца опухолевой или другой ткани РНК, пометить ее в процессе превращения в комплементарную ДНК (кДНК) флюоресцентной краской или радиоактивным веществом и поместить на микрочип. Во время гибридизации меченая мРНК соединяется по принципу комплементарности с ген-специфичными фрагментами ДНК на микрочипе. Несвязанную мРНК затем отмывают и проводят анализ гибридизационных сигналов. Интенсивность сигнала, поступающего с точки, соответствует количеству меченой мРНК, связавшейся с данным ген-специфичным фрагментом ДНК. Анализ гибридизационных сигналов позволяет сделать вывод о состоянии экспрессии каждого из исследуемых генов, не разбирая «клеточную машину» на составные элементы и не «вырывая» гены из клеточного контекста. Последовательность экспериментов, проводимых с помощью микрочипов, представлена на рисунке.



Схема эксперимента с микрочипами

Микрочипы

Активно развивающаяся технология микрочипов позволяет организовать упорядоченную посадку большого числа различающихся фрагментов ДНК на каком-либо твердом носителе, что дает возможность подвергать все исследуемые фрагменты ДНК одновременной гибридизации пробой с меченой ДНК (или РНК). В настоящее время разработаны упорядоченные наборы генов двух типов:

1) с использованием относительно небольших, но в то же время ген-специфичных фрагментов ДНК — олигонуклеотидов размеров 20—25 нуклеотидов [3];

2) с использованием крупных фрагментов ДНК (300—500 нуклеотидов), получаемых с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) [4].

В литературе термин *expression chip* (экспрессионный чип), или *expression array* (экспрессионный упорядоченный набор зондов), или *microarray* (микрочип), применяется к обеим разновидностям упорядоченных наборов генов, однако к олигонуклеотидным наборам этот термин подходит лучше, поскольку их можно создавать в том числе и с помощью фотолитографического метода, сходного с тем, что используется для производства компьютерных чипов. При каждом методе можно напечатать тысячи фрагментов ДНК на сравнительно небольшой площадке. Так, размеры олигонуклеотидного чипа, содержащего все 6000 генов дрожжей *S. Cerevisiae*, составляют 1,28 × 1,28 см, а чип из крупных ПЦР-фрагментов тех же 6000 дрожжевых генов размещается на стеклянном слайде размером 1,8 × 1,8 см. Таким образом, масштабы вполне сопоставимы [5].

Олигонуклеотидные микрочипы

Олигонуклеотидные экспрессионные чипы создаются фотолитографическим способом (Affymetrix, Santa Clara, CA) [6, 7], путем синтеза олигонуклеотидов *in situ* [3] и загрузки готовых олигонуклеотидов в плотные гели толщиной 20 мкм [7, 8]. Основное достоинство олигонуклеотидных чипов заключается в потенциальной возможности еще большей миниатюризации. Так, в настоящее время типичный размер площадки, содержащей 1 олигонуклеотид, составляет 10 мкм, но уже разработаны подходы, позволяющие уменьшить размеры чипа еще сильнее [6]. Например, компания Lumipex (Остин, Техас) разработала метод ковалентной пришивки олигонуклеотидов на специальные микросферы, степень флуоресценции каждой из которых после гибридизации с меченой пробой может быть оценена с помощью проточного цитофлуориметра [9], что позволяет анализировать экспрессию до 512 генов одновременно [10]. Разрабатывается метод иммобилизации отдель-

ных микросфер на твердой прозрачной подложке и подведения к каждой площадке посадки отдельного регистрирующего оптоволокну, что позволит уменьшить размер ячейки чипа до субмикрометрического [11].

Основной недостаток олигонуклеотидных чипов состоит в том, что эффективность гибридизации таких коротких фрагментов ДНК значительно зависит от нуклеотидного состава этих фрагментов и их вторичной структуры (шпилек). Специфичность гибридизации каждого отдельного олигонуклеотида недостаточно велика. Именно поэтому на таких олигонуклеотидных чипах каждый ген должен быть представлен несколькими (как правило, 20) различными олигонуклеотидами. Кроме того, каждый входящий в состав микрочипа ген-специфичный олигонуклеотид сопровождается сходным олигонуклеотидом, отличающимся от ген-специфичного всего одним нуклеотидным основанием, расположенным в центре, — этот олигонуклеотид служит внутренним гибридизационным контролем. Таким образом, для однозначного описания каждого гена на олигонуклеотидном экспрессионном микрочипе требуется 40 площадок, в то время как чипы, созданные на основе фрагментов кДНК, подчиняются правилу «один ген — одна площадка» [5].

Чипы, созданные на основе фрагментов ДНК

Чипы, созданные на основе фрагментов кДНК, в англоязычной литературе называют *cDNA microarrays* (микроэрреи), или просто *arrays* (эрреи). Технология, лежащая в основе таких чипов, была выработана в результате логического развития популярной технологии *dot blot*, с тем отличием, что в стандартном дот-блоттинге сложные смеси ДНК или РНК ковалентно пришиваются к мембране и в качестве пробы служит единичный меченый фрагмент ДНК, а *cDNA microarrays*, напротив, содержат уникальные последовательности ДНК (отдельные гены), зафиксированные на подложке и подвергающиеся гибридизации со сложной пробой, состоящей из меченых молекул кДНК, образованных на матрице всех мРНК, выделенных из исследуемого образца.

Фрагменты кДНК, соответствующие известным генам, могут быть упорядочены как на обычных нейлоновых фильтрах, так и на специальных стеклянных слайдах. Оба подхода имеют свои преимущества и недостатки. Создание *cDNA microarrays* посредством упорядоченной посадки фрагментов кДНК на обычные нейлоновые фильтры возможно в молекулярно-биологической лаборатории, оборудованной ПЦР-машинами и специальным роботом, обеспечивающим высокую плотность площадок посадки фрагментов ДНК. Этот процесс требует синтеза

большого количества олигонуклеотидных праймеров для ПЦР, а также синтеза и очистки характеристических ПЦР-продуктов. Однако после того как этот трудоемкий этап пройден, тиражирование большого числа одинаковых фильтров с cDNA microarray уже не представляет технической сложности. Неудивительно, что многие компании пошли именно по этому пути. Чипы, созданные с помощью этой технологии, просты в использовании, не требуют дорогостоящей техники, но их нельзя назвать микроскопическими.

Приготовление меченой пробы

Для исследования экспрессии генов с помощью микрочипов необходима меченая проба, которая должна быть приготовлена на основе мРНК, выделенной из интересующего биологического образца. Однако именно эта стадия является труднопреодолеваемым «бутылочным горлышком», сдерживающим широкое использование технологии. Качественный и количественный состав клеточной мРНК может претерпевать резкие и быстрые изменения в ответ на резкую смену условий окружающей среды (к примеру, перепад температуры при изъятии опухолевого образца из организма пациента). Кроме того, в нефизиологических условиях мРНК быстро деградирует, и эта деградация сильнее всего захватывает короткоживущие мРНК, кодирующие регуляторные гены, которые чаще всего и являются объектом исследования. Поэтому биологические образцы, из которых предполагается выделять мРНК для исследования экспрессии генов, должны как можно быстрее погружаться в жидкий азот (охлаждение до температуры $-70-80^{\circ}\text{C}$ при помещении в низкотемпературный холодильник происходит с недостаточной скоростью), а последующие стадии выделения мРНК проводятся осторожно и быстро. Огромное значение имеет однородность исследуемого биологического образца, например, присутствующие в каждой опухоли нормальные ткани кровеносных сосудов должны тщательно удаляться. Для приготовления биологических образцов часто используется микродиссекция, в том числе лазерная [12]. Большое внимание должно быть уделено химической чистоте препарата РНК [13].

Способы распознавания сигнала

Самым распространенным способом детекции индуцируемого лазером флюоресцирующего сигнала является использование конфокального микроскопа [14]. Применяются и другие методы детекции [15–17].

Микрочипы, размещенные на нейлоновых мембранах, как правило, гибридизируют с пробами, помеченными с помощью включения ^{33}P -dCTP. Радиоактивное мечение позволяет регистрировать

гибридизационные сигналы с помощью стандартных фосфоимиджеров, производимых компаниями Molecular Dynamics, Packard Instruments и Fuji, а во многих случаях и посредством обычной радиоавтографии на рентгеновской пленке высокого разрешения.

Анализ данных

В экспериментах с микрочипами на каждый испытуемый образец получаются тысячи и десятки тысяч цифр. Количество данных настолько велико, что анализировать их «вручную» невозможно. Для интерпретации результатов экспериментов с микрочипами разработан целый ряд аналитических методик [18, 19]. Эти методы можно подразделить на две категории: неконтролируемые и контролируемые. При неконтролируемом анализе статистическую программу «просят» независимо найти какие-либо группы в исследуемой выборке образцов. Никаких внешних данных при этом не используется, никаких гипотез не выдвигается: все результаты основаны только на измерении экспрессии генов. При контролируемом анализе с помощью статистических методов устанавливают, есть ли связь между генетической экспрессией и заданным параметром, например выживаемостью.

Методы неконтролируемого анализа

Чаще всего для анализа полученных с помощью микрочипов данных используется иерархическое кластерирование [18]. Кластерный анализ позволяет разбить совокупность объектов на однородные группы. В литературе часто применяют термин «аналитическое и аггломеративное иерархическое кластерирование». При аггломеративном иерархическом кластерировании процесс идет «снизу», т.е. начинается со многих кластеров и следует путем их объединения в более крупные с использованием разных математических критериев. При аналитическом иерархическом кластерировании процесс идет «сверху»: работа ведется с одним кластером, содержащим все случаи. Затем он разбивается на меньшие кластеры.

Иерархическое кластерирование выявляет гены со сходной экспрессией во всех образцах. Например, иерархическое кластерирование объединит вместе все гены, которые сильно экспрессируются в одной группе образцов и слабо экспрессируются в другой группе образцов. Кластеры генов со сходной экспрессией часто отвечают за единую клеточную функцию. Таким образом, вычленяется генетическая роспись, характеризующая определенный биологический процесс [2]. Например, при делении в клетке одновременно экспрессируются группы генов клеточного цикла, репликации ДНК и метаболизма. Иерархическое кластерирование позволяет увидеть эту пролиферативную роспись.

Генетические экспрессионные росписи могут быть связаны с разными биологическими характеристиками, в том числе линейной принадлежностью, стадией созревания клетки, активностью сигнальных путей. По сути дела, генетический профиль экспрессии, полученный неконтролируемым способом, и есть тот продукт, та единица измерения, которая позволяет связать многообразный результат эксперимента с микрочипами с биологическими и клиническими параметрами. Генетический профиль экспрессии дает предварительное представление о том, какие биологические процессы активны в данном образце, позволяет выработать гипотезу и направляет дальнейший поиск.

Алгоритм иерархического кластерирования позволяет решить и обратную задачу: выявить и сгруппировать образцы со сходными профилями экспрессии. В этом случае сначала выбирают группы генов, по которым программе задается рассортировать образцы. Поэтому результат радикально зависит от выбора генов.

Методы контролируемого анализа

Контролируемые аналитические методы позволяют установить связь между биологическим или клиническим показателем и экспрессией генов. Таким способом обнаруживаются различия в генетической экспрессии, которые дискриминируют диагностические или прогностические группы. Чтобы разработать молекулярный предиктор выживаемости, можно использовать, например, модель пропорциональных интенсивностей Кокса и с ее помощью выявить экспрессионные характеристики, ассоциированные с прогнозом. В зависимости от объема выборки и значимости избранных рубежных значений таким образом выявляют до нескольких сотен актуальных генов. Далее можно снова прибегнуть к иерархическому кластерному анализу и пытаться выявить специфические экспрессионные росписи, характеризующие биологические процессы, которые ассоциируются с выживаемостью. Профиль экспрессии, имеющий предсказуемое значение, и число генов зависят от эксперимента и болезни. Например, при В-ККЛ найдено 17 генов, предсказывающих прогноз [20]. При В-ХЛЛ группы лучше всего дискриминировались с помощью всего лишь одного гена — *ZAP-70* [21].

Воспроизводимость данных: опытная и валидационная группы

Огромное количество данных, получаемых в экспериментах с микрочипами, повышает вероятность выявления устойчивых ассоциаций между клиническими и молекулярными параметрами. Тем не менее полученная в эксперименте модель может не работать в другой или большей выборке больных. Эту проблему разрешают путем

случайного распределения образцов на две группы: опытную и валидационную. Первая используется для построения модели, вторая — для независимого тестирования модели. Такой подход требует большого числа образцов. В связи с этим в клинических исследованиях часто применяют другой метод «перекрестной валидации». В соответствии с этим методом предсказывающая модель разрабатывается для всей совокупности образцов, кроме одного. Далее образец, не включенный в опытный эксперимент, тестируют с помощью разработанной модели. Так поступают с каждым образцом и устанавливают количество образцов, которые были правильно классифицированы. Число верно или неверно классифицированных образцов дает представление о воспроизводимости модели.

Практические результаты экспериментов с микрочипами

Одна из наиболее важных целей экспрессионного анализа с помощью микрочипов состоит в том, чтобы с помощью молекулярных характеристик вычленять гомогенные нозологические формы. Подразумевается, что в пределах гомогенной нозологической формы все образцы данной опухоли возникли из одной и той же популяции клеток, развивались по тому же патогенетическому механизму, в них активированы одинаковые сигнальные пути и они обладают сходной чувствительностью к токсинам.

Несмотря на то что экспрессионный анализ с помощью микрочипов появился как исследовательский метод относительно недавно, уже получены результаты, которые позволили существенно изменить представления о патогенезе многих опухолей. Самый главный результат состоит в демонстрации гетерогенности лимфатических опухолей, характеристике «чистых» нозологических форм, выделении прогностически разных вариантов болезней. Эти результаты уже имеют практическое значение. Однако большинство опубликованных до сих пор исследований ретроспективно. Результаты проспективных исследований еще впереди. Ключевые эксперименты с микрочипами, изменившие представления о лимфомах, обобщены в таблице.

Заключение

Анализ опухолей с помощью микрочипов, по-видимому, войдет в рутинную клиническую практику. Вполне возможно, что существенная часть информации, получаемой с помощью микрочипов, может быть выявлена с помощью иммуногистохимии или проточной цитофлуориметрии. Однако список генов, экспрессионный уровень которых имеет клиническое значение при различных опухолях, быстро растет. Только микрочипы позволяют в реальном времени исследовать экспрессионный уровень десятков

Результаты экспериментов с микрочипами при лимфомах

Автор	Опухоль, вариант чипа	Основной результат
Yeoh et al. [23]	В-ОЛЛ, Affymetrix	Идентифицирован характерный экспрессионный профиль для каждой цитогенетической подгруппы В-ОЛЛ. Эксперимент сделан на образцах, полученных от 360 детей с В-ОЛЛ. Разработаны молекулярные предикторы, которые точно классифицируют пациентов в ту или иную группу. Выделен новый вариант В-ОЛЛ, который ранее не удавалось охарактеризовать с помощью цитогенетических данных
Ferrando et al. [25]	Т-ОЛЛ, Affymetrix	Эксперимент сделан на 59 образцах. Показано, что aberrантная экспрессия ключевых транскрипционных факторов является центральным патогенетическим механизмом Т-ОЛЛ. Профиль экспрессии генов соотнесен с определенными стадиями Т-клеточной дифференцировки; показано, что такая связь существует и может быть определена по гиперэкспрессии <i>HOX11</i> , <i>TAL1</i> и <i>LYL1</i> . Показано, что гиперэкспрессия <i>HOX11</i> идентифицирует отдельную прогностическую подгруппу в пределах Т-ОЛЛ
Rosenwald et al. [26]	ХЛЛ, Lymphochip	Показано, что, несмотря на клиническую гетерогенность, хронический лимфолейкоз представляет собой одну болезнь, обладающую уникальным генетическим профилем экспрессии. Варианты В-ХЛЛ с разным мутационным статусом генов варибельного региона также обладают сходным профилем экспрессии. Тем не менее идентифицировано несколько сотен генов, в том числе <i>ZAP-70</i> , экспрессирующихся при этих вариантах по-разному
Wiestner et al. [21]	ХЛЛ, Lymphochip	На выборке из 107 образцов, полученных от больных В-ХЛЛ, подтверждено, что <i>ZAP-70</i> лучше всего дискриминирует варианты В-ХЛЛ с разным мутационным статусом. Предложен прогностический тест
Alizadeh et al. [27]	В-ККЛ, Lymphochip	В пределах В-крупноклеточной лимфомы идентифицировано 2 варианта болезни. Генетический профиль экспрессии этих вариантов отражает стадии созревания В-лимфоцитов. Один вариант, возникающий из клеток герминального центра по профилю экспрессии близок к клеткам зародышевого центра вторичных фолликулов. Он характеризуется благоприятным прогнозом. Для второго варианта, возникающего из активированных клеток, характерна экспрессия генов, которые активируются при митогенной стимуляции В-лимфоцитов периферической крови. При лечении по программе СНОР прогноз этого варианта хуже
Shipp et al. [28]	В-ККЛ, Affymetrix	С помощью контролируемого кластерного анализа определен молекулярный предиктор прогноза на выборке из 58 больных В-ККЛ, получавших лечение по программе СНОР. Идентифицировано 2 группы больных: 5-летняя выживаемость в одной группе составила 70%, во второй — 12%. Другой формат микрочипа не позволил авторам подтвердить биологически разные подгруппы, идентифицированные Alizadeh и соавт.
Rosenwald et al. [20]	В-ККЛ, Lymphochip	На выборке из 240 больных В-ККЛ воспроизведены ранее полученные закономерности. Показано, что варианты из активированных и герминальных клеток развиваются по разным патогенетическим механизмам. Разработан молекулярный предиктор прогноза, основанный на экспрессии 17 генов. Показано, что генетический профиль экспрессии не зависит от международного прогностического индекса. Общая 5-летняя выживаемость в группе В-ККЛ из герминальных клеток составляет 73%, в группе В-ККЛ из активированных клеток — 15%.
Wright et al. [22]	В-ККЛ, Lymphochip и Affymetrix	Предложен диагностический алгоритм для классификации В-ККЛ по генетическому профилю экспрессии. На выборке из 274 больных, исследованных с помощью лимфочипа, а также 58 больных, исследованных с помощью микрочипа Affymetrix, подтверждены существование и различие герминального и активированного вариантов В-ККЛ
Rosenwald et al. [24]	ЛМЗ, Lymphochip	Дана молекулярная характеристика лимфомы мантийной зоны. Показано, что ведущим патогенетическим механизмом является нарушение регуляции клеточного цикла. Выделен вариант ЛМЗ без гиперэкспрессии циклина D1. Разработан способ оценки пролиферативной активности опухоли, основанный на генетическом профиле экспрессии. Идентифицированы группы больных с разным прогнозом. В благоприятной группе медиана выживаемости составляет 6,7 года, в неблагоприятной — 0,8 года
Zhan et al. [29, 30]	ММ, Affymetrix	На выборке из 79 больных с множественной миеломой в пределах этой болезни идентифицировано 4 варианта. Проведена корреляция вариантов ММ со стадиями созревания плазматических клеток
Rosenwald et al. [31]	ПМ В-ККЛ, Lymphochip	Показано, что первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома представляет собой отдельный вариант В-ККЛ с благоприятным прогнозом и существенно отличным генетическим профилем экспрессии. Предложен диагностический алгоритм, основанный на экспрессии 46 генов. Показана связь между ПМ В-ККЛ и лимфомой Ходжкина

тысяч генов. Ни одна существующая в настоящее время методика даже не приближается к этому. Подобная задача теоретически может быть решена и на уровне белка, однако стоимость чипа, на который нанесены десятки тысяч вариантов антител, превосходит стоимость ДНК-чипа на огромную величину. Иммуногистохимия дает качественную или, в лучшем случае, полуколичественную оценку, в то время как результат эксперимента с микрочипами — количественный. Очень важно, что огромный объем информации может быть получен в едином фор-

мате. Например, прогноз В-ХЛЛ в настоящее время достовернее всего определяется при использовании разных методов — кариологии, интерфазной цитогенетики, молекулярного анализа, анализа растворимых сывороточных белков. Микрочипы позволяют получить больший или, по меньшей мере, сопоставимый объем информации в едином формате. Результат исследования с помощью микрочипов может анализироваться с помощью компьютерного алгоритма, без участия человека, что делает анализ более надежным.

Л и т е р а т у р а

- Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000 Jan 7;100(1):57—70.
- Shaffer A.L., Rosenwald A., Hurt E.M. et al. Signatures of the immune response. *Immunity* 2001 Sep; 15(3):375—85.
- Blanchard A.P., Kaiser A.J. and Hood L.E. High-density oligonucleotide arrays. *Biosens Bioelectron* 1996;11:687.
- The Microarray Home Page. <http://cmgm.stanford.edu/pbrown/aaray.html>.
- Johnston M. Array of hope for understanding gene regulation. *Current Biol* 1998;8:171—4.
- Fodor S.P.A., Rava R., Huang X.C. et al. Light-directed, spatially addressable parallel chemical synthesis. *Science* 1991;251:767—73.
- McGall G., Labadie J., Brock P. et al. Light-directed synthesis of high-density oligonucleotide arrays using semiconductor photoresist. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:13555—60.
- Cheng J., Sheldon S.L., Wu L. et al. Preparation and hybridization analysis of DNA/RNA from *E.coli* on microfabricated bioelectronic chips. *Nat Biotechnol* 1998;16:541—6.
- Guschin D., Yersov G., Zaslavsky A. et al. Manual manufacturing of oligonucleotide, cDNA, and protei microchips. *Anal Biochem* 1997;250:203—11.
- Fulton R.J. McDade R.L., Smith P.L. et al. Advanced multiplexed analysis with FlowMatrix system. *Clin Chem* 1997;43:1749—56.
- Chandler V.S., Denton D., Pempsell P. Biomolecular multiplexing of up to 512 assays on a new solid-state 4 color flow analyzer. *Cytometry* 1998;(9):40.
- Michael K.L., Taylor L.C., Shultz S.L., Walt D.R. Randomly ordered addressable high-density optical sensor arrays. *Anal Chem* 1998;70:1242—8.
- Emmert-Buck M.R., Bonner R.F., Smith P.D., et al. Laser capture microdissection. *Science* 1996;274:998—1001.
- Duggan D.J., Bittner M., Chen Y. et al. Expression profiling using cDNA microarrays. *Nature Genet* 1999;21:10—4.
- Lockhart D.J., Dong H., Byrne M.C. et al. Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide array. *Nat Biotechnol* 1996;14:1675—80.
- Thiel A.J., Frutos A.G., Jordan C.E. et al. In situ surface plasmon resonance imaging detection of DNA hybridization to oligonucleotide arrays on gold surfaces. *Anal Chem* 1997;69:4948—56.
- Healy B.G., Matson R.S., Walt D.R. Fiberoptic DNA sensor array capable of detecting point mutation. *Anal Biochem* 1997;251:270—9.
- Stimpson D.I., Hoijer J.V., Hsieh W.T. et al. Real time detection of DNA hybridization and melting on oligonucleotide arrays using optical wave guides. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:6379—83.
- Eisen M.B., Spellman P.T., Brown P.O. et al. Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(25):14863—8.
- Golub T.R., Slonim D.K., Tamayo P. et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 1999;286(5439):531—7.
- Rosenwald A., Wright G., Chan W.C., et al. Lymphoma/Leukemia Molecular Profiling Project. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002;346(25):1937—47.
- Wiestner A., Rosenwald A., Barry T.S. et al. ZAP-70 expression identifies a chronic lymphocytic leukemia subtype with unmutated immunoglobulin genes, inferior clinical outcome, and distinct gene expression profile. *Blood* 2003;101(12):4944—51.
- Wright G., Tan B., Rosenwald A. et al. A gene expression-based method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(17):9991—6.
- Yeoh E.J., Ross M.E., Shurtleff S.A. et al. Classification, subtype discovery, and prediction of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. *Cancer Cell* 2002;1(2):133—43.
- Rosenwald A., Wright G., Wiestner A. et al. The proliferation gene expression signature is a quantitative integrator of oncogenic events that predicts survival in mantle cell lymphoma. *Cancer Cell* 2003;3(2):185—97.
- Ferrando A.A., Armstrong S.A., Neuberger D.S. et al. Gene expression signatures in MLL-rearranged T-lineage and B-precursor acute leukemias: dominance of HOX dysregulation. *Blood* 2003;102(1):262—8.
- Rosenwald A., Alizadeh A.A., Widhopf G. et al. Relation of gene expression phenotype to immunoglobulin mutation genotype in B cell chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med* 2001;194(11):1639—47.
- Alizadeh A.A., Eisen M.B., Davis R.E. et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403(6769):503—11.
- Shipp M.A., Ross K.N., Tamayo P. et al. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med* 2002;8(1):68—74.
- Zhan F., Tian E., Bumm K. et al. Gene expression profiling of human plasma cell differentiation and classification of multiple myeloma based on similarities to distinct stages of late-stage B-cell development. *Blood* 2003;101(3):1128—40.
- Zhan F., Hardin J., Kordsmeier B. et al. Global gene expression profiling of multiple myeloma, monoclonal gammopathy of undetermined significance, and normal bone marrow plasma cells. *Blood* 2002;99(5):1745—57.
- Rosenwald A., Wright G., Leroy K. et al. Molecular diagnosis of primary mediastinal B cell lymphoma identifies a clinically favorable subgroup of diffuse large B cell lymphoma related to Hodgkin lymphoma. *J Exp Med* 2003;198(6):851—62.

ОСТРЫЙ НЕЛИМФОБЛАСТНЫЙ ЛЕЙКОЗ: ОСОБЕННОСТИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ АНОМАЛИЙ И ОБУСЛОВЛЕННОЕ ИМИ КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

А.М. Вакульчук¹, Н.Н. Третьяк¹, С.Е. Калинина², А.И. Коваль¹, Т.П. Перехрестенко¹

¹Государственное учреждение «Институт гематологии и трансфузиологии АМН Украины», Киев;

²Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, Киев

У 106 больных острым нелимфобластным лейкозом (ОНЛЛ) проведен анализ цитогенетических изменений клеток костного мозга и клинического течения заболевания. С учетом выявленных реаранжировок хромосом пациенты распределены на три группы. В первую группу вошли больные, имеющие аномалии кариотипа, типичные для определенных вариантов ОНЛЛ. Вторая группа объединяла больных с редкой патологией хромосом, которая не ассоциируется с каким-либо вариантом заболевания. Третью группу составили больные с уникальными реаранжировками хромосом, имеющими особенный механизм образования кариотипических изменений. В эту группу вошли 3 пациента, у которых определялись сложные аномалии кариотипа: первый больной 46, XY,t(2;15)(q37;p13),+12,add(13)(q14),add(13)(21), вторая больная 42, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), -8, -15, i(17q),-18, +mar/ 44, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), -15, i(17q),-18, ++mar[2]/ 44, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), -15, i(17q),-18, +mar, +min/ 46, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), del(8)(q21), -15, i(17q), -18, +mar[4]/44, XX, -3, t(6;17)(p25;q25), -15, i(17q),-18,+ mar, +min, третий больной 51, XY, t(12;18)(p13;p11.3), +8, +10,-14, der17,+ mar[5]. Особенности реаранжировок t(2;15)(q37;p13), t(6;17)(p25;q25), t(12;18) состояли в том, что они стали впервые выявленными транслокациями между этими хромосомами, а также то, что в образовании этих транслокаций принимали участие целые хромосомы, а не их фрагменты.

Ключевые слова: острый лейкоз, цитогенетика, кариотип, аномалии хромосом

ACUTE NON-LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA: CHARACTERISTICS OF CYTOGENETIC ANOMALIES AND THEIR INFLUENCE ON CLINICAL COURSE OF THE DISEASE

A.M. Vakulchuk, N.N. Tretyak, S.Ye. Kalinina, A.I. Koval, T.P. Perekhrestenko

State Enterprise «Institute of hematology and transfusiology of AMN of Ukraine», Kiev A.A. Bohomoltz National Medical University, Kiev

Cytogenetic changes in bone marrow cells and their influence on clinical course of the disease were analyzed in 106 patients with acute non-lymphoblastic leukemia (ANLL). According to rearrangements of chromosomes the patients were divided into three groups. The first group consisted of patients with anomalies of karyotype typical for particular variants of ANLL. The second group comprised patients with chromosome anomalies, which are not associated with any special variant of disease. The third group included patients with unique rearrangements of chromosomes characterized by special mechanism of formation of karyotype changes. Overall, three patients with complex karyotype anomalies formed the third group: first patient with 46, Y,t(2;15)(q37;p13),+12,add(13)(q14),add(13)(21), second patient with 42, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), -8, -15, i(17q),-18, +mar/ 44, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), -15, i(17q),-18, ++mar[2]/ 44, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), -15, i(17q),-18, +mar, +min/ 46, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), del(8)(q21), -15, i(17q), -18, +mar[4]/44, XX, -3, t(6;17)(p25;q25), -15, i(17q),-18,+ mar, +min, and third patient with 51, XY, t(12;18)(p13;p11.3), +8, +10,-14, der17,+ mar[5]. Among peculiar features of -t(2;15)(q37;p13), t(6;17)(p25;q25), t(12;18) rearrangements were the primary character of translocations between these chromosomes, and participation of whole chromosomes, but not their fragments, in the formation of translocations.

Key words: acute leukemia, cytogenetic, karyotyping, chromosome anomalies

В группу острых нелимфобластных лейкозов (ОНЛЛ) входят лейкозы, возникшие из клеток-предшественников миелоидного или моноцитарного ростков кроветворения [1]. Лейкозы, родоначальниками которых являются клетки эритроцитарной и мегакариоцитарной природы, также относятся к этой категории гемобластозов. Критерии ФАБ классификации 1991 г., основанные на морфологических и цитохимических данных бластных клеток, остаются основополагающими для верификации различных вариантов ОНЛЛ [2]. Однако развитие лейкологии, а также потребности практической гематологии обусловили необходимость введения дополнительных маркеров для более пол-

ной биологической характеристики лейкоемического процесса. Использование фундаментальных методов исследования, в первую очередь генетических, позволило глубже проникнуть в патогенетические основы развития гемобластозов. Идентификация хромосомных аномалий в значительной степени способствовала пониманию морфологической вариабельности бластных клеток и клинической гетерогенности ОНЛЛ. Было установлено, что именно характер мутаций в значительной степени определяет морфологию опухолевых клеток, уровень их злокачественности и чувствительность к проводимой полихимиотерапии [3]. В настоящее время перечень известных аномалий хромосом

у больных ОНЛЛ насчитывает более 5000 различных реаранжировок, при этом количество их продолжает дополняться [4]. Соответственно рекомендациям ВОЗ данные генетических исследований стали важной составляющей комплексного обследования больных ОНЛЛ [5]. Верификация изменений хромосом является необходимой для уточнения диагноза, прогнозирования течения заболевания, выбора тактики лечения и контроля его эффективности [6]. На основании сравнительного анализа выяснилось, что для некоторых аномалий хромосом характерен свой географический ареал преимущественного распространения [4]. Отмечена также различная частота выявления определенных реаранжировок хромосом в группах больных, отличающихся по возрасту [7]. Все это указывает на неоднородность результатов кариотипического анализа в различных исследуемых группах больных ОНЛЛ, а также необходимость продолжить накопление материала, отображающего разнообразие цитогенетических нарушений.

Материалы и методы

На протяжении 2000–2005 гг. обследовано 106 больных с первичным ОНЛЛ (54 женщины и 52 мужчины) в возрастной категории от 20 до 70 лет (медиана 65 лет). Для установления диагноза и верификации типа ОНЛЛ использовались критерии ФАБ-классификации. Материалом для проведения исследований были периферическая кровь (ПК) и костный мозг (КМ) больных ОНЛЛ (пунктат и трепанобиопсия гребня подвздошной кости).

В динамике наблюдения за пациентами учитывались данные анамнеза, оценивались клинические симптомы и синдромы, проводились цитохимическое и кариотипическое исследования клеток КМ.

Цитохимическое исследование клеток КМ и ПК проводилось в отделении цитохимии и имму-

нологии Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины.

Анализ хромосом осуществлялся в отделении заболеваний системы крови Государственного учреждения «Институт гематологии и трансфузиологии АМН Украины» в соответствии с модифицированными методиками цитогенетических исследований, предложенных Ram S. Verma et Arvind Babu [8]. Препараты хромосом в метафазе получали в результате культивирования клеток КМ в течении 24–48 ч при температуре 37°C без применения фитогемагглютинина. Для этого использовали питательную среду RPMI-1640, эмбриональную телячью сыворотку, антибиотики. Клеточный цикл на стадии митоза останавливался раствором колхицина в концентрации 0,05 мг/мл. Культура клеток обрабатывалась 0,56% раствором хлорида калия при температуре 37°C. Фиксацию клеток проводили раствором метанола и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1. Дифференциальную окраску хромосом на G-диски проводили с помощью 0,25% раствора трипсина и 2% раствора красителя Гимза. Идентификацию выявленных реаранжировок проводили с помощью компьютерной системы «Метаскан-2» (Украина), а их интерпретацию осуществляли в соответствии с Международной системой номенклатуры дифференциально сегментированных хромосом человека (ISCN) [9].

Результаты исследования и их обсуждение

Клиническая картина наблюдаемых больных ОНЛЛ свидетельствовала о несомненном ОНЛЛ, клиническими проявлениями которого были анемический, геморрагический и интоксикационный синдромы. У части больных значительное влияние на течение заболевания оказывала сопутствующая патология, которая часто обострялась на фоне основного заболевания.

Цитогенетическое исследование больным проводили до назначения полихимиотерапии (ПХТ). Метафазные пластинки, которые соответствовали требованиям ISCN, получены у 60 пациентов. Патология хромосом выявлена в 35 (58%) случаях, нормальный кариотип определялся у 35 (42%) больных. Выявленные реаранжировки хромосом распределили на три группы:

- типичные аномалии кариотипа, характерные для определенных вариантов ОНЛЛ;
- редкие аномалии хромосом, которые не ассоциируются с определенными вариантами заболевания;
- реаранжировки хромосом, имеющие особенный меха-

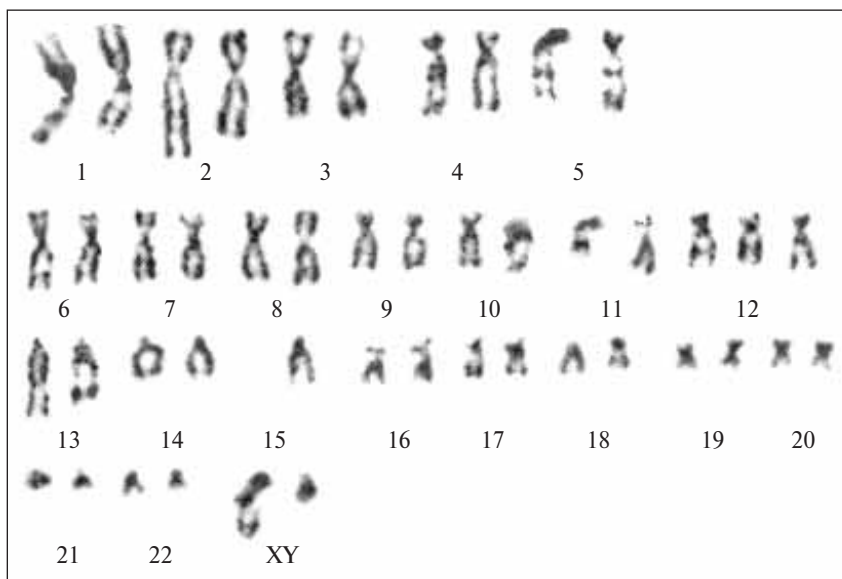


Рис. 1. Больной М., диагноз ОНЛЛ М5. Кариотип: 46, XY, t(2;15)(q37;p13), +12, add(13)(q14), add(13)(21)

низм образования кариотипических изменений и ранее не описанные.

Клиническое течение ОНЛЛ, а также особенности аномалий кариотипа больных 3-й группы представляют фактическую основу данной статьи.

Больной М., 45 лет. Во время госпитализации состояние больного оценивалось как тяжелое в связи с выраженным геморрагическим и интоксикационным синдромом. Объективно определялось увеличение печени на 3 см и селезенки на 4 см ниже реберной дуги. Общий клинический анализ крови от 22.04.2003: гемоглобин (Hb) — 92 г/л, эритроциты — $2,4 \times 10^{12}/л$, цветной показатель — 0,88, лейкоциты — $24,5 \times 10^9$, бластные клетки — 15%, сегментоядерные нейтрофилы — 9%, лимфоциты — 23%, моноциты — 52%, эозинофилы — 1%, тромбоциты — $41,8 \times 10^9/л$. СОЭ — 30 мм/ч. В гиперклеточном КМ определялись: бластные клетки — 58%, миелоциты (мц) — 1%, метамиелоциты — 3%, палочкоядерные нейтрофилы — 1%, сегментоядерные нейтрофилы — 8%, эозинофилы — 2%, лимфоциты — 6%, моноциты — 8%, нормоциты: базофильные — 7%, полихроматофильные — 4%, оксипильные — 2%.

На основании цитохимического исследования ПК и КМ установлен диагноз ОНЛЛ М5 согласно критериям ФАБ-классификации. При цитогенетическом исследовании клеток КМ выявлен патологический клон 46, XY, t(2;15)(q37;p13), +12, add(13)(q14), add(13)(21), представленный на рис. 1.

В перечне известных аномалий кариотипа больных ОНЛЛ данные относительно участия 2-й и 15-й хромосомы в транслокации t(2;15)(q37;p13) отсутствуют [4]. Поэтому транслокацию t(2;15)(q37;p13) можно считать ранее не описанной реаранжировкой хромосом. Установлено, что в локусе 13q14 находятся гены-супрессоры злокачественного роста [10]. С учетом этого у больного М. установлено одновременное вовлечение в патологический процесс аллельных генов-супрессоров, расположенных на 13-й хромосоме.

Во время проведения первого курса ПХТ по схеме «7+3» усилился геморрагический синдром, что привело к смерти больного.

Больная С., 62 года. Начало заболевания манифестировало гипертермией, язвенно-некротическим поражением полости рта, двусторонней пневмонией. Общий клинический анализ крови от 21.05.2002: Hb — 51 г/л,

эритроциты — $2,2 \times 10^{12}/л$, цветной показатель — 0,8, лейкоциты — 40%, бластные клетки — 14%, мц — 16%, метамиелоциты — 20%, палочкоядерные нейтрофилы — 14%, сегментоядерные нейтрофилы — 18%, лимфоциты — 13%, моноциты — 5%, тромбоциты — $30 \times 10^9/л$, СОЭ — 60 мм/ч. При исследовании КМ определялись: бластные клетки — 43%, мц — 2%, метамиелоциты — 8%, палочкоядерные нейтрофилы — 3%, сегментоядерные нейтрофилы — 9%, лимфоциты — 7%, моноциты — 8%, нормоциты: базофильные — 4%, полихроматофильные — 9%, оксипильные — 5%.

На основании цитохимического исследования ПК и КМ установлен диагноз ОНЛЛ М4 согласно ФАБ-классификации.

При цитогенетическом исследовании определялось несколько патологических клонов: 42, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), -8, -15, i(17q), -18, +mar/ 44, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), -15, i(17q), -18, ++mar[2]/ 44, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), -15, i(17q), -18, +mar, +min/ 46, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), del(8)(q21), -15, i(17q), -18, +mar[4]/44, XX, -3, t(6;17)(p25;q25), -15, i(17q), -18, +mar, +min. На рис. 2 представлена метафазная пластинка с кариотипом: 46, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), -15, i(17q), -18, +mar[2].

Данных, описывающих транслокацию t(6;17)(p25;q25) у больных ОНЛЛ, в доступной научной литературе не найдено, поэтому такую аномалию следует считать впервые установленной.

Проводимое лечение по схеме ПХТ «7+3» не привело к улучшению состояния. После первого курса терапии количество бластов в ПК уменьшилось незначительно, наблюдалось нарастание язвенно-некротических поражений и геморрагического синдрома, вследствие которых больная умерла.

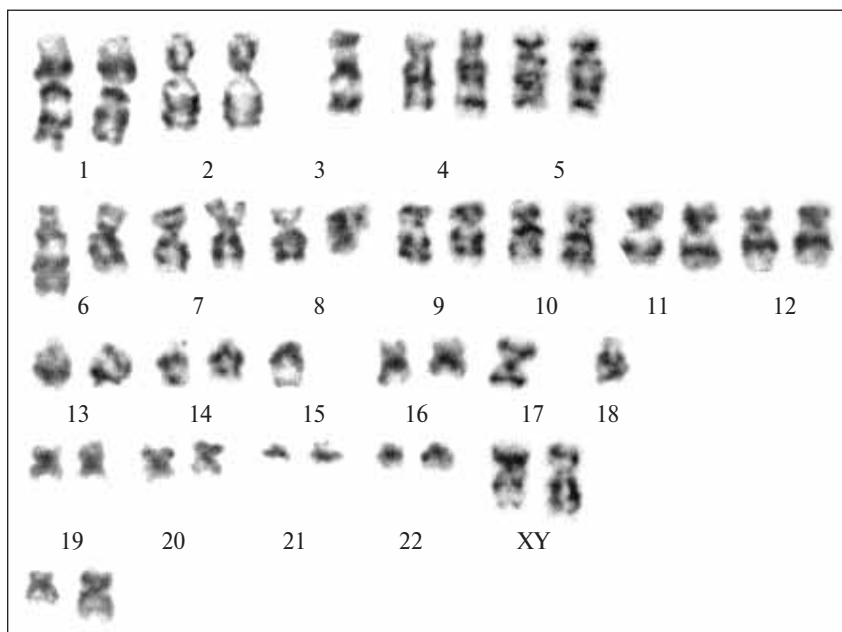


Рис. 2. Больная С., диагноз ОНЛЛ М4. Кариотип: 46, XX, -4, t(6;17)(p25;q25), -15, i(17q), -18, +mar[2]

Больной Т., 58 лет. Заболевание протекало агрессивно с проявлениями гипертермии, выраженного геморрагического синдрома, увеличением печени до 3 см и увеличения селезенки до 4 см ниже реберной дуги. Общий клинический анализ крови от 2.05.2004: Нб — 47 г/л, эритроциты — $1,6 \times 10^{12}$ /л, цветной показатель — 0,9, лейкоциты — $2,3 \times 10^9$, бластные клетки — 38%, тромбоциты — 27×10^9 /л. СОЭ — 60 мм/ч. Исследование КМ : бластные



Рис. 3. Больной Т. Диагноз ОНЛЛ М4. Кариотип: 51, XY, t(12;18)(p13;p11.3), +8, +10, -15, der17, +mar[5]

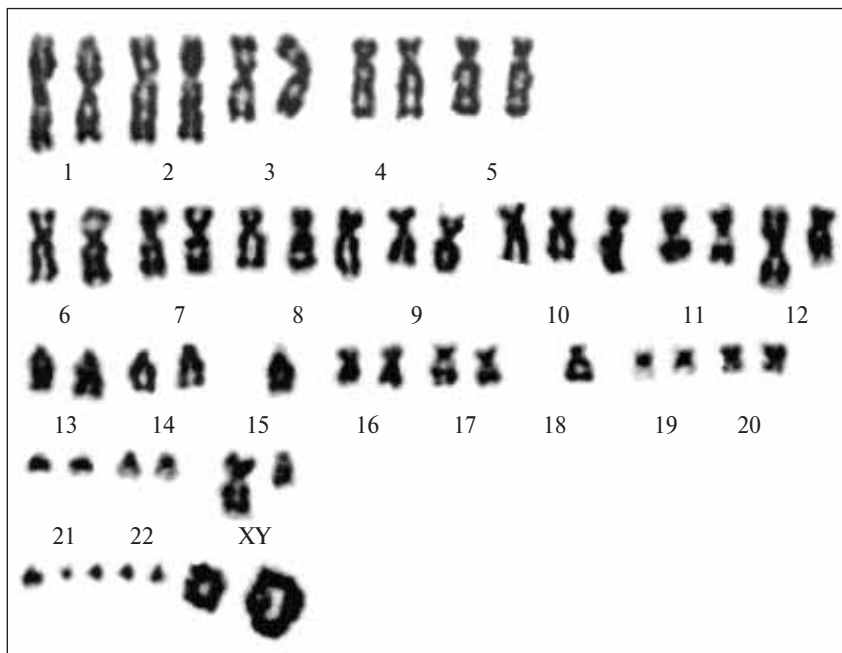


Рис. 4. Кариотип 53, XY, t(12;18)(p13;p11.3), +8, +10, -14, der17, +r[2], +mar[5]

клетки — 86%, мц — 2%, сегментоядерные нейтрофилы — 4%, лимфоциты — 1%, моноциты — 1%, нормоциты: базофильные — 1%, полихроматофильные — 5%.

На основании цитохимического исследования ПК и КМ установлен диагноз ОНЛЛ М4 согласно критериям ФАБ-классификации.

Кариотипический анализ выявил связанные между собой патологические клоны: 51, XY, t(12;18)(p13;p11.3), +8, +10, -15, +mar[5]/50, XY, t(12;18)(p13;p11.3), +8, +10, -15, +mar[3], +min/50, XY, t(12;18)(p13;p11.3), +8, +10, -15, +mar[4]. На рис. 3 представлена метафазная пластинка с кариотипом: 51, XY, t(12;18)(p13;p11.3), +8, +10, -15, der17, +mar[5].

В доступной научной литературе данных относительно t(12;18)(p13;p11.3) не найдено [2]. С учетом этого t(12;18)(p13;p11.3) следует считать ранее не описанной реаранжировкой хромосом у больных с ОНЛЛ.

Состояние больной после проведения ПХТ по схеме «7+3» прогрессивно ухудшалось. В связи с низкой чувствительностью бластных клеток к ПХТ количество бластов в ПК не уменьшилось. Вследствие прогрессирования патологического процесса больной умер.

Таким образом, описанные выше аномалии хромосом больных ОНЛЛ объединяют несколько общих признаков.

1. Выявленные реаранжировки хромосом имеют множественные аномалии кариотипа, что может указывать на возможность наличия в прошлом миелодиспластического синдрома, который не был диагностирован.

2. Отдельные составляющие выявленных кариотипических изменений всех трех больных, а именно t(6;17)(p25;q25), t(12;18)(p13;p11.3), t(2;15)(p13;p11.3), относятся к ранее не описанным реаранжировкам хромосом.

3. В идентифицированных транслокациях t(6;17)(p25;q25), t(12;18)(p13;p11.3), t(2;15)(p13;p11.3) принимают участие целые хромосомы.

Образование этих реаранжировок является главной особенностью выявленных хромосомных аномалий. Как известно, транслокации хромосом разделяются на сбалансированные, в результате которых не происходит потеря генетического материала, а также несбалансированные, приводящие к потере фрагментов хромосом. В каждом из этих случаев в транслокацию вступают фрагменты двух задействованных в перестройке хромосом [11]. В образовании $t(6;17)(p25;q25)$, $t(12;18)(p13;p11.3)$, $t(2;15)(p13;p11.3)$ принимают участие целые хромосомы, поэтому этот механизм аналогичен образованию дицентриков и кольцевых хромосом. Как правило, такие реаранжировки являются следствием делеций конечных отделов хромосом и последующим их соединением [12].

Дополнительным доказательством такого механизма образования транслокаций служит наличие кольцевых хромосом, которые также являются результатом соединения концевых делеций одной хромосомы, у больного Т. (рис. 4).

К особенностям выявленных реаранжировок у всех трех больных следует отнести обнаружение общих неслучайных цитогенетических изменений, которые играют определенную роль в патогенезе ОНЛЛ. Обращает на себя внимание участие 15-й хромосомы в образовании различных аномальных кариотипов. Дважды выявлена моносомия 15-й хромосомы, в одном случае данная хромосома принимала участие в транслокации. Окончательная роль всех расположенных на 15-й хромосоме генов в становлении ОНЛЛ не установлена. Однако предполагается, что локализованный в локусе 15q22 ген промиелоцитарного лейкоза может играть существенную роль в возникновении как острой промиелоцитарной лейкемии, так и других лейкозов. Доказательством этого служит улучшение результатов лечения больных

с различными вариантами ОНЛЛ в результате применения препаратов трансретиноевой кислоты [13].

Таким образом, определяемые нами особенности цитогенетических изменений у больных ОНЛЛ, основывающиеся на качественных характеристиках выявленной патологии хромосом. Частота таких аномалий кариотипа может достигать 8%, что указывает на необходимость продолжить наблюдения за пациентами, имеющими аналогичные реаранжировки хромосом [14].

Согласно общепринятым критериям больные ОНЛЛ с наличием сложных изменений хромосом относятся к группе неблагоприятного прогноза [15]. Выявленные в описанных случаях комплексные аномалии кариотипа обусловили тяжелое течение заболевания и низкую чувствительность бластных клеток к проводимой терапии. Достигнуть улучшения клинико-гематологических показателей после проведения стандартной терапии по схеме «7+3» не удалось ни в одном из случаев. Длительность течения заболевания у пациентов не превышала 2 мес. Смерть больных наступала от прогрессирования основного заболевания и развития различных осложнений.

Безусловно, одна из основных проблем, которая сейчас не позволяет решить вопрос патогенетического влияния изменений хромосом на геном клетки в процессе малигнизации, заключается в значительном количестве различных реаранжировок [4]. Необходим поиск и выделение кариотипических изменений, имеющих определяющее влияние на образование патологического клона. С учетом успехов в лечении ОНЛЛ становится очевидным, что изучение генетических механизмов онкогенеза с целью их дальнейшей коррекции является перспективным направлением в борьбе с этим тяжелым заболеванием.

Л и т е р а т у р а

- Третьяк Н. М. Гематология. Учебное издание. Киев, Внешняя торговля; 2005. с. 240.
- Bennett J. M., Catovsky D., Daniel M.-T., Flandrin G., Galton D. A. G., Gralnick H. R. Sultan C. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML-MO). *Br J Haematol* 1991;78:325.
- Сергеев А.Г., Иванов Р.А., Фечина Л.Г. Диагностическое и прогностическое значение генетических аномалий опухолевых клеток при лейкозах. *Гематол и трансфузиол* 2000;45(1):28—35.
- Mitelman F. *Catalog of Chromosome Aberrations in Cancer*/ Eds. Johansson B., Mertens F. John Wiley and Sons, Inc. 1998.
- Harris N.L., Jaffe E.S., Diebold J. The World Health Organization Classification of Neoplasms of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting — Airlie House, Virginia, November 1997. *J. Hematology* 2000;1:53—66.
- Волкова М.А. Клиническая онкогематология. Руководство для врачей. М., Медицина; 2001.
- Флейшман Е.В., Соколова О.И., Попа А.И. и др. Возрастные особенности цитогенетических изменений при острых миелоидных лейкозах. *Онкогематол* 2007;4:12—17.
- Ram S. Verma, Arvind Babu. *Human chromosomes: principles and techniques*. 1995. p. 411.
- ISCN 1995: An International System for Human Cytogenetics. Nomenclature. Ed by Mitelman F.; 1994.
- Coignet L.J., Lima C.S., Min T. et al. Myeloid- and lymphoid-specific breakpoint cluster region in chromosome band 13q14 in acute leukemia. *Genes Chromosom Cancer* 1999;25:222—9.
- Ольшанская Ю.В., Домрачева Е.В. Хромосомные перестройки при острых лейкозах. М., МЕДпресс-информ 2006; с. 112.
- Gisselsson D., Hglund M., Mertens F. et al. The structure and dynamics of ring chromosomes in human neoplastic and non-neoplastic cells. *Hum Genet* 1999;104:315—25.
- Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н. Лечение острых лейкозов. М., МЕДпресс-информ 2004; с. 224.
- Вакульчук А.М., Третьяк Н.Н., Калинина С.Е. и др. Зависимость клинической картины и чувствительности к химиотерапии больных МДС и ОНЛЛ от изменений кариотипа. *Вестн гематол* 2007;111(2):10.
- Mrozek K., Heinon K., Bloomfield C.D. Prognostic Value of Cytogenetic Finding in Adults With Acute Myeloid Leukemia. *Inter. J. Haematol.* 2000;72:261—71.

ЛЕЧЕНИЕ ЛИМФОМЫ ХОДЖКИНА У ПОДРОСТКОВ И МОЛОДЫХ ВЗРОСЛЫХ

С.В. Семочкин¹, С.С. Лория¹, А.Г. Румянцев¹, В.М. Сотников²

¹ФГУ «ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии» Росздрава, Москва;

²ФГУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Росмедтехнологий», Москва

Представлен анализ клинической эффективности протокола DAL-HD-90m в лечении подростков и взрослых молодого возраста с лимфомой Ходжкина (ЛХ). В исследование с ноября 1997 г. по апрель 2007 г. включено 97 пациентов (38 мужчин, 59 женщины) в возрасте от 15 до 45 лет с впервые диагностированной ЛХ. Больным с клиническими стадиями IA, IB и IIA (терапевтическая группа (ТГ) 1) проводили терапию в объеме 2 циклов полихимиотерапии (ПХТ) по схеме ODPa (винкристин, дакарбазин, преднизолон, адриамицин) для лиц женского или OEPA (винкристин, этопозид, преднизолон, адриамицин) для лиц мужского пола. Пациентам со стадиями IIB, IIIA, IE A, IE B, IIE A (ТГ 2) дополнительно проводили 2 цикла COPD (циклофосфамид, винкристин, преднизолон, дакарбазин). В случае IIIB, IVA, IVB, IIE B, IIIE A, IIIE B стадий (ТГ 3) вне зависимости от пола всем пациентам проводили 2 цикла ODPa и 4 цикла COPD. Лучевую терапию (ЛТ) назначали всем пациентам на первично пораженные лимфатические области в суммарной очаговой дозе (СОД) 30 Гр с дополнительным облучением (6–10 Гр) на остаточные опухоли. Полная ремиссия (CR) наблюдалась у 91% пациентов в ТГ 1, 94% в ТГ 2 и 89% в ТГ 3. Шестилетняя общая выживаемость составила $0,91 \pm 0,09$; $0,88 \pm 0,08$ и $0,76 \pm 0,08$ соответственно, бессобытийная выживаемость — $0,91 \pm 0,09$; $0,94 \pm 0,06$ и $0,93 \pm 0,05$ соответственно. Отсутствие CR/CRu после 2 курсов индукционной терапии OPpa/OEPA ($0,60$ против $0,93$; $p=0,006$), большие инициальные опухолевые массы более 50 см^3 ($0,66$ против $0,91$, $p=0,017$) и величина МПИ ≥ 4 ($0,44$ против $0,82$; $p=0,039$) были факторами неблагоприятного прогноза у больных ТГ 3.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, подростки, лица молодого возраста, протокол DAL-HD-90m

TREATMENT OF HODGKIN'S LYMPHOMAS IN ADOLESCENT AND YOUNG PATIENTS

S.V.Semochkin, S.S.Loriya, A.G.Rumyantsev, V.M.Sotnikov

Federal State Enterprise «Federal Research Clinical Center

of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Russian Public Health;

Federal State Enterprise «Russian Research Center of Roentgen-Radiology» of Russian Medical Technologies, Moscow

Clinical efficacy of DAL-HD-90m protocol in the treatment of adolescent and young patients with Hodgkin's lymphomas was analyzed. From November 1997 to April 2007, 97 patients (38 males and 59 females) aged from 15 to 45 years with first diagnosed Hodgkin's lymphomas were enrolled to trial. Patients with IA, IB and IIA stages (therapeutic group (TG) 1) were treated by 2 cycles of ODPa regimen (vincristine, procarbazine, prednisolone, adriamycin) for females and 2 cycles of OEPA regimen (vincristine, etoposide, prednisolone, adriamycin) for males. Patients with IIB, IIIA, IE A, IE B, IIE A stages (TG 2) received additional two cycles of multi-agent chemotherapy with COPD regimen (cyclophosphamide, vincristine, prednisolone, adriamycin). Patients of TG 3 (stages IIIB, IVA, IVB, IIE B, IIIE A, IIIE B) were treated with 2 cycles of ODPa and 4 cycles of COPD regimens irrespective of the patient's sex. Radiotherapy was carried out to all patients: targets included regional lymph nodes (total local dose of 30 Gy) and additionally the residual tumor (total dose of 6-10 Gy). Complete response was achieved in 91 % patients from TG 1, 94% patients from TG 2 and 89% from TG 3 group. Six-year overall survival was $0,91 \pm 0,09$; $0,88 \pm 0,08$ and $0,76 \pm 0,08$, respectively. The absence of CR/CRu after 2 courses of OPpa/OEPA ($0,60$ versus $0,93$; $p=0,006$), initial tumors of larger volumes than 50 cm^3 ($0,66$ versus $0,91$, $p=0,017$) and the International Prognostic Index no lower than 4 points ($0,44$ versus $0,82$; $p=0,039$) were unfavorable prognostic factors for TG3 patients in this study.

Key words: Hodgkin's lymphoma, adolescents, young patients, DAL-HD-90m protocol

Ежегодно в России диагностируется около 3,2 тыс. новых случаев лимфомы Ходжкина (ЛХ) [1]. Максимальный показатель заболеваемости отмечается у молодых пациентов в возрасте от 15 до 30 лет [2].

ЛХ — высокочувствительная к лечению опухоль. В отношении нее проведено большое количество хорошо организованных рандомизированных терапевтических исследований, накоплено много данных характеризующих ее течение. Современная

концепция риск-адаптированной терапии ЛХ направлена на повышение эффективности и снижение риска отдаленных осложнений [3]. Как в детской, так и во взрослой практике общепринято деление пациентов с ЛХ на группы риска в соответствии с клинической стадией по Анн-Арбор и наличием отдельных инициальных клинических и лабораторных прогностических факторов. Опухолевый процесс разделяют на анатомически локализованный (ранние стадии) и распространенный (генера-

лизованные стадии). Стадии I—II без факторов риска обычно классифицируют как ранние стадии с благоприятным прогнозом (низкий риск), а в случае наличия факторов риска — как ранние стадии с неблагоприятными прогностическими факторами (промежуточный риск). Стадии III—IV рассматривают как генерализованные (высокий риск). К факторам неблагоприятного прогноза большинство исследователей относят массивные опухолевые поражения (bulky disease), вовлечение экстранодальных органов (E-стадии), биологические признаки опухолевой активности (симптомы интоксикации и повышение СОЭ) и вовлечение 4 и более лимфатических регионов [4].

Исторически лучевая терапия (ЛТ) была первым эффективным методом лечения ЛХ. В ЛТ по поводу ЛХ существуют два подхода: первый — облучение зон поражения (involved field — IF), второй — облучение «протяженными» полями (extended field — EF), когда облучают не только те лимфатические узлы и структуры, поражение которых установлено с помощью объективных методов исследования, но и лимфатические узлы, поражение которых можно только предполагать [5]. Очевидной тенденцией в мировой практике становится уменьшение объемов и доз ЛТ [6].

Педиатрическая стратегия лечения детей и подростков с ЛХ направлена на минимизацию интенсивности ЛТ, сокращение суммарных доз алкилирующих цитостатиков и антрациклинов с целью снижения риска отдаленных осложнений (вторичных опухолей, сердечно-сосудистых событий) и нарушения фертильности [7]. Значимым этапом в развитии данной стратегии стал немецко-австрийский протокол DAL-HD-90. В рамках данного исследования пациенты в зависимости от группы риска получали соответственно 2 (низкий), 4 (промежуточный) или 6 (высокий риск) циклов полихимиотерапии (ПХТ) с последующим облучением зон поражения в СОД 20—25 Гр [8].

Как показано в недавно опубликованной работе посвященной отдаленным результатам DAL-HD-78 и DAL-HD-90, кумулятивный риск всех вторичных опухолей через 22 года наблюдения составил $11 \pm 2\%$, в том числе $10 \pm 2\%$ для солидных опухолей; $0,8 \pm 0,5\%$ для НХЛ и $0,6 \pm 0,3\%$ для лейкозов [9]. Ограниченное применение антрациклинов (суммарная доза доксорубицина 160 мг/м^2) в 2 индукционных циклах ОРРА (винкристин, прокарбазин, преднизолон, доксорубицин) для девочек и ОЕРА (винкристин, этопозид, преднизолон, доксорубицин) для мальчиков практически не приводит к кардиотоксичности. Только у одного из 1200 пациентов развилась хроническая кардиомиопатия [9]. Немаловажно и то обстоятельство, что замена прокарбазина (ОРРА) на этопозид (ОЕРА) позволяет сохранить нормальный сперматогенез у пациентов мужского пола двух первых терапевтических

групп (ТГ) [9]. Протокол предусматривает полный отказ от применения блеомицина, широко используемого во взрослых программах и ответственного за высокую частоту пневмонитов в случае комбинирования с облучением медиастинальных лимфатических узлов [10].

Подростки в силу возрастных особенностей могут получать лечение как по педиатрическим, так и по взрослым протоколам. Убедительных данных о преимуществе указанных вариантов терапии в отношении подростков нет, несмотря на то, что они во многом различаются по дозо-временной интенсивности, спектру используемых противоопухолевых препаратов и режимов ЛТ. В то же время в литературе имеются отдельные сообщения о чрезмерной отдаленной токсичности в случае лечения подростков по некоторым взрослым программам [11].

Целью настоящей работы явился анализ клинической эффективности протокола DAL-HD-90m в лечении подростков и взрослых молодого возраста с ЛХ, а также оценка прогностической ценности наиболее часто используемых клинических и биологических показателей применительно к моделям формирования прогностических групп пациентов.

Материалы и методы

В исследование с ноября 1997 г. по апрель 2007 г. было включено 97 пациентов (38 мужчин, 59 женщин) в возрасте от 15 до 45 лет с впервые диагностированной ЛХ. Анализ результатов выполнен по состоянию на апрель 2008 г. Сроки наблюдения за пациентами составили от 1 до 11 лет (медиана 5,8 года). Лечение по протоколу DAL-HD-90m последовательно проводилось сначала в отделении подростковой и возрастной гематологии ФГУ «ФНКЦ ДГОИ» Росздрава, а затем в отделении комбинированных методов лечения ФГУ «РНЦ рентгенодиагностики» Росмедтехнологий.

Результаты исследования представлены отдельно по двум возрастным группам: подростки 15—18 лет (медиана 16,0 года) — 49 (50,5%) пациентов и молодые взрослые 19—45 лет (медиана 21,0 года) — 48 (49,5%) человек.

Больным с клиническими стадиями IA, IB и IIA (ТГ 1, ранние стадии) проводили терапию в объеме 2 циклов ПХТ по схеме ODPA (винкристин, дакарбазин, преднизолон, адриамицин) для лиц женского или ОЕРА для лиц мужского пола. Пациентам со стадиями IIB, IIIA, IЕ A, IЕ B, IЕ A (ТГ 2, промежуточные стадии) дополнительно проводили 2 цикла COPD (циклофосфамид, винкристин, преднизолон, дакарбазин). В случаях со стадиями IIIB, IVA, IVB, IЕ B, IIЕ A, IIЕ B (ТГ 3, генерализованные стадии) вне зависимости от пола всем пациентам проводили 2 цикла ODPA и 4 цикла COPD. Дизайн протокола DAL-HD-90m представлен на рис. 1.

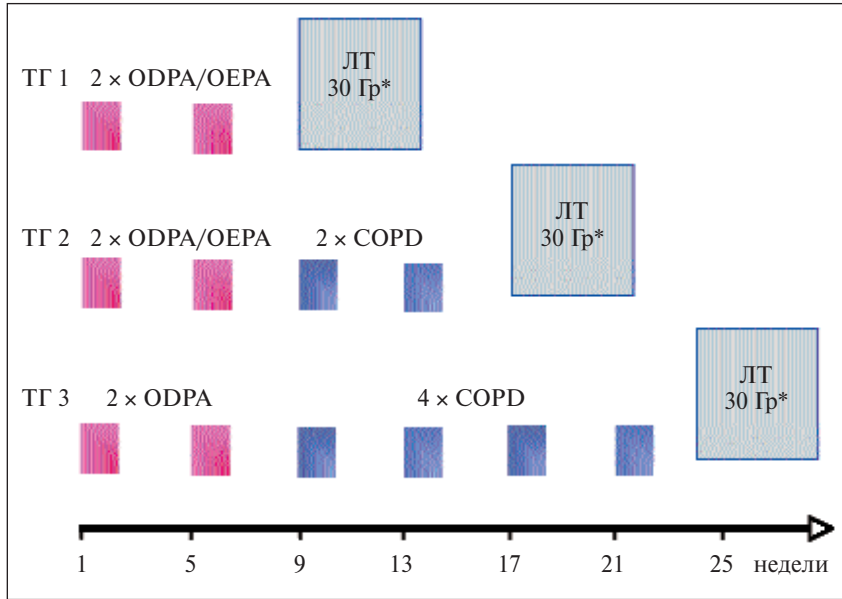


Рис. 1. Общий терапевтический план протокола DAL-HD-90m
Примечание: ТГ — терапевтическая группа; ЛТ — лучевая терапия.
* — дополнительно 6–10 Гр на остаточные опухоли.

Таблица 1. Инициальные характеристики пациентов

Параметры	Подростки		Взрослые		Всего:	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Пациенты	49	100	48	100	97	100
Возраст, лет						
Медиана	16		21		18	
Разброс	15–18		19–45		15–45	
Пол						
Мужской	21	43	17	35	38	39
Женский	28	57	31	65	59	61
Гистологический вариант						
Нодулярный склероз	35	71	36	75	71	73
Смешанно-клеточный	13	27	11	23	24	25
Лимфоидное истощение	1	2	1	2	2	2
Симптомы интоксикации						
А-стадии	10	20	8	17	18	19
Б-стадии	39	80	40	83	79	81
Большие инициальные опухолевые массы (> 50 см ³)						
Нет	18	37	21	44	39	45
Есть	31	63	27	56	58	55
Большие инициальные опухолевые массы (> 200 см ³)						
Нет	38	78	34	71	72	74
Есть	11	22	14	29	25	26
Медиастинально-торакальный индекс (n=88)						
< 1/3	32/43	74	35/45	78	67	76
≥ 1/3	11/43	26	10/45	22	21	24
Терапевтическая группа						
1	6	12	5	10	11	11
2	19	39	13	27	32	33
3	24	49	30	63	54	56

Примечание: $p > 0,05$ при всех вариантах сравнения между группами.

ЛТ проводилась в объеме облучения первично пораженных лимфатических областей в СОД 30 Гр с дополнительным облучением остаточных опухолей в дозе 6–10 Гр. Облучение первично вовлеченных нелимфоидных органов (за исключением костного мозга) проводилось в дозах, адаптированных к лучевой толерантности соответствующей нормальной ткани. Легкие и почки не включали в программу ЛТ в случае полной регрессии опухолевых очагов в данных органах в процессе ПХТ.

Модификация оригинального протокола была осуществлена по следующим позициям:

1. Больным ТГ 3 проводили 2 цикла ODPA вне зависимости от пола, поскольку по результатам оригинального исследования 2 цикла OEPA были недостаточно эффективны для пациентов мужского пола ТГ 3 [8].

2. Из-за отсутствия в России в течение долгого времени прокарбазина он был заменен дакарбазином в дозе 375 мг/м² в виде внутривенной инфузии в 1-й и 14-й дни цикла, аналогично таковому в циклах ABVD [12].

3. Взрослым пациентам вместо винкристина в дозе 1,5 мг/кг (максимум 2 мг) внутривенно вводился винбластин в эквивалентной дозировке 6 мг/кг (максимум 10 мг) внутривенно, что связано с более высокой кумулятивной неврологической токсичностью винкристина у взрослых больных [12].

4. СОД на лимфатические области была увеличена с 20–25 до 30 Гр, что связано с большей неравномерностью распределения дозы ЛТ при использовании гамма-терапевтических установок с источником Co⁶⁰ по сравнению с линейными ускорителями [13].

В качестве второй линии (salvage) терапии пациентам с прогрессией ЛХ дальнейшее лечение проводили по програм-

ме ВЕАСОРР (блеомицин, этопозид, доксорубин, циклофосфан, винбластин, прокарбазин, преднизолон) эскалированный с дополнением ЛТ [14].

Большими опухолевыми массами считали поражения внутригрудных лимфатических узлов с медиастинально-торакальным индексом (МТИ) $\geq 1/3$ или любые локализации с объемом опухолевого узла или конгломерата более 50 см³. Объем рассчитывали по данным двустороннего измерения размеров образования по следующей формуле: $V = \pi/6 \times d1 \times d1 \times d2$, где V — объем образования в см³, $d1$ — ширина, $d2$ — длина лимфатического узла или опухоли [15].

Международный прогностический индекс (МПИ) рассчитан для пациентов ТГ 3 по общепринятой методике, учитывающей следующие неблагоприятные признаки: сывороточный альбумин < 4,0 г/дл, гемоглобин < 10,5 г/дл, мужской пол, IV клиническая стадия по Анн-Арбор, лейкоцитоз > $15,0 \times 10^9$ /л, лимфопения < $0,6 \times 10^9$ /л и/или < 8% от общего числа лейкоцитов периферической крови [16].

Эффективность лечения определяли по показателю достижения полных ремиссий (CR/CRu), частоте рецидивов, числу случаев прогрессии, смертей, показателям общей (overall survival — OS), безрецидивной (disease free survival — DFS) и бессобытийной (event free survival — EFS) выживаемости.

При описании неблагоприятных событий использована следующая классификация: первичная прогрессия ЛХ — прогрессия на протяжении первой линии терапии или в пределах первых 3 мес после ее окончания; ранние рецидивы — рецидивы, возникшие в интервале от 3 до 12 мес после окончания терапии, и поздние рецидивы — рецидивы, диагностированные через 12 мес и позже после окончания терапии [17].

Исследование прогностической значимости отдельных клинических и лабораторных

Таблица 2. Результаты терапии больных с ранними стадиями с благоприятным прогнозом (ТГ 1)

Параметры	Подростки (n=6)		Взрослые (n=5)		Всего (n=11)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
CR/CRu						
После 2-х циклов ОРРА/ОЕРА	4	67	4	80	8	73
После завершения протокола	5	83	5	100	10	91
Прогрессия	1	17	0	0	1	9
Рецидивы	0	0	0	0	0	0
6-летняя DFS	1,0±0,0		1,0±0,0		1,0±0,0	
Смерть (осложнения терапии 2-й линии)	1	17	0	0	1	9
6-летняя EFS	0,83±0,15		1,0±0,0		0,91±0,09	
ППР	5	83	5	100	10	91
6-летняя OS	0,83±0,15		1,0±0,0		0,91±0,09	

Примечание: $p > 0,05$ при всех вариантах сравнения между группами. CR/CRu — полная ремиссия/полная ремиссия недоказанная; DFS (disease free survival) — безрецидивная выживаемость; EFS (event free survival) — бессобытийная выживаемость; OS (overall survival) — общая выживаемость; ППР — первая продолжительная ремиссия.

показателей выполнено отдельно для пациентов ТГ 2 и ТГ 3. В отношении ТГ 1 анализ не проводился в виду ее численной ограниченности. Изучена значимость следующих признаков: возраст, пол, гистологический вариант ЛХ, МПИ для ге-

Таблица 3. Результаты терапии больных с ранними стадиями с факторами неблагоприятного прогноза (ТГ 2)

Параметры	Подростки (n=19)		Взрослые (n=13)		Всего (n=32)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
CR/CRu						
После 2 циклов ОРРА/ОЕРА	10	53	9	69	19	59
После завершения протокола	19	100	11	85	30	94
Прогрессия	0	0	2	15	2	6
Рецидивы						
Ранние	1	5	0	0	1	3
Поздние	1	5	0	0	1	3
6-летняя DFS	0,90±0,08		1,0±0,0		0,93±0,07	
Смерть						
Прогрессия/рецидивы	1	5	0	0	1	3
Осложнения терапии 2-й линии	1	5	0	0	1	3
6-летняя EFS	0,90±0,08		0,85±0,15		0,88±0,08	
ППР	17	90	11	85	28	88
6-летняя OS	0,90±0,09		1,0±0,0		0,94±0,06	

Примечание: $p > 0,05$ при всех вариантах сравнения между группами. CR/CRu — полная ремиссия/полная ремиссия недоказанная; DFS (disease free survival) — безрецидивная выживаемость; EFS (event free survival) — бессобытийная выживаемость; OS (overall survival) — общая выживаемость; ППР — первая продолжительная ремиссия.

Таблица 4. Результаты терапии больных с генерализованными стадиями (ТГ 3)

Параметры	Подростки (n=24)		Взрослые (n=30)		Всего (n=54)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
CR/CRu						
После 2 циклов ОРРА/ОЕРА	15	63	12	40	27	50
После завершения протокола	21	91	26	87	47	89
Прогрессия	3	13	3	10	6	11
Рецидивы						
Ранние	0	0	1	3	1	2
Поздние	2	8	3	10	5	9
6-летняя DFS	0,91±0,06		0,85±0,10		0,88±0,06	
Смерть						
Прогрессия/рецидивы	1	4	2	7	3	6
Осложнения терапии 2-й линии	0	0	1	3	1	2
Вторичная опухоль	0	0	1	3	1	2
6-летняя EFS	0,79±0,09		0,73±0,12		0,76±0,08	
Вышли из-под наблюдения	0	0	1	3	1	2
ППР	19	79	22	73	41	76
6-летняя OS	0,96±0,04		0,90±0,09		0,93±0,05	

Примечание: $p > 0,05$ при всех вариантах сравнения между группами. CR/CRu — полная ремиссия/полная ремиссия недоказанная; DFS (disease free survival) — безрецидивная выживаемость; EFS (event free survival) — бессобытийная выживаемость; OS (overall survival) — общая выживаемость; ППР — первая продолжительная ремиссия.

нерализованных стадий, наличие общих симптомов интоксикации, число пораженных лимфатических регионов (ЧПЛР), статус достижения CR/CRu после 2 циклов ОРРА/ОЕРА, повышение СОЭ более 30 мм/ч при стадии А или более 50 мм/ч при стадии В, МТИ $\geq 1/3$, наличие больших инициальных опухолевых масс более 50 см³ и локализованного поражения нелимфоидного органа (стадии Е).

Таблица 5. Токсические осложнения терапии

Осложнения/степень токсичности по CTC-NCIC	Подростки (n=49)		Взрослые (n=48)		Всего (n=97)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Анемия	3—4	6	12	7	15	13
Нейтропения	3—4	26	53	10	21*	37
Тромбоцитопения	3—4	1	2	2	4	3
Инфекции	1—2	11	22	7	15	19
	3—4	4	8	2	4	6
Тошнота/рвота	3—4	3	6	2	4	5
Подъем АЛТ/АСТ	3—4	7	14	9	19	17
Периферическая полинейропатия	1—2	9	18	12	25	22
	3	1	2	4	8	5

Примечание: $p < 0,05$ при сравнении между группами.

Статистическая обработка экспериментальных данных осуществлялась в соответствии с общепринятыми рекомендациями оценки результатов медико-биологических исследований [18]. Показатели выживаемости рассчитывались по методу Каплана—Майера [19]. Сравнительный анализ признаков между группами пациентов проводился с помощью непараметрического критерия χ^2 . Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты

Инициальные характеристики больных с ЛХ представлены в табл. 1.

Как видно из таблицы, не выявлено каких-либо значимых различий по исследованным инициальным параметрам между подростками и взрослыми. Доминирующим гистологическим вариантом в обеих возрастных группах был нодулярный склероз: 35 (71%) из 49 и 36 (75%) из 48 пациентов соответственно ($p > 0,05$). Симптомы интоксикации (стадии В) имели место в 39 (80%) и 40 (83%) случаев соответственно ($p > 0,05$). Большие инициальные опухолевые массы более 50 см³ диагностированы у 31 (63%) и 27 (56%), более 200 см³ — у 11 (22%) и 14 (29%) пациентов соответственно ($p > 0,05$). Недиастинальные опухоли с МТИ $\geq 1/3$ документированы у 21 (24%) из 88 пациентов, по которым имеются данные в полном объеме, без различий между группами: 26 и 22% соответственно ($p > 0,05$). Большая часть пациентов была с генерализованными (III, IV) клиническими стадиями: 24 (49%) и 30 (63%) соответственно ($p > 0,05$).

Результаты терапии пациентов со стадиями IA, IB и IIA (ТГ 1)

Результаты терапии больных с ранними стадиями ЛХ без факторов неблагоприятного прогноза (ТГ 1) представлены в табл. 2.

CR/CRu после завершения 2 индукционных курсов ОРРА/ОЕРА была констатирована у 8 (73%) из 11 пациентов ТГ 1. После завершения протокола статус ремиссии подтвержден у 10 (91%) пациентов. У 1 (9%)

пациентки диагностирована прогрессия ЛХ. Рецидивов заболевания не было, в первой продолжительной ремиссии (ППР) находятся 10 (91%) пациентов. шестилетняя DFS составила $1,0 \pm 0,0$; EFS и OS — $0,91 \pm 0,09$. Статистически значимых различий по указанным показателям между возрастными группами не отмечено ($p > 0,05$).

Результаты терапии пациентов со стадиями IIB, IIIA, IE A, IE B, IIE A (ТГ 2)

Результаты терапии больных с ранними стадиями ЛХ с факторами неблагоприятного прогноза (ТГ 2) представлены в табл. 3.

В ТГ 2 после 2 индукционных циклов химиотерапии CR/CRu зарегистрирована у 10 (53%) из 19 подростков и 9 (69%) из 13 взрослых, а после завершения всего объема лечения у 19 (100%) и 11 (85%) соответственно ($p > 0,05$). Отмечены 2 (6%) случая прогрессии, 1 (3%) ранний и 1 (3%) поздний рецидив. В ППР находятся 28 (88%) пациентов. шестилетняя DFS составила $0,90 \pm 0,08$ и $1,0 \pm 0,0$ соответственно ($p > 0,05$); EFS P $0,90 \pm 0,08$ и $0,85 \pm 0,15$ соответственно ($p > 0,05$) и OS P $0,90 \pm 0,09$ и $1,0 \pm 0,0$ соответственно ($p > 0,05$).

Результаты терапии пациентов со стадиями IIIB, IVA, IVB, IIE B, IIE A, IIE B (ТГ 3)

Результаты терапии генерализованных стадий ЛХ (ТГ 3) представлены в табл. 4.

CR/CRu после 2 индукционных циклов ODPa достигли 15 (63%) из 24 подростков и 12 (40%) из 30 взрослых ТГ 3 ($p > 0,05$). После завершения протокола DALHD-90m ремиссия подтверждена у 21 (91%) и 26 (87%) больных соответственно ($p > 0,05$). Всего в ТГ 3 отмечено 6 (11%) случаев прогрессии на фоне лечения, 1 (2%) ранний и 5 (9%) поздних рецидивов. В ППР находится 41 (76%) пациент. Вышел из-под наблюдения 1 (2%). шестилетняя DFS составила $0,91 \pm 0,06$ и $0,85 \pm 0,10$ соответственно ($p > 0,05$); EFS P $0,79 \pm 0,09$ и $0,73 \pm 0,12$ соответственно ($p > 0,05$) и OS P $0,96 \pm 0,04$ и $0,90 \pm 0,09$ соответственно ($p > 0,05$).

Таким образом, прогрессия на фоне первой линии терапии

констатирована у 9 (9%) больных: в ТГ 1 — 1 (9%); ТГ 2 — 2 (6%) и ТГ 3 — 6 (11%) соответственно. Из всех пациентов с прогрессией ЛХ 4 (45%) находятся в CR, достигнутой на salvage-терапии. Длительность наблюдения после достижения CR составила от 2 до 7 лет. Двое (22%) больных умерли от осложнений salvage-терапии и двое (22%) — непосредственно вследствие прогрессии ЛХ; 1 (11%) пациент вышел из-под наблюдения.

Рецидивы заболевания возникли у 8 (8%) пациентов ТГ 2 и ТГ 3: 2 (6%) и 6 (11%) соответствен-

Таблица 6. Прогностические факторы

Факторы	Терапевтическая группа					
	n	2 (n=32)		3 (n=54)		Вер.±SE
ППР		Вер.±SE	ППР	Вер.±SE		
Возраст, годы						
15—18	19	17	$0,90 \pm 0,08$	24	19	$0,79 \pm 0,09$
19—45	13	11	$0,85 \pm 0,15$	30	22	$0,73 \pm 0,12$
Пол						
мужской	23	21	$0,91 \pm 0,09$	30	23	$0,77 \pm 0,09$
женский	9	7	$0,78 \pm 0,14$	24	18	$0,75 \pm 0,09$
Гистологические варианты						
NS	23	20	$0,87 \pm 0,09$	39	31	$0,80 \pm 0,08$
MC/LD	9	8	$0,89 \pm 0,15$	15	10	$0,67 \pm 0,14$
Симптомы интоксикации						
стадии А	5	5	$1,0 \pm 0,0$	2	2	$1,0 \pm 0,0$
стадии В	27	23	$0,85 \pm 0,09$	52	39	$0,75 \pm 0,07$
Число пораженных лимфатических регионов						
≤ 3	10	8	$0,80 \pm 0,16$	16	14	$0,88 \pm 0,09$
≥ 4	22	20	$0,91 \pm 0,08$	38	27	$0,71 \pm 0,09$
CR/CRu после 2 индукционных циклов ODPa/OEPA (n=84)						
Есть	19	19	$1,0 \pm 0,0$	27	25	$0,93 \pm 0,06$
Нет	13	9	$0,69 \pm 0,15^*$	25	15	$0,60 \pm 0,12^*$
Повышение СОЭ > 30 (А)/50 (В-стадии) мм/ч (n=84)						
Нет	27	25	$0,93 \pm 0,06$	41	30	$0,73 \pm 0,09$
Есть	5	3	$0,60 \pm 0,30^*$	11	9	$0,82 \pm 0,18$
Медиастинально-торакальный индекс (n=77)						
< 1/3	21	19	$0,91 \pm 0,09$	37	28	$0,76 \pm 0,08$
≥ 1/3	6	4	$0,67 \pm 0,21$	13	9	$0,69 \pm 0,18$
Большие инициальные опухолевые массы более 50 см ³						
Нет	12	10	$0,83 \pm 0,14$	22	20	$0,91 \pm 0,08$
Есть	20	18	$0,90 \pm 0,08$	32	21	$0,66 \pm 0,10^*$
Е-стадии (n=60)						
Нет	28	24	$0,86 \pm 0,09$	18**	15	$0,83 \pm 0,10$
Есть	4	4	$1,0 \pm 0,0$	10**	8	$0,80 \pm 0,21$
Международный прогностический индекс (n=85)						
≤ 3	31	27	$0,87 \pm 0,08$	45	37	$0,82 \pm 0,07$
≥ 4	0	—	—	9	4	$0,44 \pm 0,18^*$

Примечание: * — $p < 0,05$; ** — исключены пациенты с IV стадиями; n — число пациентов; Вер. — вероятность; SE — стандартная ошибка; ППР — полная продолжительная ремиссия; NS — нодулярный склероз; MC — смешанно-клеточный вариант; LD — лимфоидное истощение.

но. Про времени возникновения 2 (25%) рецидива были ранними, 6 (75%) — поздними. У 4 (50%) пациентов были зарегистрированы локализованные рецидивы, ограниченные областями и регионами первичного поражения, а у других 4 (50%) — распространенные, захватывающие как облученные инициально пораженные области и/или регионы, так и новые лимфатические узлы, лимфоидные и нелимфоидные органы. Частота рецидивов в областях и/или регионах с большими инициальными опухолевыми массами и вне связи с таковыми существенно не различалась: 4 (50%) и 4 (50%) соответственно. Трое (38%) пациентов с поздними рецидивами находятся во второй CR. Длительность наблюдения составила от 2 до 9 лет. Умерли 5 (62%) пациентов с рецидивами ЛХ.

Всего на протяжении 6-летнего периода наблюдения умерло 7 (7%) пациентов: в ТГ 1 — 1 (9%), ТГ 2 — 2 (6%) и ТГ 3 — 4 (8%); из них вследствие прогрессии или рецидивов ЛХ — 3 (43%), осложнений терапии второй линии — 4 (57%).

Анализ токсичности протокола DAL-HD-90m

Анализ острых токсических осложнений химиотерапевтического этапа протокола DAL-HD-90m представлен в табл. 5.

Наиболее частым гематологическим осложнением была нейтропения 3-4-й степени (абсолютное число нейтрофилов $< 1,0 \times 10^9/\text{л}$) — 36 (37%) пациентов. Частота эпизодов указанного осложнения была выше в группе подростков — 26 (53%) против 10 (21%) в группе взрослых больных ($p=0,047$), од-

нако их продолжительность была клинически незначимой в обоих случаях: $4,7 \pm 2,1$ дня против $4,2 \pm 2,3$ дня соответственно. Тяжелые эпизоды инфекционных осложнений 3-4-й степени возникли лишь у 6 (6%) пациентов. Анемия и тромбоцитопения 3-4-й степени отмечены в небольшом числе случаев: 13 (13%) и 3 (3%) соответственно.

Тяжелая негематологическая токсичность (3–4-я степень) в целом встречалась достаточно редко: повышение активности АЛТ/АСТ — 16 (17%); тошнота и рвота — 5 (5%) и периферическая полинейропатия — 5 (5%). Ни у одного пациента не выявлено побочных эффектов со стороны функции почек.

В отношении отдаленных осложнений у 1 (1,1%) пациентки (ТГ 3) через 5,5 года от момента начала лечения по поводу ЛХ зарегистрирована вторичная опухоль (рак яичников), возникшая в пределах полей проведенного облучения.

Анализ прогностических факторов

В результате проведения однофакторного анализа оказалось, что на 6-летнюю EFS пациентов ТГ 2 статистически значимо влияли следующие показатели: (1) отсутствие CR/CRu после 2 курсов индукционной терапии OPRA/OEPA (0,69 против 1,0; $p=0,015$) и (2) повышение СОЭ более 30 мм/ч при стадии А или более 50 мм/ч при стадии В (0,60 против 0,93; $p=0,035$); ТГ 3: (1) отсутствие CR/CRu после 2 курсов индукционной терапии OPRA/OEPA (0,60 против 0,93; $p=0,006$), (2) большие инициальные опухолевые массы более 50 см³ (0,66 против 0,91, $p=0,017$) и (3) величина МПИ ≥ 4 (0,44 против 0,82; $p=0,039$). Такие факторы, как возраст, пол, гистологический вариант ЛХ, симптомы интоксикации, МТИ, ЧПЛР и стадии E, не влияли на прогноз (табл. 6).

Обсуждение

Результаты работы показывают, что протокол DAL-HD-90m для лечения подростков и лиц молодого возраста оказался достаточно эффективным.

Результаты терапии пациентов ТГ 1 (6-летняя EFS и OS — $0,91 \pm 0,09$) оказались высокими, сравнимыми с таковыми в ряде международных исследований (рис. 2). Во взрослой гематологии в качестве текущего стандарта лечения пациентов с ранними стадиями ЛХ без факторов риска рассматриваются 2 цикла ABVD с добавлением ЛТ зон поражения в СОД 20 Гр. Согласно данным исследования GHSG (German Hodgkin Study Group)

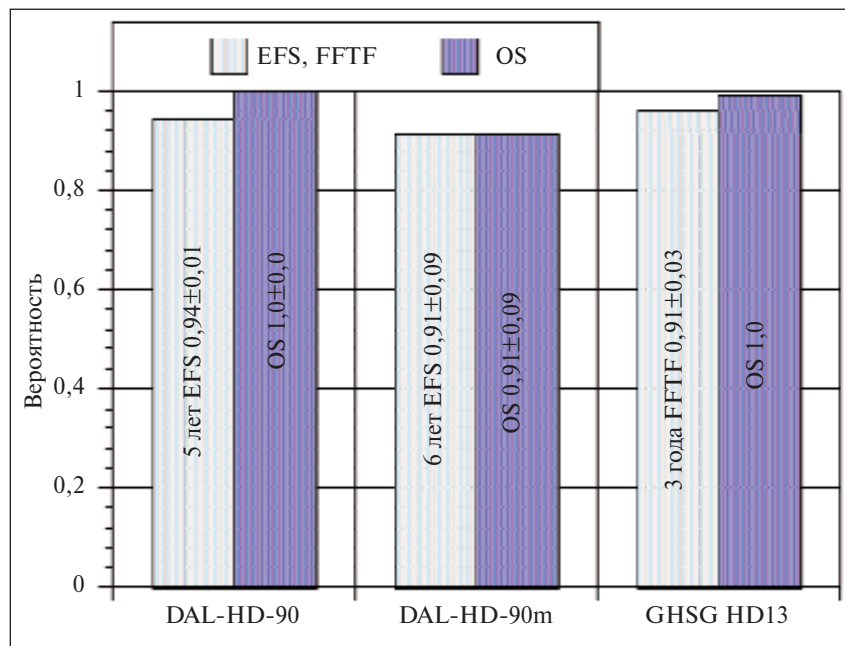


Рис. 2. Сравнительный анализ результатов терапии в ТГ 1 по протоколу DAL-HD-90m с данными международных исследований. Примечание: GHSG HD13: 2 цикла ABVD плюс ЛТ на зоны поражения в СОД 20 Гр. FTF (freedom of treatment failure) — выживаемость, свободная от неудач в лечении; EFS (event free survival) — бессобытийная выживаемость; OS (overall survival) — общая выживаемость.

HD13: 3-летняя выживаемость без зафиксированных неудач в лечении (freedom from therapy failure — FFTF) составила $0,91 \pm 0,03$; OS — 1,0 [22]. В оригинальном исследовании DAL-HD-90 у детей 5-летняя EFS была $0,94 \pm 0,06$, OS — $0,996 \pm 0,004$ [11], что близко с полученными нами показателями.

Эффективность лечения больных ТГ 2 (6-летняя EFS $0,88 \pm 0,08$; OS — $0,94 \pm 0,06$) также оказалась сопоставимой с международными данными (рис. 3). Большинство ведущих исследовательских групп рассматривают 4–6 циклов ABVD с ЛТ на зоны поражения в СОД 20–30 Гр в качестве стандарта лечения взрослых с ранними стадиями ЛХ с факторами неблагоприятного прогноза [20, 21]. Согласно данным HD14 GHSG для больных с ранними стадиями ЛХ с факторами риска 3-летняя FFTF составила $0,93 \pm 0,03$; OS — 1,0 [20]. В оригинальном исследовании DAL в отношении детей и подростков 5-летняя EFS была на уровне $0,93 \pm 0,02$, а OS — $0,97 \pm 0,02$ [8].

Стандарты терапии больных с генерализованными стадиями ЛХ до конца не определены и во многом являются предметом дискуссий и продолжающихся клинических исследований [4]. Эффективность терапии больных ТГ 3 (6-летняя EFS $0,76 \pm 0,08$) уступала таковой в оригинальном исследовании DAL-HD-90 (5-летняя EFS $0,86 \pm 0,03$) [8]. Результаты интенсивных режимов у взрослых также выглядят более успешными (рис. 4). В частности, в исследовании HD9 (GHSG) после 8 циклов BEACOPP (эскалированный) и ЛТ в СОД 30 Гр на большие инициальные опухолевые массы и 40 Гр на резидуальные опухоли 7-летняя FFTF оказалась на уровне $0,85$ [14]. Вместе с тем важно отметить, что, несмотря на различия в EFS/FFTF, показатель OS ($0,93 \pm 0,05$) по ТГ 3 в нашем исследовании идентичен таковому в двух выше указанных процитированных иссле-

дованиях: $0,94 \pm 0,02$ и $0,90$ соответственно [8, 14]. Это связано с чувствительностью в части случаев прогрессии ЛХ на фоне DAL-HD-90m к дальнейшей более интенсивной терапии. Напомним, что 4

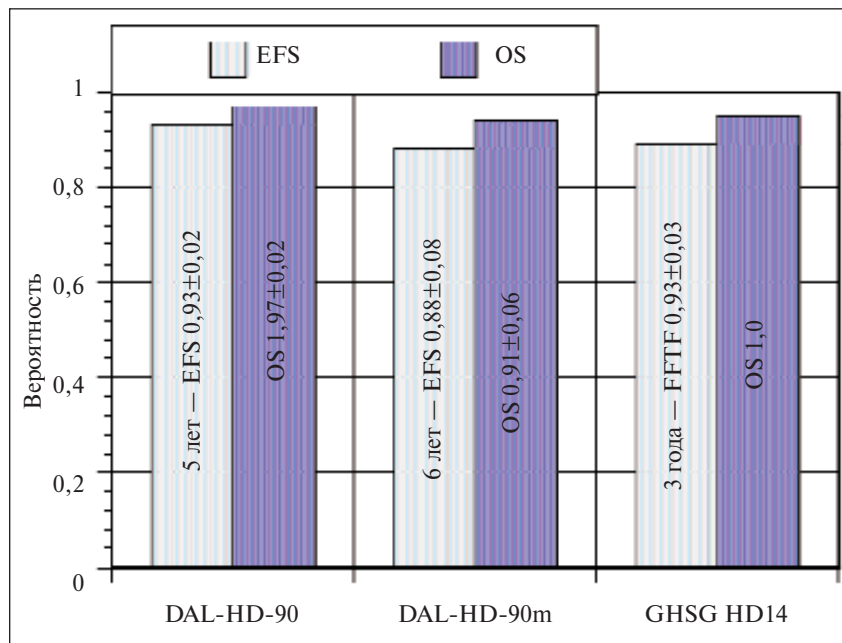


Рис. 3. Сравнительный анализ результатов терапии в ТГ 2 по протоколу DAL-HD-90m с данными международных исследований. Примечание: GHSG HD14: 4 цикла ABVD плюс ЛТ на зоны поражения в СОД 20–30 Гр. FFTF (freedom of treatment failure) — выживаемость, свободная от неудач в лечении; EFS (event free survival) — бессобытийная выживаемость; OS (overall survival) — общая выживаемость.

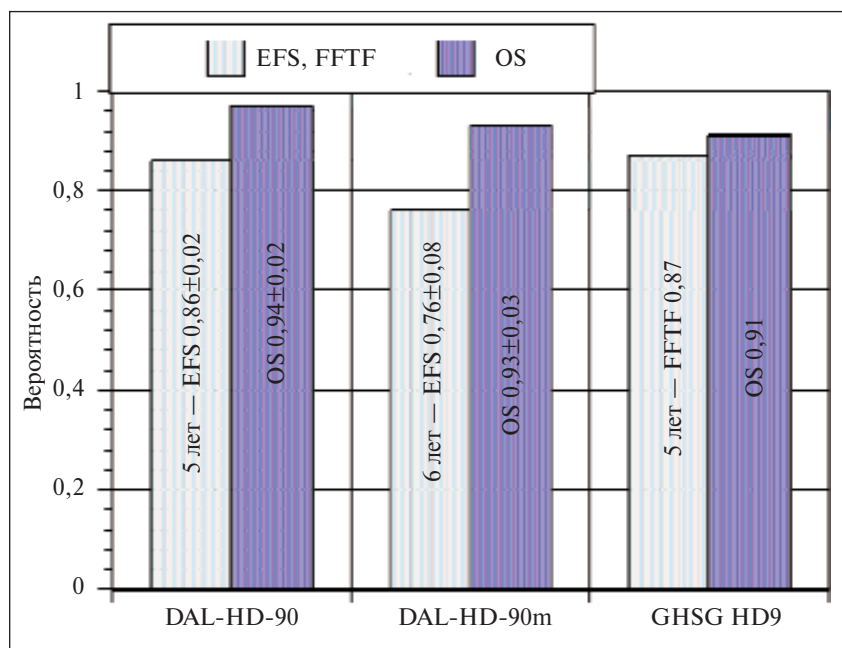


Рис. 4. Сравнительный анализ результатов терапии в ТГ 3 по протоколу DAL-HD-90m с данными международных исследований. Примечание: GHSG HD9: 8 циклов BEACOPP (эскалированный) плюс 30 Гр на инициальные большие опухолевые массы и 40 Гр на остаточные опухоли. FFTF (freedom of treatment failure) — выживаемость, свободная от неудач в лечении; EFS (event free survival) — бессобытийная выживаемость; OS (overall survival) — общая выживаемость.

(45%) из 9 пациентов с прогрессией ЛХ находятся в продолжительной ремиссии, достигнутой на фоне терапии по программе BEACOPP (эскалированный).

Наиболее спорным представляется вопрос о необходимом объеме химиотерапии для больных с генерализованными стадиями. В частности, предлагаемое отдельными исследователями количество циклов химиотерапии колеблется от 4 [22] до 12 (!) [23]. Совершенно очевидно, что далеко не всем больным с распространенной ЛХ необходимо проведение 8 или более циклов интенсивной химиотерапии, такой как, например, BEACOPP (эскалированный). Как показывает наше исследование, у основной части подростков и молодых взрослых (76%) сохраняется ППР после менее интенсивной

терапии в рамках DAL-HD-90m. Кроме того, отдаленные результаты терапии BEACOPP (эскалированный) пока недоступны.

Требует дальнейшего уточнения возможность точной идентификации группы больных, которым необходима интенсификация лечения. Как показали результаты нашей работы, представляется оправданным выделение группы высокого риска неудач в лечении на основе оценки МПИ для генерализованных стадий и результатов динамического обследования, проводимого после 2 индукционных циклов химиотерапии. Появление позитронно-эмиссионной томографии позволяет более точно оценить статус CR и может стать новой диагностической опцией, которая, возможно, изменит подходы к формированию групп риска [24].

Л и т е р а т у р а

1. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и странах СНГ в 2004 г. Вестн РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2006;17(3, прил 1):45—77.
2. Bleyer A., O'Leary M., Barr R., Ries L.A.G. Cancer Epidemiology in Older Adolescent and Young Adults 15 to 29 Years of Age, Including SEER Incidence and Survival: 1975—2000. National Cancer Institute, NIH Pub. No. 06-5767. Bethesda, MD 2006.
3. Meyer R.M., Ambinder R.F., Stroobants S. Hodgkin's Lymphoma: Evolving Concepts with Implications for Practice. Education book of American Society of Hematology 2004:184—202.
4. Hehn S.T., Miller T.P. What is the treatment of choice for advanced-stage Hodgkin's lymphoma: ABVD, Stanford V, or BEACOPP? *Curr Hematol Rep* 2004;3(1):17—26.
5. Канаев С.В., Малинин А.П., Гершанович М.Л. Лимфогранулематоз. В кн.: Лучевая терапия злокачественных опухолей. Под ред. Е.С. Киселевой. М., Медицина; 1996. с. 370—406.
6. Sieniawski M., Franklin J., Nogova L. et al. Outcome of patients experiencing progression or relapse after primary treatment with two cycles of chemotherapy and radiotherapy for early-stage favorable Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2007;25(15):2000—5.
7. Donaldson S.S., Link M.P. Combined modality treatment with low-dose radiation and MOPP chemotherapy for children with Hodgkin's disease. *J Clin Oncol* 1987;5(5):742—9.
8. Schellong G., Pфtter R., Brkmswing J. et al. High cure rates and reduced long-term toxicity in pediatric Hodgkin's disease: the German-Austrian multicenter trial DAL-HD-90. The German-Austrian Pediatric Hodgkin's Disease Study Group. *J Clin Oncol* 1999;17(12):3736—44.
9. Schellong G., Riepenhausen M. Late effects after therapy of Hodgkin's disease: update 2003/04 on overwhelming post-splenectomy infections and secondary malignancies. *Klin Padiatr* 2004;216(6):364—9.
10. Reinders J.G., Heijmen B.J., Olofsen-van Acht M.J. et al. Ischemic heart disease after mantlefield irradiation for Hodgkin's disease in long-term follow-up. *Radiother Oncol* 1999;51:35—42.
11. Yung L., Smith P., Hancock B.W. et al. Long term outcome in adolescents with Hodgkin's lymphoma: poor results using regimens designed for adults. *Leuk Lymphoma* 2004;45:1579—85.
12. Семочкин С.В. Оптимизация технологий лечения лимфопролиферативных заболеваний у подростков и лиц молодого возраста. Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. М.; 2007.
13. Самочатова Е.В., Владимирская Е.Б., Жесткова Н.М. и др. Болезнь Ходжкина у детей. Руководство для врачей. М., Алтус; 1997.
14. Diehl V., Franklin J., Pfreundschuh M. et al. Standard and increased-dose BEACOPP chemotherapy compared with COPP-ABVD for advanced Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 2003;348(24):2386—95.
15. Dieckmann K., Pфtter R., Hofmann J. et al. Does bulky disease at diagnosis influence outcome in childhood Hodgkin's disease and require higher radiation doses? Results from the German-Austrian Pediatric Multicenter Trial DAL-HD-90. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003;56:644—52.
16. Hasenclever D., Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med* 1998;339(21):1506—14.
17. Engert A., Klimm B., Josting A., Diehl V. Treatment of relapsed and refractory Hodgkin's lymphoma. Hematology (EHA Education Program) 2005;1(1):182—5.
18. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. М., Гэотар-мед; 2001.
19. Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Statist Assoc* 1958;53:457—81.
20. Diehl V., Fuchs M. Early, intermediate and advanced Hodgkin's lymphoma: modern treatment strategies. *Ann Oncol* 2007;18(Suppl 9):71—9.
21. Thomas J., Ferm O C., Noordijk E.M. et al. Results of the EORTC-GELA H9 randomized trials: the H9-F trials (comparing 3 radiation dose levels) and H9-U trials (comparing 3 chemotherapy schemes) in patients with favorable or unfavorable early stage Hodgkin's lymphoma (HL). *Haematologica/the hematology journal* 2007;92(s5):27.
22. Даценко П.В., Паньшин Г.А., Сотников В.М. и др. Новые программы комбинированного лечения лимфомы Ходжкина. *Онкогематология* 2007;(4):27—35.
23. Hutchinson R.J., Fryer C.J., Davis P.C. et al. MOPP or radiation in addition to ABVD in the treatment of pathologically staged advanced Hodgkin's disease in children: results of the Children's Cancer Group Phase III Trial. *J Clin Oncol* 1998;16(3):897—906.
24. Spaepen K., Stroobants S., Dupont P. et al. Can positron emission tomography with [18F]-fluorodeoxyglucose after first-line treatment distinguish Hodgkin's disease patients who need additional therapy from others in whom additional therapy would mean avoidable toxicity? *Br J Haematol* 2001;115:272—8.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИМОЦИТАРНОГО ГЛОБУЛИНА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК

Ю.Р. Залялов, Б.А. Ганапиев, В.Г. Потапенко, Н. Б. Михайлова, Б.В. Афанасьев

Отделение трансплантации костного мозга Санкт-петербургского ГМУ им. акад. И.П. Павлова

Главными осложнениями аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) в раннем посттрансплантационном периоде являются острая РТПХ и реакция отторжения трансплантата. Мы проанализировали вероятность развития основных ранних осложнений у 109 пациентов с различными онкогематологическими заболеваниями, которым было выполнено 112 алло-ТГСК от родственных и неродственных доноров с миелоаблативными и немиелоаблативными режимами кондиционирования, как с использованием антимоцитарного глобулина АТГ, так и без него. Использование (АТГ) обеспечивает эффективный контроль острой РТПХ без увеличения риска рецидива основного заболевания и снижает вероятность отторжения донорского трансплантата до 7%. Таким образом, полученные нами результаты по применению АТГ в режимах кондиционирования при алло-ТГСК, выявили его способность эффективно снижать вероятность развития ранних посттрансплантационных осложнений, что способствует увеличению 4-летней общей выживаемости пациентов по сравнению с группой, в которой АТГ не применялся.

Ключевые слова: антимоцитарный глобулин, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, реакция «трансплантат-против хозяина», отторжение трансплантата.

ANTI-MONOCYTE GLOBULIN IN ALLOGENEIC TRANSPLANTATION OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS

Yu.R.Zalyalov, B.A.Ganapiyev, V.G.Potapenko, N.B.Mikhaylova, B.V.Afanasyev

Department of bone marrow transplantation of Academician I.P.Pavlov St. Petersburg State Medical University

Acute graft-versus-host disease (GFHD) and graft rejection reaction (GRR) early in the post-transplantation period are main complications of allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells. We analyzed the incidence of principal early complications in 109 patients with various oncohematologic diseases who underwent 112 allogeneic transplantations of hematopoietic stem cells from related and unrelated donors with myeloablative and non-myeloablative regimens of conditioning with and without use of anti-monocyte globulin. Application of anti-monocyte globulin provides effective control of acute GFHD without increment of disease relapsing risk and lowers the incidence of GRR to 7%. So, results of our study showed that usage of anti-monocyte globulin with conditioning regimens for patients who have undergone allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells, allows to effectively decrease the incidence of early post-transplantation complications. Consequently, that increases the 4-year overall survival of these patients as compared with patients who did not undergo the use of anti-monocyte globulin.

Key words: anti-monocyte globulin, transplantation of hematopoietic stem cells, graft-versus-host disease, graft rejection reaction

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) периферической крови — наиболее эффективный метод лечения злокачественных заболеваний. Однако отторжение донорского трансплантата и тяжелая острая реакция «трансплантат — против хозяина» (оРТПХ) являются основными причинами летальности в раннем посттрансплантационном периоде. В связи с этим в последние годы используют немиелоаблативные режимы кондиционирования, которые в отличие от миелоаблативных способствуют снижению вероятности оРТПХ и улучшают приживление донорского трансплантата. Вместе с тем при использовании режимов кондиционирования со сниженной токсичностью в организме хозяина сохраняется достаточное количество Т-лимфоцитов, которые способны оказывать противоположное действие. На удаление этих клеток и направлены терапевтические страте-

гии, ставящие целью снижение риска отторжения донорского трансплантата и развития оРТПХ. Применение циклоспорина А и коротких курсов метотрексата не всегда предотвращает эти осложнения алло-ТГСК, даже в случае полностью совместимого по системе HLA донора.

В связи с вышесказанным несомненный интерес представляет использование в режимах кондиционирования антимоцитарного глобулина (АТГ) — селективного в отношении Т-клеток иммуносупрессора, способного влиять на оРТПХ на всех стадиях ее развития. Однако до настоящего времени нет убедительных данных подтверждающих преимущество использования АТГ, поскольку снижение вероятности отторжения трансплантата и тяжести течения оРТПХ может сопровождаться увеличением риска рецидива основного заболевания [2, 5]. Таким образом, целью нашего исследо-

вания является оценка использования АТГ в режимах кондиционирования для повышения эффективности ТГСК.

Материалы и методы исследования

В исследование включено 109 пациентов, которым за период с октября 2000 г. по июнь 2006 г. в клинике трансплантации костного мозга СПбГМУ им. И.П. Павлова было выполнено 112 трансплантаций от родственных и неродственных доноров.

Пациенты были разделены на две группы. Первую, исследуемую группу, в которой использовался в режиме кондиционирования (АТГАМ) в курсовой дозе 16–120 мг/кг, составили 74 пациента, им выполнили 74 трансплантации. Вторая, контрольная группа, без использования АТГАМ, состояла из 35 пациентов с различными онкогематологическими заболеваниями, им провели 38 аллогенных ТГСК.

В исследуемой группе 34 больных были с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), 4 — со злокачественной лимфомой (ЗЛ), 1 — с лимфомой Ходжкина (ЛХ), 14 — с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ), 9 — с хроническим миелолейкозом (ХМЛ), 1 — с миелодиспластическим синдромом, 1 — с идиопатическим остеомиелофиброзом, 7 пациентов — с апластической анемией, 1 — с синдромом Костмана, 1 — с болезнью Краббе, 1 — с синдромом Вискотта—Олдрича. Медиана возраста больных составила 15 лет (1–66).

Контрольная группа представлена следующим образом: с ОЛЛ — 18 больных, с ЗЛ и ЛХ — по 2 пациента, с ОМЛ — 9, с ХМЛ — 5 больных, 1 — с гиперэозинофильным синдромом; 1 (3%) пациент в этой группе был с солидной опухолью. Медиана возраста пациентов — 18 лет (5–56).

В исследуемой группе немиелоаблативные режимы кондиционирования применялись в 58% случаев ($n=43$), миелоаблативные — в 42% ($n=31$). Большинство немиелоаблативных режимов кондиционирования представлено сочетаниями Flu+Mel

(31%) и Flu+Bu (16%). Среди миелоаблативных режимов чаще использовали вариант Bu+Cy (32%). Костный мозг в качестве источника гемопоэтических стволовых клеток применяли у 23 пациентов (31%), периферическую кровь — у 51 (69%).

Среди больных контрольной группы преимущественно использовали миелоаблативные режимы — 61% ($n=23$). Из миелоаблативных режимов кондиционирования чаще всего выбирали сочетание Bu+Cy (41%). В 31% трансплантаций у пациентов контрольной группы применяли немиелоаблативный режим Flu+Mel. В качестве источника гемопоэтических стволовых клеток в равном количестве случаев служили костный мозг и периферическая кровь — по 19 (50%) случаев.

Профилактику оРТПХ в посттрансплантационном периоде проводили с использованием комбинации иммуносупрессивных препаратов в соответствии с международными протоколами ТГСК. У 100% больных применяли CsA в дозе 3–5 мг/кг начиная за день до ТГСК и далее под контролем биохимических показателей и концентрации препарата в сыворотке в течение 150–180 дней после трансплантации.

Критериями приживления донорского трансплантата служили восстановление нейтрофилов более $0,5 \times 10^9/\text{л}$ в течение 3 последующих дней без колониестимулирующих факторов (КСФ), тромбоцитов более $20 \times 10^9/\text{л}$ и увеличение уровня гемоглобина свыше 80 г/л без гемотрансфузий.

Результаты исследования и их обсуждение

По данным многих авторов, вероятность отторжения донорского трансплантата колеблется в пределах от 1 до 5%. У больных апластической анемией, имеющих длительный гемотрансфузионный анамнез, риск отторжения наиболее высокий и может достигать 43% [3]. Включение АТГ в режим кондиционирования у таких больных может снизить риск отторжения трансплантата до 9% [6].

Наше исследование продемонстрировало, что

более интенсивная профилактика отторжений с помощью АТГ приводит к снижению частоты возникновения этого осложнения. Первичное неприживление трансплантата в исследуемой группе наблюдалось у 3 (4%) пациентов. У 2 (3%) пациентов в течение 100 дней после трансплантации развилось позднее отторжение трансплантата. Использование АТГАМ достоверно коррелирует со снижением частоты неприживлений трансплантата в исследуемой группе по сравнению с контрольной: 7 и 24% ($p=0,01$) соответственно (рис. 1).

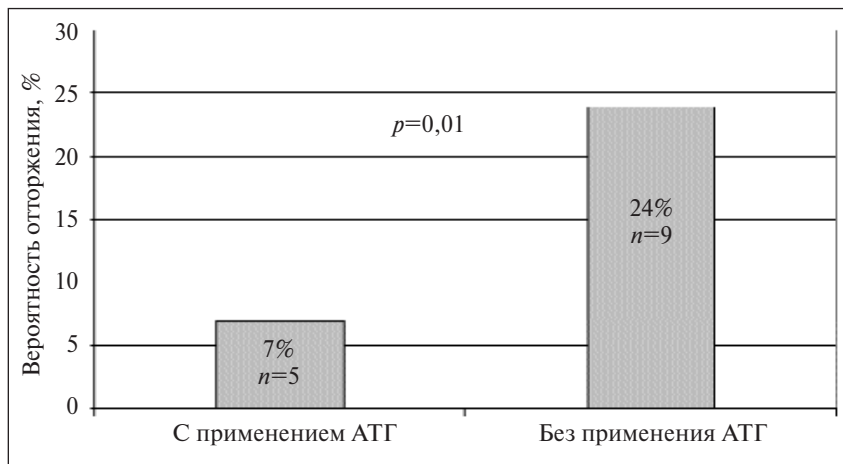


Рис. 1. Сравнение вероятности отторжения трансплантата в исследуемой и контрольной группах ($p=0,01$)

Полученные нами результаты свидетельствуют и о достоверном снижении риска отторжения трансплантата, связанном с применением АТГАМ при алло-неродственных ТГСК ($p=0,02$). В группе пациентов, где применяли АТГ при алло-неродственных ТГСК, отторжение трансплантата наблюдалось в 5%, тогда как среди больных контрольной группы вероятность отторжения была выше почти в 6 раз — отторжение наблюдалось в 29% случаев. Однако при алло-родственных ТГСК эффективность АТГ для профилактики отторжения донорского трансплантата менее очевидна ($p>0,05$).

Острая РТПХ, одно из главных осложнений после алло-ТГСК, встречается примерно у 30%. При выполнении аллогенной ТГСК от неродственного совместимого донора костного мозга вероятность развития оРТПХ возрастает до 80% [1]. В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что клинические проявления оРТПХ свидетельствуют только о части иммунологического ответа на введение реципиенту донорских клеток. Другим компонентом является реакция «трансплантат против лейкоза» (РТПЛ), которая развивается одновременно с оРТПХ. При этом оРТПХ служит своего рода индикатором наличия противорецидивного воздействия донорских клеток после алло-ТГСК. Восстанавливающиеся лимфоциты из костного мозга донора способны распознавать антигенные детерминанты, экспрессирующиеся на лейкозных клетках, и эффективно элиминировать их. Наряду с этим процессом, несмотря на полную совместимость донора и реципиента по HLA-системе, иммунокомпетентные клетки донора могут распознавать малые антигены гистосовместимости (МАГ), экспрессирующиеся клетками хозяина, запуская тем самым острую реакцию «трансплантат—против хозяина».

Применение АТГАМ с целью профилактики развития этого осложнения позволило снизить риск возникновения тяжелой оРТПХ до 14%, в контрольной группе данный показатель составил 24% (рис.2).

Согласно литературным данным, тяжелая оРТПХ развивается у пациентов чаще после

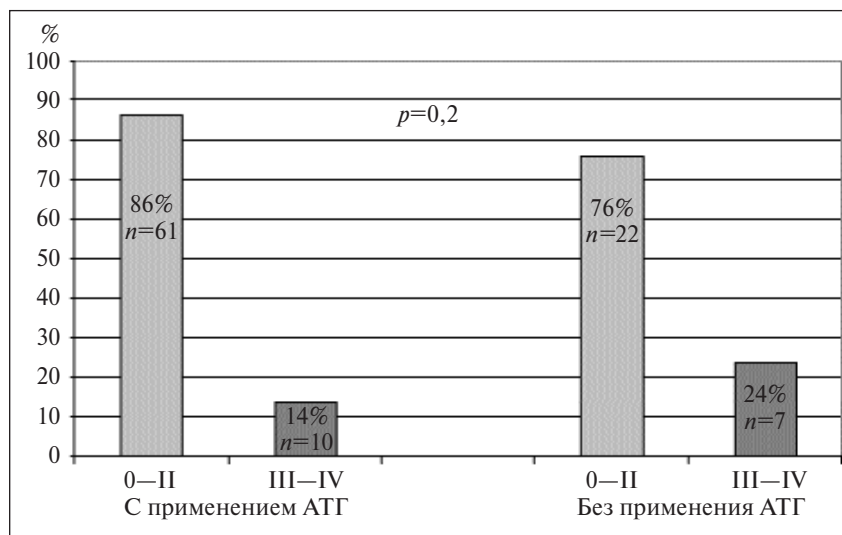


Рис.2. Влияние АТГ на развитие тяжелой оРТПХ III–IV степени в исследуемой и контрольной группах

неродственной ТГСК, чем при родственных трансплантациях. Нередко это связано с несовместимостью по малым антигенам гистосовместимости между неродственным донором и реципиентом. Однако полученные результаты показали, что в контрольной группе, где не применяли АТГ, тяжелая оРТПХ III–IV степени развивалась с большей частотой как при алло-родственных, так и при алло-неродственных ТГСК. В случаях использования АТГАМ при родственных трансплантациях не наблюдалось ни одного примера возникновения тяжелой оРТПХ, тогда как в контрольной группе оРТПХ III–IV степени развивалась в 20,8% случаев. Снижение частоты развития тяжелой оРТПХ более чем в 2 раза в исследуемой группе по сравнению с контрольной отмечалось и после неродственных ТГСК: 16,6 и 40% соответственно. Однако, в связи с тем, что количество па-

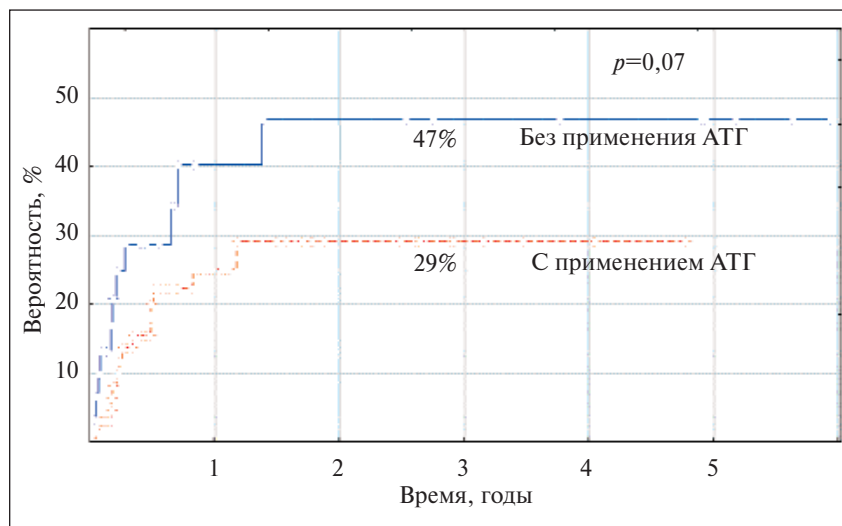


Рис.3. Сравнение вероятности рецидива/прогрессии основного заболевания в течение 4 лет после алло-ТГСК в исследуемой и контрольной группах ($p=0,07$)

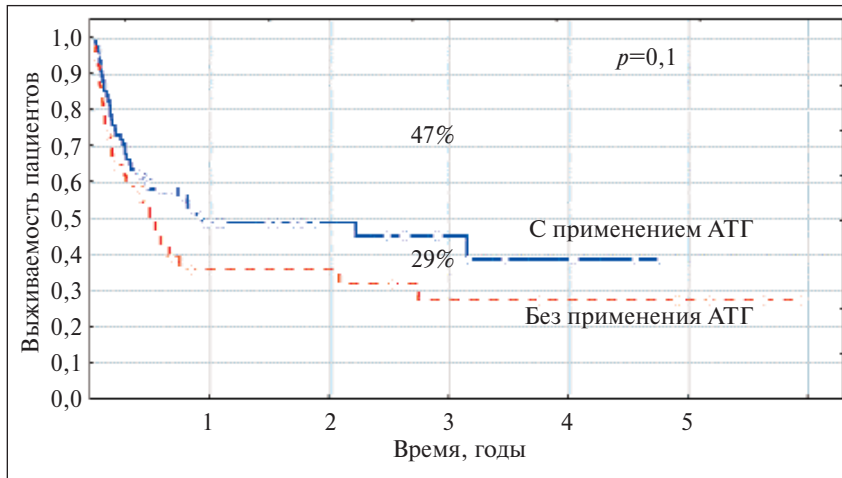


Рис 4. Сравнение 4-летней общей выживаемости пациентов в исследуемой и контрольной группах

циентов в группе с использованием АТГ, которым выполнили родственные трансплантации, было небольшим, а в контрольной группе проводили неродственные трансплантации, результаты в обоих случаях не являются статистически достоверными ($p > 0,05$).

В последние годы стало очевидным, что абсолютная миелоабляция не является необходимым компонентом приживления ГСК донора, а иммуноадаптивный цитостатический эффект клеток донора зачастую превосходит цитостатические воздействия лучевой и химиотерапии [2, 4, 5, 7, 8]. В связи с этим режимы кондиционирования с применением сниженных доз цитостатических препаратов и/или радиации получили широкое распространение в клинической практике благодаря их низкой миело- и органотоксичности и возможности использования у значительного числа пациентов старшей возрастной группы и больных с различными сопутствующими заболеваниями.

Сравнивая частоту рецидива и/или прогрессии основного заболевания в течение 4 лет после ТГСК в исследуемой и контрольной группах мы не обнаружили увеличения риска развития этого ос-

ложнения у пациентов, получивших АТГАМ (29%) в сравнении с контрольной группой (47%) (рис. 3).

Использование немиелоаблативных режимов с АТГ, по нашим данным, привело к достоверно меньшему риску рецидива/прогрессии основного заболевания в течение 3 лет в исследуемой группе по сравнению с контрольной: 35 и 67% соответственно ($p = 0,03$), тогда как у пациентов с миелоаблативными режимами за тот же период времени данные менее очевидны: 27 и 36% соответственно ($p = 0,6$).

Общая выживаемость больных в группе пациентов с применением АТГ в течение 4 лет составила 39%, тогда как в группе пациентов, у которых в режиме кондиционирования не применялся АТГ, не превышала 28% (рис. 4).

Таким образом, применение АТГАМ в исследуемой группе способствовало снижению летальности в раннем посттрансплантационном период вследствие уменьшения вероятности отторжения трансплантата и тяжести течения оРТПХ по сравнению с контрольной группой, в которой АТГ не применялся.

Выводы

1. Применение АТГ способствует увеличению вероятности 4-летней общей выживаемости до 39% по сравнению с 28% в группе пациентов, которые не получили в режимах кондиционирования АТГ.
2. Включение АТГАМ в режим кондиционирования снижает вероятность неприживления донорского трансплантата.
3. АТГАМ способствует снижению частоты развития тяжелой оРТПХ III–IV степени.
4. Использование АТГАМ не приводит к увеличению риска рецидива основного заболевания.

Л и т е р а т у р а

1. Зубаровская Л.С., Фрегатова Л.М., Афанасьев Б.В. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при гемобластозах. В кн.: Клиническая онкогематология. Под ред. М.А. Волковой. М., 2001. с. 479–94.
2. Vacigalupo A., Lamparelli T., Bruzzi P. et al. Antithymocyte globulin for graft-versus-host disease prophylaxis in transplants from unrelated donors: 2 randomized studies from Gruppo Italiano Trapianti Midollo Osseo (GITMO). Blood 2001;98(10):2942–7.
3. Dulley F.L. et al. The role of low dose busulfan (Bu) (4 mg/kg) with cyclophos-

4. phamide (Cy) as a conditioning regimen for severe aplastic anaemia (SAA). Biology of blood and marrow transplantation. 2003;9:88.
4. Finke J., Bertz H., Schmoor C. et al. Allogeneic bone marrow transplantation from unrelated donors using in vivo anti T-cell globulin. Br J Haematol 2000;11:303–13.
5. Mohty M., Bay J.-O., Faucher C. et al. Graft-versus-host disease following allogeneic transplantation from HLA-identical sibling with antithymocyte globulin-based reduced-intensity preparative regime. Blood 2003;102(2):470–6.
6. Paquette R.L., Tebyani N., Frane M.

7. et al. Long-term outcome of aplastic anemia in adults treated with antithymocyte globulin: comparison with bone marrow transplantation. Blood 1995;85(1):283–90.
7. Remberger M. et al. Association between pretransplant Thymoglobulin and reduced non-relapse mortality rate after marrow transplantation from unrelated donors. Bone Marrow Transpl 2002;29:391–7.
8. Zander A.R., Zabelina T., Kroger N. et al. Use of a five-agent GvHD prevention regimen in recipients of unrelated donor marrow. Bone Marrow Transplant 1999;23:889–93.

ПРИМЕР УСПЕШНОЙ ТЕРАПИИ НИЛОТИНИБОМ ПАЦИЕНТКИ С PH-ПОЗИТИВНЫМ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ В ХРОНИЧЕСКОЙ ФАЗЕ С РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ К ИНТЕРФЕРОНУ И ГЛИВЕКУ

Н.А. Афанасьева, Г.А. Гусарова

Гематологический научный центр РАМН, отделение химиотерапии лейкозов и патологии эритронов, Москва

Несмотря на впечатляющие успехи в лечении хронического миелолейкоза гливексом, часть больных остаются резистентными к данному препарату. Риск развития резистентности возрастает с увеличением длительности хронической фазы заболевания и тем более, с развитием фазы акселерации и бластного криза. Кроме того, у небольшой части пациентов имеется непереносимость гливека. Раскрытие некоторых механизмов развития резистентности привело к появлению в клинической практике нового высокоселективного ингибитора bcr/abl-тирозинкиназы — нилотиниба (тасигна, «Новартис Фарма»). В ходе 1-й и 2-й фазы клинических испытаний препарат показал высокую активность при резистентности к гливексу, низкий профиль токсичности, отсутствие перекрестной токсичности с гливексом.

В статье приводится клинический случай успешной терапии нилотинибом пациентки с цитогенетической резистентностью к гливексу. Показано быстрое (через 6 мес терапии) достижение большого цитогенетического ответа при хорошей переносимости препарата.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, гливек, резистентность, нилотиниб.

THE CASE OF SUCCESSFUL THERAPY WITH NILOTINIB IN PATIENTS WITH PH-POSITIVE CHRONIC MYELOGENOUS LEUKEMIA OF CHRONIC PHASE RESISTANT TO INTERFERON AND GLEEVEC

N.A. Afanasyeva, G.A. Gusarova

Research Center for Hematology of Russian Academy of Medical Sciences, department of chemotherapy for leukemia and pathology of erythron, Moscow

In spite of striking successes achieved in the treatment of chronic leukemia with Gleevec, some patients remain resistant to the drug. Risk for development of resistance to Gleevec increases with the duration of chronic phase of disease and, more evidently, with onset of acceleration phase and blast crisis. Besides, other patients can not tolerate Gleevec. Nilotinib (tasigna, Novartis Pharma) which is a new highly selective inhibitor of bcr/abl tyrosine-kinase has been introduced into clinical practice after the mechanisms of resistance to drug became clear. Clinical trials of phase I and II demonstrated high activity of Nilotinib in patients with resistance to Gleevec, low toxicity profile and absence of cross toxicity with Gleevec. The clinical case of successful therapy with Nilotinib in patient with cytogenetically proved resistance to Gleevec is reported in the article. The major cytogenetic response was achieved after a short period of time (6 months) with acceptable tolerability of treatment.

Key words: chronic myeloleukemia, Gleevec, resistance, Nilotinib.

В связи с выдающимися результатами, достигнутыми при применении ингибитора bcr/abl-тирозинкиназы иматиниба (Гливек, «Новартис Фарма»), данный препарат стал стандартом терапии больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) на всех стадиях болезни. Применение Гливека в качестве препарата первой линии терапии в хронической фазе (ХФ) ХМЛ позволило достичь полного гематологического ответа (ПГО) у 97%, полного цитогенетического ответа (ПЦО) у 83% (данные 6 лет наблюдения). Прогрессия в фазу акселерации/бластного криза (ФА/БК) зафиксирована всего у 6% больных за весь период наблюдения, при этом не отмечено прогрессирования заболевания ни у одного пациента между 5 и 6-м годом терапии. Общая выживаемость (ОВ) составила 91%, бессобытийная выживаемость¹ (БВ) — 83% [1]. Результаты терапии боль-

ных в поздней ХФ хуже: ПГО — 96%, ПЦО — 57%, ОВ — 79%, БВ — 57%. Еще более скромные результаты получены при лечении больных в ФА/БК: ПГО — 40%/9%, ПЦО — 20%/7%, ОВ — 39%/13%, БВ — 27%/<10% соответственно [2]. Таким образом, небольшая часть больных в ранней ХФ и значительная часть больных в «продвинутых» стадиях заболевания остаются резистентными к лечению иматинибом (ИМ) в качестве монотерапии.

Кроме того, в ранней ХФ наблюдалась утрата ранее достигнутого полного цитогенетического ответа у 8,5% пациентов (30 из 355 больных, продолжающих принимать Гливек в рамках исследования IRIS и достигших ПЦО); прогрессирование в ФА/БК составляет 1,5% в течение первого, 2,8% в течение второго года терапии, после чего постепенно снижается и достигает 0% к 6-му году терапии [1, 3, 4]. Вторичная резистентность достигает 20% у больных в поздней ХФ, 60% — в ФА, 93% — в стадии БК [5].

¹Событием считаются смерть от любой причины, потеря любого из достигнутых ответов, включая прогрессию в ФА или БК

Безопасность и хорошая переносимость Гливек подтверждена в подавляющем большинстве случаев. Частота негематологической токсичности 3—4-й степени не превышает 17%. Однако в ходе исследования IRIS 4,2% больных Гливек был отменен в связи с непереносимостью препарата [1, 6].

Таким образом, насущной проблемой сегодняшнего дня является тактика терапии больных ХМЛ с первичной или приобретенной резистентностью к Гливеку, а также больных с его непереносимостью.

В настоящее время изучается несколько механизмов резистентности к Гливеку. Они могут быть связаны непосредственно с геном *bcr/abl*: изменение структуры в связи с возникновением точечных мутаций, что ведет к потере сродства к Гливеку; амплификация гена или удвоение Ph-хромосомы, что приводит к гиперэкспрессии онкопротеина, т.е., количественному увеличению мишеней, которые необходимо блокировать. Описаны и *bcr/abl*-независимые механизмы: активация «обходных» путей передачи клеточных сигналов пролиферации, дифференцировки, апоптоза и адгезии; возникновение дополнительных хромосомных aberrаций, изменение экспрессии генов, ответственных за внутриклеточную концентрацию препарата, изменение биодоступности Гливека из-за нарушения всасывания, связывания с инактивирующими белками плазмы и т.д. Если причины первичной резистентности еще точно не известны, то приобретенная резистентность, как правило, является следствием реактивации *bcr/abl*. В 35—90% случаев она связана с точечными мутациями в данном гене [7]. Логично предположить, что с увеличением длительности заболевания, тем более в его «продвинутых» стадиях, включается все большее число механизмов резистентности. В ФА и БК задействованы практически все возможные механизмы. Несколькими исследованиями показано, что частота возникновения мутаций гена *bcr/abl* нарастает от ранней к поздней ХФ, и она очень высока в ФА и БК [7—10].

Одним из путей преодоления резистентности к Гливеку стал синтез молекулы фениламинопири-

мидинового производного иматиниба — нилотиниба (AMN107, Тасигна, «Новартис Фарма»). В силу усовершенствованной кристаллической структуры он обладает большим по сравнению с Гливеком сродством к АТФ-связывающему участку *bcr/abl*-тирозинкиназы. Результатом этого является в 20—30 раз большая активность нилотиниба в сравнении с Гливеком в подавлении как дикого, так и мутантных типов онкопротеина. В исследованиях *in vitro* была показана ингибирующая активность нилотиниба в отношении клеточных линий, экспрессирующих 32 из 33 мутаций в киназном домене гена *bcr/abl*, за исключением T 315I [11, 12].

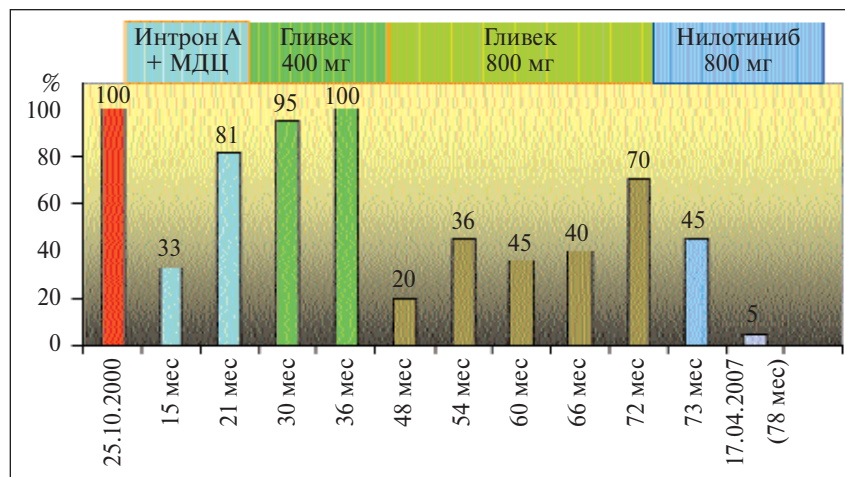
Исследованиями 1-й и 2-й фазы клинических испытаний была показана высокая эффективность нилотиниба у больных, резистентных к Гливеку или с непереносимостью Гливека. В частности, у пациентов в ХФ ХМЛ частота ПГО составила 76,2%, ПЦО — 40% [13]. При этом отмечается низкий уровень токсичности препарата. Наиболее частыми побочными явлениями 3—4-й степени были нейтропения (30%) и тромбоцитопения (27%). Негематологическая токсичность чаще также была представлена изменениями лабораторных показателей: бессимптомное повышение выше нормального уровней липазы (15%), непрямого билирубина (9%), реже — АСТ и АЛТ (4%) [13]. Особенно важным является то, что нилотиниб имеет минимальную перекрестную непереносимость с Гливеком: только у 3% больных с непереносимостью Гливека наблюдались сходные побочные эффекты при лечении нилотинибом [14].

Таким образом, в доклинических и клинических испытаниях получено достаточно материалов, доказывающих эффективность и безопасность применения нилотиниба у больных с первичной и вторичной резистентностью к Гливеку или его непереносимостью.

В настоящее время наш центр является участником исследования расширенного доступа AMN107 (нилотиниб) у взрослых пациентов с хроническим миелолейкозом, не переносящих имати-

ниб, или с устойчивым к нему заболеванием в ХФ, фазе акселерации и бластном кризе.

Первичной резистентностью в этом исследовании считается отсутствие ПГО через 3 мес, отсутствие хотя бы минимального цитогенетического ответа (Ph+ >95%) через 6 мес, отсутствие БЦО через 12 мес лечения Гливеком. Приобретенной резистентностью считается развитие ФА или БК, утрата ранее достигнутого гематологического или цитогенетического ответа, клональная эволюция (появление дополнительных хромосомных



Динамика цитогенетического ответа больной Б.

аббераций), обнаружение мутаций гена *bcr/abl*, ведущих к замене аминокислот L248, G250, Q252, Y253, E255, T315, F317, H396.

На сегодняшний день в исследование включено 62 пациента, из них 28 — в ХФ, 15 — в ФА, 6 — в БК.

В данной статье мы описываем случай успешной терапии пациентки в ХФ ХМЛ после неэффективного лечения как комбинацией интерферона ? и малых доз цитозара, так и Гливекком в максимальной дозе.

Пациентка, 32 лет.

Диагноз хронического миелолейкоза в ХФ, 2-я группа риска, установлен в октябре 2000 г. на основании гепатоспленомегалии (печень + 3—4 см, селезенка + 20 см из-под края левой реберной дуги), изменений в гемограмме в виде лейкоцитоза до $202,5 \times 10^9/\text{л}$, со сдвигом нейтрофильной формулы до 1% бластов, анемии (50 г/л), тромбоцитоза ($418 \times 10^9/\text{л}$), данных миелограммы (резкая гиперплазия нейтрофильного ростка). В ноябре 2000 г. диагноз верифицирован при цитогенетическом исследовании (Ph-хромосома выявлена в 100% митозов). Начата терапия гидреа по 2—3 г/сут, не давшая эффекта: продолжался рост размеров селезенки, нарастал лейкоцитоз и тромбоцитоз.

С февраля 2001 г. начата терапия интроном А по 9 млн МЕ/сут в сочетании с малыми дозами цитозара (по 20 мг \times 2 р/сут в течение 10 дней каждого месяца, общая доза цитозара — 9,6 г). ПГО был достигнут через 6 мес комбинированной терапии. К 15-му месяцу достигнут большой цитогенетический ответ

(Ph+-клетки в 33% митозов), однако уже через 6 месяцев диагностирован цитогенетический рецидив — увеличение доли Ph-позитивных клеток до 81%.

С 2003 г. начата терапия Гливекком в дозе 400 мг ежедневно. Сохранялась полная клинико-гематологическая ремиссия. В течение 9 мес цитогенетического ответа на фоне приема стандартной дозы Гливекка не достигнуто, в связи с чем доза была увеличена до 800 мг/сут. Через 6 мес приема Гливекка в этой дозе достигнут значительный цитогенетический эффект (20% Ph+-метафаз). Однако в последующем он был утрачен, отмечено нарастание Ph-позитивного клона (с 36 до 70%) на фоне продолжающейся терапии ИМ в дозе 800 мг/сут (при сохранении ПГО).

В связи с цитогенетической резистентностью к Гливекку с октября 2006 г. начата терапия нилотинибом в дозе 800 мг/сут. Отмечено быстрое достижение значительного цитогенетического ответа (к 6 мес терапии 5% Ph+ митозов), который сохраняется по настоящее время. Переносимость препарата хорошая, нежелательные явления не отмечены. Результаты цитогенетических исследований на всех этапах терапии больной представлены в рисунке.

Таким образом, с появлением нилотиниба, высокоспецифичного ингибитора *bcr/abl*-тирозинкиназы второй линии, расширяются границы возможностей консервативной терапии больных хроническим миелолейкозом. Показано, что даже при развившейся резистентности к Гливекку пациенты имеют шанс быстрого восстановления Ph-негативного кроветворения.

Л и т е р а т у р а

- Hochhaus A., Drucker B.J., Larson R.A. IRIS 6-Year Follow-Up: Sustained Survival and Declining Annual Rate of Transformation in Patients with Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase (CML-CP) Treated with Imatinib. *Blood* 2007;110(11):25.
- Silver R.T., Talpaz M., Sawyers C.L. et al. Four Years of Follow-Up of 1027 Patients with Late Chronic Phase (L-CP), Accelerated Phase (AP), or Blast Crisis (BC) Chronic Myeloid Leukemia (CML) Treated with Imatinib in Three Large Phase II Trials. *Blood* 2004;104(11):23.
- O'Brien S.G., Gulihot F., Larson R.A. et al. IRIS investigators. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2003;348(11):994—1004.
- Kantarjian H., Sawyers C., Hochhaus A. et al. International STI 571 CML Study Group. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 2002;346(9):645—52.
- Hochhaus A., La Rosee P. Imatinib therapy in chronic myelogenous leukemia: strategies to avoid and overcome resistance. *Leucemia* 2004;18(8):1321—31.
- Kantarjian H.M., Larson R.A., Gulihot F. Declining rates of adverse events (AEs), rare occurrence of serious AEs (SAEs), and unexpected long-term side effects at 5 years in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia (CML) in chronic phase (CP) initially treated with imatinib in the international randomised study of interferon vs STI571 (IRIS). Poster, ASH 2006.
- Hochhaus A., Kreil S., Corbin A.S. et al. Molecular and chromosomal mechanisms of resistance to imatinib (STI 571) therapy. *Leucemia* 2002;16(11):2190—6.
- Brandford S., Hughes T. Detection of BCR-ABL mutations and resistance to imatinib mesylate. *Methods Mol Med* 2006;125:93—106.
- Jiang X., Zhao Y., Smith C. et al. Chronic myeloid leukemia stem cells possess multiple unique features of resistance to BCR-ABL targeted therapies. *Leucemia* 2007;21:926—35.
- Soverini S., Martinelli G., Rosti G. et al. ABL mutations in late chronic phase chronic myeloid leukemia patients with up-front cytogenetic resistance to imatinib are associated with a greater likelihood of progression to blast crisis and shorter survival: a study by the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2005;23(18):4100—9.
- Weisberg E., Manley P.W., Breitenstein W. et al. Characterization of AMN 107, a selective inhibitor of wild-type and mutant BCR-ABL. *Cancer Cell* 2005;7:129—41.
- Nagar B., Bornman W.G., Pellicena P. et al. Crystal structures of the kinase domain c-abl in complex with the small molecule inhibitors PD 173955 and imatinib (STI-571). *Cancer Res* 2002;62(15):4236—43.
- Kantarjian H.M., Hochhaus A., Cortes J. et al. Nilotinib Is Highly Active and Safe in Chronic Phase Chronic Myelogenous Leukemia (CML-CP) Patients with Imatinib-Resistance or Intolerance. *Blood* 2007;110(11):226a (abstr 735).
- Cortes J., Jabbour E., Hochhaus A. et al. Nilotinib Is Associated with minimal cross intolerance to imatinib in patients with imatinib-intolerant Philadelphia-positive (Ph+) chronic myelogenous leukemia (CML) in either chronic phase (CP) or accelerated phase (AP). *Blood* 2007;110(11):315a (abstr 1040).

ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНАЯ ТЕРАПИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ 13-ЦИС-РЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ И НИЗКИХ ДОЗ ЦИТОЗИН-АРАБИНОЗИДА У ДЕТЕЙ С ЮВЕНИЛЬНЫМ МИЕЛОМОНОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Л.А. Хачатрян¹, М.А. Масчан¹, Е.В. Самочатова², М.М. Шнейдер²,
Д.Д. Байдильдина¹, Г.Г. Солопова², Е.В. Сунцова¹, Л.И. Жарикова²,
У.Н. Петрова¹, В.В. Сеницына¹, Г.А. Новичкова¹, А.А. Масчан²

¹ФГУ «Российская детская клиническая больница», Москва; ²ФГУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии» Росздрава, Москва

Прогноз пациентов с ювенильным миеломоноцитарным лейкозом (ЮММЛ), не получивших аллогенную трансплантацию гемопоэтических клеток, остается неудовлетворительным. Одним из перспективных подходов является использование дифференцировочной терапии. В данной работе мы анализируем результаты лечения 14 пациентов с ЮММЛ, получивших лечение 13-цис-ретиновой кислотой (100 мг/м² ежедневный пероральный прием) и низкими дозами цитозин-арабинозида (25 мг/м² ежемесячные 10-дневные курсы) в качестве терапии первой линии. Семь пациентов (50%) достигли полной ремиссии (ПР) или клинико-гематологического улучшения (ГУ), у 7 — заболевание прогрессировало. ПР достигнута у 4 пациентов (средний возраст на момент дебюта заболевания 5 месяцев, средний уровень HbF — 6,2 %) в среднем после проведения 9 курсов терапии, ГУ — у 3 пациентов (возраст на момент дебюта ЮММЛ: 5; 6,5 и 46 мес, HbF — 4,2; 8 и 51,7%) через 2; 3 и 5 курсов терапии. Из 4-х пациентов с ПР трое продолжают находиться в состоянии ПР в течение 30, 17 и 10 мес от начала терапии, у одного — развился ОЛЛ через 84 месяца от достижения ПР. Из трех пациентов с ГУ двое живы и продолжают лечение через 10 мес от начала терапии, 1 умер от катетер-ассоциированного сепсиса. У остальных 7 пациентов (средний возраст на момент дебюта заболевания — 16,3 месяца, средний уровень HbF — 35,4%) отмечена прогрессия заболевания. Дифференцировочная терапия 13-цис-ретиновой кислотой и низкими дозами цитозин-арабинозида эффективна у пациентов раннего возраста с низкими уровнями HbF.

Ключевые слова: дети, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз, 13-цис-ретиновая кислота, дифференцировочная терапия.

RESULTS OF DIFFERENTIAL TREATMENT OF CHILDREN WITH JUVENILE MYELOMONOCYTIC LEUKEMIA WITH 13-CIS RETINOIC ACID AND LOW DOSE CYTOSINE-ARABINOSIDE

L.A. Khachatryan¹, M.A. Maschan¹, Ye.V. Samochatova², M.M. Schneider², D.D. Baidildina¹, G.G. Solopova²,
Ye.V. Suntzova¹, L.I. Zjarikova², U.N. Petrova¹, V.V. Sinitsina¹, G.A. Novichkova¹, A.A. Maschan²

¹Federal State Enterprise «Federal Research Clinical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Russian Public Health»; ²Federal State Enterprise Russian Pediatric Clinical Hospital

Prognosis of patients with juvenile myelomonocytic leukemia not undergoing allogeneic hematopoietic cells transplantation (SCT) is dismal and not affected by any cytotoxic chemotherapy. Differentiating therapy is an attractive approach in JMML, due to ability of JMML cells to differentiate and die under influence of treatment with various agents in vitro. We report results of first-line treatment of 14 patients with JMML with 13-cis retinoic acid (RA) 100 mg/m² daily peroral intake and low dose Ara-C - 25 mg/m² daily for 10 days monthly. Complete remission (CR) or hematological improvement (HI) was obtained in 7 patients (50%). Four patients (median age at disease manifestation 5 months, median level of HbF — 6,2%) achieved CR after a median of 9 cycles of therapy; in 3 patients the best response was HI (age at disease manifestation - 5; 7 and 46 months, HbF — 4,2; 8,0 and 51,7%) after 2; 3 and 5 cycles. Three out of 4 patients with CR are alive and have been in CR for 10; 17 and 30 months after start of therapy, acute lymphoblastic leukemia developed in one patient after 84 months of CR. Two patients with HI are still receiving treatment and have been in stable condition for 10 months after the initiating therapy, while 1 patient died after 8 months of therapy from catheter-related sepsis. The progression of the disease despite the treatment was registered in 7 patients (median age at disease manifestation 16,3 months, median HbF — 35,4%). We conclude that 13-cis RA in combination with low dose AraC may be useful in the treatment of patients younger than 1 year with low level of HbF, although the general paradigm of treatment of JMML with SCT remains unchanged.

Key words: children, juvenile myelomonocytic leukemia, 13-cis retinoic acid, differential treatment

Ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (ЮММЛ) это клональное гемопоэтическое заболевание детского возраста, характеризующееся пролиферацией гранулоцитарной и моноцитарной клеточных линий. Также часто выявляются аномалии со стороны эритроидного и мегакариоцитар-

ного (МКЦ) ростков, что дает основание подтвердить тот факт, что ЮММЛ является заболеванием, исходящим из стволовых гемопоэтических клеток.

Согласно классификации ВОЗ (2001) ЮММЛ отнесен к группе миелодиспластических/миело-пролиферативных заболеваний (МД/МПЗ). Дейст-

вительно, при несомненном наличии признаков выраженной дисплазии всех линий кроветворения, клиническая картина ЮММЛ во многом определяется гиперпролиферацией и дисфункцией клеток миеломоноцитарной природы — кахексией, инфекциями, органомегалией, лихорадкой, лимфаденопатией.

Множество названий и классификаций создают определенные трудности в трактовке клинических случаев. К настоящему времени по сводным данным известно, что частота встречаемости ЮММЛ составляет в год приблизительно 1,2 на 1 млн детей от 1 года до 14 лет, что соответствует 18-30% от всех вариантов МД/МПЗ у детей младше 15 лет, а среди всех гематологических неоплазий детского возраста приблизительно 1,6-2,4% [1, 2]. Заболевание встречается преимущественно у детей младше 4 лет. Возраст на момент постановки диагноза варьирует от 1 мес до раннего подросткового периода, однако в 75% случаев диагноз ЮММЛ устанавливается у детей младше 3 лет. Отмечается четкое преобладание мальчиков, в среднем соотношение мальчики/девочки превышает 2 (от 1,7 до 4,8) [3].

Определенную роль в развитии ЮММЛ играет генетическая предрасположенность. Описаны различные синдромы у детей (помимо синдрома Дауна), ассоциированные и предрасполагающие к развитию ЮММЛ, включая конституциональные цитогенетические аномалии: синдром Блума, атаксия-телеангиэктазия, анемия Фанкони, конституциональные наследственные нейтропенические синдромы, такие как агранулоцитоз Костмана и синдром Швахмана-Даймонда [4-6]. Особо необходимо отметить такое наследственное заболевание, как нейрофиброматоз I типа, при котором риск развития злокачественных миелоидных неоплазий возрастает в 200-500 раз [5,7].

ЮММЛ является результатом многоступенчатого процесса аккумуляции генетических повреждений. У детей часто наблюдаются мутации в семействе *ras*-протоонкогенов, которые обнаруживаются приблизительно в 30% случаев ЮММЛ, главным образом при формах с длительным и тяжелым течением. Мутация генов, вовлеченных в *ras*-опосредованную передачу внутриклеточных сигналов, может привести к аномальной пролиферативной реакции.

Важную роль в патогенезе играет также утрата нормального аллеля гена *NF1* (нейрофибромин). У людей, имеющих мутантный аллель, развиваются многочисленные доброкачественные нейрофибромы, у некоторых - нейрофибросаркома. Именно мутации гена *ras* или инактивация гена *NF-1* лежат в основе патогенеза ЮММЛ у детей с нейрофиброматозом [3,5,8].

Патофизиология ЮММЛ тесно связана с цитогенетическими аномалиями, которые обнаруживаются у 30-40% пациентов [3,9], однако ни одна не

является специфической. Наиболее распространенными генетическими аномалиями при ЮММЛ являются моносомия и делеция длинного плеча 7-й хромосомы (с преимущественной встречаемостью у мальчиков), трисомия 8-й хромосомы и делеция короткого плеча 12-й хромосомы [9].

Клиническое течение ЮММЛ весьма вариабельно. Приблизительно у 1/3 пациентов заболевание прогрессирует быстро с развитием кахексии, выраженной органомегалии и осложнений, обусловленных цитопенией, которые могут привести к смерти в течение первого года от постановки диагноза, как при проведении лечения, так и без него [3,4]. Напротив, у трети больных заболевание развивается медленно с эпизодами клинических улучшений и с частичной или даже полной нормализацией анализов крови после минимального лечения или без такового. Известна возможность спонтанных ремиссий и длительного течения заболевания без терапии [1,10]. Медиана выживаемости при ЮММЛ варьирует от месяцев до нескольких лет [3,4]. Практически у всех пациентов развивается прогрессия заболевания в случае отсутствия терапии.

Неблагоприятными факторами прогноза является низкий уровень тромбоцитов и высокий уровень HbF [1,11]. Большинство авторов полагают, что дети, у которых заболевание развилось в первые 2 года жизни, имеют более длительную выживаемость. В то же время значимых отличий прогноза детей с презентацией болезни до 6 мес и с 6 до 12 мес нет [3,11]. Повышенное содержание бластных клеток коррелирует с худшим прогнозом.

В терапии ЮММЛ используются следующие подходы.

1. Низкодозная цитостатическая терапия в виде монотерапии или в комбинации: 6-меркаптопурин, цитозин-арабинозид (*Ara-C*), этопозид, гидроксимочевина. Целью таких режимов является «сдерживание» темпов развития заболевания и хотя бы минимальное улучшение гемопоэза. Применение данных препаратов может привести к клиническому и гематологическому ответам у некоторых пациентов [12], однако полных ремиссий у больных ЮММЛ ни в одном из проведенных исследований не достигнуто. У некоторых больных наблюдалась парциальная ремиссия. Достоверная разница в длительности выживания, у ответивших и не ответивших на терапию пациентов не отмечена.

2. Интенсивные химиотерапевтические протоколы, сходные с таковыми для лечения острых нелимфобластных лейкозов. Интерпретация публикуемых результатов противоречива [3,13,14]. Независимо от используемых режимов, химиотерапия не приводила к полной ремиссии, за исключением единичных случаев. Иногда удавалось достичь парциальной ремиссии. При сравнении ожидаемой выживаемости, результаты интенсивной химиотерапии оказались не лучше, чем таковые без химио-

терапии [8]. Однако эти данные необходимо интерпретировать с осторожностью, так как ни одного рандомизированного исследования различных подходов к терапии ЮММЛ не проводилось.

3. Аллогенная трансплантация костного мозга.

Трансплантация гемопоэтических клеток (ТГСК) является единственным методом, позволяющим добиться полного излечения приблизительно у 30-50% детей с ЮММЛ [13, 15-19]. Недавно было показано, что более благоприятный исход ТГСК при ЮММЛ с бессобытийной выживаемостью отмечается приблизительно 60% у детей, получивших ТГСК от HLA-совместимого родственного донора, и 45% у детей, получивших от HLA-совместимого неродственного донора [20]. Многие основные вопросы, включая выбор наиболее оптимальных режимов кондиционирования для больных ЮММЛ, остаются пока без ответа. Обсуждается необходимость предварительной химиотерапии и/или спленэктомии, включения в режимы кондиционирования тотального облучения тела и способов модуляции реакции «трансплантат - против лейкемии», неизвестна роль спленэктомии перед проведением ТГСК [13, 21].

В последнее время большое внимание в лечении ЮММЛ уделяют 13-цис-ретиноевой кислоте (роаккутан, «Хоффманн-Ля Рош», Швейцария), которая ингибирует не только спонтанную пролиферацию лейкемических клеток предшественников *in vitro*, но также способна индуцировать длительный гематологический ответ [22]. В одном из сообщений приведены результаты лечения 13-цис-ретиноевой кислотой 10 пациентов ЮММЛ. Терапевтический эффект был достигнут у 6 пациентов (2 — полных, 3 - парциальных и 1 — минимальный ответ). Медиана длительности ответа составила 37 мес [22].

Целью нашей работы было изучение эффективности дифференцировочной терапии с использованием 13-цис-ретиноевой кислоты в комбинации с низкими дозами Ara-C у больных ЮММЛ.

Материалы и методы

Проанализированы истории болезни 39 пациентов с диагнозом ЮММЛ (27 мальчиков и 12 девочек) в возрасте от 1 до 96 мес (медиана 11 мес), находившихся на лечении в гематологических отделениях ФГУ РДКБ г. Москвы с августа 1993 по сентябрь 2006 г. (длительность наблюдения - 13 лет). Семьдесят пять процентов составили дети в возрасте до 3 лет с четким преобладанием мальчиков (соотношение 2,25:1). Диагноз ЮММЛ устанавливался согласно критериям ВОЗ (2001). Для подтверждения диагноза в качестве дополнительных исследований оценивали уровень HbF, уровень сывороточных иммуноглобулинов, изучался спонтанный рост гранулоцитарно-макрофагальных колоний в полутвердой агаровой среде, проводилось цитогенетическое исследование костного мозга.

Всем пациентам, вошедшим в исследование, проводилось различное лечение (за исключением небольшой группы больных ЮММЛ, получивших дифференцировочную терапию роаккутаном - 100 мг/м², ежедневный прием и низкими дозами Ara-C — 25 мг/м² в сутки, п/к; 10 дней каждого месяца) в связи с отсутствием единых протоколов и схем терапии, используемых у больных ЮММЛ. В каждом конкретном случае руководствовались индивидуальным подходом при подборе терапии с учетом клинического статуса на момент постановки диагноза, а также наличия HLA-совместимого донора. Большинству пациентов последовательно проводили несколько видов лечения, направленных на различные механизмы патогенеза: дифференцировочную терапию, терапию, направленную на элиминацию патологического клона (химиотерапия, ТГСК). Из 39 пациентов, вошедших в исследование, дифференцировочную терапию получили 14 - 35,8% (табл.).

При оценке результатов терапии у больных ЮММЛ за основу взяты критерии, предложенные международной рабочей группой по стандартизации критериев ответа при МДС (B.D. Cheson, J.M. Bennett, H. Kantarjian et al., 2000).

- **ПР:** должна длиться по меньшей мере 2 мес.

Оценка костного мозга: в повторных миелограммах отмечается менее 5% миелобластов с нормальным созреванием клеток во всех ростках кроветворения без признаков дисплазии.

Оценка периферической крови: Hb больше 110 г/л, уровень лейкоцитов менее 10×10^9 /л при отсутствии абсолютного моноцитоза (уровень моноцитов менее 1×10^9 /л), уровень тромбоцитов свыше 100×10^9 /л, бластные клетки — 0%, отсутствие признаков дисплазии. Абсолютные значения должны сохраняться как минимум в течение 2 мес при купировании клинической симптоматики.

- **Клинико-гематологическое улучшение (ГУ):**

должно длиться по меньшей мере 2 мес при отсутствии проводимой цитотоксической терапии. Клиническое улучшение характеризуется уменьшением размеров печени и селезенки и выраженности лимфаденопатии. Гематологическое улучшение: повышение уровня Hb на 20 г/л; увеличение количества тромбоцитов на 50% от исходного уровня с увеличением количества на $10-30 \times 10^9$ /л; уровень лейкоцитов — менее 10×10^9 /л, абсолютный уровень моноцитов - менее 1×10^9 /л.

- **Стабилизация заболевания:** невозможность достижения ГУ даже при отсутствии признаков прогрессии заболевания в течение 2 мес.

- **Трансформация заболевания в острый лейкоз:** увеличение уровня бластных клеток до 20% и более в костном мозге и/или в периферической крови.

- **Прогрессия заболевания:**

- увеличение уровня бластных клеток в костном мозге на 50% по сравнению с исходным уровнем и/или

Основные характеристики больных, получавших терапию первой линии роаккутаном и малыми дозами цитозин-арабинозида

Ф.И., пол	Возраст на момент начала заболевания, мес × 10 ³ /л	Уровень лейкоцитов на момент начала заболевания,	Абсолютное количество моноцитов, мкл	Уровень НбF, %	Длительность дифференцирующей терапии, мес	Ответ	Скорость достижения ответа мес	Терапия второй линии	Интервал наблюдения, мес	Исход	Статус на момент окончания исследования
П.Н., ж.	1	42	7140	15,3	30	ПР	10	—	32,5	жив	ПР
К.Е., ж.	46	76	18240	51,7	6	ГУ	2	—	9	умер	Смерть
Т.М., м.	5	55,8	3360	4,2	8	ГУ	3	—	9	жив	ГУ
К.М., ж.	6,5	73,3	5131	8	9	ГУ	5	—	9,5	жив	ГУ
К.А., м.	6	25	1151	15	7	П	—	—	7	жив	П
К.Х., м.	3	46	2000	6,4	12	ПР	10	—	105	жив	ОЛЛ
С.Н., м.	7	14,2	1562	1,7	9	ПР	9	—	19	жив	ПР
В.А., м.	18	30	5100	52	3	С	—	—	3	жив	С
А.М., ж.	8	353	3900	1,7	10	ПР	8	—	12	жив	ПР
С.Д., м.	10	49,5	13416	57,3	11	Т	—	ПХТ (АДЕ); ТГСК	24	жив	П
Гл.Д., ж.	38	44	4400	77,6	2	П	—	ТГСК	7	умер	Смерть
Г.Д., м.	9	23	1000	19	2	Т	—	ПХТ (АДЕ); ТГСК	34	жив	ПР
Гр.Д., м.	5	27,2	4896	5,7	6	П	—	ПХТ	14	умер	Смерть
Б.А., м.	28	55,8	7812	21,2	1	С	—	ТГСК	9	жив	ПР→Р

Примечание: ПР — полная ремиссия, ГУ — клинико-гематологическое улучшение, П — прогрессия, С — стабилизация, Т — трансформация в острый лейкоз, ПР→Р (рецидив заболевания после достижения полной ремиссии), ОЛЛ — острый лимфобластный лейкоз, ПХТ — полихимиотерапия, ТГСК — трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. В дебюте заболевания у пациентов отмечались: гепатоспленомегалия (100%), лимфаденопатия (100%), геморрагический синдром у 8 (57%) пациентов, специфическая сыпь у 4 (28,6%) пациентов, у половины пациентов — поражение органов дыхания (редививирующие бронхиты, пневмонии), тонзиллит — у 2 (14,3%) пациентов, ларингит — у 2 (14,3%) пациентов.

- нарастание гепатомегалии и/или спленомегалия,
- в гемограмме стойкое увеличение количества лейкоцитов и моноцитов, усугубление цитопении,
- появление клинических и рентгенологических признаков вовлечения в патологический процесс некроветворных органов

Основные характеристики больных, получавших терапию первой линии роаккутаном и малыми дозами цитозин-арабинозида, представлены в таблице.

Результаты и обсуждение

Из 14 пациентов, получивших дифференцирующую терапию в первой линии, клинико-гематологический ответ был достигнут у 7 (50%).

- Полная ремиссия (ПР) была достигнута у 4 пациентов (28,6%). Медiana возраста на момент начала заболевания составила 5 мес (от 1 до 8 мес). Медiana уровня НбF - 4,05% (от 1,7 до 15,3%). Ответ на терапию в среднем достигался через 9,25 мес (9 курсов) от начала терапии (минимально через 8

курсов, максимально через 10 курсов). На момент окончания исследования все 4 пациента были живы: у 3 пациентов сохранялась ПР (у 1 ребенка терапия закончена после 30 курсов, 2-й пациент получил 17 курсов, 3-й - 10 курсов терапии; на момент окончания исследования оба пациента продолжали терапию); у 4-го пациента отмечалось развитие Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) спустя 98 мес от начала заболевания и через 82 месяца от окончания дифференцирующей терапии. Длительность наблюдения за пациентами, ответившими на терапию, составила 32,5; 19; 12 и 105 мес.

- ГУ достигнуто у 3 пациентов (21,4%). Возраст на момент начала заболевания: 5, 6,5 и 46 мес, возраст на момент начала терапии: 15 мес, 15 мес и 48 мес. Уровень НбF у этих пациентов составил: 4,2,0; 8; 51,7%. Ответ на терапию в среднем наблюдался через 3 мес от начала терапии (минимально через 2 мес, максимально через 5 мес). Из 3 детей на момент окончания исследования были живы 2 (интервал наблюдения - 9 и 9,5 мес). Третий ребенок умер (возраст на момент начала

заболевания — 46 мес; НбF — 51,7%) в результате развития катетерного сепсиса (длительность наблюдения — 8 мес).

Из 14 пациентов, получивших данную терапию, на момент окончания исследования были живы 12 пациентов (85,7%); у 1 ребенка развился ОЛЛ спустя 98 мес от начала заболевания; 3 пациента (21,4%) умерли. Из 3 умерших пациентов только у 1 ребенка в результате терапии было достигнуто ГУ, в остальных случаях ответ на терапию не получен.

Таким образом, комбинированная терапия 13-цис-ретиноевой кислотой с цитозин-арабинозидом в низких дозах показала свою эффективность у больных ЮММЛ младше 1 года и с уровнем НбF менее 10% и может быть применена в качестве терапии первой линии у пациентов данной категории. У 7 из 9 пациентов (77,8%), получивших данную комбинацию в качестве единственной терапии, был получен ответ: у 4 пациентов достигнута ПР, у 3 - ГУ. Длительность ремиссии составила от 3 до 84 мес; 1 ребенок умер спустя 4 мес от достижения ГУ, у второго ребенка развился ОЛЛ через 84 мес после достижения ПР.

Несмотря на имеющиеся успехи в изучении данной нозологии, ЮММЛ по-прежнему остается сложной практической проблемой в детской онкогематологии как с точки зрения правильной своевременной диагностики, так и выбора адекватной эффективной терапии, и нуждается в серьезных разработках на основе современных фундаментальных достижений экспериментальной онкологии. Отсутствие крупных мультицентровых рандомизированных исследований не позволяют разрешить многие проблемы, касающиеся данного заболевания.

К сожалению, до настоящего времени диагноз ЮММЛ ассоциирован с крайне плохим прогнозом у большинства больных в связи с невозможностью успешного лечения при использовании стандартных методов противоопухолевой химиотерапии. Надежду на прогресс в этой области детской онкогематологии логично связать с улучшением методов ТГСК и развитием терапевтических направлений, основанных на иных, чем цитостатический, механизмах действия, в частности дифференцировочной терапии.

Л и т е р а т у р а

1. Castro-Malaspina H., Schaison G., Passe S. et al. Subacute and chronic myelomonocytic leukemia in children. Clinical and hematologic observations and identification of prognostic factors. *Cancer* 1984;54:675—86.
2. Freedman M.H., Estrov Z., Chan H.S.L. Juvenile chronic myelogenous leukemia. *Am J Pediatr Haematol Oncol* 1988;10:261—7.
3. Niemeyer C.M., Arico M., Basso G. et al. Chronic Myelomonocytic Leukemia in Childhood: A Retrospective Analysis of 110 cases. *Blood* 1997;89(10): 3534—43.
4. Luna-Fineman S., Shannon K.M., Atwater S.K. et al. Myelodysplastic and Myeloproliferative Disorders of Childhood: A Study of 167 Patients. *Blood* 1999;93(2):459—66.
5. Arico, Biondi M.A. Myelodysplastic Syndromes and Chronic Myeloproliferative Disorders in Childhood Leukemias Ed. by Ching-Hon Pui.
6. List A.F., Doll D.C. The Myelodysplastic Syndromes: in *Wintrobe's Clinical Hematology*, 10th ed. 1999;2: 2320—41.
7. Stiller C.A., Chesselles J.M., Fitchett M. Neurofibromatosis and childhood leukaemia/lymphoma: a population based UKCCSC study. *Br J Cancer* 1994;70:969—72.
8. Arico M., Biondi A., Ching-Hon Pui. Juvenile myelomonocytic Leukemia. *Blood* 1997;90(4):479—85.
9. Harbott J., Haas O.A., Kerndrup G. et al. Cytogenetic evaluation of children with MDS and JMML. Results of the European working group of childhood MDS (EWOG-MDS). *Leukemia* 2000;14:961.
10. Hasle H., Aric? M., Basso G. et al. Myelodysplastic syndrome, juvenile myelomonocytic leukemia, and acute myeloid leukemia associated with complete or partial monosomy 7. *Leukemia* 1999;13:376—85.
11. Passmore S.J., Hann I.M., Stiller C.A. et al. Pediatric myelodysplasia: A study of 68 children and a new prognostic scoring system. *Blood* 1995;85:1742—50.
12. Lilleyman J.S., Harrison J.F., Black J.A. Treatment of juvenile chronic myeloid leukemia with sequential subcutaneous cytarabine and oral mercaptopurine. *Blood* 1977;49:559—62.
13. Lutz P., Zix-Kieffer I., Souillet G. et al. Juvenile myelomonocytic leukemia: analyses of treatment results in the EORTC Children's Leukemia Cooperative Group (CLCG). *Bone Marrow Transplant* 1996;18:1111—6.
14. Woods W.G., Barnard D.R., Alonzo T.A. et al. Prospective study of 90 children requiring treatment for juvenile myelomonocytic leukemia or myelodysplastic syndrome: a report from the Children's Cancer Group. *J. Clin. Oncol* 2002;20:434—40.
15. Sanders J.E., Buckner C.D., Thomas E.D. et al. Allogeneic marrow transplantation for children with juvenile chronic myelogenous leukemia. *Blood* 1988;71:1144—6.
16. Bunin N.J., Casper J.T., Lawton C. et al. Allogeneic marrow transplantation using T cell depletion for patients with juvenile chronic myelogenous leukemia without HLA-identical siblings. *Bone Marrow Transplant* 1992;9:119—22.
17. Donadieu J., Stepan J.L., Blanche S. et al. Treatment of juvenile chronic myelomonocytic leukemia by allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1994;13:777—82.
18. Locatelli F., Niemeyer C., Angelucci E. et al. Allogeneic bone marrow transplantation for chronic myelomonocytic leukemia in childhood: a report from the European Working Group on Myelodysplastic Syndrome in Childhood. *J Clin Oncol* 1997;15:566—73.
19. Matthes-Martin S., Mann G., Peters C. et al. Allogeneic bone marrow transplantation for juvenile myelomonocytic leukaemia: a single centre experience and review of the literature. *Bone Marrow Transplant* 2000;26:377—82.
20. Locatelli F., Zecca M., Duffner U. et al. Busulfan, cyclophosphamide and melfalan as pretransplant conditioning regimen for children with MDS and JMML. Interim analysis of the EWOG-MDS/EBMT prospective study. *Leukemia* 2000.
21. Urban C., Schwinger W., Slave I. et al. Busulfan/cyclophosphamide plus bone marrow transplantation is not sufficient to eradicate the malignant clone in juvenile chronic myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1990;5:353—6.
22. Castleberry R.P., Emanuel P.D., Zuckerman K.S. et al. A pilot study of isotretinoin in the treatment of juvenile chronic myelogenous leukemia. *N Engl Med* 1994;331:1680—4.

РЕТРОСПЕКТИВНОЕ СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И ТОКСИЧНОСТИ РЕЖИМОВ FC И FCR У ПЕРВИЧНЫХ БОЛЬНЫХ В-КЛЕТОЧНЫМ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

Е.А.Стадник¹, Е.А.Никитин², Б.В.Бидерман², Г.Н.Салогуб¹, Ю.Ю.Лорие², Н.Н.Цыба², Ю.А.Алексеева¹, В.А.Доронин⁴, В.Н.Машук⁵, Р.И.Вабищевич³, А.Л.Меликян², Т.И.Колошейнова², Л.Ю.Колосова², А.Б.Судариков², Л.Г.Ковалева², А.Ю. Зарицкий³

¹Городская клиническая больница №31, Санкт-Петербург; ²ГУ «Гематологический научный центр» РАМН, Москва; ³Федеральный центр крови, сердца и эндокринологии

им. акад. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург; ⁴Центральная клиническая больница №2 Министерства путей сообщения, Москва; ⁵Краснодарский краевой онкодиспансер, Краснодар

В доклинических исследованиях показана синергичная противоопухолевая активность ритуксимаба и флударабина. В ретроспективном исследовании проведено сравнение эффективности режимов FC и FCR, применявшихся в качестве первой линии терапии В-ХЛЛ, по длительности ответа, безрегрессивной и общей выживаемости у первичных больных В-ХЛЛ. Показано, что добавление ритуксимаба к режиму FC у первичных больных В-ХЛЛ улучшает результаты лечения без существенного увеличения токсичности.

COMPARISON OF EFFICACY AND TOXICITY OF FC AND FCR REGIMENS IN PRIMARY B-CELL CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA: A RETROSPECTIVE STUDY.

Stadnik Ye.A., Nikitin Ye.A., Biderman B.V., Salogub G.N., Lorie Yu.Yu., Tsyba N.N., Alexeeva Yu.A., Doronin V.A., Mashuk V.N., Vabishevich R.I., Melikyan A.L., Kolosheynova T.I., Kolosova L.Yu., Sudarikov A.B., Kovaleva L.G., Zaritsky A.Yu.

Preclinical studies showed synergic anti-tumor activity of Rituximab and Fludarabine. Comparison of efficacy of FC with FCR regimens administered in first line therapy and their influence on disease-free and overall survival in patients with B-cell lymphocytic leukemia were the main goals of this retrospective study. It has been demonstrated that inclusion of Rituximab into the FC regimen improves outcome of patients with B-cell lymphocytic leukemia without significant increase of toxicity.

В-клеточный хронический лимфолейкоз (В-ХЛЛ) — самый частый вид лейкозов взрослых — до сих пор остается неизлечимой болезнью у подавляющего числа пациентов. Примерно у трети больных болезнь протекает доброкачественно и редко требует лечения. Продолжительность жизни этих пациентов не отличается от общепопуляционной. У трети больных наблюдается агрессивное течение заболевания, причем большинство из них погибает в течение 5 лет после установления диагноза. У оставшейся части больных заболевание протекает относительно спокойно, однако и их продолжительность жизни не превышает 7—12 лет от момента постановки диагноза.

В последние годы наблюдается существенный прогресс в терапии В-ХЛЛ, выражающийся, прежде всего, в увеличении числа больных, достигших полной ремиссии (ПР). Само по себе понятие ПР при хроническом лимфолейкозе появилось сравнительно недавно с введением в клиническую практику флударабина. Если монотерапия флударабином позволяла достичь ПР в 7—15% случаев, то комбинированные флударабинсодержащие схемы — в 24 — 38% [1, 2].

Ритуксимаб — химерное моноклональное антитело к CD20 класса IgG1. В 1997 г. этот препарат был зарегистрирован FDA (Food and Drug Administration — Управление по контролю за продуктами и лекарствами) в США для лечения рецидивов и резистентных форм фолликулярных лимфом. В ранних исследованиях I—II фазы показано, что ритуксимаб эффективен в лечении В-ХЛЛ, однако показатель ПР невысок и они непродолжительны (в среднем, около 9 мес) [3, 4]. В применявшемся до сих пор и, возможно, скоро теряющем свое значение режиме введения ритуксимаба (4 еженедельных инъекции по 375 мг/м²) препарат сравнительно малоэффективен при В-ХЛЛ. Причина этого в том, что CD20 относительно слабо экспрессируется на клетках В-ХЛЛ. Кроме того, клетки В-ХЛЛ не только экспрессируют, но и секретируют CD20 в связи с чем часть антитела связывается с растворимой формой CD20 и не достигает мишени [5]. Период полувыведения ритуксимаба при В-ХЛЛ значительно короче, чем при фолликулярной лимфоме. Если обе причины верны, то повышение дозы ритуксимаба должно оказаться эффективным. В исследова-

нии S.O'Brien показано, что частота ответов при В-ХЛЛ напрямую зависит от дозы препарата [6]. В этом исследовании пациенты получали 4 еженедельных введения ритуксимаба. В первое введение всем больным вводилось по 375 мг/м² препарата, в последующие пациенты получали более высокие, но фиксированные дозы. Разным пациентам препарат назначался в разных дозах: 500, 650, 825, 1000, 1500 и 2250 мг/м². Повышение дозы ритуксимаба сопровождалось увеличением числа ремиссий. Так, при применении разовых доз 500 — 825 мг/м² ремиссии достигнуты в 22% случаев, 1000—1500 мг/м² — в 43%, 2250 мг/м² — в 75% случаев. Максимальная переносимая доза достигнута не была [6]. Вопрос об эскалированных дозах ритуксимаба или других антител против CD20 при В-ХЛЛ не закрыт и, вероятно, получит продолжение в будущих клинических исследованиях.

В 2001 г. N. Di Gaetano и соавт. [7] исследовали эффективность различных лекарственных препаратов в сочетании с ритуксимабом на клеточной линии фолликулярной лимфомы Karpas 422. Авторы показали, что ритуксимаб в сочетании с антрациклинами, цисплатином и таксолом имел только аддитивный эффект, в то время как комбинация ритуксимаба с флударабином оказывала синергичное действие: лизис клеток возрастал с 10% при применении каждого из этих препаратов в отдельности до 70% при сочетанном назначении. Причина в том, что флударабин подавляет экспрессию белков защиты клеток от системы комплемента (CD55, CD59, CD49) и, таким образом, усиливает действие ритуксимаба. При этом ритуксимаб сенсибилизирует клетки В-ХЛЛ к действию флударабина и других цитостатиков [8, 9].

Эти исследования послужили основой для клинических испытаний комбинаций флударабина и ритуксимаба. К настоящему времени опубликованы три крупные работы по сочетанному применению флударабина и ритуксимаба: исследование Cancer and Leukemia Group B (CALGB 9712), в котором изучались эффективность и безопасность режима FR у больных В-ХЛЛ [10], а также две работы исследователей из MD Anderson Cancer Center, использовавших режим FCR в качестве первой линии терапии [11] и при рецидиве [12].

Исследование CALGB 9712 [10] интересно тем, что в нем изучалось одновременное и последовательное назначение флударабина и ритуксимаба. При одновременном назначении флударабина и ритуксимаба ПР достигает 47% больных, в то время как при последовательном (монотерапия флударабином и затем монотерапия ритуксимабом) только 28%. Таким образом, это исследование подтверждает синергизм действия ритуксимаба и флударабина.

В режиме FCR, предложенном M. Keating, используется наиболее эффективная комбинация препаратов. В 1990-е годы флударабин сочетали

практически со всеми цитостатическими агентами [13—16], кроме винка-алкалоидов, из-за боязни усиления нейротоксического эффекта высоких доз флударабина. В серии этих работ установлено, что оптимальным соотношением эффективности и токсичности обладает комбинация флударабина и циклофосфана. Превосходство режима FC над монотерапией флударабином показано в двух крупнейших международных исследованиях [1, 2]. В свете обсуждавшихся данных о синергизме ритуксимаба и флударабина, комбинация трех препаратов представлялась наиболее эффективной. По данным M. Keating [11], с помощью комбинации FCR у первичных больных В-ХЛЛ удалось достичь в 70% случаев ПР по критериям рабочей группы Национального института рака США (NCI WG). В исследование было включено 224 первичных больных. Четырехлетняя беспрогрессивная выживаемость (БПВ) составила 69% (при 95% ДИ 57—81%).

Ритуксимаб — первый за более чем 30 лет препарат, приведший к увеличению общей выживаемости (ОВ) больных с фолликулярной лимфомой и В-крупноклеточной лимфомой. Результаты исследований CALGB и MD Anderson Cancer Center были ретроспективно сопоставлены с данными, полученными в ранее проводившихся испытаниях монотерапии флударабином и комбинации FC [11, 17]. В обоих ретроспективных сравнениях показано увеличение ОВ у больных В-ХЛЛ. Этот результат представляет собой выдающееся достижение, поскольку ни один вариант терапии, применявшийся до сих пор, не приводил к увеличению ОВ больных В-ХЛЛ. Тем не менее публикаций о рандомизированных исследованиях FC и FCR пока нет.

В данной работе мы представляем результаты ретроспективного анализа больных В-ХЛЛ, получавших терапию по программам FC и FCR в пяти центрах. Наше исследование носит наблюдательный характер. Проводимое нами лечение нельзя считать программным. Его преимущество в том, что оно соответствует реальной клинической практике. В клинических испытаниях, независимо от того, это II или III фаза, всегда присутствуют жесткие критерии отбора больных. В нашем исследовании единственным критерием отбора было наличие показаний к терапии.

Материалы и методы

В исследование включали первичных больных В-ХЛЛ, наблюдавшихся в Гематологическом научном центре РАМН (Москва), клинической больнице №31 Санкт-Петербурга, Федеральном центре крови, сердца и эндокринологии им. акад. В.А. Алмазова (Санкт-Петербург), ЦКБ №2 МПС (Москва) и Краснодарском краевом онкодиспансере, получавших терапию по программам FC и FCR. Часть пациентов лечились по месту проживания, но постоянно наблюдались в указанных центрах. Диаг-

ноз В-ХЛЛ устанавливали по стандартным критериям [18]. Мутационный статус определяли по методике, описанной ранее [19]. Данные относительно мутационного статуса были доступны по 63 больным (больным, наблюдавшимся в ГНЦ РАМН и клинической больнице №31 Санкт-Петербурга). Все пациенты имели показания к началу терапии. Демографические данные представлены в таблице 1. Исходно в исследование вошло 104 больных, однако при анализе окончательных данных 2 пациента с лимфомой из малых лимфоцитов были исключены.

Лечение

Режим FC мог проводиться как перорально, так и внутривенно. При внутривенном введении в схеме FC циклофосфан вводился в дозе 250 мг/м² в 1, 2 и 3-й день; флударабин 25 мг/м² в 1, 2 и 3-й день. Большинство пациентов получали по 50 мг флударабина. При пероральном приеме циклофосфан (эндоксан) назначали в дозе 250 мг/м² после завтрака, а флударабин в дозе 40 мг/м² после обеда в 1, 2 и 3-й дни соответственно. Пациенты в группе FCR кроме этих препаратов получали ритуксимаб в дозе 375 мг/м². В первом цикле ритуксимаб вводился накануне, в последующих циклах при хорошей переносимости в первый день каждого цикла. При этом сначала за 6—8 час вводился ритуксимаб, затем флударабин и циклофосфан. Циклы лечения повторяли каждые 28 дней. Ни у кого из больных не проводилось редукции доз. При развитии цитопений и других осложнений увеличивали межкурсовые промежутки или отменяли лечение. Планировалось проведение 6 циклов лечения. Решение о прекращении терапии принималось лечащим врачом. Основными причинами досрочного прекращения терапии были прогрессия и развитие тяжелых осложнений.

Оценка результатов исследования

Главным показателем эффективности служила БПВ, определяемая как время от начала терапии до одного из следующих событий: прогрессия болезни, рецидив после ремиссии, назначение нового варианта лечения, смерть от любой причины. В качестве дополнительных показателей эффективности оценивали частоту достижения полных и частичных ремиссий (ЧР) и ОВ, вычисляемую от начала терапии до даты смерти или последнего визита.

ПР считали исчезновение всех пальпируемых и определяемых по данным ультразвукографии и рентгенологического исследования органов грудной клетки лимфатических узлов, нормализацию размеров селезенки и картины крови. ЧР констатировали при сокращении размеров лимфатических узлов и селезенки (определяемом по ультразвукографии) более чем на 50%, уменьшение абсолютного лимфоцитоза более чем на 50%. Прогрессию опухоли констатировали при увеличении размеров ранее пораженных или появлении новых лимфатических узлов, увеличении размеров селезенки, увеличении числа лимфоцитов во время терапии. Стабилизацией считали все ситуации, не укладывающиеся в перечисленное.

Рецидивом ПР ремиссии считали момент появления пальпируемых лимфоузлов, селезенки, повышение лейкоцитоза более $10 \times 10^9/\text{л}$ за счет лимфоцитов, появление тромбоцитопении. Рецидивом после частичной ремиссии считали рост ранее увеличенных и появление новых лимфоузлов, увеличение размеров селезенки, повышение абсолютного количества лимфоцитов более $10 \times 10^9/\text{л}$.

Многие пациенты В-ХЛЛ имели цитопению перед началом лечения. В связи с этим для оценки гематологической токсичности мы пользовались критериями токсичности Национального институ-

Таблица 1. Исходные демографические и клинические данные

Показатель	FC		FCR		p
Число больных	62		40		—
Муж/жен	42/20		27/13		0,8
Средний возраст, годы (разброс)	57,8 (40—78)		56,5 (41—73)		0,5
	n	%	n	%	
<50 лет	11	17	14	35	0,08 (<50 лет против всех)
51 — 60 лет	29	46	12	30	
61 — 70 лет	19	30	13	32,5	
>71 лет	3	5	1	2,5	
A	12	20	7	17,5	(A против B/C)
B	27	45	24	60	
C	21	35	9	22,5	
Медиана времени до начала терапии	28,5 мес (1—240)		14 мес (0—113)		0,03
Вариант без мутаций варибельного региона иммуноглобулинов	61% (n=41)		72% (n=22)		0,6

та рака США (NCI), приведенными в таблице 2 [19]. Пациенты, у которых количество тромбоцитов было менее 20 000/мкл и/или количество нейтрофилов менее 1000/мкл до начала терапии, в оценке гематологической токсичности не учитывались. Тяжесть других осложнений оценивали по стандартным критериям.

Кроме оценки токсичности режимов FC и FCR нами проведено исследование других факторов, определяющих токсичность, в частности возраста и скорости клубочковой фильтрации (СКФ). Для расчета СКФ использовали формулу Кокрофта-Голта [20]:

$$\text{СКФ (мл/мин)} = \frac{1,23 \times (140 - \text{возраст}) \times \text{вес тела (кг)}}{\text{креатинин в мкмоль/л}};$$

$$\text{СКФ (мл/мин)} = \frac{1,04 \times (120 - \text{возраст}) \times \text{вес тела (кг)}}{\text{креатинин в мкмоль/л}}.$$

Статистический анализ

Анализ проводился в формате «по намерению лечить» (intent to treat analysis): в исследование включены пациенты, которые получили хотя бы 1 курс терапии по программе FC или FCR. Различия в БПВ и ОВ оценивали с помощью лог-ранк-теста, кривые строили по методу Каплан—Мейера. Оценку влияния на исход (БПВ) различных исходных параметров оценивали с помощью многовариантного регрессионного анализа Кокса. Частоту ремиссий и частоту токсических осложнений сравнивали с помощью критерия χ^2 . Статистический анализ был выполнен с помощью программы STATISTICA (StatSoft, Inc. 2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.

Результаты

Сравнение групп больных

В исследование включено 102 больных, начавших лечение до 1 октября 2006 г. в пяти российских центрах. Режим FC назначили 62 больным, режим FCR — 40. Выбор терапии между FC и FCR определялся доступностью ритуксимаба.

В целом характеристики больных в группах с режимом FC и режимом FCR до начала терапии сопоставимы, за исключениями двух показателей (см. табл. 1). В группе с FCR 14 (35%) больных были моложе 50 лет, тогда как в группе с FC таких пациентов было только 10 (17%). Кроме того, медиана времени до начала терапии в группе с FC была вдвое больше и составляла 28,5 мес, тогда как в группе с FCR — 14 мес ($p=0,03$). Эти различия не преднамеренны и обусловлены ретроспективным характером исследования, отражающим реальную клиническую практику. Меньший период времени до терапии у больных, получавших режим FCR, не говорит о том, что в этой группе было больше пациентов с агрессивным течением В-ХЛЛ.

Лечение

Пять и более циклов терапии получили 77,4% ($n=48$) больных в группе с FC и 90% ($n=36$) в группе с FCR. Это различие обусловлено главным образом тем, что в группе с FCR было меньше больных, переведенных на другие программы терапии из-за недостаточного ответа.

После первого курса FCR 2 больных были сняты с лечения из-за развития длительной цитопении: 1 — после 3 курсов из-за прогрессии, 1 — по решению лечащего врача. В группе с FC 4 и менее курсов получили 14 больных. Из них 2 пациента получили 1 курс: у одного больного из-за резистентности к терапии, у другого больного в период ЧР лечение было прекращено по решению лечащего врача. Двое больных получили 2 курса. Из них у одного после 2-го курса развилась гемолитическая анемия, у другой пациентки, достигшей ЧР, лечение прекращено по решению лечащего врача. У одного пациента, получившего 3 курса, наблюдалась резистентность к терапии. Девять больных получили 4 курса, у 6 из них констатировано отсутствие эффекта или прогрессия. Таким образом, из 14 больных, получивших 4 и менее курсов FC у 8 наблюдалась первичная резистентность к терапии. Случаев прекращения терапии из-за непереносимости ритуксимаба не было.

Эффективность

Результаты представлены в табл. 3 и на рис. 1, 2. В группе с FC ПР достигли 24 (39%) пациента, ЧР — 30 (48%) и у 8 (13%) больных наблюдалась первичная резистентность. Общий ответ составил 87%. В группе с FCR ПР достигли 24 (60%) пациента, ЧР — 14 (35%) — и 2 (5%) больных были резистентны к терапии. Общий ответ составил 95%. Различия в частоте ремиссий достоверны ($p=0,03$, χ^2).

При анализе БПВ выявлены достоверные различия. При медиане срока наблюдения 21 мес (25 и 75% = 11 и 27 мес) в группе с FC было 36 (59%) неблагопри-

Таблица 2. Критерии NCI гематологической токсичности

Степень токсичности	Снижение тромбоцитов или Нв в % от исходного уровня	Уровень нейтрофилов
0	Без изменений — 10%	>2000
1	11—24%	1500—2000
2	25—49%	1000—1500
3	50—74%	500—1000
4	>75%	<500

ятных событий. При медиане наблюдения 19,5 мес (25 и 75% = 13 и 25 мес) в группе с FCR — 7 (17,5%) неблагоприятных событий. Медиана БПВ в группе с FC составила 24 мес, в группе с FCR не достигнута: к сроку наблюдения 23 мес вероятность неблагоприятного события составляет 25% ($p=0,009$, лог-ранк-тест, рис. 1). При указанных сроках наблюдения в группе FC умерло 22 (36%) больных, в группе с FCR — 4 (10%) больных. К моменту анализа данных различия в ОВ оказались в пользу режима FCR, однако они не достигают статистической достоверности ($p=0,1$, рис. 2).

С учетом выявленных нами различий в выборках больных (возраст и время до терапии) мы провели регрессионный анализ Кокса различающихся параметров, чтобы оценить, в какой степени они могли повлиять на различия в БПВ. В анализ включены также стадии заболевания. Анализ показал, что добавление ритуксимаба снижает вероятность прогрессии примерно в 2,5 раза во всех категориях больных, кроме пациентов со стадией С (рис. 3).

Для оценки влияния разных факторов на результаты лечения исследовали модель, включавшую возраст, время до терапии, стадии, мутационный статус и режим терапии (табл. 4). С худшей БПВ независимо ассоциировались стадия С (отношение рисков = 2,65, 95% ДИ 1,7 — 4,0; $p = 0,02$), вариант без мутаций варибельного региона (2,58, 95% ДИ 1,8 — 3,6; $p = 0,01$) и лечение без ритуксимаба (2,3, 95% ДИ 1,5 — 3,6; $p = 0,05$). Возраст и время до начала терапии не оказывали влияния на исход лечения. Число циклов терапии в модель не включено. В группе больных, которым было проведено 4 и менее цикла преобладают пациенты с первичной резистентностью, поэтому в нашей выборке меньшее число циклов априорно будет ассоциироваться с худшей выживаемостью. Анализ Кокса проводился нами для того, чтобы установить, не обусловлено ли наблюдаемое нами преимущество ритуксимаба непреднамеренной селекцией пациентов с более или менее агрессивным течением В-ХЛЛ в ту или иную терапевтическую группу. Включение в модель показателя, оцениваемого во время терапии, сочтено неуместным.

Таблица 3. Основные показатели эффективности при сроке наблюдения 20 мес (анализ «по намерению лечить»)

Показатель	FC, n = 62	FCR, n = 40	p
ПР(%)	24 (39%)	24 (60%)	0,035
ЧР(%)	30 (48%)	14 (35%)	—
Общий ответ (ПР + ЧР) (%)	54 (87%)	38 (95%)	0,19
Отсутствие ответа / прогрессия (%)	8 (13%)	2 (5%)	0,19
Медиана БПВ, мес	24	не достигнута	0,009
Неблагоприятные события, число больных (%)	36 (58%)	7 (17,5%)	—
Медиана ОВ	59 мес	не достигнута	0,11
Число смертей (%)	22 (35%)	4 (10%)	—

Побочные эффекты

Аналізу токсичности были доступны 439 циклов химиотерапии: 240 циклов FC (53 больных) и 199 циклов FCR (37 больных). Основные осложнения представлены в таблице 5. Достоверных различий в гематологической токсичности режимов FC и FCR не было. Режим FCR чаще вызывал нейтропению III—IV степени, в 39% циклов FCR и в 29% циклов FC. Различий в частоте тромбоцитопении и анемии не было. Из инфекционных осложнений чаще всего наблюдались лихорадка у больных с нейтропенией, пневмонией и герпетическими инфекциями. Достоверных различий по частоте этих осложнений не было. Инфекционные осложнения наблюдались преимущественно у больных с резистентностью к терапии.

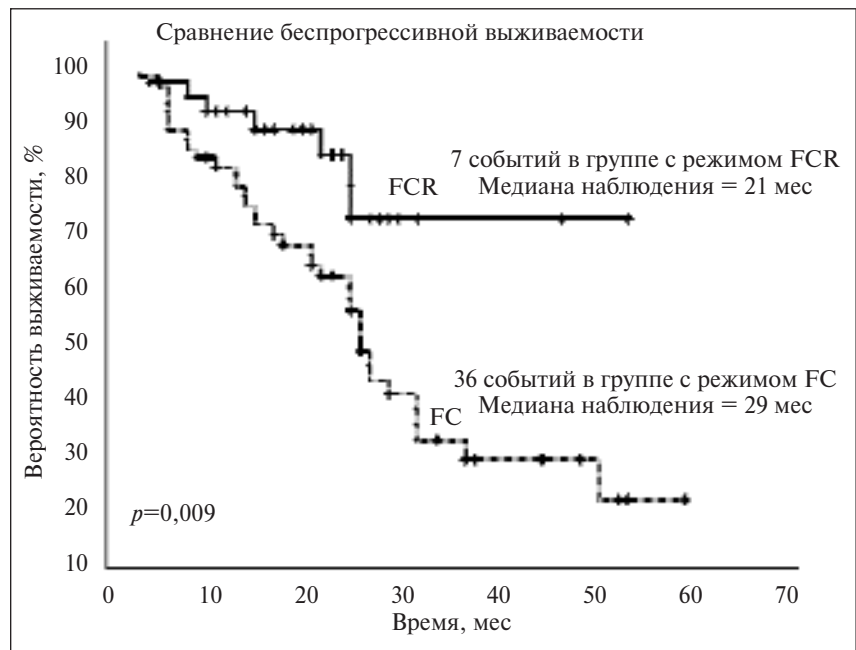


Рис. 1. Беспрогрессивная выживаемость

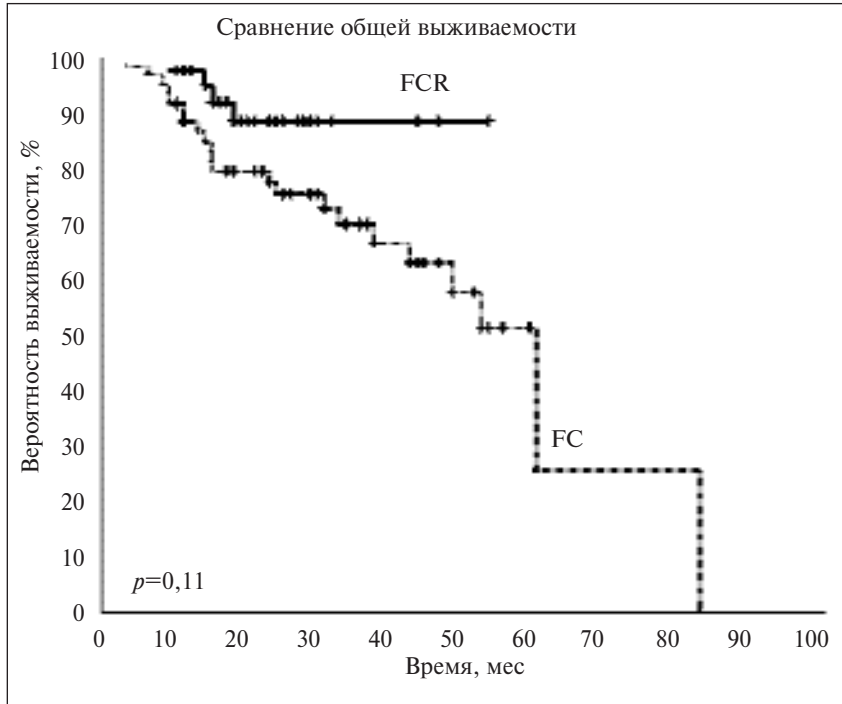


Рис.2. Общая выживаемость

При анализе факторов, определяющих миелотоксичность, мы установили, что частота возникновения нейтропении существенно больше зависела от возраста и почечной функции, нежели от варианта лечения (табл. 6, 7). Рассчитанная по формуле Кокрофта—Голта СКФ до начала терапии достоверно отличалась у больных старше и моложе 60 лет. Так, у пациентов моложе 60 лет медиана СКФ составила 84 мл/мин, 10% и 90% — 51,7 и 100,8 мл/мин соответственно. У больных старше 60 лет медиана СКФ равнялась 63,4, а 10% и 90% были 34,3 и 84,2 мл/мин (см. рис. 3). У больных с СКФ <70 мл/мин нейтропения наблюдалась в 48,2% циклов, в то время как у пациентов с СКФ >70

мл/мин — в 25,7% циклов ($p < 0,001$). Важное значение имел и возраст пациентов: у лиц моложе и у лиц старше 60 лет частота нейтропении составила 28 и 44% соответственно. Частота анемии I—II степени была несколько выше в группе больных с СКФ <70 мл/мин (18% против 14%), однако различия не достигали статистической достоверности. Различий в частоте тромбоцитопении не было. Гемолитическая анемия развилась у 2 пациентов, получавших лечение в режиме FC. Случаев гемолиза во время лечения по программе FCR не было.

Обсуждение

Результаты этого ретроспективного исследования показывают, что добавление ритуксимаба к режиму FC у первичных больных хроническим лимфолейкозом приводит к значительному улучшению всех клиниче-

ских показателей эффективности. Частота ПР возрастает с 39 до 60%. При медиане срока наблюдения около 2 лет БПВ больных, получавших курсы FCR, значительно лучше. Важно отметить, что медиана БПВ у больных этой группы не достигнута, что говорит о качестве ремиссий у больных, получавших лечение в этом режиме. В группе с FCR показатель ПР был выше и существенно меньше было больных с резистентностью и ранним рецидивом.

Учитывая, что в ретроспективном исследовании возможна непреднамеренная селекция, нами проведен многовариантный анализ факторов, которые могли повлиять на результаты лечения. Многовариантный анализ показал, что добавление ри-

Параметр	Значение	0,0	0,4	0,8	1	Число больных	<i>p</i>
Возраст	<50 лет	[---■---]				25	0,08
	>50 лет	[---■---]				77	0,07
Время до терапии	<36 мес	[---■---]				68	0,08
	>36 мес	[---■---]				34	0,07
Стадия	A+B	[---■---]				72	0,04
	C	[---■---]				30	0,38

Рис. 3. Регрессионный анализ Кокса-параметров, различающихся в выборках больных, а также стадий (по БПВ)

Примечание. Вертикальная штриховая линия означает отсутствие эффекта (отношение рисков = 1).

Черные квадраты означают полученные отношения рисков, а горизонтальные линии — пределы 95% ДИ.

Справа указано число больных, у которых параметры имели соответствующие значения, а также значения *p*.

Видно, что ритуксимаб снижает вероятность прогрессии во всех категориях больных примерно в 2,5 раза ($1/0,4=2,5$).

Исключение составляют пациенты со стадией C исходно, где зависимость выражена существенно меньше.

туксимаба к режиму FC при всех прочих равных условиях в 2,3 раза снижает риск прогрессии и рецидива. Превосходство режима FCR не может объясняться различиями в выборках больных.

По данным исследователей из MD Anderson Cancer Center добавление к флударабину циклофосфана сопровождалось умеренным повышением эффективности (с 29 до 35%) [20], а ключевое значение имело добавление именно ритуксимаба. Данные двух недавно опубликованных крупных исследований не вполне согласуются с этим положением. В обоих исследованиях показано двукратное увеличение частоты ПР и БПВ у больных, получавших флударабин с циклофосфаном, по сравнению с монотерапией флударабином [1, 2]. Это же подтверждается и в исследовании CALGB, где при сочетанном назначении флударабина и ритуксимаба, без циклофосфана, ПР была достигнута в 47% случаев [10]. Поэтому важна комбинация всех трех препаратов — циклофосфана, флударабина и ритуксимаба.

Это исследование приближено к реальной клинической практике. В большинстве клинических испытаний предусмотрены жесткие критерии отбора больных. В частности, к участию в клинических испытаниях не допускаются больные, у которых выявлены гепатит или серологические признаки HBV-, HCV- и HIV-инфекции, повышение креатинина, положительная проба Кумбса. Кроме того, не включаются пожилые больные с тяжелой сопутствующей патологией. В нашем исследовании ограничений подобного рода не было: решение о тактике терапии находилось полностью в компетенции лечащего врача.

Сравнение показало, что добавление ритуксимаба к режиму FC не приводит к существенному увеличению токсичности. Из гематологических осложнений увеличивается только частота развития нейтропении (с 29 до 39%). В существенно большей степени на миелотоксичность влияют другие факторы, такие

как возраст и клиренс креатинина, которые, как показывают наши данные, взаимозависимы. Частота возникновения нейтропении была достоверно выше у больных старше 60 лет, а также у пациентов с расчетной СКФ <70 мл/мин. Поскольку сам по себе возраст мало говорит о способности пациента переносить химиотерапию, ключевое значение имеет СКФ: и флударабин, и циклофосфан выводятся

Таблица 4. Регрессионный анализ Кокса демографических и клинических параметров, в качестве показателя эффективности использовалась БПВ

Показатель	Отношение рисков	95% ДИ	p
Режим FC/FCR	2,3	1,5 — 3,6	0,05
Время до терапии (> или < 36 мес)	1,4	1 — 1,85	0,2
Возраст (> или < 50 лет)	1	0,98 — 1,02	0,9
Мутационный статус	2,58	1,8 — 3,6	0,01

Примечание. ДИ = доверительный интервал.

Таблица 5. Сравнение токсичности режимов FC и FCR

Показатель	FC (240 циклов)	FCR (199 циклов)	p
Нейтропения III—IV степени	29%	39%	0,02
Тромбоцитопения III—IV степени	3,8%	3%	Н.з.
Анемия I—II степени	14,7%	15%	Н.з.
Лихорадка на фоне нейтропении	28 (12%)	19 (9,5%)	Н.з.
Пневмония	10 (4%)	4 (2%)	Н.з.
Герпетическая инфекция	10 (4%)	3 (1,5%)	0,09
Сепсис	2 (0,8%)	1 (0,5%)	Н.з.

Примечание. Н.з. — не значимо.

Таблица 6. Гематологическая токсичность в зависимости от возраста

Показатель	<60 лет	>60 лет	p
Нейтропения III—IV степени	28%	44%	<0,001
Анемия I — II степени	15,8%	15,7%	0,23
Тромбоцитопения III—IV степени	3,2%	3,3%	Н.з.

Таблица 7. Гематологическая токсичность в зависимости от СКФ

Показатель	>70 мл/мин	<70 мл/мин	p
Нейтропения III—IV степени	25,7%	48,2%	<0,001
Анемия I — II степени	14%	18%	0,23
Тромбоцитопения III—IV степени	3,5%	3,4%	Н.з.

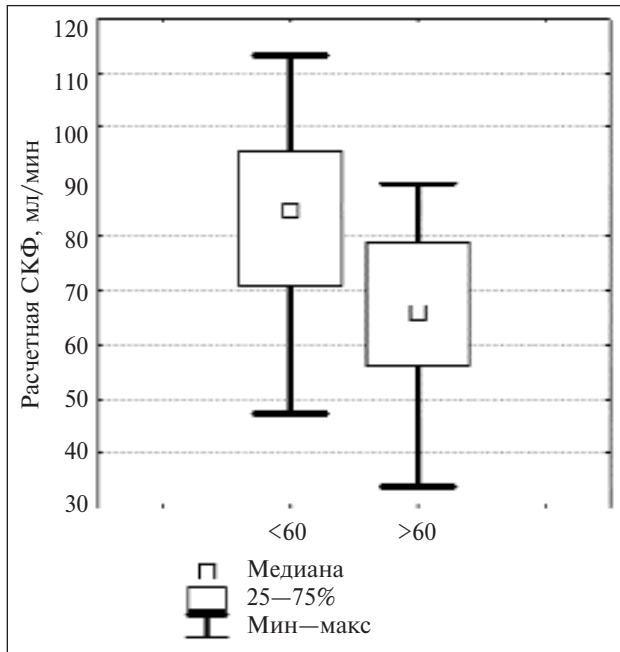


Рис. 4. Расчетная СКФ в зависимости от возраста

преимущественно почками. У больных с СКФ <60 мл/мин во избежание миелотоксичности необходимо проводить редукцию доз циклофосфана и флударабина или включать в сопроводительную терапию препараты колониестимулирующих факторов.

Таким образом, все больше данных, полученных в многоцентровых исследованиях, подтверждают, что добавление ритуксимаба к режиму FC в первой линии терапии значительно улучшает результаты лечения больных В-ХЛЛ. В представляемом исследовании добавление ритуксимаба к курсу FC привело к улучшению всех показателей эффективности, при этом не увеличивая токсичность. Во избежание выраженной миелотоксичности дозы флударабина и циклофосфана следует модифицировать в зависимости от расчетной СКФ.

Если наблюдаемое в исследованиях с одной веткой и при ретроспективных сравнениях превосходство режима FCR подтвердится в рандомизированных клинических испытаниях, режим FCR можно будет считать новым стандартом терапии первой линии у больных В-ХЛЛ.

Л и т е р а т у р а

- Catovsky D., Richards S., Matutes E. et al. UK National Cancer Research Institute (NCRI) Haematological Oncology Clinical Studies Group; NCRI Chronic Lymphocytic Leukaemia Working Group. Assessment of fludarabine plus cyclophosphamide for patients with chronic lymphocytic leukaemia (the LRF CLL4 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2007;370(9583):230–9.
- Eichhorst B.F., Busch R., Hopfinger G. et al. Fludarabine plus cyclophosphamide versus fludarabine alone in first-line therapy of younger patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2006;107(3):885–91.
- McLaughlin P., Grillo-Lopez A.J., Link B.K. et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent: Half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998;16:2825–33.
- Huhn D., von Schilling C., Wilhelm M. et al. Rituximab therapy of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2001;98:1326–31.
- Manshour T., Do K.A., Wang X. et al. Circulating CD20 is detectable in the plasma of patients with chronic lymphocytic leukemia and is of prognostic significance. *Blood* 2003;101:2507–13.
- O'Brien S.M., Kantarjian H., Thomas D.A. et al. Rituximab dose-escalation trial in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2001;19(8):2165–70.
- Di Gaetano N., Xiao Y., Erba E. et al. Synergism between fludarabine and rituximab revealed in a follicular lymphoma cell line resistant to the cytotoxic activity of either drug alone. *Br J Haematol* 2001;114(4):800–9.
- Alas S., Bonavida B., Emmanouilides C. Potentiation of fludarabine cytotoxicity on non-Hodgkin's lymphoma by pentoxifylline and rituximab. *Anticancer Res* 2000;20:2961–6.
- Demidem A., Lam T., Alas S. et al. Chimeric anti-CD20 (IDEC-C2B8) monoclonal antibody sensitizes a B cell lymphoma cell line to cell killing by cytotoxic drugs. *Cancer Biother Radiopharm* 1997;12:177–86.
- Byrd J.C., Peterson B.L., Morrison V.A. et al. Randomized phase 2 study of fludarabine with concurrent versus sequential treatment with rituximab in symptomatic, untreated patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B 9712 (CALGB 9712). *Blood* 2003;101(1):6–14.
- Keating M.J., O'Brien S., Albitar M. et al. Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005;23(18):4079–88.
- Wierda W., O'Brien S., Wen S. et al. Chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab for relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005;23(18):4070–8.
- Rummel M.J., Stilgenbauer S., Gamm H. et al. Fludarabine versus fludarabine plus epirubicin in the treatment of chronic lymphocytic leukemia (CLL)—preliminary results of a randomised phase-III multicenter study. *Blood* 2002;100(11):384a, abstr 1489.
- O'Brien S., Kantarjian H., Beran M. et al. Results of fludarabine and prednisone therapy in 264 patients with chronic lymphocytic leukemia with multivariate analysis derived prognostic model for response to treatment. *Blood* 1993;82:1695700.
- Bosch F., Perales M., Cobo F. et al. Fludarabine, cyclophosphamide and mitoxantrone (FCM) therapy in resistant or relapsed chronic lymphocytic leukemia (CLL) or follicular lymphoma (FL). *Blood* 1997;90(Suppl 1):530a, abstr 2360.
- Tsimberidou A.M., Keating M.J., Giles F.J. et al. Fludarabine and mitoxantrone for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2004;100(12):2583–91.
- Byrd J.C., Rai K., Peterson B.L. et al. Addition of rituximab to fludarabine may prolong progression-free survival and overall survival in patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia: an updated retrospective comparative analysis of CALGB 9712 and CALGB 9011. *Blood* 2005;105(1):49–53.
- Cheson B.D., Bennett J.M. et al. National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: Revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood* 1996;87:4990–7.
- Никитин Е.А., Пивник А.В., Судариков А.Б. и др. Сравнение форм хронического лимфолейкоза в зависимости от мутационного статуса генов вариабельного региона иммуноглобулинов. *Тер арх* 2000;72(7):52–6.
- Cockcroft D.W., Gault M.H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16(1):31–41.
- Keating M.J., O'Brien S., Lerner S. et al. Long-term follow-up of patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) receiving fludarabine regimens as initial therapy. *Blood* 1998;92:1165–71.

ЛЕЧЕНИЕ ИНВАЗИВНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА ЛЕГКИХ НА ОСНОВАНИИ РЕКОМЕНДАЦИЙ АМЕРИКАНСКОГО ОБЩЕСТВА ПО ИНФЕКЦИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ

Г.А. Клясова¹, А.А. Масчан², А.В. Веселов³

¹Гематологический научный центр РАМН, Москва; ²ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии Росздрава, Москва; ³НИИ антимикробной химиотерапии, Смоленск

Приводится часть рекомендаций Американского общества по инфекционным болезням по диагностике и лечению легочных поражений при инвазивном аспергиллезе, которые являются самой частой клинической формой аспергиллезной инфекции. В полном виде перевод данного документа опубликован в журнале «Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия». 2008. Т. 10. №2. Грибы рода *Aspergillus* являются важной этиологической причиной жизнеугрожающих инфекций у иммунокомпрометированных пациентов, к которым относятся пациенты с длительной нейтропенией, развернутыми стадиями ВИЧ-инфекции, наследственными иммунодефицитами состояниями, а также пациенты после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) и/или пересадки легких. Данный вариант рекомендаций по лечению ИА, разработанный Американским обществом по инфекционным болезням (Infectious Diseases Society of America — IDSA) по лечению аспергиллеза сменил рекомендации, опубликованные в 2000 году. Степень доказательности данных по лечению приведена в соответствии со стандартной системой, используемой в руководствах IDSA.

Ключевые слова: инвазивный аспергиллез, диагностика, терапия

TREATMENT OF INVASIVE PULMONARY ASPERGILLOSIS ACCORDING TO RECOMMENDATIONS OF INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA

G.A. Klyaksova, A.A. Maschan, A.V. Veselov

Research Center for Hematology of Russian Academy of Medical Sciences; Federal State Enterprise «Federal Research Clinical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Russian Public Health, Moscow; Research Institute of antimicrobial chemotherapy, Smolensk

Some recommendations of Infectious Diseases Society of America for diagnosis and treatment of invasive aspergillosis with lung involvement, which is the most frequent clinical manifestation of aspergillar infection.

Full version of recommendations was published in one of the editions of journal «Clinical microbiology and antibacterial chemotherapy» (2008. T. 10. №2). Fungi of *Aspergillus* kin is the main etiologic cause of life-threatening infections in immunocompromised patients, such as patients with prolonged neutropenia, advanced stages of HIV infection, hereditary immunodeficiency states and after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) and/or lung transplantation. This version of recommendations for treatment of invasive aspergillosis from IDSA (Infectious Diseases Society of America) substituted the former recommendations published in 2000. The level of evidence of treatment data is given in according with standard scheme used in the IDSA guidance.

Key words: invasive aspergillosis, diagnosis, therapy

Введение

Грибы рода *Aspergillus*, считавшиеся нетипичными возбудителями, являются на сегодняшний день важной причиной заболеваемости и инфекционной летальности иммунокомпрометированных пациентов, в частности при легочных поражениях после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), а также при оппортунистических респираторных и диссеминированных инфекциях. Все клинические рекомендации по лечению аспергиллеза приведены в соответствии со стандартами IDSA (Infectious Diseases Society of America) и службой здравоохранения США по оценке рекомендаций в клинических руководствах (табл. 1).

Микробиология и эпидемиология аспергиллеза

Микроорганизмы. *Aspergillus fumigatus* — наиболее частый возбудитель инвазивного аспергиллеза (ИА), следующими по частоте встречаемости идут *A. flavus*,

A. niger и *A. terreus*. В некоторых медицинских учреждениях чаще всего возбудителем бывает *A. flavus* или *A. terreus*. Для последнего характерна природная резистентность к стандартному амфотерицину В (АмфоВ), однако и *A. flavus*, *A. lentulus*, *A. nidulans*, *A. ustus*, *A. glaucus* также могут быть устойчивыми к данному препарату.

Классификация и определения. Грибы рода *Aspergillus* вызывают поражения, которые традиционно принято разделять на инвазивные, сапрофитические и аллергические. Инвазивные процессы, вызванные грибами рода *Aspergillus*, чаще всего поражают нижние дыхательные пути, пазухи носа, а также кожу и мягкие ткани. Головной мозг, сердечно-сосудистая система и другие органы и ткани могут поражаться путем гематогенной диссеминации из очагов первичного поражения или путем прямого проникновения из близко расположенных очагов. Сапрофитические по-

Таблица 1. Система градаций, используемых в рекомендациях Американского общества по инфекционным болезням и службы здравоохранения США

Категория, уровень	Определение
Сила рекомендации	
A	Хороший уровень доказательности для применения рекомендации на практике
B	Средний уровень доказательности
C	Низкий уровень доказательности
Качество доказательств	
I	Доказательства получены в адекватно проведенных рандомизированных контролируемых исследованиях.
II	Доказательства получены в хорошо спланированных контролируемых исследованиях без рандомизации (например, исследованиях типа «случай-контроль» и пр.). К этой группе также относятся данные масштабных серий исследований, в которых проводился систематический анализ, и данные по новым методам терапии, полученные в нерандомизированных исследованиях
III	Доказательства получены в отдельных исследованиях или являются мнением экспертов. В некоторых случаях рекомендации по терапии получены по результатам определения чувствительности при отсутствии клинических данных

ражения представлены отомикозом и легочной аспергиллемой. Аллергические формы включают аллергический аспергиллезный синусит и аллергический бронхолегочный аспергиллез.

Согласительным комитетом представителей Объединенной группы по инвазивным грибковым инфекциям Европейского общества по изучению и терапии рака (European Organization for Research in Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infection Cooperative Group — EORTC/IFICG) и Группы по изучению микозов национального института аллергии и инфекционных болезней (National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group) были выделены три уровня достоверности диагноза инвазивных микозов: доказанный, вероятный и возможный. Доказанный аспергиллез подразумевает наличие гистопатологических признаков инфекции и положительного результата культурального исследования из стерильных в норме биосубстратов. Определение вероятного аспергиллеза включает следующие составляющие: предрасполагающие факторы пациента, клинические проявления (симптомы, данные рентгенологического исследования, компьютерной томографии-КТ) и результаты микробиологических исследований. В представленных рекомендациях под термином «инвазивный аспергиллез» понимается доказанный или вероятный ИА. Доказанная или вероятная инфекция требует выделения патогенного микроорганизма, за двумя исключениями. Первое касается наличия у пациентов типичной гистологической картины, характерной для *Aspergillus*, при отрицательных результатах культурального исследования. Второе исключение состоит в соответствии диагностическим критериям возможного ИА на основании результатов некультуральных исследований (положительный тест на антиген галактоманна или -глюкана, соответствующие радиологические признаки) у иммунокомпрометированных пациентов с клиническими признаками инфекции, соответствующими диагностическим критериям возможного ИА.

Эти определения в настоящее время совершенствуются, поскольку не охватывают всего спектра ди-

агностики различных вариантов ИА в более широкой популяции иммунокомпрометированных пациентов.

Диагностика. Грибы рода *Aspergillus* хорошо растут на обычной среде и могут быть идентифицированы до вида во многих лабораториях. Культуральное подтверждение важно для дифференциального диагноза аспергиллеза с инфекциями, вызванными другими мицелиальными грибами, например фузариозом и сцидоспориозом. Бронхоальвеолярный лаваж, трансторакальная тонкоигольная чрескожная биопсия или торакоскопия с биопсией под видеонаблюдением являются стандартными диагностическими процедурами для установления диагноза инвазивного легочного аспергиллеза. В образцах жидкостей и тканей, полученных в ходе этих процедур, могут быть культивированы грибы *Aspergillus*, или при прямой микроскопии могут быть выявлены септированные гифы с характерным дихотомичным ветвлением под углом в 45°. При культуральном исследовании или микроскопии возможен ложноотрицательный результат, если пациенты, получают системную противогрибковую терапию, а также в случае неточного определения локализации области поражения, например при бронхоскопии с лаважем или тонкоигольной биопсии. Кроме того, инвазивная диагностика бывает сопряжена с неприемлемо высоким риском у гемодинамически нестабильных пациентов, при тяжелой гипоксии, у пациентов с тромбоцитопенией или нарушением свертывания крови.

Совершенствование КТ-технологии позволило лучше и чаще распознавать типичные симптомы «ореола» и «полумесяца» у иммунокомпрометированных пациентов и значительно облегчило диагностику инвазивного легочного аспергиллеза (ИЛА) у пациентов с гематологическими заболеваниями. Хотя эти рентгенологические признаки являются характерными, они не верифицируют диагноз ИЛА. При поражениях, вызванных другими ангиоинвазивными мицелиальными грибами, а также *Ps.aeruginosa* и представителями семейства *Nocardia*, иногда наблюдаются симптом «ореола» и другие рентгенологические признаки, свойственные аспергиллезу. Эти характерные

рентгенологические признаки ИЛА хорошо описаны у пациентов с нейтропенией, о диагностическом значении таких симптомов у других иммунокомпрометированных пациентов известно гораздо меньше.

Разработка иммуноферментного метода выявления антигена галактоманнана значительно улучшило диагностику ИА. Галактоманнан в качестве маркера ИА определяется не только в крови, но и в спинномозговой жидкости пациентов с аспергиллезом центральной нервной системы (ЦНС) и в лаважной жидкости из бронхов пациентов с ИЛА, хотя диагностическое значение этого теста в данных условиях пока изучается. Для ранней диагностики используют систематический мониторинг галактоманнана. Чувствительность при обследовании пациентов без нейтропении иногда бывает более низкой, возможно из-за меньшей микотической «нагрузки» или наличия антител к грибам рода *Aspergillus*. Одновременное определение сывороточного антигена галактоманнана и выявление легочных инфильтратов при КТ на ранних стадиях ИЛА улучшают диагностику и позволяют своевременно начать противогрибковую терапию. Ряд факторов, в том числе противогрибковая терапия или профилактика, значительно снижают уровень галактоманнана. Имеются данные о ложноположительных результатах, обусловленных терапией определенными антибиотиками (пиперацillin/тазобактам и амоксициллин/клавулонат), неонатальной колонизацией бифидобактериями, использованием раствора Plasmalyte (полиэлектrolитный раствор) при выполнении бронхо-альвеолярного лаважа и наличием у пациентов других инвазивных микозов, включая микозы, вызванные грибами рода *Penicillium*, а также гистоплазмоз и бластомикоз. Несмотря на эти ограничения, данное исследование является полезным дополнительным методом ранней диагностики ИА, особенно при использовании в качестве серийного скрининга среди пациентов высокого риска.

К другим циркулирующим маркерам, которые потенциально можно использовать для диагностики аспергиллеза, относятся (1→3)-β-D-глюканы, а также грибковая ДНК, выявляемая методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Поскольку другие мицелиальные грибы, такие как представители рода *Fusarium*, *Scedosporium*, различные феоидные грибы и *Zygomycetes* способны вызвать клинически схожие инфекции, по возможности должен быть установлен точный микробиологический диагноз. Для лечения инфекций, вызванных мицелиальными грибами, не относящимися к роду *Aspergillus*, могут потребоваться другие антимикотики, и такие инфекции могут иметь другой прогноз.

Антимикотики, активные

в отношении инвазивного аспергиллеза

За последнее десятилетие значительно возросло число исследований противогрибковой терапии и были внедрены в клиническую практику несколько новых препаратов, активных в отношении ИА: вориконазол, АмфоВ и его липидные формы (липидный комплекс амфотерицина В - АВLC, липосомальный

амфотерицин В - L-АМВ и коллоидная дисперсия амфотерицина В - АВCD), каспофунгин, итраконазол и позаконазол. Отметим, что в настоящее время липосомальный АМВ и коллоидная дисперсия АМВ в России не зарегистрированы.

В США для первой линии терапии ИА утверждены только вориконазол и стандартный АмфоВ. Липидные формы, итраконазол и каспофунгин одобрены в качестве препаратов резерва. Позаконазол показан для профилактики ИА у больных острым миелолейкозом (ОМЛ) и миелодиспластическим синдромом (МДС) с нейтропенией, а также пациентам с реакцией «трансплантат - против хозяина» (РТПХ) после алло-ТГСК. Позаконазол также одобрен в Евросоюзе для лечения ИА, рефрактерного к терапии различными формами АмфоВ или итраконазолом. Эхинокандины микафунгин и анидулафунгин активны *in vitro*, *in vivo* и в клинических условиях при аспергиллезе. Выбор препаратов при ведении пациентов с ИА представлен в таблице 2.

АмфоВ, АМВ

АМВ является натуральным полиеновым макролидным антибиотиком, который не всасывается при приеме внутрь. Основной механизм действия АМВ реализуется за счет его связывания с эргостеролом в клеточной стенке большинства клинически значимых, что приводит к формированию ионных каналов, набуханию и гибели грибковой клетки. АМВ также связывается, хотя и в меньшей степени, с холестерином (главный стерол клеточной мембраны млекопитающих), в результате возникает повреждение клеток. Вызываемое АМВ окислительное повреждение клеток запускает также каскад окислительных реакций, связанных с липопероксидацией клеточной мембраны. АМВ *in vitro* и *in vivo* активен в отношении практически всех грибов рода *Aspergillus*, за исключением большинства штаммов *A. Terreus*, которые, как правило, резистентны к АМВ *in vitro*, *in vivo* и в клинических условиях.

После внутривенного введения, прежде чем распределиться преимущественно в ретикулоэндотелиальных тканях (печень, селезенка, костный мозг и легкие) и почках, стандартный АмфоВ в высокой степени связывается с белками плазмы. Пиковая концентрация в плазме составляет 2-4 мкг/мл, что достигается после внутривенной инфузии препарата из расчета 1 мг/кг массы тела. Характерен медленный клиренс из плазмы с -периодом полувыведения, равным 24-48 ч и терминальным периодом полувыведения ≥15 дней. Несмотря на то, что концентрации в спинномозговой жидкости почти неопределимы, стандартной АМВ проявляет активность в лечении ряда грибковых инфекций ЦНС, так как способен проникать в инфицированную ткань мозга через поврежденный гематоэнцефалический барьер.

Стандартный АмфоВ может вызывать острые инфузионные реакции и дозозависимую нефротоксичность. Инфузионные реакции включают лихорадку, озноб, миалгию, артралгию, тошноту, рвоту, головные

Таблица 2. Выбор препаратов при ведении пациентов с ИА

Локализация ИА	Лечение		Комментарии
	Препараты первоочередного выбора	Препараты второй линии	
Инвазивный ИЛА	Вориконазол (6 мг/кг в/в каждые 12 ч в течение 1-го дня, затем 4 мг/кг в/в каждые 12 ч; внутрь по 200 мг каждые 12 ч)	L-AMB (3–5 мг/кг сут в/в); ABLC (5 мг/кг сут в/в); каспофунгин (в 1-й день 70 мг в/в, затем 50 мг сут в/в); микафунгин (100–500 мг в сутки в/в); позаконазол (200 мг 4 р/сут, затем 400 мг 2 р/сут внутрь после стабилизации заболевания); итраконазол (доза зависит от лек-формы)	Комбинация препаратов в качестве начальной терапии не рекомендуется для рутинной практики в связи с недостатком клинических данных; добавление другого препарата или переход на препарат другого класса в качестве терапии «спасения» в индивидуальном порядке; доза вориконазола у детей 5–7 мг/кг в/в каждые 12 ч и для каспофунгина 50 мг/м ² сут; ограниченный клинический опыт применения анидулафунгина; доза позаконазола у детей не установлена; показания к хирургическому вмешательству представлены в табл. 3
ИА околоносовой пазух	То же, что и для ИЛА	То же, что и для ИЛА	То же, что и для ИЛА
Трахеобронхиальный аспергиллез	То же	То же	То же
Хронический некротизирующий легочный аспергиллез (подострый ИЛА)	То же	То же	Так как хронический некротизирующий легочный аспергиллез требует продолжительного курса лечения, измеряемого в месяцах, следует отдать предпочтение пероральным триазолам (вориконазол или итраконазол)
Аспергиллез ЦНС	То же	То же	Данная инфекция связана с самыми высокими показателями летальности среди всех форм ИА; взаимодействие препарата с противосудорожными средствами
Аспергиллезная инфекция сердца (эндо-, мио- и перикардит)		То же	Поражения эндокарда, вызванные грибами рода <i>Aspergillus</i> , требуют хирургической санации; аспергиллезный перикардит, как правило, требует перикардэктомии
Аспергиллезный остеомиелит и септический артрит		То же	Для достижения эффекта терапии необходима хирургическая резекция девитализированной части кости и хряща
Аспергиллезная инфекция глаза (кератит и эндофтальмит)	Показан AMB внутриокулярно с частичной резекцией стекловидного тела	То же; ограниченные данные по эхинокандинам	Системная терапия может быть эффективной в лечении эндофтальмита; офтальмотологическое вмешательство и ведение показано при всех формах инфекции глаз; в случае кератита показана топическая терапия
Аспергиллез кожи		То же	При возможности показана хирургическая резекция
Аспергиллезный перитонит		То же	—
Эмпирическая и превентивная противогрибковая терапия	L-AMB (3 мг/кг/сут в/в); каспофунгин (в 1-й день 70 мг в/в, затем 50 мг/сут в/в); итраконазол (200 мг каждый день в/в или 200 мг 2 раза в сутки); вориконазол (в 1-й день 6 мг/кг в/в каждые 12 ч, затем 3 мг/кг в/в каждые 12 ч; доза для перорального приема — 200 мг каждые 12 ч)	—	Превентивная терапия является логическим продолжением эмпирической противогрибковой терапии у пациентов группы высокого риска с признаками инвазивной грибковой инфекции (например, легочный инфильтрат или положительный результат определения антигена галактоманна)
Профилактика ИА	Позаконазол (200 мг каждые 8 ч)	Итраконазол (200 мг каждые 12 ч в/в в течение 2 дней, затем 200 мг каждые 24 ч в/в) или итраконазол (200 мг внутрь каждые 12 ч), микафунгин (50 мг/сут)	Эффективность профилактики позаконазолом показана у пациентов группы высокого риска (с РТПХ и с нейтропенией на фоне острого миелолейкоза и миелодиспластического синдрома)

Продолжение табл. 2

Локализация ИА	Лечение		Комментарии
	Препараты первоочередного выбора	Препараты второй линии	
Аспергиллема g	Терапевтическое и хирургическое лечение не показано	Итраконазол или вориконазол, как и при ИЛА	Роль лекарственной терапии при аспергиллеме неясна; проникновение в предсуществующие полости может быть минимальным для АМВ и высоким для итраконазола
Хронический полостной легочный аспергиллез g	Итраконазол или вориконазол	То же, что и для ИЛА	У большинства пациентов имели место врожденные иммунные дефекты; может потребоваться длительная терапия; хирургическая резекция способна привести к серьезным осложнениям; отдельные случаи ответа на применение γ -интерферона
Аллергический бронхопульмональный аспергиллез	Итраконазол	Вориконазол внутрь (200 мг внутрь каждые 12 ч) или позаконазол (400 мг 2 раза в сутки)	Кортикостероиды – основа терапии; применение итраконазола может снизить применяемую дозу кортикостероидов
Аллергический аспергиллезный синусит	Ничего или итраконазол	Некоторые данные о других препаратах	–

Примечание. a – оптимальная продолжительность терапии для большинства случаев аспергиллеза до конца не определена. Большинство экспертов предлагают лечить легочную форму инфекции до разрешения или стабилизации всех клинических и рентгенологических признаков. Другие факторы включают в себя локализацию инфекции (например, остеомиелит), уровень иммуносупрессии и продолжительность заболевания. Устранение иммуносупрессии, если возможно, важно для благоприятного исхода при ИА; b – альтернативная терапия (или терапия «спасения») при неэффективности или непереносимости начальной терапии; c – микафунгин оценивался в качестве терапии «спасения» при ИА, однако изучение препарата в отношении данного показания продолжается и доза его не установлена; d – позаконазол одобрен в качестве терапии резерва ИА в странах Евросоюза, но не оценивался в качестве начальной терапии ИА; e – доза итраконазола при лечении ИЛА зависит от формы препарата. Доза для таблеток составляет 600 мг/сут в течение 3 дней, затем по 400 мг/сут. Хотя имели место несколько случаев использования раствора для перорального применения, он не показан для лечения ИА. Парентеральная форма изучена у ограниченного числа пациентов с использованием дозы 200 мг в/в каждые 12 ч в течение 2 дней, затем по 200 мг ежедневно (является ли эта доза оптимальной, пока не установлено); f – в большинстве этих случаев в качестве начальной терапии был АМВ. Хотя при применении вориконазола в рандомизированных исследованиях у пациентов в большинстве случаев был ИЛА, успешное лечение других внелегочных и диссеминированных форм инфекции позволяет предположить, что вориконазол может быть также эффективен при данных состояниях, поэтому он рекомендуется в качестве начальной терапии у большинства таких пациентов; g – более новая классификация делит аспергиллемы на два вида: хроническая полостная и единичная. Последняя не требует противогрибковой терапии, но необходимо хирургическое лечение при ряде условий; первая требует длительной противогрибковой терапии.

боли и бронхоспазм. Обусловленная препаратом нефротоксичность характеризуется азотемией, потерей с мочой калия и магния, тубулярным ацидозом и гипостенурией. Азотемия часто развивается при использовании максимальных дозировок, применяющихся в лечении ИА, особенно опасно совместное применение с другими нефротоксичными препаратами, главным образом циклоспорином и такролимусом.

Липидные формы

К данной группе препаратов, одобренных в США и Евросоюзе, относятся ABCD (Амфоцил или Амфотек), ABLC (Абелцет), L-АМВ (Амбизом). Более низкая нефротоксичность данных форм по сравнению со стандартной формой АМВ позволяет применять более высокие дозы, которые необходимы для адекватной противогрибковой активности, так как амфотерицин должен высвободиться из синтетических фосфолипидов, что позволит достаточному количеству препарата достигнуть очага инфекции.

Каждая липидная форма имеет отличные от стандартного АмфоВ фармакокинетические параметры в плазме крови. Все три липидные формы распределяются в основном в ретикулоэндотелиальных тканях

и оказывают меньшее повреждающее воздействие на почки. Это происходит потому, что в почках меньшее количество амфотерицина высвобождается из липосомальных носителей, так как синтетические фосфолипиды имеют более высокое сродство к амфотерицину, чем холестерин мембран почечных эпителиальных клеток.

Инфузионные реакции, такие как лихорадка и озноб, реже встречаются при использовании L-АМВ, чем стандартного АмфоВ. Однако индивидуальные случаи возникновения чувства дискомфорта за грудиной, респираторного дистресс-синдрома и острой боли в подреберье все же отмечались при инфузии L-АМВ. В сравнительном исследовании эпизоды гипоксии, связанные с лихорадкой и ознобами, чаще развивались при терапии ABCD, чем у получающих стандартный АмфоВ. Умеренное повышение уровня сывороточного билирубина и щелочной фосфатазы наблюдалось при использовании всех трех липидных форм АМВ. Идиосинкратические реакции на применение одной липидной формы препарата не являются противопоказанием к использованию другой.

ABLC и ABCD одобрены в дозах 5 мг/кг/сут и 3–4 мг/кг/сут, а L-АМВ в дозе 3–5 мг/кг/сут в качестве тера-

пии «спасения» при ИА. В дозе 3 мг/кг/сут L-АМВ использовался для эмпирической противогрибковой терапии у длительно лихорадящих пациентов с нейтропенией. Оптимальная доза для лечения ИА не установлена ни для одной из липидных форм АМВ. Хотя многие эксперты предпочитают более высокие дозы для лечения подтвержденной инфекции, данных контролируемых исследований, которые бы обосновывали применение более высоких доз, нет. Недавно проведенное проспективное рандомизированное исследование L-АМВ, в котором сравнивали две его дозы (3 мг/кг/сут и 10 мг/кг/сут) в качестве начальной терапии доказанных и вероятных случаев ИА у 201 пациента, продемонстрировало сравнимые показатели выживаемости и совокупного ответа на терапию. В группе больных, получающих более высокую дозу, отмечалась большая частота развития токсических реакций. Взаимосвязь дозы и ответа на терапию для АВЛС и АВСД изучена недостаточно. Являются ли более высокие дозы липидных форм АМВ эффективными при лечении аспергиллеза ЦНС, а также при других локализациях инфекции, также достоверно не установлено. Одинаковые дозировки липидных форм приводят к равноценным плазменным концентрациям АМВ у детей и взрослых пациентов.

Антимикотики из группы триазолов

Антимикотики из группы триазолов представляют собой синтетические соединения, имеющие более одного триазольного кольца, присоединенного к изобутильному ядру (например, вориконазол, равуконазол и изавуконазол) или к ассиметричному углеродному атому с липофильным комплексом смешанной ароматической цепи (итраконазол и позаконазол). Эти два класса триазолов отличаются по фармакодинамическим параметрам и механизмам резистентности. Флуконазол, который также является противогрибковым триазолом, неэффективен при ИА. Вориконазол одобрен FDA в качестве препарата выбора при лечении ИА. Позаконазол одобрен FDA для профилактики ИА у пациентов с нейтропенией, получающих химиотерапию с целью индукции ремиссии при ОМЛ или МДС, а также у пациентов после алло-ТГСК с РТПХ. Противогрибковые триазолы подавляют биосинтез эргостерола, ингибируя цитохром-Р450-зависимый фермент ланостерол-14--деметилазу, в результате чего повреждается функция клеточной мембраны и происходит гибель грибковой клетки или подавление ее роста и репродукции. Триазолы также подавляют цитохром-Р450-зависимые ферменты дыхательной цепи грибковых клеток. Противоаспергиллезные триазолы активны *in vitro* и *in vivo* в отношении всех типичных видов *Aspergillus*. Хотя некоторые штаммы *A. fumigatus* оказались резистентными к итраконазолу, резистентность к противоаспергиллезным триазолам пока нехарактерна, однако недавние исследования подтверждают, что не исключено нарастание уровня резистентности.

Вориконазол

Вориконазол выпускается в форме таблеток или раствора для внутривенного введения на основе цикло-

декстрина сульфобутилового эфира. В плазме раствор диссоциирует на сульфобутиловый эфир и вориконазол. Так как циклодекстрин выводится через почки, у лиц с почечной недостаточностью может происходить его кумуляция. Последствия аккумуляции в плазме сульфобутилового эфира циклодекстрина в настоящее время неизвестны, поэтому рекомендуется соблюдать осторожность при внутривенном назначении препарата пациентам с нарушением функции почек (С-III). Соответствующие положительные стороны и потенциальные риски назначения парентерального раствора вориконазола при лечении ИА в условиях нарушения функции почек должны оцениваться индивидуально для каждого пациента. Это не относится к приему вориконазола внутрь. Форма для перорального приема имеет хорошую биодоступность как при приеме натощак, так и после еды. Вориконазол хорошо распределяется в тканях, создавая концентрации в ЦНС равные 50% от содержания в плазме. Период полувыведения около 6 ч позволяет принимать препарат 2 раза в сутки. Вориконазол метаболизируется в печени, при этом только 5% препарата выводятся почками в неизменном виде. Обладает нелинейной фармакокинетикой с показателями максимальной плазменной концентрации и площадью под фармакокинетической кривой, увеличивающимися непропорционально повышению дозы. Вориконазол является одновременно и субстратом и ингибитором систем цитохромов Р2С19, Р2С9 и Р3А4. Для предотвращения нежелательных лекарственных взаимодействий необходимо иметь информацию о других принимаемых пациентом препаратах. Аллельный полиморфизм в системе цитохрома Р2С19 может проявиться фенотипически в более быстром или медленном метаболизме вориконазола, поэтому возможны значительные вариации концентраций препарата в плазме. Полиморфизм единичного нуклеотида, ведущий к снижению метаболизма, чаще встречается среди индийского азиатского населения.

Лечение ИА вориконазолом начинают с нагрузочной дозы 6 мг/кг в/в каждые 12 ч (2 дозы), затем по 4 мг/кг каждые 12 ч. Эти дозы выше, чем обычно назначаемые при пероральном приеме (200 мг каждые 12 ч). Пероральная терапия вориконазолом в дозе 4 мг/кг в таблетках соответствующего размера может быть приравнена к стандартной внутривенной дозе (В-III), но применение перорального вориконазола в таких дозах еще до конца не изучено. Так как пациенты в ходе оригинальных рандомизированных клинических исследований изначально получали внутривенную терапию вориконазолом, для достижения результатов, аналогичных полученным в данных исследованиях, лечение, если возможно, следует начинать с парентерального введения препарата. Поскольку у детей имеет место более быстрый метаболический клиренс, дозы вориконазола у них должны быть выше. Поддерживающая доза вориконазола у детей составляет 7 мг/кг 2 раза в сутки, она рекомендуется Европейским медицинским агентством (European Medicines Agency — ЕМЕА) для достижения concentra-

ций препарата в плазме, сравнимых с таковыми у взрослых. Режимы с применением нагрузочных доз в педиатрической практике еще до конца не изучены. Определение уровня препарата в сыворотке крови, особенно при назначении пероральной терапии, может быть полезным для оценки потенциальной токсичности или для регистрации адекватной лекарственной нагрузки, особенно при прогрессировании инфекции (В-III).

Нежелательные явления вориконазола включают: преходящие расстройства зрения (главным образом, фотопсия); гепатотоксичность (повышение уровня билирубина, щелочной фосфатазы и уровня печеночных аминотрансфераз в сыворотке крови), которая может стать причиной снижения дозы; кожную сыпь (обычно на участках тела, подверженных инсоляции); зрительные галлюцинации и др.

Итраконазол

Итраконазол выпускается в виде капсул, перорального раствора в гидроксипропил-β-циклодекстрине (HPCD) и парентерального раствора, который также содержит HPCD в качестве растворителя. Парентеральная форма в России не зарегистрирована. Абсорбция активного вещества при приеме капсул, которой способствует низкий уровень pH желудка и пищевых жиров, может изменяться и становиться минимальной при приеме препарата натощак, особенно у пациентов с гранулоцитопенией на фоне онкологических заболеваний и пациентов с пониженной кислотностью желудка. Использование препарата у пациентов с жизнеугрожающими инфекциями не рекомендуется. Показатели абсорбции лучше при приеме капсул с пищей.

Раствор итраконазола при приеме внутрь обладает более стабильной биодоступностью, которая улучшается, если принимать натощак. Системная абсорбция транспортной субстанции (циклодекстрина) незначительна.

Итраконазол интенсивно метаболизируется в печени и экскретируется в виде метаболитов с желчью и мочой. Большинство выявленных нежелательных явлений препарата преходящи, включают тошноту и рвоту, гипертриглицеридемию, гипокалиемию и повышение уровня печеночных аминотрансфераз. Проявления со стороны желудочно-кишечного тракта чаще встречаются при использовании перорального раствора. Применение итраконазола изредка вызывает отрицательный инотропный эффект, в связи с чем он должен с осторожностью назначаться пациентам с нарушением сократительной функции желудочков сердца. Итраконазол является субстратом системы цитохрома P3A4, а также взаимодействует с участком гема P3A4, в результате чего происходит неконкурентное ингибирование оксидативного метаболизма многих субстратов цитохрома P3A4. Серьезные взаимодействия с рядом препаратов для химиотерапии (например, циклофосфамидом и винкристином) могут ограничить его дальнейшее применение.

Рекомендуемая доза итраконазола при пероральном приеме для взрослых составляет 400 мг/сут (капсулы) и 2,5 мг/кг 2 раза в сутки (пероральный рас-

твор). У детей старше 5 лет рекомендуемая доза перорального раствора та же (2,5 мг/кг 2 раза в сутки).

Позаконазол

Позаконазол структурно аналогичен итраконазолу, но при лечении ИА исследовалась только его пероральная форма. Позаконазол характеризуется не только линейной фармакокинетикой, но его метаболизму также свойствен эффект насыщения (сатурация метаболизма), поэтому невозможно применение нагрузочных доз данного препарата. Равновесные концентрации позаконазола не всегда достигаются даже по истечении недели от начала терапии, в связи с этим его использование в качестве препарата первой линии может вызвать вопросы. Позаконазол подвергается печеночному метаболизму путем глюкуронизации, при этом его лекарственные взаимодействия осуществляются и за счет подавления изоферментов системы цитохрома P4503A4. Значительно более высокая токсичность позаконазола отмечалась у пациентов с острыми лейкозами или миелодисплазией, получавших препарат в качестве профилактики, по сравнению с такой же категорией пациентов, принимавших с той же целью флуконазол или итраконазол.

Данные недавно завершенных клинических исследований подтверждают результаты лабораторных тестов по эффективности позаконазола для профилактики ИА у пациентов с нейтропенией при ОМЛ и у пациентов после алло-ТГСК с РТПХ, а также в качестве терапии резерва рефрактерного ИА.

Доза пероральной суспензии для профилактики составляет 200 мг 3 раза в сутки, а терапевтическая доза (терапия «спасения») — 800 мг, разделенная на 2 или 4 приема. Доза у детей не установлена. Имеются ограниченные данные относительно терапевтического лекарственного мониторинга, но, по результатам одного из исследований, более высокая эффективность позаконазола отмечалась при более высоких концентрациях препарата в крови.

Эхинокандины:

насофунгин, микафунгин и анидулафунгин

Эхинокандины — новый класс полусинтетических липопептидов, механизм действия которых обусловлен неконкурентным ингибированием синтеза 1,3-β-глюкана, полисахарида клеточной стенки многих патогенных грибов. Совместно с хитином молекулы глюкана отвечают за прочность и форму клеточной стенки. Они также необходимы для поддержания осмотической стабильности клетки и играют ключевую роль в делении и росте грибов. Из-за особого механизма действия эхинокандины имеют потенциал для комбинированной терапии в сочетании с другими классами антимикотиков.

Все эхинокандины назначаются только внутривенно. Они обладают дозозависимой фармакокинетикой с β-периодом полувыведения 10—15 ч, что позволяет назначать их 1 раз в сутки. Все эхинокандины имеют высокую (>95%) степень связывания с белками и распределяются во все основные ткани организма,

включая головной мозг, однако концентрации в неинфицированной спинномозговой жидкости низкие. Каспофунгин и микафунгин метаболизируются в печени и медленно экскретируются с мочой и калом. Анидулафунгин медленно разрушается в плазме неферментативным путем и экскретируется через печень.

В исследованных на настоящий момент дозах все эхинокандины в основном хорошо переносятся и только небольшая часть пациентов, включенных в различные клинические исследования, прекратили терапию из-за нежелательных лекарственных реакций. К наиболее частым побочным явлениям относятся повышение уровня печеночных аминотрансфераз, желудочно-кишечные расстройства и головные боли. Как и в случае с другими основными полипептидами, при приеме эхинокандинов имеется потенциальный риск высвобождения гистамина, однако гистаминоподобные симптомы встречались только в отдельных случаях, что может быть объяснено более высокой, чем рекомендуемая, скоростью инфузии препарата. Препараты не имеют серьезных потенциальных лекарственных взаимодействий, связанных с ферментами системы цитохрома Р450. Каспофунгин может снижать площадь под фармакокинетической кривой такролимуса примерно на 20%, но не оказывает влияния на уровень циклоспорина. Однако последний сам увеличивает площадь под фармакокинетической кривой каспофунгина примерно на 35%. Из-за преходящего повышения печеночных аминотрансфераз, как было показано в исследованиях при назначении однократных доз, совместное назначение обоих препаратов должно осуществляться с осторожностью (В-III). Индукторы клиренса препарата и/или смешанные индукторы/ингибиторы, а именно эфавиренц, нелфинавир, невирапин, фенитоин, рифампицин, дексаметазон и карбамазепин, могут снижать концентрации каспофунгина в сыворотке.

Каспофунгин показан пациентам с вероятным или возможным ИА при неэффективности или непереносимости других зарегистрированных препаратов. Рекомендуемая на настоящий момент доза каспофунгина для взрослых составляет 70 мг в качестве нагрузочной (в первый день), затем по 50 мг/сут, в виде медленной внутривенной инфузии примерно в течение 1 ч. Появились данные об использовании более высоких доз каспофунгина (70 мг/сут) в качестве комбинированной терапии «спасения». В случаях значимого снижения функции печени доза препарата для взрослых пациентов должна быть снижена до 35 мг/сут. Назначение каспофунгина детям в дозе 50 мг/м²/сут обеспечивает концентрации препарата равные таковым при назначении 50 мг/сут у взрослых. Микафунгин и анидулафунгин активны в отношении грибов рода *Aspergillus*, но не одобрены по этому показанию, и оптимальные дозы для терапии аспергиллеза пока не установлены; кроме того они не зарегистрированы в России.

ИЛА

Без адекватной терапии ИЛА почти всегда неуклонно прогрессирует, приводя к развитию фатальной

пневмонии. У пациентов с нейтропенией эта пневмония может характеризоваться обширным геморрагическим инфарктом или перейти в некротизирующую пневмонию. Без адекватной терапии ИЛА в дальнейшем осложняется диссеминацией процесса в ЦНС или пенетрацией в близлежащие органы, включая крупные сосуды и сердце. Из-за потенциального прогрессирования этой инфекции чрезвычайно важным является раннее назначение противогрибковой терапии на фоне непринимаемых диагностических исследований.

Ключевые рекомендации

Необходимо раннее начало противогрибковой терапии у пациентов с явным подозрением на ИЛА на фоне проводимых диагностических исследований (А-1).

В связи с лучшими показателями выживаемости и терапевтического ответа на терапию вориконазолом применение стандартного АмфоВ в качестве терапии первой линии не рекомендуется (А-1). В качестве терапии первой линии ИЛА для большинства пациентов рекомендуется назначение вориконазола в/в или внутрь (А-1). Пероральная доза может быть максимально увеличена до 4 мг/кг на прием путем применения таблеток с соответствующим содержанием препарата (В-III). Для тяжелых пациентов рекомендуется применение парентеральной формы (А-III). Рандомизированное исследование, в котором сравнивались две начальные дозы L-AMB (3 мг/кг/сут и 10 мг/кг/сут) показало сравнимую эффективность в обеих подгруппах пациентов, при большей токсичности в подгруппе с высокой дозой. Эти результаты показывают, что L-AMB может рассматриваться в качестве альтернативной терапии первой линии у ряда пациентов (А-1). Препараты резерва включают липидные формы AMB (А-II), позаконазол (В-II), итраконазол (В-II), каспофунгин (В-II) или микафунгин (В-II). В данной ситуации требуется подтверждение диагноза. Терапевтические подходы включают смену класса используемых препаратов, включая липидные формы AMB или эхинокандины, такие как каспофунгин (В-II); при присоединении терапии азолами должны учитываться предшествующая терапия, состояние организма и фармакокинетические показатели.

Учитывая отсутствие хорошо спланированных контролируемых проспективных клинических исследований, рутинное назначение комбинированной терапии ИЛА в первой линии не рекомендуется (В-II). Тем не менее, если речь идет о терапии «спасения», к избранному препарату первой линии может быть добавлен дополнительный противогрибковый препарат или комбинация антимикотиков различных классов, отличных от тех, которые использовались в начальном режиме (В-II). Кроме того, подходы к лечению форм «прорыва» ИА на фоне профилактики или «вторичной» профилактики азолами, активными в отношении мицелиальных грибов, не подкреплены данными клинических исследований, предполагается возможность смены класса препарата (В-III). Первостепенным условием эффективности лечения легочного аспергиллеза является снижение интенсивности иммуносупрессии (на-

пример, снижение дозы кортикостероидов) или восстановление количества нейтрофилов в крови. Хирургическая резекция ткани, инфицированной грибами рода *Aspergillus*, может быть эффективной у пациентов с поражениями, расположенными близко к крупным сосудам или перикарду, локальными единичными очагами, вызывающими кровохарканье, и поражениями, переходящими на плевральную полость или ребра (В-III).

Длительность противогрибковой терапии ИЛА четко не определена. В целом рекомендуется продолжать применение антимикотиков минимум 6-12 нед; у пациентов с иммуносупрессией должно быть достигнуто полное разрешение очагов и терапия должна продолжаться в течение всего периода иммуносупрессии. Длительная терапия ИА облегчается наличием пероральной формы вориконазола, применяемой у клинически стабильных пациентов. У пациентов с успешно леченным ИА, которым потребуются последующая иммуносупрессия, возобновление противогрибковой терапии может предотвратить рецидив инфекции (А-III). Мониторинг пациентов с ИЛА включает систематическую оценку всех признаков и симптомов, а также проведение обзорного исследования легких, обычно с помощью КТ, через регулярные промежутки времени. Частота, с которой должна проводиться КТ, не может быть определена однозначно и должна подбираться индивидуально на основе показателей скорости динамики легочных инфильтратов и тяжести заболевания у каждого пациента. Объем легочных инфильтратов может увеличиваться в первые 7—10 дней лечения, особенно на фоне восстановления количества гранулоцитов. Определение галактоманна в сыворотке крови и его мониторинг являются многообещающими, но нуждаются в дальнейшем изучении. Прогрессивное увеличение уровня антигена *Aspergillus* с течением времени свидетельствует о плохом прогнозе. Тем не менее нормализации уровня антигена галактоманна недостаточно в качестве единственного критерия для прекращения противогрибковой терапии (В-III). Требуются дальнейшие исследования, объясняющие прогностический и терапевтический уровень определения галактоманного антигена в серии тестов у пациентов с инвазивным легочным аспергиллезом.

Для пациентов, у которых отмечалась неэффективность или непереносимость вориконазола, возможной альтернативой является одна из форм АМВ. Стандартный АмфоВ уже давно применяется для лечения ИА. Липидные формы АмфоВ по эффективности не уступают обычному АМВ, но при этом менее нефротоксичны. То, что липидные формы эффективны для терапии ИЛА и других форм ИА, также продемонстрировано в ряде крупных открытых исследований, где препараты применялись в качестве терапии «спасения», с частотой положительного исхода $\approx 40\%$. Исследование каспофунгина у пациентов с неэффективностью или непереносимостью стандартной терапии также показало эффективность равную $\approx 40\%$. Более высокая частота положительных ответов (50%) отмечалась при ИЛА,

по сравнению с диссеминированной формой инфекции (23%). Лекарственная нефротоксичность и гепатотоксичность отмечались у менее чем 5% пациентов.

Пероральная форма итраконазола также применялась для лечения пациентов с ИА при неэффективности или непереносимости стандартного АмфоВ. В исследовании, включившем 76 доступных для оценки пациентов, которые могли принимать препарат внутрь, у 30 (39%) был полный или частичный ответ на терапию, с частотой успешного исхода варьировавшей в зависимости от локализации инфекции и сопутствующих заболеваний. В недавно проведенных исследованиях парентеральной формы итраконазола для терапии ИЛА, рефрактерного к терапии различными формами АМВ, совокупная частота ответа на терапию составила 52%. Оценка сывороточного уровня итраконазола в целом рекомендуется для определения эффективности всасывания препарата (В-II). Хотя нет достаточно доказательств взаимосвязи более высоких уровней препарата и эффективности лечения, уровень >250 нг/мл ассоциирован с более благоприятными исходами. Терапия «спасения» с использованием итраконазола при лечении инвазивного легочного аспергиллеза, рефрактерного к начальной терапии вориконазолом, не рекомендуется из-за такого же механизма действия или возможной резистентности, а также из-за вариабельной биодоступности и токсичности препарата (В-II).

Позаконазол одобрен для применения в Европе в качестве терапии резерва у пациентов с ИА, рефрактерного к терапии АМВ или итраконазолом. Совокупный положительный ответ в открытом исследовании с внешним контролем при участии Комитета по оценке данных в конце лечения составил 42% в группе применения позаконазола и 26% в контрольной группе. Пациенты, включенные в это исследование, уже получали предшествующую терапию, при исследовании позаконазола пациенты отбирались также и на основании возможности приема препарата внутрь. Исследование терапии «спасения» также показало прямую взаимосвязь между концентрацией препарата в сыворотке и частотой ответа на лечение. Однако следует отметить, что эти сывороточные концентрации достигались у пациентов получающих наиболее высокие дозы для взрослых (800 мг/сут в несколько приемов), при которых происходит максимальная абсорбция препарата. Таким образом, маловероятно, что при дальнейшем увеличении дозы будут достигнуты более высокие концентрации в плазме.

Большинство проспективных исследований терапии второй линии заключались в замене препарата, к которому у пациента имеется непереносимость или при использовании которого продолжается прогрессирование инфекции. Недостаточно данных в отношении обоснования необходимости одновременного назначения обоих препаратов, равно как нет убедительных проспективных клинических данных превосходства комбинации антимикотиков над одним препаратом при начальной терапии ИЛА. Добавление второго про-

тивогрибкового препарата к первому, оказавшемуся неэффективным или токсичным, обычно практикуется из-за объяснимой безысходности. Тем не менее ограниченные данные *in vitro*, *in vivo* и нерандомизированных клинических исследований предполагают успех некоторых форм комбинированной терапии ИА, хотя есть предположения о возможном антагонизме антимикотиков. Однако клинических данных, подтверждающих рутинное назначение комбинаций антимикотиков для начальной терапии ИЛА, недостаточно.

Значение вида грибов рода *Aspergillus*. Во внимание должен приниматься вид грибов рода *Aspergillus*, выступающих в качестве этиологического агента. Большинство штаммов *A. fumigatus in vivo* чувствительны к АмфоВ, вориконазолу, позаконазолу, итраконазолу и каспифунгину. Однако большинство штаммов *A. terreus* резистентны к АмфоВ как *in vitro*, так и *in vivo*. Имеются сообщения о резистентности некоторых штаммов *A. fumigatus* к итраконазолу. Другие виды грибов рода *Aspergillus* также могут быть резистентны к АмфоВ, включая *A. lentulus*, *A. nidulans*, *A. ustus* и *A. versicolor*. Итраконазол-резистентные штаммы *A. fumigatus* были выделены от пациентов без выраженной иммуносупрессии, которые, теоретически, должны были ответить на терапию итраконазолом. Также имеются данные о наличии грибов рода *Aspergillus*, резистентных к нескольким азолам.

Применение колониестимулирующих факторов (КСФ). Устранение иммуносупрессии является важным фактором успешного лечения ИЛА. Персистирующая нейтропения и хроническая РТПХ — две наиболее важные причины неблагоприятного исхода ИА. Отсутствие возможности разрешения нейтропении часто связано с летальным исходом ИЛА. Хотя КСФ широко используются для уменьшения длительности нейтропении, недостаточно данных рандомизированных контролируемых исследований, свидетельствующих о том, что Г-КСФ или ГМ-КСФ предотвращают развитие ИЛА у пациентов с длительной нейтропенией (>10 дней).

Цитокины, такие как Г-КСФ, ГМ-КСФ и интерферон γ , усиливают функциональные свойства фагоцитов за счет регуляции хемотаксиса, фагоцитоза, оксидативного метаболизма и/или дегрануляции нейтрофилов, а также регулируют фагоцитоз и окислительный взрыв моноцитов и макрофагов. Клинические данные подтверждают потенциальную роль интерферона γ у ряда пациентов в предотвращении или лечении ИА. Хотя количество клинических данных в пользу их применения именно при аспергиллезе мало, интерферон широко используется в качестве профилактики бактериальных и грибковых инфекций у пациентов с *хронической гранулематозной болезнью* (ХГБ). Отдельные клинические случаи подтверждают эффективность интерферона γ в качестве вспомогательной противогрибковой терапии при ИА у иммунокомпрометированных пациентов без нейтропении, особенно страдающих ХГБ (В-III).

Роль трансфузий гранулоцитов. Трансфузии гранулоцитов могут также быть использованы в лечении

пациентов с ИЛА. Ключевым фактором является адекватное количество гранулоцитов, переливаемое пациентам с тяжелой нейтропенией. Мобилизация под влиянием воздействия Г-КСФ у доноров значительной степени (примерно десятикратно) увеличивает количество гранулоцитов, которое может быть получено с помощью цитафереза и перелито пациенту. У некоторых пациентов с рефрактерным ИЛА трансфузии гранулоцитов позволяли стабилизировать состояние, однако до тех пор, пока не разрешится нейтропения, трансфузии гранулоцитов не смогут полностью санировать легочные очаги. Более того, этот дорогой и получаемый большими усилиями продукт крови должен применяться только у пациентов с доказанной или вероятной инфекцией, кому данная процедура требуется в качестве временной меры до устранения нейтропении. Трансфузии гранулоцитов также используются в терапии неподдающегося лечению ИА и других инфекций у пациентов с ХГБ.

Трансфузии гранулоцитов могут сопровождаться трансфузионными реакциями, включая развитие РДС, а также связаны с возможностью передачи цитомегаловируса (ЦМВ). Для ЦМВ-серонегативных пациентов с иммуносупрессией, особенно с РТПХ, должны подбираться только ЦМВ-серонегативные доноры гранулоцитов. Трансфузии гранулоцитов целесообразно «разнести» не менее, чем на 6 ч от окончания введения АмфоВ, поскольку их сочетание может повысить риск респираторно-дисстрессового синдрома.

Иммуносупрессивная терапия. Прекращение терапии кортикостероидами или снижение их дозы часто имеет решающее значение для успешного исхода лечения ИА (А-III).

Для пациентов с хронической иммуносупрессией продолжение противогрибковой терапии на протяжении всего периода иммуносупрессии способствует более благоприятному исходу (А-III). Для пациентов с успешно леченным ИА, которым потребуются последующая иммуносупрессия, возобновление противогрибковой терапии может предотвратить рецидив инфекции из остаточных очагов, которые не всегда выявляются современными диагностическими технологиями.

Кровохарканье и хирургическое лечение. Кровохарканье — серьезное осложнение ИЛА, иногда приводящее к быстрой смерти больного. Кровохарканье на фоне ИЛА может возникнуть как во время глубокой панцитопении, так и во время выхода из нейтропении. Ранняя агрессивная терапия способна предотвратить это осложнение. Так как жизнеугрожающее кровохарканье, осложняющее ИЛА, чаще встречается у пациентов, уже получающих противогрибковую терапию, хирургическая резекция бывает единственным выходом для эрадикации очага инфекции.

Хирургическая резекция участков легких, пораженных грибами рода *Aspergillus*, может подтвердить окончательный диагноз и провести потенциальную эрадикацию локализованной инфекции (табл. 3). Хирургический метод лечения может быть эффективным

Таблица 3. Относительные показания для хирургического лечения ИА

Состояние	Хирургическая манипуляция	Комментарий
Поражение легких в близости к крупным сосудам или перикарду	Резекция пораженного участка легкого	Может предотвратить распространение поражений с легких на крупные сосуды и в полость перикарда
Инфекция перикарда	Перикардэктомия	Снижает количество микроорганизмов вокруг сердца и предотвращает тампонаду
Вовлечение грудной стенки от близко расположенного легочного поражения	Резекция пораженного участка легкого	Может облегчить боль и предотвратить образование плеврокожной фистулы
Аспергиллезная эмпиема	Установление плеврального дренажа	Снижает нагрузку микроорганизмов в закрытом пространстве
Непрекращающееся кровохарканье из единичного полостного поражения	Резекция полости	Может предотвратить обескровливающее кровохарканье, другие меры по снижению кровохарканья включают эмболизацию вовлеченного кровеносного сосуда и катеризацию; однако возможны рецидивы кровотечения
Инфекция кожи и мягких тканей	Обработка, широкая резекция	Хирургическое вмешательство в дополнение к обработке, если показано
Инфицированные сосудистые катетеры и искусственные устройства	Удаление катетера и искусственных устройств	Удаление инфицированных катетеров и устройств способствует окончательной эрадикации
Эндокардит	Резекция вегетаций и инфицированных клапанов	Вегетации могут быть клапанными или пристеночными, единичные пристеночные поражения подлежат резекции, особенно расположенные на ножке
Остеомиелит	Хирургическая обработка инфицированной кости	Удаление некротических масс и инфицированной кости снижает количество микроорганизмов и способствует лучшей биодоступности препаратов в данной области, решение хирурга определяет объемы вмешательства
Синусит	Резекция инфицированных тканей	Объем хирургического вмешательства может варьировать от отсутствия такового и вплоть до широкой резекции, в зависимости от решения хирурга
Поражения головного мозга	Резекция инфицированных тканей	Объем хирургического вмешательства может варьировать от отсутствия такового и вплоть до полной резекции, в зависимости от локализации, неврологических последствий, доступности и мнения хирурга

Примечание. Показания зависят от множества факторов, тяжести поражения, хирургической оценки и возможности пациента перенести операцию, а также потенциальной роли других методов лечения.

у пациентов с поражениями, расположенными близко к крупным сосудам или перикарду, пациентов с кровохарканьем из одианрного полостного образования или с инвазией инфекции в грудную стенку (В-II). Другое относительное показание для хирургического лечения — резекция единичного легочного поражения, если больному предстоит интенсивная химиотерапия или ТГСК (В-II). Хотя эффективный курс терапии ворико-назолом может предотвратить необходимость резекции пораженных участков легкого, дополнительное хирургическое вмешательство, как правило, является обоснованным при лечении аспергиллеза с вовлечением сердца, крупных сосудов, плевральной полости и костей. Однако недавний удачный опыт использования вторичной противогрибковой профилактики после начального успешного лечения до ТГСК у пациентов с предше-

ствующим ИЛА позволяет сделать предположение, что противогрибковая терапия без хирургического вмешательства может быть также эффективной. Ранняя хирургическая оценка и КТ-мониторинг могут быть необходимы во время лекарственной терапии для осуществления дальнейшего вмешательства, если поражение перейдет на критически важные органы и структуры. Решение о хирургическом вмешательстве должно приниматься индивидуально в отношении каждого пациента с учетом множества факторов, включая степень резекции (например, клиновидная резекция или пневмэктомия), потенциальное влияние задержки в сроках начала химиотерапии, сопутствующие заболевания, состояние пациента, цель противоопухолевой терапии (лечебная или паллиативная), а также односторонний или двусторонний характер поражения.

ЛЕЧЕНИЕ СКЕЛЕТНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

В.В. Птушкин

Отдел подростковой и возрастной гематологии и онкологии ФГУ
«Федеральный научный клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии» Росздрава

Миеломная болезнь часто приводит к скелетным осложнениям — литическим дефектам с патологическими переломами, гиперкальциемии и остеопорозу. В основе этого действия опухолевых плазматических клеток лежит их способность стимулировать остеокласты — клетки осуществляющие резорбцию костной ткани. Повышенная резорбция костного матрикса за счет активации остеокластов протекает одновременно со снижением активности клеток синтезирующих костный матрикс клеток — остеобластов.

Долгие годы борьба с последствиями неблагоприятного воздействия клеток миеломы на костную ткань проходила в русле симптоматической помощи — местная лучевая терапия, хирургическая реконструкция кости, особенно при поражениях позвоночника и обезболивание. В последние годы к этому арсеналу добавились бисфосфонаты — группа препаратов, тормозящих активность остеокластов и способствующих укреплению костной ткани. Результаты контролируемых исследований показали, что такие препараты как клодронат, памидронат и золедронат, значительно снижают вероятность костных осложнений у больных множественной миеломой. Памидронат и золедронат оказались наиболее активными, но при этом длительное использование золедроновой кислоты чаще приводило к развитию такого неблагоприятного осложнения, как остеонекроз челюсти. В рекомендациях ASCO указывается на целесообразность длительного использования памидроната или золедроната у больных с миеломной болезнью и скелетными осложнениями.

Ключевые слова: миеломная болезнь, скелетные осложнения, бисфосфонаты, клодронат, золедронат, памидронат.

TREATMENT OF BONE COMPLICATIONS IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS

V.V.Ptushkin

Department of adolescent and adult hematology and oncology of Federal State Enterprise «Federal Research Clinical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Russian Public Health, Moscow

Multiple myeloma frequently leads to bone complications characterized by the presence of lytic defects with high incidence of pathologic fractures, hypercalcemia and osteoporosis. The basic cause of this effect lies in the ability of malignant plasmatic cells to stimulate osteoclasts which are cells participating in the process of resorption of osseous tissue. Increased resorption of osseous matrix by means of osteoclasts activation runs concurrently with the process of decrease of activity of osteoblasts which are cells synthesizing osseous matrix of the bones.

It has been a long time since the efforts to cope with consequences of unfavorable influence of myeloma cells on osseous tissue has been under way mainly by symptomatic means: local radiotherapy, surgical reconstruction of the bone, especially in cases of vertebral involvement, and anesthesia. Recently new weapon has been added to the arsenal for treatment of bone complications: bisphosphonates which are agents inhibiting the activity of osteoclasts and thus promoting the consolidation of the bones. Results of controlled clinical trials showed that such a medications as clodronate, pamidronate and zoledronate considerably decrease the incidence of bone complications in patients with multiple myelomas. Pamidronate and zoledronate turned out to be more active, at the same time long term usage of zoledronic acid can lead to development of such an adverse complication as osteonecrosis of jaw. The ASCO recommendations indicates the appropriateness of long term use of pamidronate or zoledronate in patients with multiple myelomas and bone complications.

Key words: multiple myeloma, bone complications, bisphosphonates, clodronate, zoledronate, pamidronate.

Множественная миелома (ММ), или миеломная болезнь представляет собой злокачественное прогрессирующее лимфопролиферативное заболевание, субстратом которого являются постгерминальные долгоживущие плазматические клетки [1]. Эти клетки мигрируют в костный мозг, где их существование поддерживается стромой. Миелома составляет около 10% от всех случаев гематологических новообразований. В 2002 г. в Российской Федерации было выявлено 2053 новых случая ММ, и в 3—4 раза большее количество пациентов находится под наблюдением гематологов или получает лечение.

Клиническая симптоматика ММ определяется инфильтрацией костного мозга неоплазированными плазматическими клетками и продукцией ими моноклонального белка. Инфильтрация приводит к вытеснению нормальных клеток-предшественников гемопоэза и сопровождается цитопенией и снижением содержания поликлональных иммуноглобулинов вследствие сокращения числа нормальных плазматических клеток. Однако, кроме этого, клетки опухоли могут оказывать разрушающее действие на костную ткань, вызывая литические дефекты, патологические переломы, гиперкальциемию и остеопороз. В основе данного эффекта лежит способ-

ность клеток миеломы стимулировать остеокласты — клетки, осуществляющие резорбцию костной ткани. Подобная стимуляция реализуется за счет продукции клетками миеломы лиганда рецептора, активирующего ядерный фактор каппа—В (RANKL) [2]. Этот лиганд, взаимодействуя с рецептором на мембране предшественников остеокластов (RANK), способствует их развитию в зрелые активные клетки и предохраняет зрелые остеокласты от апоптоза. Помимо этого, миеломные клетки побуждают строму продуцировать интерлейкины 1 и 6 (макрофагальный фактор роста), способствующие выживанию самих опухолевых клеток и оказывающие стимулирующее действие на остеокласты [3—5]. Общее разрушительное действие миеломы на структуры кости поддерживается в том числе за счет ингибирования образования остеобластов, продуцирующих новую костную ткань. Это происходит благодаря продукции миеломными клетками белка DKK 1, останавливающего дифференцировку предшественников остеобластов [6]. В некоторых работах было показано, что у больных с миеломой выраженность литических костных дефектов тем сильнее, чем выше продукция ими DKK1 белка [7].

Чаще всего при миеломе поражается аксиальный скелет. Это связано в первую очередь с тем фактом, что кости аксиального скелета содержат большее количество костного мозга и, соответственно, содержащихся в нем опухолевых клеток. По частоте скелетные осложнения и связанные с ними лечебные процедуры при миеломе можно представить следующим образом: компрессия спинного мозга — 5%, необходимость хирургического пособия в связи с поражением костей — 7%, гиперкальциемия — 8%, необходимость радиотерапии — 22%, патологические переломы — 30%.

Клинически скелетные осложнения чаще всего проявляются в виде болей. Патофизиологическая основа этих болей до конца неясна. В качестве объяснений предлагаются как сам факт литического повреждения кости, так и продукция опухолью провоспалительных цитокинов и факторов роста (эндотелиального фактора роста и фактора роста нервных клеток), усиливающих болевую реакцию. Кроме того, болевые ощущения может вызывать опухолевая инфильтрация нервных волокон. При этом далеко не все костные дефекты приводят к появлению болей — 60—70% литических поражений скелета безболезненны [8]. Чаще всего боль отмечается при поражении костей основания черепа, позвоночника, таза, а также бедренной кости.

Деструкция костной ткани, вызываемая опухолью, значительно снижает способность кости противостоять физической нагрузке. Это приводит к микро-, а затем и макропереломам. Чаще всего страдают ребра и позвоночник, но нередко переломы и в костях, несущих значительную физическую нагрузку (бедренная, плечевая кости). Переломам

способствуют дефекты не только кортикальной, но и решетчатой части кости. Разработаны формулы на основе рентгенологической картины костных опухолевых дефектов (локализация, размеры, вовлечение кортикального региона), позволяющие в баллах рассчитать риск переломов [9].

Разрушение кости с высвобождением элементов костного матрикса, содержащего в большом количестве кальций, нередко приводит к гиперкальциемии. Гиперкальциемия на первом этапе протекает под маской неспецифических симптомов опухоли: слабость, анорексия и запоры. В последующем по мере нарастания выраженности электролитных нарушений возникают тошнота и рвота, жажда, полиурия и заторможенность вплоть до комы. Задержка эффективной специализированной помощи приводит самым неблагоприятным последствиям для пациентов на фоне развития почечной недостаточности и нарушений сердечного ритма.

Компрессия спинного мозга и нервного сплетения конского хвоста относится, как и гиперкальциемия, к осложнениям, требующим экстренной помощи. Клинически компрессия чаще проявляется болезненностью, распространяющейся, в том числе на области за пределами опухоли, усиливающейся при кашле, повышении давления воздуха в легких. Боль нередко усиливается ночью, что отличает ее от болевых ощущений при костном разрушении, которые ночью чаще стихают. Боль может носить радикулярный, опоясывающий характер, локализуясь в области грудной клетки или верхних отделов живота, а также распространяться на конечности. Обычно локальная боль предшествует радикулярной боли и неврологическим нарушениям (снижение чувствительности, мышечная слабость и паралич). При ретроспективном анализе клинических проявлений у 70 больных с компрессией спинного мозга отмечено, что мышечная слабость является наиболее частым симптомом (96%). За ней следуют боль (94%), сенсорные нарушения (75%) и расстройства в работе сфинктеров (61%) [10]. В этих случаях необходимы экстренные меры по диагностике и лечению.

Лечение

Радиотерапия. Радиотерапия является важным компонентом в комбинированном лечении миеломной болезни и при паллиативной помощи. В ранних работах показано куративное воздействие облучения у части больных с солитарными плазмацитомами, однако основное показание для этого метода — поражение кости, сопровождающееся болью. Большинство больных отмечают значительное снижение интенсивности болевых ощущений после облучения в дозе 3 000 сGy 10—15 фракций [11]. Также показаниями для лучевой терапии являются: патологические переломы, компрессия спинного мозга, локальные неврологические проблемы, вызываемые ростом опухоли и крупные плазмацито-

мы мягких тканей. Радиотерапия может препятствовать появлению новых переломов позвоночника, однако применение метода сопровождается длительным повреждением костного мозга в облученных областях, что мешает проведению последующей химиотерапии.

Радионуклиды. Радионуклидная терапия чаще используется для лечения остеобластических метастазов с выраженным болевым синдромом, однако в нескольких исследованиях методика была использована при множественной миеломе и литических костных дефектах [12]. Эффективность радиофармпрепарата, включающего самарий 153 в комбинации с бортезомибом исследуется в настоящее время.

Хирургия. Хирургические вмешательства чаще осуществляются при угрожающих или произошедших патологических переломах, а также спинальной нестабильности. Использование вертебропластики для ликвидации спинальной нестабильности или при вертебральных компрессионных переломах оказалось недостаточно эффективным и сопровождалось высоким риском экстравазации цемента. Развитие минимально инвазивной методики стабилизации позвоночного столба, называемой кифопластикой (в отличие от вертебропластики при этом восстанавливается уменьшенная высота позвонка), показало значительно лучшие результаты с точки зрения качества жизни больных, однако в этой области требуются дополнительные исследования.

Использование бисфосфонатов. Бисфосфонаты — группа соединений, структурно близких к пирофосфату, участвующему в хранении кальция в матриксе костной ткани — оказывает тормозящее действие на разрушение кости остеокластами. Антирезорбтивный эффект наиболее активных азотсодержащих бисфосфонатов (памидронат, золендронат, ибандронат) реализуется благодаря их связыванию с кристаллами гидроксилпатита кальция матрикса кости с последующим поглощением остеокластами [14]. В остеокластах эти соединения тормозят фермент фанезилдифосфатсинтазу [15], определяющий синтез ряда сигнальных молекул (Ras, Rac, Rho и Rab). Это, в свою очередь, нарушает регуляцию сигнальных путей, определяющих цитоскелетную организацию клетки, выживание, пролиферативную активность, что приводит к снижению активности остеокластов и их апоптозу [16,17]. Бисфосфонаты также препятствуют фиксации остеокластов к костному матриксу и тормозят превращение моноцитов в макрофаги [18].

За последние 20 лет было проведено много клинических исследований по применению различных представителей класса бисфосфонатов у пациентов с миеломной болезнью. Целью этих исследований было выявление эффективности бисфосфонатов в профилактике костных осложнений. Среди этих препаратов наибольший эффект показали клодронат, памидронат и золендронат.

Клодронат в 2 крупных плацебо-контролируемых исследованиях у больных множественной миеломой продемонстрировал 50% снижение частоты появления новых костных поражений в течение 2 лет приема. Этот эффект не зависел от наличия литических очагов поражения кости на момент начала исследования. Через год от начала применения клодроната частота вертебральных и невертебральных переломов, время до возникновения невертебральных переломов и частота тяжелой гиперкальциемии были ниже в группе принимавших клодронат [19, 20]. Через 2 года статус больных в группе бисфосфоната был выше, а доля больных, испытывающих боль, ниже. В третьем исследовании частота переломов в группах применения клодроната и плацебо значимо не различалась [21].

Также несколько крупных плацебо-контролируемых исследований было проведено с памидронатом. В одном из них 392 пациента с множественной миеломой и литическими поражениями костей получали химиотерапию и 1 раз в 4 нед. памидронат 90 мг или плацебо на протяжении 9 мес. Частота скелетных осложнений в группе применения памидроната составила 24% против 42% в группе плацебо ($p=0,001$). На протяжении времени исследования костные боли в группе применения памидроната значительно снизились, не было повышения потребности в использовании обезболивающих препаратов или ухудшения статуса по шкале ECOG. Напротив, в группе сравнения болевые ощущения прогрессировали, повысилась потребность в анальгетиках, снизился статус больных. Также у пациентов в группе плацебо отмечено снижение показателей качества жизни [22]. Переносимость памидроната была сопоставима с плацебо, и исследователи решили продлить его применение до 21 мес. Частота скелетных осложнений продолжала снижаться сильнее в группе бисфосфоната [23]. Интересно, что больные, получавшие вторую линию химиотерапии (исследование было стратифицировано на первичных и рецидивирующих/прогрессирующих), в случае назначения памидроната жили более долго (14 мес против 21 мес, $p=0,041$).

В еще одном исследовании 90 больных с ограниченными (I—IIА) стадиями множественной миеломы, не получавших до этого противоопухолевой терапии, были рандомизированно разделены на получавших памидронат инфузионно ежемесячно в течение 1 года или наблюдавшихся. Другого лечения пациенты не получали. При медиане наблюдения 52 мес (36—72 мес) выживаемость без прогрессирования составила в группе применения памидроната 25% против 26,8% в группе контроля ($p=NS$). В то же время среди больных, которым в связи с прогрессированием потребовалось проведение химио/радиотерапии, частота скелетных осложнений (остеолитические повреждения, патоло-

гические переломы и/или гиперкальциемия) была значимо ниже (40%), чем в группе контроля (81,8%) $p < 0,01$ [24].

Дульбегович в метаанализе на основе базы кохран на материале 11 исследований, включивших 2183 пациента, показал, что применение памидроната и клодроната значимо снижает риск вертебральных переломов, гиперкальциемии и боли у пациентов с множественной миеломой [25].

Несколько исследований также было проведено с золендронатом. В исследовании Verenson эффект золендроновой кислоты был сопоставим с эффектом памидроната по снижению частоты костных осложнений. В отличие от памидроната, который необходимо вводить в течение 2 ч, 15-минутная инфузия золендроната представляется более удобной для пациентов и медицинского персонала. В то же время вопрос о безопасности длительной терапии золендронатом оставался открытым. Для прямого сравнения эффективности и токсичности золендроната в дозе 8 мг и 4 мг и памидроната в дозе 90 мг было проведено контролируемое исследование [27]. Результаты его свидетельствуют о равной эффективности двух вариантов лечения для больных множественной миеломой с точки зрения общей частоты скелетных событий, включая гиперкальциемию ($p=0,593$), а также времени до первого костного события. Не различалась и переносимость препаратов. Около 10% больных в группах отменили лечение бисфосфонатами из-за токсичности. Частота нефротоксичности в группе применения золендроната, назначаемого в дозе 4 мг, и памидроната не различалась, хотя доза 8 мг оказалась значимо более нефротоксичной. Вероятность снижения почечной функции на фоне приема более высокой дозы оказалась существенной (относительный риск 2,187, $p=0,0001$). Авторы рекомендовали для дальнейшего использования дозу 4 мг как менее нефротоксичную при равной эффективности [28].

В последние несколько лет стали появляться описания случаев остеонекроза челюсти у больных, длительно получающих бисфосфонаты. Остеонекроз челюсти — это тяжелое осложнение, возникающее при применении бисфосфонатов [29], заключающееся в бессимптомном или чаще болезненном костном дефекте с отеком десны, появлении незаживающей язвы, выпадении зубов. При асимптоматическом течении часто присоединяется вторичная инфекция с формированием остеомиелита челюсти. Антибиотики бывают неэффективны. При начальных стадиях лечат консервативно, при поздних проводят оперативное пособие (резекция, некрэктомия). Анализ результатов лечения большого количества больных показал, что этот риск повышается для онкологических пациентов в среднем в 4 раза [30]. Среди предрасполагающих факторов некоторые авторы указывают длитель-

ность лечения внутривенными бисфосфонатами (до 10% к 4 годам) и применение золендроната (риск в 6—9 раз более высокий в сравнении с памидронатом) [31].

Американское общество клинических онкологов (ASCO) в своих рекомендациях 2007 г. для больных миеломной болезнью, имеющих выявленные при рентгенографии или других методах обследования остеолитическое поражение костей или компрессионные переломы позвонков, связанные с остеопенией, предпочтительной терапией считает введение памидроната в дозе 90 мг в виде внутривенной инфузии продолжительностью не менее 2 ч или золендроната в дозе 4 мг в виде внутривенной инфузии продолжительностью 15 мин каждые 3—4 нед [32]. Учитывая данные Zervas и соавт. о повышении риска развития остеонекроза челюсти на фоне лечения золендронатом в сравнении с памидронатом, последний может быть предпочтительным до тех пор, пока не появятся какие-либо дополнительные данные о побочных эффектах лечения бисфосфонатами. Длительность этой терапии должна составлять 2 года. По истечении этого срока терапия бисфосфонатами может быть прекращена и возобновлена при появлении новых очагов костной деструкции. У части пациентов может быть индивидуально рассмотрен вопрос пролонгации терапии бисфосфонатами продолжительностью более 2 лет.

В связи с возможностью развития побочных эффектов со стороны почек в информационные материалы, прилагаемые к золендронату, были внесены рекомендации, согласно которым пациенты с умеренным нарушением функции почек (клиренс креатинина 30—60 мл/мин) должны получать редуцированные дозы золендроната, без изменения продолжительности инфузии и интервалов между введением препарата. Золендронат не был исследован у больных с тяжелой почечной недостаточностью (клиренс креатинина ниже 30 мл/мин) и не рекомендован к применению в этой группе больных. Больным с обширным поражением костей и выраженной почечной недостаточностью (уровень креатинина в сыворотке более 3 мг/дл (265 мкм) или клиренс креатинина менее 30 мл/мин) рекомендовано назначение памидроната в дозе 90 мг в виде 4—6-часовой внутривенной инфузии. Хотя рекомендаций по снижению дозы у пациентов с наличием нарушения функции почек нет, Комитет рекомендует клиницистам в подобных случаях редуцировать дозу памидроната. Не следует вводить памидронат быстрее чем за 2 ч, а золендронат быстрее чем за 15 мин. Комитет рекомендует определять уровень креатинина в сыворотке крови перед каждым введением бисфосфонатов. Введение бисфосфонатов отменяется в случае развития у пациентов ухудшения функции почек, ассоциированного с назначением этих препаратов. Возобновление терапии возможно

при восстановлении уровня сывороточного креатинина в пределах 10% от исходных значений.

Аналогичные рекомендации были разработаны и специалистами клиники Мэйо [33]. В этих рекомендациях, во многом совпадающих с рекомендациями экспертов ASCO, длительность лечения для больных, достигших полной или почти полной ремиссии, ограничивается 1 годом. При достиже-

нии частичной ремиссии, стабилизации или при прогрессировании длительность лечения должна составлять 2 года. В качестве препаратов первой линии также рекомендуется назначение памидроната или золедроната, а в случае рецидива поражения костей после отмены бисфосфонатов — возобновление лечения с использованием памидроната или клодроната.

Л и т е р а т у р а

- Malpas J.S., Bergsagel D.E., Kyle R., Anderson K. Multiple Myeloma: Biology and Management. Oxford University Press: Oxford; 1998.
- Hsu H., Lacey D.L., Dunstan C.R. et al. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:3540—5.
- Dankbar B., Padro T., Leo R. et al. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in paracrine tumor-stromal cell interactions in multiple myeloma. *Blood* 2000;95:2630—6.
- Abe M., Hiura K., Wilde J. et al. Role for macrophage inflammatory protein (MIP)-1alpha and MIP-1beta in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *Blood* 2002;100:2195—202.
- Donovan K.A., Lacy M.Q., Gertz M.A., Lust J.A. IL-1beta expression in IgM monoclonal gammopathy and its relationship to multiple myeloma. *Leukemia* 2002;16:382—5.
- Silvestris F., Cafforio P., Calvani N., Dammacco F. Impaired osteoblastogenesis in myeloma bone disease: role of upregulated apoptosis by cytokines and malignant plasma cells. *Br J Haematol* 2004;126:475—86.
- Tian E., Zhan F., Walker R. et al. The role of the Wnt-signaling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Engl J Med* 2003;349:2483—94.
- Front D., Schenk S.O., Frankel A., Robinson E. Bone metastases and bone pain in breast cancer: are they closely associated? *JAMA* 1979;242:1747—8.
- Mirels H. Metastatic disease in long bones: a proposed scoring system for diagnosing impending pathological fractures. *Clin Orthop* 1989;249:256—64.
- Hill M., Richards M.A., Gregory W.M. et al. Spinal cord compression in breast cancer: a review of 70 cases. *Br J Cancer* 1993;68:969—73.
- Adamietz I.A., Schober C., Schulte R.W.M., et al. Palliative radiotherapy in plasma cell myeloma. *Radiother Oncol* 1991;20:111—6.
- Iuliano F., Molica S., Abruzzese E. et al. Samarium-153 Sm-EDTMP and zoledronic acid present synergistic action and are able to control pain and significantly improve QOL in elderly patients with multiple myeloma [abstract 6737]. *J Clin Oncol ASCO Annual Meeting Proceedings (Post Meeting Edition; July 15 Suppl)*;2004.
- Mirels H. Metastatic disease in long bones: a proposed scoring system for diagnosing impending pathological fractures. *Clin Orthop* 1989;249:256—64.
- Russell R.G.G. Bisphosphonates: from bench to bedside. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1068:367—401.
- Zhang F.L., Casey P.J. Protein prenylation: molecular mechanisms and functional consequences. *Annu Rev Biochem* 1996;65:241—69.
- Ridley A.J., Hall A. The small GTP-binding protein Rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 1992;70:389—99.
- Ridley A.J., Paterson H.F., Johnston C.L. et al. The small GTP-binding protein, rac, regulates growth factor-induced membrane ruffling. *Cell* 1992;70:401—10.
- Ebrahimpour A., Francis M.D. Bisphosphonate therapy in acute and chronic bone loss: physical chemical considerations in bisphosphonate-related therapies. In: Bijvoet O, Fleisch HA, Canfield RE, Russell RGG eds. *Bisphosphonates on Bones*. Amsterdam, Holland: Elsevier Science; 1995:125—36.
- Heim M.E., Clemens M.R., Queisser W. et al. Prospective randomized trial of dichloromethylene bisphosphonate (clodronate) in patients with multiple myeloma requiring treatment: a multicenter study. *Onkologie* 1995;18:439—48.
- McCloskey E.V., MacLennan C.M., Drayson M.T. et al. A randomized trial of the effect of clodronate on skeletal morbidity in multiple myeloma. *Br J Haematol* 1998;101:317—25.
- Lahtinen R., Laakso M., Palva I. et al. Randomised, placebo-controlled multicentre trial of clodronate in multiple myeloma. *Lancet* 1992;340:1049—52.
- Berenson J.R., Lichtenstein A., Porter L. et al. Efficacy of pamidronate in reducing the skeletal events in patients with advanced multiple myeloma. *N Engl J Med* 1996;334:488—93.
- Berenson J., Lichtenstein A., Porter L. et al. Long-term pamidronate treatment of advanced multiple myeloma patients reduces skeletal events. *J Clin Oncol* 1998;16:593—602.
- Musto P., Falcone A., Sanpaolo G. et al. Pamidronate reduces skeletal events but does not improve progression-free survival in early-stage untreated myeloma: Results of a randomized trial. *Leuk Lymphoma* 2003;44:1545—48.
- Djulgovic B., Wheatley K., Ross J. et al. Bisphosphonates in multiple myeloma. *Cochrane Database Syst Rev* 2002;3:CD003188.
- Berenson J.R., Rosen L.S., Howell A. et al. Zoledronic acid reduces skeletal-related events in patients with osteolytic metastases. *Cancer* 2001;91:1191—200.
- Rosen L.S., Gordon D., Kaminski M. et al. Zoledronic acid versus pamidronate in the treatment of skeletal metastases in patients with breast cancer or osteolytic lesions of multiple myeloma: a phase III, double-blind, comparative trial. *Cancer J* 2001;7:377—87.
- Rosen L.S., Gordon D., Kaminski M. et al. Long-term efficacy and safety of zoledronic acid compared with pamidronate disodium in the treatment of skeletal complications in patients with advanced multiple myeloma or breast carcinoma: a randomized, double-blind, multicenter, comparative trial. *Cancer* 2003;98:1735—44.
- Durie B.G., Katz M., McCoy J., Crowley J. Osteonecrosis of the jaws in myeloma: Time dependent correlation with Aredia and Zometa use. *Blood* 2004;104(ASH Annual Meeting Abstracts):756.
- Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg* 2003;61:1115—17.
- Zervas K., Verrou E., Teleioudis Z. et al. Incidence, risk factors and management of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma: a single center experience in 303 patients. *Brit J. of Haematol* 2006;134:620—23.
- Kyle R.A., Yee G.C., Somerfield M. et al. ASCO 2007 clinical practice guidelines update on the role of bisphosphonates in multiple myeloma *J Clin Oncol* 2007;25:2464—72.
- Lacy M.Q., Dispenzieri A., Gertz M.A. et al. Mayo clinic consensus statement for the use of bisphosphonates in multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 2006;81:1047—53.

ДИСПАНСЕРНОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПЕДИАТРОМ ОБЩЕЙ ПРАКТИКИ

С.Р. Варфоломеева^{1,2}, Д.Ю. Качанов^{1,2}, М.М. Шнейдер¹,
К.В. Добренков¹, Т.В. Шаманская^{1,2}, Е.В. Самочатова¹, А.Г. Румянцев¹
¹ФГУ ФНКЦ ДГОИ Росздрава, Москва; ²Московский областной онкологический диспансер, Балашиха

В течение последних двух десятилетий в России произошли существенные изменения в терапии онкогематологических заболеваний у детей. На современном этапе терапия данной группы пациентов невозможна без взаимодействия врачей-детских гематологов/онкологов и врачей педиатров общей сети. В данной статье авторы выделяют следующие критические этапы, в которых участие врачей-педиатров общей сети/врачей общей практики является обязательным: ранняя диагностика злокачественных заболеваний; курация пациентов на этапах противоопухолевой терапии; ведение пациентов, находящихся в длительной ремиссии, по окончании противоопухолевого лечения; курация пациентов, находящихся на этапе паллиативной помощи; организация хосписа. Рассмотрены вопросы, касающиеся профилактики и лечения инфекционных осложнений у онкогематологических больных, использования ростовых факторов, заместительной терапии компонентами крови, вакцинации.

Ключевые слова: дети, злокачественные опухоли, врач-педиатр

OBSERVATION OF ONCOHEMATOLOGIC PATIENTS BY GENERAL PEDIATRICIANS

S.R. Varfolomeyeva, D. Yu. Kachanov, M.M. Shneyder,
K.V. Dobrenkov, T.V. Shamanskaya, Ye.V. Samochatova, A.G. Rumyantsev
Federal State Enterprise «Federal Research Clinical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Russian Public Health, Moscow; Moscow Regional Oncologic Dispensary, Balashikha, Russian Federation

For past decades there have been substantial changes in the therapy of oncohematologic diseases in children. Today, the treatment of this subset of patients is impossible without close cooperation between pediatric oncology/hematology professionals and general pediatricians. Authors underline the following critical steps in the management of oncohematologic patients necessarily requiring participation of general pediatricians: early diagnosis of malignancies, management of patients during their anti-tumor treatment, observation of patients in complete remissions after effective anti-tumor treatment, management of patients receiving palliative care, organization of hospices. Issues regarding prophylaxis and treatment of infectious complications in oncohematologic patients, use of growth factors, substitutive treatment with blood components and vaccination are reviewed.

Key words: children, malignancies, pediatrician.

В последние два десятилетия в России кардинально изменилась ситуация с лечением онкогематологических заболеваний у детей. Улучшение результатов лечения связано как с организацией специализированной службы в многопрофильных детских больницах, так и с внедрением в практику протоколов лечения, проверенных методами доказательной медицины. Однако эти изменения не имеют системного характера, реализованы только в условиях мультицентровых исследований или отдельных клиник и ориентированы на внедрение в практику врачами-детскими онкологами/гематологами, не затрагивая врачей-педиатров общей сети. Опыт внедрения новых подходов в лечение данной группы пациентов показал необходимость включения педиатров в систему оказания специализированной помощи детям. В данной ста-

тье мы выделяем несколько критических моментов, когда участие врачей-педиатров первичной сети/врачей общей практики является обязательным:

- 1) ранняя диагностика злокачественных новообразований (ЗН);
- 2) наблюдение пациентов на этапах противоопухолевой терапии;
- 3) ведение пациентов, находящихся в длительной ремиссии, по окончании противоопухолевого лечения;
- 4) наблюдение за пациентами, получающими паллиативную помощь и организация хосписа на дому.

Основная роль в осуществлении ранней диагностики онкогематологических заболеваний отводится врачам-педиатрам. Длительный диагностический (догоспитальный) период приво-

дит к тому, что пациенты поступают в специализированные отделения с запущенными стадиями заболевания. Безусловно, в большей степени это имеет отношение к пациентам с солидными опухолями, однако и ряд онкогематологических заболеваний, таких как лимфома Ходжкина (ЛХ) и неходжкинские лимфомы (НХЛ), диагностируется с опозданием. Показано, что задержка в постановке диагноза связана с поздним обращением родителей больных детей к педиатру общей сети, отсутствием онкологической настороженности у педиатров и поздним направлением детей с подозрением на онкологическое заболевание в специализированный стационар [1]. В связи с этим чрезвычайно важна осведомленность родителей и врачей о возможности развития у ребенка злокачественной опухоли. Большинство исследований, в которых оценивались причины поздней постановки диагноза злокачественной опухоли, выявили влияние возрастного фактора. Диагноз устанавливается в более поздние сроки у детей старшей возрастной группы, что, по-видимому, связано с меньшим влиянием родителей [1]. Важную роль играет социальный уровень семьи и образование родителей. Кроме того, на позднюю постановку диагноза влияет вид опухоли. Задержка постановки диагноза острого лейкоза может составлять 4 нед, тогда как для ЛХ данный период увеличивается до 5 мес [2]. Первичное активное обращение родителей ребенка к врачу-педиатру является фактором, позволяющим уменьшить время до постановки окончательного диагноза [3]. Этот факт подчеркивает важность уровня подготовки врачей-педиатров в вопросах детской онкологии.

Вопрос ранней диагностики злокачественных опухолей в целом и онкогематологических заболеваний в частности подразумевает повышение уровня знаний врачей-педиатров общей сети о факторах риска развития опухолей у детей. Известно, что существует целый ряд наследственных заболеваний, предрасполагающих к развитию ЗН. Наиболее известный из них — синдром Дауна, при котором, риск развития острых лейкозов в 20 раз превышает общепопуляционный [4]. Однако достаточно часто генетический синдром у ребенка, заболевшего ЗН, выявляется уже после поступления в специализированный стационар.

У детей первого года жизни, имеющих врожденные аномалии, риск развития злокачественной опухоли превышает общепопуляционный в 6 раз [5].

Многие онкогематологические заболевания протекают под масками инфекционных и ревматологических, что затрудняет быструю и правильную трактовку симптомов [6,7]. Лихорадка, снижение

веса, костные боли наблюдаются у 30—70% пациентов с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), и это дает повод подозревать инфекционное или системное заболевание [6].

Наиболее оптимальной позицией врача-педиатра на этапе диагностики является реализация онкологической настороженности, предполагающей активный поиск без длительного «динамического наблюдения» пациента. Классический симптомокомплекс в виде костно-суставного болевого синдрома, анемического, геморрагического тромбоцитопенического синдрома, гепатоспленомегалия и лимфопролиферативный синдром должны ориентировать врача в сторону онкогематологической патологии у пациента. Один из сложных этапов диагностического поиска заключается в правильной интерпретации образований — лейкемидов, которые в ряде случаев дают повод для направления ребенка в неспециализированный стационар. Другая частая ошибка на догоспитальном этапе — неверная оценка геморрагического кожно-слизистого синдрома и установление диагноза «тромбоцитопеническая пурпура». Назначение глюкокортикоидной терапии на данном этапе не только усложняет диагностический процесс, но и может быть опасным для жизни пациента в связи с развитием синдрома острого лизиса опухоли [8]. Таким образом, на догоспитальном этапе вероятны следующие ошибки:

- длительное «динамическое наблюдение» пациента без проведения лабораторных и/или инструментальных способов обследования;
- неправильная интерпретация клинических синдромов и проявлений болезни;
- направление ребенка в неспециализированные стационары;
- назначение терапевтических мероприятий, которые могут оказаться опасными для жизни ребенка.

Одним из принципов терапии онкогематологических заболеваний у детей является максимальное уменьшение времени, проводимого ребенком в стационаре. Определенный этап лечения можно проводить в амбулаторных условиях (например, поддерживающую терапию при ОЛЛ). Ребенок может быть выписан из стационара после проведения курса полихимиотерапии (ПХТ) по поводу других форм гемобластозов. Дети, страдающие онкологическими заболеваниями, находясь на амбулаторном этапе лечения или после окончания терапии опухолевого заболевания, наблюдаются врачом-специалистом — детским онкологом/гематологом. При этом на формирующуюся эмоциональную связь между семьей пациента и лечащим врачом-онкогематологом иногда влияет негатив-

ный опыт семьи, полученный ею в процессе диагностики опухолевого заболевания в общей педиатрической сети. Это приводит к тому, что часть родителей не считает осмотры участковых педиатров значимыми для их детей и отрицает их рекомендации. В то же время сохранение контакта с педиатром, мониторинг роста и развития ребенка, проводимый врачом общей сети, может быть важным элементом психологической и эмоциональной поддержки таким семьям, а также фактором сохранения потенциала здоровья ребенка после окончания специализированного лечения [9].

Пациенты, получающие химиотерапию, имеют высокий риск развития инфекционных осложнений. Как опухолевый процесс, так и проводимая специфическая терапия приводят к нарушению различных звеньев иммунного ответа пациента. При этом наиболее значимыми факторами, предрасполагающими к развитию инфекций, являются нейтропения и нарушение целостности кожных покровов и слизистых оболочек [10]. Нейтропения определяется как абсолютный уровень нейтрофилов менее 1500 клеток/мм³ [11]. Нарушение целостности слизистых оболочек ротовой полости и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) может быть результатом цитотоксического действия химиопрепаратов.

Течение инфекционного процесса у больных на фоне нейтропении имеет целый ряд особенностей, основными из которых являются стертые клинические проявления и возможность быстрой генерализации процесса с развитием сепсиса и септического шока. Лихорадка — зачастую единственный симптом инфекционного процесса у больного с нейтропенией — характеризуется:

- однократным повышением температуры тела до 37,8°C и выше;
- двумя подъемами температуры до 37,5°C длительностью не менее одного часа;
- двумя подъемами температуры до 37,5°C в течение 12 ч [11].

Необходимо подчеркнуть, что измерение ректальной температуры у больных с нейтропенией противопоказано.

Пациенты с лихорадкой, развившейся на фоне нейтропении, как правило, экстренно госпитализируются в онкологические стационары. При этом участковый врач-педиатр зачастую оказывается первым специалистом, оценивающим состояние пациента. Следует также учесть, что ввиду удаленности ряда населенных пунктов от центров в ряде случаев дети госпитализируются в общепедиатрические/хирургические отделения муниципальных больниц. При физикальном осмотре необходимо обратить внимание на нарушения жизненно важных функций,

включая изменение артериального давления. Важно провести тщательный осмотр полости рта, кожи, перианальной области и слизистых оболочек с целью выявления даже незначительных признаков воспаления, таких как эритема и болезненность [9, 10].

При госпитализации пациента с лихорадкой на фоне нейтропении в соматические стационары требуется соблюдение ряда принципов. Необходимо повторная оценка состояния больного для выявления симптомов нарушения жизненно важных функций, поскольку инфекционный процесс у таких больных может иметь фульминантное течение. Диагностика, направленная на оценку тяжести инфекционного процесса, проводится редко, несмотря на то, что ее ценность показана в ряде исследований и является неоспоримой [12, 13]. Она предполагает определение уровня С-реактивного белка, который до настоящего момента считался «золотым стандартом» диагностики, и уровня прокальцитонина. Эти методы позволяют в первые часы течения инфекционного процесса оценить риск развития сепсиса у пациента. Кроме этого, важно проведение микробиологической верификации возбудителя инфекции, для чего производят посев крови, мокроты, мазок из зева и очагов инфекции [10].

В случае отсутствия центрального венозного катетера (ЦВК) необходимо обеспечить надежный венозный доступ через периферическую вену путем постановки периферического микрокатетера. Недопустимо внутримышечное введение препаратов. При наличии ЦВК следует провести осмотр места стояния катетера для выявления признаков воспаления. При развитии лихорадки антибактериальная терапия препаратами широкого спектра действия должна быть начата в максимально сжатые сроки. Наиболее часто применяют: 1) монотерапию цефтазидимом, цефепимом или карбапенемами; 2) цефалоспорины III—IV поколения с антисинегнойной активностью + аминогликозиды [10, 11]. При наличии симптомов поражения органов дыхания показано проведение рентгенографии органов грудной клетки [10].

Помимо бактериальных инфекций, иммунокомпрометированные больные предрасположены к развитию вирусных инфекций. Локальные инфекции, вызванные вирусом герпеса I—II типа, требуют назначения противовирусных препаратов [14]. Инфекции, вызванные вирусом ветряной оспы, могут иметь жизнеугрожающее течение у больных с нарушением иммунного ответа, что связано с возможностью поражения паренхиматозных органов [15]. При контакте с больным ветряной оспой или *herpes zoster* ребенку в течение 72 ч должен быть

введен специфический иммуноглобулин. При развитии клиники ветряной оспы или опоясывающего герпеса показано проведение внутривенной терапии ацикловиром в течение 7 дней, но не менее 48 ч от момента появления последних высыпаний [16]. Такие решения врач педиатр должен уметь принимать самостоятельно при невозможности в первые часы заболевания ребенка проконсультироваться с врачом-детским онкологом для выработки лечебной тактики.

Профилактика инфекций у больных с онкологическими заболеваниями — важный элемент сопроводительной терапии. Пациенты, получающие химиотерапию, имеют высокую вероятность развития пневмонии, вызванной *Pneumocystis carinii*. Прием триметоприма/сульфаметоксазола (ко-тримоксазола) в дозе 5 мг/кг по триметоприму 2 раза в день в течение 3 дней в неделю является эффективной мерой профилактики развития пневмоцистной пневмонии [17]. Профилактический прием препарата с момента постановки диагноза продолжается на протяжении всего периода лечения и, по меньшей мере, еще 1 мес после окончания терапии. Показано, что прием препарата 2 раза в неделю является также высокоэффективным [18].

В Российской Федерации (РФ) обеспечение пациентов с онкогематологическими заболеваниями препаратами сопроводительной терапии находится в зоне ответственности врача-педиатра. Механизм обеспечения пациентов указанными препаратами следующий. В соответствии с нормативно-правовой базой обеспечение детей данными лекарственными средствами происходит из средств региональных бюджетов по рекомендации врача-онколога. Разработанный список льготных медикаментов утверждается в каждом регионе РФ, но в целом включает от 250 до 300 наименований. Практически всегда рекомендуемые врачом-онкологом лекарственные средства сопроводительной терапии находятся в списке льготных препаратов, и сложности в обеспечении ими пациентов нет. В случае отсутствия препарата в данном списке врач-педиатр должен направить руководству поликлиники, а затем в департамент (министерство) здравоохранения региона запрос, в котором обязательно отметить, что данный лекарственный препарат замене не подлежит. К сожалению, случается, когда врач отказывает пациенту в назначении рекомендованной терапии, чем не только нарушает права ребенка с ЗН, но и ведет к углублению социальной стигмации семьи пациента.

Мониторинг лабораторных показателей у детей и подростков, получающих терапию в амбулаторных условиях или находящихся дома по-

сле курса химиотерапии, является важным элементом динамического наблюдения за больным. Наиболее часто в клиническом анализе крови является цитопения. Как правило, миелосупрессия развивается через неделю после окончания курса химиотерапии и может длиться до 1 мес в зависимости от схемы терапии [9]. При проведении поддерживающей терапии ОЛЛ пациенты получают комбинацию метотрексата и 6-меркаптопурина, при этом клинический анализ крови осуществляется 1 раз в неделю. Контроль показателей у больного с миелосупрессией должен проводиться чаще, периодичность же забора крови зависит от конкретной клинической ситуации. Необходимость проведения трансфузии эритроцитарной массы определяется в зависимости от уровня гемоглобина, состояния пациента, наличия или отсутствия активного кровотечения и признаков восстановления костномозгового кроветворения. Трансфузия эритроцитарной массы показана всем пациентам при уровне гемоглобина менее 70 г/л [19]. Абсолютным показанием к проведению трансфузии концентрата тромбоцитов считается тромбоцитопения менее $10 \times 10^9/\text{л}$. Кроме того, показанием к проведению заместительной терапии служит уровень тромбоцитов менее $20 \times 10^9/\text{л}$ при наличии симптомов мукозита, ДВС-синдрома, при проведении антикоагулянтной терапии, вероятности снижения уровня тромбоцитов менее $10 \times 10^9/\text{л}$ к моменту следующего забора крови и возможности развития кровотечения, обусловленного инфильтрацией опухоли [19].

Нейтропению считают наиболее частым и наиболее грозным осложнением химиотерапии. Ростовые факторы, преимущественно гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (КСФ), в настоящее время достаточно часто используются в детской онкологии [20]. В профилактических целях применение КСФ уменьшает частоту развития фебрильной нейтропении, длительность тяжелой нейтропении и сроки госпитализации у детей [21]. Прерогатива в назначении КСФ принадлежит онкологу, тогда как педиатр может осуществлять контроль использования КСФ в амбулаторных условиях. Как правило, КСФ назначают пациентам, у которых имеется высокая вероятность развития фебрильной нейтропении и длительной тяжелой нейтропении (абсолютное число нейтрофилов менее 500 клеток/ мм^3 длительностью более 7 дней). Введение препаратов начинают не ранее 24 ч от окончания введения химиопрепаратов [22]. Контроль клинического анализа крови на фоне применения КСФ проводится не реже 2 раз в неделю. Отмену препарата осуществляет детский онколог, обычно при уровне гранулоцитов 2000—3000/ мм^3 [22].

Другим важным элементом сопроводительной терапии является контроль тошноты и рвоты у онкологических больных. Различают три типа тошноты и рвоты, вызванной химиопрепаратами: преждевременная (психогенная), острая и отсроченная, которые обусловлены различными физиологическими механизмами. Преждевременная рвота развивается до начала введения химиопрепаратов у больных, у которых рвота была плохо предупреждена во время предшествующего курса терапии. Острая рвота отмечается в течение первых 24 ч от введения препаратов, отсроченная же — через 24 ч и может продолжаться до 6—7 дней [23].

Показано, что в основе тошноты и рвоты после введения химиопрепаратов лежат несколько механизмов, включающие в себя прямую или непрямую активацию хеморецепторной триггерной зоны, периферическую стимуляцию ЖКТ, воздействие на вестибулярный аппарат и кору головного мозга, а также нарушения запаха и вкуса [24]. Остро возникающая рвота обусловлена выбросом серотонина энтерохромаффинными клетками, причины же отсроченной рвоты гораздо шире и связаны с нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера, нарушением моторики ЖКТ.

В общей педиатрической практике чаще всего приходится сталкиваться с отсроченной тошнотой и рвотой.

К числу наиболее активных противорвотных препаратов относятся антагонисты серотониновых рецепторов. Серотонин является одним из основных медиаторов, вовлеченных в патогенез рвоты, индуцируемой химиопрепаратами. При этом под воздействием последних происходит выделение серотонина энтерохромаффинными клетками тонкого кишечника, который путем активации вагусных афферентных волокон, содержащих 5-НТЗ-рецепторы, вызывают рвотный рефлекс [24]. Антагонисты серотониновых рецепторов блокируют 5-НТЗ-рецепторы нейронов центральной и периферической нервной системы, предотвращая рвоту. Новый класс противорвотных препаратов представляют антагонисты рецепторов нейрокина-1 (АРНК-1). Они обеспечивают селективную блокаду НК-1-рецептора, проникая в ЦНС. Показана их эффективность в профилактике острой и особенно отсроченной тошноты и рвоты [25].

Метоклопрамид длительное время использовался для предотвращения рвоты у онкологических больных в виде монотерапии или комбинации с дифенгидраминам. Однако

ввиду неселективного воздействия на серотониновые рецепторы и частого развития побочных эффектов в виде экстрапирамидных нарушений, обусловленных блокадой дофаминовых рецепторов, использование антагонистов серотониновых рецепторов у детей является предпочтительным [26]. Кроме того, показано преимущество последних в контроле рвоты у детей по сравнению с комбинацией метоклопрамидифенгидрамин [27].

Вакцинация детей и подростков с онкогематологическими заболеваниями, получающих специфическую противоопухолевую терапию представляет существенные трудности для врачей-педиатров. Стандартные рекомендации по вакцинации данного контингента больных в России отсутствуют. На основании рекомендаций, разработанных в зарубежных странах, можно выделить несколько общих принципов [28]. Живые вакцины противопоказаны иммунокомпрометированному больному. Рекомендуемый интервал от окончания химиотерапии до начала введения живых вакцин составляет не менее 6—12 мес. Показано, что убитые вакцины безопасны для онкологических больных. При этом проведение вакцинации убитыми вакцинами больным, получающим химиотерапию, может привести к тому, что протекторный иммунный ответ не будет сформирован [28]. В любом случае в каждом конкретном случае необходимо согласовать сроки вакцинации с детским онкологом.

Интересным представляется исследование, проведенное А. Nilsson и соавт. [29], продемонстрировавшее, что дети, которым была проведена терапия по поводу ОЛЛ, могут лишиться протекторного уровня антител против вирусов кори и краснухи. Все дети до заболевания ОЛЛ были вакцинированы от указанных вирусов. После окончания терапии протекторный уровень антител к вирусам краснухи и кори не определялся у 28 и 40% больных соответственно (таблица). В то же время при проведении ревакцинации у части пациентов формировался первичный иммунный ответ, как если бы они никогда ранее не вакцинировались. У части пациентов развивался вторичный иммунный ответ. У 6 из 14 пациентов, повторно вакцинированных против

Уровень антител к вакцинальным антигенам у детей после окончания терапии по поводу ОЛЛ [29]

Уровень	Пациенты (n= 43)	
	вакцинации от кори	вакцинации от краснухи
Протекторный	26 (60%)	31 (72%)
Ниже протекторного	17 (40%)	12 (28%)

кори, и у 3 из 11 ревакцинированных против краснухи, ревакцинация не привела к выработке протекторного уровня антител [29]. Тем не менее это исследование указывает на то, что отдельные пациенты, которым была проведена интенсивная химиотерапия, нуждаются в ревакцинации.

Особую группу больных, подлежащих вакцинации, составляют пациенты с ЛХ, которым планируется проведение лучевой терапии на область селезенки. Развивающаяся после курса лучевой терапии функциональная гипоспления (аспления) приводит к тому, что данные пациенты имеют высокий риск развития жизнеугрожающих инфекций, вызванных инкапсулированными бактериями (*Streptococcus pneumoniae*, *H. influenzae* типа b, *Neisseria meningitidis*) [30]. В связи с этим данная категория больных подлежит обязательной вакцинации против пневмококка, как наиболее частого возбудителя инфекций у больных с нарушенной функцией селезенки. В зарубежных странах обязательной также является вакцинация против *H. influenzae* типа b и менингококка. Вакцинация против пневмококка должна быть завершена по меньшей мере за 2 нед до начала курса лучевой терапии [30].

Помимо вопросов, касающихся вакцинации самого пациента, страдающего онкологическим заболеванием, важным для врача-педиатра является вакцинация сиблингов и членов семьи больного. Вакцинация членов семьи — эффективная стратегия в профилактике развития данных инфекций у иммунокомпрометированного больного. В качестве примера можно привести ежегодную вакцинацию членов семьи инактивированной вакциной против гриппа [9]. Необходимо помнить, что использование оральной вакцины против полиомиелита противопоказано у членов семьи и сиблингов пациента, получающего химиотерапию. Это связано с возможностью инфицирования больного живым штаммом полиомиелита, выделяющегося с калом вакцинированного родственника [9, 28].

В ряде случаев, когда не удается добиться излечения пациентов от злокачественного новообразования, возникает необходимость в проведении паллиативной терапии и организации хосписа на дому. Исследования, проведенные в различных странах, указывают на то, что большинство родителей хотят, чтобы ребенок провел последние дни жизни дома, а не в больнице или хосписе [31—33]. В этом случае роль педиатра в обеспечении жизнедеятельности пациента становится основной. Больной, у которого прекращена противоопухолевая терапия в связи с ее неэффективностью, нуждается в таких видах помощи, как обезболивание,

противомикробная терапия, в ряде случаев нутритивная поддержка [34]. Обезболивание и седация в амбулаторных условиях обеспечиваются применением ненаркотических и наркотических анальгетиков и седативных препаратов. Больным с онкогематологическими заболеваниями необходимо обеспечить возможность проведения заместительной гемотрансфузионной терапии. Следует подчеркнуть важность подготовки как врачей-педиатров, так и медицинских сестер в вопросах оказания паллиативной помощи детям.

Достижения онкогематологии последних лет позволяют излечить от злокачественной опухоли большинство детей. В настоящее время в США на 640 человек в возрасте от 20 до 39 лет приходится один человек, излеченный от злокачественной опухоли в детском возрасте [35]. Вместе с тем, несмотря на излечение от ЗН, дети и подростки, которым проводилась терапия по поводу злокачественной опухоли, могут иметь целый спектр медицинских и социальных проблем, включающих риск ранней смерти, возможность развития вторичных злокачественных опухолей, дисфункцию внутренних органов, задержку роста и развития, нарушения интеллекта, проблемы социальной адаптации, снижение качества жизни [35]. Так, у лиц, находящихся в ремиссии 5 лет и более риск смерти превышает общепопуляционный в 10 раз [36], риск развития вторичных злокачественных опухолей выше в 3—6 раз [37, 38]. Органная токсичность зависит от вида опухоли и проводимого лечения. У детей, перенесших терапию по поводу ОЛЛ, на первый план выходят эндокринологические проблемы, обусловленные длительной гормональной терапией и (у некоторых) проведением краниального облучения. Краниальное облучение также ассоциировано с развитием нейрокогнитивных нарушений и риском развития вторичных опухолей [39]. Дети и подростки, перенесшие ЛХ, имеют высокий риск развития вторичных злокачественных опухолей (например, рака щитовидной железы, рака молочной железы), обусловленный частым использованием высоких доз лучевой терапии. Кроме того, проведение лучевой терапии на область средостения ассоциировано с высоким риском отсроченной кардиотоксичности [39].

Педиатры, участвующие в наблюдении детей и подростков, излеченных от злокачественной опухоли, должны знать о возможности развития у больных тех или иных осложнений. Для грамотной организации диспансерного мониторинга и комплексной реабилитации этой группы пациентов важное значение имеет взаимодействие врача-педиатра и онколога/гематолога.

Л и т е р а т у р а

1. Dang-Tan T., Franco E.L. Diagnosis delays in childhood cancer: a review. *Cancer* 2007;110(4):703—13.
2. Fajardo-Gutiérrez A., Sandoval-Mex A.M., Mejía-Arangur O.J.M. et al. Clinical and social factors that affect the time to diagnosis of Mexican children with cancer. *Med Pediatr Oncol* 2002;39(1):25—31.
3. Haimi M., Peretz Nahum M., Ben Arush M.W. Delay in diagnosis of children with cancer: a retrospective study of 315 children. *Pediatr Hematol Oncol* 2004;21(1):37—48.
4. Ross J.A., Spector L.G., Robison L.L., Olshan A.F. Epidemiology of leukemia in children with Down syndrome. *Pediatr Blood Cancer* 2005;44(1):8—12.
5. Agha M.M., Williams J.I., Marrett L. et al. Congenital abnormalities and childhood cancer. *Cancer* 2005;103(9):1939—48.
6. Cabral D.A., Tucker L.B. Malignancies in children who initially present with rheumatic complaints. *J Pediatr* 1999;134(1):53—57.
7. Forgie S.E., Robinson J.L. Pediatric malignancies presenting as a possible infectious disease. *BMC Infect Dis* 2007;7:44.
8. Duzova A., Cetin M., Gümrük F., Yetgin S. Acute tumour lysis syndrome following a single-dose corticosteroid in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Eur J Haematol* 2001;66(6):404—7.
9. Golden E., Beach B., Hastings C. The pediatrician and medical care of the child with cancer. *Pediatr Clin North Am* 2002;49(6):1319—38.
10. Koh A.Y., Pizzo P.A. Fever and granulocytopenia. In S.S. Long, L.K. Pickering, C.G. Prober, eds. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*, 2nd ed. Churchill Livingstone, 2003.
11. Link H., Böhme A., Cornely O.A. et al. Antimicrobial therapy of unexplained fever in neutropenic patients—guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO), Study Group Interventional Therapy of Unexplained Fever, Arbeitsgemeinschaft Supportivmassnahmen in der Onkologie (ASO) of the Deutsche Krebsgesellschaft (DKG—German Cancer Society). *Ann Hematol* 2003;82 (Suppl 2):105—17.
12. Secmeer G., Devrim I., Kara A. et al. Role of procalcitonin and CRP in differentiating a stable from a deteriorating clinical course in pediatric febrile neutropenia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2007;29(2):107—11.
13. Fleischhack G., Kambeck I., Cipic D. et al. Procalcitonin in paediatric cancer patients: its diagnostic relevance is superior to that of C-reactive protein, interleukin 6, interleukin 8, soluble interleukin 2 receptor and soluble tumour necrosis factor receptor II. *Br J Haematol* 2000;111(4):1093—102.
14. Enright A.M., Prober C. Antiviral therapy in children with varicella zoster virus and herpes simplex virus infections. *Herpes* 2003;10(2):32—7.
15. Mantadakis E., Anagnostatou N., Danilatu V. et al. Fulminant hepatitis due to varicella zoster virus in a girl with acute lymphoblastic leukemia in remission: report of a case and review. *J Pediatr Hematol Oncol* 2005;27(10):551—3.
16. Arvin A.M. Antiviral therapy for varicella and herpes zoster. *Semin Pediatr Infect Dis* 2002;13(1):12—21.
17. Hughes W.T., Rivera G.K., Schell M.J. et al. Successful intermittent chemoprophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia. *N Engl J Med* 1987;316(26):1627—32.
18. Lindemulder S., Albano E. Successful intermittent prophylaxis with trimethoprim/sulfamethoxazole 2 days per week for *Pneumocystis carinii* (jiroveci) pneumonia in pediatric oncology patients. *Pediatrics* 2007;120(1):e47—e51.
19. Gibson B.E., Todd A., Roberts I. et al; British Committee for Standards in Haematology Transfusion Task Force; Writing group. Transfusion guidelines for neonates and older children. *Br J Haematol* 2004;124(4):433—53.
20. Levine J.E., Boxer L.A. Clinical applications of hematopoietic growth factors in pediatric oncology. *Curr Opin Hematol* 2002;9(3):222—7.
21. Wittman B., Horan J., Lyman G.H. Prophylactic colony-stimulating factors in children receiving myelosuppressive chemotherapy: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Cancer Treat Rev* 2006;32(4):289—303.
22. Smith T.J., Khatcheressian J., Lyman G.H., et al. 2006 update of recommendations for the use of white blood cell growth factors: an evidence-based clinical practice guideline. *J Clin Oncol* 2006;24(19):3187—205.
23. Schnell F.M. Chemotherapy-induced nausea and vomiting: the importance of acute antiemetic control. *Oncologist* 2003;8(2):187—98.
24. Berger A.M., Clark-Snow R.A. Chemotherapy-related nausea and vomiting. In A.M. Berger, J.L. Shuster, J.H. Von Roenn, eds. *Principles & Practice of Palliative Care & Supportive Oncology*. Lippincott Williams and Wilkins, 2006.
25. Ettinger D.S., Bierman P.J., Bradbury B. et al. National comprehensive Cancer Network (NCCN). Antiemesis. *J Natl Compr Canc Netw* 2007;5(1):12—33.
26. Roila F., Feyer P., Maranzano E., Olver I. et al. Antiemetics in children receiving chemotherapy. *Support Care Cancer* 2005;13(2):129—31.
27. Köseoglu V., Kürekçi A.E., Sarici U. et al. Comparison of the efficacy and side-effects of ondansetron and metoclopramide-diphenhydramine administered to control nausea and vomiting in children treated with antineoplastic chemotherapy: a prospective randomized study. *Eur J Pediatr* 1998;157(10):806—10.
28. Allen U.D. Immunizations for children with cancer. *Pediatr Blood Cancer* 2007;49 (Suppl 7):1102—8.
29. Nilsson A., De Milito A., Engström P. et al. Current chemotherapy protocols for childhood acute lymphoblastic leukemia induce loss of humoral immunity to viral vaccination antigens. *Pediatrics* 2002;109(6):e91.
30. Price V.E., Dutta S., Blanchette V.S. et al. The prevention and treatment of bacterial infections in children with asplenia or hyposplenia: practice considerations at the Hospital for Sick Children, Toronto. *Pediatr Blood Cancer* 2006;46(5):597—603.
31. Martinson I.M., Amrstrong G.D., Geis D.P. et al. Home care for children dying of cancer. *Pediatrics* 1978;62(1):106—13.
32. Vickers J.L., Carlisle C. Choices and control: parental experiences in pediatric terminal home care. *J Pediatr Oncol Nurs* 2000;17(1):12—21.
33. Davies B., Deveau E., deVèber B. et al. Experiences of mothers in five countries whose child died of cancer. *Cancer Nurs* 1998;21(5):301—11.
34. Beardmore S., Fitzmaurice N. Palliative care in paediatric oncology. *Eur J Cancer* 2002;38(14):1900—7.
35. Robison L.L., Green D.M., Hudson M. et al. Long-term outcomes of adult survivors of childhood cancer. *Cancer* 2005;104 (Suppl 11):2557—64.
36. Mertens A., Yasui Y., Neglia J.P. et al. Late mortality experience in five-year survivors of childhood and adolescent cancer: the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* 2001;19(13):3163—72.
37. Neglia J.P., Friedman D.L., Yasui Y. et al. Second malignant neoplasms in five-year survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst* 2001;93(8):618—29.
38. Olsen J.H., Garwicz S., Hertz H. et al. Second malignant neoplasms after cancer in childhood or adolescence. Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology Association of the Nordic Cancer Registries. *BMJ* 1993;307(6911):1030—6.
39. Kurt B.A., Armstrong G.T., Cash D.K. et al. Primary care management of the childhood cancer survivor. *J Pediatr* 2008;152(4):458—66.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ МОБИЛИЗАЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КРОВИ С ПОМОЩЬЮ ПРЕПАРАТА ЛЕЙКОСТИМ У БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

Л.С. Зубаровская¹, Е.В. Семенова¹, Е.В. Бабенко¹, А.А. Головачева¹, Б.В. Афанасьев¹, В.Б. Ларионова², К.Н. Мелкова², О.А. Рукавицын³, С.В. Шаманский³, В.Г. Савченко⁴, Л.П. Менделеева⁴, Н.Г. Тюрина⁵, И.А. Лисуков⁶, Т.С. Константинова⁷, В.В. Птушкин⁸, Р.А. Иванов⁹, А.В. Солодахин⁹

¹Институт детской гематологии и трансплантологии имени Р.М. Горбачевой СПбГМУ; ²Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва; ³ФНКЦ «Детской гематологии, онкологии и иммунологии» Росздрава, Москва; ⁴Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко Минобороны России, Москва; ⁵Гематологический научный центр РАМН, Москва; ⁶Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена, Москва; ⁷НИИ клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск; ⁸Областной гематологический центр Свердловской областной клинической больницы, Екатеринбург; ⁹ЗАО «Биокад», Московская область

Создание препаратов рекомбинантных белков, в норме являющихся эндогенными факторами-регуляторами кроветворения, качественно повысило возможности терапии больных злокачественными заболеваниями и депрессиями кроветворения. Из них наиболее широко в клиническую практику внедрены естественные стимуляторы эритропоэза (эритропоэтин) и грануломоноцитопоэза (колониестимулирующие факторы — КСФ: гранулоцитарный — Г-КСФ и гранулоцитарно-макрофагальный).

Применение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) связано с его влиянием на клетки-предшественники грануломоноцитопоэза: стимуляцией их конечной дифференцировки в зрелые формы и выхода в кровь. Наряду с этим введение Г-КСФ как здоровым лицам, так и пациентам, повышает уровень гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в крови. Основным маркером этого клеточного пула является антиген CD34. Механизм мобилизации CD34+ клеток с помощью Г-КСФ реализуется на фоне повышенной секреции нейтрофилами протеаз, включая эластазу, катепсин-G, а также металлопротеиназы-9 (ММР-9). При мобилизации отмечается снижение экспрессии рецепторов с-Kit, VLA-4 и CXCR4 на CD34+-клетках, что в сочетании с изменением экспрессии молекул адгезии, в первую очередь VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), VLA-1 (very late antigen), а также SDF-1 (stromal derived factor) на клетках стромы костного мозга, приводит к выходу CD34+-клеток в кровь [1–3].

Особенности действия Г-КСФ определяют показания к его назначению: укорочение периода цитопении после проведения химиотерапии, трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК); синхронизация клеточного цикла при

назначении цитостатиков; мобилизация ГСК в кровь перед выполнением аппаратного цитафереза для заготовки трансплантата от аллогенного донора/аутодонора [4].

В качестве лекарственного препарата Г-КСФ выпускается в виде двух форм — гликозилированной (ленограстим) и негликозилированной (филграстим). Отечественный рекомбинантный препарат Г-КСФ Лейкостим (МНН: филграстим; производитель - ЗАО «БИОКАД», Россия) является полным аналогом Нейпогена (производитель — F. Hoffman-La Roche, Швейцария), что подтверждено данными доклинических испытаний, показавших идентичность физико-химических свойств, специфической активности, фармакокинетики и токсикологических характеристик. Клиническая эффективность и безопасность Лейкостима были подтверждены в ходе открытого нерандомизированного клинического исследования [5].

Целью настоящего исследования явилась оценка мобилизующей активности отечественного рекомбинантного Г-КСФ Лейкостим при выделении периферических стволовых клеток крови (ПСКК), изучение качественных характеристик трансплантата, побочных реакций, связанных с введением препарата, особенностей восстановления кроветворения при проведении аутологичной трансплантации ГСК (ауто-ТГСК), выделенных с помощью Лейкостима у пациентов со злокачественными заболеваниями.

Материалы и методы

В исследовании принимали участие следующие лечебные учреждения: отделение химиотерапии гемобластозов и отделение трансплантации костного мозга, интенсивной терапии и реанимации РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Гематологический центр Главного военного госпиталя

им.Н.Н. Бурденко, клиника ТКМ СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, отделение химиотерапии гемобластозов и ТКМ ГНЦ РАМН, отделение высокодозной химиотерапии и трансплантации кроветворных стволовых клеток МНИОИ им.П.А. Герцена (руководитель — д.м.н. Н.Г. Тюрина), НИИ клинической иммунологии СО РАМН, Областной гематологический центр Свердловской областной клинической больницы.

Под наблюдением находилось 42 человека с различными онкологическими заболеваниями. У 15 из них мобилизация ПСКК проводилась на стимулированном кроветворении (Лейкостим вводился менее чем через неделю после применения химиотерапевтических препаратов). В итоговый анализ включено 27 человек в возрасте от 20 до 60 лет (медиана — 27 лет), у которых мобилизация проводилась на стабильном кроветворении (Лейкостим вводился не ранее, чем через месяц после окончания курса химиотерапии). По диагнозам пациенты распределились следующим образом: лимфома Ходжкина (ЛХ) — 9, неходжкинские лимфомы (НХЛ) — 9, множественная миелома (ММ) — 5, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) — 2, нейроэктодермальная опухоль — 1, саркома Юинга — 1. До назначения Лейкостима пациенты суммарно получили от 2 до 20 курсов химиотерапии (медиана — 7,57) (рис.1).

В соответствии с критериями включения в исследование в течение 6 мес. до назначения препарата пациентам проводилось не более 3 курсов химиотерапии.

Мобилизацию ПСКК осуществляли путем назначения Лейкостима в дозе 10 мкг/кг/день, в режиме 1 или 2 подкожные инъекции в течение 5—7 дней последовательно. Стимулирующий эффект препарата оценивали путем ежедневного контроля уровня лейкоцитов в периферической крови. Цитаферез проводили при увеличении числа лейкоцитов более $10,0 \times 10^9/л$, начиная с 4-го дня введения Лейкостима, общее количество сепараций колебалось от 1 до 4, что зависело от качественных характеристик полученного продукта.

После каждого цитафереза подсчитывали количество ядросодержащих клеток, мононуклеаров и CD34+-клеток в образце, предназначенном для криоконсервации. При недостаточном для ауто-ТГСК

количестве CD34+-клеток в продуктах цитафереза дополнительно выполняли аутоэкспузию костного мозга.

Динамическое наблюдение за пациентами осуществляли по следующим параметрам: артериальное давление, температура тела, изменение показателей анализа периферической крови и биохимических показателей, нежелательные явления, связанные с применением препарата. У 4 пациентов выполнена оценка количества в трансплантате колониеобразующих единиц клеток-предшественников грануло-моноцитопозеза (КОЕ-ГМ) (методом культивирования в полужидких средах, содержащих ростовые факторы), у 5 пациентов жизнеспособность CD34+ клеток подтверждена с помощью определения активности альдегиддегидрогеназы (ALDH+- клетки).

Результаты

По результатам исследования установлено, что препарат Лейкостим обладает мобилизующей активностью и эффективен при назначении пациентам с онкологическими и гематологическими заболеваниями с целью получения ПСКК для последующей аутологичной трансплантации. Увеличение количества нейтрофилов при введении Лейкостима достигало значения, необходимого для выполнения цитафереза, в среднем к 4-му дню и сохранялось на этом уровне до 7-го дня исследования (рис. 2).

Из 42 пациентов, исходно включенных в исследование, у 29 (71%) минимально необходимое для аутотрансплантации количество CD34+-клеток ($2,0 \times 10^6/кг$ веса пациента) было отобрано

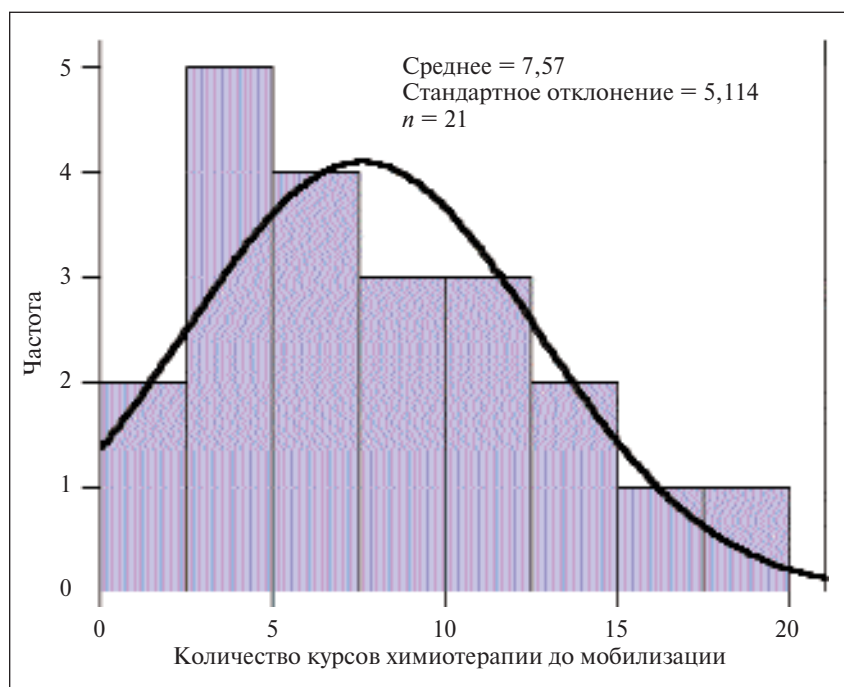


Рис.1. Количество курсов химиотерапии до назначения Лейкостима с целью мобилизации ПСКК

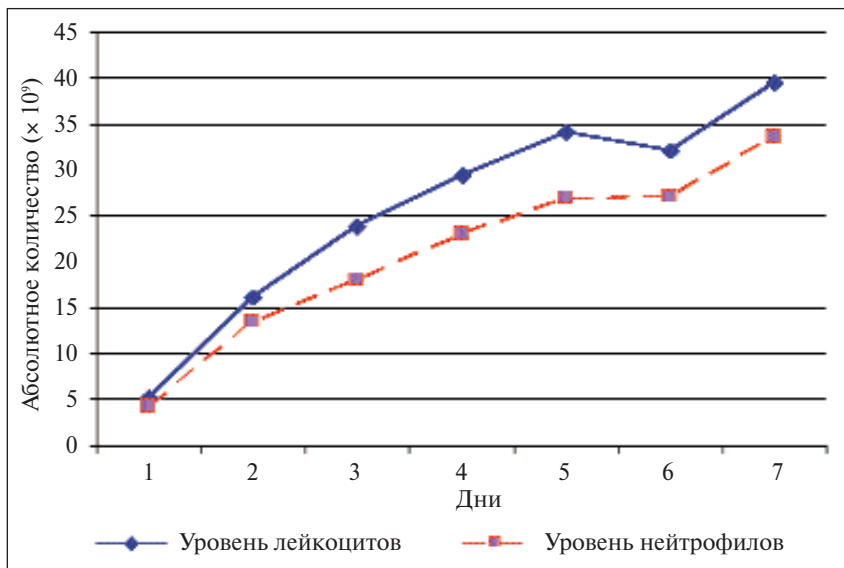


Рис. 2 Динамика увеличения общего количества лейкоцитов и нейтрофилов в анализе крови при стимуляции аутореципиентов с помощью Лейкостима.

за 1—5 сеансов цитафереза. Дополнительная аутоэкспузия костного мозга была проведена 13 пациентам (у 1 пациента мобилизация не была оценена должным образом ввиду неисправности сепаратора). Группа из 15 пациентов, получавших Лейкостим для мобилизации на стимулированном кроветворении, характеризовалась высокой эффективностью мобилизации: у 87% больных необходимое количество CD34+-клеток было отобрано за 1—5 сеансов цитафереза. Однако ввиду значительной гетерогенности данной группы больных, связанной с различиями в протоколах химиотерапии, в дальнейший анализ были включены 27 пациентов, получавших Лейкостим для мобилизации на стабильном кроветворении.

Возраст больных и характер заболевания не оказывали влияния на эффективность мобилизации CD34+-клеток, за исключением более низ-

соответственно. При оценке количества CD34+-клеток максимальная мобилизующая активность Лейкостима наблюдалась у пациентов, получивших до 3 курсов химиотерапии. У этих пациентов содержание CD34+-клеток в трансплантате составило $7,66 \times 10^6$ / кг веса пациента ($1,58 - 30,8 \times 10^6$ / кг). При количестве курсов химиотерапии от 4 до 10 и более 10 этот показатель был равен $3,63 \times 10^6$ /кг веса пациента ($0,61 - 10,5 \times 10^6$ / кг) и $2,2 \times 10^6$ /кг веса пациента ($0,76 - 4,07 \times 10^6$ /кг) соответственно (табл. 2).

Образцы, подвергшиеся культивированию, содержали КОЕ-ГМ в количестве $15,9 \times 10^4$ /кг веса пациента, ALDH+-клетки — в количестве $3,16 \times 10^4$ / кг веса пациента.

Побочные эффекты, связанные с назначением Лейкостима, наблюдали у 14 пациентов (52%). Они выражались представлены следующими реакциями: боль в костях, повышение температуры тела, развитие гриппоподобного синдрома. Ни у одного пациента интенсивность побочных реакций не превышала 2-й степени токсичности и не потребовала прерывания курса введения препарата.

Полученные клетки были подвергнуты криоконсервации и использованы в последующем при проведении ауто-ТГСК у 21 пациента со следующими диагнозами: ЛХ — 8 больных, НХЛ — 6, ММ — 4, ОЛЛ — 2, саркома Юинга — 1 больной. Основными режимами кондиционирования при ЛХ, НХЛ и ММ были ВЕАМ и высокие

Таблица 1. Количество ядродержащих и CD34+-клеток в трансплантате в зависимости от возраста и диагноза пациента

Параметры сравнения	Ядродержащие клетки в трансплантате ($\times 10^9$ /л)	CD34+-клетки в трансплантате ($\times 10^6$ /кг веса пациента)
Всего (n=27)	63,4 (11,7—184,49)	4,9 (0,5—30,8)
Возраст:		
до 40 лет (n=19)	63,2 (11,7—184,49)	3,44 (0,5—23,7)
40 лет и старше (n=8)	63,8 (23,0—98,2)	5,4 (0,95—11,97)
Диагноз:		
лимфома Ходжкина (n=9)	60,86 (20,9—123,6)	1,69 (0,5—2,35)
Неходжкинские лимфомы (n=9)	71,39 (11,7—184,49)	6,27 (0,82—23,7)
Множественная миелома (n=5)	58,66 (23,0—85,7)	5,71 (3,2—7,36)
ОЛЛ (n=2)	67,7 (34,4—10)	1,28 (0,61—1,95)
Нейроэктодермальная опухоль (n=1)	47,5	2,37
Саркома Юинга (n=1)	45,1	3,23

Таблица 2. Эффективность мобилизации ПСКК Лейкостимом в зависимости от количества курсов предшествующей химиотерапии

Параметры сравнения	Количество курсов химиотерапии		
	< 3 (n=7)	3-10 (n=9)	> 10 (n=5)
Длительность стимуляции, дни	4,5–6,5	3,0–6,5	2,5–7,0
Количество цитаферезов	2–3	1–4	2–4
Количество ядросодержащих клеток в трансплантате ($\times 10^9/\text{л}$)	51,62 (23,0–71,7)	69,84 (34,4–184,49)	39,6 (31,2–74,7)
Количество CD34+/кг веса пациента в момент цитафереза ($\times 10^6/\text{л}$)	7,66 (1,58–30,8)	3,63 (0,61–10,5)	2,2 (0,76–4,07)
Количество CD34+/кг веса пациента в момент трансплантации ($\times 10^6/\text{л}$)	8,5 (1,58–30,8)	3,92 (0,61–10,5)	2,2 (0,76–4,07)

дозы мелфалана. Среднее количество введенных CD34+-клеток составило $2,98 \times 10^6/\text{кг}$ веса пациента (0,76–11,97). Приживление трансплантата на основании определения уровня нейтрофилов более $0,5 \times 10^9/\text{л}$ в крови достигнуто у пациентов в среднем к 12-му дню (в пределах 8–17 дней), по уровню тромбоцитов более $20,0 \times 10^9/\text{л}$ крови — к 15-му дню (в пределах 10–30 дней) после ауто-ТГСК (табл. 3).

У одного пациента с ОЛЛ наблюдали отторжение трансплантата, связанное с основным заболеванием.

Осложнения после ауто-ТГСК были следующие: инфекционные состояния (13 пациентов), представленные фебрильной нетропией (9 пациентов, у одного из них в последующем имело место развитие пневмонии), сепсис (1 больной), поверхностный кандидоз (1 пациент), герпетическая инфекция (1 пациент); и геморрагические проявления (15 пациентов) (табл. 4).

Таблица 3. Сроки восстановления нейтрофилов и тромбоцитов после ауто-ТГСК

Параметры сравнения	Результаты
Количество CD34+ ($\times 10^6/\text{кг}$ веса пациента)	2,98 (0,76–11,97)
Восстановление нейтрофилов $> 0,5 \times 10^9/\text{кг}$ (день)	12,61 (8–17)
Восстановление тромбоцитов $> 20 \times 10^9/\text{кг}$ (день)	15,5 (10–30)

Таблица 4. Осложнения после ауто-ТГСК

Осложнения после аутоТГСК (n=21)	n (%)
Инфекционные:	13 (61,9%)
фебрильная нейтропения	6 (28,4%)
фебрильная нейтропения + мукозит	1 (4,8%)
фебрильная нейтропения + пневмония	1 (4,8%)
мукозит I–II ст.	1 (4,8%)
кандидоз слизистой рта	1 (4,8%)
герпетическая инфекция	2 (9,5%)
сепсис + мукозит III ст.	1 (4,8%)
Геморрагические:	7 (33,3%)
кожно-геморрагический синдром	4 (19%)
кожно-геморрагический синдром + кровохарканье	1 (4,8%)
маточное кровотечение	1 (4,8%)
желудочно-кишечное кровотечение	1 (4,8%)

Заключение

Общепринятыми критериями эффективности выхода ГСК в кровь является оценка содержания CD34+-клеток в трансплантате. На эффективность мобилизации CD34+-клеток влияют факторы, связанные с характеристикой доноров (аутодоноров), а именно: возраст, режим мобилизации, количество и характер предшествующих курсов химиотерапии, в том числе наличие/отсутствие облучения, диагноз и степень выраженности фиброзных изменений в костном мозге [6,7]. В зависимости от способности к мобилизации CD34+-клеток доноры-аутодоноры подразделяются на легко-мобилизующие, трудно-мобилизующие и плохомобилизующие, при количестве в трансплантате CD34+-клеток соответственно $> 5,0 \times 10^6/\text{кг}$, $1 - 5 \times 10^6/\text{кг}$ и $< 1,0 \times 10^6/\text{кг}$ реципиента [8].

Задержка восстановления гемопоэза наблюдается у 5–35% ауто-реципиентов. На приживление ГСК также влияют факторы, связанные с качеством трансплантируемых клеток, источником ГСК (костный мозг, ПСКК). Другими маркерами качества трансплантата, наряду с CD34+-клетками, являются число ядросодержащих клеток и количество колониеобразующих единиц различных линий кроветворения (гранулоцитарных, эритроцитарных, грануло-эритро-моно-макрофагальных), рассчитанных на 1 кг веса реципиента, а также уровень экспрессии в CD34+ клетках фермента альдегиддегидрогеназы [9,10].

В нашем исследовании, включавшем пациентов, различавшихся по возрасту и диагнозам, не выявлено снижения эффективности в мобилизации ПСКК препаратом Лейкостим по основным параметрам оцен-

ки, предъявляемым к данному виду ростовых факторов, а именно: длительности стимуляции для достижения эффекта, необходимому количеству аферезов, уровню CD34⁺-, ALDH⁺-клеток и КОЕ-ГМ на 1 кг веса реципиента в трансплантате, развитию побочных осложнений. Адекватное качество трансплантата, полученного с помощью Лейкостима, подтверждено при использовании ПСКК для проведения аутологичной трансплантации, при этом сроки восстановления кро-

ветворения у реципиентов не отличались от сроков, наблюдаемых при использовании других препаратов Г-КСФ. Таким образом, эффективность и безопасность отечественного рекомбинантного человеческого Г-КСФ Лейкостима для проведения мобилизации ПСКК с целью их последующей аутотрансплантации подтверждены результатами многоцентрового исследования и сопоставимы с эффективностью и безопасностью зарубежных аналогов.

Л и т е р а т у р а

1. Burger J., Burkle A. The CXCR4 chemokine receptor in acute and chronic leukemia: a marrow homing receptor and potential therapeutic target. Br.J.Haematology 2007;137:288—96.
 2. Gazit Y. Homing and mobilization of hematopoietic stem cells and hematopoietic cancer cells are mirror image process, utilizing similar signaling pathways and occurring concurrently: circulating cancer cells constitute an ideal target for concurrent treatment with chemotherapy and antineoplastic antibodies. Leukemia 2004;18:1—10.
 3. Lapidot T., Dar A., Kollet O. How do stem cells find their way home? Blood 2005;106:1901—10.
 4. Птушкин В.В., Селшовкин Г.Д. Методические аспекты получения гемопоэтического трансплантационного материала из

костного мозга и пениферической крови. Трансплантология и искусственные органы 1995;4:34—40.
 5. Воробьев А.И., Моисеева Т.Н., Габева Н.Г. и др. Результаты клинического исследования российского рекомбинантного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора Лейкостим. Эффект фармакопер в онкол, гематол и радиол 2006;2:2—7.
 6. Fruehauf S., Seeger T., Topaly J. Innovative strategies for PBSC mobilization. Cytotherapy 2005;7:438—46.
 7. Ings S., Balsa C., Leverett D. et al. Peripheral blood stem cell yield in 400 normal donors mobilized with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF): impact of age, sex, donor weight and type of G-CSF used. Br.J.Haematology 2006;134:517—25.
 8. Tighe C., McKoy J., Events A. et al.

Granulocyte-colony stimulating factor administration to healthy individuals and persons with chronic neutropenia or cancer: an overview of safety consideration from the Research on Adverse Drug Events and Reports project. Bone marrow transplantation 2007;40:185—92.
 9. Fallon P., Gentry T., Balber A. et al. Mobilization of peripheral blood SSC^{lo} ALDH⁺ cells have the phenotypic and functional properties of primitive haematopoietic cells and their number correlates with engraftment following autologous transplantation. Br.J.Haematology 2003;123:99—108.
 10. Klaus J., Herrmann D., Breikreutz I. et al. Effect of CD34⁺ cell dose on hematopoietic reconstitution and outcome in 508 patients with multiple myeloma undergoing autologous peripheral blood stem cell transplantation. European J. Haematology 2006;78:21—8.

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕГИЛИРОВАННОГО ЛИПОСОМАЛЬНОГО ДОКСОРУБИЦИНА (КЕЛИКСА) В ГЕМАТОЛОГИИ

О.А. Рукавицын, В.П. Поп

Главный военный клинический госпиталь им. акад. Н.Н. Бурденко, Москва

Из существовавших противоопухолевых средств при лечении солидных злокачественных новообразований и гемобластозов наиболее широкое распространение получили противоопухолевые антибиотики. В связи с широким спектром действия и хорошей эффективностью чаще применяется антрациклиновый антибиотик доксорубин, выделенный из гриба *Streptomyces peucetius var. caesiis*. Доксорубин ковалентно связывает ДНК опухолевой клетки, ингибирует топоизомеразу II, образует свободные радикалы, а также непосредственно воздействует на мембрану клеток. При этом опухолевые клетки наиболее чувствительны к препарату в S- и G₂-фазе митотического цикла. Известно, что к основным показаниям

к применению доксорубина относятся рак молочной железы, рак легкого, остеогенные саркомы, саркомы мягких тканей, а также неходжкинские лимфомы (НХЛ), лимфома Ходжкина, множественная миелома. Между тем одним из серьезных осложнений, ограничивающих возможности применения доксорубина, считают кардиотоксичность. Еще в 70-х годах прошлого века было установлено, что в основе влияния доксорубина на мышцу сердца лежит прямое повреждение миоцитов [1]. Кроме того, возможны повреждение митохондрий, нарушение внутриклеточной концентрации кальция, связывание с мембранными липидами, гибель эндотелиальных клеток, апоптоз кардиомиоцитов [2, 3]. Факторами риска

развития антрациклиновой кардиотоксичности являются возраст старше 65 лет, отягощенный кардиологический анамнез, предшествующая лучевая терапия на область средостения или левой половины грудной клетки, а также предшествующий прием антрациклинов. На основании проведенных ранее многочисленных исследований показано, что риск развития кардиотоксичности резко возрастает после достижения кумулятивной дозы доксорубицина, равной 550 мг/м² [2]. В то же время кардиотоксичность может развиваться в процессе противоопухолевой терапии, не достигнув предельных кумулятивных доз. При сочетанном введении доксорубицина с другими химиопрепаратами (паклитаксел, трастузумаб) кардиотоксичность развивается при более низких дозах доксорубицина [4, 5].

Для предупреждения развития кардиотоксичности наиболее часто используют доксорубицин в дозах, не превышающих кумулятивные, однако это не всегда приемлемо в клинике. Также показано, что постоянная инфузия доксорубицина в течение 72—76 ч способна уменьшать кардиотоксичность, при этом не доказана эффективность и безопасность такой инфузии; кроме того, метод требует наличия центрального венозного катетера. Другой возможностью профилактики кардиотоксичности при химиотерапии на основе доксорубицина считается назначение кардио-

протекторов, однако их защитная роль недостаточна при возрастании кумулятивной дозы доксорубицина.

Еще одна возможность в предупреждении кардиотоксичности, обусловленной доксорубицином, появилась после создания липосом. Липосомы стали не только новым способом доставки препарата в опухоль, но и существенным образом улучшили терапевтическую эффективность противоопухолевых препаратов и снизили токсичность по сравнению со свободными субстанциями [6, 7]. Одним из таких препаратов является Келикс (Caelyx), производимый компанией Schering-Plough. Название препарата омонимично слову calyx, которое обозначает чашечку цветка — защитного внешнего слоя. Келикс представляет собой пегилированную липосомальную форму доксорубицина гидрохлорида, длительно циркулирующую в крови и обеспечивающую более высокую концентрацию доксорубицина в опухолевой ткани по сравнению с нормальными тканями [8]. Особые фармакокинетические характеристики Келикса обусловлены уникальной структурой его молекулы: доксорубицин инкапсулируется в липосомы, к поверхности которых присоединяется молекула полиэтиленгликоля. Такая форма позволяет значительно изменить фармакокинетику: уменьшить неспецифическое распределение доксорубицина в нормальных тканях и снизить пиковую концентрацию действующего

препарата в плазме крови (основная причина токсичности препарата). Более того, липосомальная форма способствует избирательному накоплению доксорубицина в опухолевых клетках. Липосомы Келикса не захватываются клетками ретикулоэндотелиальной системы в связи с наличием на их поверхности молекулы полиэтиленгликоля. Как следствие препарат долго циркулирует в сыворотке крови. Благодаря небольшому диаметру липосомы Келикса проникают через имеющие повышенную проницаемость стенки капилляров, которые питают опухоль. Разрушение липосомальной мембраны и высвобождение препарата происходит лишь после проникновения в опухоль.

Келикс имеет значительно больший период полувыведения по сравнению с традиционным доксорубицином (52—55 ч и ме-

Таблица 1. Сравнительные данные по токсичности доксорубицина и пегилированного липосомального доксорубицина (ПЛД)

Показатель	Доксорубицин	ПЛД
Химические ожоги при попадании препарата подкожно	+++	+/-
Инфузионная реакция	—	+°
Тошнота/рвота	++	+/-
Миелосупрессия	+++	+
Стоматит/мукозит	++	++
Ладонно-подошвенный синдром	—	++
Кардиотоксичность	+++	+/-
Алопеция	+++	+
Традиционная доза, мг/м ²	60—75	40—50
Интенсивность дозы, мг/м ² в неделю	20—25	10—12,5
Кумулятивная доза, приводящая к появлению кардиотоксичности, мг/м ²	~450	Нет данных

Примечание. "-" — отсутствие побочного эффекта, "+++" — тяжелая степень побочного эффекта; ° — значительно зависит от скорости введения; ° — 34 больных, участвовавших в исследовании, получали ПЛД (медиана кумулятивной дозы 654 мг/м², минимальная — 500 мг/м², максимальная — 1450 мг/м²). При этом не зафиксированы проявления кардиотоксичности и понижение уровня фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ) более чем на 15%.

нее 10 мин соответственно) [9]. После инфузии Келикса свободный доксорубин практически не определяется в плазме [10], что говорит о снижении воздействия препарата на нормальные ткани (в том числе на миокард) и вследствие этого — токсичности.

При проведении клинических исследований I—II фазы отмечена минимальная кардиотоксичность при дозах Келикса 500—1450 мг/м² (в среднем 654 мг/м²). У больных, не получавших ранее антрациклины, изменение фракции выброса левого желудочка составило только 1%, а у больных, ранее получавших доксорубин, — 7% [9, 11]. При биопсии миокарда при суммарных дозах Келикса 490—1320 мг/м² не отмечено морфологических проявлений кардиотоксического действия [12]. Специфическим свойством препарата является кожная токсичность, проявляющаяся в виде ладонно-подошвенного синдрома и стоматита/мукозита [13, 14]. Для уменьшения риска этих осложнений рекомендуется не превышать дозу Келикса более 11—12,5 мг/м² в неделю [14].

В таблице 1 приведены сравнительные данные по токсичности стандартного и пегилированного липосомального доксорубина.

Поскольку лечение онкологических заболеваний часто требует назначения двух препаратов и более, во время проведения I фазы оценивали безопасность и эффективность липосомальных антрациклинов при их сочетании с другими препаратами (табл. 2).

Келикс в лечении пациентов с НХЛ и лимфомой Ходжкина

Комбинированные режимы химиотерапии на основе доксорубина считают стандартной терапией для лечения пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой, как наиболее частой из так называемых агрессивных НХЛ. В то же время пожилой возраст пациентов, у которых чаще диагностируется это заболевание, фактически

является наиболее важным прогностическим фактором, значительно ограничивающим возможности применения как химиотерапии в целом, так и традиционного доксорубина в частности в связи с высокой токсичностью. Согласно результатам клинических исследований, смертность, связанная с лечением, составляет 10—15%, и в основном она обусловлена инфекционными осложнениями [18, 19]. При этом среди больных с негематологической токсичностью у 3—8% отмечена кардиотоксичность 3—4-й степени. Липосомальные антрациклины обладают значительными терапевтическими преимуществами, поскольку имеют минимальный риск развития кумулятивной кардиотоксичности [20]. В 1998—2000 гг. в Испании было проведено первое проспективное исследование II фазы по оценке эффективности Келикса у пожилых больных [21]. Martino и соавт. при лечении 33 больных диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомой заменили традиционный доксорубин в режиме СНОР на пегилированный липосомальный доксорубин (Caelyx) — ССОР [21]. Все больные, включенные в протокол, были старше 60 лет, а 80% пациентов — старше 70 лет (медиана — 74 года). До включения в исследование пациенты не получали лечения. У 60% больных была III—IV стадии заболевания, почти у 50% отмечены симптомы интоксикации; у 42% — низкий соматический статус. Келикс назначали в дозе 30 мг/м² в 1-й день 3-недельного цикла. Циклофосфан в дозе 750 мг/м² и винкристин в дозе 2 мг также вводили в 1-й день. Преднизолон в дозе 60 мг/м² больные получали в 1—5-й дни цикла. Объективный ответ отмечен у 64% больных (49% — полная ремиссия, 15% — частичный ответ). Вероятность однолетней общей и бессобытийной выживаемости составила 55 и 45% соответственно. Ни одного случая кардиотоксичности выявлено не было. Из побочных эффектов 3—4-й степени зафиксиро-

Таблица 2. Оценка безопасности сочетания ПЛД и других химиопрепаратов

Исследование	Заболевание	Число больных	Максимально переносимая доза, мг/м ²	Токсичность
Szelenyi и соавт., 1999 [15]	Множественная миелома	6	ПЛД 10—20 в 1-й день + ЦФ 200 в 1—4-й день + дексаметазон 40 мг в 1—4-й день в течение 3 нед	Нейтропения, 1 случай сердечной недостаточности через 3 нед после завершения терапии
Dingeldein, 2001 [16]	Множественная миелома	7	ПЛД 30 в 1-й день + дексаметазон 40 в дни 1—4, 9—12, 17—20-й + винкристин 1,4 в 1-й день + пиридоксин 100 мг 2 раза в день	Токсичность, не связанная с ПЛД
Bartlett и соавт., 2003 [17]	Лимфома Ходжкина	76	ПЛД 15 в 1, 8-й день + винорельбин 20 в 1, 8-й день + гемцитабин 1000 в 1, 8-й день каждые 3 нед или ПЛД 10 в 1, 8-й день + винорельбин 15 в 1, 8-й день + гемцитабин 800 в 1, 8-й день каждые 3 нед (как предтрансплантационный режим)	Фебрильная нейтропения, мукозит

мальным доксорубицином, проводимой у 34 больных Т-клеточной лимфомой кожи [27]. В работе итальянских авторов (2007) также показана высокая эффективность монотерапии пегилированным липосомальным доксорубицином в лечении первичной Т-клеточной лимфомы кожи: общий ответ — 84,2%, полный ответ — 42,1% [28]. Di Bella и соавт. из США (2003) проводили монотерапию пегилированным липосомальным доксорубицином в дозе 30 мг/м² каждые 3 нед пациентам НХЛ с низкой степенью злокачественности [29]. При этом, наряду с хорошей эффективностью пегилированного липосомального доксорубицина, отмечен единичный клинически значимый случай кардиотоксичности. В 2006 г. опубликованы результаты исследования II фазы эффективности монотерапии пегилированного липосомального доксорубицина в лечении рецидивов у 18 больных с агрессивными НХЛ — преимущественно диффузной В-крупноклеточной и лимфомой из клеток мантийной зоны [30]. Проводилось 6 циклов лечения по 40–50 мг/м², в основном с паллиативной целью. У 4 (23%) пациентов достигнута частичная ремиссия, у 5 — стабилизация заболевания, у 8 больных болезнь прогрессировала на фоне терапии Келиксом. Общая выживаемость в течение 6 мес составила 50%, в течение 1 года — 39%. В то же время эта категория больных имела минимальный риск кардиотоксичности.

Некоторые результаты лечения пегилированным липосомальным доксорубицином приведены в таблице 3.

Пегилированный липосомальный доксорубицин в лечении больных множественной миеломой

Для лечения больных с множественной миеломой, которым в дальнейшем планируется высо-

кодозная терапия с аутологичной трансплантацией стволовых клеток, с индукционной целью наиболее часто применяют комбинацию винкристина и традиционного доксорубицина — постоянная или болюсная инфузия в 1–4-й дни, дексаметазон внутрь импульсами в 1–4-й, 9–12-й и 17–20-й дни или реже (с уменьшенной дозой дексаметазона) только в 1–4-й дни 28-дневного цикла (VAD или VAd). Обычно индукционная терапия позволяет добиваться полной или частичной ремиссии заболевания, однако кумулятивная кардиотоксичность может ограничивать количество циклов такого лечения, уменьшая эффективность этой терапии в целом. Кроме того, постоянная 96-часовая инфузия представляет значительные неудобства для пациентов и создает риск осложнений, связанных с необходимостью катетеризации центральной вены. Применение пегилированных липосомальных антрациклинов позволяет достичь сопоставимой эффективности, но с уменьшенной токсичностью. В то же время особенности фармакокинетики пегилированного липосомального доксорубицина с замедленным высвобождением доксорубицина дают возможность адекватно заменить постоянную 96-часовую инфузию, не снижая эффективность лечения, а также минимизировать необходимость госпитализации на каждый цикл. Не менее важным для клиники оказалась способность пегилированного липосомального доксорубицина накапливаться в повышенной концентрации в областях неоваскуляризации, очень характерных для множественной миеломы [32]: в одном из исследований подтверждено, что лечение пегилированным липосомальным антрациклином в составе комбинированной химиотерапии (программа DVd) спо-

Таблица 3. Применение липосомальных антрациклинов для лечения больных НХЛ и лимфомой Ходжкина (исследования II фазы)

Исследование	Тип лимфомы	Режим	Число больных	Частота ответа, %	БСВ	ОВ
Martino и соавт., 2002 [21]	В-клеточная НХЛ у пожилых больных	ПЛД-СОР	33	64	45% — 1 год	55% — 1 год
Tsavaris и соавт., 2002 [23]	НХЛ у пожилых больных	ПЛД-СОР	25	100	>12 мес	32 мес (медиана)
Wollina и соавт., 2003 [27]	Т-клеточная, кожная НХЛ	ПЛД	34	88	13,3 мес	—
Bartlett и соавт., 2003 [17]	Рефрактерная форма лимфомы Ходжкина, рецидив лимфомы Ходжкина	ПЛД+ гемцитабин + винорельбин	38	63	Нет данных	Нет данных
Di Bella и соавт., 2003 [29]	НХЛ низкой степени злокачественности	Монотерапия ПЛД	32	31	11 мес	29,6 мес (медиана)
Tulpule и соавт., 2004 [31]	Агрессивная В-клеточная НХЛ	ПЛД-СОР + ритуксимаб	19	100	Нет данных	Нет данных

Примечание. ПЛД — пегилированный липосомальный доксорубицин, СОР — циклофосфан + винкристин + преднизолон; БСВ — бессобытийная выживаемость; ОВ — общая выживаемость.

способствует уменьшению плотности микрососудов у больных множественной миеломой [33].

Проведенные исследования показали эффективность использования пегилированных липосомальных антрациклинов в составе таких программ индукционной терапии, как DVD, или с уменьшением дозы дексаметазона — DVd. При этом пегилированный липосомальный доксорубин назначался в 1-й день в дозе 40 мг/м², винкристин также только в 1-й день в дозе 2 мг.

Для сравнения эффективности и безопасности индукционных режимов химиотерапии VAd и DVD M. Dimopoulos и соавт. (2003) было проведено рандомизированное проспективное многоцентровое исследование, в которое вошли 259 ранее нелеченных пациентов с множественной миеломой [34]. Пациенты получали пероральный дексаметазон в 1—4-й дни каждого 28-дневного цикла и в 9—12-й и 17—20-й дни первого и третьего цикла терапии. Пациенты в группе VAd-терапии (*n*=127) получали болюсно винкристин в дозе 0,4 мг/м² и доксорубин в дозе 9 мг/м² в 1—4-й дни. Пациенты в группе DVD-терапии (*n*=132) получали внутривенно пегилированный липосомальный доксорубин в дозе 40 мг/м² и винкристин 2 мг в 1-й день. Общий ответ на лечение был фактически одинаковым: 61,4% для группы терапии по программе VAd и 61,3% для пациентов, лечившихся по программе DVD. При этом в 1-й группе полный ответ был у 12,6%, частичный — у 48,8%, во 2-й группе (DVD-терапия) — у 12,9 и 48,4% соответственно. Побочные эффекты в этих группах также были примерно одинаковыми, кроме более частой встречаемости алопеции в группе VAd-терапии (55% против 37% у пациентов на фоне DVD-терапии) и ладонно-подошвенного синдрома в группе лечившихся по программе DVD — 13% против 2% в группе VAd-терапии. Важным клиническим преимуществом лечебного режима DVD оказалась необходимость только 1 визита для введения пегилированного липосомального доксорубина в каждом цикле, по сравнению с 4 визитами для получения болюсных инъекций обычного доксорубина по схеме VAd.

Сходное рандомизированное мультицентровое исследование было проведено в США для изучения эффективности и безопасности индукционных режимов химиотерапии VAd и DVd [35, 36]. Пациенты в группе VAd (*n*=95) получали винкристин в дозе 0,4 мг/день и традиционный доксорубин — 9 мг/м²/день постоянной инфузией в 1—4-й дни, а также пероральный дексаметазон — 40 мг в 1—4-й дни каждого 4-недельного цикла. Пациенты в группе DVd (*n*=97) получали внутривенную инъекцию в дозе 40 мг/м² пегилированного липосомального доксорубина и винкристина 1,4 мг/м² (максимум 2 мг) в 1-й день, а также пероральный дексаметазон 40 мг в 1—4-й дни каждого

4-недельного цикла. Выполнено минимум 4 цикла с последующей аутологичной трансплантацией, либо до достижения максимального ответа и фазы плато, или при появлении признаков неприемлемой токсичности. Всего было включено 192 пациента. Средний возраст больных составил 59 лет (от 37 до 84 лет). Объективный ответ отмечен у 44,3% в группе DVd-терапии и у 41% в группе VAd-терапии. Аутологичную трансплантацию выполнили 31 (35,6%) больному в группе DVd-терапии и 30 (34,1%) пациентам в группе VAd-терапии. Исследователи установили, что оба режима терапии имеют сопоставимую эффективность. При этом в группе DVd-терапии значительно реже встречалась нейтропения 3—4-й степени (10,3% против 24,2% в группе VAd-терапии), реже наблюдался сепсис (3,1% против 8,4%), меньше была длительность использования антибиотиков или ростовых факторов. Вместе с тем в группе DVd-терапии отмечался более часто ладонно-подошвенный синдром (25% против 1% в группе VAd-терапии), в основном 1—2-й степени. Кроме того, изучена продолжительность госпитализации. Для проведения 35% циклов VAd и 4% циклов DVd потребовалась госпитализация пациентов. Суммарное количество дней, в течение которых требовалась госпитализация пациентам для введения препаратов, составила 732 дня для группы VAd-терапии и 139 дней для пациентов, лечившихся по программе DVd. При медиане наблюдения 21 мес для группы DVd-терапии и 20 мес для группы VAd-терапии не выявлено значительных различий по показателям безрецидивной и общей выживаемости больных. Так, однолетняя безрецидивная выживаемость составила 78% для группы DVd-терапии и 76% для группы VAd-терапии, а 2-летняя — соответственно 53 и 56%. Одногодичная общая выживаемость была 88% для группы DVd-терапии и 85% для группы VAd-терапии, 2-летняя общая выживаемость составила 79 и 72% соответственно. При изучении стоимости и эффективности терапии оказалось, что затраты на лечение в группе DVd-терапии были значительно ниже (\$31 755 против \$60 275 в группе VAd-терапии) [37].

Проведены также исследования для уточнения значения включения в программы DVd-терапии талидомида [38, 39], ограничения применения винкристина в программах с пегилированным липосомальным доксорубином [40] или сочетания пегилированного липосомального доксорубина с бортезомибом [41].

С учетом высокой эффективности леналидомида в лечении рефрактерной и рецидивирующей форм множественной миеломы была изучена комбинация леналидомида с DVd-терапией [42]. Показано, что применение ленолидамида в дозе 10 мг в день в 1—21-й дни и DVd каждые 28 дней (DVd-R) хорошо переносится. При этом хороший

результат получен в группе пациентов с преимущественно рефрактерной множественной миеломой: у 62 больных общий ответ составил 75%, у 29% — полная или почти полная ремиссия. Медиана беспрогрессивной выживаемости составила 12 мес, а медиана общей выживаемости на момент публикации результатов (2006 г.) еще не достигнута.

В 2007 г. были опубликованы результаты крупного (n=646) международного рандомизированного исследования III фазы по применению сочетания пегилированного липосомального доксорубицина с бортезомибом в сравнении с монотерапией бортезомибом у больных с рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломой [43]. На фоне комбинированной терапии медиана времени до прогрессирования увеличилась с 6,5 до 9,3 мес. Как показало исследование, 15-месячная выживаемость на фоне терапии пегилированным липосомальным доксорубицином с бортезомибом составила 76% по сравнению с 65% при монотерапии бортезомибом (p=0,03). Данные полной и частичной ремиссии примерно одинаковы: 44% в группе комбинированной терапии и 41% в группе монотерапии. На фоне комбинированной терапии длительность ответа была достоверно больше — 10,2 мес против 7 мес, но и частота побочных эффектов 3—4-й степени оказалась несколько выше (80% против 64% на фоне монотерапии).

Результаты исследований пегилированного липосомального доксорубицина показали, что он является высокоэффективным в комбинации с различными вариантами химиотерапии больных с множественной миеломой как при первичном лечении, так и при рефрактерной или рецидивирующей форме. Кроме того, препарат оказывает меньший миелосупрессивный эффект, менее кардиотоксичен, не требует центрального венозного катетера или постоянной 96-часовой инфузии при лечении множественной миеломы, а программы на его основе более приемлемы по соотношению стоимость—эффективность [44]. В настоящее время требуются проспективные рандомизированные исследования эффективности и безопасности этих программ для оценки долгосрочных исходов у больных с множественной миеломой.

Таким образом, использование цитостатиков в новой форме — липосом является весьма эффективным и перспективным способом воздействия на онкогематологические опухоли. Клиническое применение пегилированного липосомального доксорубицина показало высокую эффективность препарата при целом ряде агрессивных и индолентных НХЛ и множественной миеломе.

Опыт успешного клинического применения пегилированного липосомального доксорубицина позволяет предполагать, что использование липосомальных форм цитостатиков значительно рас-

ширится в будущем. Оригинальным направлением в липосомологии стала разработка нового поколения лекарственных препаратов — иммунолипосом. Иммунолипосомы представляют собой липосомы, к которым прикреплены моноклональные антитела, обеспечивающие специфическое связывание липосом с антигенпозитивными клетками, а липосомы несут соответствующий гидрофобный или гидрофильный химиотерапевтический препарат. К настоящему времени описано несколько препаратов иммунолипосом, потенциально перспективных для применения в гематологической практике. Они направлены против клеток, экспрессирующих антигены CD19 (обще-В-клеточный маркер) [45], LL2 (антиген В-клеточной лимфомы) [46] и др. Дальнейшие клинические исследования позволят определить роль и место этих препаратов в онкогематологии.

Заключение

Традиционные антрациклины являются одними из наиболее эффективных препаратов для лечения онкогематологических заболеваний, однако возможности их применения ограничены из-за различных проявлений токсичности, особенно кумулятивной кардиотоксичности. Пегилированный липосомальный доксорубицин (Келикс) обладает свойством накапливаться преимущественно в опухолевой ткани. Он разработан с целью уменьшения кардиотоксичности при сохранении эффективности традиционных антрациклинов. Результаты клинических исследований подтверждают, что пегилированный липосомальный доксорубицин в целом хорошо переносится и обладает более благоприятным профилем безопасности по сравнению с традиционными антрациклинами. Препарат эффективен при лечении многих опухолей, и в особенности тех, которые поддаются терапии традиционным доксорубицином. НХЛ, лимфома Ходжкина и множественная миелома хорошо лечатся данным препаратом, что позволяет рекомендовать его в первую очередь для лечения пациентов пожилого возраста. Кроме того, пегилированный липосомальный доксорубицин, как показали исследования, имеет преимущества не только в связи с меньшей кардиотоксичностью, но и меньшим миелосупрессивным эффектом, не требует центрального венозного катетера или постоянной 96-часовой инфузии при лечении множественной миеломы, а программы на основе пегилированного липосомального доксорубицина являются более приемлемыми по соотношению стоимость—эффективность.

В то же время для определения эффективности и безопасности липосомальных пегилированных антрациклинов и широкого внедрения их в практику лечения пациентов с онкогематологическими заболеваниями необходимы дальнейшие клинические исследования.

Л и т е р а т у р а

1. Ferrans V.J. Overview of cardiac pathology in relation to anthracycline cardiac toxicity. *Canc Treat Rep* 1978;62:955—61.
2. Ewer M.S., Benjamin R.S. Cardiotoxicity of chemotherapeutic Drugs. In: *The Chemotherapy source book*. Ed. M.C. Perry. 1997. p. 649—63.
3. Olson R.D., Mushlin P.S., Breuner D.E. et al. Doxorubicin cardiotoxicity may be due to its metabolite, doxorubicinol. *Proc Natl acad Sci USA* 1988;85:3585—9.
4. Slamon D.J., Leyland-Jones B., Shak S. et al. Use of Chemotherapy plus a Monoclonal Antibody against HER2 for Metastatic Breast Cancer That Overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001;344:783—92.
5. Singal P.K., Iliskovic N. Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1998;339:900—5.
6. Lasic D.D., Papahadjopoulos D. Liposomes revisited. *Science* 1995;267:1275—6.
7. Harrington K.L., Lewanski C.R., Stewart S.W. Liposomes as vehicles for targeted therapy of cancer/Part.2: Clinical development. *Clin Oncol* 2000;12:16—24.
8. Allen T.M., Martin F.J. Advantages of liposomal delivery systems for anthracyclines. *Semin Oncol* 2004;31(Suppl 13):5—15.
9. O'Brien M.E.R., Wigler N., Inbar M. et al. Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in a phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin HCl (Caelyx/Doxil) versus conventional doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2004;5(3):440—9.
10. Gabizon A., Catane R., Uziely B. Prolonged circulation time and enhanced accumulation in malignant exudates of doxorubicin encapsulated in polyethylene-glycol coated liposomes. *Cancer Res* 1994;54:987—92.
11. Theodoulou M., Hudis C. Cardiac profiles of liposomal anthracyclines. Greater cardiac safety versus conventional doxorubicin? *Cancer* 2004;100(10):2052—63.
12. Wingler N., O'Brien M., Rosso R. et al. Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin (Caelyx/Doxil) vs. doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer. *Proc ASCO* 2002;21:1; s. 45a, N177.
13. Lotem M., Hubert A., Lyass O. et al. Skin toxic effects of polyethylene glycol-coated liposomal doxorubicin. *Arch Dermatol* 2000;136:1475—80.
14. Alberts D.S., Garcia D.J. A safety review of pegylated liposomal doxorubicin in the treatment of various malignancies. *Oncology* 1997; Suppl 11:54—62.
15. Szelenyi H., Siehl J., Menssen H.D. et al. Cyclophosphamide, liposomal doxorubicin and dexamethasone (CLAD) is safe and efficacious in multiple myeloma. *Eur J Cancer* 1999;35(Suppl 14):337—44.
16. Dingeldein G.C., Hoffmann M., Huebner G. et al. Phase I/II study with liposomal-encapsulated doxorubicin in VAD-protocol for patients with multiple myeloma. *Blood* 2001;98:308b (abstr 4985).
17. Bartlett N., Niedzwiecki D., Johnson J. et al. A phase I/II study of gemcitabine, vinorelbine, and liposomal doxorubicin for relapsed Hodgkin's disease: Preliminary results of CALGB 59804. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;22:566 (abstr 2275).
18. Bastion Y., Blay J.Y., Divine M. et al. Elderly patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma: disease presentation, response to treatment, and survival - a groupe d' Etude des Lymphomes de l' Adulte study on 453 patients older than 69 years. *J Clin Oncol* 1997;15:2945—53.
19. Niitsu N., Iijima K. Full-dose CHOP chemotherapy combined with granulocyte colony-stimulating factor for aggressive non-Hodgkin's lymphoma in elderly patients: a prospective study. *Ann Hematol* 2001;80:602—6.
20. Ewer M.S., Martin F.J., Henderson I.C. et al. Cardiac safety of liposomal anthracyclines. *Semin Oncol* 2004;31 (Suppl 13):161—81.
21. Martino R., Perea G., Caballero M.D. et al. Cyclophosphamide, pegylated liposomal doxorubicin (Caelyx), vincristine and prednisone (CCOP) in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: Results from a prospective phase II study. *Haematologica* 2002;87:822—7.
22. Topilow A.A., Mencil P.J., Nahum K. et al. Cyclophosphamide/pegylated liposomal doxorubicin/vincristine/prednisone (CDOP) in the treatment of intermediate grade non-Hodgkin's lymphoma (IG-NHL): A five-year follow-up. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;22:596 (abstr 2397).
23. Tsavaris N., Kosmas C., Vadiaka M. et al. Pegylated liposomal doxorubicin in the CHOP regimen for older patients with aggressive (stages III/IV) non-Hodgkin's lymphoma. *Anticancer Res* 2002;22:1845—8.
24. Zaja F., Tomadini V., Zaccaria A. et al. CHOP-rituximab with pegylated liposomal doxorubicin for the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2006;47(10):2174—80.
25. Bartlett N., Niedzwiecki D., Johnson J. et al. Gemcitabine, vinorelbine, and pegylated liposomal doxorubicin (GVD), a salvage regimen in relapsed Hodgkin's lymphoma: CALGB 59804. *Ann Oncol* 2007;18:1071—9.
26. Wollina U., Graefe T., Kaatz M. Pegylated doxorubicin for primary cutaneous T-cell lymphoma: a report on ten patient with follow-up. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001;127:128—34.
27. Wollina U., Dummer R., Brockmeyer N.H. et al. Multicenter study of pegylated liposomal doxorubicin in patients with cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer* 2003;98:993—1001.
28. Pulini S., Rupoli S., Goteri G. et al. Pegylated liposomal doxorubicin in the treatment of primary cutaneous T-cell lymphomas. *Haematologica* 2007;92:686—9.
29. Di Bella N.J., Khan M.M., Dakhil S.R. et al. Pegylated liposomal doxorubicin as single-agent treatment of low-grade non-Hodgkin's lymphoma: A phase II multicenter study. *Clin Lymphoma* 2003;3:235—40.
30. Macpherson N., Belch A., Taylor M. et al. Liposomal encapsulated doxorubicin (Caelyx) in the treatment of relapsed aggressive non-Hodgkin's lymphoma: A phase II study. *Leuk Lymphoma* 2006;47(7):1327—32.
31. Tulpule A., Khan A.U., Mohrbacher A.F. et al. A phase II trial of pegylated liposomal doxorubicin, rituximab, cyclophosphamide, vincristine, and prednisone (DR-COP) in aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2004;23:602 (abstr 6688).
32. Vacca A., Ribatti D., Roncali L. et al. Bone marrow angiogenesis and progression in multiple myeloma. *Br J Haematol* 1994;87:503—8.
33. He X.S., Srkalovic G., Hsi E.D. et al. The effects of different chemotherapeutic regimens on bone marrow microvessel density in patients with multiple myeloma [abstract 2424]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;22:603.
34. Dimopoulos M.A., Pouli A., Zervas K. et al. Prospective randomized comparison of vincristine, doxorubicin and dexamethasone (VAD) administered as intravenous bolus injection and VAD with liposomal doxorubicin as first-line treatment in multiple myeloma. *Ann Oncol* 2003;14:1039—44.
35. Hussein M.A., Rifkin R., Gregory S.A. et al. DVd versus VAd in the treatment of patients with newly diagnosed multiple myeloma (n-MM): An update from a randomized multicenter trial. *Blood* 2003;102:453a (abstr 1653).
36. Rifkin R.M., Gregory S.A., Mohrbacher A., Hussein M.A. Pegylated Liposomal Doxorubicin, Vincristine, and Dexamethasone Provide Significant Reduction in Toxicity Compared with Doxorubicin, Vincristine, and Dexamethasone in Patients with Newly Diagnosed Multiple Myeloma. A Phase III Multicenter Randomized Trial. *Cancer* 2006;106:848—58.

37. Hussein M.A., Wildgust M., Fastenau J. et al. Cost effectiveness of DVd vs VAd in newly diagnosed multiple myeloma. Proc Am Soc Clin Oncol 2004;23:567 (abstr 6548).

38. Agrawal N., Hussein M.A., Elson P. et al. Pegylated doxorubicin, vincristine, reduced frequency dexamethasone and thalidomide (DVd-T) in newly diagnosed and relapsed/refractory multiple myeloma patients. Blood 2003;102:237a (abstr 831).

39. Zervas K., Dimopoulos M.A., Hatziharisi E. et al: Primary treatment of multiple myeloma with thalidomide, vincristine, liposomal doxorubicin and dexamethasone (T-VAD Doxil): A phase II multicenter study. Ann Oncol 2004;15:138.

40. Rossi J.-F., Jourdan E., Legouffe E. et al: Intermediate analysis of a prospective randomised comparison of standard

VAD protocol (vincristine, doxorubicin and dexamethasone) and pegylated liposomal doxorubicin (Doxil/CAELYX) plus dexamethasone as a first-line treatment in multiple myeloma (MM). Blood 2003;102:447a (abstr 1631).

41. Orłowski R.Z., Voorhees P.M., Garcia R.A. et al. Phase I study of the proteasome inhibitor bortezomib in combination with pegylated liposomal doxorubicin in patients with refractory hematologic malignancies. Blood 2003;102:449a (abstr 1639).

42. Baz R., Walker E., Karam M.A. et al. Lenalidomide and pegylated liposomal doxorubicin-based chemotherapy for relapsed or refractory multiple myeloma: safety and efficacy. Ann Oncol 2006;17:1766—71.

43. Orłowski R.Z., Nagler A., Sonneveld P. et al. Randomized Phase III Study of Pegylated Liposomal Doxorubicin

Plus Bortezomib Compared With Bortezomib Alone in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma: Combination Therapy Improves Time to Progression. J Clin Oncol 2007;25:3892—901.

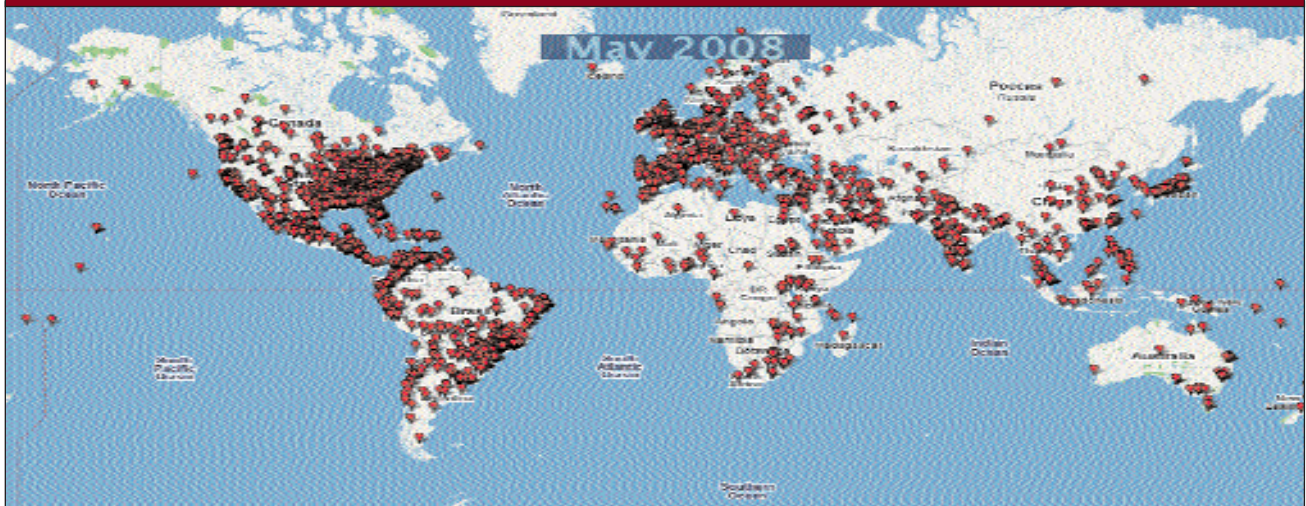
44. Hussein M.A., Anderson K.C. Role of Liposomal Anthracyclines in the Treatment of Multiple Myeloma. Semin Oncol 2004;31(Suppl 13):147—60.

45. Lopes de Menezes D.E., Pilarski L.M., Belch A.R., Alien T.M. Selective targeting of immunoliposomal doxorubicin against human multiple myeloma in vitro and ex vivo. Biochim Biophys Acta 2000;1466(1—2):205—20.

46. Lundberg B.B., Griffiths G., Hansen H.J. Specific binding of sterically stabilized anti-B-cell immunoliposomes and cytotoxicity of entrapped doxorubicin. Int J Pharm 2000;205(1—2):101—8.

Cure4Kids

www.Cure4Kids.org



Вэб-сайт **Cure4Kids** — это всеобъемлющая образовательная программа, созданная для улучшения качества педиатрии во всем мире. **Cure4Kids** — это широкий доступ к материалам для продолжения медицинского образования, инструмент общения для тех, кто лечит детей с онкологическими и другими жизнеугрожающими заболеваниями.

Cure4Kids обеспечивает материалами более 14 тыс. врачей, медсестер и других работников здравоохранения в 161 стране мира. Это семинары и конференции, полнотекстовые книги и журнальные статьи, курсы для самообразования, а также лекции, сопровождаемые аудиозаписью. Многие материалы можно использовать в образовательных целях. С 2002 г. (с момента создания **Cure4Kids**) по май 2008 г. более 1 млн

700 тыс. различных материалов было «скачано» пользователями **Cure4Kids**. Все услуги и ресурсы бесплатны!

Материалы сайта разработаны ведущими мировыми экспертами в области детской онкологии, гематологии, а также таких жизнеугрожающих заболеваний, как ВИЧ/СПИД. Хотя большая часть информации рассчитана на англоговорящих пользователей, часть материалов представлены на испанском, португальском, русском, китайском и арабском языках. Некоторые разделы предназначены для проведения он-лайн конференций, обмена данными и обсуждения схем лечения. Более 180 международных групп постоянно встречаются на **Cure4Kids** для обсуждения трудных случаев.

В планах **Cure4Kids** — расширение объема доступной информации, со-

вершенствование образовательных методов, более активное сотрудничество с основными медицинскими сообществами, больницами и научными институтами. Хотелось бы процитировать слова врача из Марокко, зарегистрированного на **Cure4Kids**: «Удивительно, как быстро В стал необходимым в нашей повседневной работе. Этот действительно новаторский и крайне полезный сайт для тех, кому приходится работать, как нам, с крайне ограниченными ресурсами и лимитированным доступом к нужной информации».

Стать пользователем **Cure4Kids** вы можете посетив вэб-сайт www.cure4kids.org/register. Регистрация бесплатна и рекомендована всем врачам, медицинскому персоналу и научным сотрудникам, независимо от страны проживания.

Красные кружочки на рисунке сверху обозначают местоположение всех пользователей **Cure4Kids** на 16 мая 2008 г. Регистрируйтесь на Cure4Kids.org/register

РЕЗОЛЮЦИЯ ЭКСПЕРТНОГО СОВЕЩАНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ЭРИТРОПОЭСТИМУЛИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ В ОНКОЛОГИИ

от 3 ноября 2007 г.

Анемия осложняет течение опухоли в 30—40% случаев [1]. Проведение химиотерапии, особенно включающей препараты платины, увеличивает долю больных с анемией до 60—80% [2]. При этом падение уровня гемоглобина ниже нормы (120 г/л) сопровождается снижением качества жизни [3], неблагоприятно влияет на эффективность противоопухолевого лечения [4] и является независимым отрицательным фактором прогноза для некоторых неоплазий [5].

Традиционный метод коррекции гемоглобина — заместительные трансфузии эритроцитной массы — сопровождается гемолитическими реакциями, в том числе фатальными (1:1000), трансфузионными поражениями легких (1:5 000), бактериальной контаминацией, в том числе фатальным сепсисом (1:10 000), передачей вирусов гепатита В (1:30 000), гепатита С и вируса иммунодефицита человека (1:1 000 000) [6]. Кроме того, следует учесть, что многие потенциально опасные вирусные инфекции в настоящее время у доноров не тестируются [7]. К тому же во многих странах, включая РФ, отмечается дефицит доноров. В связи с этими фактами ВОЗ рекомендует максимально регламентировать заместительные гемотрансфузии и использовать альтернативные методики коррекции гемоглобина. В ситуациях, когда проведение заместительных гемотрансфузий нежелательно или противопоказано, например при посттрансфузионных реакциях в анамнезе, наличии аллоантител, посттрансфузионных реакциях в анамнезе, эритропоэзстимулирующие препараты (ЭСП) считают терапией выбора.

Использование ЭСП позволяет повысить продукцию эритроцитов костным мозгом и увеличить содержание гемоглобина без переливания донорских эритроцитов. Систематический анализ результатов контролируемых исследований, включивший данные 9353 пациентов свидетельствует о том, что применение эритропоэтинов у онкологических больных с анемией, получающих химиотерапию, а также при анемии опухолевого заболевания повышает уровень гемоглобина в 60—70% случаев (уровень доказательности I). При этом применение эритропоэтинов сопровождается значимым сокращением необходимости заместительных гемотрансфузий (относительный риск 0,64; 95% доверительный интервал — ДИ — 0,6—0,68) и улучшением качества жизни онкологических больных. В то же время ЭСП повышают вероятность тромботических осложнений (относительный риск 1,67; 95% ДИ 1,35—2,06) [8].

С учетом значимого риска развития анемии у онкологических больных и доказанной эффективности ЭСП в ее лечении, эритропоэтины могут быть рекомендованы онкологическим больным с анемией при условии соблюдения следующих принципов назначения.

1. Основные цели назначения.

- Повышение гемоглобина до целевых значений и его поддержание.
- Снижение потребности в заместительных гемотрансфузиях.
- Повышение качества жизни пациентов.

2. Общие рекомендации.

- При анемии у онкологического больного перед началом терапии ЭСП необходимо исключить устранимые без использования ЭСП причины снижения гемоглобина: кровотечение, дефицит железа и витаминов (В₁₂, фолиевая кислота), гемолиз. С данной целью необходимо проведение минимального обследования, предусматривающего сбор анамнеза, физикальный осмотр, клинический анализ крови с определением морфологии эритроцитов и цветового показателя. В случае выявления отклонений, свидетельствующих о причинах снижения гемоглобина, которые могут быть устранены без применения ЭСП, необходимо провести более углубленное обследование.
- У больных со снижением показателей гемоглобина менее 80 г/л и наличием симптомов анемии необходимо рассмотреть целесообразность заместительных трансфузий эритроцитной массы наряду с применением ЭСП.
- При назначении ЭСП следует тщательно изучить индивидуальные факторы риска развития тромбозов у каждого пациента, так как лечение ЭСП сопровождается увеличением риска тромботических осложнений.

3. Анемия, у пациентов, получающих химиотерапию.

- У пациентов, получающих химиотерапию или радиохимиотерапию, и со снижением гемоглобина менее 100 г/л необходимо рассмотреть возможность назначения ЭСП.
- ЭСП могут назначаться отдельным онкологическим пациентам при снижении уровня гемоглобина ниже 110 г/л, если планируется дальнейшая интенсивная химиотерапия. Назначение определяется индивидуальными факторами: наличием сопутствующих заболеваний, при которых риск осложнений анемии увеличивается (сердечная недостаточность, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, хронические заболевания легких), характером лечения (предшествующая терапия, тип и длительность планируемой химиотерапии), возрастом старше 65 лет.
- Не рекомендовано профилактическое назначение ЭСП онкологическим больным, если на момент начала химио- или радиохимиотерапии содержание гемоглобина превышает 120 г/л.

4. Анемия у пациентов, не получающих химиотерапию.

- ЭСП могут быть назначены отдельным больным, не получающим химио- или радиохимиотерапию, с гемоглобином менее 100 г/л после тщательной оценки необходимости и под постоянным контролем основного заболевания, например при множественной миеломе, хроническом лимфолейкозе, миелодиспластическом синдроме (МДС).

- При МДС назначение ЭСП возможно у больных с уровнем эритропоэтина сыворотки ниже 200 мЕд/мл, низкой/промежуточной — 1-й группой риска по IPSS и исходной потребностью в трансфузиях не выше 2 раз в месяц.
- 5. **Целевой уровень гемоглобина.**
 - Целевым уровнем гемоглобина считают 120 г/л. При достижении этого значения снижают дозы ЭСП с целью поддержания данного уровня на фоне минимальной эффективной дозы.
- 6. **Дозы ЭСП и их модификация.**
 - Дарбэпоэтин альфа назначается 1 раз в 3 недели в фиксированной дозе 500 мкг либо расчетной дозе 6,75 мкг/кг массы тела (уровень доказательности А в рекомендациях EORTC 2006). Альтернативно дарбэпоэтин альфа может назначаться 1 раз в неделю в дозе 2,25 мкг/кг массы тела (уровень доказательности А в рекомендациях EORTC 2006).
 - Эритропоэтин альфа и бета назначаются в расчетной дозе 150 ЕД/кг массы тела 3 раза в неделю либо в фиксированной дозе 40 000 ЕД (эритропоэтин альфа) или 30 000 ЕД (эритропоэтин бета) 1 раз в неделю (уровень доказательности В в рекомендациях EORTC 2006).
 - При скорости нарастания гемоглобина, превышающей 10 г/л за 2 нед или 20 г/л за 4 нед, рекомендуется снижение дозы ЭСП в соответствии с инструкциями по медицинскому применению ЭСП, утвержденными Министерством здравоохранения и социального развития РФ. Превы-

шение целевого уровня гемоглобина (120 г/л) не рекомендуется.

7. **Отсутствие ответа на терапию.**

- Отсутствие ответа на терапию определяется как повышение гемоглобина менее чем на 10 г/л за 4—6 нед, а также отсутствие положительной динамики со стороны симптомов анемии, в зависимости от используемого препарата и дозы. Повышение дозы ЭСП следует осуществлять в соответствии с инструкциями по медицинскому применению ЭСП, но после исключения других возможных причин неэффективности, например функционального дефицита железа (насыщение трансферина < 20%). Продолжение терапии более 6—8 нед при отсутствии эффекта, несмотря на повышение дозы, считается нецелесообразным.
- Назначение железа внутривенно значимо увеличивает эффективность ЭСП. Данные, свидетельствующие о повышении эффективности ЭСП при добавлении препаратов железа перорально у онкологических больных, отсутствуют.

8. **Длительность терапии.**

После завершения химиотерапии применение ЭСП целесообразно продолжить в течение времени, эквивалентного 1—2 циклам химиотерапии.

Настоящие рекомендации подготовлены в соответствии с рекомендациями основных профессиональных сообществ США, Европы и Канады и на сегодняшний день представляют собой основные тенденции применения ЭСП в онкологии.

Участники экспертного совещания:

Д.м.н., проф. **Афанасьев Б.В.**¹, к.м.н. **Болотина Л.В.**², к.м.н. **Бредер В.В.**³, д.м.н., проф. **Горбунова В.А.**³, к.м.н. **Жукова Л.Г.**³, к.м.н. **Загоскина Т.П.**⁴, д.м.н., проф. **Константинова М.М.**⁵, д.м.н., проф. **Лазарев А.Ф.**⁶, д.м.н., проф., член-корр. РАН **Личиницер М.Р.**³, к.м.н. **Лисянская А.С.**⁷, д.м.н., проф. **Манихас Г.М.**⁷, д.м.н., проф. **Масчан А.А.**⁸, д.м.н., проф., член-корр. РАМН **Поддубная И.В.**^{3,9}, д.м.н., проф. **Птушкин В.В.**⁸, д.м.н., проф., член-корр. РАМН **Румянцев А.Г.**⁸, д.м.н., проф. **Серяков А.П.**¹⁰, д.м.н., проф., член-корр. РАМН **Савченко В.Г.**¹¹, д.м.н., проф. **Тюляндин С.А.**³, д.м.н., проф. **Хасанов Р.Ш.**¹², к.м.н. **Ширин А.Д.**³

¹Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова; ²Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена Росмедтехнологий; ³Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН; ⁴Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Росмедтехнологий; ⁵Московский областной онкологический диспансер Минздрава Московской области; ⁶Алтайский краевой онкологический диспансер; ⁷Санкт-Петербургское государственное учреждение здравоохранения «Городской Клинический онкологический диспансер»; ⁸Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии; ⁹Российская медицинская академия последипломного образования; ¹⁰Главный военный клинический госпиталь им. академика Н.Н. Бурденко Минобороны России; ¹¹Гематологический научный центр РАМН; ¹²Казанская государственная медицинская академия, Республиканский онкологический диспансер.

Л и т е р а т у р а

1. Ludwig H., Van Bells S., Barret-Lee P. et al The European Cancer Anaemia Survey (ECAS): a large, multinational, prospective survey defining the prevalence, incidence, and treatment of anaemia in cancer patients. Eur J Cancer 2004;40:2293—306.
2. Groopman J.L., Itri L.M. Chemotherapy induced anemia in adults: incidence and treatment. JNCI 1999;91:1616—34.
3. Lefebvre P., Vecerman F., Sarokham B. et al. Relationship between hemoglobin level and quality of life in anemic patients

with chronic kidney disease receiving epoetin. Cur Med Res Opin 2006;22:1929—37.
4. Brizel D.M., Sibley G.S., Prosnitz L.R. et al. Tumor hypoxia adversely affects the prognosis of carcinoma of the head and neck. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1997;38:285—9.
5. Caro J.J., Salas M., Ward A. et al. Anemia as an independent prognostic factor for survival in patients with cancer: a systemic, quantitative review. Cancer 2001;91:2214—21.

6. Dzik W.H. Emily Cooley Lecture 2002: transfusion safety in the hospital. Transfusion 2003;43:1190—9.
7. Blajchman M.A., Vamvakas E.C. The Continuing Risk of Transfusion-Transmitted Infections. NEJM 2006;355:1303—5.
8. Bolhuis J., Wilson J., Seidenfeld J. et al. Recombinant human erythropoietins and cancer patients: updated meta-analysis of 57 studies including 9353 patients. J Natl Cancer Inst 2006;98:708—14. Review

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

Уважаемые коллеги!

При оформлении статей, направляемых в журнал «Онкогематология», следует руководствоваться следующими правилами:

1. Статья должна быть представлена в электронном виде (компакт-диск или дискета) с распечаткой на бумаге формата А4 в двух экземплярах (таблицы, графики, рисунки, подписи к рисункам, список литературы, резюме — на отдельных листах).

Шрифт — Times New Roman, 14 пунктов, через 1,5 интервала. Все страницы должны быть пронумерованы.

Авторы могут присылать свои материалы по электронной почте: avb@avbpress.ru с обязательным указанием названия журнала.

2. На первой странице должно быть указано: название статьи; инициалы и фамилии всех авторов, полное название учреждения (учреждений), в котором (которых) выполнена работа, город.

Обязательно указывается, в каком учреждении работает каждый из авторов.

Статья должна быть подписана всеми авторами. В конце статьи должны быть обязательно указаны контактные телефоны, рабочий адрес с указанием индекса, факс, адрес электронной почты и фамилия, имя, отчество полностью, занимаемая должность, ученая степень, ученое звание автора (авторов), с которыми редакция будет вести переписку.

3. Объем статей: оригинальная статья — не более 12 страниц; описание отдельных наблюдений, заметки из практики — не более 5 страниц; обзор литературы — не более 20 страниц; краткие сообщения и письма в редакцию — 3 страницы.

Структура оригинальной статьи: введение, материалы и методы, результаты исследования и их обсуждение, заключение (выводы).

К статьям должно быть приложено резюме, отражающее содержание работы, на русском языке с названием статьи, фамилией и инициалами авторов, названием учреждения. Объем резюме — не более 1/3 машинописной страницы с указанием ключевых слов.

4. Иллюстративный материал:

- Фотографии должны быть контрастными; рисунки, графики и диаграммы — четкими.

- Фотографии представляются в оригинале или в электронном виде в формате TIFF, JPG, CMYK с разрешением не менее 300 dpi (точек на дюйм).

- Графики, схемы и рисунки должны быть представлены в формате — EPS Adobe Illustrator 7.0 — 10.0

- Все рисунки должны быть пронумерованы и снабжены подрисуночными подписями. Подписи к рисункам даются на отдельном листе. На рисунке указываются: «верх» и «низ»; фрагменты рисунка обозначаются

строчными буквами русского алфавита — «а», «б» и т.д. Все сокращения и обозначения, использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подрисуночной подписи.

- Все таблицы должны быть пронумерованы, иметь название. Все сокращения расшифровываются в примечании к таблице.

- Ссылки на таблицы, рисунки и др. иллюстративные материалы указываются в надлежащих местах по тексту статьи в круглых скобках, а их расположение указывается автором в виде квадрата на полях статьи слева.

5. Единицы измерения даются в системе СИ.

Все сокращения (аббревиатуры) в тексте статьи должны быть полностью расшифрованы при первом употреблении. Использование необщепринятых сокращений не допускается.

Название генов пишется курсивом, название белков — обычным шрифтом.

6. К статье должен быть приложен список цитируемой литературы, оформленный следующим образом:

- Список литературы приводится в порядке цитирования. Все источники должны быть пронумерованы, а их нумерация — строго соответствовать нумерации в тексте статьи. Ссылки на неопубликованные работы не допускаются.

- для каждого источника необходимо указать: фамилии и инициалы авторов (если авторов более 4-х — указываются первые три автора, затем ставится «и др.» в русском или «et al.» в английском тексте).

- При ссылке на статьи из журналов указывают также название статьи; название журнала; год; том; номер выпуска; страницы.

- При ссылке на монографии указывают также полное название книги, место издания, названия издательства, год издания.

- При ссылке на авторефераты диссертаций указывают также полное название работы, докторская или кандидатская, год и место издания.

- При ссылке на данные, полученные из Internet, указывают электронный адрес цитируемого источника.

- Все ссылки на литературные источники печатаются арабскими цифрами в квадратных скобках (например, [5]).

- Количество цитируемых работ:

7. Представление в редакцию ранее опубликованных статей не допускается.

Статьи, не соответствующие данным требованиям, к рассмотрению не принимаются.

Все поступающие статьи рецензируются.

Присланные материалы обратно не возвращаются.

Редакция оставляет за собой право на редактирование статей, представленных к публикации.