

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

**Острый промиелоцитарный лейкоз:
проблемы и решения**

**Терапия системной анапластической
крупноклеточной лимфомы у взрослых**

**Мобилизация и сбор аутологичных
клеток-предшественников гемопоэза:
современные подходы**

**Периферическая нейропатия
у больных множественной миеломой**

**10-я Международная конференция
по злокачественным лимфомам**

3

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. Рукавицын (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.А. 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. Aleynikova (Minsk)

A.K. Golenkov (Moscow)

A.I. Karachunskiy (Moscow)

Ye.N. 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.A. Rossiye (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, «АБВ-пресс»
тел./факс: 8(499) 929-96-19

e-mail: abv@abvpress.ru
www.abvgrp.ru

Заведующая редакцией Е.В. Колесникова
Редактор Н.В. Черножукова
Корректор А.Ф. Матвейчук
Дизайн и верстка А.В. Амаспюр
Служба подписки и распространения
С.А. Горбунова — abv@abvpress.ru

Журнал зарегистрирован в Федеральной
службе по надзору за соблюдением
законодательства в сфере массовых
коммуникаций и охране культурного
наследия 28 марта 2008 г.
ПИ № ФС77-31606

При перепечатке материалов ссылка
на журнал «Онкогематология» обязательна

Редакция не несет ответственность
за содержание рекламных материалов.
В статьях представлена точка зрения
авторов, которая может не совпадать
с мнением редакции журнала

ISSN 1818-8346

Онкогематология. 2008. № 3. 1—88
© ООО «АБВ-пресс», 2008

Подписной индекс в каталоге
«Почта России» — 12313
«Пресса России» — 42167

Отпечатано в типографии
ЗАО «Д-графикс»

Тираж 1500 экз.



2008

ЮБИЛЕЙ	5
ЛЕЧЕНИЕ ГЕМОБЛАСТОЗОВ	
<i>Редакционный комментарий</i>	
Острый промиелоцитарный лейкоз: новые проблемы и возможные решения	6
<i>Е.В. Самочатова, Д.Д. Байдильдина, М.А. Масчан, Н.Н. Савва, О.П. Хлебникова, А.В. Шамардина, Ю.Е. Марейко, Г.А. Цаур, Т.О. Ригер, М.М. Шнейдер, Ю.В. Румянцева, Т.В. Наседкина, Т.В. Савицкая, А.А. Масчан</i>	
Эффективность терапии острого промиелоцитарного лейкоза у детей с использованием полностью трансретиноевой кислоты, цитозин-арабинозида и сниженных доз антрациклинов	8
<i>А.А. Семенова, Н.А. Пробатова, Е.Н. Сорокин, О.Л. Тимофеева, И.В. Поддубная</i>	
Факторы прогноза и результаты терапии первичной системной анапластической крупноклеточной лимфомы	18
<i>М.Ю. Горошкова, Ю.В. Румянцева, О.В. Алейникова, С.А. Дудкин, Л.Г. Фечина, А.В. Шамардина, О.В. Стренева, К.Л. Кондратчик, Л.М. Минкина, Е.С. Лапотентова, Е.В. Инюшкина, О.Б. Козлова, Е.В. Жуковская, О.П. Хлебникова, Е.В. Башарова, В.Н. Тимофеева, Г.П. Павлова, В.Д. Злобина, О.А. Утробина, Е.С. Банищикова, К.С. Асланян, Е.В. Кондакова, Е.В. Целоусова, Н.В. Мякова, Т.В. Турובה, О.В. Рыскаль, О.Ю. Фукс, Н.Ф. Чипсанова, В.В. Лебедев, С.Р. Варфоломеева, А.И. Карачунский</i>	
Оптимизация терапии нативной E. coli-аспарагиназой в протоколе ALL-MB 2002 у детей с острым лимфобластным лейкозом стандартной группы риска	25
ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК	
<i>А.Ю. Попов, Н.В. Жуков, С.В. Миненко, Л.Ю. Андреева, В.В. Птушкин</i>	
Факторы прогноза эффективности получения аутологичных клеток-предшественников гемопоэза для последующей трансплантации после высокодозной химиотерапии. Обзор литературы и собственные данные	34
<i>И.А. Корсунский, А.Г. Румянцев, С.Н. Быковская</i>	
Роль регуляторных Т-клеток CD4+CD25+ и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в подавлении реакции трансплантат против хозяина	45
СОПРОВОДИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ	
<i>С.С. Бессмельцев, Е.В. Карягина, Л.В. Стельмашенко, Н.В. Степанова, Е.Р. Мачюлайтене, Г.Н. Салозуб, И.А. Скороход, Н.В. Медведева, Э.И. Подольцева, Л.М. Матюхина, А.С. Низамутдинова, К.М. Абдулкадыров</i>	
Частота, характеристика и методы лечения периферической нейропатии у больных множественной миеломой, получающих бортезомиб (велкейд)	52
<i>Д.Л. Строяковский, И.В. Профатило, Г.Б. Стрельникова, Р.Г. Кулиев, Е.М. Ливанцова</i>	
Результаты проспективного клинического исследования эффективности и безопасности программ дозоинтенсивной химиотерапии злокачественных новообразований	63
<i>Н.В. Жуков</i>	
Подходы к лечению анемии у больных злокачественными новообразованиями. Изменения в российской и международной практике за 2007—2008 гг.	69
КОНФЕРЕНЦИИ, СИМПОЗИУМЫ, СОВЕЩАНИЯ	
10-я Международная конференция по злокачественным лимфомам 4—7 июня 2008 г., Лугано, Швейцария	77
<i>Ю.А. Криволапов</i>	
Hiatus lymphomiticus, или как велика может быть «серая зона»?	77
<i>Е.А. Никитин</i>	
Обзор работ, посвященных В-клеточному хроническому лимфолейкозу, представленных на конференции в Лугано	80
АНОНС	86
НЕКРОЛОГ	87

CONTENTS

ANNIVERSARY	5
TREATMENT OF HEMATOBLASTOSES	
<i>Editorial comment</i>	
Acute promyelocytic leukemia: new problems and possible decisions	6
<i>E.V. Samochatova, D.D. Baidildina, M.A. Maschan, N.N. Savva, O.P. Khlebnikova, A.V. Shamardina, Yu.E. Mareiko, G.A. Tsauro, T.O. Riger, M.M. Shneider, Yu.V. Rummyantseva, T.V. Nasedkina, T.V. Savitskaya, A.A. Maschan</i>	
Efficiency of therapy for acute promyelocytic leukemia in children, by using all-trans retinoic acid, cytosine arabinoside, and smaller-dose anthracyclines	8
<i>A.A. Semenova, N.A. Probatova, E.N. Sorokin, O.L. Timofeeva, I.V. Poddubnaya</i>	
Prognostic factors of primary systemic anaplastic large-cell lymphoma and results of its therapy	18
<i>M.Yu. Goroshkova, Yu.V. Rummyantseva, O.V. Aleinikova, S.A. Dudkin, L.G. Fechina, A.V. Shamardina, O.V. Strenева, K.L. Kondratchik, L.M. Minkina, E.S. Lapotentova, E.V. Inyushkina, O.B. Kozlova, E.V. Zhukovskaya, O.P. Khlebnikova, E.V. Basharova, V.N. Timofeeva, G.P. Pavlova, V.D. Zlobina, O.A. Utrobina, E.S. Banskchikova, K.S. Aslanyan, E.V. Kondakova, E.V. Tselousova, N.V. Myakova, T.V. Turobova, O.V. Ryskal, O.Yu. Fuks, N.F. Chipsanova, V.V. Lebedev, S.R. Varfolomeeva, A.I. Karachunsky</i>	
Optimization of native E. coli-asparaginase therapy in standard risk-group children with acute lymphoblastic leukemia treated by the ALL-MB 2002 protocol	25
HEMOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION	
<i>A.Yu. Popov, N.N. Zhukov, S.V. Minenko, L.Yu. Andreyeva, V.V. Ptushkin</i>	
Prognostic factors of the efficiency of obtaining the autologous precursor cells of hemopoiesis for further transplantation after large-dose chemotherapy: review of literature and the authors' data	34
<i>I.A. Korsunsky, A.G. Rummyantsev, S.N. Bykovskaya</i>	
Role of the regulatory T cells CD4+CD25+ and mesenchymal marrow stem cells in suppressing a graft versus host reaction	45
CONCURRENT THERAPY	
<i>S.S. Bessmeltsev, E.V. Karyagina, L.V. Stelmashenko, N.V. Stepanova, E.R. Machulaitene, G.N. Salogub, I.A. Skorokhod, N.V. Medvedeva, E.I. Podoltseva, L.M. Matyukhina, A.S. Nizamutdinova, K.M. Abdulkadyrov</i>	
Incidence, characteristics, and treatments of peripheral neuropathy in multiple myeloma patients receiving bortezomib (velcade)	52
<i>D.L. Stroyakovsky, I.V. Profatilo, G.B. Strelnikova, R.G. Kuliyeв, E.M. Livantsova</i>	
Results of a prospective clinical study of the efficiency and safety of intensive-dose chemotherapy programs for malignancies	63
<i>N.V. Zhukov</i>	
Approaches to treating anemia in patients with malignancies. The 2007—2008 changes in Russian and International practice	69
CONFERENCES, SYMPOSIA, MEETINGS	
10th International Conference on Malignant Lymphomas, June 4—7, 2008, Lugano, Switzerland	77
<i>Yu.A. Krivolapov</i>	
Hiatus lymphomicus, or how great may «the gray zone» be?	77
<i>E.A. Nikitin</i>	
Review of the papers on B-cell chronic lymphatic leukemia, presented at the Lugano Conference	80
ANNOUNCEMENT	86
OBITUARY	87

80 лет Андрею Ивановичу ВОРОБЬЕВУ

Андрей Иванович Воробьев родился 1 ноября 1928 г. в Москве. Его отец Иван Иванович Воробьев был доцентом кафедры физиологии Московского государственного университета. Родители Андрея Ивановича стали жертвами сталинских репрессий: отец был расстрелян в 1936 г., а мать сослана в лагерь на 18 лет. Детство было трудным. Решив продолжить дело отца, А.И. Воробьев поступил в 1947 г. в I Московский медицинский институт, ставший настоящей школой для будущего врача-терапевта. После окончания института в 1953 г. А.И. Воробьев работал в больнице Волоколамска. Здесь ему пришлось быть терапевтом, микрopedиатром, ассистентом хирурга, патологоанатомом, главным врачом поликлиники. Это были годы самостоятельной работы, столь важные для каждого практического врача. В 1956 г. А.И. Воробьев поступил в ординатуру на кафедру терапии Центрального института усовершенствования врачей под руководством крупнейшего советского терапевта

акад. И.А. Кассирского. Дальнейшее формирование А.И. Воробьева как врача-терапевта и врача-гематолога происходило под влиянием этого выдающегося человека, учителя с большой буквы. В период с 1966 по 1973 г. А.И. Воробьев руководил клиникой Института биофизики Минздрава СССР. Он возглавил серию новых для науки и практики работ по изучению цитостатических миелодепрессий, аварийных облучений персонала, сформулировал систему биологической дозиметрии. После смерти И.А. Кассирского, продолжая и развивая его дело, А.И. Воробьев возглавил в 1972 г. кафедру гематологии и интенсивной терапии, которой он руководит до настоящего времени. Его блестящие лекции всегда интересны, в них затрагиваются актуальные проблемы гематологии и внутренней медицины. А.И. Воробьев был одним из инициаторов организации (1972) и проведения ежегодных декадников памяти И.А. Кассирского «Новое в гематологии и трансфузиологии».

Научная деятельность и круг интересов А.И. Воробьева многогранны и разнообразны. Не только в нашей стране, но и за рубежом известны его многочисленные работы по кинетике эритроцитов, доказавшие существование в организме человека резервной популяции эритроцитов, появляющейся при повышенной потребности в кислороде; оригинальная теория смены клеточных пластов (1958—1960); работы, посвященные изучению структуры эритроцитов при гемолитических анемиях, ставшие основой кандидатской диссертации А.И. Воробьева (1963), а также исследования по разработке клоновой теории происхождения опухолевых заболеваний крови, которые привели к созданию современной теории опухолевой прогрессии и были обобщены А.И. Воробьевым в докторской диссертации «Опухолевая прогрессия и некоторые вопросы патогенеза лейкозов» (1968); работы по культивированию клеток костного мозга, позволившие А.И. Воробьеву и И.Л. Черткову предложить принципиально новую схему кроветворения (1973); многочисленные исследования, послужившие основой для модификации новой схемы кроветворения (1981, 1995); работы по фундаментальным и прикладным направлениям в области трансфузиологии; разработка и внедрение в практику новых технологий получения компонентов и препаратов крови (начиная с 1987 г.).

Одним из важных научных и практических направлений, всегда вызывавших интерес А.И. Воробьева, являлась радиационная медицина. Вклад А.И. Воробьева в ее развитие невозможно переоценить. Выяснив, что в основе патогенеза острой лучевой болезни лежит поражение кроветворения, А.И. Воробьев успешно развивает принципиально новые для того времени положения: формулируется понятие «доза—эффект», разрабатывается метод биологической дозиметрии, определяется тактика лечения проявлений и осложнений этой болезни. Этот бесценный опыт был использован при оказании помощи пострадавшим в результате аварии на Чернобыльской АЭС в 1986 г.

Научную и практическую работу А.И. Воробьев успешно сочетал с общественной и государственной деятельностью: в 1987—1992 гг. он был избран народным депутатом, а в 1991—1992 гг. назначен министром здравоохранения РФ.

А.И. Воробьев провел большую организационную работу по созданию Гематологического научного центра РАМН, возглавленного им в 1987 г. и являющегося сегодня ведущей клиникой страны по проблемам не только гематологии, но и интенсивной терапии критических состояний.

Научная и врачебная деятельность А.И. Воробьева высоко оценена: в 1986 г. он избран действительным членом Академии медицинских наук СССР, а в 2000 г. — действительным членом Российской академии наук, в 1987 г. ему присвоено звание лауреата Государственной премии СССР за цикл работ «Новые методы диагностики и интенсивной терапии заболеваний системы крови». За вклад в ликвидацию последствий аварии на Чернобыльской АЭС А.И. Воробьев был награжден орденом Ленина.

А.И. Воробьев — автор более 320 научных работ, статей, монографий. Вышедшее под его редакцией «Руководство по гематологии» выдержало три издания (1979, 1985, 2003) и служит настольной книгой гематологов России.

А.И. Воробьев является директором Гематологического научного центра РАМН, заведующим кафедрой интенсивной терапии РМАПО, председателем Межведомственного научного совета по гематологии и трансфузиологии, главным гематологом Минздрава РФ, главным терапевтом Медицинского центра Управления делами Президента РФ, председателем Московского городского научного общества терапевтов, главным редактором журнала «Гематология и трансфузиология», членом редакционных коллегий журналов «Терапевтический архив», «Проблемы гематологии и переливания крови», а также нескольких зарубежных журналов.

Сотрудники, редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Онкогематология» сердечно поздравляют Андрея Ивановича с юбилеем и желают ему крепкого здоровья и дальнейших творческих успехов.

ОСТРЫЙ ПРОМИЕЛОЦИТАРНЫЙ ЛЕЙКОЗ: НОВЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ВОЗМОЖНЫЕ РЕШЕНИЯ

Редакционный комментарий

История лечения острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ) является одной из самых ярких и поучительных страниц в гематологии за последние 20 лет. На примере ОПЛ можно с удивлением проследить, как одна из самых тяжелых форм лейкемии, грозящая летальным исходом буквально в течение первых суток после начала терапии, стала одной из самых (если не самой) излечимых злокачественных опухолей. В этом превращении есть заслуга и усовершенствования прикладных медицинских технологий, в частности, качественной трансфузионной поддержки, и «чистой» науки, благодаря которой была показана способность лейкемических клеток при ОПЛ подвергаться терминальной дифференцировке под воздействием многих агентов, особенно ретиноидов, и простого счастливого стечения обстоятельств, когда пионеры метода с успехом применили у пациентов с ОПЛ полностью трансретиноевую кислоту (all-trans retinoic acid — ATRA) — ретиноид, просто имевшийся в наличии, а не тот, который показал эффективность в эксперименте.

Собственно, именно применение ATRA и является тем главным революционным событием, не только в корне изменившим прогноз пациентов с ОПЛ, но и позволившим сделать прорыв как в фундаментальной биологии ОПЛ, так и в области диагностики и мониторинга ответа заболевания на терапию.

В эпоху ATRA одним из ключевых вопросов в лечении ОПЛ, вокруг которого ведется множество споров, является необходимый объем и интенсивность химиотерапии, в частности, оптимальная кумулятивная доза антрациклинов. До внедрения ATRA в протоколы лечения ОПЛ считалось, что высокие дозы антрациклинов абсолютно необходимы для излечения, и больные зачастую получали дозы антрациклинов, существенно превышавшие пороговые кардиотоксичные дозы. Парадоксально, что *idée fixe* о критическом значении высоких доз антрациклинов при ОПЛ основана на одном единственном ретроспективном анализе результатов протоколов 25-летней давности, показавшем преимущество в выживаемости больных, получивших в индукционном курсе «7+3» дозу даунорубина выше или равную 180 мг/м² по сравнению с пациентами, получившими дозу 135 мг/м². Понятно, что, по современным представлениям, такие доказательства всерьез принимать невозможно. Тем не менее многие группы (итальянский протокол AIDA, испанский PETHEMA и группа госпиталя MD Anderson) весьма усердно занимались эскалацией доз антрациклинов вплоть до суммарной дозы 650—815 мг/м². Более того, появились апологеты лечения ОПЛ только комбинацией ATRA и антрациклинов, без цитозин-арабинозида и поддерживающей терапии. Между тем современные инструменты диагностики, мониторинга и лечения ОПЛ позволяют двигаться по направлению гармонизации терапии и снижения ее токсичности. По всей вероятности, именно ОПЛ является первой формой лейкемии, которую можно полностью вылечить вовсе без применения препаратов с цитотоксическим действием.

В этом отношении работа, представленная Е.В. Самочатовой и соавт., представляет несомненный интерес. На основании хороших результатов предыдущих протоколов, которые практически повторяли европейский протокол

APL-93, и при наличии инструмента молекулярного мониторинга авторы предложили протокол лечения ОПЛ у детей с использованием сниженных кумулятивных доз антрациклинов и разовых доз ATRA, применение которого не привело к различиям в вероятности развития рецидивов независимо от того, к группе высокого или низкого риска относились пациенты на момент установления диагноза. Кроме того, авторы подтвердили положение о том, что вне зависимости от дозы антрациклинов выявление транскрипта *PML/RARα* после проведения интенсивной части протокола является высокоточным фактором прогноза в отношении рецидива.

Пациентам очень высокого риска необходимо своевременно определить тактику усиления терапии. Авторы предлагают использовать в этой ситуации триоксид мышьяка — препарат с высокой эффективностью при рецидиве ОПЛ, однако, к сожалению, фармакологические препараты этого простейшего соединения, имеющиеся во многих странах, включая Китай и Индию, в России недоступны — не производятся и не закупаются. Учитывая сложности с использованием соединений мышьяка, решение о тактике лечения пациентов с молекулярной резистентностью должно приниматься участниками многоцентрового протокола коллегиально: можно рассматривать продолжение стандартной «поддержки» (что спорно) с частым контролем «поведения» транскрипта *PML/RARα*, сочетание ATRA и/или полихимиотерапии, использование гемтузумаба озогамицина, различные варианты трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Оценка эффективности всех лечебных мероприятий должна строиться на основании достижения или недостижения молекулярной ремиссии.

Значимость молекулярно-генетического анализа выявления транскрипта *PML/RARα* для диагностики и тактики терапии ОПЛ делает его необходимым для всех клиник, где лечат больных лейкозами. Эта методика проводится для детских клиник России в лабораториях ИМБ им. В.А. Энгельгардта в Москве, в Центре детской онкологии ОДБ в Екатеринбурге, в Санкт-Петербурге, в НПЦ детской онкологии/гематологии в Минске. При этом в разных лабораториях используют различные методики определения транскрипта с чувствительностью от 10⁻⁴ до 10⁻⁶, что не имеет значения для подтверждения диагноза, однако критически важно при определении молекулярной резистентности и мониторинге в состоянии ремиссии. Это не только затрудняет корректный анализ результатов, но и может приводить к ошибочным терапевтическим решениям. Возможно, слишком высокая чувствительность метода в некоторых лабораториях является причиной неожиданного выявления транскрипта у 13 больных в состоянии ремиссии, не повлекшего за собой рецидива на протяжении более 5 лет без какой-либо дополнительной терапии. Вопрос о стандартизации молекулярно-генетических методов, которые используются для решения вопросов диагностики, должен стать предметом делового обсуждения специалистов в этой области.

Еще одной проблемой, которую нужно решать как можно быстрее, является необходимость улучшения помощи больным ОПЛ с высоким лейкоцитозом и купирование геморрагических осложнений.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ ОСТРОГО ПРОМИЕЛОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛНОСТЬЮ ТРАНСРЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ, ЦИТОЗИН-АРАБИНОЗИДА И СНИЖЕННЫХ ДОЗ АНТРАЦИКЛИНОВ

Е.В. Самочатова¹, Д.Д. Байдильдина^{1,2}, М.А. Масчан^{1,2}, Н.Н. Савва³, О.П. Хлебникова⁴, А.В. Шамардина⁵, Ю.Е. Марейко³, Г.А. Цаур^{4,6}, Т.О. Ригер^{4,6}, М.М. Шнейдер¹, Ю.В. Румянцева¹, Т.В. Наседкина⁷, Т.В. Савицкая³, А.А. Масчан^{1,2}

¹ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии/онкологии и иммунологии; ²Российская детская клиническая больница, Москва; ³Республиканский научно-практический центр детской гематологии/онкологии, Минск, Республика Беларусь; ⁴Областная детская клиническая больница, отдел гематологии/онкологии, Екатеринбург; ⁵Областная детская клиническая больница, Нижний Новгород; ⁶ГУЗ СО Центр специализированных видов медицинской помощи «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург; ⁷НИИ молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, лаборатория биочипов, Москва

Использование полностью трансретиноевой кислоты (*all-trans retinoic acid* — ATRA) резко улучшило результаты терапии острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ). Высокая эффективность российского протокола ОПЛ-93—98 у 62 детей и подростков с ОПЛ (бессобытийная — БСВ и общая — ОВ выживаемость составили $84 \pm 5\%$ при частоте рецидивов 7%) была достигнута за счет применения высоких суммарных доз даунорубицина (495 мг/м^2) и разовых доз ATRA (45 мг/м^2). В связи с этим в протоколе ОПЛ-2003 сделана попытка уменьшить как острую, так и долгосрочную токсичность терапии за счет снижения суммарной дозы даунорубицина до 405 мг/м^2 и разовой дозы ATRA до 25 мг/м^2 при регулярном контроле минимальной резидуальной болезни с помощью молекулярного мониторинга специфического транскрипта PML/RAR α . Анализ результатов лечения 61 больного (возраст от 1,3 года до 17 лет; медиана — 11,3 года) показал, что, несмотря на уменьшение интенсивности протокола, эффективность терапии в целом не снизилась — БСВ и ОВ составили 79 ± 6 и $93 \pm 3\%$ соответственно. Достоверное влияние на прогноз вероятности развития рецидива имеет молекулярная резистентность, т.е. сохранение транскрипта PML/RAR α перед фазой поддерживающей терапии: вероятность рецидивирования в этой группе составляет 57%, тогда как различий по всем показателям эффективности между больными в зависимости от инициального лейкоцитоза нет. Всем 6 пациентам с рецидивами на протоколе ОПЛ-2003 проведена терапия триоксидом мышьяка и у всех получена не только клинико-гематологическая, но и молекулярная ремиссия, после достижения которой им были назначены миелоаблятивная терапия и аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. Вторая ремиссия продолжается от 3 до 24 мес. Таким образом, снижение суммарной дозы антрациклинов и уменьшение дозы ATRA не ухудшили результатов терапии ОПЛ. Мониторинг минимальной резидуальной болезни перед началом поддерживающей терапии и в процессе ее проведения — обязательный компонент успешного лечения пациентов с ОПЛ. Триоксид мышьяка является эффективным препаратом для лечения рецидивов ОПЛ.

Ключевые слова: острый промиелоцитарный лейкоз, дети и подростки, рецидив, молекулярный мониторинг

EFFICIENCY OF THERAPY FOR ACUTE PROMYELOCYTIC LEUKEMIA IN CHILDREN, BY USING ALL-TRANS RETINOIC ACID, ARA-C AND LOWER DOSES OF ANTHRACYCLINES

E.V. Samochatova¹, D.D. Baidildina^{1,2}, M.A. Maschan^{1,2}, N.N. Savva³, O.P. Khlebnikova⁴, A.V. Shamardina⁵, Yu.E. Mareiko³, G.A. Tsaur^{4,6}, T.O. Riger^{4,6}, M.M. Shneider¹, Yu.V. Rumyantseva¹, T.V. Nasedkina⁷, T.V. Savitskaya³, A.A. Maschan^{1,2}

¹Federal Research Clinical Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow; ²Russian Children's Hospital, Moscow; ³Republican Centre for Pediatric Oncology and Hematology, Minsk, Republic of Belarus; ⁴Unit of Hematology and Oncology, Regional Children's Hospital, Yekaterinburg; ⁵Regional Children's Hospital, Nizhni Novgorod; ⁶Center of Specialized Health Care «Institute of Medical Cellular Technologies», Yekaterinburg; ⁷Laboratory of Biochips, V.A. Engelgardt Research Institute of Molecular Biology, Moscow

The use of *all-trans retinoic acid* (ATRA) drastically improved the results of therapy for acute promyelocytic leukemia (APL). The high efficiency of the Russian protocol APL-93—98 applied to 62 children and adolescents with APL (event-free and overall survival (EFS and OS) were $84 \pm 5\%$ respectively with a relapse rate of 7%) was achieved, by administering the high cumulative dose of daunorubicin (495 mg/m^2) and single doses of ATRA (45 mg/m^2). In this connection, the APL-2003 protocol attempted to reduce both acute and chronic toxicity of the therapy, by decreasing the cumulative dose of daunorubicin to 405 mg/m^2 and the single dose of ATRA to 25 mg/m^2 under regular control of minimal residual disease via molecular monitoring of the specific transcript PML/RAR α . Analysis of the results of treatment in 61 patients aged 1.3 to 17 years (median 11.3) showed that despite of the reduced protocol intensity, the efficiency of therapy did not generally reduce — EFS and OS were 79 ± 6 and $93 \pm 3\%$, respectively. The likelihood of the development of a relapse was significantly affected by molecular resistance, i.e. the retention of the transcript PML/RAR α before a phase of maintenance therapy: the recurrence risk in this group was 57% whereas there were no differences in all cure rates between the patients depending on baseline leukocytosis. All 6 patients with relapses were treated with arsenic trioxide, resulting in not only clinical and hematological, but also molecular remissions; thereafter the patients received myeloablative therapy and autologous hemopoietic stem cell transplantation. The second remission lasted 3 to 24 months. Thus, reducing the cumulative dose of anthracyclines and the dose of ATRA did not make the results of the therapy for APL worse. The monitoring of minimal residual disease before and during maintenance therapy is a mandatory component of successful treatment in APL patients. Arsenic trioxide is an effective agent for the treatment of APL relapses.

Key words: acute promyelocytic leukemia, children, adolescents, recurrence, molecular monitoring

Одним из самых значимых событий в онкогематологии явилось открытие в конце XX в. возможности получения полной клинико-гематологической ремиссии у больных промиелоцитарным лейкозом (вариант М3 острого миелолейкоза — ОМЛ по Франко-Американо-Британской — ФАБ классификации) при использовании препарата с нецитотоксическим действием полностью трансретиноевой кислоты (all-trans retinoic acid — ATRA). Во многом благодаря эмпирическим успехам в лечении были расшифрованы патогенетические звенья развития заболевания и механизмы терапевтического действия ретиноидов на молекулярно-генетическом уровне [1, 2]. Проблема раннего выявления и лечения рецидивов острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ) стала особенно актуальной только в последнее десятилетие, когда начало выздоравливать подавляющее большинство больных этим вариантом ОМЛ и стали очевидными особенности рецидивов ОПЛ на фоне комбинированной терапии ATRA и применения химиопрепаратов — их поздний характер и чувствительность к ATRA. Ранее, как и при рецидивах любых других форм ОМЛ, больные имели минимум шансов на успешное лечение. Открытие специфической хромосомной транслокации, расшифровка тонких молекулярных механизмов патогенеза ОПЛ и экстраординарная эффективность геннонаправленной дифференцировочной терапии поставили целый ряд задач, без решения которых дальнейший прогресс в лечении ОПЛ невозможен. Главными среди этих проблем, общих для заболеваний с уникальными молекулярными характеристиками, для которых существует таргетная терапия (например, хронический миелолейкоз — ХМЛ и иматиниб), являются изменения смысла, вкладываемого в понятия ремиссии, рефрактерности, рецидива и минимальной резидуальной болезни (МРБ) [3]. Соответственно, появилась необходимость переоценки значения традиционных факторов риска, а мониторинг МРБ и молекулярного рецидива (МР) быстро занял одно из центральных мест в оценке эффективности противолейкемической терапии.

До «эры ATRA» выживаемость взрослых больных ОПЛ, получавших лечение, не отличавшееся от терапии других форм ОМЛ, составляла 45—50% (данные группы БФМ, протокол AML 86) [4]. Исследование целесообразности включения ATRA в терапию ОПЛ, проведенное в 1991—1993 гг. Европейской группой (Франция, Бельгия, Швейцария, протокол APL 91), показало убедительное преимущество сочетанного применения цитостатической терапии (цитозин-арабинозид — АгаС и даунорубин «7+3») и ATRA: долгосрочная выживаемость составила 62% против 17% в группе пациентов, получавших только химиотерапию (ХТ) без ATRA, при кумулятивном риске развития рецидива (cumulative incidence of relapse — CIR) 32% против 78% [5]. В последующие 10 лет исследования, предпринятые несколькими кооперативными группами, позволили настолько оптимизировать принципы комбинированной терапии, что результаты долгосрочной выживаемости достигли 80—90%, а CIR снизился до 4—18% [6]. На основании простейших показателей инициальной гемограммы — лейкоцитоза и тромбоцитоза — были выделены группы прогностического риска. Позднее оказалось, что для прогноза риска рецидива

вирования при ОПЛ первостепенное значение имеет контроль состояния ремиссии в процессе терапии на молекулярно-генетическом уровне при определении специфического для лейкемических клеток транскрипта *PML/RAR α* [7].

При выполнении протоколов лечения ОПЛ с ATRA, состоящих из курса индукции ремиссии и нескольких курсов консолидации, всегда включающих антрациклины (даунорубин, митоксантрон или идарубин) \pm АгаС (в некоторых протоколах в высоких дозах) в комплексе с продолжительным приемом ATRA, гематологическая, равно как и полная цитогенетическая ремиссия, констатируются уже после индукции практически у 100% больных. В то же время молекулярно-генетическая ремиссия (т.е. отсутствие транскрипта *PML/RAR α*) регистрируется у половины пациентов после 1-го курса консолидации, а у остальных — только после 2-го курса постремиссионной терапии [8]. Показано, что персистенция транскрипта после 3-го курса терапии с ATRA и ХТ с применением антрациклинов в высокой суммарной дозе (495—650 мг/м² в пересчете на даунорубин), т.е. через 75—90 дней от начала терапии, позволяет прогнозировать риск рецидива у взрослых больных ОПЛ с вероятностью 60—80% независимо от того, к какой группе риска пациент был отнесен в дебюте заболевания [9]. Соответственно, тактика дальнейшего лечения и наблюдения больного должна планироваться в зависимости от показателя МРБ в данной точке протокола.

Благодаря регулярному молекулярно-генетическому контролю в процессе длительного наблюдения больных ОПЛ в ремиссии после терапии с ATRA было открыто явление МР. В подавляющем большинстве случаев при как минимум двукратном обнаружении специфического транскрипта при исследовании костного мозга (КМ) больного ОПЛ, до этого находившегося в молекулярной ремиссии, через 1—4 мес развивается гематологический рецидив. Исследования с историческим контролем показывают, что лечение МР дает лучшие результаты, чем терапия развернутого гематологического рецидива не в последнюю очередь потому, что пациент с МР находится в хорошем соматическом состоянии, без коагулопатии, инфекций и т.д. [10]. Рекомендации по срокам проведения контрольных анализов для выявления транскрипта *PML/RAR α* в КМ в ремиссии и длительности наблюдения больных ОПЛ после завершения терапии разноречивы и в качестве методических рекомендаций не сформулированы. Также не существует и однозначных научно обоснованных рекомендаций по терапии МР, равно как абсолютно неизвестно, должны ли кардинально различаться интенсивность и объем терапии МР и гематологического рецидива ОПЛ. Особенностью рецидивов ОПЛ при современной терапии являются поздние сроки их развития. Если раньше, как и другие рецидивы ОМЛ, они развивались в течение 1-го года ремиссии, то теперь это, как правило, конец 2-го года и позже, после отмены поддерживающего лечения; до 10% рецидивов регистрируются более чем через 2 года (до 10 лет) после констатации ремиссии [11]. Нередки экстрамедуллярные локализации рецидива с поражением центральной нервной системы, кожи и подкожной клетчатки, чего почти никогда не случалось при терапии без ATRA.

Представленные данные касаются взрослых пациентов. Тактика терапии ОПЛ, включая рецидивы, у детей и подростков не получила пока должного освещения.

Многоцентровое исследование эффективности и токсичности протокола терапии ОПЛ у детей и подростков с включением АТРА с проспективной оценкой результатов проводится в России и Беларуси в течение более 14 лет [12]. В данной публикации представлены результаты протоколов ОПЛ-93—98 и ОПЛ-2003 для детей и подростков с акцентом на анализ частоты, тактики и результатов лечения рецидивов ОПЛ с учетом факторов риска.

Материалы и методы

Впервые протокол для лечения детей и подростков с ОПЛ на основе Европейских протоколов APL 91 и APL 93 был разработан в НИИ детской гематологии МЗ РФ в 1993 г. [13]; в 1998 г. протокол модифицирован посредством добавления курсов АТРА в поддерживающую терапию. Дозы, режим введения препаратов и результаты терапии не отличались в версиях ОПЛ-93 и 98, что позволило объединить их результаты (протокол ОПЛ-93—98) [14]. АТРА (Весаноид, «Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд.») в дозе 45 мг/м² больные начинали принимать немедленно по установлении диагноза до достижения полной продолжительной ремиссии (ППР). Первый курс постремиссионной ХТ «7+3» проводился без АТРА, а курс интенсификации (АгаС в дозе 1 г/м² и даунорубицин) сочетался с 2-недельным приемом АТРА. Курсы АТРА в дозе 25 мг/м²/сут длительностью 2 нед проводились каждые 3 мес на первом году поддерживающей терапии 6-меркаптопурином (6-МП) и метотрексатом (версия ОПЛ-98). Суммарная доза даунорубицина составляла 495 мг/м² [12, 13]. В целях уменьшения токсичности терапии при сохранении высокой эффективности для лечения детей и подростков был предложен протокол ОПЛ-2003, где использовались основные элементы предшествующего протокола — общее построение, число и состав курсов ХТ. Принципиальным было снижение суммарной дозы даунорубицина до 405 мг/м² за счет уменьшения разовой дозы в курсах консолидации и интенсификации до 45 и 30 мг/м² соответственно при неизменной дозе 60 мг/м² в индукции. Дозировка

АТРА во всех курсах была также уменьшена до 25 мг/м²/сут [13,14]. Стержнем исследования был мониторинг МРБ, осуществляющийся с помощью молекулярного транскрипта *PML/RARα* в КМ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) как во время проведения интенсивной фазы протокола, так и в ходе поддерживающей терапии [15].

Оба протокола выполнялись больным с диагнозом ОПЛ в рамках многоцентрового проспективного исследования в детских специализированных клиниках гематологии/онкологии России и Республики Беларусь (прил. 1) в период с декабря 1994 г. по декабрь 2007 г. Всего зарегистрировано более 130 пациентов, из анализа исключены 13 случаев вследствие ошибки в диагнозе, несоответствия определениям протокола и нарушений его проведения, не обусловленных медицинскими показаниями. В протокол ОПЛ-93—98 вошли 66 больных, в анализ включены 62; в протокол ОПЛ-2003 — 70 и 61 соответственно. Анализ результатов обоих исследований сделан по данным, полученным на 01.09.2008 г.

Диагностика заболевания включала морфоцитохимическую оценку клеток КМ согласно критериям ФАБ-классификации [1] и подтверждение диагноза при демонстрации транслокации t(15;17) при стандартном кариотипировании и/или обнаружении РНК *PML/RARα* методом гнездовой ПЦР с обратной транскрипцией (ОТПЦР) [16]. Лаборатории, где проводились диагностические исследования, указаны в прил. 2. С 2000 г. большинству пациентов, за исключением больных из Минска и Уральского региона, проводили молекулярный мониторинг транскрипта на биочипах, порог чувствительности метода составляет 10⁻⁴ (см. прил. 2). У 1 больного в 2 независимых лабораториях не выявлены характерные для ОПЛ транслокации t(15;17) и t(11;17) и транскрипт *PML/RARα*, при том, что лейкоэмические клетки имели типичные морфологические и цитохимические признаки, а данные гемограммы и характерная коагулопатия подтверждали МЗ-вариант ОМЛ. Поскольку терапия в данном случае была изменена посредством добавления дополнительных курсов поли-ХТ (ПХТ) с высокодозовым цитозаром и вепезидом, пациент был исключен из анализа эффективности обсуждаемого протокола. Ретроспективно всех больных, включенных в анализ, разделили на группы низкого, высокого и очень высокого риска на основании показателя инициального числа лейкоцитов крови и динамики исследования транскрипта *PML/RARα* в КМ. Группу низкого риска составили пациенты с инициальным лейкоцитозом ≤10 000/мкл и отсутствием транскрипта перед началом поддерживающей терапии; группу высокого риска — больные с лейкоцитозом >10 000/мкл и отсутствием транскрипта. К группе очень высокого риска отнесены пациенты с позитивным анализом на транскрипт после 3-го курса терапии независимо от других пока-

Таблица 1. Характеристика больных ОПЛ, получавших терапию по протоколам ОПЛ-93—98 и ОПЛ-2003

Характеристика	ОПЛ-93—98	ОПЛ-2003
Продолжительность наблюдения, годы (медиана)	7,9 (1,9—13,7)	2,6 (0,9—5,5)
Число больных		
Зарегистрировано	66	70
Исключены из анализа:	4	9
— смерть до лечения	2	7
— несоответствие протоколу	2	2
Включены в исследование	62	61
Возраст, годы (медиана)	10,3 (1—19)	11,3 (1,3—18)
Пол, мальчики/девочки	32/30	35/26
Лейкоциты		
≤10 000/мкл	39	48
10 000—50 000/мкл	18	9
>50 000/мкл	5	4

зателей. Результаты мониторинга транскрипта получены у 67 пациентов.

Характеристика больных и результаты лечения по двум протоколам с учетом группы риска представлены в табл. 1 и 2. Результаты терапии — БСВ и ОВ — оценены по методу Каплана — Майера [17]. Для сравнения кривых выживаемости использовался непараметрический log-rank-критерий. Оценку CIR проводили согласно методике J. Kalbfleisch, R. Prentice с помощью специальной программы R. Для сравнения рисков использовали метод Грея [18, 19]. Данные о больных с развившимся рецидивом, тактика и результаты их терапии представлены в табл. 3.

Гематологическая ремиссия констатировалась при нормализации гемограммы и редукции содержания лейкемических промиелоцитов в миелограмме до <5%; молекулярная ремиссия — при наличии критериев гематологической ремиссии и отсутствии транскрипта *PML/RARα* в КМ. Гематологический рецидив считался документированным при появлении любого количества атипичных промиелоцитов в периферической крови или >20% в миелограмме или выявлении >5% атипичных промиелоцитов в миелограмме при молекулярно-биологическом подтверждении на основании ПЦР. Критериями МР было двукратное выявление транскрипта *PML/RARα* в КМ (с интервалом 2–3 нед) после получения отрицательных результатов у больного в состоянии клинико-гематологической ремиссии при проведении ПЦР-диагностики мето-

дом, аналогичным используемому при инициальной верификации диагноза.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ Microsoft Access, GraphPad Prism 5.0, STATISTICA 6.0. Оценивался уровень достоверности *p*, различия считали статистически значимыми при *p* ≤ 0,05.

Результаты

Протокол ОПЛ-93–98. Из 62 больных, включенных в анализ, было 32 мальчика и 30 девочек в возрасте от 1 года до 19 лет (медиана — 10,3 года). Группу низкого риска составили 39 (63%) больных, группу высокого риска 23 (37%), из них с лейкоцитозом >50 000/мкл — 5 (8%) пациентов. Цитогенетическое и/или молекулярно-биологическое подтверждение варианта М3 с обнаружением t(15;17) и/или транскрипта *PML/RARα* сделано у 60 (97%) человек.

Мониторинг транскрипта на этом протоколе проводился 29 больным нерегулярно и часто бессистемно, статус минимальной остаточной болезни перед началом поддерживающей терапии известен лишь в 15 случаях. Позитивный результат получен в 4 наблюдениях, все эти пациенты находятся в состоянии ремиссии на протяжении >6 лет. Эти данные не позволяют объективно определить больных очень высокого риска и оценить значение этого показателя при лечении по протоколу ОПЛ-93–98. При этом в 11 случаях в процессе мониторинга после отрицательных результатов молекулярного анализа был выявлен транс-

Таблица 2. Результаты терапии больных ОПЛ по протоколам ОПЛ-93–98 и ОПЛ-2003

Показатель	ОПЛ-93–98			ОПЛ-2003		
	низкий	высокий	очень высокий	Группа риска низкий	высокий	очень высокий
Всего больных в анализе	39	62 23	Н.д.	43	61 11	7
Смерть в индукции	2	2	Н.д.	2	2	0
СРК		6			0	
Достижение гематологической ремиссии	37	21	Н.д.	41	11	7
Смерть в ремиссии	0	2	Н.д.	1	1	0
Потерины из-под наблюдения	1	0	0	0	0	0
Наличие транскрипта <i>PML/RAR</i> перед поддерживающей терапией	Н.д.	Н.д.	Н.д.	5	2	7
Рецидив гематологический (%)	2	2	Н.д.	1 (+2)* (2,4)	1 (+2)* (9)	4 (57)
Рецидив гематологический + экстрамедуллярный	Нет	Нет	Нет	Нет	2*	2
Достижение 2-й ремиссии	1	1	Н.д.	1 (+2)*	1 (+2)*	4
Живы в 1-й ремиссии (%)	34 (87)	17 (74)	Н.д.	39 (91)	9(72,7)	3 (43)
Живы во 2-й ремиссии	0	0	Н.д.	1	1	4
БСВ, %		84±5 <i>p</i> =0,68			79±6	
ОВ, %		84±5 <i>p</i> =0,21			93±3	

Примечание. СРК — синдром ретиновой кислоты; БСВ — бессобытийная выживаемость; ОВ — общая выживаемость. Н.д. — нет данных. *Больные, инициально отнесенные в группу риска по числу лейкоцитов крови, затем по выявлении транскрипта перед поддерживающей терапией перенесенные в группу очень высокого риска.

Таблица 3. Рецидивы ОПЛ: протоколы ОПЛ-93—98 и ОПЛ-2003 в сравнении с результатами протоколов Еврогруппы APL-91, 93 и 2000

Показатель	ОПЛ-93—98			Всего	ОПЛ-2003			APL-91	APL-93	APL-2000	
	Всего	Группа риска			низкий	высокий	очень высокий			Л< 10 000/мкл	Л> 10 000/мкл
Включено пациентов	62	37	21	61				43	11	7	54
Срок наблюдения, мес	36—144			7—40					153	24	24
Рецидивы, абс. число (%)	4 (6,9)	2 (5)	2 (9)	6 (10,6)	1 (2,5)	1 (11)	4 (57)	20 (31)	80 (13,4)	8 (8,5)	5 (7)
Сроки от начала лечения, мес	11—28			3—36			23			9	
Даунорубин, суммарная доза, мг/м ²	495			405			495			495	
Лечение рецидива:											
ПХТ + АТРА	4			0				20	+	+/-	+/-
ПХТ + АТРА + АТО	0			6				0	+/-	+/-	+/-
ПХТ+АТРА + АТО+ ГО	0			4				—	—	+/-	+/-
+ ауто-ТГСК	0			6							
+ облучение локальных инфильтратов	0			2				2	0	0	0
2-я ремиссия	2			6			1			1	
Живы	0			6			1			1	
БСВ, %	84±5			79±5			63			76,3	
ОВ, %	84±5			93±3			76			85	

Примечание. АТО — триоксид мышьяка (асадин) 0,15 мг/кг внутривенно; ГО — гемтузумаба озогомицин (миелотарг); ауто-ТГСК — аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; Л — лейкоциты.

крипт, как правило, в низком титре — однократно и даже повторно, не только в процессе лечения, но и после его отмены. Развития гематологического рецидива не зафиксировано ни в одном из этих случаев в течение уже более 5 лет.

В процессе лечения СПК развился у 6 пациентов, в 2 случаях — с летальным исходом. Всего от осложненной в процессе индукционного курса протокола умерли 4 больных, ремиссия достигнута у 58 (93,5%) детей. В состоянии гематологической ремиссии от инфекционных осложнений умерли 2 пациента. Случаев рефрактерности ОПЛ не зафиксировано.

Рецидив (во всех случаях КМ) развился у 4 больных в сроки от 12 до 29 мес с момента констатации ремиссии. Еще у 1 пациента с врожденным гидронефрозом почки и хронической почечной недостаточностью, вследствие чего терапия была изменена за счет снижения дозирования даунорубина в индукции и исключения высокодозового цитозара из 3-го курса ХТ, в процессе молекулярно-генетического мониторинга на 32-м месяце ремиссии после негативных анализов повторно выявлен транскрипт *PML/RARα* в нарастающем титре и констатирован МР. По решению лечащего врача больному проведена терапия рецидива: курс «7+3» + АТРА (дозы аналогичны курсу индукции протокола ОПЛ-93—98) с достижением повторной молекулярной ремиссии, затем полностью повторена поддерживающая терапия согласно протоколу; к моменту анализа ремиссия продолжается >5 лет. Больной определен как получивший непрограммную терапию.

Из 4 пациентов, у которых развились рецидивы при терапии по протоколу ОПЛ-93—98, 2 относятся

к группе высокого и 2 — низкого риска. Все больные с гематологическим рецидивом умерли: 2 — от прогрессии заболевания, не достигнув повторной ремиссии, в 2 других случаях была получена краткосрочная ремиссия. У одного ребенка, получившего курс FLAG (флу-дарабин, цитарабин, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор) с АТРА, через 4 мес развился повторный рецидив, лечение которого было неэффективным; второй больной умер от сердечной недостаточности во 2-й ремиссии после повторения интенсивной фазы протокола ОПЛ-93 на этапе поддерживающей терапии; суммарная доза антрациклинов (даунорубин + митоксантрон) составила 990 мг/м² в пересчете на даунорубин. Характеристика рецидивов и их лечение представлены в табл. 3.

На 01.09.2008 г. (медиана наблюдения — 7,9 года) ремиссия продолжается у 51 пациента, БСВ и ОВ составили 84±5% при частоте рецидивов 6,5% (рис. 1). Из 37 больных группы низкого риска, достигших ремиссии, при лечении по протоколу ОПЛ-93—98 рецидивировали 2 (5,4%), из 21 человека группы высокого риска — также 2 (9,5%), исследования транскрипта перед поддерживающей терапией у этих больных не проводились (рис. 2). 5-летний CIR составил 0,05±0,003 — низкий риск и 0,12±0,012 — высокий риск (рис. 3).

Протокол ОПЛ-2003. На 01.01.2008 г. терапию по данному протоколу получил 61 человек (35 мальчиков и 26 девочек) в возрасте от 1,3 года до 18 лет (медиана — 11,3 года). На основании инициальной гемогаммы 48 (79%) больных отнесены к группе низкого, 13 — высокого риска развития рецидива; пациентов

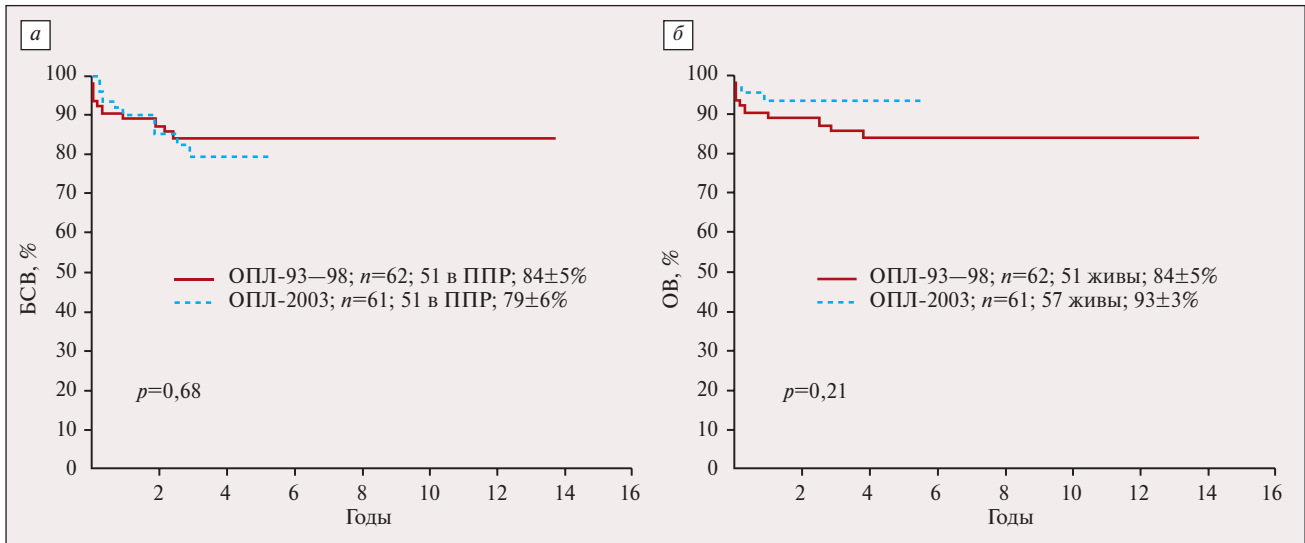


Рис. 1. Выживаемость пациентов с ОПЛ в зависимости от протокола терапии: а — БСВ; б — ОБ

с лейкоцитами крови $>50\ 000/\text{мкл}$ было 4 (7%). Молекулярный мониторинг транскрипта проводился в 38 (67,2%) случаях; у 7 больных перед началом поддерживающего лечения был выявлен транскрипт *PML/RAR α* , 5 из них изначально были в группе низкого риска, 2 — высокого; эти больные составили группу очень высокого риска рецидива. Характеристика пациентов и результаты их терапии представлены в табл. 1 и 2.

В ранние сроки лечения — в процессе индукции ремиссии — умерли 2 пациента, оба от инфекционных осложнений. Случаев тяжелого СРК не зафиксировано. Резистентных к лечению пациентов не выявлено, за исключением случаев длительной персистенции молекулярного транскрипта при исследовании КМ, что, по сути, можно определить как молекулярную резистентность. Гематологическая ремиссия была получена у 59 (96,7%) больных. 2 пациента умерли после достижения ремиссии: в одном случае — после осложнений, обусловленных высокими дозами АгаС, в другом — от гриппа на этапе поддерживающей терапии.

У 6 из 59 больных через 3—34 (медиана — 21,8) мес после достижения ремиссии развились рецидивы, что составляет 9,8% при сроках наблюдения от 2 до 67 (медиана — 31,2) мес (см. табл. 3). 3 из этих больных принадлежали к группе низкого и 3 высокого риска. У 2 пациентов из каждой группы перед началом поддерживающей терапии молекулярная ремиссия не достигнута. Всем больным с рецидивом проведена терапия на основе триоксида мышьяка с АТРА в различных сочетаниях с цитостатиками, в основном цитозаром, 5 пациентов дополнительно получали антрациклины. У 5 больных использовали гемтузумаб озогамидин (Милотарг, «Вайет», США). Всем 6 пациентам после достижения молекулярной ремиссии выполнена ауто-ТГСК; во всех случаях, по данным ПЦР, трансплантат не был «контаминирован» резидуальными лейкоэмическими клетками.

У 1 больного из группы очень высокого риска за несколько месяцев до КМ рецидива возникли подкожные инфильтраты, лейкоэмическая природа которых была впоследствии доказана гистологически, вследст-

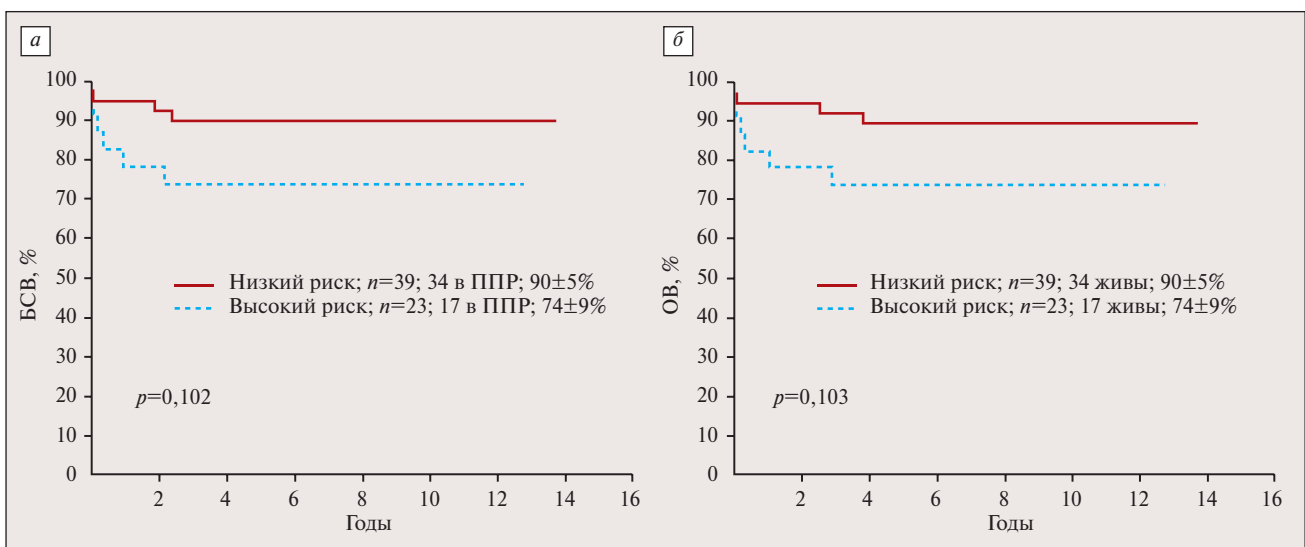


Рис. 2. Выживаемость пациентов с ОПЛ на протоколе ОПЛ-93-98 в зависимости от группы риска: а — БСВ; б — ОБ

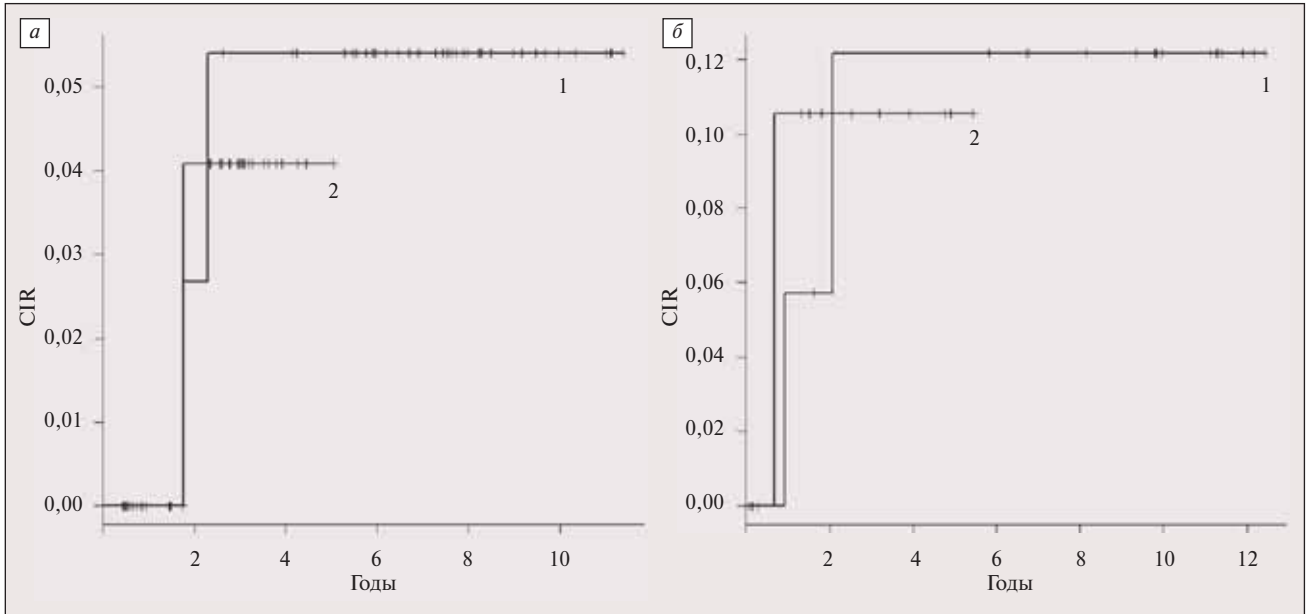


Рис. 3. 5-летний CIR рецидивов у пациентов с ОПЛ различных групп риска в зависимости от протокола терапии: а — пациенты группы низкого риска (в скобках 95% доверительный интервал — ДИ): 1) ОПЛ-93–98: $n=37$, без рецидива 35, $hazard = 0,05 (-0,02-0,13)$; 2) ОПЛ-2003: $n=41$, без рецидива 40; $hazard = 0,04 (-0,02-0,10)$; б — пациенты группы высокого риска (в скобках 95% ДИ): 1) ОПЛ-93–98: $n=21$, без рецидива 19; $hazard = 0,12 (-0,02-0,29)$; 2) ОПЛ-2003: $n=11$, без рецидива 10; $hazard = 0,11 (-0,07-0,32)$

вие чего после достижения клиничко-гематологической и молекулярной ремиссии, но до проведения ТГСК ему было выполнено тотальное облучение кожи электронами в суммарной дозе 15 Гр. У другого пациента, также из группы очень высокого риска, при гематологической ремиссии в КМ в процессе проведения 3-го курса ПХТ развилась массивная инфильтрация кожи волосистой части головы, в клетках которой был обнаружен транскрипт *PML/RAR α* , на основании чего констатирован экстрамедуллярный рецидив. Молекулярная ремиссия достигнута в результате интенсивной противорецидивной терапии, включая 3 курса триоксида мышьяка и 2 введения гемтузумаба озогамидина (6 мг/м²); после повторного появления инфильтратов в той же области больному локально проведен курс лучевой терапии электронным пучком (суммарная доза 30 Гр) и выполнена ауто-ТГСК.

В целом на момент анализа вторая клиничко-гематологическая и молекулярная ремиссия продолжается от 3 до 29 мес у всех 6 рецидивировавших пациентов.

У 2 больных, достигших молекулярной ремиссии, отмечено однократное появление транскрипта с повторной спонтанной негативизацией. У обоих этих пациента не выявлен рецидив в течение >10 мес.

На 01.09.2008 г. (медиана наблюдения — 2,6 года) первая ремиссия продолжалась у 51 больного, БСВ составила $79\pm 6\%$, ОВ — $93\pm 3\%$; частота рецидивов — 10,3%. Из 43 больных группы низкого риска рецидив возник у 1 (2,3%) пациента, из 11 человек группы высокого риска — также у 1 (9,1%), из 7 больных очень высокого риска — у 4 (57,1%). 5-летний CIR составил $0,04\pm 0,004$ — низкий риск и $0,11\pm 0,015$ — высокий риск (см. рис. 3; рис. 4).

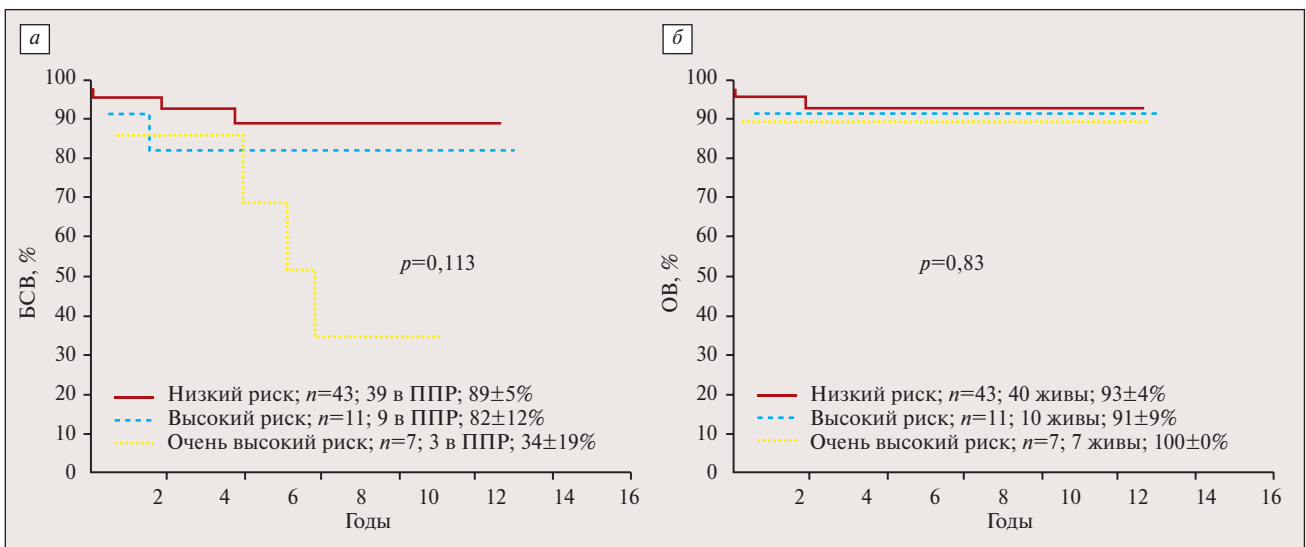


Рис. 4. Выживаемость пациентов с ОПЛ на протоколе ОПЛ-2003 в зависимости от группы риска: а — БСВ; б — ОВ

Таким образом, при одинаковом числе больных, получивших лечение по протоколам ОПЛ-93—98 или ОПЛ-2003, значимых отличий по возрастным и половым показателям не было. Больные низкого и высокого риска составили 63 и 37% против 79 и 21%, с лейкоцитами $>50\ 000/\text{мкл}$ — 8 и 4% на протоколах ОПЛ-93—98 и ОПЛ-2003 соответственно. Показатели эффективности терапии не имеют достоверных отличий: БСВ и ОВ составили в протоколах ОПЛ-93—98 и ОПЛ-2003 $84\pm 5\%$ против $79\pm 6\%$ ($p=0,68$) и $84\pm 5\%$ против $93\pm 3\%$ ($p=0,21$), см. рис. 1. При оценке этих показателей в зависимости от факторов риска (см. рис. 2, 4) становится очевидным значение молекулярного мониторинга: по результатам обоих протоколов не обнаружено достоверных различий прогноза у больных низкой и высокой групп риска в зависимости от инициального лейкоцитоза — притом что систематического контроля транскрипта на протоколе ОПЛ-93—98 не было. При анализе результатов протокола ОПЛ-2003 выявлены достоверно значимые различия больных группы очень высокого риска против всех остальных пациентов (как низкой, так и высокой групп риска) по показателю безрецидивной выживаемости: БРВ составляет 96 ± 4 , 90 ± 9 и $34\pm 19\%$ соответственно ($p=0,0007$).

Обсуждение

Факторами, определяющими вероятность выздоровления у больных с гемопэтическими опухолями, являются чувствительность (резистентность) к проводимой терапии, частота и тяжесть осложнений и побочных явлений при ее выполнении, частота развития рецидивов и возможность достижения повторной ремиссии. Включение АТРА в программы лечения ОПЛ снизило частоту первичной резистентности практически до нуля, при этом летальность, вызванная токсичностью терапии, составляет, при грамотно спланированной сопроводительной терапии, не более 5%. Так, по данным Европейского протокола APL-2000, результаты терапии больных ОПЛ с высоким инициальным лейкоцитозом достоверно улучшились вследствие снижения развития СРК при профилактическом использовании дексаметазона [20].

Основной задачей протокола лечения детей и подростков ОПЛ-93—98 было исследование эффективности применения АТРА в комбинации с антрациклинами и АгаС, оценка токсичности этой терапии, а также отработка деталей современной технологии диагностики и лечения этого особого варианта ОМЛ в условиях многопрофильных детских больниц.

В течение 7 лет многоцентровой работы по протоколу с использованием молекулярно-генетической диагностики получены вполне удовлетворительные показатели БСВ и ОВ больных ОПЛ этой возрастной группы, несмотря на выборочный характер молекулярного контроля эффективности терапии. Хотя в целом токсичность протокола можно определить как приемлемую, летальность вследствие развития СРК и высокая, потенциально кардиотоксичная доза антрациклинов явились основанием для попытки разработки протокола с меньшей токсичностью. В большинстве современных протоколов хорошие показатели излечения ОПЛ получены при использовании высоких доз антрациклинов: от $495\ \text{мг}/\text{м}^2$ в Европейских протоколах 1993 и 2000 гг. до 650 (испанский протокол Pethema 99

и итальянский AIDA) и $815\ \text{мг}/\text{м}^2$ в протоколе M.D. Anderson, США [9]. Такие кумулятивные дозы антрациклинов сопряжены с высоким риском отсроченной кардиотоксичности, что особенно важно у детей, которые, выздоравливая от злокачественных заболеваний, не должны страдать от побочных эффектов терапии. Хотя кардиотоксичность антрациклинов и является дозозависимой, «безопасной» дозы антрациклинов не существует, что делает актуальной проблему снижения их суммарных дозировок.

В исследовании 2003 г. сохранены прежний дизайн и использованы те же препараты, однако суммарная доза антрациклинов была значимо (на $90\ \text{мг}/\text{м}^2$) редуцирована, снижена до $25\ \text{мг}/\text{м}^2$ и суточная дозировка АТРА. Несмотря на такую дезэскалацию терапии, эффективность протокола ОПЛ-2003 оказалась сопоставимой с результатами предыдущего протокола и соответствует данным публикуемых международных исследований.

В последние годы была показана возможность объективно прогнозировать эффективность проводимой терапии ОПЛ. На основании оценки некоторых клинических показателей и результатов молекулярно-генетического контроля специфического для ОПЛ транскрипта в клетках КМ выделены факторы риска, наиболее значимыми из которых являются инициальный уровень лейкоцитов и достижение молекулярной ремиссии к началу поддерживающей терапии. Наиболее важно то, что персистенция молекулярного транскрипта после трех курсов цитозар + антрациклины + АТРА ассоциирована с высоким риском рецидива (57%), несмотря на то, что у всех 7 пациентов на фоне проведения поддерживающей терапии 6-МП, метотрексатом и АТРА молекулярная ремиссия все же была достигнута.

Очевидно, что пациентам группы очень высокого риска необходимо своевременно модифицировать терапию. На наш взгляд, наилучшим вариантом представляется применение триоксида мышьяка — препарата, высокоэффективного в лечении рецидивов ОПЛ с отличным от АТРА механизмом действия. Немаловажным обстоятельством является и отсутствие влияния на сократимость миокарда, присущее антрациклинам, а также многообразной токсичности, свойственной миелоаблативной ХТ. К сожалению, препараты триоксида мышьяка в России недоступны.

Учитывая значимость молекулярно-генетического анализа для диагностики и последующей коррекции терапии ОПЛ, их выполнение должно стать стандартом во всех клиниках, где лечат больных лейкозами. Подавляющему большинству пациентов на протоколе ОПЛ-2003 оно было проведено, однако мониторинг осуществлялся нерегулярно, и, к сожалению, у части больных отсутствовали молекулярно-генетические данные именно в той «точке» протокола, которая имеет важнейшее значение для прогноза — перед началом поддерживающей терапии. Следует отметить, что, несмотря на то что используемые в разных лабораториях различные методики определения МРБ чреваты ложноположительными результатами и, соответственно, неоправданной эскалацией терапии, в нашем исследовании молекулярная резистентность являлась высокочувствительным «предиктором» гематологического ре-

цидива независимо от лаборатории, где проводилось исследование.

В то же время однократное появление молекулярного транскрипта на фоне поддерживающей терапии, а также после ее окончания, по-видимому, не имеет такого драматического значения, поскольку 13 пациентов, у которых при выполнении мониторинга выявлялся транскрипт, остаются в ремиссии уже >5 лет без какой-либо терапии. В связи с этим проблема стандартизации чувствительности молекулярно-генетических методов, используемых для принятия решения вопроса о коррекции терапии, является критической. Терапия же гематологических рецидивов у пациентов, получивших лечение по протоколу ОПЛ-93—98, не имела успеха, все больные умерли.

При анализе результатов терапии по протоколу ОПЛ-2003 можно заключить, что снижение суммарной дозы антрациклинов и дозы АТРА не ухудшило показателей БРВ у больных независимо от группы инициального риска. Среди причин неудач терапии пациентов с ОПЛ основной, помимо рецидивов, является летальность в первые дни госпитализации от геморрагических осложнений. Как правило, ранняя летальность ассоциирована с высоким инициальным лейкоцитозом: из 9 умерших детей, не успевших начать полноценное лечение, у 4 уровень лейкоцитов превышал 100 000/мкл; еще 4 пациента умерли от кровоизлияния в мозг, не получая должной трансфу-

зионной терапии. Остающаяся высокой ранняя летальность, составляя около 10%, свидетельствует не о недостаточной эффективности противолейкемической терапии, а о позднем поступлении пациентов и низком качестве сопроводительной терапии.

На основании имеющихся данных можно сделать следующие заключения по тактике и стратегии улучшения результатов терапии ОПЛ у детей и подростков.

Независимо от инициальных характеристик всем больным ОПЛ, помимо стандартных диагностических и лечебных мероприятий, обязательно должна проводиться оценка молекулярного транскрипта *PML/RAR α* инициально и перед началом поддерживающей терапии. Пациентам с констатацией молекулярной ремиссии показано продолжить выполнение этапа поддерживающей терапии. В отсутствие молекулярной ремиссии (группа очень высокого риска рецидива) наиболее приемлемой тактикой является модификация терапии на основе триоксида мышьяка. Существуют и альтернативные подходы, например, интенсификация ХТ, использование гемтузумаба озогамидина, проведение аллогенной ТГСК.

За 15 лет работы многоцентровой группы по межнациональному протоколу лечения ОПЛ у детей и подростков терапия проведена >140 больным и достигнуты очень высокие показатели излечения. Однако остаются нерешенные вопросы, ответ на которые можно получить только при условии совместных усилий многих клиник.

Приложение 1

Клиники — участницы исследования

- Областная детская клиническая больница (отдел гематологии/онкологии); руководитель *Л.Г. Фечина*; координатор протокола ОПЛ *О.П. Хлебникова*, Екатеринбург
- Областная детская клиническая больница; зав. отделением онкогематологии *Г.М. Сычева*, врач-гематолог *Н.В. Чаплыгина*, Курск
- Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии; директор Центра *О.В. Алейникова*, Минск, Республика Беларусь
- Морозовская детская клиническая больница №1; зав. отделением гематологии *К.Л. Кондратчик*; координатор протокола ОПЛ *О.А. Тиганова*, Москва
- Российская детская клиническая больница; зав. отделением общей гематологии *М.А. Масчан*; координатор протокола ОПЛ *Д.Д. Байдильдина*, Москва
- Областная детская клиническая больница; зав. отделением гематологии *А.В. Шамардина*, Нижний Новгород
- Областная детская клиническая больница; зав. отделением онкогематологии *Н.С. Осмульская*, Омск
- Областная детская клиническая больница; врач-гематолог *О.В. Курлова*, Тверь
- Чувашская республиканская детская клиническая больница; зав. отделением онкогематологии *Г.П. Павлова*, Чебоксары
- Научно-исследовательский институт детской онкологии/гематологии Российского онкологического центра РАМН; зав. детским отделением *А.В. Попа*, Москва
- Московский областной онкологический диспансер; зав. детским отделением *Е.В. Инюшкина*, Балашиха
- Городская больница №1; зав. отделением онкогематологии *Э.Г. Бойченко*, Санкт-Петербург
- Областная детская клиническая больница; зав. отделением *Е.В. Башарова*, Челябинск
- Областная детская клиническая больница; зав. отделением *А.Г. Безнощенко*, Рязань
- Областная детская клиническая больница; зав. отделением *Т.В. Турובהва*, Архангельск
- Областная детская клиническая больница; зав. отделением *К.С. Асланян*, Ростов-на-Дону
- Дагестанская детская республиканская клиническая больница; зав. отделением *И.М. Юнусова*, Махачкала
- Государственная областная детская больница; зав. отделением онкогематологии *С.Ю. Умнова*, Иркутск
- Областная детская клиническая больница; зав. отделением гематологии *О.Ю. Кузнецова*, Тула
- Областной клинический онкологический диспансер, Детский онкогематологический центр; руководитель центра *Н.А. Попова*, Волгоград
- Областная детская клиническая больница; зав. отделением *О.В. Сурьянинова*, Ярославль
- Республиканская детская клиническая больница; зав. отделением онкогематологии *З.С. Гордеева*, Йошкар-Ола
- Областная детская клиническая больница; зав. отделением гематологии *Г.Р. Шаранова*, Нижневартовск

Приложение 2

Лаборатории, участвующие в диагностике случаев ОПЛ у детей и подростков

РДКБ, лаборатория цитологии; зав. лабораторией Л.В. Байдун; врачи-гематологи М.Э. Дубровина, С.А. Плясунова, Москва

Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии; лаборатория молекулярно-генетических исследований; зав. лабораторией Т.В. Савицкая; отдел АСУ О.И. Быданов — статистическая обработка, Минск

ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН; лаборатории биологических микрочипов; зав. лабораторией А.С. Заседателев, зав. группой анализа мутаций в геноме человека Т.В. Наседкина, научные сотрудники В.С. Жаринов, Н.А. Гусева, Москва

Областная детская клиническая больница; лаборатория молекулярной биологии Лабораторного отделения Отдела детской онкологии и гематологии ОДКБ №1; зав. лабораторией Г.А. Цаур, врачи Е.Р. Семенихина, Т.О. Ригер, биолог А.С. Иванова, цитогенетики М.В. Стригалева, О.М. Плеханова, Екатеринбург

Институт канцерогенеза ОНЦ РАМН; лаборатория цитогенетики с группой молекулярной генетики; вед. научный сотрудник Е.В. Флейшман, Москва

Л и т е р а т у р а

- Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T. et al. Proposals for the classification of the acute leukemias. *Br J Haematol* 1976;33:451—61.
- Castaigne S., Chomienne C., Daniel M.T. et al. All-transretinoic acid as a differentiating therapy for acute promyelocytic leukemias. *Blood* 1990;76(9):1710—7.
- Estey E. New Categories of Response in AML. *Ann Hematol* 2008;87:59—61.
- Buchner T., Hiddemann W., Wormann B. et al. Double induction strategy for acute myeloid leukemia: the effect of high-dose cytarabine with mitoxantrone instead of standard-dose cytarabine with daunorubicin and 6-thioguanine: a randomized trial by the German AML Cooperative Group. *Blood* 1999;93(12):4116—24.
- Fenaux P., Chevret S., Guerci A. et al. Long-term follow-up confirm the benefit of all-trans retinoic acid in APL. European APL group. *Leukemia* 2000;14:1371—7.
- Ades L., Sans M., Chevret S. et al. Treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia (APL): a comparison of French-Belgian-Swiss and PETHEMA results. *Blood* 2008;111(3):1078—84.
- Lo Coco F., Avvisati G., Diverio D. et al. Molecular evaluation of response to all-trans-retinoic acid therapy in patients with acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1991;77:1657—9.
- Cassinat B., Zassadovski F., Balitrand N. et al. Quantitation of minimal residual disease in acute promyelocytic leukemia patients with t(15;17) translocation using real-time RT-PCR. *Leukemia* 2000;14:324—8.
- Ades L., Chevret S., Raffoux E. et al. Is cytarabine useful in the treatment of APL? Randomized trial from the European APL Group. *J Clin Oncol* 2006;24(36):5703—10.
- Lo Coco F., Diverio D., Avvisati G. et al. Therapy of molecular relapse in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1999;94:2225—9.
- Kelaidi C., Ades L., Chevret S. et al. Late first relapses in APL treated with all-trans-retinoic acid- and anthracycline-based chemotherapy: the European APL group experience (APL 91 and APL 93 trials). *Leukemia* 2006;20:905—7.
- Самочатова Е.В., Масчан А.А., Алейникова О.В. и др. Опыт лечения промиелоцитарного лейкоза у детей по протоколу с использованием трансретиноевой кислоты: результаты клиник России и Беларуси. *Гематол трансфузиол* 2000;45(1):6—10.
- Беспалова А.В., Самочатова Е.В., Алейникова О.В. и др. Результаты лечения острого промиелоцитарного лейкоза у детей и подростков по данным мультицентрового исследования (Беларусь — Россия), *Вопр гематол онкол иммунол у детей и подростков* 2005;4(1):25—31.
- Самочатова Е.В., Масчан А.А., Алейникова О.В. и др. Долгосрочные результаты комбинированного лечения острого промиелоцитарного лейкоза у детей и подростков с использованием геннонаправленной терапии. *Тер арх* 2007;(7):26—30.
- Nasedkina T.V., Zharinov V.S., Isaeva E.A. et al. Clinical screening of gene rearrangement in childhood leukemia using a multiplex PCR-microarray approach. *Clin Cancer Res* 2003;9:5620—9.
- Van Dongen J., Macintyre E.A., Gabert J.A. et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Report of the BIOMED-1 Concerted Action: investigation of minimal residual disease in acute leukemia. *Leukemia* 1999;13:1901—28.
- Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Amer Stat Assoc* 1958;6:457—81.
- Kalbfleisch J., Prentice R. The statistical analysis of failure time data. New York: John Wiley & Sons, 1980.
- Gray R.J. A class of k-sample tests for comparing the cumulative incidence of a competing risk. *Ann Stat* 1988;16: 1141—54.
- Ades L., Fenaux P. Treatment of acute promyelocytic leukemia (APL) — an update of the French—Belgian—Swiss Group experience. *Ann Hematol* 2008;87:21—3.
- Bolufer P., Lo Coco F., Grimwade D. et al. Variability in the levels of PML-RAR alpha fusion transcript detected by the laboratories participating in an external quality control program using several reverse transcription polymerase chain reaction protocols. *Haematologica* 2001;86:570—6.

ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА И РЕЗУЛЬТАТЫ ТЕРАПИИ ПЕРВИЧНОЙ СИСТЕМНОЙ АНАПЛАСТИЧЕСКОЙ КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ

А.А. Семенова¹, Н.А. Пробатова², Е.Н. Сорокин², О.Л. Тимофеева¹, И.В. Поддубная¹

¹ГОУ ДПО РМАПО Росздрава; ²ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

В этом ретроспективном исследовании приведены клинические данные, факторы риска и результаты лечения большой группы больных (n=42) первичной системной анапластической крупноклеточной лимфомой (АККЛ) с Т-/О- фенотипом. В группе больных с неблагоприятным течением (не достигших полной ремиссии — ПР) наблюдалась тенденция к преобладанию признаков, входящих в стандартные (Международный прогностический индекс — МПИ) и дополнительно анализируемые нами факторы неблагоприятного прогноза. Достоверные различия с группой пациентов с благоприятным течением (у которых достигнута ПР) получены только по следующим признакам: экспрессия ALK-белка (обосновывающая дальнейшее деление и изучение однородной группы больных), стадия заболевания, оценка общего состояния пациентов по шкале ECOG, наличие В-симптомов.

По данным литературы, ALK-позитивные АККЛ имеют более благоприятный прогноз по сравнению с ALK-негативными. Представленные в этом сообщении результаты дополнительно подтверждают и расширяют эти наблюдения. Представлены доказательства того, что на основании показателя МПИ и исходной распространенности заболевания можно прогнозировать исход в однородной группе больных, не достигших ПР после проведения 1-й линии терапии. При анализе материала не было установлено каких-либо клинических факторов риска, связанных с исходной локализацией опухолевого процесса, влияющих на отдаленные результаты, но этот вопрос необходимо изучать в дальнейших проспективных исследованиях, учитывая наличие характерных для АККЛ зон локализации.

Ключевые слова: анапластическая крупноклеточная лимфома, факторы неблагоприятного прогноза, отдаленные результаты терапии

PROGNOSTIC FACTORS AND RESULTS OF THERAPY OF PRIMARY SYSTEMIC ANAPLASTIC LARGE-CELL LYMPHOMA

A.A. Semenova¹, N.A. Probatova², E.N. Sorokin², O.L. Timofeeva¹, I.V. Poddubnaya¹

¹Russian Academy for Postgraduate Medical Education, Russian Agency for Health Care;

²N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

The retrospective study of clinical data, risk factors, and results of treatment of a large group of patients with primary systemic anaplastic large-cell lymphoma (ALCL) (n = 42) with the T-/O phenotype is presented. Primary systemic ALCL occurred in young persons aged less than 30 years. A group of patients with its poor course (with complete remission (CR) being achieved) showed a trend for the prevalence of the signs that were a part of the standard (International Prognostic Index — IPI) factors and ones of poor prognosis, which were additionally analyzed by the authors. Significant differences in a group of patients with a good prognosis (with CR being achieved) were obtained only in the following indices: ALK protein expression (substantiating the further division and study of a homogenous group of patients), the stage of the disease, evaluation of the patients' general condition by the ECOG scale, and the presence of B-symptoms.

According to the data available in the literature, ALK-positive ALCL has a better prognosis than ALK-negative ALCL. The results given in this communication additionally confirm and extend these observations. There is evidence that, by using the IPI and the baseline prevalence of the disease, one may predict an outcome in the homogenous group of patients without CR being achieved after first-line therapy. Analysis of the findings has established no clinical risk factors associated with the baseline site of a tumor process, which influence long-term results, but this matter should be studied in further prospective investigations, by keeping in mind the location zones characteristic of ALCL.

Key words: anaplastic large-cell lymphoma, poor prognostic factors, long-term results of therapy

Анапластическая с фенотипом Т-/О- крупноклеточная лимфома (АККЛ) является редко встречающимся вариантом лимфопролиферативных заболеваний и составляет около 5% всех случаев неходжкинских лимфом (НХЛ) у взрослых [1]. Морфоиммунологические особенности заболевания позволили в 1985 г. выделить его как отдельную нозологическую единицу [2], под определение которой подпадала категория лимфом, устанавливаемая на основе анапластической характеристики опухолевых клеток и экспрессии ими цитокинового рецептора CD30 [1–4]. Этот антиген был изначально обнаружен в клетках Штернберга — Рид при болезни Ходжкина и назван Ki-1 [2], что дало основание для первичного описания АККЛ в Кильской классификации [3] как

Ki-1-позитивной лимфомы [4]. Фундаментальные исследования и внедрение в клиническую практику иммунофенотипирования дополнили представления о лимфоидных элементах различных этапов и линий дифференцировки. Этот процесс ознаменовался созданием Европейско-Американской классификации лимфоидных опухолей — REAL (1994) [5], которая позднее была положена в основу классификации ВОЗ (WHO), 2001 г. [6] и 2008 г. (в печати). Авторы классификации изменили термин «CD30-позитивная (положительная) анапластическая крупноклеточная лимфома», посчитав это обозначение недостаточно точным и опираясь на полученные данные о наличии экспрессии CD30 в некоторых других неоплазиях (лимфоме Ходжкина — ЛХ), диффузной В-крупно-

клеточной лимфоме — ДККЛ)), а также негемопоэтических опухолях (эмбриональном раке, семиноме и мезенхимальных опухолях) [4, 7]. В связи с этим в последних классификациях стали использовать термин «анапластическая крупноклеточная лимфома» [1, 8].

В конце 1980-х годов в клетках АККЛ была выявлена цитогенетическая аномалия $t(2;5)(p23;q35)$ с вовлечением генов *NPM* и *ALK*, до этого замеченная в случаях «злокачественного гистиоцитоза», которые в дальнейшем были реклассифицированы как АККЛ [9, 10]. Впоследствии было разработано несколько методов распознавания этого генетического поражения: полимеразная цепная реакция, флюоресценция *in situ*, гибридизация (FISH) и иммуногистохимия со специальными антителами, направленными против продуктов $t(2;5)$. Гибридный ген *NPM-ALK* кодирует химерный белок, который состоит из N-концевой части молекулы *NPM* (аминокислоты 1-117), связанной со всем цитоплазматическим доменом нейроспецифичного рецептора тирозинкиназы *ALK*. Считается, что механизм действия гибридного белка *NPM-ALK* в лимфогенезе реализуется с помощью aberrантного фосфорилирования внутриклеточных субстратов. В последние годы возрос интерес к выявлению специфических молекулярных признаков, которые могут помочь в определении прогноза у больных агрессивными лимфомами.

Пик заболеваемости АККЛ приходится на молодой возраст: приблизительно 40% случаев диагностируется у больных до 16 лет [3]. Отмечено преобладание заболеваемости у мужчин: соотношение мужчин и женщин (М/Ж) равно 3:1, а во втором-третьем десятилетии жизни оно составляет 6,5:1 [4].

Клинически АККЛ представляет собой гетерогенную группу, включающую первичную (системную и кожную) и вторичную формы (результат трансформации других лимфопротипов) [11]. Первичная АККЛ делится на два различных варианта — кожный и системный [7]. Системная АККЛ является агрессивной формой болезни. Большинство пациентов на момент диагностики имеют распространенность процесса, соответствующую III или IV стадии, и наличие симптомов интоксикации [12]. Общее состояние больных в дебюте болезни в большинстве случаев средней тяжести по шкале Карновского, более чем у половины пациентов повышен уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Заболевание начинается с появления экстранодальных поражений в 40–60% случаев, хотя иногда может проявляться только увеличением лимфатических узлов (ЛУ). У 40% пациентов отмечается вовлечение двух или более экстранодальных зон, преимущественно кожи (21%), костей и мягких тканей (17%). Вероятность развития опухоли в легких и печени составляет 10%. Такая же частота характерна для поражения костного мозга [4]. Использование метода иммуногистохимии позволило повысить точность определения до 30% [4]. Поражения желудочно-кишечного тракта и центральной нервной системы редки. В ряде публикаций высказано мнение о наличии клинически неблагоприятных прогностических факторов при АККЛ, к которым относятся: вовлечение медиастинальных ЛУ и легких, печени и селезенки, поражение кожи [11].

Известно, что одним из важнейших факторов прогноза системной АККЛ является наличие или отсутствие *ALK*-белка в опухолевых клетках. В одном из исследова-

ний, включающем 57 пациентов, 5-летняя общая выживаемость (ОВ) *ALK*-позитивных пациентов составила 93% по сравнению с 37% в группе *ALK*-негативных [13]. Нормальный уровень ЛДГ и низкий показатель Международного прогностического индекса (МПИ) также служат независимыми факторами более благоприятного прогноза, хотя значение МПИ в прогнозе исхода АККЛ является предметом спора. Важность показателя МПИ продемонстрировали итальянские ученые в своей работе, где 5-летняя ОВ *ALK*-позитивных больных с низким или низким/промежуточным уровнем МПИ составила 94%, будучи в 2 раза выше 5-летней ОВ *ALK*-позитивных пациентов с высоким и высоким/промежуточным риском согласно МПИ [13]. В большинстве работ МПИ и наличие экспрессии *ALK*-белка в опухолевых клетках остаются наиболее важными и доступными прогностическими факторами при АККЛ.

Стандарта лечения АККЛ не существует. Исследования эффективности терапии носят в основном ретроспективный характер и обобщают разнообразие многих режимов, анализ которых осложняется включением в анализируемый материал больных, отнесенных к АККЛ ошибочно. Основой большинства протоколов лечения являются алкилирующие агенты, антрациклины, винкаалкалоиды и кортикостероиды [14]. Из-за разнородности сообщений в литературе и недостатка систематизированных исследований стандарт лечения сведен к применению схемы СНОР. Выбор СНОР в значительной степени экстраполирован на основании данных по эффективности лечения ДККЛ.

Цель настоящего исследования — определение прогностической роли анализируемых факторов и их корреляции с результатами терапии первичной системной АККЛ.

Материалы и методы

В исследование включены 42 пациента с первичной системной АККЛ (23 больных — *ALK*-позитивные и 19 — *ALK*-негативные), получавших лечение в период с 1997 по 2007 г. Исследование является ретроспективным и нерандомизированным. Вариант лимфомы устанавливали в соответствии с классификацией ВОЗ (2001) на основании гистологического, гистохимического и иммуноморфологического исследований биоптатов опухолевых тканей.

Всем больным проводилось общеклиническое и лабораторное обследование. Определение общего состояния по шкале ECOG осуществлялось в каждом конкретном случае и имело следующую градацию:

- 0 баллов — нормальная активность;
- 1 балл больной способен к нормальной деятельности, хотя имеются незначительные симптомы или признаки заболевания;
- 2 балла — больше 50% дневного времени больной проводит не в постели, но иногда ему необходимо принять горизонтальное положение;
- 3 балла — больной нуждается в пребывании в постели более 50% дневного времени;
- 4 балла — больной не способен обслуживать себя, прикован к постели.

Симптомами интоксикации являлись рецидивирующая лихорадка (температура тела $> 38,3^{\circ}\text{C}$), профузная ночная потливость и/или потеря $> 10\%$ массы тела в течение 6 мес. Клиническая стадия заболевания устанавлива-

лась согласно критериям классификации Энн-Арбор (1971). После всестороннего обследования каждый пациент был отнесен к соответствующей прогностической группе согласно МПИ. В настоящее время отсутствует международная система прогнозирования для АККЛ. В связи с этим для исходной прогностической характеристики больных мы использовали МПИ, который включает 5 факторов: возраст старше 60 лет, уровень ЛДГ сыворотки крови выше нормы, показатель общего состояния по 5-ступенчатой шкале ECOG, соответствующий 2–4-й степени, III–IV стадия заболевания по классификации Энн-Арбор и наличие более одного экстранодального очага поражения. На основании присутствия одновременно того или иного числа неблагоприятных факторов пациенты попадают в одну из 4 групп риска (степени) неудач лечения и раннего прогрессирования болезни:

- низкая (0–1 балл);
- низкая/промежуточная (2 балла);
- промежуточная/высокая (3 балла);
- высокая (4–5 баллов).

С учетом данных общеклинического и морфоиммунологического обследования всем больным проводилась специфическая противоопухолевая терапия. Пациенты получали общепринятую унифицированную стандартную лекарственную терапию: в большинстве случаев (>80%) антрациклинсодержащую схему СНОР-21. Анализ проведен в 2 сопоставимых по эффекту терапии 1-й линии группах больных: 1-я группа благоприятного течения (с достигнутой полной ремиссией — ПР) и 2-я группа неблагоприятного течения (у которых ПР не достигнута). Результат проведенного лечения оценивался после завершения терапии и повторного обследования больного в соответствии с критериями, принятыми Международной рабочей группой (1999):

- ПР — отсутствие проявлений болезни (клинически и по данным обследования) и обусловленных ею симптомов, нормализация ЛДГ, полная регрессия опухолевых образований, отсутствие изменений в костном мозге;
- ПР/недоказанная — отсутствие признаков болезни (клинически и по данным объективного метода обследования); наличие резидуальных ЛУ размером 1,5 см в максимальном диаметре как результат регрессии более чем на 75%; сокращение конгломератов ЛУ более чем на 75%; изменения

в костном мозге, интерпретированные как «неопределенные»;

- частичная ремиссия (ЧР) — уменьшение всех опухолевых образований более чем на 50% при отсутствии появления новых;
- стабилизация — уменьшение менее чем на 50% или увеличение менее чем на 25% размеров опухолевых образований;
- прогрессирование — проявление новых очагов поражения и/или увеличение первичного опухолевого поражения более чем на 25%.

Отдаленные результаты терапии оценивались по следующим показателям согласно критериям NCI:

- ОВ рассчитывалась от момента постановки диагноза до смерти от любой причины или даты последней явки больного;
- безрецидивная выживаемость (БРВ) рассчитывалась от даты констатации ПР до даты выявления рецидива или последней явки больного;
- бессобытийная выживаемость (БСВ) рассчитывалась от даты начала лечения до развития «отрицательного события» (отсутствие ПР после всей программы лечения, стабилизации, прогрессирования, осложнений лечения, вызвавших его прекращение, рецидива, смерти от любой причины, развитие второй опухоли и других осложнений, снижающих качество или угрожающих жизни больного) или даты последней явки больного.

Статистический анализ данных проведен с использованием универсального пакета SPSS 11,5 для WINDOWS. Расчет выживаемости производился по состоянию на 1 августа 2007 г. Определение медианы выживаемости и построение кривых выживаемости осуществлено по методу Каплана — Майера. Однофакторный анализ выживаемости выполнен с применением log-rank-теста. Сравнительный анализ непараметрических данных проводился при помощи построения таблиц сопряженности признаков с использованием точного критерия Фишера.

Результаты

Средний возраст больных составил 35,3 года (от 16 до 79 лет). Медиана возраста — 34 года. Соотношение М/Ж было равным 1,1:1. Медиана наблюдения составила 53 (от 1 до 113) мес. Все пациенты получили стандартные режимы химиотерапии, 10 (24%) больных — в комбинации с лучевым воздействием (табл. 1).

Нами оценена эффективность терапии 1-й линии. Оказалось, что общий эффект составил 54,5%: ПР была достигнута у 17 (40,5%) пациентов, ЧР — у 6 (14%). Прогрессирование отмечено у 18 (43%) человек. Смерть от сопутствующей патологии (инфаркт миокарда) констатирована у 1 (2,5%) больного. Поскольку целью нашего исследования была оценка результатов проведенной терапии и выявление прогностических факторов, влияющих на них, мы подробно рассмотрели 2 группы больных в зависимости от эффекта терапии 1-й линии: достижение ПР (благоприятное течение) и отсутствие ПР (неблагоприятное течение).

Таблица 1. Виды специфической терапии

Вид терапии	Число пациентов (%)
ХТ	32 (76)
СНОР-21	26 (82)
СНОРVM26	1 (3)
СОР	1 (3)
СVPP	2 (6)
BEACOPP	1 (3)
BFM-90	1 (3)
Химиолучевое лечение	10 (24)

ПР была достигнута у 17 (40%) больных. Соотношение М/Ж в этой группе составило 1:1. Средний возраст пациентов был равен 34 годам (от 16 до 79 лет), медиана возраста составила 29 лет. В исследование включен только 1 больной старше 60 (79) лет). У 11 (65%) пациентов этой группы на момент диагностики были I и II стадии лимфомы, IV стадия констатирована у 6 (35%) человек.

У 10 (59%) больных локализация процесса носила характер изолированной лимфаденопатии. Наиболее часто в процесс были вовлечены ЛУ ниже диафрагмы — 6 случаев (из них в 1 случае — забрюшинные ЛУ), в 4 наблюдениях отмечено поражение периферических ЛУ выше диафрагмы. Изолированные экстранодальные поражения были нехарактерны только у 1 (6%) пациента выявлено вовлечение мягких тканей передней грудной стенки с участками изъязвлений на коже. Генерализованные поражения, включая лимфаденопатию и экстранодальные зоны вовлечения, диагностированы только у 6 (35%) человек. Чаще других поражались мягкие ткани, кости и кожа (по 2 случая). Характерно, что в половине случаев в этой группе больных наблюдался 1 экстранодальный очаг поражения (у 2 пациентов — вовлечение костной ткани, у 1 — щитовидной железы) в сочетании с лимфаденопатией. Наличие более одного экстранодального очага поражения зафиксировано у 3 (18%) пациентов. Большая опухолевая масса, превышающая 10 см, выявлена у 2 (12%) пациентов с поражением мягких тканей передней грудной стенки. Ни у одного из обследованных больных исходно не было вовлечения костного мозга.

При поступлении в клинику абсолютное большинство больных ($n=15$, 88%) находились в относительно удовлетворительном состоянии (ECOG 0—1). Уровень ЛДГ сыворотки крови выше нормы, а также симптомы интоксикации сопровождали течение болезни меньше чем в половине случаев по 7 (41%) пациентов. Снижение белка и альбумина ниже нормы зафиксировано у 1 больного. Учитывая все признаки, входящие в МПИ, подавляющая часть больных (82%) были отнесены в группу низкого и низкого/промежуточного риска раннего прогрессирования. Положительная ALK-реакция в опухолевых клетках была отмечена у большинства пациентов — 12 (70,5%) наблюдений.

В качестве терапии 1-й линии все больные получили специфическое лекарственное лечение: 10 (58%) пациентам была проведена только ХТ различными режимами 1-й линии (9 больных получали СНОР-21, 1 СОР). ХТ (6 больных — СНОР-21, 1 — СВРР) в комбинации с лучевым воздействием получили 7 (42%) человек.

Рецидивы заболевания развились у 3 (18%) пациентов с изначально IV стадией болезни; 2 из них изначально имели неблагоприятный прогноз по МПИ. Изолированные рецидивы в виде поражения периферических ЛУ выявлены у 2 пациентов (на 4-м и 30-м месяце наблюдения соответственно). Генерализованный рецидив возник в первичных зонах поражения через 20 мес у больного с исходно генерализованным процессом.

Таким образом, следует отметить, что после проведения терапии 1-й линии у 14 (82%) больных сохраняется ПР. Медиана наблюдения — 47 (от 12 до 113) мес. 1-летняя БРВ составила 94%, 2-летняя — 87%, а к 30 мес она была равной 77%; в дальнейшем кривая БРВ достигла плато и сохранялась на показателях 77% до конца срока наблюдения.

Группа больных неблагоприятного течения, не достигших ПР после проведения 1-й линии терапии, включала 25 человек. Медиана наблюдения равна 32 (от 1 до 92) мес. Соотношение М/Ж 1,1:1. Средний возраст больных — 33 года (от 16 до 72 лет), медиана возраста — 35 лет. Подавляющее большинство пациентов ($n=22$) на момент постановки диагноза были моложе 60 лет, 3 (12%) человека старше 60 (68, 69 и 72) лет.

В отличие от больных группы благоприятного течения случаи неблагоприятного течения характеризовались более высокой частотой встречаемости распространенных стадии болезни: III—IV стадии диагностированы у 18 (72%) пациентов: III — у 2 (8%) больных, IV — у 16 (64%), в то время как I стадия заболевания установлена только у 1 (4%) пациента, II — у 6 (24%) больных. Восемь (32%) человек имели исходную локализацию процесса в виде изолированной лимфаденопатии, что в 2 раза реже, чем в группе благоприятного течения. Наиболее часто — в 6 случаях — в процесс были вовлечены ЛУ выше диафрагмы, в 2 из них — в сочетании с массивным поражением медиастинальных ЛУ, генерализованная лимфаденопатия встретилась у 2 больных. Изолированные экстранодальные поражения выявлены у 3 (12%) пациентов, с одномоментным вовлечением мягких тканей и печени — у 1 больного, мягких тканей и костей — в 1 случае, мягких тканей, костей и костного мозга — у 1 пациента.

Характерной особенностью клинического течения болезни у этой категории больных было одномоментное вовлечение более одной зоны экстранодального поражения: 2 зон у 6 (24%) человек, 3 зон — у 3 (12%), у 1 (4%) пациента зафиксировано 5 экстранодальных очагов. Наиболее часто были поражены: мягкие ткани — 10 (40%) случаев, легочная и костная ткань — по 6 (24%) случаев, печень — 4 (16%), пищевод, селезенка, желудок — по 1 случаю. Среди мягких тканей часто встречающимися участками поражения были поясничная мышца и передняя грудная стенка, а при костной локализации поражение затрагивало преимущественно поясничный и крестцовый отделы позвоночника. Поражение костного мозга диагностировано у 3 (12%) пациентов. Симптомы интоксикации сопровождали течение болезни в 2 раза чаще в отличие от 1-й группы — 18 (72%) пациентов. Более чем у половины пациентов ($n=14$, 56%) общее состояние оценивалось 2—4 баллами по шкале ECOG. Повышение уровня ЛДГ констатировано у подавляющего большинства больных ($n=17$, 68%). Положительная экспрессия ALK-белка отмечена у 10 (40%) пациентов. Нехарактерным было наличие большой опухолевой массы (> 10 см), которая была выявлена только у 5 (20%) человек. При анализе полученных данных 12 (48%) больных были отнесены в группу высокого и высокого/промежуточного риска МПИ.

В качестве терапии 1-й линии все пациенты ($n=25$) получили специфическое лекарственное лечение, не отличающееся от такового в 1-й группе. Комбинированная химиолучевая терапия (в 2 случаях — с антрациклинсодержащими режимами — программой СНОРVM26 и СНОР-21, в 1 — с ВЕАСОРР) проведена 3 (12%) пациентам. Только ХТ различными режимами получили 22 (88%) человека: 18 — СНОР-21/СНОРVM26, 3 — ВЕАСОРР/СВРР, 1 — протокол ВФМ-90). Лечение оказалось неэффективным у 19 (76%) пациентов, у 18 из которых в процессе терапии отмечено прогрессирование процесса (табл. 2).

Таблица 2. Эффективность терапии 1-й линии

Результаты терапии	ПР	ЧР	Прогрессирование	Смертельный исход	Всего ...
Общие данные	17 (40,5)	6 (14)	18 (43)	1 (2,5)	42 (100)
Группа благоприятного течения	17	0	0	0	17 (40,5)
Группа неблагоприятного течения	0	6	17	1 (от сопутствующей патологии)	25 (59,5)

Примечание. Здесь и в табл. 3 представлено число больных (в скобках — процент).

Таблица 3. Характеристика пациентов в анализируемых группах

Показатель	Группа благоприятного течения	Группа неблагоприятного течения	Критерий Фишера (p)
Общее число больных	17 (100)	25 (100)	
Соотношение М/Ж	8/9	12/13	1
Средний возраст, годы			
< 60 лет	16 (94)	22 (88)	
> 60 лет	1 (6)	3 (12)	1
Экспрессия ALK			
— позитивная	13 (76)	10 (40)	
— негативная	4 (24)	15 (60)	0,000
Локализация поражения на момент постановки диагноза			
— изолированная лимфаденопатия	10 (59)	8 (32)	0,1
— изолированные экстранодальные поражения	1 (6)	3 (12)	0,6
— генерализованное поражение	6 (35)	14 (56)	0,2
Характерные экстранодальные зоны поражений:			
— мягкие ткани	2 (12)	10 (40)	0,1
— кости	2 (12)	6 (24)	0,6
— легочная ткань	2 (12)	6 (24)	0,6
Вовлечение > 1 экстранодальной зоны	2 (12)	10 (40)	0,08
Вовлечение костного мозга	0 (0)	3 (12)	1
Стадия			
I	7 (41)	1 (4)	0,02
II	4 (24)	6 (24)	
III	0	2 (8)	
IV	6 (35) 35	16 (64) 72	
Статус по шкале ECOG, баллы			
0—1	15 (88)	11 (44)	0,004
2—4	2 (22)	14 (56)	
Уровень ЛДГ:			
— норма	10 (59)	8 (32)	0,1
— выше нормы	7 (41)	17 (68)	
МПИ			
— низкий и низкий/промежуточный	14 (82)	13 (52)	0,05
— промежуточный/высокий и высокий	3 (18)	12 (48)	
Наличие большой массы опухоли (bulky)	2 (12)	5 (20)	0,6
Присутствие симптомов интоксикации	6 (35)	18 (72)	0,02
Уровень гемоглобина:			
— норма	12 (71)	13 (52)	
— ниже нормы	5 (29)	12 (48)	
Уровень общего белка:			
— норма	16 (94)	19 (76)	0,06
— ниже нормы	1 (6)	6 (24)	
Уровень альбумина:			
— норма	16 (94)	17 (68)	0,06
— ниже нормы	1 (6)	8 (32)	

Таблица 4. Показатели ОВ в двух анализируемых группах

Выживаемость больных	ОВ			
	1-летняя (n=25)	2-летняя (n=15)	4-летняя (n=9)	5-летняя (n=6)
Достигшие ПР	100	100	100	100
Не достигшие ПР	60	49	35	17

Сравнительный анализ непараметрических данных (анализируемых признаков) с использованием точного критерия Фишера показал, что в группе больных, не достигших ПР, имеется тенденция к преобладанию неблагоприятных прогностических признаков. Однако достоверные различия в 2 группах получены только по следующим показателям: экспрессия ALK, распространенность (стадия) заболевания, общее состояние по шкале ECOG, наличие симптомов интоксикации (табл. 3).

Отдаленные результаты наглядно демонстрируют плохой прогноз у неэффективно леченных больных: 5-летняя ОВ при достижении ПР после проведения 1-й линии терапии — 100% (медиана выживаемости не достигнута), в то время как при неэффективной терапии она составила 17%: медиана выживаемости — 8 мес, расчет выполнен только больным со сроком наблюдения более 60 мес — 6 человек (табл. 4).

Сравнительный анализ стандартных и дополнительных факторов риска в обеих группах позволил установить следующее (табл. 5).

1. Ни один из анализируемых прогностических факторов не влиял на результаты ОВ в группе больных благоприятного течения. Только достижение ПР в результате терапии 1-й линии является единственным значимым прогностическим фактором, влияющим на выживаемость пациентов данной группы.

2. В группе больных, не достигших ПР, достоверно влияли на отдаленные результаты: МПИ, наличие экспрессии ALK-белка опухолевыми клетками, стадия заболевания.

- МПИ позволял прогнозировать отдаленные результаты только в группе пациентов, не достигших ПР: 5-летняя ОВ больных с низким и низким/промежуточным риском составила 44% по сравнению с 0% при высоком и высоком/промежуточном риске ($p=0,01$).
- Наличие экспрессии ALK-белка достоверно улучшало прогноз в группе пациентов, не достигших ПР: 5-летняя ОВ больных в группе с экспрессией ALK-белка составила 50% по сравнению с 14% при ее отсутствии ($p=0,04$).
- Стадия заболевания в дебюте болезни прогнозировала выживаемость в группе больных неблагоприятного течения: так, при I стадии 5-летняя ОВ составила 100%, при II — 66%, при III — 0%, при IV — 18% ($p=0,04$).

Остальные факторы прогноза (состояние по ECOG, наличие симптомов интоксикации), по данным критерия Фишера достоверно отличающие 2 группы больных, не влияли на отдаленные результаты. Высокая частота поражения мягких тканей, костей и легочной ткани сначала расценивалась как характерный признак системной АККЛ и связывалась с риском неэффективности лечения. Нами не было установлено, что локализация опухоли является фактором риска.

Заключение

В этом ретроспективном исследовании мы приводим анализ клинических данных, факторов риска и исходов лечения большой серии наблюдений ($n=42$) первичной системной АККЛ с Т-/О- фенотипом. На основании оценки эффективности терапии 1-й линии больные были разделены на 2 группы: достигшие ПР (благоприятное течение) и не достигшие ПР (неблагоприятное течение). Это деление дало нам возможность проанализировать исходные клинические характеристики и факторы прогноза отдельно в 2 группах и доказать неоспоримость факта достижения ПР как основного показателя дальнейшего благоприятного прогноза.

В группе больных с неблагоприятным течением (не достигших ПР) опухоль характеризовалась тенденцией к преобладанию признаков, входящих в стандартные (МПИ) и дополнительно анализируемые нами факторы неблагоприятного прогноза. Достоверные различия с группой пациентов с благоприятным течением (достигших ПР) получены только по следующим признакам: экспрессия ALK-белка (обосновывающая дальнейшее деление и изучение однородной группы больных), стадия заболевания, оценка общего состояния пациентов по шкале ECOG, наличие В-симптомов.

По данным мировой литературы, первичная системная АККЛ часто имела агрессивное клиническое течение. В этих исследованиях не было сведений об

Таблица 5. Факторы, достоверно влияющие на уровень 5-летней ОВ (%) в группе больных с неблагоприятным течением

Анализируемый фактор	ОВ	p
МПИ		
Низкий и низкий/промежуточный	44	0,01
Промежуточный/высокий и высокий	0	
ALK-принадлежность		
Положительная	50	0,04
Отрицательная	14	
Стадия заболевания		
I	100	0,04
II	66	
III	0	
IV	18	

экспрессии ALK-белка. Оказалось, что ALK-позитивные АККЛ имеют более благоприятный прогноз по сравнению с ALK-негативными. Представленные результаты дополнительно подтверждают и расширяют эти наблюдения. Более того, представлены доказательства того, что на основании показателя МПИ и исходной распространенности заболевания можно прогнозировать исход заболевания в однородной группе

больных, не достигших ПР после проведения 1-й линии терапии.

При анализе материала не было установлено каких-либо клинических факторов риска, связанных с исходной локализацией опухолевого процесса, влияющих на отдаленные результаты, но этот вопрос необходимо изучать в дальнейших проспективных исследованиях, учитывая наличие характерных для АККЛ зон локализации.

Л и т е р а т у р а

- Kadin M.E., Morris S.W. The t(2;5) in human lymphomas. *Leuk Lymphoma* 1998;29(34):249—56.
- Stein H., Mason D.Y., Gerdes J. et al. The expression of the Hodgkin's disease associated antigen Ki-1 in reactive and neoplastic lymphoid tissue: evidence that Reed—Sternberg cells and histiocytic malignancies are derived from activated lymphoid cells. *Blood* 1985;66(4):848—58.
- Sandlund J.T., Pui C.H., Santana V.M. et al. Clinical features and treatment outcome for children with CD30+ large-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1994;12(5):895—8.
- Falini B., Pileri S., Zinzani P.L. et al. ALK+ lymphoma: clinico-pathological findings and outcome. *Blood* 1999;93(8):2697—706.
- Noorali S., Pervez S., Yaqoob N. et al. Prevalence and characterization of anaplastic large cell lymphoma and its association with Epstein—Barr virus in Pakistani patients. *Pathol Res Pract* 2004;200(10):669—79.
- Costes-Martineau V., Delfour C., Obled S. et al. Anaplastic lymphoma kinase (ALK) protein expressing lymphoma after liver transplantation: case report and literature review. *J Clin Pathol* 2002; 55(11):868—71.
- Harris N.L., Jaffe E.S., Stein H. et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994;84(5):1361—92.
- Willemze R., Jaffe E.S., Burg G. et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood* 2005;105(10):3768—85.
- Kumar S., Pittaluga S., Raffeld M. et al. Primary cutaneous CD30-positive anaplastic large cell lymphoma in childhood: report of 4 cases and review of the literature. *Pediatr Dev Pathol* 2005;8(1):52—60.
- Willemze R., Meijer C.J. Primary cutaneous CD30-positive lymphoproliferative disorders. *Hematol Oncol Clin North Am* 2003;17(6):1319—32.
- Falini B. *Anaplastic large cell lymphoma: pathological, molecular and clinical features*. Blackwell science Ltd, Br J Haematol 2001;114(4):741—60.
- Lae M.E., Ahmed I., Macon W.R. Clusterin is widely expressed in systemic anaplastic large cell lymphoma but fails to differentiate primary from secondary cutaneous anaplastic large cell lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2002;118(5):773—9.
- Gascoyne R.D., Aoun P., Wu D. et al. Prognostic significance of anaplastic lymphoma kinase (ALK) protein expression in adults with anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 1999;93(11):3913—21.
- Williams D.M., Hobson R., Imeson J. et al. Anaplastic large cell lymphoma in childhood: analysis of 72 patients treated on The United Kingdom Children's Cancer Study Group chemotherapy regimens. *Br J Haematol* 2002;117(4):812—20.

ИНФОРМАЦИОННОЕ ПИСЬМО №2 УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии Росздрава проводит 29—31 января 2009 г. VI симпозиум «Биологические основы терапии онкологических и гематологических заболеваний».

Вопросы для обсуждения

- Ангиогенез
- Гемопоз и стволовые клетки
- Генная терапия
- Геномика и протеомика
- Клеточная иммунотерапия и вакцинация
- Клинические исследования и новые лекарственные препараты
- Лейкемогенез
- Лекарственная резистентность и фармакология
- Микроокружение
- Новые достижения в диагностике
- Новые достижения в терапии и таргетная терапия
- Новые достижения в иммунотерапии
- Процессинг и организация банков стволовых клеток
- Регуляция клеточного цикла и апоптоз
- Ростовые факторы, рецепторы и сигнальные пути
- Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
- Цитогенетика и молекулярная диагностика
- Экспериментальная гематология и онкология

Приглашаем Вас принять участие в работе симпозиума. Тезисы, напечатанные в программе Word (одна страница формата А4, интервал 1,5, размер шрифта 12), просьба присылать по электронной почте **не позднее 15 ноября 2008 г.**

Официальный язык: русский, английский.

Симпозиум будет проходить на базе Учебного центра ЦК профсоюзов работников АПК РФ. Адрес: 142784, Московская область, Ленинский район, пос. Московский, Учебный центр.

Проезд до ст. м. «Юго-Западная», далее автобус 611 до ост-ки «Пос. Московский» (15 мин); автобус-экспресс до совхоза «Московский», ост-ка «Площадь» (15—18 мин); отправление автобусов — каждые 30 мин.

Адрес оргкомитета: 119571, Москва, Ленинский пр-т, 117, корп. 2, ФГУ ФНКЦ ДГОИ Росздрава

Тел.: +7 (495) 935-66-56, 936-91-59

Факс: +7 (495) 935-55-10

E-mail: info@niidg.ru

Председатель оргкомитета, член-корреспондент РАМН,

проф. А.Г. Румянцев

ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕРАПИИ НАТИВНОЙ E. COLI-АСПАРАГИНАЗОЙ В ПРОТОКОЛЕ ALL-MB 2002 У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ СТАНДАРТНОЙ ГРУППЫ РИСКА

М.Ю. Горошкова¹, Ю.В. Румянцева², О.В. Алейникова³, С.А. Дудкин¹, Л.Г. Фечина⁴,
А.В. Шамардина⁵, О.В. Стрелева⁴, К.Л. Кондратчик⁶, Л.М. Минкина⁷, Е.С. Лапотентова³,
Е.В. Инюшкина⁸, О.Б. Козлова⁹, Е.В. Жуковская¹⁰, О.П. Хлебникова⁴, Е.В. Башарова¹⁰,
В.Н. Тимофеева¹¹, Г.П. Павлова¹², В.Д. Злобина¹³, О.А. Утробина¹³, Е.С. Банщикова¹⁴,
К.С. Асланян¹⁵, Е.В. Кондакова¹⁶, Е.В. Целуосова¹⁷, Н.В. Мякова^{2,18}, Т.В. Турובה¹⁹, О.В. Рыскаль²⁰,
О.Ю. Фукс^{2,6}, Н.Ф. Чипсанова²¹, В.В. Лебедев²², С.Р. Варфоломеева², А.И. Карачунский²

¹Городская детская клиническая больница №4, Новокузнецк; ²ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии, Москва; ³РНПЦ детской онкологии и гематологии, Минск, Республика Беларусь; ⁴Центр онкологии и гематологии Областной детской клинической больницы №1, Екатеринбург; ⁵Нижегородская областная детская клиническая больница; ⁶Морозовская детская городская клиническая больница, Москва; ⁷Детская городская клиническая больница, Владивосток; ⁸Московский областной онкологический диспансер, Балашиха; ⁹Областная клиническая больница, Иваново; ¹⁰Челябинская областная детская клиническая больница; ¹¹Ульяновская областная детская клиническая больница; ¹²Республиканская детская клиническая больница МЗСР Чувашской Республики, Чебоксары; ¹³Центральная районная больница, Новосибирск; ¹⁴Республиканская детская клиническая больница №1, Национальный центр медицины, Якутск; ¹⁵Областная детская клиническая больница, Ростов-на-Дону; ¹⁶Сургутская окружная клиническая больница УХМАЮ — Югры; ¹⁷Кировский НИИ гематологии и переливания крови; ¹⁸Республиканская детская клиническая больница, Москва; ¹⁹Областная детская клиническая больница, Архангельск; ²⁰Областная детская клиническая больница, Пермь; ²¹Коми республиканский кардиологический диспансер, Сыктывкар; ²²Детская краевая клиническая больница, Краснодар

В работе представлены результаты мультицентрового рандомизированного исследования эффективности двух дозовых режимов COLI-ASP у детей и подростков, больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) стандартной группы риска (СГР), при лечении по протоколу ALL-MB-2002. Основная цель исследования — выяснить, возможно ли снизить дозу COLI-ASP без потери эффективности терапии. В анализ включены первичные больные с ОЛЛ, зарегистрированные в 36 клиниках России и Беларуси, вошедшие в исследование в период с 01.05.2002 г. по 10.10.2006 г. Из 819 пациентов, включенных в анализ, 414 человек получали COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м² (контрольная группа), а 405 детей — в дозе 5000 ЕД/м² (экспериментальная группа). Статистически значимых различий между пациентами 2 групп по полу, возрасту, исходному лейкоцитозу и размеру селезенки обнаружено не было. Результаты исследования показали отсутствие статистически и клинически значимых различий в показателях выживаемости бессобытийной — БСВ, общей — ОВ и безрецидивной — БРВ и частоте рецидивов при использовании двух дозовых режимов COLI-ASP. Однако летальность в ремиссии больных контрольной группы оказалась в 2 раза выше, чем таковая у пациентов экспериментальной группы ($p=0,02$). При детальном анализе исходов терапии в отдельных подгруппах больных также не выявлено каких-либо различий между контрольной и экспериментальной ветвями исследования. Мультифакторный регрессионный анализ по Коксу показал, что факторами, влияющими на БСВ и БРВ, являются инициальные размеры селезенки, инициальный лейкоцитоз, возраст и ответ на лечение в периоде индукции, но не доза E.Coli аспарагиназы. Нами также обнаружено, что среди пациентов СГР имеется подгруппа больных без факторов риска, для которых уменьшение дозы COLI-ASP может привести к существенному улучшению выживаемости за счет снижения токсичности и летальности в ремиссии.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, дети, L-аспарагиназа, эффективность, токсичность

E. COLI ASPARAGINASE THERAPY OPTIMIZATION IN CHILDREN WITH STANDARD RISK ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA TREATED ACCORDING ALL-MB 2002 PROTOCOL

M.Yu. Goroshkova¹, Yu.V. Rumyantseva², O.V. Aleinikova³, S.A. Dudkin¹, L.G. Fechina⁴, A.V. Shamardina⁵, O.V. Strelueva⁴, K.L. Kondratchik⁶, L.M. Minkina⁷, E.S. Lapotentova³, E.V. Inyushkina⁸, O.B. Kozlova⁹, E.V. Zhukovskaya¹⁰, O.P. Khebnikova⁴, E.V. Basharova¹⁰, V.N. Timofeeva¹¹, G.P. Pavlova¹², V.D. Zlobina¹³, O.A. Utrobina¹³, E.S. Bانشchikova¹⁴, K.S. Aslanyan¹⁵, E.V. Kondakova¹⁶, E.V. Tselousova¹⁷, N.V. Myakova^{2,18}, T.V. Turobova¹⁹, O.V. Ryskal²⁰, O.Yu. Fuks^{2,6}, N.F. Chipsanova²¹, V.V. Lebedev²², S.R. Varfolomeeva², A.I. Karachunsky²

¹Clinical Children Hospital №4, Novokuznetsk, Russia; ²Federal Research Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia; ³Republic Centre for Paediatric Oncology and Haematology, Minsk, Belarus; ⁴Regional Centre for Paediatric Oncology and Haematology, Yekaterinburg, Russia; ⁵Regional Clinical Children Hospital, N. Novgorod, Russia; ⁶Morozov Children Clinical Hospital, Moscow, Russia; ⁷Clinical Children Hospital, Vladivostok, Russia; ⁸Moscow District Oncology Dispenser, Balaschicha, Russia; ⁹Regional Clinical Hospital, Ivanovo, Russia; ¹⁰Regional Children Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia; ¹¹Regional Children Clinical Hospital, Ulyanovsk, Russia; ¹²Republic Children Clinical Hospital, Cheboksary, Russia; ¹³Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia; ¹⁴Republic Hospital №1 — National Medicine Centre, Yakutsk, Russia; ¹⁵Regional Children Clinical Hospital, Rostov-on-Don, Russia; ¹⁶Regional Children Clinical Hospital, Surgut, Russia; ¹⁷Kirov Research Centre of Hematology and Transfusiology, Kirov, Russia; ¹⁸Russian Children Clinical Hospital, Moscow, Russia; ¹⁹Regional Children Clinical Hospital, Archangelsk, Russia; ²⁰Regional Children Clinical Hospital, Perm, Russia; ²¹Regional cardiological dispenser, Syktvykar, Russia; ²²Regional Children Clinical Hospital, Krasnodar, Russia

The paper presents the results of a multicenter randomized study of two-dose COLI-ASP regimens in therapy of consolidation of standard risk-group (SRG) children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia (ALL) treated by the ALL-MB-2002 protocol. The principal aim of the study was to elucidate whether the dose of COLI-ASP might be reduced without losing the efficiency of therapy. The analysis covered primary ALL patients notified at 36 clinics of Russia and Belarus, enrolled for the study in the period of May 1, 2002, to October 10, 2006. Out of 819 patients to be examined, 414 received COLI-ASP in a dose of 10,000 U/m² (a control group), and 405 children took it in a dose of 5,000 U/m² (a study group). No statistically significant differences were found between the patients in gender, age, baseline leukocytosis, and spleen size. The study showed no statistically and clinically significant differences in event-free, overall, and relapse-free survival (EFS, OS, and RFS, respectively) and relapse rates with the use of two-dose COLI-ASP regimens. However, in the control group, the death rate in remission was twice greater than that in the study group ($p = 0.02$). Detailed analysis of the outcomes of therapy in some subgroups revealed no differences between the control and study groups. The Cox multiple regression analysis has indicated that the factors influencing EFS and RFS are the baseline sizes of the spleen, baseline leukocytosis, age, and a response to treatment in the period of induction, rather than the dose of E. coli asparaginase. The authors have also found that among the SRG patients, there is a subgroup of patients without risk factors, in whom the reduction in the COLI-ASP dose may substantially increase survival rates, by lowering toxicity and mortality in remission.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, children, L-asparaginase, efficacy, toxicity

L-аспарагиназа (ASP), получаемая из определенных штаммов кишечной палочки (COLI-ASP), — оригинальный препарат биологического происхождения, используемый в лечении острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у детей с 1970 г. [1, 2]. COLI-ASP катализирует гидролиз L-аспарагина (ASN) до аспартата и аммония, в результате чего создаются низкие уровни ASN в плазме и спинномозговой жидкости. В свою очередь, дефицит ASN ингибирует синтез белка в лейкемических клетках и вызывает их гибель. При этом нормальные клетки менее чувствительны к дефициту ASN из-за своей способности синтезировать его путем активации фермента ASN [3]. Вызывая выраженный противоопухольевый эффект, COLI-ASP по своему механизму действия является ферментом, а не «настоящим» цитостатиком и обладает минимальной миелотоксичностью.

Начало интенсивному изучению аспарагиназы положил в 1953 г. J.G. Kidd [4], но первые работы по применению COLI-ASP в лечении лейкозов и лимфом у человека появились в 1967 г. [5]. При этом COLI-ASP применялась вначале только при лечении рецидивов лейкоза [5, 6], затем появились сообщения об успешном использовании ее для лечения первичного ОЛЛ [5].

Первоначально COLI-ASP входила в состав индукционной терапии в виде коротких 2—3-недельных курсов с интервалом в 2—3 дня, что позволило увеличить частоту достижения полных ремиссий с 85—90 до 98% [7]. Так, в индукции ремиссии протоколов группы BFM (Берлин—Франкфурт—Мюнстер) COLI-ASP использовалась в разовой дозе 10 000 ЕД/м² 1 раз в 3 дня в количестве 8 введений [8].

Значительные достижения в оптимизации терапии COLI-ASP были сделаны благодаря исследованиям Онкологического института Дана-Фарбер США (Dana Farber Cancer Institute — DFCI), когда в рамках протокола 77-01 был предложен режим длительного применения COLI-ASP. Разовые дозы препарата, используемые в протоколах DFCI, были высокими и составляли 50 000 ЕД/м² для детей младше 6 лет и 25 000 ЕД/м² — у более старших детей, при этом COLI-ASP вводили еженедельно до достижения кумулятивной дозы доксорубина. Оказалось, что в группе детей, получавших длительную терапию COLI-ASP, 5-летняя бессобытийная выживаемость (БСВ) составила 72%, в то время как в группе детей, не получавших такого лечения, только 47%. Высокую эффективность программы авторы связывали с режимом длительного применения и большой кумулятивной дозой COLI-ASP [9]. Однако рандомизированных исследований различных дозовых режимов COLI-ASP DFCI никогда не проводил.

При использовании высоких разовых доз COLI-ASP отмечаются такие тяжелые побочные эффекты, как упорная рвота, панкреатиты, нарушение белково-синтетической функции печени и неврологические осложнения.

В 1994 г. при фармакокинетическом мониторинге COLI-ASP фирмы MEDAC в исследованиях группы BFM было показано, что полная деплеция ASN как в плазме, так и в ликворе наблюдалась при применении COLI-ASP в дозах 10 000 ЕД/м², 5000 ЕД/м² и даже 2500 ЕД/м², но при использовании дозы 2500 ЕД/м² терапевтическая активность COLI-ASP в плазме (> 100

ЕД/л) была достигнута лишь у половины пациентов, поэтому в индукции ремиссии протоколов BFM, начиная с 1995 г., COLI-ASP стала применяться в разовой дозе 5000 ЕД/м² [10]. Необходимо отметить, что все фармакокинетические исследования проводились на небольших группах больных без учета различных факторов риска. В подавляющем большинстве случаев глубина и длительность деплеции ASN не сопоставлялись с результатами терапии. Несмотря на это, никаких больших контролируемых мультицентровых исследований различных дозовых режимов ASP в мире до сих пор проведено не было.

В 1991 г. при создании первого отечественного протокола для лечения ОЛЛ у детей «Москва—Берлин-91» (ALL-MB-91) [11,12] был использован анализ результатов исследований терапии ОЛЛ, проводимых основными кооперативными группами мира. Было решено одним из основных терапевтических компонентов в периоде консолидации сделать режим длительного применения COLI-ASP. Первоначально в московском моноцентровом пилотном исследовании в 1991—1992 гг. COLI-ASP использовалась в дозе 25 000 ЕД/м². Однако из-за высокой частоты развития панкреонекрозов и других токсических осложнений доза COLI-ASP была снижена и в консолидации протокола ALL-MB-91 использовался режим еженедельного введения COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м². Длительный режим применения COLI-ASP позволил полностью отказаться от элементов высокодозной химиотерапии (ХТ), при этом в многоцентровом рандомизированном исследовании эффективность нового протокола ALL-MB-91 оказалась такой же, как и модифицированного оригинального протокола ALL-BFM-90m, и между двумя протоколами не наблюдалось различий по показателям выживаемости за 9 лет наблюдения [13].

Целью дальнейшей оптимизации терапии по протоколам серии «Москва—Берлин» в России и Беларуси являлось снижение стоимости ХТ и уменьшение ее токсичности. Сокращение дозы COLI-ASP может значительно снизить токсичность у определенных подгрупп больных, в частности, риск развития панкреатита, осложнений со стороны центральной нервной системы (ЦНС) и, возможно, аллергических реакций без потери эффективности терапии, а также уменьшить затраты на лечение. Поэтому в рандомизированном исследовании ALL-MB-2002 было решено разделить группу пациентов стандартного риска (СГР) на 2 подгруппы и в одной из них снизить дозу COLI-ASP с 10 000 до 5000 ЕД/м², чтобы затем сравнить 2 группы больных по токсическим проявлениям, частоте возникновения рецидивов, БСВ, общей (ОВ) и безрецидивной (БРВ) выживаемости.

В данной статье представлены предварительные результаты этого исследования в контексте исходов терапии как для всех больных, так и для определенных подгрупп пациентов.

Материалы и методы

В анализ включены первичные больные СГР с ОЛЛ, зарегистрированные в 36 клиниках России и Беларуси, вступившие в исследование в период с 01.05.2002 г. по 10.10.2006 г. и рандомизированные на получение одного из 2 режимов COLI-ASP в исследовании ALL-MB-2002.

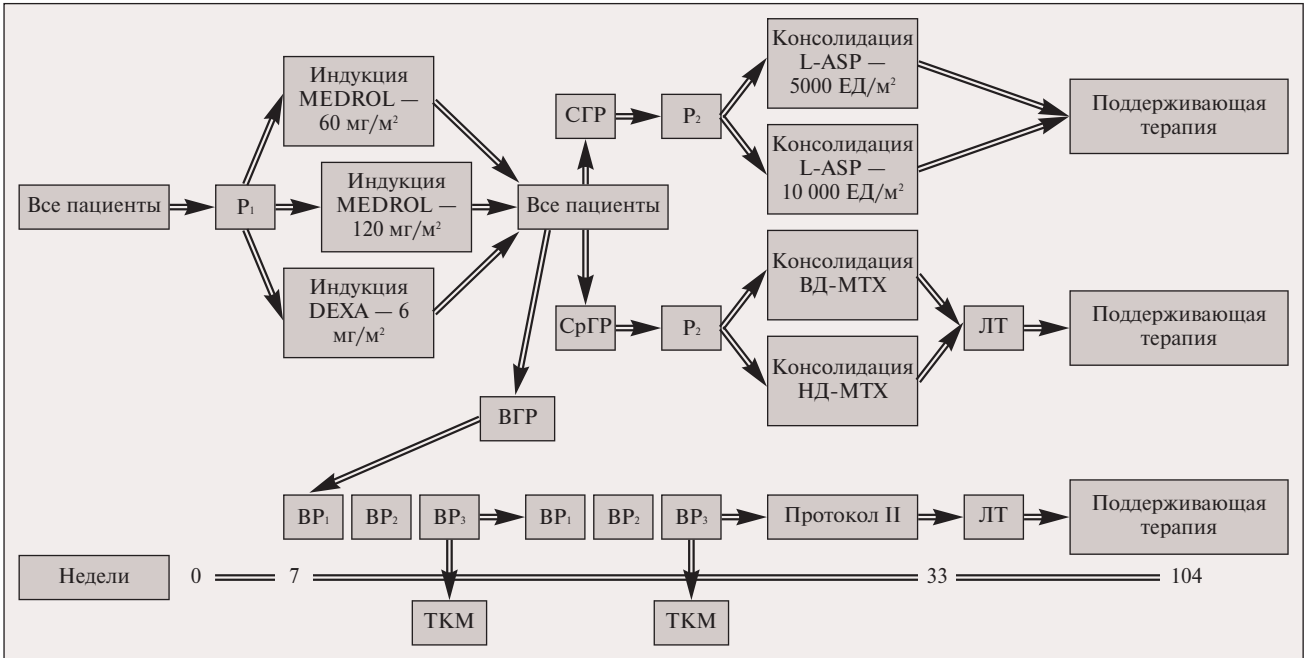


Рис. 1. Общая схема протокола ALL-MB-2002

P₁ — рандомизация 1; P₂ — рандомизация 2; СрГР — группа промежуточного риска; ВГР — группа высокого риска; ВД-MTX — высокие дозы метотрексата (2000 мг/м²); НД-MTX — низкие дозы MTX (30 мг/м²); ЛТ — краниальное облучение; ВР₁, ВР₂, ВР₃ — блоки высокого риска; DEXA — дексаметазон; MEDROL — метилпреднизолон

Критериями включения пациентов в анализ являлись:

- возраст в момент постановки диагноза от 1 года до 18 лет;
- соответствие критериям СГР (инициальный лейкоцитоз менее $50,0 \times 10^9 / л$; возраст старше 1 года; отсутствие инициального поражения ЦНС; не-T-клеточная иммунология и/или отсутствие инициального поражения переднего средостения; отсутствие транслокаций t(4;11) и/или t(9;22); достижение ремиссии на 36-й день терапии);
- согласие родителей на рандомизацию;
- полное выполнение этапа консолидации в соответствии с результатами рандомизации.

Диагностика и определение событий

• Всем больным в момент постановки диагноза проводилось стандартное клиническое обследование, включающее подробный осмотр с измерением размеров печени и селезенки (пальпаторно, от края реберной дуги, с использованием сантиметровой линейки), общий и биохимический анализ крови.

• Диагноз ОЛЛ устанавливали на основании морфологического, цитохимического и иммунологического исследования костного мозга пациентов при наличии >25% бластных клеток с лимфобластными цитохимическими и иммунологическими характеристиками опухолевого субстрата.

• Ремиссию диагностировали при наличии в костномозговом пунктате < 5% бластных клеток при полиморфной цитологической карти-

не костного мозга, нормальном общем анализе крови и отсутствии экстрамедуллярных проявлений лейкоза.

• Рецидив регистрировали при наличии >25% бластных клеток в костном мозге или при поражении ЦНС или других экстрамедуллярных проявлениях лейкоза после констатации ремиссии. Пациенту, у которого в костном мозге обнаруживалось >5%, но <25% бластных клеток, проводились повторные исследования костномозгового пунктата.

- Смерть в ремиссии — смерть от различных причин при отсутствии признаков ОЛЛ.
- Вторая опухоль — развитие второго онкологического заболевания после окончания лечения или на фоне ХТ по поводу ОЛЛ.
- Пациента считали «потерянным» для наблюдения (lost to follow-up — LFU) при отсутствии информации о нем в течение 6 мес и более.

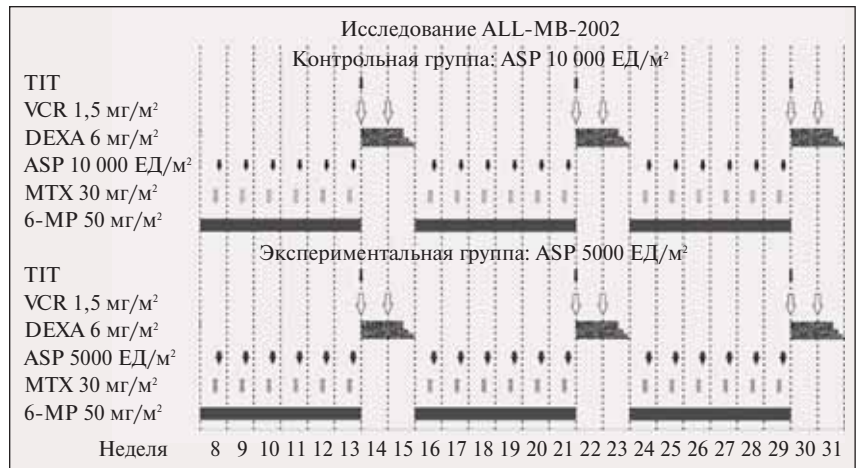


Рис. 2. Схема терапии консолидации для пациентов СГР (6-MP — 6-меркаптоурин)

Таблица 1. Включение рандомизированных больных в анализ по принципу *Treatment received*

Показатель	Всего	COLI-ASP 10 000 ЕД/м ²	COLI-ASP 5000 ЕД/м ²	p
Рандомизированные больные	861	436	425	
Переход на высокие дозы MTX — 2 г/м ²	19	12	7	0,356
Переход на PEG-ASP	9	8	1	0,0382
Изменение дозы COLI-ASP с 5000 на 10 000 ЕД/м ²	12	0	12	—
с 10 000 на 5000 ЕД/м ²	2	2	0	—
Рандомизированные больные, включенные в анализ результатов	819	414	405	

Необходимо отметить, что определение точного иммунофенотипического варианта ОЛЛ методом проточной цитофлуориметрии в исследовании ALL-MB-2002 еще не являлось строго обязательным для всех больных. В ряде случаев при отсутствии технической возможности проведения проточной цитофлуориметрии для стратификации пациента в СГР, помимо соответствия другим клиническим критериям, было достаточным отсутствие рентгенологических признаков поражения переднего средостения.

Терапия больных СГР

Схема протокола ALL-MB-2002 представлена на рис. 1. Согласно этому протоколу, выбор терапии ОЛЛ определяется группой риска. Для больных СГР и СрГР лечение состоит из фаз индукции ремиссии, постиндукционной консолидирующей терапии и поддерживающей терапии. Все больные в момент регистрации в исследовании независимо от группы риска рандомизировались на один из режимов стероидной терапии в индукции (DEXA в дозе 6 мг/м² в сутки и MEDROL в дозе 60 или 120 мг/м² в сутки). Индукционная терапия в СГР продолжалась с 1-й по 7-ю неделю и включала 6 еженедельных введений винкристина (VCR) в дозе 1,5 мг/м² и интратекальной терапии, однократное применение рубомицина (DNR) в дозе 45 мг/м² и ежедневный прием соответствующего глюкокортикоида в зависимости от рукава рандомизации. После достижения ремиссии больные получали один из режимов консолидирующей терапии с COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м² (контрольная группа) или 5000 ЕД/м² (экспериментальная группа). Схема терапии консолидации представлена на рис. 2. Консолидация состоит из 3 фаз: S₁, S₂ и S₃. Каждая фаза представляет собой

Таблица 2. Включение пациентов в исследование и результаты рандомизации

Показатель	Число больных
Всего пациентов СГР	900
Смерть в индукции	31
Отказ от рандомизации	8
Рандомизированные пациенты	861
COLI-ASP 10 000 ЕД/м ²	436
COLI-ASP 5000 ЕД/м ²	425

6-недельную терапию 6-МР ежедневно и еженедельными введениями MTX и COLI-ASP с последующей 2-недельной реиндукцией (DEXA + VCR + интратекальное введение 3 препаратов). COLI ASP вводили внутримышечно 1 раз в неделю через сутки после введения MTX. В качестве COLI-ASP использовалась COLI-ASP фирмы MEDAC («Аспарагиназа медак», Германия).

В случае возникновения аллергических реакций и невозможности дальнейшего применения COLI-ASP применялась пегилированная ASP (PEG-ASP) в дозе 1000 ЕД/м² 1 раз в неделю. При развитии аллергических реакций на PEG-ASP препарат отменяли совсем, если было введено 12 доз ASP и более в пересчете на COLI-ASP, или пациенту проводили терапию с использованием высокодозового метотрексата (ВД-MTX), если больной получил менее 12 введений COLI-ASP.

После завершения консолидации пациентам назначалось в течение 1,5 года стандартное поддерживающее лечение (6-МР и MTX), прерываемое каждые 6 нед реиндукционными курсами VCR и DEXA. Если в связи с невозможностью дальнейшего применения COLI-ASP пациента переводили на терапию ВД-MTX, продолжительность поддерживающей терапии удлинялась таким образом, чтобы общая длительность лечения составила не менее 2 лет.

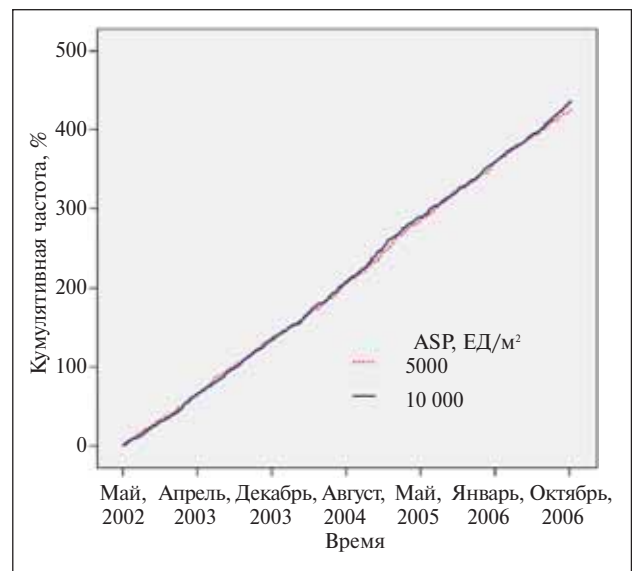
Рис. 3 Набор пациентов СГР на различные рукава рандомизации с ASP 10 000 и 5000 ЕД/м²

Таблица 3. Клинические характеристики больных и исходы лечения

Рукав рандомизации	Число больных			БСВ, %			БРВ, %		
	10 000*	5000**	<i>pFisher</i>	10 000*	5000**	<i>plog-rank</i>	10 000*	5000**	<i>plog-rank</i>
Всего	414	405		79±2	79±3	0,45	84±2	82±3	0,74
Пол									
мальчики	228	211	0,40	74±4	80±4	0,05	80±4	82±4	0,42
девочки	186	194		84±3	78±4	0,32	89±3	82±4	0,15
Возраст									
> 1 года и < 10 лет	327	311	0,50	82±3	81±3	0,87	87±3	85±3	0,54
≥10 лет	87	94		68±6	68±10	0,24	74±6	69±10	0,70
Инициальный лейкоцитоз/мм ³									
<10 тыс.	270	255		79±3	82±3	0,37	85±3	85±3	0,94
≥10 и < 20 тыс.	72	90		78±6	76±6	0,75	83±5	78±7	0,96
≥20 и <30 тыс.	33	35		85±6	73±9	0,57	91±5	78±9	0,47
≥30 тыс.	39	25		71±9	70±1	0,96	75±9	70±11	0,62
Селезенка									
<4 см	307	311	0,42	81±3	82±3	0,34	87±2	85±3	0,84
≥4 см	107	94		71±6	69±6	0,64	76±6	70±8	0,27
Ответ на 8-й день									
<1000/мкл	390	384	0,58	80±2	79±3	0,74	86±2	82±3	0,26
≥1000/мкл	17	13		49±1	76±1	0,17	49±13	82±12	0,073
Ответ на 15-й день									
<10%	339	326	0,47	81±3	81±3	0,39	87±3	84±3	0,58
≥10%	71	78		71±6	69±6	0,86	73±6	75±6	0,75
Стероид в индукции									
DEXA-6	184	182	0,89	80±3	79±4	0,39	86±3	81±4	0,80
MEDROL-60	201	178	0,21	77±4	79±4	0,62	82±4	82±4	0,996
MEDROL-120	28	42	0,08	80±8	79±7	0,82	86±8	83±6	0,59
Клиники									
1-я группа	158	183	0,047	79±4	79±4	0,78	80±4	80±4	0,71
2-я группа	256	222		79±3	80±4	0,53	88±3	85±3	0,42
Инициальный лейкоцитоз***, мм ³ и селезенка <4 см									
<30 000	237	252	0,08	85±3	85±3	0,30	90±3	86±3	0,72
<20 000	219	229	0,53	84±3	87±3	0,10	89±3	88±3	0,63
<10 000	172	177	0,93	82±4	88±4	0,044	87±4	90±3	0,42

*10 000 — COLI-ASP 10 000 ЕД/м²; **5000 — COLI-ASP 5000 ЕД/м²;***— только больные с доказанным не-Т-клеточным иммунофенотипом.

Анализ результатов

Анализ результатов лечения и выживаемости в настоящей работе был проведен по принципу Treatment

received analysis, т.е. в статистическую обработку были включены только больные, полностью получившие все необходимое лечение в соответствии с рукавом рандоми-

Таблица 4. Результаты терапии в зависимости от дозы COLI-ASP

Показатель	Контрольная группа (10 000 ЕД/м ²)		Экспериментальная группа (5000 ЕД/м ²)		<i>p</i>
	абс.	%	абс.	%	
Общее число больных в анализе	414	100	405	100	—
Смерть в ремиссии	26	6,3	12	3,0	0,0299
Рецидив	45	10,9	50	12,3	0,5150
изолированный костномозговой	20	4,8	27	6,7	0,2941
изолированный ЦНС	11	2,7	6	1,5	0,3277
комбинированный костномозговой + ЦНС	6	1,4	14	3,5	0,0720
Другие	8	1,9	3	0,7	0,2237
Вторая опухоль	0	0	2	0,5	0,2442
LFU	16	3,9	18	4,4	0,7281
ППР	327	79,0	323	79,8	0,7962

зации (табл. 1). База данных исследования для анализа была «заморожена» на 1.08.2008 г.

Результаты терапии ОЛЛ оценивали по частоте достижения полных ремиссий, количеству рецидивов, летальных исходов в полной ремиссии и числу пациентов, находящихся в полной продолжительной ремиссии (ППР), а также по показателям ОВ, БСВ и БРВ, рассчитанным по методу Каплана — Майера. При оценке БСВ событиями считались смерть в ремиссии, рецидив, вторая опухоль. Поскольку в анализ включены только пациенты, достигшие ремиссии к 36-му дню лечения и получавшие консолидирующую терапию в зависимости от рукава рандомизации, такие события, как смерть в индукции и отсутствие ответа на терапию, у них не зарегистрированы.

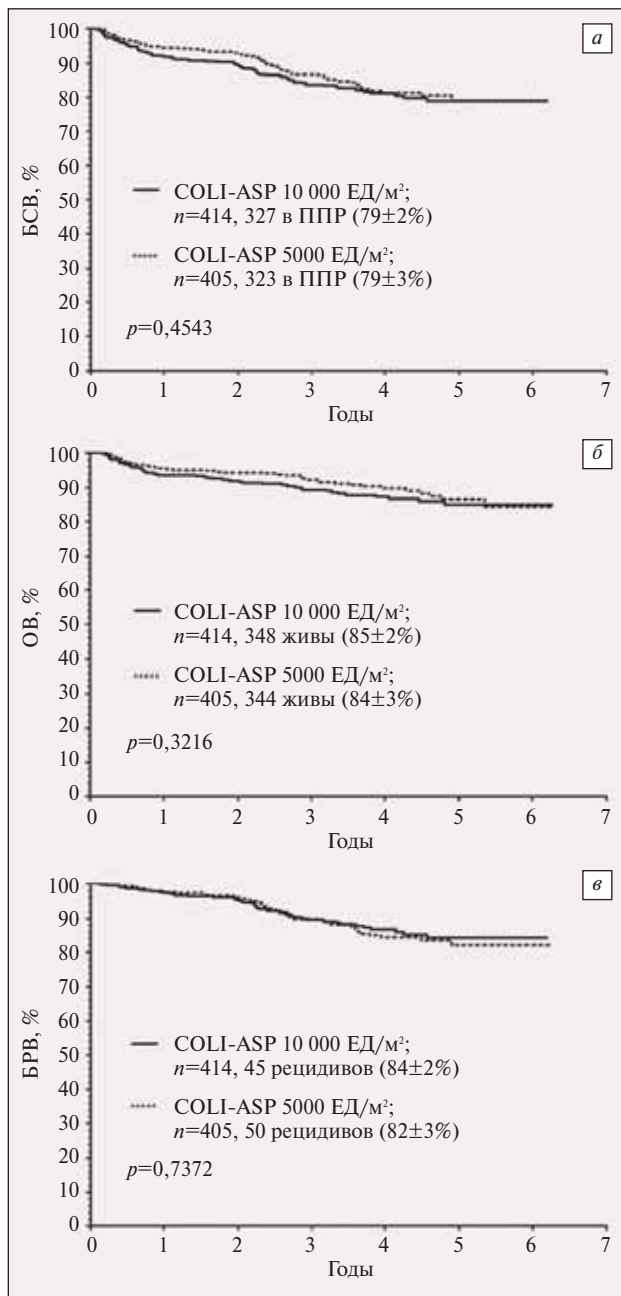


Рис. 4. Выживаемость пациентов СГР в исследовании ALL-MB-2002 в зависимости от рукава рандомизации: а — БСВ; б — ОВ; в — БРВ

При оценке ОВ событием являлась только смерть больного по любой причине, при оценке БРВ — только регистрация рецидива ОЛЛ.

Оценку раннего ответа на терапию проводилась по числу бластных клеток в периферической крови на 8-й день терапии и в костном мозге — на 15-й день терапии.

Анализ токсичности в данной работе основан на регистрации регулярных сообщений из центров о случаях возникновения аллергии, панкреатитов и тромбозов, потребовавших принятия решения об изменении терапии.

Сравнение групп пациентов по категориальным признакам проводили с помощью таблиц сопряженности с применением критерия Фишера (более точного, чем критерий χ^2). Для сравнения кривых выживаемости использовали непараметрический log-rank-критерий. Для оценки влияния различных факторов на выживаемость был проведен мультифакторный регрессионный анализ по Коксу методом обратного включения прогностических факторов по Вальду. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программ Microsoft Access, Paradox, GraphPad Prism 3.0, STATISTICA 7.0. Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

Результаты рандомизации и включения больных в анализ представлены в табл. 1 и 2 и показаны на рис. 3. Всего в рамках мультицентрового исследования за указанный период времени к СГР были отнесены 900 пациентов. Ряд больных были исключены из исследования по следующим причинам: 31 пациент умер в индукции, в 8 случаях зарегистрирован отказ от рандомизации. Оставшиеся пациенты ($n=861$) перед началом консолидации были рандомизированы (см. табл. 2).

Из 861 рандомизированных больных СГР 19 (2,2%) были переведены на терапию ВД-МТХ, а 9 (1,0%) из-за развития аллергических реакций получали терапию PEG-ASP. В некоторых случаях лечащие врачи самостоятельно принимали решение об изменении дозы COLI-ASP. На рис. 3 графически представлен кумулятивный набор рандомизированных больных в исследовании, и можно наблюдать, как проходила рандомизация за определенные промежутки времени. Видно, что кумулятивный набор больных в 2 рукавах рандомизации представлен прямыми линиями, практически полностью совпадающими друг с другом. Из 819 пациентов (95% всех рандомизированных больных), включенных в анализ (см. табл. 1), 414 человек получили COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м² (контрольная группа), а 405 детей — в дозе 5000 ЕД/м² (экспериментальная группа).

Инициальные характеристики больных представлены в табл. 3. Статистически значимых различий между пациентами по полу, возрасту, исходному лейкоцитозу и размеру селезенки не обнаружено. Контрольная и экспериментальная группы также не различались между собой в зависимости от стероидного препарата, используемого в индукции, и числа пациентов, имевших ранний ответ на терапию (количество бластных клеток в крови на 8-й день <1000/мм³ и в костном мозге на 15-й день терапии — менее 10%).

Таблица 5. Результаты мультифакторного регрессионного анализа по Коксу ($n=819$)

Показатель	БСВ		БРВ	
	статистика Вальда	p	статистика Вальда	p
Шаг 1 обратного анализа Вальда				
Пол	0,437	0,508	1,269	0,260
Инициальный лейкоцитоз	1,742	0,187	3,331	0,068
Селезенка	1,439	0,230	2,935	0,087
Печень	0,816	0,366	1,097	0,295
Ответ на 8-й день (< или > 1000 бластных клеток в крови)	4,460	0,035	6,785	0,009
Ответ на 15-й день (< или > 10% бластных клеток в костном мозге)	8,082	0,004	10,623	0,001
Возраст	9,676	0,002	17,571	0,000
Клиники (1-я и 2-я группы)	0,609	0,435	2,131	0,144
Стероид в индукции	0,430	0,512	0,121	0,727
Режим ASP в консолидации	0,564	0,453	0,245	0,621
Шаги 7-й для БСВ и 6-й для БРВ				
Инициальный лейкоцитоз	—	—	3,564	0,059
Селезенка	7,857	0,005	9,620	0,002
Ответ на 8-й день (< или > 1000 бластных клеток в крови)	6,162	0,013	6,334	0,012
Ответ на 15-й день (< или > 10% бластных клеток в костном мозге)	7,759	0,005	12,015	0,001
Возраст	8,495	0,004	17,891	0,000

Примечание. $p < 0,05$ означает независимое достоверное влияние конкретного фактора на выживаемость. При этом чем больше статистика Вальда для данного фактора, тем сильнее его влияние на выживаемость. Показаны результаты первого и последнего шагов обратного включения значимых факторов по Вальду.

В табл. 4 представлены общие результаты терапии в двух исследуемых группах. На момент анализа (01.08.2008 г.) в ППР находились 327 (79,0%) больных контрольной группы и 323 (79,8%) — экспериментальной. Медиана наблюдения составила 3,8 года (25—75% — 2,8—4,8 года). Статистически и клинически значимых различий по числу рецидивов (10,9% — в контрольной группе и 12,3% — в экспериментальной; $p=0,52$) и их распределению между двумя группами больных не обнаружено. Однако дети, получавшие COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м², умирали в ремиссии в 2 раза чаще, чем больные экспериментальной группы (6,3 и 3,0% соответственно, $p=0,03$). Основной причиной летальности среди больных обеих исследуемых групп явился сепсис (но не тяжелый панкреатит).

При анализе выживаемости по методу Каплана—Майера как статистически, так и клинически значимых различий между группами не обнаружено. Кривые выживаемости пациентов в зависимости от дозы COLI-ASP представлены на рис. 4. 6-летние кривые БСВ и ОВ оказались абсолютно идентичными: в обоих рукавах исследования можно наблюдать достижение плато и кривые

двух групп на 6-м году наблюдения полностью совпали. БСВ для больных обоих рукавов рандомизации составила $79 \pm 2 - 3\%$, $p=0,45$ (см. рис. 4, а), а ОВ 85 ± 2 и $84 \pm 3\%$, $p=0,32$ (см. рис. 4, б). БРВ в контрольной группе за 6 лет наблюдения составила $84 \pm 2\%$, а в экспериментальной — $82 \pm 3\%$, $p=0,72$.

В табл. 3 представлены не только клинические характеристики больных, но и исходы терапии в зависимости от различных факторов в виде БСВ и БРВ. Никаких достоверных и клинически значимых различий между пациентами двух исследуемых групп в зависимости от пола, возраста, инициального лейкоцитоза, режима стероидной терапии в индукции и раннего ответа на лечение обнаружить не удалось. Однако сохраняется некоторая «незрелость» результатов среди подростков и в подгруппах с небольшим числом больных (инициальный лейкоцитоз в интервале от 10 до 20 тыс./мкл, количество бластных клеток в периферической крови на 8-й день > 1000/мкл) в виде большого разброса и отсутствия плато. Для оценки выраженности мультицентрового эффекта был также проведен анализ внутри группы клиник, длительно участвующих в мультицент-

Таблица 6. Результаты терапии в зависимости от дозы COLI-ASP у больных с отсутствием факторов риска*

Показатель	Контрольная группа (10 000 ЕД/м ²)		Экспериментальная группа (5000 ЕД/м ²)		p
	абс.	%	абс.	%	
Всего больных	172	100	177	100	—
Смерть в ремиссии	11	6,4	2	1,1	0,0105
Рецидив	13	7,6	11	6,2	0,6758
Вторая опухоль	0	0	1	0,6	1,0000
LFU	7	4,1	9	5,1	0,7993
ППР	141	82,0	154	87,0	0,2364

*Пациенты СГР с инициальным числом лейкоцитов < $10,0 \times 10^9/\text{л}$, увеличением селезенки < 4 см и при наличии доказанного не-Т-клеточного иммунофенотипа бластных клеток.

ровом исследовании и имеющих большой опыт ведения таких пациентов (1-я группа), и среди всех остальных клиник — участников исследования (2-я группа). Видно, что различия между контрольной и экспериментальной группами не было ни в том, ни в другом случае. Летальность в ремиссии в клиниках 1-й группы составила 1,3% для контрольного и 1,1% для экспериментального рукавов исследования ($p=1,00$), частота рецидивов — 15,8 и 14,2% соответственно ($p=0,76$). Среди больных, получающих терапию в клиниках 2-й группы, летальность в ремиссии оказалась выше, но составила 9,4% для контрольного и 4,5% — для экспериментального рукавов рандомизации ($p=0,068$), а частота

та рецидивов оказалась даже ниже, чем таковая в клиниках 1-й группы, составив 7,8% для пациентов контрольной ветви и 10,8% — для больных экспериментальной ветвью ($p=0,27$).

Мультифакторный анализ по Коксу с использованием метода исключения Вальда показал (табл. 5), что факторами, независимо влияющими на прогноз в СГР, являются размеры селезенки, ранний ответ на терапию, возраст и инициальный лейкоцитоз (только в отношении БРВ). Остальные факторы в данном исследовании, включая режим применения COLI-ASP в консолидации и принадлежность клиники к 1-й группе, существенного влияния на выживаемость не оказывали.

В табл. 6 и на рис. 5 представлен сравнительный анализ результатов лечения в контрольном и экспериментальном рукавах исследования только для больных без факторов риска, т.е. для пациентов с инициальным лейкоцитозом $<10\,000/\text{мм}^3$, с размером селезенки <4 см и доказанным не-T-клеточным иммунофенотипом. Отмечено, что при абсолютно идентичном числе рецидивов в контрольной и экспериментальной ветвях исследования внутри данной подгруппы пациентов летальность в ремиссии у больных, принимавших COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м², оказалась в 5 раз выше, чем у пациентов, принимавших COLI-ASP в дозе 5000 ЕД/м². Это привело к достоверному улучшению БСВ и ОВ в экспериментальном рукаве исследования внутри данной подгруппы больных.

Анализ токсичности был проведен по спонтанным сообщениям из центров. Никаких статистически значимых различий по частоте токсических эффектов в экспериментальной и контрольной группах больных не выявлено. Однако при анализе причин, потребовавших изменения режима введения препарата (снижение дозы, отмена, смена препарата), пациентов, получавших COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м², по сравнению с группой больных, получавших COLI-ASP в дозе 5000 ЕД/м², достоверно чаще (1,8% против 0,2%, $p=0,04$) приходилось переводить на лечение с PEG-ASP за счет увеличения числа аллергических реакций (см. табл. 2). Статистически значимой разницы в частоте развития тяжелых панкреатитов между двумя исследуемыми группами не выявлено (1,6 и 1,1% соответственно, $p=0,59$).

Заключение

В настоящей работе представлены результаты мультицентрового рандомизированного исследования двух дозовых режимов COLI-ASP в терапии консолидации детей и подростков, больных ОЛЛ, отнесенных к СГР, при лечении по протоколу ALL-MB-2002. Основной идеей данного исследования было выяснение вопроса о том, возможно ли снизить дозу COLI-ASP без потери эффективности терапии.

Результаты исследования показали отсутствие статистически и клинически значимых различий в показателях выживаемости (БСВ, ОВ, БРВ) и частоте рецидивов при использовании двух дозовых режимов COLI-ASP. При этом как для контрольного, так и для экспериментального рукавов исследования при построении кривых выживаемости по методу Каплана — Майера можно наблюдать формирование плато и на 6-м году исследования они полностью совпада-

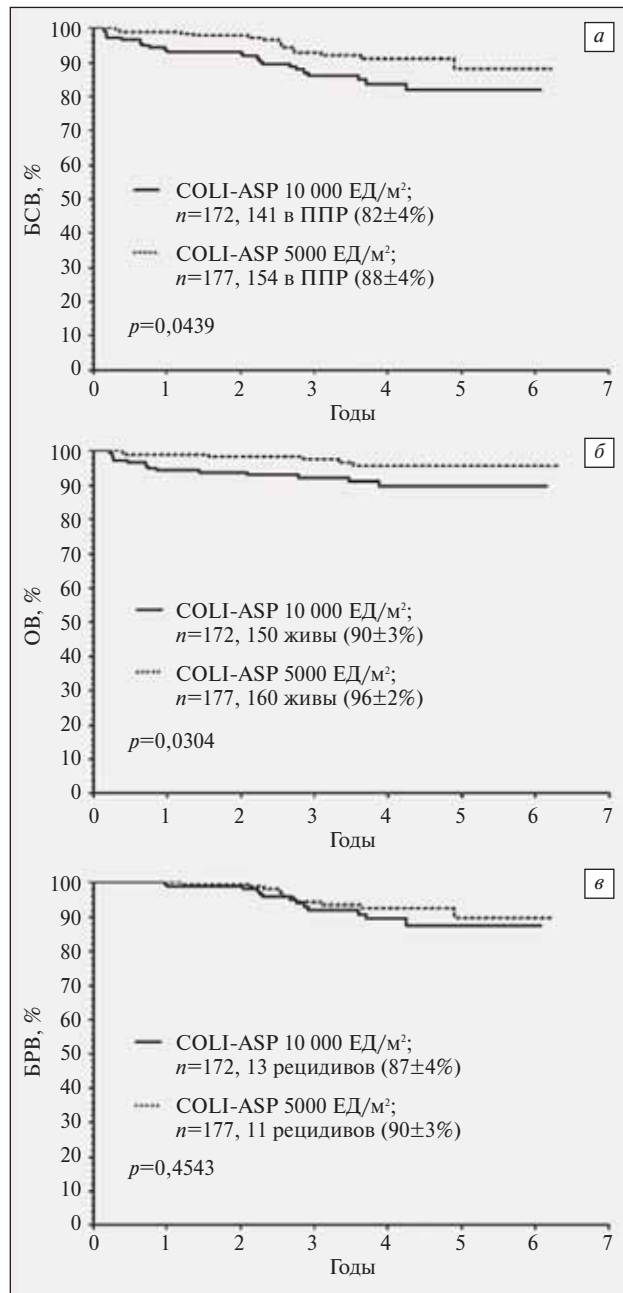


Рис. 5. Выживаемость пациентов СГР с инициальным числом лейкоцитов $<10,0 \times 10^9/\text{л}$, увеличением селезенки <4 см и при наличии доказанного не-T-клеточного иммунофенотипа бластных клеток в исследовании ALL-MB-2002: а — БСВ; б — ОВ; в — БРВ

ли. Однако летальность в ремиссии у больных контрольной группы оказалась в 2 раза выше, чем таковая у пациентов экспериментальной группы ($p=0,02070$). Детальный анализ исходов терапии в отдельных подгруппах больных также не обнаружил каких-либо различий между контрольной и экспериментальной ветвями исследования (см. табл. 3). Мультифакторный регрессионный анализ по Коксу показал, что как на БСВ, так и на БРВ влияют инициальные размеры селезенки, инициальный лейкоцитоз, возраст и ответ на лечение в периоде индукции, но никак не доза COLI-ASP.

Одной из потенциальных проблем исследования, проводимого в России, могло быть влияние различного опыта и условий лечения детей в клиниках, участвующих в данном исследовании (так называемый мультицентровый эффект). Для этого мы выделили клиники, длительно участвующие в многоцентровых исследованиях и имеющие максимальный опыт лечения таких больных (1-я группа), и провели отдельный сравнительный анализ результатов терапии в них и во всех остальных. Несмотря на то что летальность в ремиссии среди пациентов клиник 1-й группы действительно оказалась ниже, чем в клиниках 2-й группы, мы не обнаружили никаких различий между контрольным и экспериментальным рукавами исследования по отдельности как среди больных клиник 1-й группы, так и среди всех остальных. Однако если в клиниках 1-й группы частота как рецидивов, так и смертей в ремиссии между двумя рукавами рандомизации была практически идентичной, то в остальных клиниках наблюдалось статистически недостоверное повышение частоты рецидивов на руке с COLI-ASP 5000 ЕД/м² и клинически и статистически значимое увеличение летальности в ремиссии у больных, получавших COLI-ASP в дозе 10 000 ЕД/м². Мультифакторный регрессионный анализ по Коксу также продемонстрировал, что мультицентровый эффект не оказывает никакого влияния ни на БСВ, ни на БРВ.

К сожалению, у нас не было возможности параллельно провести фармакокинетический мониторинг активности ASP и уровня деплеции ASN. Однако наше мультицентровое исследование основано на предшествующих работах по фармакокинетике ASP, опубликованных E. Ahlke и соавт. в 1997 г. [10]. Оно полностью подтвердило положения данной работы о возможности сокращения дозы COLI-ASP до 5000 ЕД/м² без снижения эффективности лечения. Необходимо отметить, что любые работы по фармакокинетике, предлагающие новые режимы ХТ, должны обязательно проверяться в последующих больших многоцентровых контролируемых исследованиях.

Мы также обнаружили, что среди пациентов СГР, определенных по критериям ALL-MB-2002, имеется подгруппа больных без факторов риска, для которых уменьшение дозы COLI-ASP может привести к существенному улучшению выживаемости за счет снижения токсичности и летальности в ремиссии. Результаты проведенного исследования показывают, что использование COLI-ASP в дозе 5000 ЕД/м² у пациентов СГР с минимальными факторами риска способно привести к значительному улучшению эффективности терапии вследствие уменьшения ее токсичности и стоимости. Это может служить основой для рестратификации СГР.

Необходимо отметить, что результаты данной работы получены при использовании продуцируемой определенным штаммом COLI-ASP, производимой японской фирмой Kyowa Hakko и известной в мире по торговым маркам Leunasa® — в Японии, Paronal® — поставки фирмой Nyscomed в Бенилюкс, Kidrolase® — поставки швейцарской фирмой USAPHARMA во Францию, Испанию и Португалию и, наконец, *E. Coli* Аспарагиназа Медак®, поставляемой немецкой фирмой MEDAC в Германию и в страны Восточной Европы, в том числе и в Россию. Эти данные нельзя экстраполировать на другие ASP, полученные из других источников и даже других бактериальных штаммов кишечной палочки.

Л и т е р а т у р а

- Riehm H., Gadner H., Henre G. et al. The Berlin childhood acute lymphoblastic leukemia study. *Am J Pediatr Hematol* 1980;2:229—35.
- Sallan S.E., Hitchcock-Bryan S., Gelber R. et al. Influence of intensive asparaginase in the treatment of childhood non-T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Can Res* 1983;43:5601—7.
- Broome J.D. Evidence that the COLI-ASParaginase of guinea pig serum is responsible for its antilymphoma effects. *J Exp Med* 1963;118:99—120.
- Kidd J.G. Regression of transplanted lymphomas induced in vivo by means of normal guinea pig serum. *J Exp Med* 1953;98(6):565—82.
- Jones B., Holland J.F., Glidewell O. et al. Optimal use of COLI-ASParaginase (NSE-109229) in acute lymphoblastic leukemia. *Med Ped Oncol* 1977;3:387—400.
- Oettgen H.F., Stephenson P.A., Schwartz M.K. et al. Toxicity of *E. coli* COLI-ASParaginase in man. *Cancer* 1970;25(2):253—78.
- Pui C.H., Evans W.E., Frankel L.S. et al. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2006;354:166—78.
- Schrapppe M., Reiter A., Zimmermann M. et al. Long-term results of four consecutive trials in childhood ALL performed by the ALL BFM study group from 1981 to 1995. *Leukemia* 2000;14:2205—22.
- Silverman L.B., Gelber R.D., Declerck L. et al. Results of Dana-Farber Cancer Institute Consortium protocols for children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia (1981—1995). *Leukemia* 2000;14:2247—56.
- Ahlke E., Nowak-Gottl U., Schulze-Westhoff P. et al. Dose reduction of asparaginase under pharmacokinetic and pharmacodynamic control during induction therapy in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Hematol* 1997;96:675—81.
- Карачунский А.И., Штакельберг А., Мякова Н.В. и др. Лечение острого лимфобластного лейкоза у детей: 6-летние результаты нерандомизированного моноцентрового исследования с минимальным сроком наблюдения 2 года. *Гематол трансфузиол* 1997;(5):14—8.
- Мякова Н.В., Карачунский А.И., Штакельберг А. и др. Сравнительный анализ токсичности полихимиотерапии острого лимфобластного лейкоза у детей по протоколам ALL-BFM-90m и ALL-MB-91. *Педиатрия* 1997;(4):29—34.
- Румянцева Ю.В., Карачунский А.И. Оптимизация терапии острого лимфобластного лейкоза у детей в России и Белоруссии: стратегия Москва-Берлин. *Вопр гематол онкол иммунол педиатр* 2007;6(4):13—21.

ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ГЕМОПОЭЗА ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОСЛЕ ВЫСОКОДОЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ

А.Ю. Попов, Н.Н. Жуков, С.В. Миненко, Л.Ю. Андреева, В.В. Птушкин

Отделение подростковой и возрастной клинической онкологии ФГУ

Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии

Получение достаточного для быстрого и стабильного восстановления кроветворения числа клеток-предшественников гемопоэза (КПП) является одним из основных условий безопасного проведения высокодозной химиотерапии. В статье приведен анализ существующих подходов к мобилизации и сбору КПП, факторов, влияющих на их эффективность. На значительном собственном материале (264 пациента, прошедших процедуры мобилизации) показано, что ни один из факторов прогноза (возраст, множественные курсы химиотерапии в анамнезе, содержание CD34+ клеток в периферической крови в момент сбора и т.д.) не позволяет выявить больных с задомо неэффективным сбором КПП периферической крови. В то же время комбинированная мобилизация с использованием миелостимулирующих факторов (гранулоцитарный, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующие факторы) и цитостатиков (высокие дозы циклофосамида) у больных с солидными опухолями и множественной миеломой позволяет получить наибольшее число КПП из периферической крови.

Ключевые слова: клетки-предшественники гемопоэза, высокодозная химиотерапия, содержание клеток-предшественников гемопоэза в периферической крови, гранулоцитарный, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующие факторы

PROGNOSTIC FACTORS OF THE EFFICIENCY OF OBTAINING THE AUTOLOGOUS HEMATOPOIETICK PROGENITOR CELLS FOR TRANSPLANTATION AFTER HIGH-DOSE CHEMOTHERAPY: A REVIEW OF LITERATURE AND THE AUTHORS' DATA

A. Yu. Popov, N.N. Zhukov, S.V. Minenko, L. Yu. Andreyeva, V.V. Ptushkin

Department of Adolescent and Age-Related Clinical Oncology, Federal Research Clinical Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology

To obtain a sufficient number of hemopoietic progenitor cells (HPCs) for a rapid and stable recovery of hematopoiesis is one of the major conditions for safe high-dose chemotherapy. The paper analyses the current approaches to mobilizing and collecting HPCs, as well as the factors influencing their efficiency. By using their own large material (264 patients who had undergone mobilizing procedures), the authors have shown that none of predictors (age, a history of multiple courses of chemotherapy, peripheral blood levels of CD34+ cells at sampling, etc.) may identify patients in whom peripheral blood HPCs cannot be certainly ineffectively collected. At the same time, combined mobilization with myelostimulating factors (granulocyte, granulocyte-macrophage colony-stimulating factors) and cytostatics (high-dose cyclophosphamide) yield the greatest quantities of HPCs from peripheral blood in patients with solid tumors and multiple myeloma.

Key words: hemopoietic precursor cells, large-dose chemotherapy, peripheral blood levels of hemopoietic precursor cells, granulocytic, granulocyte-macrophage colony-stimulating factors

Высокодозная химиотерапия (ВХТ) с трансплантацией аутологичных (собственных) клеток-предшественников гемопоэза (КПП) в настоящее время является терапией выбора для больных множественной миеломой, рецидивами и резистентным течением неходжкинских лимфом, лимфомой Ходжкина. В некоторых клинических ситуациях ВХТ используется и для лечения ряда других опухолей (острый миелоидный лейкоз, герминогенные опухоли, опухоли центральной нервной системы, опухоли семейства саркомы Юинга). В большинстве экономически развитых стран мира ВХТ с трансплантацией аутологичных КПП является рутинной методикой, которая может осуществляться и в рядовых лечебных учреждениях, имеющих отделения онкологического и/или гематологического профиля. По данным Европейской организации по трансплантации КПП (ЕВМТ), ежегодное число аутотрансплантаций, проводимых в Западной Европе, — более 15 тыс. [1], а токсическая смертность, обусловленная ВХТ, не превышает 1—5%.

Безопасность проведения ВХТ и, косвенно, контингент больных и уровень клиник, в которых может осуществляться данный вид лечения, во многом определяется количеством и качеством гемопоэтического материала, используемого для трансплантации; чем быстрее удастся добиться восстановления гемопоэза, тем шире контингент больных, которым может быть проведена ВХТ, и спектр клиник, где может осуществляться этот вид лечения.

Во взрослом организме большинство КПП постоянно находится в костном мозге (КМ), в связи с чем изначально основным источником КПП для трансплантации являлся именно КМ. В то же время трансплантация КПП не позволяет полностью избежать периода глубокой нейтропении и тромбоцитопении, так как для дифференцировки КПП в зрелые форменные элементы крови требуется определенное время. Главным недостатком КМ является то, что после его трансплантации может наблюдаться значительный разброс сроков до начала вос-

становления гемопоэза. Для достижения безопасного уровня нейтрофилов ($>0,5 \times 10^9/\text{л}$) и тромбоцитов ($>20 \times 10^9/\text{л}$) может потребоваться от 10 до 60 дней и более, при этом группа больных с длительной цитопенией после трансплантации КМ достаточно велика, что приводит к частому развитию жизнеопасных инфекционно-геморрагических осложнений. В связи с этим КМ в качестве самостоятельного (основного) источника КПП для аутологичной трансплантации в настоящее время используется достаточно редко.

КПП, полученные из периферической крови (ПК), также способны восстанавливать полноценный гемопоэз после ВХТ. Как известно, популяция КПП является неоднородной и представлена как ранними (плюрипотентными, незрелыми) клетками, так и более зрелыми предшественниками [2, 3]. Ранние КПП ответственны за стабильность восстановления гемопоэза, а наиболее зрелые КПП, способные к быстрой дифференцировке в форменные элементы крови, определяют скорость восстановления кроветворения. Одним из преимуществ КПП ПК является относительно большее содержание зрелых предшественников, что обеспечивает уменьшение сроков восстановления гемопоэза. Также КПП ПК содержат и достаточное число ранних предшественников, в связи с чем высокая скорость восстановления гемопоэза сочетается со стабильностью его поддержания в дальнейшем [4–8].

Однако в условиях стабильного гемопоэза содержание КПП в ПК крайне невелико (2–4% от содержания в КМ) [9], что обуславливает необходимость применения специальных методик, стимулирующих миграцию КПП из КМ в ПК (мобилизация). Проведение мобилизации позволяет значительно увеличить содержание КПП в ПК, однако период времени, в течение которого КПП присутствуют в ПК в достаточном для сбора количестве, составляет в большинстве случаев 1–5 дней. Кроме того, время от начала мобилизации до максимального выброса КПП в ПК может значительно варьировать, что делает необходимым использование специальных методов мониторинга их содержания в крови.

В настоящее время с этой целью используется метод проточной иммуноцитометрии, позволяющий косвенно оценить число циркулирующих в ПК и полученных в результате сбора КПП [10]. Метод основан на выявлении и подсчете количества клеток, несущих на своей поверхности особые антигены, например кластер-дифференцировочный антиген 34 (CD34). Этот антиген представляет собой гликопротеин, который присутствует на мембране большинства предшественников кроветворения, но прекращает экспрессироваться в процессе созревания. Обнаружение антигена CD34 способствовало развитию методик мобилизации и сбора КПП ПК.

Число трансплантированных CD34+ клеток позволяет достаточно точно прогнозировать длительность посттрансплантационной цитопении. Трансплантация $>2 \times 10^6$ на 1 кг массы тела клеток, несущих на мембране этот антиген (CD34+ клеток), приводит к быстрому (в течение 1–3 нед) и стабильному восстановлению гемопоэза у большинства пациентов [11]. Увеличение этой дозы до $3,5\text{--}5 \times 10^6$ CD34+ клеток/кг, по некоторым данным, способно еще больше увеличить вероятность быстрого

восстановления гемопоэза (особенно тромбоцитарного его звена) [12–14]. В то же время минимальное число CD34+ клеток, которое требуется для восстановления гемопоэза, не определено — возможно, потому что многие режимы ВХТ не являются истинно миелоаблативными. Кроме того, вероятно, скорость восстановления гемопоэза зависит не только от количества, но и от качества трансплантата (соотношение ранних и зрелых КПП, повреждение КПП в процессе предшествующего цитостатического лечения и т.д.).

Несмотря на то что в настоящее время имеются некоторые разногласия по поводу оптимальной дозы КПП ПК, в большинстве трансплантационных центров за минимальный порог, гарантирующий высокую вероятность ($>90\%$) быстрого и стабильного восстановления гемопоэза, принимается уровень 2×10^6 CD34+ клеток/кг. С другой стороны, трансплантация и гораздо меньшего, чем 2×10^6 CD34+/кг, числа клеток также может сопровождаться восстановлением гемопоэза и достаточно широко используется в рутинной практике у больных, не имеющих альтернативных ВХТ способов лечения. Однако малое число трансплантированных CD34+ клеток обычно приводит к более длительной госпитализации и использованию антибиотиков, а также к увеличению потребности в переливаниях компонентов крови [15].

Таким образом, основным фактором, позволяющим использовать КПП ПК для трансплантации, является возможность получения их в количестве, достаточном для быстрого восстановления кроветворения. Этот показатель напрямую зависит от эффективности методов мобилизации и сбора КПП, а также от ряда факторов, связанных с индивидуальными особенностями пациента и течением основного заболевания.

Число циркулирующих в ПК КПП значительно увеличивается в период восстановления гемопоэза после миелосупрессивной химиотерапии (ХТ) [16]. Например, после использования циклофосфамида и этопозида в высоких дозах содержание КПП ПК может возрасти до 20 раз и более [17–19]. Режимы, вызывающие большую миелосупрессию, чаще обладают и большим мобилизующим эффектом [20]. Кроме того, мобилизация при помощи цитостатиков, оказывая дополнительный антинеопластический эффект, позволяет контролировать опухоль перед сбором КПП ПК и уменьшает риск контаминации трансплантата опухолевыми клетками. Однако миелосупрессия, возникающая после проведения интенсивной ХТ, может приводить к развитию инфекционно-геморрагических осложнений, а продленная тромбоцитопения иногда затрудняет процедуру сбора КПП ПК на сепараторе клеток крови [21]. Другим недостатком метода мобилизации при помощи ХТ являются значительные различия в сроках до начала увеличения содержания КПП в ПК. Все это ставит под сомнение целесообразность использования данного метода мобилизации, поскольку необходимость борьбы с осложнениями и невозможность проведения сбора у ряда больных перевешивают потенциальный выигрыш от этого относительно недорогого метода.

В экспериментальных и клинических исследованиях было показано, что многие цитокины (гранулоцитарный — Г-КСФ [22, 23], гранулоцитарно-макрофагальный — ГМ-КСФ [24] колониестимулирующие фак-

торы, интерлейкины — ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-8, тромбопоэтин, эритропоэтин и др.) способны в той или иной мере вызывать высвобождение КППГ из КМ-депо. На сегодняшний день наиболее исследованными и используемыми в широкой клинической практике цитокинами, применяющимися для мобилизации КППГ ПК, являются Г-КСФ и ГМ-КСФ. Считается, что их мобилизирующее действие обусловлено способностью активировать ферменты нейтрофилов, нарушающие взаимодействие молекул, отвечающих за фиксацию КППГ к строме КМ [25].

Применение Г-КСФ при нормальной функции гемопоэза сопровождается значительным увеличением концентрации КППГ в крови с ее пиковым значением на 4—7-й день. Отмечено, что доза препарата 10 мкг/кг/сут обладает значимо большей мобилизирующей активностью, чем доза 5 мкг/кг/сут, стандартно используемая для профилактики фебрильной нейтропении [26]. Еще более высокие дозы Г-КСФ (20—50 мкг/кг/сут) хотя и превосходят по мобилизирующему эффекту стандартные дозы, однако это преимущество выражено не столь значительно, и с экономической точки зрения данные режимы рекомендуют применять только в случае недостаточного сбора при стандартном дозировании.

ГМ-КСФ также применяется с целью мобилизации КППГ ПК [22]. Тем не менее в ряде исследований было показано, что мобилизирующий эффект ГМ-КСФ уступал таковому от аналогичной дозы Г-КСФ, и препарат вызывал больше таких побочных действий, как лихорадка, миалгии и болезненность в месте инъекций [24, 26]. Несмотря на то что данные этих исследований неоднозначны, в настоящее время для мобилизации КППГ ПК в основном используется Г-КСФ, что, возможно, обусловлено его лучшей переносимостью. В то же время существуют данные о том, что использование цитокинов для мобилизации может оказывать мобилизирующее влияние и на злокачественную опухоль (способствовать опухолевой контаминации трансплантата) [28, 29]. Несмотря на отсутствие доказательств клинической значимости подобных наблюдений, монотерапия Г-КСФ или ГМ-КСФ в настоящее время используется в основном у пациентов с контролируемым опухолевым процессом (в состоянии ремиссии).

Наиболее часто используемым способом мобилизации в фазе стабильного кроветворения (отсутствие введения цитостатиков в предшествующие 4—5 нед и нормальные или близкие к таковым показатели ПК) является назначение Г-КСФ (негликозилированного — филграстим или гликозилированного — ленограстим) в течение 5—6 дней в дозе 10—12 мкг/кг/сут, подкожно. На 4, 5 и 6-й дни мобилизации (в период максимального содержания КППГ в ПК) осуществляется сбор КППГ ПК на сепараторе клеток крови.

Применение стандартной ХТ с последующим назначением гемоцитокинов позволяет увеличивать мобилизирующий эффект цитостатиков и при этом снижает риск контаминации трансплантата и/или прогрессирования опухоли [30, 31]. Воздействие КСФ на миграцию КППГ в ПК позволяет также избегать необходимости назначения более высоких доз цитостатиков для увеличения результативности сбора, и интенсивные режимы ХТ используются только при необходимости усиления про-

тивоопухолевого эффекта [32, 33]. Помимо этого, цитокины снижают риск развития глубокой цитопении (и, соответственно, инфекционных осложнений) после ХТ. ХТ же, в свою очередь, позволяет контролировать опухоль перед началом сбора КППГ ПК, что может иметь большее значение для больных с быстро прогрессирующими новообразованиями [30, 34].

Доза Г-КСФ, используемая в комбинации с ХТ, чаще всего составляет 5 мкг/кг/сут. Введение цитокинов начинают через 1—5 дней после окончания ХТ и продолжают до завершения сбора КППГ ПК. Сбор КППГ ПК осуществляется на фоне начала восстановления гемопоэза при наличии в ПК достаточного числа CD34+ клеток [35—37].

При любом виде мобилизации крайне важным является выбор оптимального времени начала сбора КППГ ПК, так как срок, в течение которого эти клетки в достаточном количестве находятся в ПК, ограничен несколькими днями. В случае если для мобилизации применяется только КСФ, максимальное содержание КППГ в периферической крови наблюдается на 4—7-й дни мобилизации. В связи с этим сбор КППГ ПК обычно проводят без предварительного лабораторного контроля, который используется лишь у пациентов с высоким риском неэффективности мобилизации (неудача первого сбора, высокая предлеченность и т.д.). У пациентов, получающих комбинированную мобилизацию (ХТ + КСФ), пик содержания КППГ в ПК наблюдается в гораздо более переменные сроки, что требует обязательного лабораторного контроля за их содержанием. Как было сказано выше, для выявления оптимального времени начала сбора рекомендуется ориентироваться на число CD34+ клеток в ПК. Методы прогнозирования начала сбора, основанные на определении уровня лейкоцитов крови, хотя и обладают некоторой предсказательной способностью, однако весьма неточны: уровень лейкоцитов, при котором рекомендуется начинать сбор КППГ ПК, варьирует от исследования к исследованию в очень широких пределах (от 1 до $10 \times 10^9/\text{л}$), что, возможно, зависит от режима мобилизации и контингента больных, включенных в исследования.

Несмотря на разработку эффективных методов мобилизации и сбора, примерно у 20—30% больных не удается получить достаточного для трансплантации числа КППГ ПК или их количество является субоптимальным. В многочисленных исследованиях был выделен ряд факторов, потенциально способных ухудшать результаты мобилизации и сбора КППГ ПК. Предполагалось, что возраст является одним из факторов, способных отрицательно повлиять на результативность мобилизации, так как существуют данные о том, что у пожилых пациентов отмечается снижение резервов кроветворения и функциональной активности КППГ [38, 39]. В то же время в исследовании на моделях животных было показано, что в более старшей группе результативность сбора была в 5 раз выше по сравнению с более молодыми особями [40]. Авторы объясняли этот факт ослаблением связи между КППГ и стромой КМ. Клинические исследования в данной области проводились N. Voiret и соавт. [41], которые сравнили иммунофенотипические профили и способность к колониеобразованию КППГ ПК детей и взрослых. Авторы не выявили существенных различий по исследуемым показателям

в зависимости от возраста пациентов. В исследовании S. Guba и соавт. были проанализированы данные 225 больных множественной миеломой, которым проводилась мобилизация комбинацией циклофосфамида в высоких дозах и КСФ. Возраст 57 больных, включенных в исследование, составлял более 60 лет. Никаких различий в результатах мобилизации и сбора, а также в длительности восстановления гемопоэза после трансплантации отмечено не было. Аналогичные данные были получены и в работе E. Jantunen и соавт. [42], сравнивавших эффективность мобилизации у больных множественной миеломой старше 65 лет и у более молодых пациентов. Таким образом, в настоящее время показано, что пожилой возраст не является фактором неблагоприятного прогноза в отношении эффективности мобилизации и сбора КПП ПК.

Как было сказано выше, сегодня в рутинной практике для мобилизации КПП ПК используются 2 вида колониестимулирующих факторов — Г-КСФ (гликозилированный и негликозилированный) и, реже, ГМ-КСФ. В ряде исследований было выявлено, что использование Г-КСФ позволяет сократить длительность мобилизации [43] и увеличить результативность сбора [27, 44–47]. Тем не менее результаты исследований, как и данные о сопоставлении эффективности гликозилированных и негликозилированных форм Г-КСФ, неоднозначны.

В рутинной практике Г-КСФ и ГМ-КСФ в целях мобилизации чаще всего применяются 1 раз в сутки. Однако, с учетом фармакокинетики препаратов, было выдвинуто предположение, что при неизменной суточной дозе введение препаратов с 12-часовым интервалом может повысить эффективность мобилизации. В своем исследовании V. Roy и соавт. [48] сравнили эффективность 2 режимов введения Г-КСФ у 30 больных раком молочной железы. В 1-й группе препарат вводился по 5 мкг/кг дважды в сутки, во 2-й — 10 мкг/кг 1 раз в сутки. Несмотря на то что обе группы получали одинаковую суточную дозу Г-КСФ, назначение препарата дважды в день привело к получению значительно большего числа CD34+ клеток ($10,6$ и $6,0 \times 10^6$ CD34+/кг соответственно, $p=0,02$). Это исследование подтверждается и другими сообщениями [49].

В ряде испытаний установлено, что некоторые цитостатики обладают долговременным повреждающим действием на КПП и строму КМ. Более того, данный эффект может быть кумулятивным и незначимые изначально повреждения могут приводить к существенному уменьшению числа КПП и снижению их функциональной активности. В связи с этим вопрос о выборе режима ХТ для мобилизации (баланс между противоопухолевой эффективностью и повреждающим КПП эффектом) крайне актуален. Кроме того, с учетом наличия кумулятивной токсичности, немаловажным является вопрос об этапе лечения, на котором должны получаться КПП ПК.

В случае если основной (первичной) задачей ХТ служит именно мобилизация (а не достижение противоопухолевых эффектов), наиболее часто для этого используется циклофосфамид в высоких дозах, значительный мобилизирующий эффект которого подтвержден в многочисленных исследованиях [50, 51]. Хорошим мобилизирующим действием обладают также этопозид в высоких дозах [52–54], ифосфамид и паклитаксел [31, 55, 56].

В то же время даже в высоких дозах циклофосфамид и этопозид в монотерапии могут не оказывать значительного противоопухолевых эффектов [57]. Спектр противоопухолевой активности ифосфамида и паклитаксела также ограничен. В случаях когда целью назначения цитостатиков является получение дополнительного противоопухолевых эффектов, обычно применяют различные режимы комбинированной ХТ, выбор которых зависит от типа опухоли. Однако при выборе режима необходимо помнить, что использование ряда препаратов приводит к повреждению КПП.

К препаратам, которые, возможно, увеличивают шанс на неудачу при мобилизации и сборе, следует отнести прежде всего мелфалан и кармустин [58, 59], входящие в большинство режимов 2-й линии терапии злокачественных лимфом, являющихся одним из заболеваний, для эффективного лечения которых используется ВХТ. В исследовании P. Dreger и соавт. [63] было показано, что один из важных факторов, отрицательно влияющих на результативность сбора, — число курсов Dеха-ВЕАМ (дексаметазон, кармустин, мелфалан, этопозид, цитозинарабинозид), проведенных пациентом перед мобилизацией. Пациенты с 1 курсом мобилизации Dеха-ВЕАМ или другим режимом имели статистически значимо лучшие результаты сбора, чем больные, получившие более 1 курса Dеха-ВЕАМ ($6,6$ и $1,6 \times 10^6$ /кг CD34+ клеток соответственно). У больных после 2 курсов Dеха-ВЕАМ и более также отмечалось более длительное восстановление гемопоэза после трансплантации, хотя отчасти это может быть обусловлено меньшим количеством трансплантированных КПП ПК. Более медленное восстановление гемопоэза у лиц, ранее получавших режим Dеха-ВЕАМ, было отмечено и в других исследованиях [59]. Кроме мелфалана и производных нитрозомочевины, к ухудшению результатов мобилизации может приводить и применение флюдарабина, даже в случае если препарат не входил в мобилизационный режим, а использовался на предшествующих этапах лечения [60].

Также в ряде исследований было установлено, что отрицательно повлиять на результаты мобилизации и сбора КПП ПК могут общее число курсов стандартной ХТ, полученной пациентом (предлеченность) [61], и длительность предшествующей ХТ [14, 18].

В связи с сохраняющимися вопросами в отношении факторов прогноза эффективности мобилизации и сбора КПП ПК с целью выработки оптимальной тактики ведения этих больных нами было проведено собственное исследование.

Материалы и методы

Нами проанализированы данные 286 процедур мобилизации КПП ПК, осуществленных у 264 больных (у 2 пациентов было 3 процедуры мобилизации КПП и у 20 — 2 процедуры мобилизации). Процедуры мобилизации и сбора проходили в период с 1995 по 2006 г. на базе Отделения трансплантации костного мозга, интенсивной химиотерапии и реанимации ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.

Среди больных, включенных в исследование, было 117 (44,3%) женщин и 147 (55,7%) мужчин, средний возраст которых составлял 33,1 года (от 15 до 65 лет). Все пациенты страдали различными гематологическими (84,6%) и солидными (15,4%) злокачественными новообразованиями (табл. 1).

Таблица 1. *Виды злокачественных опухолей у пациентов, включенных в исследование*

Диагноз	Число больных	
	абс.	%
Гемобластозы		
Лимфома Ходжкина	108	40,9
Неходжкинские лимфомы	94	35,6
Миеломная болезнь	20	7,6
Острые лейкозы	2	0,8
Солидные опухоли		
Герминогенные опухоли	14	5,3
Опухоли семейства ПНЭО*	6	2,3
Мелкоклеточный рак легкого	5	1,9
Другие солидные опухоли	15	5,7

*ПНЭО — примитивные нейроэктодермальные опухоли.

Все больные уже проходили противоопухолевое лечение до начала мобилизации и сбора КППГ. Среднее число курсов ХТ, полученных до первой процедуры мобилизации, составило 10 (от 3 до 33). Пациентов, прошедших ≤ 10 курсов стандартной ХТ, было 64,7%, от 11 до 20 курсов получили 29,9% больных, большее число курсов — 5,4% пациентов. Лучевая терапия на различные зоны проведена 116 (44%) больным.

Для мобилизации нами использовались Г-КСФ (гликозилированный и негликозилированный, различных фирм-производителей) или ГМ-КСФ (молограмостим) в фазе стабильного кроветворения ($n=25$) или после курса миелосупрессивной ХТ ($n=217$). Данные о типе мобилизации у 22 (8,3%) пациентов утеряны. Доза КСФ рассчитывалась в микрограммах на килограмм массы тела больного. Средняя масса тела пациентов, включенных в исследование, составила 70,1 (от 40 до 125) кг.

Пациентам, которым был избран комбинированный тип мобилизации, на первом этапе проводился курс миелосупрессивной ХТ по одной из нижеперечисленных схем (табл. 2).

Таблица 2. *Режимы ХТ, использовавшиеся для мобилизации*

Режимы	Число больных	
	абс.	%
На основе CCNU/BCNU и мелфалана (Деха-VEAM, ВАЕМ, СЕМ и т.д.)	100	46
С цисплатином (DНAP, ESHAP и т.д.)	22	10,1
Высокие дозы циклофосфида	24	11
На основе стандартных доз циклофосфида и антрациклинов (CHOP, CAF, FEC и т.д.)	20	9,3
Многодневные (BEACOPP, Stanford V)	10	4,7
На основе ифосфида (IGEВ, ICE, IVAM, VIDE и т.д.)	33	15,2
Другие	8	3,7

Через 1–5 дней после окончания введения цитостатиков больным назначался КСФ, доза которого подбиралась так, чтобы она была максимально приближена к 5 мкг/кг/сут. У ряда пациентов ($n=54$), которые, по мнению врача, могли иметь малоудовлетворительные результаты мобилизации (большое число курсов ХТ в анамнезе, медленное восстановление гемопоэза на фоне мобилизирующего курса ХТ и т.д.), использовались повышенные дозы КСФ (от 7,5 до 20 мкг/кг/сут). В среднем больные получали КСФ в дозе 6,5 (от 3 до 20) мкг/кг/сут. На фоне восстановления гемопоэза (достижения уровня лейкоцитов $>3 \times 10^9/\text{л}$) при технической возможности определялся уровень CD34+ клеток в ПК. Сбор КППГ начинался в случае наличия одного из следующих условий:

- содержание CD34+ клеток > 10 в 1 мкл ПК;
- содержание < 10 , но > 5 CD34+ клеток в 1 мкл на протяжении 2 дней и более на фоне продолжающейся мобилизации и роста уровня лейкоцитов;
- содержание CD34+ клеток < 5 в 1 мкл на протяжении 2 дней и более без тенденции к росту у больных, по мнению врача, не имеющих шанса на осуществление повторного сбора КППГ (агрессивная опухоль и т.д.);
- у больных с неизвестным числом CD34+ клеток в ПК при уровне лейкоцитов $> 5 \times 10^9/\text{л}$ и достижении трансфузионно-независимого уровня тромбоцитов.

Сбор проводился ежедневно на фоне продолжающейся стимуляции до получения $> 2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток на каждую планируемую трансплантацию, но не более 6 процедур. В случае значительного падения уровня CD34+ клеток в крови мобилизация и сбор прекращались досрочно.

При сборе в фазе стабильного кроветворения (пациентам, восстановившим кроветворение после предшествующего курса цитостатической терапии) назначали КСФ в дозе 10 мкг/кг. Сбор начинался на 4–5-й день стимуляции и продолжался до получения $> 2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток на каждый планируемый курс ВХТ. Досрочная остановка мобилизации и сбора предусматривалась в случае крайне низкой его результативности.

Процедура сбора осуществлялась с использованием сепараторов клеток крови фирмы «Baxter» (CS 3000 Plus или Amicus). Проводили обработку 8–15 л крови. В пределах 24 ч после получения гемопоэтический материал подвергался криоконсервации в парах жидкого азота.

Для определения содержания CD34+ клеток в ПК и полученном гемопоэтическом материале использовался метод проточной иммуноцитометрии. Анализ осуществлялся на проточном цитометре (FACScan Vестon Dickinson, США).

Повторные процедуры мобилизации и сбора КППГ ПК были проведены у 20 больных. Поводами для выполнения повторных сборов являлись неудовлетворительные результаты первого сбора или выявление прогрессирования заболевания в процессе сбора (возможность опухолевой контаминации). Повторные процедуры мобилизации и сбора осуществлялись по тем же принципам.

Как минимум один курс ВХТ с трансплантацией полученных КППГ ПК (в комбинации с КМ или без) был проведен 198 (75%) больным. Пациентам со сбором >2×10⁶ CD34+/кг трансплантация выполнялась либо только с использованием КППГ ПК, либо с добавлением КМ (комбинированный трансплантат). В данной группе больных комбинированный трансплантат использовался только на первых этапах работы в 1980-х годах, когда существовали сомнения в способности КППГ ПК к стабильному длительному восстановлению гемопоэза. У пациентов с меньшим сбором (< 2×10⁶ CD34+ клеток/кг) решение вопроса о проведении высокодозной ХТ и/или использовании комбинированного трансплантата принималось индивидуально.

Для статистического анализа данных применялась программа SPSS v.13. Непараметрические данные сравнивались на основании теста χ² или точного критерия Фишера (в зависимости от числа наблюдений). Кривые восстановления гемопоэза генерировались с использованием метода Каплана — Майера и сравнивались при помощи log-rank-теста.

Результаты исследования

В процессе выполнения процедуры мобилизации и сбора удалось получить в среднем 4,05×10⁶ (от 0 до 26,08×10⁶)/кг CD34+ клеток (табл. 3). Данные о суммарной результативности сбора КППГ отсутствуют у 35 больных (сбор проводился до внедрения методики определения CD34+ клеток или определение не выполнялось по техническим причинам).

Таким образом, в результате применения вышеописанных методик мобилизации и сбора у 56,4% больных получено >2×10⁶/кг CD34+ клеток.

Результативность первой процедуры мобилизации и сбора КППГ ПК была статистически значимо выше (p=0,002) у больных, страдавших герминогенными опухолями, миеломной болезнью и мелкоклеточным раком легкого (табл. 4).

Несмотря на данные некоторых авторов, свидетельствующие о снижении результативности мобилизации и сбора у пациентов, ранее прошедших значительное число курсов стандартной ХТ, в нашем исследовании такого влияния отмечено не было. Более 2×10⁶/кг CD34+ клеток (здесь и далее — удовлетворительные результаты сбора)

Таблица 3. *Результативность первой процедуры мобилизации и сбора*

Число полученных CD34+ (×10 ⁶ /кг) клеток	Число больных	
	абс.	%
0—0,5	20	8,7
0,51—1	19	8,3
1,01—2	61	26,6
2,01—5	73	31,9
>5	56	24,5

удалось получить у 63,5% больных, прошедших <10 курсов ХТ, у 48,7% — получивших 11—20 курсов, и у 60,3% пациентов, прошедших большее число курсов (p=0,14).

Число курсов стандартной ХТ (включая мобилизационные), которые были проведены пациенту в связи с состоянием, обусловившим необходимость запланировать назначение ВХТ (рецидив, первичная резистентность и т.д.), также не оказало влияния на результативность мобилизации и сбора (p=0,656). Более 2×10⁶/кг CD34+ клеток получено у 64,6% больных, прошедших ≤ 5 курсов, у 51,5% — получивших от 6 до 10 курсов и 71,4% пациентов, прошедших большее число курсов.

Также не оказало статистически значимого влияния (p=0,359) на эффективность мобилизации и сбора КППГ ПК число линий ХТ, проведенных больному. Однако все же отмечена тенденция к большей результативности сбора у больных, получивших только 1 линию терапии, у которых удалось получить ≥2×10⁶/кг CD34+ клеток в 80% случаев, по сравнению с 41—50% у больных, которым проводилось большее число линий лечения.

Наиболее эффективной (при сравнении с другими видами мобилизации) оказалось применение высоких доз циклофосфида с последующим назначением КСФ (доля успешных сборов — 82,6 и 53% соответственно, p=0,007). Использование же режимов с ифосфамидом статистически значимых преимуществ перед остальными режимами мобилизации не имело (доля успешных сборов — 53,3 и 56,7% соответственно,

Таблица 4. *Влияние основного заболевания на результативность первой процедуры мобилизации и сбора*

Основное заболевание	Число больных, получивших >2×10 ⁶ /кг CD 34+ клеток	
	абс.	%
Лимфома Ходжкина	90	50,5
Неходжкинские лимфомы	82	51,2
Герминогенные опухоли	7	100
Множественная миелома	20	90
Опухоли семейства ПНЭО	6	33,3
Мелкоклеточный рак легкого	4	100
Другие солидные опухоли	14	64,3

Таблица 5. Влияние уровня лейкоцитов в ПК в первый день сбора КПП ПК на его суммарную результативность

Уровень лейкоцитов в ПК ($\times 10^9/\text{л}$)	Число больных, получивших $\geq 2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток абс.	%
>5	30	63,3
5–10	21	57,1
10–20	35	54,3
20–30	17	47,1
30–40	25	52
>40	12	66,7

$p=0,728$). Вопреки ожиданиям, применение для мобилизации режимов, содержащих препараты, обладающие токсичностью в отношении КПП (Деха-ВЕАМ-подобные режимы), не привело к статистически значимому снижению результативности мобилизации и сбора КПП ПК (доля успешных сборов — 52,8 и 58,8% соответственно, $p=0,387$). Комбинированная мобилизация позволила получить $\geq 2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток в 57,8% случаев, в то время как мобилизация в фазе стабильного кровотока — только в 37,5%, однако различие не достигло статистической значимости ($p=0,116$), что, возможно, обусловлено малым числом больных, получивших мобилизацию с использованием только КСФ ($n=25$).

Уровень лейкоцитов в ПК в первый день сбора КПП ПК (табл. 5) суммарной результативности мобилизации и сбора не предсказывал ($p=0,85$), что согласуется с данными большинства исследований.

Статистически значимое влияние ($p<0,001$) на суммарную результативность мобилизации и сбора КПП ПК оказало абсолютное число CD34+ клеток в ПК в первый день сбора. Лишь у 21—25% больных с содержанием <10 CD34+ клеток в 1 мкл удалось собрать достаточное для проведения как минимум одной трансплантации число КПП ПК (табл. 6).

Учитывая, что у подавляющего большинства пациентов, имевших в первый день сбора КПП ПК >10 CD34+ клеток в 1 мкл ПК, получено достаточное для трансплантации количество гемопоэтического материала, очевидной представляется необходимость продолжения стимуляции и сбора у всех этих больных. В то же

Таблица 6. Влияние абсолютного числа CD34+ клеток в ПК в первый день сбора КПП ПК на его суммарную результативность

Абсолютное число CD34+ в ПК (ккл/млк)	Число больных, получивших $\geq 2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток абс.	%
>5	14	21,4
5–10	24	25
10–20	10	70
20–50	31	61,3
>50	28	92,9

время у пациентов с более низким содержанием CD34+ клеток доля успешных сборов была значительно ниже (21—25%). В связи с этим целесообразным представлялся поиск дополнительных факторов, способных выявлять пациентов, для которых дальнейшее продолжение мобилизации и сбора бесперспективно.

У пациентов ($n=38$), имевших на момент начала сбора <10 CD34+ клеток в 1 мкл ПК, такие факторы, как предлеченность, диагноз, вид и доза КСФ, режим мобилизации, уровень лейкоцитов на момент начала сбора, суммарной результативности сбора не предсказывали. Таким образом, ни один из дополнительных факторов не позволил выявить пациентов, не имеющих шансов на получение достаточного числа КПП ПК.

При планировании обеспечения сбора КПП ПК (потребность в КСФ, занятость персонала и вспомогательных служб и др.) большую роль играет возможность выделения группы больных с высокой вероятностью быстрого получения достаточного количества гемопоэтического материала. За 1 сеанс сбора $>2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток удалось собрать у 56 пациентов. Возможность получения за 1 процедуру количества гемопоэтического материала, достаточного для безопасного выполнения как минимум 1 трансплантации, предсказывало только абсолютное содержание CD34+ клеток в ПК в первый день сбора КПП ПК. Пациентам, у которых абсолютное содержание CD34+ клеток в первый день сбора было <5 и <10 клеток в 1 мкл, потребовалось проведение повторных сборов в 100 и 95,8% случаев соответственно ($p=0,0001$).

Трансплантация гемопоэтического материала, полученного у включенных в исследование больных, привела к восстановлению гемопоэза до момента окончания наблюдения или смерти в посттрансплантационном периоде в подавляющем большинстве случаев (у 95,9% пациентов восстановлен уровень нейтрофилов $>0,5 \times 10^9/\text{л}$, 92% — уровень тромбоцитов $>20 \times 10^9/\text{л}$). Медиана времени до восстановления уровня нейтрофилов составила 10 дней (95% доверительный интервал — ДИ 9,67—10,34), до восстановления уровня тромбоцитов — 11 дней (95% ДИ 10,33—11,67).

Как было отмечено выше, у ряда больных ВХТ с трансплантацией КПП ПК (с добавлением КМ или без него) проводилась, несмотря на получение $<2 \times 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток. В связи с этим мы проанализировали возможность восстановления гемопоэза у пациентов, подвергшихся трансплантации различного числа CD34+ клеток (табл. 7 и 8).

Динамика восстановления уровня нейтрофилов и тромбоцитов у больных, получивших различные дозы CD34+ клеток, статистически

Таблица 7. Восстановление уровня нейтрофилов $>0,5 \times 10^9/л$ в зависимости от числа трансплантированных CD34+ клеток

Число трансплантированных CD34+ ($\times 10^6/кг$) клеток	Число больных	Медиана времени до восстановления, дни	Уровень не восстановлен (%)
<1	9	11	0
1—1,99	37	10	2 (5,4)
2—5	55	10	1 (1,8)
>5	36	10	2 (5,6)

значимо не различалась ($p=0,51$ и $p=0,75$ соответственно). Однако отмечена тенденция к более длительному восстановлению уровня тромбоцитов у пациентов, получивших $< 1 \times 10^6/кг$ CD34+ клеток.

Обсуждение

Возможность получения достаточного числа КПП ПК надлежащего качества является одним из основных факторов, обуславливающих безопасность проведения ВХТ. В литературе обсуждается большой спектр факторов, потенциально способных повлиять на эффективность мобилизации КПП ПК. Тем не менее данные испытаний в этой области достаточно противоречивы, а многие опубликованные исследования включали небольшое число пациентов.

В нашем исследовании с участием значительного числа больных было выявлено, что только основное заболевание и использование режима мобилизации с циклофосфамидом способны статистически значимо влиять на эффективность сбора.

У пациентов, страдавших такими заболеваниями, как мелкоклеточный рак легкого, герминогенные опухоли и множественная миелома, удалось получить достаточное для трансплантации число КПП ПК ($2 \times 10^6/кг$) в 90—100% случаев. В то же время у пациентов с неходжкинскими лимфомами и лимфомой Ходжкина частота успешных сборов составляла около 50%. Это согласуется с данными ряда исследований, свидетельствующих о лучшей результативности сбора у больных, страдающих солидными злокачественными новообразованиями и множественной миеломой. Однако возможно, что этот факт, как минимум отчасти, обусловлен не самим заболеванием, а подходами к его лечению, применявшимися на этапах до проведения мобилизации и сбора КПП ПК. Например, известно, что для лечения пациентов с лимфомами (особенно во 2-й линии и более) часто используются режимы ХТ, содержащие препараты, обладающие потенциальной токсичностью в отношении КПП. Также относительно чаще при лим-

фомах используется лучевая терапия, в том числе и на основные зоны гемопоеза — кости таза, грудину. Высокая результативность сборов характерна и для пациентов, страдающих множественной миеломой. Причины этого до конца неизвестны, однако предполагается, что это может быть обусловлено особыми взаимодействиями между стромой и опухолевыми клетками в КМ (продукция клетками стромы ИЛ-6 и др.) при данном заболевании.

Использование высоких доз циклофосфида в качестве режима мобилизационной ХТ сопровождалось статистически значимо большей частотой получения достаточного для трансплантации числа КПП ПК (82,6% против 53% у пациентов, получавших другие виды мобилизации, $p=0,007$). Несмотря на то, что наблюдаемое различие отчасти может быть объяснено различными популяциями больных, получавших мобилизацию с применением высоких доз циклофосфида (пациенты с множественной миеломой, больные, находящиеся в ремиссии и не нуждающиеся в дополнительной противоопухолевой терапии с использованием режимов, токсичных для КПП), оно согласуется с данными большинства исследований о высокой мобилизационной способности циклофосфида. Это должно учитываться при выборе режима мобилизации у пациентов, которые, по мнению врача, имеют малый шанс на получение достаточного для трансплантации числа КПП ПК.

Весьма важными нам представляются данные о том, что применение в качестве мобилизационного режима курса ХТ по схеме Деха-ВЕАМ не приводит к ухудшению результативности мобилизации (частота получения достаточного для трансплантации числа КПП ПК 52,8% против 58,8% при других режимах, $p=0,387$). Это свидетельствует о том, что данный режим, обладающий высокой противоопухолевой активностью при неходжкинских лимфомах и лимфоме Ходжкина, может быть использован при необходимости

Таблица 8. Восстановление уровня тромбоцитов $>20 \times 10^9/л$

Число трансплантированных CD34+ ($\times 10^6/кг$) клеток	Число больных	Медиана времени до восстановления, дни	Уровень не восстановлен (%)
<1	5	16	0
1—1,99	34	11	3 (8,8)
2—5	55	11	1 (1,8)
>5	36	11	2 (5,6)

без значительного риска потери эффективности мобилизации.

Такие факторы, как значительное отклонение массы тела от нормы, общее число курсов ХТ, полученных пациентом до проведения мобилизации и непосредственно перед сбором, количество линий ХТ, применявшихся в процессе лечения, и др., не показали статистически значимого влияния на результативность мобилизации и сбора КППГ ПК.

Нами выявлено, что уровень лейкоцитов крови не позволяет адекватно прогнозировать оптимальное время для начала сбора КППГ ПК. Это согласуется с данными большинства исследований и свидетельствует о том, что данный показатель не должен использоваться в качестве основного ориентира, так как не совпадает с пиком мобилизационного эффекта у многих пациентов.

Также установлено, что лишь уровень CD34+ клеток в ПК позволяет с достаточной степенью надежности прогнозировать результативность сбора. При содержании >50 CD34+ клеток в 1 мкл ПК можно рассчитывать на получение достаточного для трансплантации числа КППГ ПК более чем у 90% больных. При содержании от 10 до 50 CD34+ клеток в 1 мкл шанс на получение >2×10⁶/кг CD34+ имеют от 50 до 61,3% больных. При более низком содержании CD34+ клеток шанс на успешный сбор КППГ ПК существует лишь у 20–25% больных.

Следовательно, для выбора времени начала сбора необходимо ориентироваться на абсолютное содержание CD34+ клеток в ПК. У пациентов с содержанием >10 клеток в 1 мкл ПК шанс на суммарное получение достаточного для трансплантации количества гемопоэтического материала составляет 60–100%. Несмотря на то, что это достоверно выше ($p < 0,001$), чем при более низком содержании CD34+ в ПК, однако и меньшее абсолютное содержание CD34+ клеток не исключает возможности результативного сбора. В связи с этим проведение сбора возможно и у пациентов, у которых при нескольких последовательных определениях уровень CD34+ клеток в ПК не достигает 10, но остается на определяемом уровне (3–9 клеток в 1 мкл).

Большое значение имеет не только сама возможность получения достаточного для трансплантации числа КППГ ПК, но и время, за которое оно может быть получено, так как каждый дополнительный день мобилизации и сбора требует значительных ресурсов (КСФ, магистрала для сепараторов клеток крови, реактивы для определения CD34+ клеток в гемопоэтическом материале и пр.). Кроме того, каждая процедура должна быть осуществлена при четком взаимодействии ряда подразделений: служба крови, банк КМ, лабораторные службы, что требует тщательного планирования. Нами выявлено, что абсолютный уровень CD34+ клеток в крови позволяет предсказывать не только суммарную результативность сбора, но и прогнозировать возможность получения достаточного для трансплантации числа КППГ ПК за 1 процедуру сепарации. При содержании >50 CD34+ клеток в 1 мкл ПК на получение всего требуемого для трансплантации количества гемопоэтического материала за 1 процедуру сбора можно рассчитывать более чем у половины (55,2%) больных. При содержании от 10 до 50 клеток в 1 мкл повторные процедуры сбора, а также продолжение введения КСФ необходимы были 75–77% больным. При меньшем содержании CD34+

клеток в ПК повторные процедуры сбора и продолжение введения КСФ должны быть запланированы для всех пациентов.

В нашем исследовании достаточное, по современным представлениям, число КППГ ПК ($\geq 2 \times 10^6$ /кг CD34+ клеток) было получено у 56,4% больных. Несмотря на то что эта цифра несколько ниже, чем результативность мобилизации и сбора, описываемая в ряде зарубежных источников, возможным объяснением является различие оцениваемых групп больных. В связи с этим многие из пациентов, включенных в наше исследование, в последующем получали трансплантацию субоптимальных по современным понятиям доз КППГ ПК ($< 2 \times 10^6$ /кг CD34+ клеток), однако имели приемлемую скорость восстановления гемопоэза после трансплантации.

Заключение

Таким образом, нам не удалось выявить группу больных, у которых отсутствует шанс на получение достаточного для трансплантации числа КППГ ПК, т.е. при наличии медицинских показаний к проведению ВХТ попытка осуществления мобилизации должна проводиться всем пациентам вне зависимости от наличия или отсутствия факторов, уменьшающих результативность сбора. На наилучшие результаты можно рассчитывать у пациентов, страдающих множественной миеломой, солидными опухолями, а также при применении высоких доз циклофосамида в качестве мобилизационного режима ХТ.

Если перед проведением мобилизации пациенту требуется цитостатическое лечение (с целью дополнительной циторедукции), следует использовать мобилизацию комбинацией ХТ и Г-КСФ. В подобных случаях режим ХТ зависит от типа опухоли, т.е. в первую очередь служит именно для достижения противоопухолевого эффекта, а его мобилизирующая способность является желательной, но не обязательной. Один из эффективных режимов 2-й линии лечения лимфом — Dexa-VEAM не приводит к значимому снижению эффективности мобилизации и сбора КППГ ПК. Комбинированная мобилизация (ХТ + КСФ) проводится также при необходимости увеличения эффективности сбора (по сравнению только с КСФ). Однако в таком случае применяется режим ХТ, показавший наибольшую мобилизирующую эффективность (высокие дозы циклофосамида). Остальным пациентам (находящимся в состоянии ремиссии и не требующим проведения дополнительной ХТ для контроля опухоли перед мобилизацией, больным с прогнозируемым хорошим сбором КППГ ПК) может проводиться мобилизация с использованием только КСФ.

В случае мобилизации с применением только КСФ сбор КППГ ПК проводится в фиксированные сроки после ее начала, при использовании комбинированной мобилизации (ХТ + КСФ) для определения оптимального времени начала сбора применяется мониторинг содержания уровня CD34+ клеток в ПК. Оптимальным считается начало сбора при содержании CD34+ клеток >10 в 1 мкл, однако получение достаточного числа КППГ ПК возможно и при меньшем их содержании.

Получение >2×10⁶/кг CD34+ клеток на каждую планируемую трансплантацию считается достаточным, для того чтобы гарантировать быстрое восстановление гемопоэза у большинства больных. При полу-

чений $< 2 \times 10^6$ /кг CD34+ клеток вопрос о возможности проведения трансплантации должен решаться индивидуально с учетом течения основного заболевания, поскольку даже и такая доза трансплантированных КПП ПК (с КМ или без) способна восстанавливать ге-

мопоз у большинства пациентов. В случае невозможности получения достаточного для трансплантации числа КПП ПК возможно успешное проведение повторного сбора с использованием альтернативного режима мобилизации или при увеличении дозы КСФ.

Л и т е р а т у р а

1. Румянцев А.Г., Масчан А.А. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей. Руководство для врачей. М.: МИА, 2003. с. 52—3.
2. Wouter H., Dercksen M., Gerritsen W.R. et al. Expression of adhesion molecules on CD34+ cells, CD34+ L-selectin+ cells predict a rapid platelet recovery after peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* 1995;85:3313—8.
3. Gazitt Y., Reading C.C., Hoffman R. Purified CD34+ Lin- Thy+ stem cells do not contain clonal myeloma cells. *Blood* 1995;86:381—6.
4. Chao N.J., Schriber J.R., Grimes K. et al. Granulocyte colony-stimulating factor «mobilized» peripheral blood progenitor cells accelerate granulocyte and platelet recovery after high dose chemotherapy. *Blood* 1993;81:2031.
5. Korbling M., Fliedner T.M., Holle R. et al. Autologous blood stem cell (ABSCT) versus purged bone marrow transplantation (PABMT) in standard risk AML: influence of source and cell composition of the autograft on hemopoietic reconstitution and disease-free survival. *Bone Marrow Transplant* 1991;7(5):343—9.
6. Sheridan W.P., Begley C.G., Juttner C.A. et al. Effect of peripheral-blood progenitor cells mobilized by filgrastim (G-CSF) on platelet recovery after high-dose chemotherapy. *Lancet* 1992;339(8794):640—4.
7. Langenmayer I., Weaver C., Buckner C.D. et al. Engraftment of patients with lymphoid malignancies transplanted with autologous bone marrow, peripheral blood stem cells or both. *Bone Marrow Transplant* 1995;15(2):241—6.
8. Schmitz N., Linch D.C., Dreger P. et al. A randomised phase III study of filgrastim-mobilised peripheral progenitor cell transplantation (PBPC) in comparison with autologous bone marrow transplantation (ABMT) in patients with Hodgkin's disease (HD) and non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *Blood* 1994;84(10 Suppl 1):204.
9. Bolwell B.J., Pohlman B., Andresen S. et al. Delayed G-CSF after autologous progenitor cell transplantation: A prospective randomized trial. *Bone Marrow Transplant* 1998;21(4):369—73.
10. Canellos G.P. Is there an effective salvage therapy for advanced Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 1991;2(Suppl 1):1—7.
11. Siena S., Dregni M., Brando B. et al. Circulation of CD34+ haemopoietic stem cells in the peripheral blood of high-dose cyclophosphamide-treated patients: enhancement by intravenous recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1989;74(6):1905—14.
12. Tokuda Y., Okumura A., Kuge S. et al. Multiparameter analysis of the yield of peripheral blood stem cells (PBSC) mobilized by disease-oriented high-dose chemotherapy and G-CSF for breast cancer patients. *Proc ASCO* 1995;14:320—5.
13. Weaver C.H., Hazelton B., Birch R. et al. An analysis of engraftment kinetics as a function of the CD34 content of peripheral blood progenitor cell collections in 692 patients after the administration of myeloablative chemotherapy. *Blood* 1995;86(10):3961—9.
14. Tricot G., Jagannath S., Vesole D. et al. Peripheral blood stem cell transplants for multiple myeloma: identification of favorable variables for rapid engraftment in 225 patients. *Blood* 1995;85(2):588—96.
15. Ketterer N., Salles G., Raba M. et al. High CD34(+) cell counts decrease hematologic toxicity of autologous peripheral blood progenitor cell transplantation. *Blood* 1998;91(9):3148—55.
16. Richman C.M., Wiener R.S., Yankee R.A. Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man. *Blood* 1978;4:595—6.
17. Kotasek D., Shepherd K.M., Sage R.E. et al. Factors affecting blood stem cell collections following high-dose cyclophosphamide mobilization in lymphoma, myeloma and solid tumours. *Bone Marrow Transplant* 1992;9:11—7.
18. To L.B., Shepperd K.M., Haylock D.N. Single high doses cyclophosphamid enable the collection of high numbers of hemopoietic stem cells from the peripheral blood. *Exp Hematol* 1990;18: 442—7.
19. Lie A.K., Rawling T.P., Bayly J.L. et al. Progenitor cell yield in sequential blood stem cell mobilization in the same patients: insights into chemotherapy dose escalation and combination of haemopoietic growth factor and chemotherapy. *Br J Haematol* 1996;95:39—44.
20. Rowlings P.A., Bayly J.L., Rawling C.M. et al. A comparison of peripheral blood stem cell mobilisation after chemotherapy with cyclophosphamide as a single agent in doses of 4 g/m² or 7 g/m² in patients with advanced cancer. *Aust N Z J Med* 1992;22:660—4.
21. Jagannath S., Vesole D.H., Glenn L. et al. Low risk intensive therapy for multiple myeloma with combined autologous bone marrow and blood stem cell support. *Blood* 1992;80:1666—72.
22. Socinski M.A., Ellias A., Schnnipper L. et al. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor expands the circulating haemopoietic progenitor cell compartment in man. *Lancet* 1988;1(8596):1194—8.
23. Dursen U., Villeval J.-L., Kannourakis G. Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood* 1988;72: 2074—81.
24. Kisinger A., Bierman P., Bishop M. Effects of GM-CSF used for mobilization and after peripheral stem cell transplant (PSCT) for patients with previously treated low grade non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 1993;82(Suppl 1):613.
25. Levesque J.P. et al. Disruption of the CXCR4/CXCL12 chemotactic interaction during hematopoietic stem cell mobilization induced by GCSF or cyclophosphamide. *J Clin Invest* 2003;111:187—96.
26. Stahel R.A., Muller E., Pichert G. et al. Dose intensification with autologous marrow support in high-risk lymphoma. Acceleration of hematopoietic recovery and reduction of days of hospitalization with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in a randomized open-label trial. *Proc. ASCO* 1992;11:331—3.
27. Lane T.A., Law P., Maruyama M. Harvesting and enrichment of hematopoietic progenitor cells mobilized into the peripheral blood of normal donors by GM-CSF or G-CSF, potential role in allogeneic marrow transplantation. *Blood* 1995;85:275—82.
28. Demirkazik A., Armitage J.O., Bierman P.J. et al. Factors affecting progenitor cell and tumor cell content of blood stem cell harvests of lymphoma patients. Program and abstracts of the 40th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Miami, FL, 1998.
29. Franklin W., Gaspy J., Pflaumeret S. et al. Incidence of tumor-cell contamination in leukapheresis products of breast cancer patients mobilized with stem cell factor and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) or with G-CSF alone. *Blood* 1999;94(1):340—7.
30. Schwartzberg L.S., Birch R., Hazelton B. et al. Peripheral blood stem cell mobilization by chemotherapy with and without recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *J Hematother* 1992;1:317—27.
31. Brugger W., Bross K., Frisch J.

- Mobilization of PBPC by sequential administration of interleukin 3 and granulocyte macrophage colony stimulating factor following polychemotherapy with etoposide, ifosfamide, and cisplatin. *Blood* 1992;79(5):1193–2000.
32. Gianni A.M., Bregni M., Siena S. et al. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor reduces hematologic toxicity and widens clinical applicability of high-dose cyclophosphamide treatment in breast cancer and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1990;8:768–78.
33. Schwartzberg L.S. Peripheral blood stem cell mobilization in the out-patient setting. In: *Peripheral blood stem cell autografts*. E.W. Wunder, P.R. Henon, eds. Heidelberg: Springer-Verlag, 1993. p. 177–84.
34. Elias A.D., Ayash L., Anderson R.C. et al. Mobilization of peripheral blood progenitor cells by chemotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for hematologic support after high-dose intensification for breast cancer. *Blood* 1992;79:3036–44.
35. Андреева Л.Ю., Тупицын Н.Н., Кадагидзе В.В. и др. Стволовые гемопоэтические клетки в крови онкологических больных, экспрессия CD34 и колониобразование. *Пробл гематол трансфузиол* 1999;(4):4–11.
36. Птушкин В.В., Селидовкин Г.Д. Методические аспекты получения гемопоэтического трансплантационного материала из костного мозга и периферической крови. *Трансплантол искусств орган* 1995;(4):34–40.
37. Птушкин В.В., Селидовкин Г.Д., Чимишкян К.Л. и др. Применение аутологических клеток предшественников гемопоэза из периферической крови для трансплантации у больных с гематологическими и солидными новообразованиями после ВХТ. *Гематол трансфузиол* 1996;41(1):9–13.
38. Van Z.G., Liang Y. The role of stem cells in aging. *Exp Hematol* 2003;31:659–72.
39. Geiger H., Van Z.G. The aging of lympho-hematopoietic stem cells. *Nat Immunol* 2002;3:329–33.
40. Xing Z., Ryan M.A., Daria D. et al. Increased hematopoietic stem cell mobilization in aged mice. *Blood* 2006;108:2190–7.
41. Boiret N., Bons J.-M., Halle P. et al. G-CSF mobilized PB CD34+ cells from children and adults contain LTC-IC with the same frequency and producing the same numbers of CFC. Program and abstracts of the 41st American Society of Hematology Annual Meeting. *Blood* 1999;94:327.
42. Jantunen E., Kuittinen T., Penttila K. et al. High-dose melphalan (200 mg/m²) supported by autologous stem cell transplantation is safe and effective in elderly (≥ 65 years) myeloma patients: comparison with younger patients treated on the same protocol. *Bone Marrow Transplant* 2006;37:917–22.
43. Kopf B., De Giorgi U., Vertogen B. et al. A randomized study comparing filgrastim versus lenograstim versus molgramostim plus chemotherapy for peripheral blood progenitor cell mobilization. *Bone Marrow Transplant* 2006;38:407–12.
44. Nowrousian M.R., Waschke S., Bojko P. et al. Impact of chemotherapy regimen and hematopoietic growth factor on mobilization and collection of peripheral blood stem cells in cancer patients. *Ann Oncol* 2003;14(Suppl 1):29–36.
45. Peters W.P., Rosner G., Ross M. et al. Comparative effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on priming peripheral blood progenitor cells for use with autologous bone marrow after high-dose chemotherapy. *Blood* 1993;81:1709–19.
46. Koc O.N., Gerson S.L., Cooper B.W. et al. Randomized cross-over trial of progenitor-cell mobilization: high-dose cyclophosphamide plus granulocyte-colony-stimulating factor (G-CSF) versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor plus G-CSF. *J Clin Oncol* 2000;18:1824–30.
47. Weaver C.H., Schulman K.A., Buckner C.D. Mobilization of peripheral blood stem cells following myelosuppressive chemotherapy: a randomized comparison of filgrastim, sargramostim, or sequential sargramostim and filgrastim. *Bone Marrow Transplant* 2001;27(Suppl 2):23–9.
48. Roy V., Mandanas R.A., Carter T.H. et al. Randomized comparison of two G-CSF schedules for peripheral blood progenitor cell mobilization in high-risk breast cancer patients. Program and abstracts of the 41st American Society of Hematology Annual Meeting. *Blood* 1999;94:326.
49. Wingard J.R. Stem cells mobilization: Medley of option, even second chances. Program and abstracts of the 41st American Society of Hematology Annual Meeting. *Blood* 1999;94:327.
50. Watts M.J., Sullivan A.M., Jamieson E. et al. Progenitor-cell mobilization after low-dose cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor: an analysis of progenitor-cell quantity and quality and factors predicting for these parameters in 101 pretreated patients with malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 1997;15:535–46.
51. Ashihara E., Shimazaki C., Okano A. et al. Feasibility and efficacy of high-dose etoposide followed by low-dose G-CSF as a mobilization regimen in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 2000;85:1112–4.
52. Pucci G., Irrera G., Martino M. et al. High-dose etoposide enables the collection of peripheral blood stem cells in patients who failed cyclophosphamide-induced mobilization. *Br J Haematol* 1998;100:612–3.
53. Kanfer E.J., McGuigan D., Samson D. et al. High-dose etoposide with granulocyte colony-stimulating factor for mobilization of peripheral blood progenitor cells: efficacy and toxicity at three dose levels. *Br J Cancer* 1998;78:928–32.
54. Reiser M., Josting A., Draube A. et al. Successful peripheral blood stem cell mobilization with etoposide (VP-16) in patients with relapsed or resistant lymphoma who failed cyclophosphamide mobilization. *Bone Marrow Transplant* 1999;23:1223–8.
55. Vogel W., Kunert C., Blumenstengel K. et al. Correlation between granulocyte/macrophage-colony-forming units and CD34+ cells in apheresis products from patients treated with different chemotherapy regimens and granulocyte-colony-stimulating factor to mobilize peripheral blood progenitor cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998;124:341–5.
56. Brugger W., Birken R., Bertz H. et al. Peripheral blood progenitor cells mobilized by chemotherapy plus granulocyte-colony stimulating factor accelerate both neutrophil and platelet recovery after high-dose VP16, ifosfamide and cisplatin. *Br J Haematol* 1993;84:402–7.
57. Copelan E.A., Ceselski S.K., Ezzone S.A. et al. Mobilization of peripheral blood progenitor cells with high-dose etoposide and granulocyte colony-stimulating factor in patients with breast cancer, non-Hodgkin's lymphoma, and Hodgkin's disease. *J Clin Oncol* 1997;15:759–65.
58. Dreger P., Kloss M., Petersen B. et al. Autologous progenitor cell transplantation: prior exposure to stem cell-toxic drugs determines yield and engraftment of peripheral blood progenitor cell but not of bone marrow grafts. *Blood* 1995;86(10):3970–8.
59. Скрыгин А.Е. Оптимизация технологии мобилизации и коллекции стволовых клеток периферической крови для аутотрансплантации. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. 2006.
60. O'Donnell P., Loper K., Flinn I. et al. Effect of fludarabine chemotherapy on peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT). Program and abstracts of the 40th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Miami, FL., 1998.
61. Chabannon C., Le Coroller A.-G., Faucher C. et al. Patient condition affects the collection of peripheral blood progenitors after priming with recombinant granulocyte colony-stimulating factor. *J Hematother* 1995;4:171–9.

РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК CD4+CD25+ И МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В ПОДАВЛЕНИИ РЕАКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА

И.А. Корсунский¹, А.Г. Румянцев¹, С.Н. Быковская²

¹ФГУ ФНКЦ детской гематологии, онкологии и гематологии Росздрава;

²Лаборатория клеточного мониторинга, Москва

Реакция трансплантат против хозяина (РТПХ) — одно из самых тяжелых осложнений, возникающих после пересадки клеток аллогенного костного мозга. Изучение иммунных механизмов развития острой РТПХ выявило критическую роль регуляторных Т-клеток CD4+CD25+Fоxp3+, ответственных за подавление функции эффекторных механизмов отторжения, включая ингибирование цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+, Т-хелперов CD4+CD25, естественных киллеров и других клеток, направленных на повреждение клеток хозяина. В экспериментах на животных показана ведущая роль Т-регуляторов в инициации РТПХ. В ряде исследований у человека проанализирована корреляция между содержанием Т-рег CD4+CD25+Fоxp3+ в трансплантате и/или крови реципиента и последующим развитием острой или хронической РТПХ. Тяжесть аллогенной РТПХ обратно пропорциональна низкой экспрессии Fоxp3.

Помимо регуляторных Т-клеток, мезенхимальные стволовые клетки (МСК) обладают выраженным иммуносупрессивным эффектом, который продемонстрирован в экспериментах на животных и при клинических испытаниях у больных. МСК не только предотвращают развитие РТПХ, но и могут быть использованы для лечения уже начавшегося процесса. По мнению ряда авторов, МСК предотвращают развитие РТПХ, оказывая непосредственное влияние на индукцию регуляторных Т-клеток *in vivo*.

Ключевые слова: реакция трансплантат против хозяина, мезенхимальные стволовые клетки, регуляторные Т-клетки

ROLE OF THE REGULATORY T CELLS CD4+CD25+ AND MESENCHYMAL MARROW STEM CELLS IN SUPPRESSING A GRAFT VERSUS HOST DISEASE

I.A. Korsunsky¹, A.G. Rumyantsev¹, S.N. Bykovskaya²

¹Federal Research Clinical Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Russian Agency for Health Care; ²Laboratory of Cell Monitoring, Moscow

A graft versus host disease (GVHD) is one of the most serious complications occurring after allogeneic marrow cell transplantation. The investigation of the immune mechanisms responsible for the development of an acute GVHD has revealed a critical role of the regulatory T cells CD4+CD25+Fоxp3+ that are responsible for the suppression of the function of effector rejection mechanisms, including the inhibition of the cytotoxic T lymphocytes CD8+, T-helper cells CD4+CD25, natural killer cells and others that damage the host cells. Animal experiments have indicated the leading role of regulatory T cells in the initiation of GVHD. A number of human studies have analysed a correlation between the levels of the regulatory T cells CD4+CD25+Fоxp3+ in the graft and/or blood of a recipient and the further occurrence of acute or chronic GVHD. The severity of an allogeneic GVHD is inversely related to the low expression of Fоxp3.

Besides regulatory T cells, mesenchymal stem cells (MSCs) have a significant immunosuppressive effect that has been demonstrated in the animal experiments and in the clinical trials in patients. MSCs do not only prevent the development of a GVHD, but may be used for the treatment of a just incipient process. In the opinion of a number of authors, MSCs prevent the development of a GVHD by directly affecting the induction of regulatory T cells *in vivo*.

Key words: graft versus host reaction, mesenchymal stem cells, regulatory T cells

Введение

Реакция трансплантат против хозяина (РТПХ) инициируется после пересадки клеток аллогенного костного мозга (КМ), когда пересаженные клетки здорового донора распознают антигенные детерминанты на антигенпрезентирующих клетках (АПК) реципиента [1]. Т-лимфоциты донора, специфически активированные клетками хозяина, пролиферируют, секретируют каскад цитокинов (так называемый цитокиновый шторм) и дифференцируются в эффекторные Т-клетки, которые обычно атакуют кожу, печень и гастроинтестинальный тракт реципиента.

В клинике наблюдается два вида аллореактивности. Наиболее часто встречающийся тип — РТПХ, вызываемая главным образом Т-лимфоцитами, находящимися в трансплантате КМ донора, хотя иногда трансплантат может страдать от иммунной системы хозяина. Полное удаление Т-клеток из трансплантата должно было бы предотвратить развитие РТПХ, одна-

ко именно Т-клетки ответственны за окончательное уничтожение лейкозных клеток — реакция трансплантат против лейкоза (РТПЛ). Когда аутореактивность редуцирована или отсутствует, например, при ауто-трансплантации, пересадке КМ от однояйцового близнеца или если Т-клетки полностью удалены из трансплантата, возрастает вероятность рецидива онкологического заболевания. Таким образом, задача заключается в том, чтобы получить РТПЛ, но избежать развития РТПХ.

Острая и хроническая РТПХ. В клинике различают острую и хроническую РТПХ. Ранние признаки острой РТПХ проявляются экспансией CD8+ Т-лимфоцитов донора и повышенной продукцией интерферона γ (ИФН γ) Т-клетками донора CD8+ и CD4+. Острая РТПХ развивается в результате атаки клеток реципиента цитотоксическими CD8+ Т-лимфоцитами донора, сопровождается элиминацией лимфоцитов реципиента и тяжелым иммунодефицитом [2].

При условиях, когда активность CD8⁺ Т-клеток донора подавлена, острая РТПХ превращается в хроническую [3]. При хронической РТПХ Т-лимфоциты CD8⁺ приживаются в организме реципиента, но не проявляют цитотоксичности против клеток хозяина. CD8⁺ Т-лимфоциты донора разрушаются, а оставшиеся клетки, резистентные к апоптозу, становятся анергичными [4].

Изучение влияния регуляторных Т-клеток CD4⁺CD25⁺ Foxp3⁺ (Трег) донора на поведение CD8⁺ Т-лимфоцитов показало, что именно Трег CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ могут блокировать активацию донорских CD8⁺ Т-клеток и, следовательно, препятствовать этой субпопуляции Т-лимфоцитов индуцировать острую РТПХ [4]. Напротив, в хронической РТПХ происходит активация CD4⁺ донорских Т-клеток, которые стимулируют субпопуляцию аутореактивных В-лимфоцитов реципиента, что приводит к нарушению аутоотолерантности.

Обычно для того чтобы добиться приживания клеток донора и избежать развития РТПХ, проводится химио- и иммуносупрессивная терапия. Однако применение иммуносупрессантов и миелоаблятивной терапии сопряжено с глобальной депрессией иммунной системы, повышенной склонностью больного к инфекции и неоплазии, т.е. с резким ухудшением качества жизни. Специфические методы терапии РТПХ смогли бы разрешить одну из самых серьезных проблем трансплантологии. Достижения в изучении супрессорной функции Т-клеток и возможности их применения в клинике открывают перспективы для решения этой задачи.

Регуляторные Т-клетки с супрессорной функцией. В пределах субпопуляции CD4⁺ Т-лимфоцитов различают 2 типа клеток, обладающих супрессорной активностью. Это клетки, которые не имеют классического фенотипа регуляторных Т-клеток, так называемые индуцированные CD4⁺ Т-клетки и натуральные регуляторные Т-клетки с фенотипом CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺. Индуцированные Т-клетки получили название Т-регуляторы 1-го класса Трег 1 (Tr1) и Т-хелперы 3-го класса (Th3). Эти клетки приобретают супрессорную активность под действием уникальных условий стимуляции как следствие активации *in vivo* или *in vitro* и могут быть выявлены только на основе их цитокинового профиля. Клетки Tr1 ингибируют ответ Т-хелперов 1-го и 2-го класса — Th1 и Th2 посредством интерлейкин (ИЛ)-10-зависимого механизма [5]. Клетки Th3 секретируют трансформирующий фактор роста β₁ (ТФРβ₁), обладающий супрессорной активностью, и в меньшей степени супрессорные цитокины ИЛ-4 и ИЛ-10.

Есть еще несколько незначительных субпопуляций клеток с супрессорной активностью. К ним относят Т-клетки с маркерами CD8⁺CD28⁻, так называемые двойные негативные Т-клетки (Т-клеточный рецептор — ТКР⁺) CD4⁻CD8⁻, а также натуральные киллерные Т-клетки (НКТ) [5].

Натуральные регуляторные Т-клетки CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ (Трег) созревают в тимусе и расселяются в периферические лимфоидные органы в течение первых 3—5 дней неонатального развития. У мышей, подвергнутых тимэктомии на 3-й день после рождения, отсутствуют Трег, в результате чего развивается полиауто-

иммунный синдром, который включает аутоиммунный гастрит, оофорит, тиреоидит, орхит [6]. Инфузия клеток CD4⁺CD25⁺, взятых у нормальных мышей, отменяет аутоиммунные проявления у животных, тимэктомированных на 3-й день после рождения. Трег играют критическую роль в подавлении периферической аутореактивности и обеспечивают толерантность к аутоантигенам. Трег CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ имеют пивотальное значение, контролируя аутоиммунитет, аллергию и трансплантационную толерантность [7].

Трег предотвращают не только аутоиммунные расстройства, например, Трег матери подавляют иммунный ответ против клеток плода, контролируют иммунный ответ против вирусов, паразитов, бактерий и дрожжей [8]. Наконец, Трег строго ингибируют противоопухолевый иммунитет. Количественный и/или качественный дефект Трег наблюдается при аутоиммунных заболеваниях, в частности при ревматоидном артрите, множественном склерозе и системной красной волчанке [9].

По данным S. Sakaguchi и соавт. (1995), в норме Т-лимфоциты CD4⁺CD25⁺ составляют 5—10% от общего числа CD4⁺ Т-клеток в тимусе, периферической крови (ПК) и лимфоидных тканях. Уникальными маркерами натуральных Трег являются постоянная экспрессия α-цепи рецептора к ИЛ-2 (CD25^{hi}) и внутриядерного фактора транскрипции Foxp3, который контролирует развитие и функцию этих клеток [5].

Так как обычные CD4⁺CD25⁻ Т-клетки могут транзиторно экспрессировать CD25⁺ при активации, эта поверхностная молекула не может рассматриваться как эксклюзивный маркер Трег. Характерным признаком Трег является высокий уровень экспрессии α-цепи рецептора к ИЛ-2, (CD25^{hi}). Впоследствии на основе уровня экспрессии CD25⁺ были идентифицированы 4 субпопуляции клеток: CD25⁻, CD25⁺, CD25⁺⁺ и CD25⁺⁺⁺. Интенсивность экспрессии CD25 соответствовала экспрессии Foxp3 и иммуносупрессорной функции этих клеток [10]. Пропорция таких клеток ниже и по нашим данным и по результатам других авторов в норме составляет 2,6—5,2 % [11].

До настоящего времени наилучший маркер Трег — коэкспрессия CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺. Кроме того, на Трег выявляются рецептор глюкокортикоид-индуцированного фактора некроза опухоли (pФНО, GITR), антиген-4 цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ-4), хоминг-рецепторы лимфоцитов (CD103, CD62L CCR5) [12] и другие маркеры.

Трег имеют поликлональный репертуар ТКР, основанный на разнообразии экспрессии генов различных элементов ТКР — α/β и могут распознавать широкий спектр своих и чужих антигенов [12].

Свежевыделенные Трег анергичны и не могут отвечать на стимуляцию ТКР. Показано, что Трег способны пролиферировать в ответ на стимулирующие антигены только в присутствии ИЛ-2 и при активации подавляют пролиферацию как наивных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, так и эффекторных Т-клеток CD4⁺ CD25⁻, цитотоксических CD8⁺ Т-клеток памяти, а также клеток — натуральных киллеров — НК и В-лимфоцитов через контактзависимый механизм [5]. Как было показано ранее, ингибиторный эффект Трег может быть опосредован иммуносупрессивными цитокинами ИЛ-10 и связанным с мембра-

ной ТФРβ. Однако экспрессия GITR, ЦТЛ-4, активация гранзима В, перфоринзависимый цитотоксический механизм, выявленные в Трег, свидетельствуют о возможности реализации разных путей цитотоксического эффекта ТРК [12].

Иммунная толерантность, которая развивается у реципиента аллогенного КМ, антиген-специфична и может быть адоптивно перенесена нативным мышам-реципиентам. У тимэктомированных животных толерантность донора к хозяину, опосредованная регуляторными Т-клетками, не развивается [5]. Эти данные указывают на критическую важность тимуса для развития *de novo* Трег клеток после аллогенной пересадки КМ. Более того, поддержание толерантности Трег донора к клеткам реципиента зависит от постоянного присутствия антигенов главного комплекса гистосовместимости 2-го класса (ГКГ II) у реципиента. Экспрессия молекул ГКГ II критична для генерации клеток CD4+CD25+ с регуляторным потенциалом. Развитие способности этих клеток контролировать ответ на аллоантигены, по-видимому, требует антигенного сигнала [12]. Субпопуляции АПК обеспечивают специфические сигналы, стимулирующие активацию и созревание Трег клеток.

Присутствие аутореактивных лимфоцитов или аутоантигена на АПК индуцирует динамические изменения в функциональном поведении периферической регуляторной системы, включая активацию антиген-специфических регуляторных клеток CD4+CD25+Foxp3. Индуцированные в присутствии аутореактивных Т-клеток, Трег приобретают способность подавлять адоптивный перенос аутологичной РТПХ независимо от присутствия CD8+ Т-клеток, причем и антиген-специфические регуляторные Т-клетки, и патогенные эффекторные Т-клетки в аутологичной РТПХ распознают общий пептидный антиген, презентируемый молекулами ГКГ II. Тем не менее протекция от РТПХ, осуществляемая Трег, специфичными к антигенам хозяина, не является необходимой, так как, будучи однажды активированы, Трег могут ингибировать эффекторные Т-клетки антиген-независимым образом [13].

Регуляторный контроль ответа на РТПХ опосредуется и аутореактивными, и аллореактивными Т-клетками в комплексе. Несмотря на то, что в этом процессе принимают участие разные популяции клеток, натуральные регуляторные клетки CD4+CD25+ жизненно необходимы [13]. Более того, контроль РТПХ, осуществляемый Трег, сопоставим с антилейкемическим эффектом, направленным против клеток опухоли.

Роль регуляторных Т-клеток CD4+CD25+Foxp3 в развитии РТПХ. Большинство тяжелых иммунологических осложнений, возникающих вследствие трансплантации аллогенного КМ, вызвано лимфоцитами донора, контаминирующими трансплантат. Именно Т-клетки вызывают развитие РТПХ. Однако деплеция Т-клеток в трансплантате с целью избежать РТПХ приводит к увеличению частоты рецидивов, отторжению трансплантата и возникновению инфекционных осложнений. Как упоминалось выше, Трег представляют субпопуляцию Т-клеток, обладающих супрессорной активностью и ответственных за создание иммунологической толерантности. При удалении регуляторных Т-клеток из трансплантата КМ перед инъекцией реци-

пиенту развивалась летальная РТПХ. Именно эти эксперименты впервые доказали, что Т-регуляторные лимфоциты ответственны за подавление РТПХ [5]. Последующие опыты на мышах подтвердили, что Трег играют критическую роль в развитии этого заболевания. Когда Трег, естественно присутствующие в трансплантате аллогенного КМ, удаляли перед инфузией облученным мышам-реципиентам, развитие РТПХ значительно ускорялось. Деплеция (истощение) CD25+ в трансплантированных клетках КМ донора ускоряла развитие острой РТПХ. Более того, инфузия активированных *ex vivo* и выращенных Т-клеток донора CD4+CD25+ останавливала развитие острой РТПХ после пересадки клеток КМ дозозависимым способом [14]. Более того, добавление большого числа свежесделанных Трег в суспензию клеток КМ донора, содержащую аллореактивные Т-лимфоциты, эффективно предотвращало развитие РТПХ у летально облученных мышей реципиентов [14].

Введение Трег, специфичных к аллоантигенам хозяина, не только предотвращало развитие РТПХ, но также способствовало иммунной реконституции у мышей [15]. Это наблюдение означает, что Трег, специфичные к аллоантигенам хозяина, преимущественно подавляют экспансию Т-клеток, ответственных за РТПХ, сохраняя дифференцировку неаллореактивных Т-клеток.

Аккумуляция Т-клеток донора в период приживления первично происходит в лимфоидных органах, затем Т-клетки рекрутируются в паренхиматозные ткани, такие как желудочно-кишечный тракт, печень, легкие и кожа [16]. В связи с этим, как было показано, значительную роль играет хемокиновый рецептор Трег CCR5, так как он критичен для «хоминга» Трег в пораженные ткани и подавляет их воспаление [14].

Трег клетки реципиента также принимают участие в развитии РТПХ. У мышей-реципиентов, у которых посредством облучения были убиты все Т-клетки, развивалась ускоренная и более тяжелая РТПХ. Однако усиление тяжести РТПХ происходит не из-за отсутствия вообще Т-клеток, а из-за дефицита Т-клеток CD4+CD25+, так как введение Трег клеток реципиента приводит к излечению от РТПХ. Эти данные означают, что Т-клетки реципиента действуют не посредством активности трансплантат против хозяина или подавления гомеостатической пролиферации, а через регуляторный механизм. У реципиентов, у которых отсутствуют почти все Т-лимфоциты, регуляторные Т-клетки реципиента, выжившие после радиации, предшествующей трансплантации КМ донора, замедляют развитие РТПХ [17].

Число Трег CD4+CD25+Foxp3+ снижено при РТПХ у человека. В ряде исследований проанализирована корреляция между содержанием Трег CD4+CD25+Foxp3+ в трансплантате и/или крови реципиента и последующим появлением острой или хронической РТПХ [15, 18–26].

Изучение экспрессии Foxp3 и CTLA-4 в мононуклеарных клетках ПК показало, что тяжесть аллогенной РТПХ обратимо коррелирует с низкой экспрессией Foxp3 [20]. Многократные измерения содержания Трег в ПК 29 больных в течение первых 71–373 дней после трансплантации показали, что начальная фаза

РТПХ сопровождается значительной редукцией Трег в ПК, тогда как на поздних стадиях на фоне интенсивной иммуносупрессивной терапии число Трег возрастает [27].

Чтобы оценить значение количества Трег в трансплантате HLA-совместимых родственников, D. Wolf и соавт. [28] проанализировали 58 образцов КМ и клинические последствия пересадки стволовых клеток. Содержание Трег в трансплантате строго коррелировало с появлением РТПХ. У больных, которым после миелоаблятивной терапии вводили трансплантат с низким содержанием Трег, острая РТПХ развивалась в 76% случаев, тогда как при пересадке трансплантата с высоким содержанием Трег острая РТПХ наблюдалась только у 26% больных.

К. Razvani и соавт. [25] выявили обратную зависимость между абсолютным числом Трег в трансплантате и появлением острой РТПХ. Авторы исследовали фенотип клеток КМ и клеток мобилизованной крови донора, оценивая клетки CD4+Foxp3+ в соответствии с появлением РТПХ у 32 реципиентов HLA-совместимых родственников. Авторы показали, что у пациентов, которым трансплантировали стволовые клетки с низким абсолютным количеством CD4+Foxp3+, отмечен более высокий риск развития РТПХ. У больных с РТПХ зафиксировано небольшое содержание клеток CD4+Foxp3+, а увеличение их числа ассоциируется с низкой частотой возникновения острой РТПХ. Авторы считают, что количество клеток CD4+Foxp3+ среди Т-лимфоцитов донора может быть показателем развития РТПХ у реципиента после пересадки HLA-совместимого КМ.

По данным Z. Zhai и соавт. [29], оценка корреляции между содержанием CD4+CD25^{hi} Т-клеток у больных и доноров КМ в соответствии с прогнозом и появлением РТПХ выявила, что у реципиентов с нормальным или высоким числом клеток CD4+CD25^{hi} РТПХ не развивалась или была умеренной (I стадия) и все больные выжили. Напротив, у реципиентов с низким содержанием Трег или тех, у кого клетки CD4+CD25^{hi} не выявлялись, развивалась тяжелая стадия заболевания (выше II стадии) и все больные умерли в течение 1 года после трансплантации. Отмечено, что количество клеток у реципиента коррелировало с числом клеток у соответствующего донора. Т-клетки CD4+CD25^{hi} реципиента и соответствующего донора экспрессировали высокие уровни Foxp3 и эффективно подавляли пролиферацию отвечающих клеток в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ), что свидетельствует о нормальной функции Трег у таких больных.

Эти результаты соответствуют исследованиям, проведенным на мышах, где было показано, что сниженное число Трег в трансплантате ускоряет развитие РТПХ [14].

Однако изучение CD4+CD25+ Трег клеток ПК больных с хронической РТПХ по крайней мере через 100 дней после пересадки КМ выявило заметно повышенное содержание Трег по сравнению с контрольной группой и больными, у которых РТПХ не развивалась [18]. Эти данные согласуются с пониманием механизмов возникновения хронической РТПХ, при которой пролиферируют эффекторные CD4+ и регуляторные CD4+CD25^{hi} Т-клетки [30].

Представленные выше результаты получены при изучении клеток ПК реципиентов или трансплантата КМ донора. В связи с этим представляет особый интерес работа, в которой проведена идентификация Трег в пораженной слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта больных. К. Rieger и соавт. [24] проанализировали иммуногистохимически соотношение Foxp3+/CD8+ Т-клеток у больных с острой и хронической РТПХ по сравнению с группой здоровых доноров и изменениями, вызванными инфекционным воспалением. Результаты показали, что у больных с колитом, вызванным цитомегаловирусной инфекцией, выявлено увеличение количества CD8+ и регуляторных Foxp3+ Т-клеток; в слизистой оболочке кишечника пациентов с гистологическими признаками РТПХ соотношение Т-клеток Foxp3+/CD8+ снижено до $0,8 \pm 0,1$, тогда как в образцах слизистой оболочки без РТПХ или в контрольных группах соотношение соответствует норме (Foxp3+/CD8+ равно $1,9 \pm 0,1$). При использовании двойной иммуноферментной метки у больных с острой и хронической РТПХ, а также у здоровых доноров наблюдалось незначительное число клеток Foxp3+ и CD3+, тогда как в образцах слизистой больных без РТПХ обнаружено высокое содержание клеток CD3+, экспрессирующих Foxp3+.

Изложенные выше результаты позволяют заключить, что в будущем Трег могут быть использованы в терапевтических целях и для предотвращения РТПХ. В многочисленных исследованиях продемонстрировано, что Трег донора, выращенные *ex vivo*, успешно подавляют развитие РТПХ [14].

Культивирование Т-регуляторов *ex vivo*. Существует несколько способов стимуляции Трег клеток, при которых они могут быть выращены в больших количествах в течение 2–3 нед. Выращенные *ex vivo* клетки сохраняют экспрессию основных клеточных маркеров, включая CD25, CD62L, HLA-DR (у человека), ЦТЛ-4, GITR, и, что самое важное, внутриклеточную экспрессию Foxp3. Эти клетки секретируют ИЛ-10, ТФРβ и сохраняют регуляторную функцию подавления пролиферации и секреции цитокинов отвечающими эффекторными клетками в СКЛ [31].

Трег донора можно индуцировать *ex vivo* или аллогенными АПК реципиента в сочетании с ИЛ-2, или антителами, специфичными к CD3 и /или CD28 в присутствии высоких концентраций ИЛ-2. Используя эти протоколы, авторы получили высокую экспансию Трег [14, 32]. Интересно, что Трег, стимулированные *in vitro* клетками реципиента, эффективнее ингибировали РТПХ, чем клетки, индуцированные посторонними АПК. Более того, Трег, специфичные к аллоантигенам реципиента, *in vivo* выживали лучше, чем Трег, специфичные к посторонним аллоантигенам. В качестве АПК могут быть использованы аллогенные мононуклеарные клетки крови или селезенки, однако аллогенные дендритные клетки наиболее эффективны для индукции Трег CD4+CD25+Foxp3+. Полученные таким образом антиген-специфические Трег в 10 раз более эффективно подавляют пролиферацию лимфоцитов оригинального стимулирующего штамма, чем клеток мышей посторонней линии.

По нашим данным, Трег можно успешно индуцировать *ex vivo* в присутствии вышеуказанных факторов;

полученные клетки полностью идентичны нативным Трег по фенотипическим и функциональным характеристикам: в тестах *in vitro* они ингибируют пролиферацию эффекторных клеток в той же степени, что и Трег, выделенные из крови больных или доноров.

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) были впервые выявлены А.Я. Фриденштейном и соавт. в 1970 г. [30] и позднее описаны другими авторами, которые показали, что одна мезенхимальная клетка способна *in vivo* формировать кость, хрящ и другие мезенхимальные ткани. Далее, в экспериментах *in vitro* и *in vivo* была продемонстрирована дифференцировка МСК человека в остеобласты, хондроциты, адипоциты, мышцу, предшественники нейрональной ткани, кардиомиоциты. Более того, МСК секретируют цитокины и ростовые факторы, которые способствуют активации эндогенных стволовых клеток. МСК являются компонентом стромы КМ, которая поддерживает гемопоэз, обеспечивая стволовые клетки — предшественники гемопоэтического ряда соответствующими цитокинами и ростовыми факторами. МСК также влияют на «хоминг» и дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток КМ [33]. МСК способны мигрировать из КМ в поврежденный орган в случае травмы, ожога или инфекции для репарации тканей и восстановления функции большого органа. МСК участвуют в регенерации миокарда, поврежденной кости, сухожилия, хряща, мениска.

Иммуномодуляторные свойства МСК. Эти клетки ингибируют функцию зрелых Т-лимфоцитов после их клеточной или неспецифической митогенной стимуляции. Выделенные из КМ МСК подавляют пролиферацию не только CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, но и НК, индуцируют блокировку Т-клеток в стадии митоза, модулируют В-клетки, ингибируют дифференцировку моноцитов в дендритные клетки, их созревание и функцию, снижают продукцию воспалительных цитокинов различными популяциями иммунных клеток [26]. Также МСК индуцируют апоптоз CD8⁺ Т-лимфоцитов и экспансию регуляторных Т-клеток CD4⁺CD25⁺ [34].

Ранее было высказано предположение, что растворимые факторы, продуцируемые МСК, представляют ключевые медиаторы ингибирования, хотя клеточный контакт также может играть определенную роль. При кокультивировании с НК-клетками МСК индуцируют в них снижение секреции ИФН γ , резко подавляют индуцированную ИЛ-2 пролиферацию покоящихся, но не активированных НК-клеток, при низких соотношениях МСК/НК изменяют фенотип и подавляют в НК-клетках пролиферацию, секрецию цитокинов и цитотоксичность против клеток мишеней, экспрессирующих антигены гистосовместимости 1-го класса (ГКГ I). Интересно, что сами МСК чувствительны к лизису активированными ИЛ-2 (но не свежесделанными) НК-клетками [35].

Механизмы, которые лежат в основе иммуносупрессивной активности МСК, имеют только частичное объяснение. МСК экспрессируют низкий уровень молекул ГКГ I, но не экспрессируют ГКГ II, костимуляторные молекулы CD80, CD86, CD40 или CD40L. Недавно была выявлена иммуносупрессивная роль локуса гистосовместимости HLA-G, обнаруженного на МСК.

HLA-G — неклассический комплекс гистосовместимости ГКГ I класса, который экспрессируется в мембраносвязанной и растворимой форме. Молекулы HLA-G были впервые идентифицированы в цитотрофобластах, где они играют ключевую роль в создании толерантности матери к плоду. Антигены HLA-G экспрессируются в 7 различных изоформах, включая 4 мембраносвязанных (HLA-G1 — HLA-G4) и 3 растворимых (HLA-G5—G7). Обе изоформы HLA-G проявляют толерогенные свойства, взаимодействуя с ингибиторными рецепторами на дендритных клетках, Т-лимфоцитах и НК, вызывают апоптоз CD8⁺ Т-клеток, подавляют пролиферацию CD4⁺, цитотоксические функции Т- и НК-клеток, созревание дендритных клеток и индуцируют секрецию Th2 цитокинов [36].

Иммуносупрессивный эффект МСК может быть опосредован растворимыми факторами, такими как ТФР β , фактор роста гепатоцитов, ИЛ-10, простагландин E2, индолеамин 2,3-диоксигеназа. Перечисленные выше факторы наряду с прямым иммуносупрессивным эффектом влияют на индукцию регуляторных Т-клеток CD4⁺CD25⁺ [37].

Введение МСК животным и человеку. Иммуносупрессивные свойства МСК делают их привлекательным средством для подавления реакции отторжения трансплантата и предотвращения или лечения РТПХ. Эффективность применения МСК *in vivo* изучалась в моделях на животных [38, 39] и при клинических испытаниях у больных с РТПХ [40, 41].

Например, в экспериментах на крысах показано ингибирование летальной РТПХ при котрансплантации МСК и гемопоэтических стволовых клеток КМ. По сравнению с группой контрольных животных у крыс, которым ввели МСК, нормализовалось число Т-клеток CD4⁺ и CD8⁺ и снизилось соотношение субклассов Th1/Th2, в то же время пропорция регуляторных Т-клеток CD4⁺CD25⁺ повысилась и в селезенке, и в тимусе. По мнению авторов, МСК предотвращают развитие РТПХ, оказывая непосредственное влияние на субпопуляции Т-клеток *in vivo* [39].

В экспериментах V. Tisato и соавт. [38] протестирована способность МСК, выращенных из клеток крови пупочной вены человека, подавлять РТПХ у сублетально облученных иммунодефицитных NOD/SCID мышей, которым вводили мононуклеарные клетки ПК человека. Авторы выявили, что РТПХ не развивалась у мышей, которым вводили МСК с еженедельными интервалами, тогда как однократная инъекция МСК была неэффективна.

Однако в ряде экспериментов показано, что, несмотря на то что МСК подавляют пролиферацию аллогенных Т-клеток *in vitro*, независимо от гаплотипа большого комплекса гистосовместимости (ГКГ II), эти клетки не влияют на появление или тяжесть РТПХ *in vivo*. Более того, в описываемых экспериментах тяжесть гистологических изменений в толстой кишке мышей, которым вводили МСК, была идентична изменениям, наблюдаемым у животных контрольной группы. Введение мышам Т-клеток донора, меченных прижизненным красителем CFSE (сукцинимидный эфир карбоксифлуоресцеина), одновременно с МСК показало, что в присутствии МСК эти клетки делятся с такой же интенсивностью, как и Т-клетки контрольной группы, которым МСК не вводили [42].

Интересно, что котрансплантация МСК реципиента и аллогенного КМ донора подавляла отторжение клеток КМ донора у сублетально облученных мышшей реципиентов, и напротив, котрансплантация аллогенного КМ и МСК донора значительно снижала приживление клеток КМ. Кроме того, введение аллогенных МСК приводит к развитию клеточного иммунного ответа. Эти результаты показывают, что в сущности МСК не являются иммунопривилегированными клетками и могут индуцировать иммунный ответ *in vivo*, который приводит к отторжению трансплантата [43].

Первый опыт использования аутологичных МСК у человека с целью предотвращения развития РТПХ был предпринят S. Lee и соавт. [44], которые наблюдали ускоренную иммунную реконституцию и повышенную приживляемость и подавление РТПХ после трансплантации несовместимых по HLA-гаплотипу клеток КМ.

Клиническая эффективность МСК, полученных от донора КМ, ассоциировалась со значительной редукцией неприживления трансплантата. МСК донора, котрансплантированные 14 детям с клетками CD34+ от HLA-гаплонесовместимых доноров, индуцировали стойкое приживление гемопоэтических клеток, тогда как в контрольной группе выявлялось 15% больных с неприживлением [45]. Эти результаты согласуются с сообщением K. Le Blanc и соавт. [46], которые использовали гаплоидентичные МСК для котрансплантации с гемопоэтическими стволовыми клетками, что привело к 100% донорскому химеризму и ускоренному приживлению трансплантата.

МСК не только предотвращали развитие РТПХ, но и были использованы для лечения уже начавшегося процесса. Больным вводили МСК от HLA-идентичных

родственников, гаплоидентичных доноров членов семьи или несовместимых доноров 8 пациентам со стероид-рефрактерной III—IV стадией РТПХ и 1 больному с хронической РТПХ. После введения МСК острая РТПХ исчезла полностью у 6 из 8 больных, полное разрешение наблюдалось в кишечнике 6 пациентов. Выживаемость этих больных была значительно лучше, чем у 16 стероид-резистентных пациентов с подтвержденной формой гастроинтестинальной РТПХ, не леченных МСК. У 1 больного с хронической РТПХ наблюдался транзиторный ответ, он умер от посттрансплантационного лимфопролиферативного синдрома, вызванного вирусом Эпштейна—Барр (лимфома).

Благоприятные результаты пилотных испытаний введения МСК для лечения или предотвращения развития РТПХ омрачаются повышенным числом рецидивов у этих больных. H. Ning и соавт. [47] провели рандомизированное исследование, куда включили 30 больных, получивших гемопоэтические стволовые клетки КМ от HLA-идентичных родственников вместе с МСК или без них, выделенных от того же донора. Только у 1 из 10 больных, получивших МСК, развилась острая РТПХ II стадии по сравнению с 8 из 15 пациентов, которым МСК не вводили. Однако число рецидивов в группе больных, получавших МСК (60% против 20%), оказалось гораздо выше. Авторы делают вывод, что МСК эффективно подавляет РТПХ, но негативно влияют на РТПЛ.

Заключение

Изложенные нами данные экспериментальных исследований свидетельствуют о принципиально новых подходах в лечении РТПХ, требующих дальнейшего углубленного изучения.

Л и т е р а т у р а

1. Румянцев А.Г., Масчан А.А. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей. М.: МИА, 2003.
2. Rus V., Svetic A., Nguyen P. et al. Kinetics of Th1 and Th2 cytokine production during the early course of acute and chronic murine graft-versus-host disease. Regulatory role of donor CD8+ T cells. *J Immunol* 1995;155(5):2396—406.
3. Via C.S., Shustov A., Rus V. et al. In vivo neutralization of TNF-alpha promotes humoral autoimmunity by preventing the induction of CTL. *J Immunol* 2001;167(12):6821—6.
4. Kim J., Kim H.J., Choi W.S. et al. Maintenance of CD8+ T-cell anergy by CD4+CD25+ regulatory T cells in chronic graft-versus-host disease. *Exp Mol Med* 2006;38(5):494—501.
5. Jiang S., Lechler R.I., He X.S., Huang J.F. Regulatory T cells and transplantation tolerance. *Hum Immunol* 2006;67(10):765—76.
6. Buckner J.H., Ziegler S.F. Regulating the immune system: the induction of regulatory T cells in the periphery. *Arthritis Res Ther* 2004;6(5):215—22.
7. Насонов Е.Л., Быковская С.Н. Т-регуляторные клетки при аутоиммунных ревматических заболеваниях. *Вестн РАМН* 2006;(9—10):74—82.
8. Воробьев А.А., Быковская С.Н., Пашков Е.П., Быков А.С. Роль клеток-регуляторов CD4+CD25+ в развитии хронических инфекционных заболеваний. *Вестн РАМН* 2006;(9—10):24—9.
9. Dejaco C., Duftner C., Grubeck-Loebenstien B., Schirmer M. Imbalance of regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Immunology* 2006;117(3):289—300.
10. Miyara M., Amoura Z., Parizot C. et al. The immune paradox of sarcoidosis and regulatory T cells. *J Exper Med* 2006;203(2):359—70.
11. Lyssuk E.Y., Torgashina A.V., Soloviev S.K. et al. Reduced number and function of CD4+CD25^{high}FoxP3+ regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Adv Exper Med Biol* 2007;601:113—9.
12. Toda A., Piccirillo C.A. Development and function of naturally occurring CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Leukoc Biol* 2006;80(3):458—70.
13. Hess A.D., Thoburn C.J. Immune tolerance to self-major histocompatibility complex class II antigens after bone marrow transplantation: role of regulatory T cells. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12(5):518—29.
14. Joffre O., van Meerwijk J.P. CD4(+)CD25(+) regulatory T lymphocytes in bone marrow transplantation. *Semin Immunol* 2006;18(2):128—35.
15. Trenado A., Charlotte F., Fisson S. et al. Recipient-type specific CD4+CD25+ regulatory T cells favor immune reconstitution and control graft-versus-host disease while maintaining graft-versus-leukemia. *J Clin Invest* 2003;112(11):1688—96.
16. Panoskaltis-Mortari A., Price A., Hermanson J.R. et al. In vivo imaging of graft-versus-host-disease in mice. *Blood* 2004;103(9):3590—8.
17. Anderson B.E., Taylor P.A., McNiff J.M. et al. Effects of donor T-cell trafficking and priming site on graft-versus-host disease induction by naive and memory phenotype CD4 T cells. *Blood*

2008;111(10):5242–51.

18. Clark F.J., Gregg R., Piper K. et al. Chronic graft-versus-host disease is associated with increased numbers of peripheral blood CD4+CD25high regulatory T cells. *Blood* 2004;103(6):2410–6.
19. Sanchez J., Casano J., Alvarez M.A. et al. Kinetic of regulatory CD25high and activated CD134+ (OX40) T lymphocytes during acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 2004;126(5):697–703.
20. Miura Y., Thoburn C.J., Bright E.C. et al. Association of Foxp3 regulatory gene expression with graft-versus-host disease. *Blood* 2004;104(7):2187–93.
21. Zorn E., Nelson E.A., Mohseni M. et al. IL-2 regulates FOXP3 expression in human CD4+CD25+ regulatory T cells through a STAT-dependent mechanism and induces the expansion of these cells in vivo. *Blood* 2006;108(5):1571–9.
22. Mutis T., Aarts-Riemens T., Verdonck L.F. The association of CD25 expression on donor CD8+ and CD4+ T cells with graft-versus-host disease after donor lymphocyte infusions. *Haematologica* 2005;90(10):1389–95.
23. Meignin V., Peffault de Latour R., Zuber J. et al. Numbers of Foxp3-expressing CD4+CD25high T cells do not correlate with the establishment of long-term tolerance after allogeneic stem cell transplantation. *Exper Hematol* 2005;33(8):894–900.
24. Rieger K., Loddenkemper C., Maul J. et al. Mucosal FOXP3+ regulatory T cells are numerically deficient in acute and chronic GvHD. *Blood* 2006;107(4):1717–23.
25. Rezvani K., Mielke S., Ahmadzadeh M. et al. High donor FOXP3-positive regulatory T-cell (Treg) content is associated with a low risk of GVHD following HLA-matched allogeneic SCT. *Blood* 2006;108(4):1291–7.
26. Glennie S., Soeiro I., Dyson P.J. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells. *Blood* 2005;105(7):2821–7.
27. Schneider M., Munder M., Karakhanova S. et al. The initial phase of graft-versus-host disease is associated with a decrease of CD4+CD25+ regulatory T cells in the peripheral blood of patients after allogeneic stem cell transplantation. *Clin Lab Haematol* 2006;28(6):382–90.
28. Wolf D., Wolf A.M., Fong D. et al. Regulatory T-cells in the graft and the risk of acute graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Transplantation* 2007;83(8):1107–13.
29. Zhai Z., Sun Z., Li Q. et al. Correlation of the CD4+CD25high T-regulatory cells in recipients and their corresponding donors to acute GVHD. *Transpl Int* 2007;20(5):440–6.
30. Фриденштейн А.Я., Чайлахян Р.К., Латыкина К.С. О фибробластоподобных клетках в культурах кроветворной ткани морских свинок. *Цитология* 1970;12(9):1147–55.
31. Masteller E.L., Tang Q., Bluestone J.A. Antigen-specific regulatory T cells ex vivo expansion and therapeutic potential. *Semin Immunol* 2006;18(2):103–10.
32. Trenado A., Sudres M., Tang Q. et al. Ex vivo-expanded CD4+CD25+ immunoregulatory T cells prevent graft-versus-host-disease by inhibiting activation/differentiation of pathogenic T cells. *J Immunol* 2006;176(2):1266–73.
33. Porada C.D., Zanjani E.D., Almeida-Porad G. Adult mesenchymal stem cells: a pluripotent population with multiple applications. *Curr Stem Cell Res Ther* 2006;1(3):365–9.
34. Di Ianni M., Del Papa B., De Ioanni M. et al. Mesenchymal cells recruit and regulate T regulatory cells. *Exp Hematol* 2008;36(3):309–18.
35. Spaggiari G.M., Capobianco A., Becchetti S. et al. Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions: evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation. *Blood* 2006;107(4):1484–90.
36. Ristich V., Liang S., Zhang W. et al. Tolerization of dendritic cells by HLA-G. *Eur J Immunol* 2005;35(4):1133–42.
37. Zheng S.G., Wang J., Wang P. et al. IL-2 is essential for TGF-beta to convert naive CD4+CD25- cells to CD25+Foxp3+ regulatory T cells and for expansion of these cells. *J Immunol* 2007;178(4):2018–27.
38. Tisato V., Naresh K., Girdlestone J. et al. Mesenchymal stem cells of cord blood origin are effective at preventing but not treating graft-versus-host disease. *Leukemia* 2007;21(9):1992–9.
39. Tian Y., Deng Y.B., Huang Y.J., Wang Y. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells decrease acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cells transplantation. *Immunol Investig* 2008;37(1):29–42.
40. Bartholomew A., Sturgeon C., Siatskas M. et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exper Hematol* 2002;30(1):42–8.
41. Ringden O., Labopin M., Bacigalupo A. et al. Transplantation of peripheral blood stem cells as compared with bone marrow from HLA-identical siblings in adult patients with acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2002;20(24):4655–64.
42. Sudres M., Norol F., Trenado A. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro but fail to prevent graft-versus-host disease in mice. *J Immunol* 2006;176(12):7761–7.
43. Nauta A.J., Westerhuis G., Kruiswijk A.B. et al. Donor-derived mesenchymal stem cells are immunogenic in an allogeneic host and stimulate donor graft rejection in a nonmyeloablative setting. *Blood* 2006;108(6):2114–20.
44. Lee S.T., Jang J.H., Cheong J.W. et al. Treatment of high-risk acute myelogenous leukaemia by myeloablative chemoradiotherapy followed by co-infusion of T cell-depleted haematopoietic stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells from a related donor with one fully mismatched human leucocyte antigen haplotype. *Br J Haematol* 2002;118(4):1128–31.
45. Ball L.M., Bernardo M.E., Roelofs H. et al. Cotransplantation of ex vivo expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem-cell transplantation. *Blood* 2007;110(7):2764–7.
46. Le Blanc K., Samuelsson H., Gustafsson B. et al. Transplantation of mesenchymal stem cells to enhance engraftment of hematopoietic stem cells. *Leukemia* 2007;21(8):1733–8.
47. Ning H., Yang F., Jiang M. et al. The correlation between cotransplantation of mesenchymal stem cells and higher recurrence rate in hematologic malignancy patients: outcome of a pilot clinical study. *Leukemia* 2008;22(3):593–9.

ЧАСТОТА, ХАРАКТЕРИСТИКА И МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ, ПОЛУЧАЮЩИХ БОРТЕЗОМИБ (ВЕЛКЕЙД)

С.С. Бессмельцев¹, Е.В. Карягина², Л.В. Стельмашенко¹, Н.В. Степанова³,
Е.Р. Мачюлайтене³, Г.Н. Салогуб³, И.А. Скороход⁴, Н.В. Медведева⁴,

Э.И. Подольцева⁴, Л.М. Матюхина⁵, А.С. Низамутдинова⁶, К.М. Абдулкадыров¹

¹ФГУ Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии; ²Городская больница №15, Санкт-Петербург; ³Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова; ⁴ГУЗ Городская больница №31; ⁵НУЗ Дорожная клиническая больница ОАО РЖД; ⁶ГУЗ Александровская больница, Санкт-Петербург

Дана характеристика периферической нейропатии (ПН), отмечены частота ее развития и возможность купирования у больных множественной миеломой (ММ), получающих бортезомиб. Под наблюдением находились 124 больных с рецидивом/рефрактерностью ММ и 14 пациентов с впервые диагностированным заболеванием. ПН чаще возникала после проведения 3–5 циклов терапии бортезомибом. У 29% больных наблюдалась ПН > II степени. Кумулятивная доза бортезомиба колебалась от 15,6 до 26 мг/м². После 6–8 циклов частота ПН была также высокой. Обнаружена корреляционная связь между кумулятивной дозой бортезомиба и частотой развития ПН ($R=0,927$; $p<0,0009$). Выявлена корреляционная зависимость между частотой ПН и применением ранее винкристинсодержащих (схема ВАД) режимов терапии. В целом ПН выявлена у 54% больных. В качестве лечения использовали габапентин, прегабалин, а также витамины группы В, α -липовую кислоту. Улучшение состояния больных или полное купирование ПН наблюдалось у 72% больных с медианой времени 114 дней. Для снятия симптомов нейропатии необходимым является редукция дозы бортезомиба или его временная отмена.

Ключевые слова: бортезомиб, множественная миелома, периферическая нейропатия

INCIDENCE, CHARACTERISTICS, AND TREATMENTS OF PERIPHERAL NEUROPATHY IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS RECEIVING BORTEZOMIB (VELCADE)

S.S. Bessmeltsev¹, E.V. Karyagina², L.V. Stelmashenko¹, N.V. Stepanova³, E.R. Machulaitene³, G.N. Salogub³,
I.A. Skorokhod⁴, N.V. Medvedeva⁴, E.I. Podoltseva⁴, L.M. Matyukhina⁵, A.S. Nizamutdinova⁶, K.M. Abdulkadyrov¹

¹Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology; ²City Hospital Fifteen, Saint Petersburg; ³I.P. Pavlov Saint Petersburg State Medical University; ⁴City Hospital Thirty One; ⁵Road Hospital, AOA "RZhD"; ⁶Alexandrov Hospital, Saint Petersburg

The characteristics of peripheral neuropathy (PN), its incidence and a possibility of relieving in multiple myeloma (MM) patients receiving bortezomib are presented. A hundred and twenty-four patients with recurrent/refractory MM and 14 primary patients were followed up. PN more commonly occurred after 3–5 cycles of bortezomib therapy. Grade > 2 PN was observed in 29% of the patients. The cumulative dose of bortezomib was 15.6 to 26 mg/m². After 6–8 cycles the incidence of PN was also high. There was a correlation between the cumulative dose of bortezomib and the incidence of PN ($R = 0.927$; $p < 0.0009$). A correlation was also found between the incidence of PN and prior vincristine-containing treatment regimens (VAD scheme). Overall, PN was identified in 54% of the patients. Treatment of PN with gabapentin, pregabalin, vitamins B, and α -lipoic acid was effective. PN resolved to the baseline levels or the patients' condition improved in 72% of the patients, the median time taken for resolution or improvement being 114 days. It is necessary to reduce the dose of bortezomib or to discontinue the drug temporarily in order to relieve the symptoms of neuropathy.

Key words: bortezomib, multiple myeloma, peripheral neuropathy

Неврологические осложнения при опухолевых заболеваниях, в частности, при множественной миеломе (ММ), представляют большую клиническую проблему в связи с высокой частотой их встречаемости, разнообразием форм и тяжестью клинических проявлений [1, 2]. Нейропатическая патология включает симптомы со стороны соматических и/или вегетативных отделов периферической нервной системы (ПНС). Периферическая нейропатия (ПН) — это повреждение ПНС. Нейропатия редко возникает изолированно, обычно — в сочетании с различными заболеваниями. Известно около 400 патологических состояний, при которых имеют место различные проявления нейропатии. К таковым относятся: хроническая алкогольная интоксикация; уремия; беременность; состояния, сопровождающиеся различными трофическими

расстройствами (недостаточность витаминов группы В, диспротеинемия, паранеопластические синдромы); промысленные и бытовые интоксикации (острые и хронические); лекарственные препараты — сульфаниламиды, нитрофураны, антибиотики (канамицин, полимиксин-В, гентамицин, амфотерицин), туберкулостатические и противоопухолевые средства (винкристин, цисплатин, паклитаксел, доцетаксел, винорельбин, иринотекан, гемцитабин и др.); инфекционные заболевания (дифтерия, ботулизм, паратиф, корь, инфекционный мононуклеоз, грипп); инфекции, непосредственно поражающие нервную систему, — лепра, сифилис, туберкулез; системные заболевания — саркоидоз, ревматоидный артрит, амилоидоз; гипоксические состояния вследствие различных причин (острых отравлений барием, окисью углерода, геморраги-

ческого шока); сахарный диабет, аллергические реакции (сывороточная болезнь, пищевая аллергия, аллергия к лекарственным препаратам), наследственные заболевания, острые и хронические полирадикулопатии [3—6].

При паранеопластических процессах чаще наблюдается симметричная, преимущественно сенсорная и дистальная полинейропатия или асимметричная, моторная и чаще всего проксимальная нейропатия [6, 7]. При симметричной полинейропатии нарушение чувствительности сочетается с умеренной слабостью в мышцах дистальных отделов конечностей и признаками вегетативной дисфункции. Больных беспокоят боли, онемение, парестезии, зябкость, локализованные в пальцах стоп, распространяющиеся на всю стопу, нижнюю треть голени, позже на кисти рук. Наблюдается симметричное нарушение болевой, температурной, тактильной и глубокой чувствительности в зоне «носков» и «перчаток», в тяжелых случаях поражаются периферические нервы туловища, что проявляется гипестезией кожи груди и живота. В ряде случаев парестезии имеют характер жжения, плохо локализуемых постоянных интенсивных болей, усиливающихся по ночам. Патогенетическое значение для развития асимметричной, преимущественно моторной проксимальной нейропатии имеют остеохондроз, деформирующий спондилез, пролабирование межпозвоночных дисков, травмы.

Нарушения ПНС, определяемые как парапротеинемическая нейропатия, связаны в первую очередь с присутствием в крови высокого уровня патологических иммуноглобулинов, которые имеют свойства антител и оказывают непосредственное воздействие на нервные клетки (компоненты миелина). Структурные повреждения происходят в аксоне, миелиновой оболочке, окружающей соединительной ткани и эндоневральных капиллярах. Вследствие этих повреждений нарушаются аксоплазматический транспорт, процессы деполаризации мембран и функции нервных волокон [8, 9]. Наблюдаются потеря массы нервных волокон и метаболические нарушения. Нервные волокна повреждаются также депозитами вторичных амилоидных продуктов циркулирующих парапротеинов [1, 10]. Парапротеинемическая нейропатия наблюдается при моноклональных гаммапатиях, ММ, макроглобулинемии Вальденстрема, остеосклеротической миеломе, первичном амилоидозе, криоглобулинемии, неходжкинских лимфомах, болезни Кастлемана и хронических лейкозах [11]. Клинически значимые проявления ПН диагностируют у 1—13% больных с впервые выявленной ММ. В то же время при обследовании пациентов с использованием электрофизиологических тестов патология со стороны нервной системы обнаруживается у 30—39% больных ММ [1, 12—14]. ПН нередко связана с применением различных противоопухолевых препаратов [15—17]. Необходимо помнить, что возникновение ПН является основанием для снижения дозы противоопухолевых препаратов либо прекращения их применения и, кроме того, существенно снижает качество жизни пациентов, поэтому ранняя диагностика, профилактика и лечение проявлений нейротоксичности весьма актуальны.

В течение последних лет в лечении ММ стали активно использовать новые лекарственные препараты:

талидомид и его производные и бортезомиб. Эти препараты оказались чрезвычайно эффективными. Однако, применяя их, врачи попали в затруднительное положение. С одной стороны, появились эффективные препараты, а с другой — возникли осложнения, которые ранее встречались значительно реже и были не столь выраженными. Как использовать эти препараты с максимальной эффективностью и минимальной токсичностью? При применении талидомида прежде всего следует помнить о таких осложнениях, как запоры, сонливость и нейротоксичность [18]. Но наиболее серьезным из этих осложнений является нейропатия. По результатам исследования L. Mileskin и соавт. [19], при применении талидомида в дозе 373 мг/сут развитие ПН наблюдалось у 41% больных, у 15% из которых ПН протекала в тяжелой форме, послужившей основанием для прекращения лечения. В целом частота встречаемости нейропатии среди ответивших на лечение талидомидом больных составила 81%, причем авторами обнаружена зависимость частоты ПН от длительности использования талидомида. Так, частота развития нейропатии выросла с 38% после 6 мес до 73% после 12 мес лечения талидомидом. Однако надежных предикторов возникновения нейропатии выявить не удалось. Развитие ПН не было ассоциировано ни с полом пациентов и их возрастом, ни с предшествующей терапией. Не было найдено связи между частотой развития ПН, с одной стороны, и кумулятивной дозой и интенсивностью лечения — с другой. Результаты, полученные другими исследователями, которые пытались выявить взаимосвязь между кумулятивной дозой и частотой развития ПН, также противоречивы. В работе M. Offidani и соавт. [20] показана отчетливая прямая зависимость между кумулятивной дозой талидомида и риском развития нейропатии. Между тем, С. Vriani и соавт. [21] аналогичной связи не обнаружили.

В клинических исследованиях I и II фазы была продемонстрирована высокая эффективность бортезомиба и вполне удовлетворительная его переносимость у больных ММ. Наиболее частыми побочными эффектами при использовании бортезомиба были астенический синдром, преходящая тромбоцитопения и ПН. По результатам исследования P.G. Richardson и соавт. [22], при использовании бортезомиба в целом по группе у 35% больных была зарегистрирована ПН. При этом ее признаки обнаружены у 37% пациентов, получавших бортезомиб в дозе 1,3 мг/м², и у 21% — 1,0 мг/м². У 22% больных установлена ПН I, у 13% II—III и у 0,4% IV степени токсичности. Развитие ПН ≥ III степени чаще встречалось среди больных с наличием исходных признаков нейропатии по сравнению с больными, не имеющими их (14% против 4% соответственно). В целом частота возникновения ПН не зависела от исходной характеристики больных и типа предшествующей терапии. Из-за развития тяжелой нейропатии у 12% больных пришлось редуцировать дозу бортезомиба, а у 5% лечение было прекращено. В то же время отмечается, что у 71% пациентов с картиной ПН ≥ III степени наблюдалось восстановление всех функций до исходных показателей или значительное улучшение состояния больных. Авторы делают вывод, что бортезомиб-опосредованная ПН в большинстве случаев является обратимой.

Согласно результатам корейских исследователей, нейропатия > II степени чаще встречалась у больных, получивших 4 и более предшествующих линий химиотерапии (ХТ), чем у больных, получивших ≤ 3 линий [23]. Ранее мы уже сообщали о нашем опыте лечения бортезомибом (велкейд) больных с рефрактерными/рецидивирующими формами ММ, оценивая при этом его эффективность и токсичность [24, 25]. Одним из основных побочных эффектов бортезомиба была ПН, развитие которой существенно снижало качество жизни больных, включая физические, социальные и психологические аспекты. Появление нейропатических болей и развитие ПН > II степени наблюдались чаще среди больных, получивших ранее > 3 линий винкристиносодержащих программ ХТ (в основном ВАД, ЦВАД, гипер-ЦВАД) [25].

Цель настоящего исследования — определить частоту развития ПН у больных ММ во время лечения бортезомибом, дать ее характеристику и выяснить возможность ее обратимости. Реализация поставленной цели осуществлялась в рамках протокола М-06-09, предложенного Российским научно-исследовательским институтом гематологии и трансфузиологии [24, 25].

Материалы и методы

Под наблюдением находились 138 больных ММ (71 женщина и 67 мужчин) в возрасте 38—82 лет, которые были включены в протокол М-06-09 в период 2006—2008 гг. Выделено 2 группы пациентов. В 1-ю группу вошли 124 больных с рефрактерностью к предшествующей терапии или рецидивом заболевания. Число линий предшествующей терапии колебалось от 1 до 9. Пациентам назначали такие винкристиносодержащие

программы ХТ, как ВЦАП, ЦМВП, АРА-ЦОП, М2, МОССА. Однако нередко в связи с их неэффективностью использовались программы ВАД, ЦВАД, гипер-ЦВАД. 12 больных в возрасте до 60 лет получали в качестве индукционной терапии только схемы ВАД или ЦВАД. Значительно реже применялись платиносодержащие программы. 10 пациентов были включены в протокол в связи с развитием рецидива заболевания после аутологичной трансплантации стволовых клеток (АТПСК), в том числе 4 — после двойной. У отдельных больных наряду с ММ наблюдались другие заболевания и патологические состояния, которые могли быть причиной развития ПН. Подробная характеристика больных этой группы представлена в табл. 1.

Больным был назначен бортезомиб (велкейд), при этом 20 из них — в дозе 1,3 мг/м² внутривенно (в/в) в 1, 4, 8 и 11-й дни с последующим 10-дневным перерывом (дни 12—21); цикл лечения 21 день (до 9 циклов терапии). Остальным 104 пациентам велкейд назначался в сочетании с дексаметазоном: тот же 21-дневный цикл велкейда + дексаметазон по 20 мг внутрь или в/в в 1-й и 2-й, 4-й и 5-й, 8-й и 9-й, 11-й и 12-й дни каждого цикла; в зависимости от достигнутого ответа — до 8 (изредка 9) циклов терапии. После достижения ответа больным проводились еще 2 курса консолидирующей терапии, а далее они переводились на поддерживающее лечение, которое заключалось в следующем: велкейд в дозе 1,3 мг/м² в/в в 1, 8, 15 и 22-й дни, затем 12-дневный перерыв (с 23-го по 35-й дни — 5-недельный цикл). Таких циклов каждый пациент, достигший ответа, получал 3. Среднее число циклов на момент обседа полученных результатов составило 8 и только у 10 (8%) человек — 10 и более.

Таблица 1. Характеристика 1-й группы больных ММ, получавших бортезомиб (велкейд)

Показатель	Число больных (n=124)
Возраст, годы	67 (38—82)
Соотношение мужчины:женщины	57:63
Предшествующая специальная терапия, обладающая нейротоксичностью (%)	100 (80,6)
Винкристиносодержащие программы ХТ:	98 (79)
— в том числе ВЦАП, ЦМВП, АРА-ЦОП, М2, МОССА	40 (41,4)
— в том числе больные, получавшие ранее ВАД, ЦВАД, гипер-ЦВАД	36 (36,7)
Только ВАД, ЦВАД	12 (12,3)
Платиносодержащие режимы терапии (ЭДАП)	2 (1,6)
Высокодозовая ХТ с последующей АТПСК	10 (8)
Предшествующая специальная терапия, не обладающая нейротоксичностью (МП, дексаметазон/преднизолон — пульс-терапия, средние дозы мелфалана)	24 (19)
Сахарный диабет	2 (1,6)
Аллергические реакции (аллергия на лекарственные препараты)	2 (1,6)
Ревматоидный артрит	1 (0,8)
ПН	
стадия 0:	99 (80)
стадия I: снижение глубоких сухожильных рефлексов или парестезии (чувство онемения, покалывания в пальцах рук и ног) без болей, или потери функции	25 (20)

Примечание. Представлено число больных (в скобках — процент).

Таблица 2. ПН (критерии токсичности NCI CTC, version 2.0, 1998)

Побочный эффект	0	I	Степень II	III	IV
Сенсорная нейропатия	Норма	Снижение глубоких сухожильных рефлексов или парестезия (включая покалывание в пальцах рук и ног), но без нарушения функции	Снижение чувствительности или парестезия (включая покалывание) с нарушением функции, но без снижения ежедневной жизненной активности	Потеря чувствительности или парестезия с нарушением ежедневной жизненной активности	Постоянная потеря чувствительности с утратой функций

Во 2-ю группу вошли 14 больных с впервые выявленной ММ. 6 из них велкейд назначен в качестве терапии 1-й линии в монорежиме (21-дневный цикл; каждый больной получил по 6 циклов), а 8 — в комбинированной терапии (велкейд + дексаметазон по методике, описанной выше; 4 пациента получили по 3 цикла и 4 — от 6 до 10 циклов).

У всех больных исходно и в процессе лечения бортезомибом проводилось исследование для выявления симптомов и признаков ПН. Подробно оценивались жалобы пациентов (боли в покое, ночные боли, парестезии, судороги в мышцах голени), данные осмотра кистей и стоп (сухость кожи, гиперкератоз, деформация стоп и пальцев). В последующем оценка симптоматики ПН проводилась на фоне терапии, направленной на ее купирование.

Токсичность оценивали с использованием критериев Национального ракового института США — National Cancer Institute Common Toxicity Criteria — NCI CTC (табл. 2). Как видно из табл. 1, у 20% больных 1-й группы уже исходно (перед назначением бортезомиба) были обнаружены признаки ПН I степени. Среди пациентов 2-й группы аналогичная симптоматика выявлена у 3 (21%) из 14 больных.

Статистическая обработка полученных данных выполнена с помощью методов базовой и непараметрической статистики (Wilcoxon, Spearman Test) с использованием компьютерных программ Microsoft Excel 2000 и STATISTICA 6.0 в среде Windows 2000. Различие между сравниваемыми показателями считали статистически достоверным при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В целом среди больных 1-й группы развитие ПН при применении велкейда наблюдалось у 67 (54%) человек. Как видно из рис. 1, у 51 (41,1%) пациента ее тяжесть соответствовала I—II степени, у 11 (8,9%) — III и у 5 (4%) — IV степени токсичности. При этом у 42 (58%) из 67 больных клинически значимые признаки ПН обнаруживались после проведения 3—5 циклов лечения (табл. 3). Кумулятивная доза велкейда колебалась от 15,6 до 26 мг/м². После 6—8 циклов ПН возникла еще у 30% (главным образом после 8 циклов — 16,4%; кумулятивная доза велкейда составила 41,6 мг/м²). Между тем, после проведения ≥ 10 циклов (кумулятивная доза $\approx 52,0$ мг/м²) ПН развилась только у 3 (4,5%) из 67 больных. Это снижение, вероятно, связано с малым числом пациентов, получивших такую кумулятивную дозу велкейда. Когда мы рассчитали частоту ПН только среди 10 больных, получивших указанную дозу велкейда, то процент ПН увеличился до 30.

Выявлена прямая зависимость частоты развития ПН от кумулятивной дозы велкейда ($R=0,927$;

$p < 0,0009$), т.е. чем выше кумулятивная доза, тем больше вероятность развития ПН (рис. 2). Кроме того, выяснилось, что у 7 (43,4%) из 16 больных с нейропатией III—IV степени признаки сенсорной нейропатии наблюдались уже при включении их в настоящий протокол. Среди 51 больного с нейропатией I—II степени аналогичная симптоматика исходно была выявлена лишь у 12 (23%) пациентов.

Мы уже обращали внимание на то, что ПН на фоне терапии велкейдом чаще наблюдалась среди больных, ранее получавших лечение в основном программами ВАД, ЦВАД, гипер-ЦВАД, а появление нейропатических болей и ПН $> II$ степени регистрировались у больных, которым было проведено более 3 линий предшествующей ХТ [8]. Тщательный анализ настоящего исследования позволил подтвердить это предположение. У 38 (79%) из 48 больных, получавших ранее винкристинсодержащие программы (у 26 больных в том числе использовались и программы ВАД, ЦВАД, гипер-ЦВАД, а у 12 — только эти режимы терапии), было обнаружено развитие ПН. При этом выявлена корреляционная зависимость между частотой возникновения ПН у больных на фоне лечения велкейдом, с одной стороны, и применением ранее программ (не менее 3 курсов) ВАД, ЦВАД, гипер-ЦВАД — с другой ($R=0,508$, $p < 0,05$). Также развитие ПН наблюдалось еще у 6 (60%) из 10 больных ММ, вошедших в протокол лечения больных велкейдом, которым были назначены программа ВАД с последующей высокодозовой ХТ и АТПСК. В то же время среди больных, получавших ранее другие режимы терапии (ВЦАП, ЦМВП, АРА-ЦОП, М2, МОССА, МП, дексаметазон/преднизолон, средние дозы мелфалана), ча-

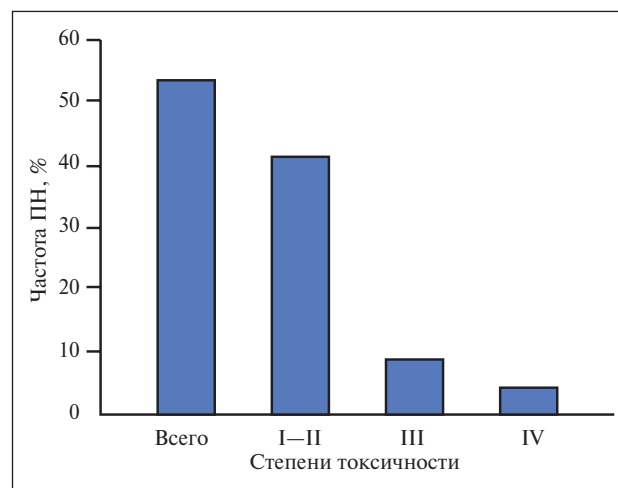


Рис. 1. Частота развития ПН при применении велкейда в терапии рефрактерных/рецидивирующих форм ММ

Таблица 3. Частота развития ПН в зависимости от числа циклов велкейда и его кумулятивной дозы

Число больных с признаками ПН (%), n=67	Число циклов до развития ПН	Примерная кумулятивная доза бортезомиба (мг/м ²)
2 (3)	2	10,4
19 (28,2)	3	15,6
14 (21)	4	20,8
9 (13,4)	5	26,0
6 (9)	6	31,2
3 (4,5)	7	36,4
11 (16,4)	8	41,6
3 (4,5)	≥10	52,0

стота ПН составила 34,8% (рис. 3). Существенных различий в частоте ПН у лиц женского и мужского пола обнаружено не было ($p>0,05$). Не найдено связи и с возрастом пациентов.

Что касается 14 больных ММ, которым велкейд был назначен в качестве терапии 1-й линии, то исходно признаки ПН I степени были зарегистрированы в 21% случаев. На момент обсчета результатов лечения 1 больному проведено 2 цикла велкейда (кумулятивная доза — 10,4 мг/м²), 6 пациентам — 3 цикла (15,6 мг/м²), 2 — 4 цикла (20,8 мг/м²), 3 — 6 циклов (31,2 мг/м²) и 2 — более 10 циклов (≥ 52,0 мг/м²). При этом 1 из 2 последних больных получил 8 циклов терапии по программе велкейд + дексаметазон, 4 цикла PAD (велкейд + доксорубин + дексаметазон), 2 курса велкейд + талидомид + дексаметазон и 1 курс велкейд + доксорубин + дексаметазон (кумулятивная доза — 78,0 мг/м²). Развитие ПН в этой группе больных наблюдалось у 7 (50%) человек, у 3 из них она отмечалась исходно. Однако, как видно из табл. 4, у 6 больных имела место I—II степень и только у 1 — III степень. У всех этих пациентов ПН была выявлена после проведения 3—6 циклов лечения.

Анализ полученных результатов, в отличие от предыдущей группы больных, не позволил нам выявить каких либо очевидных причин развития ПН среди



Рис. 2. Зависимость частоты развития ПН у больных ММ от кумулятивной дозы велкейда

больных этой группы. Четкой зависимости между кумулятивной дозой велкейда и частотой и тяжестью ПН также обнаружено не было. Интерес представляет пациент, получивший кумулятивную дозу препарата, равную 78,0 мг/м². После завершения 5-го цикла велкейда в сочетании с дексаметазоном у больного была диагностирована I степень ПН с болевым синдромом. Однако в период отдыха (12—21-й дни) состояние больного улучшилось, и при поступлении на очередной цикл терапии никаких данных, подтверждающих наличие ПН, не было. Лечение было продолжено, но в связи с коротким положительным ответом после 8 циклов больного перевели на программу PAD, а затем на комбинацию велкейда с талидомидом. Несмотря на увеличение кумулятивной дозы велкейда и использование талидомида, также обладающего нейротоксичностью, возобновления признаков ПН не наблюдалось.

Лечение ПН — достаточно сложная задача. Если ПН является осложнением ММ, то ее терапия включает противоопухолевые препараты, лечебный плазмаферез или плазмообмен, при которых осуществляется удаление из крови моноклонального парапротеина, и введение в/в иммуноглобулинов, понижающих продукцию и активность патологического парапротеина [13].

Чрезвычайно важна роль препаратов, оказывающих влияние на многие или несколько патогенетических звеньев, приводящих к развитию заболевания и его осложнений. В случае возникновения ПН на фоне лечения бортезомибом первоочередными задачами следует считать своевременную диагностику ПН, уточнение степени ее тяжести и строгое соблюдение рекомендаций по коррекции дозы бортезомиба (табл. 5).

Следующим шагом может быть назначение больному витаминов группы В: В₁, В₆ и В₁₂ (по 400 мкг), а также фолиевой кислоты — по 1 мг/день [26]. Витамин В₁ играет одну из ведущих ролей в регуляции энергетического метаболизма, обладает нейротропным эффектом и контролирует важнейшие энергетические процессы утилизации глюкозы. Витамин В₆ регулирует метаболизм аминокислот, что обеспечивает нормализацию белкового обмена и препятствует накоплению нейротропного яда — аммиака. Он увеличивает внутриклеточные запасы магния, играющего важную роль в энергетических процессах и в деятельности нервной системы, участвует в синтезе различных медиаторов: катехоламинов, гистамина и тормозного медиатора центральной нервной системы (гамма-аминомасляной кислоты). Витамин В₁₂ уменьшает болевые ощущения, связанные с поражением ПНС, обладает способностью восстанавливать структуру миелиновой оболочки. Недостатком лекарственных форм этих витаминов является низкая биодоступность и, как следствие, низкая эффективность (их терапевтическая доза должна превышать суточную потребность в 20—60 раз) [27].

В последние годы появились новые высокоэффективные формы этих средств, в частности, биологиче-

ски активная жирорастворимая форма тиамин — бенфотиамин, активность которого в 8–10 раз выше, а возможности проникновения в нервную клетку и конвертирования в активный метаболит тиамин — еще шире. Бенфотиамин благодаря своим жирорастворимым свойствам беспрепятственно проникает через гематоэнцефалический барьер, а также через липофильную оболочку нервных клеток [28]. Одним из современных высокоактивных препаратов является мильгамма. Одно драже мильгаммы включает в себя бенфотиамин — 100 мг, пиридоксин — 100 мг; 2 мл раствора содержат: тиамин — 100 мг, пиридоксин — 100 мг, цианокобаламин — 1000 мкг. Назначение мильгаммы по 1 таблетке (100 мг) 3 раза в день в течение 3 нед приводило к значительному по сравнению с группой плацебо снижению интенсивности болевых ощущений и улучшению показателей порога вибрационной чувствительности [29]. К концу 6-недельного курса терапии интенсивность болей падала в 2–3 раза и более, что зависело от их исходной интенсивности: чем она была выше, тем труднее достигался положительный эффект. Полного исчезновения болей удавалось добиться в 30–66% случаев [29]. В группе пациентов, прошедших лечение мильгаммой в течение 12 нед, отмечалось достоверное увеличение скорости распространения возбуждения по малоберцовому нерву. Поскольку длительное применение высоких доз пиридоксина, входящих в состав мильгаммы, чревато развитием зависимости и токсической полинейропатии, для пролонгированной терапии можно использовать бенфогамму, содержащую в одной таблетке 150 мг бенфотиамин.

Отмечается рост интереса к α -липоевой кислоте (тиогама, берлитион, тиоктацид) — соединению, играющему ключевую роль в системе антиоксидантной защиты. Основные механизмы ее нейротропных эффектов сводятся к стимуляции роста аксонов, положительному влиянию на аксональный транспорт, уменьшению вредного влияния на нервные клетки свободных радикалов, нормализации аномального поступления глюкозы к нерву, предупреждению и уменьшению повреждения нервов при экспериментальном диабете. α -Липоевая кислота усиливает эндоневральный кровоток, предотвращая ингибирование NO-синтетазы, и таким образом предупреждает ишемическое повреждение нервной ткани. α -Липоевая кислота вносит свой вклад в предотвращение повреждения нервов при оксидативном стрессе, увеличивая уровень поглощения глюкозы в эндоневрии, повышая активность супероксиддисмутазы и супероксидкаталазы [30]. Многочисленные исследования показали, что оптимальная доза α -липоевой кислоты — 600 мг/сут. В исследовании ALADIN (AlphaLipoic Acid in Diabetes Neuropathy) оценивалась эффективность и безопасность 3-недельных в/в инфузий α -липоевой кислоты у 328 пациентов с сахарным диабетом 2-го типа [31]. Больные были рандомизированы на 4 группы согласно вводимой дозе препарата (1200, 600, 100 мг/сут) или плацебо. Динамику неврологических симптомов оценивали в соответствии с общей шкалой симптомов (TSS) исходно,

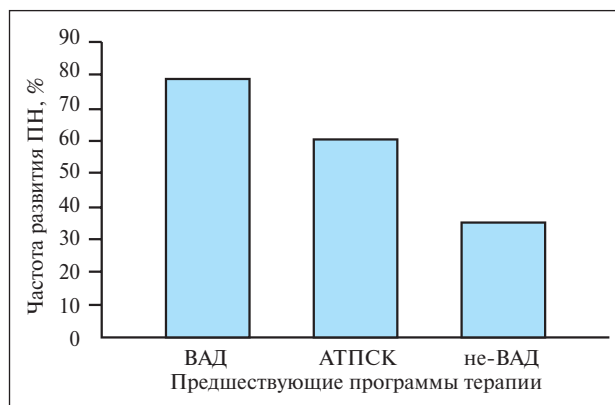


Рис. 3. Частота развития ПН у больных ММ на фоне лечения велкейдом с учетом ранее проводимой терапии. ВАД — ВАД-содержащие режимы терапии, не-ВАД — другие режимы терапии (ВЦАП, ЦМВП, М2, МОССА, дексаметазон/преднизолон и др.)

на 2, 5, 8, 12, 15 и 19-й дни лечения. В исследовании применяли Гамбургский опросник боли (НРАЛ), а также шкалу неврологических симптомов и расстройств (NDS) до начала исследования и на 19-й день. Было отмечено снижение баллов по шкале TSS во всех группах больных, получавших α -липоевую кислоту, по сравнению с группой плацебо ($p=0,003$, α -липоевая кислота 600 мг против плацебо, $p<0,001$). Ответная реакция на лечение, оцениваемая как улучшение TSS не менее чем на 30%, была обнаружена в 70,8% случаев в группе 1200 мг, в 82,5% — в группе 600 мг, в 65,2% в группе 100 мг, в 57,6% — в группе плацебо. Данное исследование показало, что 3-недельная терапия α -липоевой кислотой в дозе 600 мг более значимо, чем в группе плацебо и в группе, получавшей 100 мг α -липоевой кислоты, снизила интенсивность неврологической симптоматики. Применение препарата в дозе 1200 мг сопровождалось высокой частотой развития побочных эффектов. У пациентов с тяжелой полинейропатией необходимо применение α -липоевой кислоты по 600 мг в течение 5–10 дней с последующим переходом на пероральный прием той же дозы до 5 нед. α -Липоевая кислота нормализует функцию всех отделов ПНС более чем у 76% больных. Курс лечения препаратом в дозе 600 мг/сут в течение 4 мес оказывает положительное влияние на течение автономной диабетической нейропатии. При относительно легких формах заболевания препарат назначают перорально по 200 мг трижды в сутки на срок не менее 4 нед [32].

С позиций патофизиологии принято различать ноцицептивную и нейропатическую боль. Ноцицептивную называют боль, обусловленную действием какого-либо фактора (механическая травма, ожог, воспа-

Таблица 4. Частота развития ПН у больных с впервые выявленной ММ, получавших велкейд

ПН	Число больных	Число циклов велкейда	Кумулятивная доза велкейда (мг/м ²)
Всего ...	7	3–10	15,6–52,0
I–II степень	6	3–6	15,6–31,2
III степень	1	3	15,6

Таблица 5. *Рекомендации по коррекции дозы велкейда в случае возникновения нейропатических болей/ПН*

Признаки и симптомы ПН	Модификация дозы и режима
I степень (чувство онемения, покалывания в пальцах рук и ног и/или снижение рефлексов) без болей или потери функции	Не требуется
I степень с болевым синдромом или II степень (нарушение функции, но без снижения жизненной активности)	Требуется редукция дозы велкейда до 1 мг/м ²
II степень с болевым синдромом или III степень (с нарушением функции и жизненной активности)	Препарат отменяется. После снятия симптомов токсичности используется доза велкейда 0,7 мг/м ² или прежняя доза, которая вводится только 1 раз в неделю
IV степень (постоянная потеря чувствительности с нарушением функции)	Велкейд отменяется

ление и т. д.) на периферические болевые рецепторы при интактности всех отделов нервной системы. Под нейропатической подразумевается боль, возникающая при органическом поражении различных отделов нервной системы, участвующих в контроле боли. Предложенное выделение двух типов боли важно, прежде всего, с практической точки зрения. В фармакотерапии нейропатической боли применяют следующие группы препаратов: местные анестетики, опиоидные препараты, центральные миорелаксанты, антиаритмические препараты, антидепрессанты и антиконвульсанты. Простые комбинированные анальгетики (парацетамол, аспирин), нестероидные противовоспалительные препараты — НПВП (диклофенак, индометацин и др.) при нейропатической боли малоэффективны. Пациенты с нейропатическим болевым синдромом предъявляют жалобы на жгучие, колющие, стреляющие или ноющие боли, сопровождающиеся дрожью, парестезиями, чувством онемения. Терапия нейропатических болей зачастую очень трудна, что отражено в большом разнообразии применяемых методов лечения [33].

Таблица 6. *Основные методы лечения ПН*

Лечебный препарат	Схема применения
Мильгамма	1 таблетка (100 мг) 3 раза в день в течение 6—12 нед. При острых болях 1 инъекция (2 мл) в день глубоко в/м. После стихания боли 1 инъекция 2—3 раза в неделю. В дальнейшем для продолжения лечения принимать препарат по 1 драже ежедневно
α -Липоевая кислота	600 мг 1 раз в сутки или по 300 мг 2 раза в сутки. При тяжелой полинейропатии в/в введение в дозе 600 мг в течение 5—10 дней с последующим переходом на пероральный прием той же дозы препарата (курс лечения от 3 до 12 нед)
Габапентин	Стартовая доза 300 мг на ночь, наращивают в течение недели до 1800—2400 мг/сут, при необходимости до 3600 мг/сут на 3 приема в течение 8—16 нед
Прегабалин	Стартовая доза — 150 мг/сут. В зависимости от эффекта и переносимости дозу увеличивают до 300 мг/сут через 3—7 дней, а при необходимости до максимальной (600 мг/сут) через 7-дневный интервал. Курс лечения 8—12 нед, необходимо снижать дозу в течение недели

На сегодняшний день габапентин (Тебантин) и прегабалин (Лирика) являются наиболее привлекательными препаратами для симптоматического лечения хронической нейропатической боли [34, 35]. Механизм действия габапентина и прегабалина основан на связывании с α_2 -дельта-субъединицей потенциалзависимых кальциевых каналов периферических сенсорных нейронов. Это приводит к снижению входа кальция в пресинаптический нейрон, в результате чего уменьшается высвобождение главных медиаторов боли (глутамат, норадреналин и субстанция Р) перевозбужденными нейронами, что сопровождается редукцией болевого синдрома. Однако у прегабалина есть ряд определенных отличий и существенных преимуществ [36]. Прегабалин имеет высокую аффинность к α_2 -дельта-протеину в центральной нервной системе, связывание с которым приводит к уменьшению высвобождения ряда нейротрансмиттеров боли (включая глутамат, норадреналин и субстанцию Р) в нейронах. Благодаря снижению высвобождения нейротрансмиттеров прегабалин селективно подавляет возбудимость сети нейронов, причем только при патологических состояниях [37].

Благоприятное действие габапентина в отношении снижения выраженности болей, улучшения сна, настроения и качества жизни было показано в 8-недельном многоцентровом, плацебо-контролируемом исследовании. Эффективная доза габапентина при лечении нейропатических болей составила 2400—3600 мг/сут [38]. Прегабалин был разработан специально для лечения диабетической нейропатии. Результаты исследования показали, что прегабалин эффективно снижает выраженность нейропатических болей у больных сахарным диабетом. Недавно были представлены данные, полученные в шести рандомизированных плацебо-контролируемых исследованиях эффективности прегабалина при диабетической нейропатии. В общей сложности обследованы 1346 пациентов. Основным показателем была оценка выраженности боли (по 11-балльной шкале), рассчитанная на основе данных ежедневных дневников больных. Было зафиксировано снижение данного показателя на 2,04; 2,35 и 2,74 балла среди больных, получавших прегабалин в дозах 150, 300 и 600 мг/сут соответственно. В то же время среди получавших плацебо снижение составило лишь 1,48 балла ($p < 0,01$). Эффективность прегабалина при лечении нейрогенной боли у взрослых была продемонстрирована также в ходе контролируемых клиниче-

ских испытаний при длительности приема до 13 нед в режиме дозирования 2 или 3 приема в сутки [39—43]. У 45% больных, принимавших прегабалин, и 18% пациентов, получавших плацебо, отмечено улучшение как минимум на 50% по шкале боли.

В целом габапентин и прегабалин обладают хорошей переносимостью и высокой эффективностью, наблюдаемой уже на 1-й неделе лечения. Наиболее частыми побочными эффектами являются головокружение (21,1%) и сонливость (16,1%). На основании проведенных исследований предложены практические рекомендации по применению этих препаратов. Назначение габапентина следует начинать с 300 мг/сут и титровать далее до целевой суточной дозы 1800 мг. При необходимости суточную дозу можно увеличить до 3600 мг/сут. Прегабалин обладает более высокой биодоступностью (90% против 33—66% у габапентина) и более быстрой абсорбцией (пик концентрации наступает через 1 ч). В связи с этим лечение прегабалином начинают в дозе 150 мг/сут с возможным увеличением через 7-дневный интервал до 300 мг/сут (максимальная доза — 600 мг/сут). Прекращать прием габапентина и прегабалина рекомендуется постепенно, снижая дозу в течение недели [44—46].

Из других потенциально возможных лекарственных средств нами отмечены следующие: ингибиторы альдозоредуктазы, точкой приложения которых является снижение активности полиолового пути обмена глюкозы [47]; g-линолевая кислота как средство, устраняющее нарушения метаболизма эссенциальных жирных кислот [48, 49]; вазодилататоры, такие как ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента или аналоги простаглицина, повышающие интраневральный кровоток и таким образом устраняющие гипоксию нерва [50]; фактор роста нерва, восстанавливающий аксональный транспорт [51]; аминоксидин, подавляющий образование конечных продуктов гликирования в нервах и сосудистой стенке [52]. Однако клиническое применение большинства из названных соединений ограничено из-за серьезных побочных эффектов или недостаточности данных, подтверждающих их клиническую эффективность. Кроме того, вышеперечисленные препараты существенно не влияют на клиническую симптоматику, в частности не облегчают нейропатические боли. Симптоматическое лечение включает также ноотропные и сосудистые препараты, при болях целесообразно назначение ненаркотических, а в тяжелых случаях и наркотических анальгетиков. При хронических нейропатических болях некоторые авторы предлагают использовать иглоукалывание и чрескожную электрическую стимуляцию нервов [53].

У 20% больных ММ 1-й группы уже исходно наблюдались признаки ПН I степени. Лечение этих пациентов начинали с назначения им витаминов группы В (В₁, В₆; курс лечения 8—12 нед). В дальнейшем мы перешли на использование мильгаммы, которая назначалась по 1 таблетке 3 раза в день. Некоторые больные получали нейромультивит (содержит в своем составе тиамин, пиридоксин и цианокобаламин) по 1—3 таблетки в сутки. ПН I степени не является противопоказанием для применения велкейда, поэтому одновременно начинался цикл терапии велкейд + дексаметазон. Для удаления из кровотока патологического пара-

протеина больным осуществлялся лечебный плазмаферез (3—4 сеанса на курс лечения).

При использовании бортезомиба, как уже указывалось, у 54% больных этой группы наблюдалось развитие ПН. При выявлении у больного признаков ПН мы в первую очередь руководствовались рекомендациями по коррекции дозы бортезомиба (см. табл. 4). Наличие сенсорной нейропатии I степени не влияло на ход лечения больных. При нейропатии I степени с болевым синдромом или II степени проводилась редукция дозы велкейда (с 1,3 до 1,0 мг/м²). Развитие нейропатии III степени у 11 пациентов (8,9% из 124 или 16,4% из 67 больных с ПН) либо II степени с нейропатическими болями у 10 пациентов (8% из 124 или 15% из 67) было основанием для временного прекращения терапии, а в последующем — редукции дозы велкейда до 0,7 мг/м² у 13 (62%) больных. У 6 (28,5%) больных использовалась прежняя доза, но велкейд вводился 1 раз в неделю. Одновременно при развитии ПН больным назначались витамины группы В или мильгамма, которая в случае появления нейропатических болей вводилась внутримышечно с последующим переходом на пероральный прием. При нарастании симптоматики ПН с болевым синдромом больные получали габапентин (Тебантин) или (в последнее время) прегабалин (Лирика). Применение габапентина начинали с 300 мг на ночь с наращиванием дозы в течение недели до 1800 мг/сут (суточная доза делилась на 3 приема), при необходимости дозу доводили до 2400 мг/сут и лишь изредка — до 3600 мг/сут. Курс лечения составил 8—16 нед. Стартовая доза прегабалина равнялась 150 мг/сут. В зависимости от эффекта и переносимости дозу увеличивали до 300 мг/сут, а при необходимости — до 600 мг/сут (через 7-дневный интервал). Курс лечения 8—12 нед. При получении эффекта дозу габапентина и прегабалина снижали в течение недели. Некоторые больные получали α-липоевую кислоту (Тиогама, Берлитион) в дозе 600 мг/сут в течение 3—12 нед. В табл. 6 представлены основные методы терапии, которые были использованы для лечения ПН в нашей группе больных ММ.

В целях купирования выраженного болевого синдрома больным назначались также ненаркотические анальгетики (анальгин, баралгин и др.) и НПВП (диклофенак, ибупрофен и др.).

У 36 (29%) из 124 пациентов ММ верифицирована ПН ≥ II степени тяжести. Применение описанной терапии сопровождалось выраженным терапевтическим эффектом, что характеризовалось улучшением самочувствия больных, которые четко указывали на уменьшение как интенсивности, так и наличия болей в нижних и верхних конечностях, а также улучшением чувствительности. Так, у 26 (72%) из 36 больных с ПН ≥ II степени удалось либо полностью купировать симптоматику, либо существенно снизить ее тяжесть (до I степени), что положительно сказалось на улучшении качества жизни обследованных больных и согласуется с данными литературы [22, 54, 55]. Медиана времени до снижения проявлений ПН или их купирования составила 114 дней (колебания — от 30 до 140 дней). В целом по группе больных отмена велкейда в связи с нейротоксичностью была произведена у 5,6% (у 7 из 124 пациентов), у которых наблюдалась тяжелая нейропатия

(III—IV степени). Эти больные были переведены на другую линию специфической терапии.

В группе пациентов с ММ, у которых велкейд использовался в качестве терапии 1-й линии, отмена препарата с переходом на иную линию терапии проведена у 3 из 10 больных. Однако это было связано не столько с развитием ПН (у 2 больных — II степени, у 1 — III степени), сколько с одновременным развитием тяжелой астении и диареи ($n=1$), острой пневмонии ($n=1$) и гипергликемии, *herpes zoster*, приступов мерцательной аритмии ($n=1$).

Таким образом, согласно результатам проведенного исследования, у 54% больных с рефрактерными/рецидивирующими формами ММ на фоне терапии велкейдом наблюдалось развитие ПН. В преобладающем большинстве случаев клинически значимые признаки ПН обнаруживались после 3—5 циклов лечения. Кумулятивная доза велкейда колебалась от 15,6 до 26 мг/м². Однако частота ПН III степени составила 8,9%, а IV степени — 4%. Установлено, что чем выше кумулятивная доза велкейда, тем больше вероятность развития ПН. Чаще нейропатия III—IV степени тяжести наблюдалась у пациентов, имеющих ее признаки еще до применения велкейда. Анализ причин развития ПН показал, что 79% больных с ПН ранее получали винкристинсодержащие программы ХТ. Выявлена корреляционная зависимость между частотой возникновения ПН, с одной стороны, и применением ранее (не менее 3 курсов) программ ВАД, ЦВАД, гипер-ЦВАД — с другой. Развитие ПН у больных с впервые выявленной ММ на фоне лечения велкейдом наблюдалось в 50% случаев. Однако в отличие от предыдущей груп-

пы больных каких-либо очевидных причин ее развития обнаружить не удалось.

При выявлении у больного признаков ПН в первую очередь необходимо руководствоваться рекомендациями по коррекции дозы бортезомиба. Сенсорная нейропатия I степени не влияла на ход основного лечения больных. Только при возникновении нейропатических болей производилась редукция дозы велкейда на один уровень, а при ПН III степени терапию временно прекращали. Для лечения ПН использовали витамины группы В или мильгамму. При нейропатических болях назначали габапентин или прегабалин, реже α -липоевую кислоту. Итогом терапии было существенное улучшение самочувствия больных. У 72% больных с ПН \geq II степени удалось либо полностью купировать симптоматику ПН, либо существенно снизить ее тяжесть. Отмена велкейда в связи с нейротоксичностью имела место только у 5,6% больных.

Итак, основополагающими постулатами при лечении ПН у больных ММ, возникшей на фоне применения бортезомиба, являются следующие: ранняя диагностика ПН; строгое соблюдение рекомендаций по коррекции дозы бортезомиба; своевременное назначение препаратов, регулирующих метаболические нарушения, возникающие в организме больного, обеспечивающих антиоксидантную защиту и обладающих нейротропным эффектом (витамины группы В, мильгамма, α -липоевая кислота); при возникновении нейропатической боли — длительное применение антиконвульсантов (габапентина или прегабалина). Лишь такой подход позволит уменьшить частоту тяжелой ПН, а в случае ее развития купировать либо существенно снизить ее тяжесть.

Л и т е р а т у р а

1. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. Современный взгляд на проблему. Алматы, 2007.
2. Mileshkin L., Antil Y., Rischin D. Management of complications of chemotherapy. In: Gynaecologic Cancer: Controversies in Management. D.M. Gershenson, M.P. McGuire, M. Gore et al (eds). Philadelphia, PA, Elsevier Science, 2002.
3. Barohn R. Approach to peripheral neuropathy and neuropathy. *Semin Neurol* 1998;18:7—18.
4. Lopate G., Parks B., Goldstein J. et al. Polyneuropathies associated with high titre antisuiphatic antibodies: characteristics of patients with and without serum monoclonal proteins. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997;62:581—5.
5. Шакирова И.Н. Нейротоксичность современных цитостатиков. VI Российская онкологическая конференция (26—28 ноября 2002 г.). www.rosoncweb.ru/library/6th_conf/18.html
6. Bromberg M.B. An approach to the evaluation of peripheral neuropathies. *Semin Neurol* 2005;25:153—9.
7. Smith A., Bromberg M. A rational diagnostic approach to peripheral neuropathy. *J Clin Neuromusc Dis* 2003;4:190—8.
8. Kelly J.J., Kyle R.A., O'Brien P.C., Dyck P.J. Prevalence of monoclonal protein in peripheral neuropathy. *Neurology* 1981;31:1480—3.
9. Cook L., Macdonald D.H.C. Management of paraproteinaemia. *Postgrad Med J* 2007;83:217—23.
10. Dispenzieri A., Kyle R.A. Neurological aspects of multiple myeloma and related disorders. *Best Pract Res Clin Haematol* 2005;8:673—88.
11. Ropper A.H., Gorson K.C. Neuropathies associated with paraproteinemia. *N Engl J Med* 1998;338:1601—7.
12. Bataille R., Harausseau J.-L. Multiple myeloma. *N Engl J Med* 1997;336:1657—64.
13. Rajkumar S.V. MGUS and smoldering multiple myeloma: update on pathogenesis, natural history, and management. *Hematology (The American Society of Hematology)* 2005;1:340.
14. Brenner B., Carter E., Tatarsky I. et al. Incidence, prognostic significance and therapeutic modalities of antral nervous system involvement in multiple myeloma. *Acta Haematol* 1982;68:77—83.
15. Richardson P.G., Barlogie B., Berenson J. et al. A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. *N Engl J Med* 2003;348:2609—17.
16. Singhal S., Mehta J., Desikan R. et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N Engl J Med* 1999;341:1565—71.
17. Pal P.K. Clinical and electrophysiological studies in vincristine induced neuropathy. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1999;39:323—30.
18. Singhal S., Mehta J. Thalidomide in cancer: Potential uses and limitations. *BioDrugs* 2001;15:163—72.
19. Mileshkin L., Stark R., Day B. et al. Development of neuropathy in patients with myeloma treated with thalidomide. Patterns of occurrence and the role of electrophysiological monitoring. *J Clin Oncol* 2006;24(27):4507—14.
20. Offidani M., Corvatta L., Marconi M. et al. Common and rare side-effects of low-dose thalidomide in multiple myeloma. Focus on the dose-minimizing peripheral neuropathy. *Eur J Haematol* 2004;72:403—9.
21. Briani C., Zara G., Rondinone R. et al. Thalidomide neurotoxicity: Prospective study in patients with lupus erythematosus. *Neurology* 2004;62:2288—90.

22. Richardson P.G., Briemberg H., Jagannath S. et al. Frequency, characteristics, and reversibility of peripheral neuropathy during treatment of advanced multiple myeloma with bortezomib. *J Clin Oncol* 2006;24(19):3113–20.
23. Bang S.M., Lee J.H., Yoon S.S. et al. A multicenter retrospective analysis of adverse events in Korean patients using bortezomib for multiple myeloma. *Int J Hematol* 2006;83:309–13.
24. Бессмельцев С.С., Стельмашенко Л.В., Подольцева Э.И. и др. Первый отечественный опыт применения бортезомиба (велкейда) в лечении рефрактерных и рецидивирующих форм множественной миеломы. *Вестн гематол* 2007;(1):16–23.
25. Бессмельцев С.С., Стельмашенко Л.В., Подольцева Э.И. и др. Бортезомиб (велкейд) в комбинации с дексаметазоном при рецидиве и рефрактерных формах множественной миеломы. *Онкогематология* 2007;(4):61–6.
26. Colson K., Doss D.S., Swift R. et al. Bortezomib, a newly approved proteasome inhibitor for the treatment of multiple myeloma: nursing implications. *Clin J Oncol Nurs* 2004;8:473–80.
27. Чернышева Т. Е. Витамины группы В в комплексной терапии диабетической нейропатии. *Рос мед вести* 2001;(4):48–51.
28. Loew D. Pharmacokinetics of thiamine derivatives especially of benfotiamine. *Int J Clin Pharmacol Therap* 1996;34:47–50.
29. Jermendy G. The effectiveness of Milgamma in treatment of diabetic polyneuropathy. *Medicus Universalis* 1995;5:217–20.
30. Low P.A., Nickander K.K. et al. The role oxidative stress and antioxidant treatment in experimental diabetic neuropathy. *Diabetes* 1997;46(Suppl 2):38–42.
31. Ziegler D., Hanefeld M., Ruhnau K.J., Gries F.A. The ALADIN Study Group. Treatment of symptomatic peripheral neuropathy with the antioxidant (lipoic acid). *Diabetologia* 1995;38:1425–33.
32. Ziegler D., Schatz H., Conrad F. et al. alpha-lipoic acid on cardiac autonomic neuropathy in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1997;20:369–73.
33. Данилов А.Б. Нейропатическая боль. М.: Нейромедиа, 2004.
34. Gorson K.C., Schott C., Rand W.M. et al. Gabapentin in the treatment of painful diabetic neuropathy: a placebo-controlled, double-blind, crossover trial. *Neurology* 1998;50(Suppl 4):A103.
35. Freynhagen R., Strojek K., Griesing T. et al. Efficacy of pregabalin in neuropathic pain evaluated in a 12-week, randomised, double-blind, multicentre, placebo-controlled trial of flexible- and fixed-dose regimens. *Pain* 2005;115:254–63.
36. Fehrenbacher J.C., Taylor C.P., Vasko M.R. Pregabalin and gabapentin reduce release of substance P and CGRP from rat spinal tissues only after inflammation or activation of protein kinase C. *Pain* 2003;105:133–41.
37. Levien T.L. Summary of new drug applications and biologic license applications submitted to the Food and Drug Administration: Pregabalin-Pfizer. *Advances in Pharmacy* 2004;2:185–6.
38. Curran M.P., Wagstaff A.J. Gabapentin in postherpetic neuralgia. *CNS Drugs* 2003;17:975–82.
39. Backonja M., Beydoun A., Edwards K.R. et al. Gabapentin for the symptomatic treatment of painful neuropathy in patients with diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *JAMA* 1998;280:1831–6.
40. Morello C.M., Leckband S.G., Stoner C.P. et al. Randomized double-blind study comparing the efficacy of gabapentin with amitriptyline on diabetic neuropathy pain. *Arch Intern Med* 1999;159:1931–7.
41. Rosenstock J., Tuchman M., LaMoreaux L., Sharma U. Pregabalin for the treatment of painful diabetic peripheral neuropathy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Pain* 2004;110:628–38.
42. Lesser H., Sharma U., LaMoreaux L., Poole R.M. Pregabalin relieves symptoms of painful diabetic neuropathy: a randomized controlled trial. *Neurology* 2004;63:2104–10.
43. Richter R.W., Portenoy R., Sharma U. et al. Relief of painful diabetic peripheral neuropathy with pregabalin: a randomized, placebo-controlled trial. *J Pain* 2005;6:253–60.
44. Jarvis B., Coukell A.J. Mexiletine. A review of its therapeutic use in painful diabetic neuropathy. *Drugs* 1998;56:691–707.
45. Rowbotham M., Harden N., Stacey B. et al. Gabapentin for the treatment of postherpetic neuralgia: a randomized controlled trial. *JAMA* 1998;280:1837–42.
46. Shneker B.F., McAuley J.W. Pregabalin: a new neuromodulator with broad therapeutic indications. *Ann Pharmacother* 2005;39:2029–37.
47. Boulton A.J.M., Scarpello J.H.B., Armsrton W.D., Ward J.D. The natural history of painful diabetic neuropathy: a 4-year study. *Postgrad Med J* 1996;59:556–9.
48. Horrobin D.F. Essential Fatty acids in the management of impaired nerve function in diabetes. *Diabetes* 1997;46(Suppl 2):90–3.
49. Alpha-Linolenic acid may lower risk of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes Care* 2008;31:93–5.
50. Malik R.A., Williamson S., Carrington A.L., Boulton A.J.M. Effect of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor trandolapril on human diabetic neuropathy: randomized doubleblind controlled trial. *Lancet* 1998;352:1978–81.
51. Apfel S.C., Kessler J.A., Adornato B.T. et al. The NGF study Group. Recombinant human nerve growth factor in the treatment of diabetic polyneuropathy. *Neurology* 1998;51:695–702.
52. Cameron N.E., Cotter M.A. Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetes* 1997;46(Suppl 2):S31–S37.
53. Hildegard J.B. Neuropathic Pain: diagnosis, treatment, and the pharmacist's role in patient care. *Pharm Times* 2005;97–108.
54. Richardson P.G., Sonneveld P., Schuster M.W. et al. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2005;352:2487–98.
55. Oakervee H.E., Popat R., Curry N. et al. PAD combination therapy (PS-341/bortezomib, doxorubicin and dexamethasone) for previously untreated patients with multiple myeloma. *Br J Haematol* 2005;129:755–62.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОСПЕКТИВНОГО КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПРОГРАММ ДОЗОИНТЕНСИВНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Д.Л. Строяковский, И.В. Профатило, Г.Б. Стрельникова, Р.Г. Кулиев, Е.М. Ливанцова
Московская городская онкологическая больница №62

Теоретическое обоснование интенсификации химиотерапии (ХТ) стало основой для использования химиопрепаратов в более высоких дозах, сокращения интервалов между курсами лечения. В то же время токсическое воздействие цитостатиков на костный мозг является одним из наиболее значимых препятствий к интенсификации ХТ. Применение дозоинтенсивных схем в отсутствие поддержки препаратами гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) неизбежно приводит к возникновению у большинства пациентов глубокой нейтропении и развитию серьезных инфекционных осложнений.

В данной статье представлены результаты проспективного клинического исследования безопасности и эффективности программ высокодозовой ХТ при раке молочной железы, лимфоме Ходжкина и неходжкинских лимфомах, проведенного на базе ГКБ №62 Москвы в период с апреля по ноябрь 2007 г. В исследование включены 56 пациентов в возрасте от 18 до 72 лет, получивших различные режимы высокодозовой ХТ (21 — с раком молочной железы; 30 — с лимфомой Ходжкина, 5 — с неходжкинскими лимфомами). Для стимуляции гемопоэза всем больным подкожно вводился отечественный рекомбинантный Г-КСФ Лейкостим®. По результатам данного исследования, проведение ХТ в высокодозовых режимах эффективно при лечении ряда злокачественных новообразований, а использование препарата Лейкостим® существенно повышает доступность современных методов лечения злокачественных новообразований для широкого круга пациентов. Возможности высокодозовой ХТ требуют тщательного изучения, а сам метод заслуживает дальнейшей разработки и пристального внимания российских онкологов.

Ключевые слова: дозоинтенсивная химиотерапия, взрослые, эффективность, Лейкостим

RESULTS OF A PROSPECTIVE CLINICAL STUDY OF THE EFFICIENCY AND SAFETY OF INTENSIVE-DOSE CHEMOTHERAPY PROGRAMS FOR MALIGNANCIES

D.L. Stroyakovsky, I.V. Profatilo, G.B. Strelnikova, R.G. Kuliyeu, E.M. Livantsova
Moscow City Cancer Hospital Sixty-Two

The theoretical rationale for intensification of chemotherapy (CT) has become a basis for using of high-dose chemotherapy and for reducing of intervals between courses. At the same time, the toxic effect of cytostatics on bone marrow is one of the most critical deferent to the intensification of CT. The use of dose-intensive regimens, without supporting granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) preparations, inevitably results in the occurrence of severe neutropenia in most patients and the development of serious infectious complications.

This paper presents the results of the prospective clinical study of the safety and efficiency of intensive-dose CT programs for breast cancer, Hodgkin's lymphoma, non-Hodgkin's lymphoma, conducted at Moscow City Cancer Hospital Sixty-Two in the period of April to November 2007. The study included 56 patients aged 18 to 72 years who received different intensive-dose CT, including 21 patients with breast cancer, 30 with Hodgkin's lymphoma, and 5 with non-Hodgkin's lymphoma. For hemopoietic stimulation, the Russian recombinant G-CSF preparation Leukostim® was subcutaneously injected for all the patients. According to results of this study, intensive-dose CT regimens are effective in treating a number of malignancies and the administration of Leukostim® substantially enhances the accessibility of current treatment for malignancies in a wide circle of Russian patients. The capacities of intensive-dose CT require meticulous investigation and the method itself deserves further development and Russian oncologists' scrupulous attention.

Key words: intensive-dose chemotherapy, adults, efficiency, Leukostim

Введение

Важнейшим методом лечения онкологических больных является химиотерапия (ХТ). Зависимость противоопухолевого эффекта от дозы цитостатиков, частоты и режима ХТ была обоснована на математических моделях роста опухолевых клеток, данных, полученных в экспериментах, и подтверждена в клинических исследованиях. Предположение о влиянии дозы химиопрепарата на кинетику роста опухолевых клеток впервые было высказано Н.Е. Skirreg в 1971 г. Он предложил важную концепцию логарифмической гибели клеток, в соответствии с которой определенная доза цитотоксического химиопрепарата убивает постоянную долю клеток опухоли. Математические модели роста опухолевых клеток были сформулированы в 1986 г. L. Norton и R. Simon [1, 2]. Их гипотеза заключается

в том, что увеличение плотности дозы при ХТ увеличивает шансы на уничтожение опухоли. В 1980-х годах E. Frei и G.P. Canellos [3] в экспериментах *in vitro* и на моделях животных показали, что увеличение дозы многих цитостатиков пропорционально усиливает тумороцидный эффект при различных новообразованиях, в том числе и при злокачественных лимфомах. В ряде случаев увеличение дозы позволяет преодолевать лекарственную резистентность. В.И. Каледин и соавт. [4] при изучении модели лимфосаркомы мышей линии СВА обнаружили дозозависимость противоопухолевого эффекта циклофосамида: путем электрофореза ДНК и морфологического исследования срезов опухоли было установлено, что степень апоптотической регрессии клеток опухоли и продолжительность ремиссии зависят от дозы циклофосамида.

Возможность повышения эффективности ХТ за счет интенсивности дозы (dose intensity), которая определяется как количество химиопрепарата, вводимого в единицу времени, была показана при ряде опухолей детского возраста, гематологических новообразованиях (лейкозы, множественная миелома, лимфомы) [5–7]. Для ХТ с уменьшением интервалов между введениями используется термин «dose-dense chemotherapy» ХТ с сокращенными интервалами, или уплотненная (плотнодозовая) ХТ. Предполагается, что при повышении частоты введения препаратов и уменьшении временного интервала между введениями (в течение которого опухоль способна возобновить свой рост) будет увеличен цитотоксический эффект препарата.

Теоретическое обоснование интенсификации ХТ явилось основой для использования химиопрепаратов в более высоких дозах, сокращения интервалов между проведенными курсами. Это позволило значительно улучшить результаты лечения ряда злокачественных новообразований. В то же время цитостатики не обладают специфичностью действия и кроме опухолевых клеток-мишеней поражают и здоровые ткани организма. Токсическое воздействие цитостатиков на костный мозг, приводящее к подавлению его кроветворной функции, снижению числа клеточных элементов крови, является одним из наиболее значимых. В частности, уменьшается число нейтрофильных лейкоцитов, играющих ключевую роль в противоинфекционной защите организма. Развитие нейтропении нередко приводит к возникновению тяжелых и быстротекущих инфекций. Ее глубина и длительность определяют риск появления инфекционных осложнений у пациентов, получивших противоопухолевую терапию [8]. Кроме того, развитие нейтропении обуславливает необходимость редукции доз цитостатиков, увеличения интервалов между курсами, что в свою очередь приводит к снижению эффективности ХТ.

Существующие механизмы регуляции гемопоэза позволяют осуществлять постоянную замену разрушающихся элементов крови, а также оперативно изменять продукцию определенных клеток в ответ на стрессорные ситуации. Одной из важнейших составляющих механизма регуляции гемопоэза является взаимодействие гемопоэтических факторов роста, или гемоцитокинов, на стволовые клетки. Однако при проведении цитостатической ХТ резерв эндогенных цитокинов не всегда достаточен для адекватного и быстрого восстановления гемопоэза. В ряде случаев, особенно у пожилых и ослабленных пациентов, отмечаются снижение продукции эндогенных цитокинов, а также неадекватный ответ клеток-предшественников гемопоэза на стимуляцию эндогенными гемопоэтическими факторами. Важнейшим фактором, регулирующим образование функционально активных нейтрофилов и их выход в кровь из костного мозга, является гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ), продуцируемый макрофагами, фибробластами и нейтрофилами. Г-КСФ — гликопротеин с молекулярной массой 18–22 кД, который, взаимодействуя с рецепторами на поверхности гемопоэтических клеток, стимулирует дифференцировку костномозговых предшественников. Он также регулирует некоторые функции зрелых нейтрофилов, включая хемотаксис, миграцию и образование супероксидов.

Эти эффекты лежат в основе многократно показанной способности экзогенного Г-КСФ уменьшать продолжительность и тяжесть постхимиотерапевтической нейтропении. Оказывая такое действие, он может достоверно уменьшить частоту и тяжесть нейтропенических инфекций, тем самым снижая заболеваемость и затраты на лечение [9, 10]. Использование рекомбинантных Г-КСФ при проведении интенсивной ХТ (эскалация доз, уменьшение интервалов между курсами) позволило сократить сроки восстановления гемопоэза, снизить частоту инфекционных осложнений [11, 12].

В значительной мере распространение Г-КСФ в онкологической практике способствовало появлению и развитию такого метода, как плотнодозовая ХТ. Применение дозоинтенсивных схем в отсутствие поддержки препаратами Г-КСФ неизбежно ведет к возникновению у большинства пациентов глубокой нейтропении и развитию на этом фоне серьезных инфекционных осложнений, так как гемопоэз не успевает восстановиться в более короткий срок. В связи с этим все протоколы дозоинтенсивной ХТ предусматривают назначение препаратов Г-КСФ после введения химиопрепаратов. Это позволяет предотвратить развитие инфекционных осложнений и начать следующий цикл ХТ в запланированный срок. Несмотря на многочисленные клинические исследования II–III фазы, подтверждающие эффективность схем плотнодозовой ХТ, этот метод пока не получил широкого распространения в отечественной онкологической практике. Проведенное нами проспективное клиническое исследование безопасности и эффективности программ плотнодозовой ХТ при раке молочной железы (РМЖ), лимфоме Ходжкина (ЛХ) и неходжкинских лимфомах (НХЛ) стало одним из первых в России исследований в данной области.

Материалы и методы

В исследование, проведенное на базе ГКБ №62 в период с апреля по ноябрь 2007 г., были включены 56 пациентов в возрасте от 18 до 72 лет, получивших различные режимы плотнодозовой ХТ. Лечение было назначено 21 больному с диагнозом РМЖ, 30 — с ЛХ и 5 — с диффузной В-крупноклеточной НХЛ. Протоколы терапии, использованные при различных заболеваниях, представлены в табл. 1.

Для стимуляции гемопоэза всем больным подкожно вводился отечественный рекомбинантный Г-КСФ Лейкостим® (международное непатентованное название — филграстим, производитель ЗАО «Биокад», Россия), являющийся аналогом оригинального препарата Нейпоген® («Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд.», Швейцария). При проведении плотнодозовой ХТ по протоколу АС-14 Лейкостим® вводили с 3-го по 9-й день в дозе 5 мкг/кг подкожно, по протоколам ВЕАСОРР-14, СНОЕР-14, R-СНОЕР-14 — с 9-го по 13-й дни в дозе 5 мкг/кг подкожно.

Результаты исследования

Лечение по протоколу АС-14 получила 21 пациентка с метастатическим РМЖ (II стадии — 2 больные, III стадии — 15, IV стадии — 4). В общей сложности было проведено 88 циклов терапии.

30 пациентов получали ХТ по протоколу ВЕАСОРР-14 (ЛХ II стадии — 6 человек, III стадии — 11

и IV — 13). Общее число циклов по данному протоколу составило 228.

По протоколу СНОЕР-14 получали ХТ 4 больных (с НХЛ III стадии — 1 и IV стадии 3 пациента). Всего по данному протоколу было проведено 28 циклов терапии.

Один пациент с НХЛ III стадии получил 4 курса терапии по протоколу R-СНОЕР-14 (табл. 2).

Терапия в соответствии с протоколом АС-14 хорошо переносилась, снижение уровня нейтрофилов $< 1,0 \times 10^9/\text{л}$ было отмечено при проведении 28 курсов (31,8%), в том числе у 4 (4,5%) пациенток число нейтрофилов было $< 1,0 \times 10^9/\text{л}$. Однако длительность глубокой нейтропении не превышала 1–2 дней и ни в одном случае не сопровождалась развитием фебрильной нейтропении (табл. 3).

Проведение курсов ВЕАСОРР-14 на фоне введения лейкостима в дозе 300 мг/сут с 9-го по 13-й дни цикла позволило избежать у большинства пациентов развития глубокой лейкопении. При назначении 97 курсов (42,5% пациентов) снижения уровня лейкоцитов (нейтрофилов) ниже нормы не отмечалось, лейкопения I–II степени была зафиксирована в 31,1% ($n=70$) случаев, III–IV степени — в 26,7% ($n=61$). Лейкопения IV степени, сопровождавшаяся нейтропенией < 500 клеток в микролитре, отмечалась у 8 (12,7%) больных при проведении 29 курсов. Длительность нейтропении IV степени составила от 2 до 7 (медиана — 5) дней (см. табл. 3).

Тяжелые инфекционные осложнения (сепсис, пневмония) нейтропении возникли после проведения 6 курсов (2,6% пациентов): у 1 больного была диагностирована пневмоцистная пневмония, у 4 — грибковая, у 1 — бактериальная. У 1 пациента диагностирована тяжелая пиодермия. Ни один больной не погиб от инфекционных осложнений.

Негематологическая токсичность проявлялась тошнотой, рвотой, развитием периферической нейтропатии. Однако ни в одном из случаев данные явления не привели к увеличению интервалов между курсами и не потребовали отмены терапии. У 1 пациента после проведения 4-го курса ВЕАСОРР-14 наблюдалась выраженная кожная реакция, расцененная как проявление токсичности блеомицина, в дальнейшем препарат не назначался.

Нейтропения III–IV степени выявлена при проведении 16 курсов (50% больных) ХТ по протоколам СНОЕР-14 и R-СНОЕР-14 (после 4 курсов отмечалась фебрильная нейтропения, не сопровождавшаяся клинически документированной инфекцией — 14,2%), что отражено

Таблица 1. Протоколы плотнодозовой терапии

День введения	Название препарата	Дозировка, мг/м ²
PMЖ — АС-14		
1-й	Доксорубин	60
1-й	Циклофосфамид	600
ЛХ ВЕАСОРР-14		
1-й	Циклофосфан	650
1-й	Доксорубин	25
1–3-й	Этопозид	100
1–7-й	Прокарбазин	100
1–7-й	Преднизолон	60
8-й	Винкристин	1,4
8-й	Блеомицин	10
НХЛ СНОЕР-14		
1-й	Доксорубин	60
1-й	Винкристин	1,4
1-й	Циклофосфамид	750
1–3-й	Этопозид	100
1–5-й	Преднизолон	60
НХЛ R-СНОЕР-14		
1-й	Ритуксимаб	375
2-й	Циклофосфамид	750
2-й	Доксорубин	50
2-й	Винкристин	1,4
2–4-й	Этопозид	100
2–6-й	Преднизолон	60

в табл. 3. Во всех случаях длительность нейтропении III–IV степени не превышала 3 дней. Негематологическая токсичность при проведении режимов АС, СНОЕР-14 и R-СНОЕР-14 проявлялась развитием алопеции различной степени у большинства больных. Кроме того, у больных, получавших СНОЕР-14 и R-СНОЕР-14, в 17,2% случаев ($n=5$) зафиксировано развитие периферической нейропатии III степени.

При оценке эффективности терапии в режиме АС-14 у пациенток с диагнозом РМЖ полная ремиссия была констатирована в 33% случаев ($n=7$), частичная ремиссия — в 38% ($n=8$); табл. 4. Таким образом, общая эффективность терапии составила 71%. При лечении по протоколу ВЕАСОРР-14 ответ на лечение наблюдался у 100% пациентов. При этом у 24 (80%) больных достигнута полная ремиссия, у 6 (20%) — частичная.

При проведении ХТ по протоколу СНОЕР-14 у 1 (25%) пациента наблюдался полный ответ, у 2 (50%) —

Таблица 2. Распределение пациентов по нозологиям и числу проведенных циклов

Схема лечения	Стадия	Число пациентов	Число циклов ХТ		Всего пациентов
			4	8	
PMЖ					
АС-14	II	2	2	—	21
	III	15	15	—	
	IV	4	3	1	
ЛХ					
ВЕАСОРР-14	II	6	2	4	30
	III	11	—	11	
	IV	13	—	13	
НХЛ					
СНОЕР-14	III	1	1	—	3
	IV	3	—	3	
R-СНОЕР-14	III	1	1	—	1

Таблица 3. Частота развития глубокой нейтропении при проведении плотнодозовой ХТ

Протокол плотнодозовой ХТ	проведенных по данному протоколу	Число курсов, осложнившихся развитием		
		нейтропении III степени	нейтропении IV степени	тяжелой нейтропенической инфекции
АС-14	88	24 (27,3)	4 (4,5)	0
ВЕАСОРР-14	228	32 (14,0)	29 (12,7)	7 (12,7)
СНОЕР-14 R-СНОЕР-14	32	12 (37,5)	4 (12,5)	5 (12,5)

Примечание. В скобках представлен процент больных.

частичный, у 1 (25%) больного имело место прогрессирующее заболевание. Общая частота объективного клинического ответа составила 75%. При проведении терапии по схеме R-СНОЕР-14 у пациента была получена полная ремиссия.

Обсуждение

Основанием для нашей работы послужили научные исследования, продемонстрировавшие, что интенсификация ХТ, в частности, сокращение интервалов между курсами, приводит к большей противоопухолевой активности в отношении ряда солидных и гематологических новообразований. Особенно это касается таких опухолей, как РМЖ, ЛХ, НХЛ.

Эффективность плотнодозовой ХТ при РМЖ была продемонстрирована в большом рандомизированном исследовании Международной группы-9741, проведенном M.L. Citron и соавт. [13], включавшем 2005 больных. Пациенты были рандомизированы на 4 группы: в 1-й группе проводилось 4 курса ХТ доксорубицином в дозе 60 мг/м², затем 4 курса ХТ паклитакселом — 175 мг/м², далее — циклофосфамидом в дозе 600 мг/м² с интервалом в 21 день; во 2-й группе больные получали аналогичную ХТ, но с интервалом в 14 дней; в 3-й группе проводили 4 курса ХТ доксорубицином в дозе 60 мг/м² в комбинации с циклофосфамидом — 600 мг/м², затем 4 курса лечения паклитакселом — 175 мг/м² с интервалом в 21 день; в 4-й группе назначалась ХТ, аналогичная таковой в 3-й группе, но с интервалом в 14 дней. Пациенткам, которые получали ХТ с короткими интервалами, назначался колониестимулирующий фактор (филграстим) с 3-го по 11-й день каждого цикла. Средний период наблюдения — 36 мес. Четырехлетняя безрецидивная выживаемость составила 82% для режима ХТ с укорочением интервалов и 75% — для остальных режимов. Различий в общей и безрецидивной выживаемости в группах с последовательным и чередующимся режимом отмечено не было.

В наше исследование были включены пациентки с различными стадиями метастатического РМЖ, кото-

рым проводилась поли-ХТ по схеме АС-14. Несмотря на то что большинство (19/90%) больных, включенных в исследование, имели III и IV стадии заболевания, эффективность проведенной терапии была высокой и составила 71% (33% полных ремиссий и 38% — частичных). Лечение переносилось без выраженной токсичности и, несмотря на наличие у части больных нейтропении III и IV степени, длительность ее была незначительной и ни в одном случае не наблюдалось признаков нейтропенической инфекции.

Влияние соблюдения плотнодозового режима показано во многих исследованиях по изучению эффективности терапии ЛХ. По данным M. Sieber и соавт. [14], применение данной схемы привело к наступлению полной ремиссии у 94% пациентов (выживаемость — 97% при среднем сроке наблюдения 34 мес). A. Engert и соавт. [15] провели мультицентровое рандомизированное открытое обсервационное исследование применения схемы ВЕАСОРР-14 совместно с назначением пегфилграстима у пациентов с ЛХ ПВ—IV стадии. Все больные ($n=41$) получали ХТ по схеме ВЕАСОРР каждые 14 дней. Пациенты в случайном порядке были распределены на 2 группы и, наряду с плотнодозовой ХТ, принимали пегфилграстим в дозе 6 мг однократно на 4-й либо 8-й день цикла. К концу исследования частота ответа у больных из обеих групп составила не менее 85%, к концу периода наблюдения — 89%, при этом у 23 пациентов наблюдалась полная (85%), а у 1 (4%) — частичная ремиссия.

В наше исследование были включены пациентки с ЛХ ПВ—ПВВ стадии при наличии факторов неблагоприятного прогноза. Однако проведение терапии в режиме ВЕАСОРР-14 позволило достичь противоопухолевого эффекта у всех больных. При этом у 24 (80%) пациенток достигнута полная ремиссия, у 6 (20%) — частичная. При высокой противоопухолевой активности терапия хорошо переносилась. Негематологическая токсичность была незначительной. Назначение

Лейкостима позволило избежать у большинства пациентов развития глубокой лейкопении. Тем не менее нейтропении III—IV степени отмечалась в 26,7% случаев (при проведении 61 курса), снижение нейтрофилов <500 клеток в микролитре выявлено у 8 больных при проведении 29 курсов, что составило 12,7%. Частота тяжелых инфекционных осложнений была крайне незначительной (2,6%)

Таблица 4. Эффективность терапии

Протокол плотнодозовой ХТ	Частота ответа на ХТ	
	полная ремиссия, n (%)	частичная ремиссия, n (%)
АС-14	7 (33)	8 (38)
ВЕАСОРР-14	24 (80)	6 (20)
СНОЕР-14	1 (25)	2 (50)
R-СНОЕР-14	1 (100)	0

и ни один больной не умер по причинам, связанным с лечением.

Использование схем терапии в плотноразовых режимах оказалось также эффективным при НХЛ. Одной из наиболее эффективных схем при данной нозологии является СНОР-14. По данным М. Balzarotti и соавт. [16], при проведении ХТ по данному протоколу с назначением филграстима с 7-го по 12-й день у 74% больных была достигнута полная ремиссия; общая выживаемость составила 86% при среднем сроке наблюдения 1 год.

В нашем исследовании у больных с НХЛ назначалось лечение по схемам СНОЕР-14 и R-СНОЕР-14. Эффективность при назначении СНОЕР-14 составила 75% (25% — полная ремиссия, 50% — частичная). При проведении терапии по схеме R-СНОЕР-14 у 1 пациента получена полная ремиссия. Лечение хорошо переносилось, несмотря на то что после проведения 50% курсов отмечалась нейтропения III—IV степени, длительность ее была не более 3 дней и ни в одном случае не осложнилась тяжелыми инфекционными проявлениями.

Таким образом, как показало наше исследование, проведение ХТ в плотноразовых режимах является высокоэффективным методом при лечении ряда злокачественных новообразований: АС-14 при РМЖ, ВЕАСОРР-14 при ЛХ, СНОЕР-14 — при НХЛ. Вне всякого сомнения, решающее значение для проведения

дозоинтенсивной ХТ имеет доступность препаратов Г-КСФ. В нашем исследовании для стимуляции гемопоэза использовался отечественный препарат Лейкостим®. При аналогичной эффективности препаратов Нейпоген® и Лейкостим® последний обладает значительно более низкой стоимостью. В фармакоэкономическом исследовании, проведенном в 2007 г. специалистами Московской медицинской академии и Гематологического научного центра РАМН, было показано, что использование Лейкостима® позволяет сделать схему ВЕАСОРР-14 наиболее оптимальной для терапии ЛХ с позиций фармакоэкономики [17]. Ввиду этого применение препарата Лейкостим®, более дешевого по сравнению с оригинальным препаратом и не уступающего ему по показателям безопасности и эффективности, существенно повышает доступность современных высокоэффективных методов лечения злокачественных новообразований для широкого круга российских пациентов.

Полученные нами данные по безопасности и эффективности схем ХТ ВЕАСОРР-14 и АС-14 совпадают с результатами зарубежных исследований и могут служить основанием для назначения их в качестве терапии 1-й линии при ЛХ и метастатическом РМЖ соответственно. Возможности метода плотноразовой ХТ требуют тщательного изучения, а сам метод заслуживает дальнейшей разработки и пристального внимания российских онкологов.

Л и т е р а т у р а

1. Skipper H.E. Kinetics of mammary tumor cell growth and implications for therapy. *Cancer* 1971;28:1479—99.
2. Norton L., Simon R. The Norton-Simon hypothesis revisited. *Cancer Treat Rep* 1986;70:163—9.
3. Frei E., Canellos G.P. Dose, a critical factor in cancer chemotherapy. *Am J Med* 1986;69:585—94.
4. Каледин В.И., Николин В.П., Тимофеева О.А. и др. Апоптозопосредованная регрессия перевиваемой лимфосаркомы LS мышей линии СВА при моно- и полихимиотерапии. *Экспер онкол* 2002;24(1):55—8.
5. Blume K.G., Thomas E.D. A review of autologous hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000;6:1—12.
6. Gutierrez-Delgado F., Maloney D.G., Press O.W. et al. Autologous stem cell transplantation for non-Hodgkin lymphoma: comparison of radiation-based and chemotherapy-only preparative regimens. *Bone Marrow Transplant* 2001;28:455—61.
7. Gutierrez-Delgado F., Maloney D.G., Holmberg L.A. et al. Autologous stem cell transplantation for patients with Hodgkin's disease, a comparison of two high-dose chemotherapy regimens. *Bone Marrow Transplant* 2003;32:279—85.
8. Bodey G.P., Buckley Y., Sathe Y.S. et al. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 1966;64:328—40.
9. Crawford J., Ozer H., Stoller R. et al. Reduction in the incidence of chemotherapy-induced febrile neutropenia in patients with small cell lung cancer by granulocyte colony-stimulating factor (R-met G-CSF). *N Engl J Med* 1991;325:164—71.
10. Welte K., Reiter A., Mempel K. et al. A randomized phase-III study of the efficacy of granulocyte-colony stimulating factor in children with high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996;87(8):3143—50.
11. Trillet-Lenoir V., Green J., Manegold C. et al. Recombinant granulocyte colony-stimulating factor reduces the infectious complications of cytotoxic chemotherapy. *Eur J Cancer* 1993;29A:319—24.
12. Duhrsen U., Villeval J.L., Boyd J. et al. Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood* 1988;72:2074—81.
13. Citron M.L., Berry D.A., Cirrincione C. et al. Randomized trial of dose-dense versus conventionally scheduled and sequential versus concurrent combination chemotherapy as postoperative adjuvant treatment of node-positive primary breast cancer. First report of Intergroup Trial C9741/Cancer and Leukemia Group B Trial 9741. *J Clin Oncol* 2003;21(8):1431—9.
14. Sieber M., Bredenfeld H., Josting A. et al. 14-day variant of the bleomycin, etoposide, doxorubicin, cyclophosphamide, vincristine, procarbazine, and prednisone regimen in advanced-stage Hodgkin's lymphoma: results of a pilot study of the German Hodgkin's Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol* 2003;21(9):1734—9.
15. Engert A., Bredenfeld H., Döhner H. et al. Pegfilgrastim support for full delivery of ВЕАСОРР-14 chemotherapy for patients with high-risk Hodgkin's lymphoma: results of a phase II study. *J Haematologica* 2006;91(4):546—9.
16. Balzarotti M., Spina M., Sarina B. et al. Intensified CHOP regimen in aggressive lymphomas: maximal dose intensity and dose density of doxorubicin and cyclophosphamide. *J Ann Oncol* 2002;13(9):1341—6.
17. Толкушин А.Г., Куликов А.Ю., Ягудина Р.И., Моисеева Т.Н. Сравнение оригинального препарата филграстим (Нейпоген) с российским воспроизведенным препаратом (Лейкостим) для профилактики и лечения нейтропении на фоне цитостатической полихимиотерапии больных с продвинутыми стадиями лимфогранулематоза: анализ «затраты-эффективность» и «минимизация затрат». М.: ММА им. И.М. Сеченова, ГИЦ РАМН, 2008.

ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ АНЕМИИ У БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ. ИЗМЕНЕНИЯ В РОССИЙСКОЙ И МЕЖДУНАРОДНОЙ ПРАКТИКЕ ЗА 2007—2008 ГГ.

Н.В. Жуков

ФГУ ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии Росздрава, Москва

В статье рассматривается тактика лечения анемии у больных злокачественными новообразованиями, в частности, использование эритропоэстимулирующих препаратов (ЭСП). Назначение ЭСП остается основным рекомендованным методом лечения анемии у онкологических больных, получающих терапию цитостатиками, при условии, что отсутствуют устранимые другим способом причины анемии. Внедрение в отечественную практику дарбэпоэтина α позволяет сделать терапию ЭСП более удобной для пациентов и медицинского персонала.

Ключевые слова: анемия, эритропоэстимулирующие препараты, дарбэпоэтин α

APPROACHES TO TREATING ANEMIA IN PATIENTS WITH MALIGNANCIES. THE 2007-2008 CHANGES IN RUSSIAN AND INTERNATIONAL PRACTICE

N.V. Zhukov

Federal Research Clinical Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Russian Agency for Health Care

The paper deals with the treatment policy, including erythropoiesis-stimulating drugs (ESD), in anemic patients with malignancies. The use of ESD remains the basic recommended treatment option for anemia in cancer patients treated with cytostatics if the causes of anemia, which are eliminable by other means, are absent. Introduction of darbepoetin α makes ESD therapy more convenient for patients and medical staff.

Key words: anemia, erythropoiesis-stimulating drugs, darbepoetin α

Значимость лечения анемии для онкологических больных злокачественными новообразованиями

Проблема анемии у онкологических и онкогематологических больных сохраняет свою значимость как в России, так и в других странах. Результаты исследования, включившего более 15 000 пациентов с различными злокачественными новообразованиями, показали, что анемия различной степени выраженности встречается примерно у 50% из них. При некоторых видах опухолей (злокачественные новообразования женской репродуктивной системы, рак легкого и т.д.) от анемии страдают до 70—80% пациентов, получающих цитостатическое лечение [1]. Пристальное внимание к анемии обусловлено взаимосвязью этого осложнения и качества жизни, которое в условиях длительного противоопухолевого лечения приобретает все большее значение. По мнению самих больных, такие симптомы, как утомляемость и слабость (в англоязычной литературе *fatigue*), зачастую ассоциированные с анемией, являются самыми значимыми факторами, ухудшающими качество повседневной жизни в процессе лечения.

Развитие анемии у онкологических больных может быть вызвано различными причинами. В данной статье не будут анализироваться острые анемии, возникшие в результате кратковременного воздействия этиологического фактора (острая кровопотеря и др.), так как алгоритм лечения подобных анемий в онкологии и онкогематологии не имеет существенных отличий от общетерапевтических подходов.

Наибольшую проблему представляют анемии, обусловленные длительно действующими факторами,

многие из которых являются специфичными для онкологической практики. Несмотря на то что длительность существования подобной анемии на момент первичной диагностики и выработки плана лечения может быть незначительной, вполне понятно, что без специфической терапии она будет сохраняться в течение всего периода действия этиологического фактора. В связи с этим логично рассматривать их с позиции диагностики и лечения хронических анемий.

В зависимости от этиологии подобные анемии могут быть разделены на 3 основные группы:

1) обусловленные известными потенциально устранимыми причинами (хроническая кровопотеря, дефицит железа, фолатов и витамина В₁₂, иммунный гемолиз);

2) возникшие в результате воздействия злокачественной опухоли (опухолеассоциированные анемии или анемии хронического заболевания);

3) развившиеся под воздействием миелосупрессивной терапии.

В случае если анемия обусловлена потенциально устранимым этиологическим фактором, оптимальным методом ее лечения является его устранение. К сожалению, устранимые причины играют ведущую роль лишь у некоторых онкологических больных. Соответственно, добиться адекватной коррекции уровня гемоглобина только при использовании препаратов железа, витаминов, кортикостероидов и других лекарственных средств удается лишь у тех пациентов, анемия у которых имеет четко выявленную причину. Остальные больные требуют других методов лечения.

Гемотрансфузии позволяют достаточно быстро повысить содержание гемоглобина, однако из-за распространения вирусных инфекций, передающихся препаратами крови, показания к их проведению значительно ограничены. За последние десятилетия показатель гемоглобина, который определяет «необходимость трансфузии в связи с физиологической непереносимостью анемии» у онкологических больных, был уменьшен со 100 до 70–80 г/л [2]. Кроме того, трансфузии донорских эритроцитов — это лишь симптоматическое лечение, не воздействующее на причину и/или патогенетические звенья развития анемии и, соответственно, имеющее кратковременный эффект. Это приводит к закономерному снижению качества жизни пациентов, которым для коррекции анемии применяется только тактика гемотрансфузий «по необходимости».

Альтернативой подобной тактике лечения больных, причина развития анемии у которых не может быть устранена, является использование эритропоэстимулирующих препаратов (ЭСП), представляющих собой искусственно созданные аналоги эритропоэтина. Основная задача использования ЭСП — снижение потребности в трансфузиях и поддержание удовлетворительного качества жизни.

По данным 77 исследований, отобранных Европейской организацией по лечению и исследованию рака (EORTC), частота адекватной коррекции содержания гемоглобина при терапии различными ЭСП составляет от 43 до 72%; значительно снижается и потребность в гемотрансфузиях и улучшается качество жизни больных [3].

Широкое использование ЭСП для коррекции анемии в онкологии привело к необходимости систематизации клинического опыта с последующим формулированием четких рекомендаций по их применению. За последние годы такие руководства опубликовали EORTC, Американская ассоциация клинических онкологов (ASCO) и Американское общество гематологов (ASH), Национальная раковая сеть США (NCCN) [3, 4]. Эти рекомендации претерпевают изменения по мере накопления клинических данных и проведения новых исследований. Большинство врачей в мире при выборе тактики назначения ЭСП ориентируются именно на рекомендации этих ведущих организаций.

Изменения в международных рекомендациях

В 2008 г. были опубликованы обновленные рекомендации консенсусной конференции ASCO и ASH [4]. Наиболее важные изменения в данных рекомендациях (по сравнению с рекомендациями 2002 г. [5]) отражены в табл. 1. Тактика модификации дозировок эритропоэтина α и дарбэпоэтина в процессе лечения представлена в табл. 2 и 3.

Таким образом, как видно из табл. 1–3, основные рекомендации по использованию ЭСП в онкологии и онкогематологии не подверглись изменениям. ЭСП остаются основой лечения анемии у больных опухолями, получающих ХТ (анемия, обусловленная ХТ), так как позволяют повысить качество их жизни и избежать заместительных гемотрансфузий. В то же время, основываясь на данных исследований, проведенных в последнее время, применение ЭСП у пациентов, не получающих миелосупрессивной терапии (опухолассоцированная анемия), не показано. Исключение составля-

ют пациенты с миелодиспластическим синдромом низкого риска, у которых ЭСП могут использоваться без одновременного проведения ХТ.

Принимая решение о назначении ЭСП необходимо оценивать соотношение пользы и риска. Недавно проведенный метаанализ выявил, что в ряде исследований применение ЭСП приводило к незначительному повышению частоты тромбоэмболических осложнений и снижению выживаемости [6]. Несмотря на то что эти исследования не ставили своей задачей оценку выживаемости (в большинстве из них отмечена диспропорция в распределении факторов онкологического прогноза между группами больных, получавших и не получавших ЭСП), особое внимание вопросам безопасности должно уделяться у пациентов, получающих противоопухолевое лечение с куративной целью. Даже небольшой в абсолютном исчислении и не полностью доказанный риск уменьшения выживаемости может быть неприемлем в группе потенциально излечимых больных. При проведении терапии ЭСП рекомендуется не стремиться к нормализации уровня гемоглобина, а использовать целевой уровень не более 120 г/л. Выбор данного целевого уровня обоснован не только вопросами безопасности, но и данными о том, что в интервале между 110 и 120 г/л назначение ЭСП позволяет добиться максимального прироста качества жизни в пересчете на затраченный препарат [7].

В рекомендациях особо отмечено, что отбор пациентов на терапию ЭСП должен проводиться тщательным образом. Перед назначением ЭСП пациенту необходимо пройти обследование для выявления устранимых другими методами причин развития анемии. Данный пункт рекомендаций представляется нам крайне важным, поскольку еще раз напоминает врачам о необходимости исходного обследования больных с анемией и недопустимости «списания» всех видов анемии на опухоль или ее лечение.

Гемотрансфузии должны рассматриваться в качестве метода лечения в случаях необходимости быстрой коррекции уровня гемоглобина, высокого риска развития осложнений при назначении ЭСП, а также у больных, которым терапия ЭСП не показана.

Данные, накопленные за период, прошедший между цитируемыми рекомендациями (5 лет), однозначно свидетельствуют о том, что дарбэпоэтин α как минимум не уступает в эффективности и безопасности ранее применявшимся ЭСП (рекомбинантные эритропоэтины). Таким образом, выбор препарата для терапии должен основываться на цене и удобстве применения. Для увеличения эффективности и снижения затрат к терапии ЭСП рекомендуется добавлять внутривенные препараты железа.

Ситуация в Российской Федерации

В России проведение гемотрансфузий и другие подходы к лечению анемии по-прежнему регламентирует приказ Министерства здравоохранения РФ №363 от 25.11.2002. Согласно этому приказу показанием к переливанию переносчиков газов крови при острой анемии является «потеря 25–30% объема циркулирующей крови, сопровождающаяся снижением уровня гемоглобина ниже 70–80 г/л, гематокрита ниже 25% и возникновением циркуляторных нарушений». Пока-

Таблица 1. *Изменения в подходах к использованию ЭСП в онкологии и онкогематологии (рекомендации ASCO/ASH)*

Категория	2002	2007
Общие рекомендации	<p>Как и во многих других медицинских ситуациях, крайне важно перед началом терапии ЭСП уделить внимание другим устранимым причинам анемии. В связи с этим желательно провести полноценный сбор анамнеза и физикальный осмотр, назначить необходимые лабораторные тесты (кроме химиотерапии — ХТ), направленные на выявление причины анемии или гематологической опухоли. Необходимо как минимум собрать данные о принимаемых (принимавшихся) медикаментах, выполнить тщательное изучение мазков периферической крови (а в некоторых ситуациях и костного мозга) в целях исключения дефицита железа, фолатов и витамина В₁₂ (при показаниях) и провести тест на наличие скрытых потерь крови. Проведение реакции Кумбса может потребоваться у пациентов с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ). По уровню эндогенного эритропоэтина можно предсказать ответ на терапию ЭСП у пациентов с миелодиспластическим синдромом</p>	<p>Как и во многих других медицинских ситуациях, крайне важно перед началом терапии ЭСП уделить внимание другим устранимым причинам анемии. В связи с этим желательно провести полноценный сбор анамнеза и физикальный осмотр, назначить необходимые лабораторные тесты (кроме ХТ), направленные на выявление причины анемии или гематологической опухоли. Необходимо как минимум собрать данные о принимаемых (принимавшихся) медикаментах, выполнить тщательное изучение мазков периферической крови (а в некоторых ситуациях и костного мозга) в целях исключения дефицита железа, фолатов и витамина В₁₂ (при показаниях) и провести тест на наличие скрытых потерь крови и почечной недостаточности*. Проведение реакции Кумбса может потребоваться у пациентов с ХЛЛ, неходжкинскими лимфомами (НХЛ) и наличием аутоиммунных заболеваний в анамнезе. По уровню эндогенного эритропоэтина можно предсказать ответ на терапию ЭСП у пациентов с миелодиспластическим синдромом. Внимание должно быть уделено минимизации использования ЭСП у пациентов с высоким риском развития тромбозоболоческих осложнений</p>
Специальные комментарии о соотношении эффективности рекомбинантных эритропоэтинов и дарбэпоэтина		<p>Основываясь на полноценном систематическом обзоре сравнения результатов терапии эритропоэтинами и дарбэпоэтином у пациентов с анемией, индуцированной ХТ, а также принимая в расчет идентичные показания при злокачественных опухолях, предостережения и противопоказания в действующих инструкциях, утвержденных Управлением по контролю за продуктами и лекарственными препаратами США (FDA), комиссия пришла к выводу, что эти препараты являются эквивалентными в отношении эффективности и безопасности</p>
Анемия, индуцированная ХТ. Пороговый уровень для начала терапии ЭСП. <i>Концентрация гемоглобина, приближающаяся или достигшая уровня <100 г/л</i>	<p>Использование эритропоэтинов рекомендовано в качестве лечебной опции для пациентов с анемией, индуцированной ХТ, и концентрацией гемоглобина, снизившейся до уровня ≤ 100 г/л. Трансфузии эритроцитов также являются лечебной опцией в зависимости от выраженности анемии и клинической ситуации</p>	<p>Использование эритропоэтинов или дарбэпоэтина рекомендовано в качестве лечебной опции для пациентов с анемией, индуцированной ХТ, и концентрацией гемоглобина, снизившейся или приближающейся к уровню < 100 г/л для повышения содержания гемоглобина и снижения потребности в трансфузиях. Трансфузии эритроцитов также являются лечебной опцией в зависимости от выраженности анемии и клинической ситуации</p>
Анемия, индуцированная ХТ. Пороговый уровень для начала терапии ЭСП. <i>Концентрация гемоглобина, приближающаяся уровня <120, но >100 г/л</i>	<p>Для пациентов со сниженным уровнем гемоглобина, но менее выраженной анемией (концентрация гемоглобина < 120 г/л, но никогда не снижалась < 100 г/л) решение о незамедлительном назначении эритропоэтинов или об ожидании снижения до уровня, близкого к 100 г/л, должно определяться клинической ситуацией. Трансфузии эритроцитов также являются клинической опцией, в случае если оправданы тяжелым клиническим состоянием</p>	<p>Для пациентов со сниженным уровнем гемоглобина, но менее выраженной анемией (концентрация гемоглобина < 120 г/л, но никогда не снижалась до уровня, близкого к 100 г/л) решение о незамедлительном назначении эритропоэтинов или дарбэпоэтина или об ожидании снижения до уровня, близкого к 100 г/л, должно определяться клинической ситуацией (включаящей обычно пожилых пациентов с ограниченными сердечно-легочными резервами, сопутствующими заболеваниями коронарных артерий или симптоматической ишемической болезнью сердца, постоянно сниженной толерантностью к физической нагрузке, уменьшением энергичности или ограничением способности вести полноценную повседневную жизнь). Трансфузии эритроцитов также являются клинической опцией, в случае если оправданы тяжелым клиническим состоянием</p>

Категория	2002	2007
Риск развития тромбоэмболии		Лечащий врач должен тщательно взвесить риск развития тромбоэмболии у пациентов, которым назначаются эритропоэтин или дарбэпоэтин. Рандомизированные клинические исследования и систематизированные их обзоры показывают увеличение риска тромбоэмболий у пациентов, получающих эритропоэтины или дарбэпоэтин. Специфические факторы риска развития тромбоэмболии не были определены в данных исследованиях, в связи с этим врачи должны назначать ЭСП с осторожностью и только по показаниям. Установленные общие факторы риска развития тромбоэмболий включают наличие тромбозов в анамнезе, хирургические вмешательства, длительный период иммобилизации или ограничения активности. Больные множественной миеломой (ММ), получающие лечение талидомидом или леналидомидом и доксорубицином или кортикостероидами, относятся к группе повышенного риска. В настоящее время нет данных относительно способности конкурентного использования антикоагулянтов снижать риск развития тромбоэмболий
Начальная доза и ее эскалация	Эти рекомендации основаны на результатах исследований, в которых эритропоэтин назначался подкожно (п/к) 3 раза в неделю. Рекомендованная начальная доза эритропоэтина должна составлять 150 ЕД/кг 3 раза в неделю на протяжении не менее 4 нед, с рассмотрением вопроса о проведении эскалации дозы до 300 ЕД/кг 3 раза в неделю дополнительно еще на 4 нед, суммарно до 8 нед у пациентов, не ответивших на начальную дозу препарата. Несмотря на менее значимые доказательства, может быть рассмотрен альтернативный еженедельный режим (40 000 ЕД/кг)***, основанный на частой клинической практике. Эскалация дозы препарата при еженедельном введении должна базироваться на тех же принципах, что и при введении 3 раза в неделю	Одобренная FDA стартовая доза эритропоэтина α — 150 ЕД/кг 3 раза в неделю или 40 000 ЕД еженедельно п/к. Одобренная FDA стартовая доза дарбэпоэтина — 2,25 мкг/кг еженедельно или 500 мкг каждые 3 нед п/к. Другие стартовые дозы или режимы введения не показали четкого различия в отношении эффективности, включая потребность в трансфузиях и прирост гемоглобина, в связи с чем они могут быть рассмотрены только для повышения удобства. Эскалация доз должна проводиться в соответствии с рекомендациями FDA (табл. 2 и 3). Не существует убедительных доказательств, свидетельствующих о том, что различия в режимах эскалации доз ассоциируются с различной эффективностью
Окончание терапии в связи с отсутствием ответа	Продолжение терапии эритропоэтином более 6–8 нед при отсутствии эффекта (т.е. повышения уровня гемоглобина менее чем на 10–20 г/л), несмотря на увеличение дозы для пациентов с изначальным отсутствием эффекта, не приводит к положительному результату. Пациенты с отсутствием эффекта должны быть обследованы в отношении прогрессирования основного заболевания или дефицита железа. Как и в случае с другими неудачными попытками назначения лекарственных препаратов, должен быть рассмотрен вопрос об отмене препарата	Продолжение терапии эритропоэтином более 6–8 нед при отсутствии эффекта (т.е. повышения уровня гемоглобина менее чем на 10–20 г/л или снижения потребности в трансфузиях), несмотря на увеличение дозы, проведенное в соответствии с рекомендациями FDA, не приводит к положительному результату, и терапия ЭСП должна быть прекращена. Пациенты с отсутствием эффекта должны быть обследованы в отношении прогрессирования основного заболевания, дефицита железа или наличия других возможных причин развития анемии
Целевой уровень гемоглобина	Уровень гемоглобина должен увеличиваться до (или около) 120 г/л, после чего следует титровать дозу эритропоэтина для поддержания данного уровня или возобновлять введение только после падения уровня гемоглобина примерно до 100 г/л. В настоящее время недостаточно доказательств, поддерживающих необходимость «нормализации» гемоглобина на уровне >120 г/л	Уровень гемоглобина должен увеличиваться до (или около) 120 г/л, после чего следует титровать дозу эритропоэтина или дарбэпоэтина для поддержания данного уровня. Рекомендации по дозировке и ее модификации, содержащиеся в инструкциях 2007 г. и одобренные FDA, приведены в табл. 2 и 3. Редукция дозы также рекомендована, в случае если прирост гемоглобина составляет >10 г/л в любой из 2-недельных периодов лечения при уровне гемоглобина >110 г/л. При определении режима снижения дозы препарата в расчет также должен приниматься риск развития тромбоэмболии

Продолжение табл. 1

Категория	2002	2007
Мониторинг уровня железа и добавление его к терапии	Исходное и периодическое определение уровня железа, общей железосвязывающей способности, сатурации трансферрина или уровня ферритина со своевременным восполнением запасов железа может быть полезно в отношении снижения потребности в эритропоэтине, увеличения симптоматического улучшения состояния пациента и определения причин отсутствия адекватного ответа на терапию эритропоэтином. На данном этапе пока еще недостаточно доказательств для определения адекватного времени, периодичности или определенных тестов для такого мониторинга	Без изменений
Анемия у пациентов, не получающих ХТ	Существуют доказательства, полученные из одного хорошо организованного плацебоконтролируемого исследования, возможности использования эритропоэтина у пациентов с анемией, ассоциированной с миелодиспластическим синдромом низкого риска, но нет опубликованных данных исследований высокого качества, поддерживающих его применение у пациентов с анемией на фоне ММ, НХЛ, ХЛЛ в отсутствие ХТ. Лечение эритропоэтином пациентов с миеломной болезнью, НХЛ или ХЛЛ, имеющих анемию, индуцированную ХТ, должно проводиться по принципам, описанным выше	Существуют доказательства возможности использования эритропоэтина или дарбэпоэтина у пациентов группы низкого риска с миелодиспластическим синдромом. Нет опубликованных данных исследований высокого качества, поддерживающих их экссклюзивное использование у пациентов с анемией на фоне ММ, НХЛ, ХЛЛ в отсутствие ХТ. Анализ первичных данных исследования 200110103 (до настоящего времени не опубликованного), переданного в FDA в марте 2007 г., поддерживает убедительные рекомендации против использования ЭСП для лечения анемии у больных со злокачественными новообразованиями (как с солидными, так и немиелоидными гематологическими опухолями), не получающими одновременно ХТ. Рекомендации, добавленные в связи с этим в инструкции для эритропоэтина и дарбэпоэтина в марте 2007 г., таковы: «Использование ЭСП увеличивает риск смерти, когда назначается в целях увеличения гемоглобина до 120 г/л у пациентов с активной злокачественной опухолью, не получающих ни ХТ, ни лучевой терапии. Назначение ЭСП не показано в данной популяции больных»
Лечение анемии у пациентов с немиелоидными гематологическими злокачественными новообразованиями, получающих одновременно ХТ	Врачи, проводящие лечение больных с ММ, НХЛ или ХЛЛ, должны начать ХТ и/или терапию кортикостероидами и оценить гематологический ответ только на сокращение проявлений заболевания перед рассмотрением вопроса о назначении эритропоэтина. В случае если после проведения ХТ не отмечается роста уровня гемоглобина, эритропоэтин должен быть назначен в соответствии с вышеприведенными рекомендациями для лечения больных с анемией, ассоциированной с ХТ, при наличии клинических показаний. Трансфузия эритроцитов также является терапевтической опцией	Врачи, проводящие лечение больных с ММ, НХЛ или ХЛЛ, должны начать ХТ и/или терапию кортикостероидами и оценить гематологический ответ только на сокращение проявлений заболевания перед рассмотрением вопроса о назначении эритропоэтина. В случае если после проведения ХТ не отмечается роста уровня гемоглобина, эритропоэтин или дарбэпоэтин для пациентов с ММ, НХЛ или ХЛЛ и анемией, индуцированной ХТ, должен быть назначен в соответствии с вышеприведенными рекомендациями. С особой осторожностью эритропоэтин или дарбэпоэтин должны применяться одновременно с химиопрепаратами или при заболеваниях с известным повышением риска тромбозмболий. Трансфузия эритроцитов также является терапевтической опцией

* — здесь и далее выделены слова и фразы, которые отсутствовали в рекомендациях 2002 г. и содержатся в рекомендациях 2007 г.

** — в данных рекомендациях не рассматривается применение эритропоэтина β, так как этот препарат не зарегистрирован на территории США.

зания к трансфузиям при хронической анемии (каковой в большинстве случаев и является анемия, обусловленная цитостатическим лечением) должны «быть еще более строгими» (без указания однозначных критериев для их проведения). Хотя тенденция к ограничению трансфузий вполне согласуется с международными рекомендациями, к сожалению, достаточно часто игнорируется другая часть этого документа: «Для подобных пациентов (с хронической анемией)... важ-

нейшим является ликвидация причины, вызвавшей анемию, а не восстановление уровня гемоглобина с помощью трансфузий». Без патогенетического лечения потребность в гемотрансфузиях (чаще всего неоднократных) рано или поздно возникает у многих больных с анемией на фоне цитостатической терапии, однако трансфузии с использованием столь жестких критериев не способны поддерживать адекватное качество жизни.

Таблица 2. Рекомендации по модификации дозы рекомбинантного эритропоэтина α в процессе лечения

Изначальный режим дозирования	150 ЕД/кг 3 раза в неделю п/к	40 000 ЕД еженедельно п/к
Увеличение дозы	До 300 ЕД/кг 3 раза в неделю при отсутствии прироста гемоглобина или снижении потребности в трансфузиях через 8 нед	Увеличение дозы до 60 000 ЕД еженедельно п/к при отсутствии прироста гемоглобина ≥ 10 г/л в течение 4 нед на фоне отсутствия трансфузий
Редукция дозы	Уменьшение дозы на 25% при приближении уровня гемоглобина к 120 г/л или увеличении его более чем на 10 г/л за любые 2 нед лечения	
Задержка дозы	В случае если гемоглобин превысил уровень 120 г/л, необходимо воздержаться от введения препарата до снижения уровня < 110 г/л, после чего продолжить его введение с редукцией дозы на 25%	

Несмотря на то что ЭСП в нашей стране стали применяться значительно чаще, необходимо признать, что частота их использования все же гораздо меньше, чем в экономически развитых странах.

Проблему представляет и обеспечение преемственности в назначении ранее зарегистрированных в нашей стране ЭСП (рекомбинантные человеческие эритропоэтины α и β). В связи с различиями в требованиях к назначению препаратов для больных, получающих стационарное и амбулаторное лечение, даже при еженедельном введении рекомбинантных эритропоэтинов продолжение терапии, начатой в стационаре (одновременно с введением цитостатиков), представляло проблемы при выписке больного на перерыв между циклами ХТ.

Основным изменением в отечественной практике лечения анемии у больных со злокачественными новообразованиями явилась регистрация в конце 2007 г. нового препарата, относящегося к группе ЭСП. Данный препарат — дарбэпоэтин α (аранесп) — представляет собой модифицированный при помощи генной инженерии рекомбинантный человеческий эритропоэтин. При эффективности и безопасности, сопоставимыми с таковыми у рекомбинантных эритропоэтинов, дарбэпоэтин за счет введения в структуру его действующего вещества дополнительных остатков сиаловых кислот обладает гораздо более длительным периодом действия. Это обеспечивает возможность его назначения в фиксированной дозе 1 раз в 3 нед, что совпадает с длительностью большинства курсов ХТ. Дарбэпоэтин уже достаточно давно и успешно используется в США и Европе. Эффективность и безопасность препарата продемонстрированы в большом числе исследований.

Уже в ранних рандомизированных исследованиях было показано, что назначение дарбэпоэтина α в еженедельном режиме значительно снижает потребность в заместительных гемотрансфузиях по сравне-

нию с плацебо в сочетании с «обычным» лечением анемии [7, 8]. В крупном исследовании, включившем 1558 пациентов с анемией на фоне ХТ, назначение дарбэпоэтина привело к увеличению уровня гемоглобина > 120 г/л или его подъему более чем на 20 г/л (большой гематологический ответ) у 70% пациентов. Потребность в заместительных гемотрансфузиях на фоне терапии дарбэпоэтином имела место лишь у 19% больных [9].

Более удобный режим дозирования дарбэпоэтина (в фиксированной дозе 500 мкг, каждые 3 нед) оказался как минимум не менее эффективен. В рандомизированном исследовании, включившем 705 больных с различными онкогематологическими немиелоидными заболеваниями, при введении дарбэпоэтина 1 раз в 3 нед заместительных гемотрансфузий потребовало даже меньшее число больных (23% против 30%). При этом доля пациентов, достигших целевого уровня гемоглобина, была сопоставимой в обеих группах (84 и 77% соответственно) [10]. Профиль безопасности этих схем назначения дарбэпоэтина также практически не различался.

Таким образом, введение дарбэпоэтина можно успешно синхронизировать с использованием цитостатиков, большинство из которых также назначаются по 3-недельной схеме, а подбор одинаковой дозы для всех пациентов позволяет значительно упростить назначение препарата как для медицинского персонала, так и для больного.

Заключение. Назначение ЭСП остается основным рекомендованным методом лечения анемии у больных со злокачественными новообразованиями, получающих терапию цитостатиками, при условии, что отсутствуют устраняемые другим способом причины анемии. Внедрение в отечественную практику дарбэпоэтина α позволяет сделать терапию ЭСП более удобной для пациентов и медицинского персонала.

Таблица 3. Рекомендации по модификации дозы дарбэпоэтина α в процессе лечения

Изначальный режим дозирования	2,25 мкг/кг 3 раза еженедельно п/к	500 мкг каждые 3 нед п/к
Увеличение дозы	Увеличение дозы до 4,5 мкг/кг в случае, если после 6 нед лечения уровень гемоглобина повысился менее чем на 10 г/л	Не предусмотрено
Редукция дозы	Уменьшение дозы на 40% в случае превышения уровня гемоглобина 110 г/л или при увеличении его более чем на 10 г/л за любые 2 нед лечения	
Задержка дозы	В случае если гемоглобин превысил уровень 120 г/л, необходимо воздержаться от введения препарата до снижения уровня < 110 г/л, после чего продолжить его введение с редукцией дозы на 40%	

Л и т е р а т у р а

1. Ludwig H., Van Belle S., Barrett-Lee P. 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(15):2293—306.

2. Groopman J.L., Itri L. Chemotherapy induced anemia in adults: Incidence and treatment. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:1616—34.

3. Bokemeyer C., Apro M.S., Courdi A. et al. EORTC guidelines for the use of erythropoietic proteins in anaemic patients with cancer. *Eur J Cancer* 2004;40(15):2201—16.

4. Rizzo J.D., Somerfield M.R., Hagerty K.L. et al. Use of epoetin and darbepoetin in patients with cancer: 2007 American Society of Clinical Oncology/American Society of

Hematology Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol* 2008;26:132—49.

5. Rizzo J.D., Lichtin A.E., Wolf S.H. et al. Use of epoetin in patients with cancer: evidence-based clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology and the American Society of Hematology. *J Clin Oncol* 2002;20:4083—107.

6. Bennett C.L., Silver S.M., Djulbegovic B. et al. Venous thromboembolism and mortality associated with recombinant erythropoietin and darbepoetin administration for the treatment of cancer-associated anemia. *JAMA* 2008;299(8):914—24.

7. Crawford J., Cella D., Cleeland C.S. et al. Relationship between changes in hemoglobin level and quality of life during chemotherapy in anemic cancer patients receiving epoetin alfa therapy. *Cancer*

2002;95:888—95.

8. Vansteenkiste J., Pirker R., Massuti B. et al. Double-blind, placebo-controlled, randomized phase III trial of darbepoetin alfa in lung cancer patients receiving chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1211—20.

9. Vadhan-Raj S., Mirtsching B., Gregory S.A. et al. Baseline (BL) covariates of response to darbepoetin alfa (DA) every 2 weeks (Q2W) in patients (pts) with chemotherapy-induced anemia (CIA). *Proc ASCO* 2004;23:740.

10. Canon J.-L., Vansteenkiste J., Bodoky G. et al. Randomized, double-blind, active-controlled trial of every-3-week darbepoetin alfa for the treatment of chemotherapy-induced anemia. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:273—84.

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 представлена 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 **Cure4Kids** 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 вверху обозначают местоположение всех пользователей **Cure4Kids** на 16 мая 2008 г. Регистрируйтесь на Cure4Kids.org/register

10-я МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ПО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМ ЛИМФОМАМ

4—7 июня 2008 г., Лугано, Швейцария

Каждые 3 года в первую неделю июня в маленьком городке на юге Швейцарии собираются практические врачи и биологи, представители фундаментальной науки, специалисты по лучевой терапии и различным визуализирующим методикам, посвятившие свою деятельность исследованию и лечению лимфом. Многие годы руководит этими традиционными встречами проф. Франко Кавалли, признанный лидер в этой области медицины, директор онкологической клиники в соседнем городке Беллинзоне. Поскольку лимфомология — это целый комплекс проблем, которые в последнее десятилетие стали объектом важных теоретических и практических исследований, не удивительно, что с каждой последующей конференцией число приверженцев этой области онкологии увеличивается. На последней конференции собрались более 3000 «фанатов лимфом», как определил их один из столпов этого сообщества, онколог из Германии, ведущий авторитет в исследовании лимфомы Ходжкина Volker Diehl. Материалы конференции опубликованы в журнале *Annals of Oncology*, том 19, куда включены образовательные лекции, краткое содержание презентаций, постеров и абстрактов.

Трудно определить основную линию этой юбилейной конференции. Общее внимание было привлечено к проблемам патогенеза и лечения диффузных крупноклеточных лимфом, обсуждению развития классификации лимфоидных опухолей, значению и проблемам интерпретации новых диагностических методов (в первую очередь FDA-PET) и современным подходам к терапии (прежде всего таргетной и клеточной) различных видов лимфом. Большинство работ включают использование молекулярно-генетических методик, которые, как правило, и являются целью исследований. Несмотря на достижения последних лет в этой области, которые позволили улучшить молекулярную диагностику и привели к открытию новых перспективных возможностей в терапии

ряда лимфоидных опухолей, остаются нерешенными многие проблемы, по мере углубления и усложнения разработок появляются новые задачи. Например, неожиданно усложнилась верификация такой, казалось бы, четко диагностически очерченной опухоли, какой является лимфома Беркитта (ЛБ) [1]. Даже использование метода FISH (fluorescent *in situ* hybridization) и микрочипов оставляет место случаям с характеристиками «серой зоны», т.е. не позволяющим однозначно отнести лимфому к ЛБ, классической или атипичной, или к диффузной В-крупноклеточной лимфоме, особенно при высоком пролиферативном потенциале и наличии одновременно транслокаций в генах MYC и BCL2 (статья проф. Ю.А. Криволапова).

Остается нерешенной задача лечения периферических Т-клеточных лимфом [2], зато много сообщений было посвящено значению позитронно-эмиссионной томографии для успешной терапии лимфом. Эти доклады были основаны на анализе результатов больших исследований [3]. Невозможно перечислить тематику всех сделанных сообщений, создается впечатление, что прошедший с момента последней конференции в Лугано период характеризуется интенсивным накоплением фактов, которые пока не встроены в имеющиеся теории и не послужили для создания новых. Однако можно ожидать прорыва в стройной линии сопротивления этой группы опухолей намерению добиться максимального их излечения. Очевидно, что для этого необходимы совместные усилия исследовательских и клинических коллективов, получение и анализ большого массива фактологических данных. Этим проблемам и была посвящена конференция, и можно надеяться, что в течение следующих 3 лет до будущей встречи будут получены ответы на многие вопросы, обсуждаемые на прошедшей конференции.

Редакция

Л и т е р а т у р а

- | | |
|---|---|
| 1. Sevilla D.W., Gong J.Z., Goodman B.K. et al. Clinicopathologic findings in high-grade B-cell lymphomas with typical Burkitt morphologic features but lacking the MYC translocation. <i>Am J Clin Pathol</i> 2007;128:558—64. | 3. Cheson B.D. Has PET changed the approach to lymphoma patients? <i>Ann Oncol</i> 2008;19:123—5. |
| 2. Vose J.M. Update on T-cell lymphoma. <i>Ann Oncol</i> 2008;19:74—6. | |

NIATUS LYMPHOMICUS, ИЛИ КАК ВЕЛИКА МОЖЕТ БЫТЬ «СЕРАЯ ЗОНА»?

Ю.А. Криволапов

Кафедра гематологии и интенсивной терапии ГОУ ДПО РМАПО, Москва

На проходившей в Лугано (Швейцария) 4—7 июня 2008 г. 10-й Международной конференции, посвященной злокачественным лимфомам, была устроена специальная сессия по вопросам классификации опухолей лимфоидной ткани. Основным событием этой сессии был анонс

нового (4-го) издания Классификации ВОЗ опухолей лимфоидной ткани, которое от имени основных разработчиков представила N.L. Harris (Массачусетс, США). Новое издание готовится к выходу в свет в сентябре 2008 г. и развивает основные идеи предыдущего варианта

классификации: заболевания должны быть четко определены и клинически различны; определение заболевания достигается консенсусом (согласованным мнением специалистов патоморфологов и онкогематологов); классификация является основой для дальнейших исследований. В классификации сохраняются неизменными основные критерии выделения отдельных форм опухолей лимфоидной ткани. Этими критериями остаются клиническая характеристика заболевания, морфологическое строение лимфом, иммунофенотип и результаты молекулярно-генетического анализа. Сохраняется структура классификации опухолей лимфоидной ткани, для которых выделяют линейную принадлежность (В- и Т/НК-клеточные, лимфома Ходжкина), уровень дифференцировки (из клеток-предшественников, зрелых клеток), первичную локализацию и распространенность (преимущественно лейкоэмические, первично экстранодальные, преимущественно нодальные).

В 4-м пересмотре классификации среди опухолей лимфоидной ткани из клеток-предшественников появляются бластная опухоль из плазматоцитидных дендритических клеток (ранее НК-бластная лимфома или CD4+/CD56+ гематодермическая опухоль), острые лейкозы с неопределенной линейной принадлежностью (острый недифференцированный лейкоз и острый лейкоз со смешанным фенотипом). Категория В-лимфобластного лейкоза/лимфомы раздроблена на опухоли с неслучайными генетическими аномалиями (7 самостоятельных вариантов) и В-лимфобластную лимфому/лейкоз без дополнительных генетических характеристик.

В категориях лимфом с иммунофенотипом зрелых лимфоцитов также появились существенные дополнения. Среди них — неклассифицируемая селезеночная лимфома (лейкоз). В рубрике хронического лимфолейкоза дано описание В-клеточного моноклонального лимфоцитоза (в крови $< 5 \times 10^9$ /л моноклональных В-лимфоцитов, нет органных очагов инфильтрации), клиническое значение которого не определено.

К фолликулярным лимфомам добавлены варианты (желудочно-кишечного тракта, детская, *in situ*, первичная кожная), изменена структура градаций (1-я и 2-я градации объединены в фолликулярную лимфому низкой градации с небольшим числом центробластов).

Диффузные В-клеточные крупноклеточные лимфомы (ДВКЛ) в новой классификации будут представлены еще более широким списком вариантов, чем используется сейчас. В виде новых самостоятельных форм выступают первичная ДВКЛ центральной нервной системы, первичная кожная (нижних конечностей), EBV+ пожилых, ALK-позитивная и крупноклеточная В-клеточная лимфома, возникшая из HHV8-ассоциированной мультицентрической болезни Кастанмана.

Особого упоминания из новых рубрик в 4-м издании классификации заслуживают так называемые промежуточные лимфомы — опухоли, одновременно обнаруживающие морфологические, иммунофенотипические, молекулярно-генетические свойства, присущие двум различным лимфомам. Одна из таких лимфом получила название В-клеточной лимфомы высокой гистологической степени, неклассифицируемой, являющейся промежуточным вариантом между лимфомой Беркитта (ЛБ) и ДВКЛ. Появление такой своеобразной классификационной категории обосновывается тем, что существу-

ет довольно много лимфом, которые не удается определенно отнести ни к ЛБ, ни к ДВКЛ, несмотря на применение всего арсенала средств молекулярной диагностики. Если такие случаи будут «принудительно» помещаться в группу ЛБ или, наоборот, в группу ДВКЛ, то это неизбежно приведет к размытию критериев морфологической диагностики этих опухолей. Необходимо подчеркнуть, что «промежуточные» лимфомы могут иметь существенные биологические и клинические особенности, которые необходимо изучить глубже.

Другая В-клеточная лимфома занимает промежуточное положение между первичной медиастинальной В-клеточной лимфомой и классической лимфомой Ходжкина.

Список лимфом с иммунофенотипом зрелых Т/НК-клеток расширился за счет лимфом, которые ранее были представлены в классификации ВОЗ опухолей кожи, системного EBV+ Т-клеточного лимфопролиферативного заболевания детей и лимфомой, подобной световой оспе Базена (Hydroa vaccineforme-like lymphoma). В самостоятельную категорию выделена ALK-негативная анапластическая крупноклеточная лимфома.

Предупреждая неизбежную критику возрастающей сложности классификации лимфом, N. Harris справедливо заметила, что хуже сложной классификации может быть только множество классификаций, и процитировала А. Эйнштейна: «Все нужно делать наиболее просто, но не проще».

Представленная классификация отражает существенную методологическую проблему: нарастающая сложность методов исследования лимфом приводит ко все более дробному разделению их на отдельные варианты. Критериями нужности существования новых классификационных типов лимфом остаются клиническая картина заболевания и результаты лечения. Но дробление довольно редких опухолей — лимфом — означает, что новые варианты оказываются представлены совсем малочисленными группами наблюдений, для которых применить в качестве критерия истинности существования особенную клиническую картину и достигнутые результаты лечения практически невозможно. Исследования в области молекулярной (и традиционной) патологии лимфом не имеют самостоятельного значения, пока не установится соответствие между молекулярным (морфологическим) признаком, обнаруженным в опухоли, и особенными клиническими проявлениями лимфомы, иначе молекулярная патология будет «вещью в себе» и классификация станет существовать ради себя самой и обоснования финансовой поддержки научных исследований по выявлению новых типов лимфом, а не для клинической практики.

Другая группа проблем связана с применимостью классификационной схемы в клинической практике, т.е. с возможностью наиболее точно установить морфологический диагноз лимфом, которые характеризуются не до конца изученным гистогенезом, многообразием вариантов, сходством гистологического строения разных видов, часто комплексными (неоднозначными) аномалиями иммунофенотипа и генотипа. Правильность результатов морфологической диагностики лимфом существенно зависит от доступности диагностических методов (иммуногистохимический — ИГХ, молекулярная генетика) и их контролируемого применения (контроль качества прижизненной диагностики в патоморфологии).

В этом смысле существование в классификации «промежуточных» лимфом и публикаций в специализированных журналах, посвященных лимфомам «серой зоны», отражает универсальные обратные взаимоотношения между чувствительностью и специфичностью: чем тоньше (чувствительнее в широком смысле) диагностические средства, тем менее специфичен диагноз, который оказывается размытым в множественных нозологических формах, их подтипах, градациях и молекулярных профилях. Диагнозы «промежуточных» лимфом и лимфом «серой зоны» допустимы только в результате применения всего существующего на сегодняшний момент арсенала методических средств молекулярной патологии. Если же для диагноза доступны только плохо приготовленные срезы, окрашенные гематоксилин-эозином, и отсутствует систематический контроль качества биопсийной диагностики, то любая лимфома рискует оказаться в «серой зоне».

О том, насколько расширилась «серая зона» в отечественной практике, можно судить по официальным документам. Косвенное представление о диагностике лимфопролиферативных заболеваний в РФ позволяет составить приказ МЗСР №162н от 4 апреля 2008 г. «О порядке ведения Федерального регистра больных гемофилией, муковисцидозом, гипофизарным нанизмом, болезнью Гоше, миелолейкозом, рассеянным склерозом, а также после трансплантации органов и (или) тканей», в котором утверждена инструкция по заполнению формы №05-ФР «Сведения, передаваемые Росздраву для формирования и ведения Федерального регистра больных гемофилией, муковисцидозом, гипофизарным нанизмом, болезнью Гоше, миелолейкозом, рассеянным

склерозом, а также после трансплантации органов и (или) тканей» согласно Приложению №7 к приказу. В этом приложении содержится перечень диагнозов заболеваний (и кодов), по которому больных будет включать в Регистр. Выдержка из него приведена ниже.

Из вышеприведенных данных следует, что, например, мелкоклеточная, с расщепленными ядрами (диффузная) неходжкинская лимфома теперь будет регистрироваться как миелолейкоз.

Фактически такие представления об онкогематологии отражают глубочайший разрыв между как действующей, так и будущей Классификацией ВОЗ опухолей кроветворной и лимфоидной тканей и диагностическими возможностями патологоанатомической службы, планированием оказания медицинской помощи онкогематологическим больным в России.

Прижизненная морфологическая диагностика, несомненно, относится к видам деятельности, потенциально опасным для жизни и здоровья людей, поскольку ошибки в ней могут приводить к непоправимым фатальным последствиям. Такие виды деятельности всегда должны жестко регламентироваться и быть объектом системы мероприятий по контролю качества и предотвращению ошибок. Отсутствие системы контроля качества в патологической анатомии, система лицензирования патологоанатомических учреждений, в которой не предусмотрен регулярный внешний независимый контроль качества основного вида профессиональной деятельности, полное отсутствие современной нормативной базы (в том числе нормативов оплаты труда) для биопсийной работы привели к серьезному отставанию патоморфологии в ряду кли-

Перечень кодов по МКБ-10 заболеваний, предусмотренных статьей 56.2 Федерального закона от 19 декабря 2006 г. №238-ФЗ

Название заболевания	Название заболевания по МКБ-10	Код по МКБ-10
1. Миелолейкоз	Злокачественные новообразования лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей (миелолейкоз и другие гемобласты):	(C81—C96)
	— хронический миелоидный лейкоз	C 92.1
	— макроглобулинемия Вальденстрема	C 88.0
	— множественная миелома	C 90.0
	— фолликулярная (нодулярная) неходжкинская лимфома	C 82
	— мелкоклеточная (диффузная) неходжкинская лимфома	C 83.0
	— мелкоклеточная с расщепленными ядрами (диффузная)	C 83.1
	— неходжкинская лимфома	
	— крупноклеточная (диффузная) неходжкинская лимфома	C 83.3
	— иммунобластная (диффузная) неходжкинская лимфома	C 83.4
	— другие типы диффузных неходжкинских лимфом	C 83.8
	— диффузная неходжкинская лимфома неуточненная	C 83.9
	— периферические и кожные Т-клеточные лимфомы	C 84
	— другие неуточненные Т-клеточные лимфомы	C 84.5
	— другие и неуточненные типы неходжкинской лимфомы	C 85
	— хронический лимфоцитарный лейкоз	C 91.1

нических специальностей. Это отставание особенно заметно в методическом и технологическом направлениях. Специальная подготовка врача-патологоанатома в лучшем случае ограничивается клинической ординатурой (2 года; интернатуры по специальности нет), этого времени не хватает для изучения патогистологической техники, и врачи оказываются беспомощными перед проблемой низкого качества гистологических препаратов. Большинство патогистологических лабораторий оснащено устаревшим и изношенным оборудованием. Необъяснимым остается противоречие между общей тенденцией оснастить медицинские учреждения самой современной диагностической техникой и почти полным материально-техническим забвением клинической патоморфологии — одного из основных диагностических направлений. ИГХ-исследования биопсийного материала проводятся в немногочисленных лабораториях, а молекулярно-генетические исследования единичны в масштабах потребностей здравоохранения страны. И это несмотря на то, что диагноз многих опухолей в принципе невозможен без проведения ИГХ- и молекулярно-генетических исследований, в первую очередь и в наибольшей степени это касается опухолей системы крови. Еще один парадокс состоит в том, что некоторые очень дорогостоящие препараты сегодня доступны пациентам с онкогематологическими заболеваниями за счет средств государственного бюджета, но на исследование этих препаратов, денег в бюджете нет. Важно отметить, что финансирование диагностики (стоимость теста составляет примерно 1–2% от стоимости соответствующего

препарата) само по себе ничего не решает, поскольку в результате общего технологического отставания и отсутствия системы контроля качества в патоморфологии ИГХ- и молекулярно-генетические исследования не могут соответствовать принятым критериям достоверности.

Для того чтобы обеспечить диагностические потребности онкогематологии, было бы целесообразно в каждом крупном административно-территориальном объединении (например, федеральном округе РФ) на базе действующих лабораторий силами специалистов, имеющих достаточный опыт, организовать 1–2 полнофункциональных центра молекулярной патологии, которые должны проводить необходимую (см. Классификацию ВОЗ опухолей кроветворной и лимфоидной тканей) диагностическую работу за счет бюджетного финансирования, обеспечить методическое руководство повышением квалификации врачей и лаборантов в области ИГХ- и молекулярно-генетической диагностики, организовать систему контроля качества прижизненной морфологической диагностики, неразрывно связанную с лицензированием медицинских учреждений. Перечисленные задачи не исчерпывают все возможности окружных центров молекулярной патологии (условно назовем их так). Но даже эти задачи показывают, что создание таких диагностических лабораторий требует значительных первоначальных административных усилий, финансовых вложений и подготовленной нормативной базы.

Такими оказались впечатления от анонса в Лугано 4-го издания Классификации ВОЗ опухолей кроветворной и лимфоидной ткани.

ОБЗОР РАБОТ, ПОСВЯЩЕННЫХ В-КЛЕТОЧНОМУ ХРОНИЧЕСКОМУ ЛИМФОЛЕЙКОЗУ, ПРЕДСТАВЛЕННЫХ НА КОНФЕРЕНЦИИ В ЛУГАНО

Е.А. Никитин

Гематологический научный центр РАМН, Москва

КАК НАСЛЕДУЕТСЯ В-КЛЕТОЧНЫЙ ХРОНИЧЕСКИЙ ЛИМФОЛЕЙКОЗ?

По данным эпидемиологических исследований, у родственников больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом (В-ХЛЛ) риск развития лимфопролиферативных заболеваний приблизительно в 10 раз выше, чем в общей популяции. Известно, что для В-ХЛЛ характерен так называемый феномен ожидания, заключающийся в том, что в следующем поколении заболевание возникает раньше и протекает тяжелее. Генетические основы наследуемости В-ХЛЛ практически неизвестны. Учитывая невысокий риск развития В-ХЛЛ у родственников заболевшего, можно предполагать, что в развитии заболевания имеют значение определенные аллели многих генов, регулирующих апоптоз, передачу сигнала от цитокиновых рецепторов, от В-клеточного рецептора. Эта гипотеза объясняет низкую пенетрантность заболевания. Испанской группой (А. Enjuanes и соавт. [1]) проведено исследование 768 точечных полиморфизмов (single nucleotide polymorphisms, SNP) в 689 случаях В-ХЛЛ и у 723 здоровых лиц в Северной Испании. Авторы изучали точечные полимор-

физмы (несинонимные), которые сопровождаются аминокислотной заменой в генах, тем или иным образом связанных с биологией опухолей. Анализ проводился с помощью новой технологии Illumina. Обнаружена устойчивая ассоциация В-ХЛЛ с точечными полиморфизмами генов *CCNH*, *APAF1* (известный регулятор апоптоза), *IL16*, *CASP8*, *NOS2A* и *CCR7*. Все эти гены связаны с апоптозом и иммунорегуляцией. Тема, безусловно, находится на самых ранних этапах своего изучения. Однако уже можно сказать, что наследственная предрасположенность к В-ХЛЛ носит комплексный характер. Одного универсального гена, вероятнее всего, нет. Сочетание определенных аллелей генов, актуальных в жизнедеятельности лимфоцитов, предопределяет более высокий риск развития В-ХЛЛ.

МОНОКЛОНАЛЬНЫЙ В-КЛЕТОЧНЫЙ ЛИМФОЦИТОЗ — ПРЕДРАК?

В последние годы в связи с возможностью достижения полных ремиссий В-ХЛЛ и разработкой методов мониторинга минимальной остаточной болезни появилось новое понятие моноклональный В-клеточный лимфоцитоз (МБКЛ). Он определяется по факту наличия клональной популяции клеток с фенотипом В-ХЛЛ при им-

мунофенотипировании. Лимфоцитоза в периферической крови при этом нет. Эта тема широко обсуждалась на X и XI рабочих конференциях по В-ХЛЛ. По результатам первых работ предполагалось, что МБКЛ отражает состояние предрасположенности В-ХЛЛ, в какой-то степени предстadium варианта В-ХЛЛ с мутациями варибельного региона. Эта гипотеза выдвигалась на основании нескольких фактов. Во-первых, гены варибельного региона в клонах МБКЛ практически всегда содержат мутации. Во-вторых, частота выявления МБКЛ возрастает с возрастом (10% у лиц старше 70 лет). Кроме того, МБКЛ в 10 раз чаще выявляется у родственников больных В-ХЛЛ. Наконец, в части случаев МБКЛ обнаруживается делеция 13q — типичный маркер варианта В-ХЛЛ с мутациями варибельного региона.

Интересная работа на эту тему представлена итальянской группой. P. Ghia и соавт. [2] выявили 47 лиц с МБКЛ и провели анализ генов иммуноглобулинов этих клонов. Полученные последовательности VH-D-JH регионов сравнили с репрезентативной выборкой последовательностей, выявленных у больных В-ХЛЛ. Репертуар использования VH-генов у больных МБКЛ и В-ХЛЛ не совпадает. В частности, при МБКЛ преобладают гены *VH4-59* и *VH4-61*, которые нечасто экспрессируются при В-ХЛЛ. Напротив, наиболее характерные для В-ХЛЛ гены, такие как *VH1-69* и *VH4-34*, при МБКЛ не использовались. Детальный анализ последовательностей позволил обнаружить так называемые стереотипные рецепторы В-ХЛЛ только в 2 случаях МБКЛ из 47. Под стереотипными антигенными рецепторами понимают VH- и VL-последовательности, которые дают практически идентичную конфигурацию антигенсвязывающих участков антител. Примерно у половины больных В-ХЛЛ опухолевые клоны имеют стереотипные, т.е. специфичные к одному антигену (или группе антигенов), рецепторы.

Эти данные заставляют существенно переосмыслить сценарий развития В-ХЛЛ. Патогенетическая гипотеза, по которой у многих лиц с возрастом появляется МБКЛ и в результате случайной трансформации и приобретения дополнительных генетических нарушений развивается В-ХЛЛ, неверна. Работа группы P. Ghia не отрицает возникновения В-ХЛЛ из МБКЛ. Она показывает, что этот переход происходит не случайно, что в его возникновении участвует антигенная селекция. В В-ХЛЛ превращаются только определенные клоны, селективируемые не временем, а антигеном. Авторы также обращают внимание на то, что МБКЛ в общей популяции выявляется в 100 раз чаще, чем В-ХЛЛ, а появление у пожилых лиц небольших клонов отражает нормальный процесс старения иммунной системы.

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Наиболее важными маркерами прогноза В-ХЛЛ являются мутационный статус генов варибельного региона иммуноглобулинов (далее IgVH), использование гена *VH3-21*, а также цитогенетические aberrации del11q22-q23 (11q-), del17p13 (17p-). По влиянию на прогноз эти маркеры распределяются следующим образом:

- 1) 17p- — наихудший прогноз;
- 2) 11q-, вариант без мутаций IgVH, *VH3-21* — промежуточный прогноз;
- 3) вариант с мутациями IgVH — наилучший прогноз.

Прогностическая модель с использованием именно этой генетической классификации В-ХЛЛ уже применяется для стратификации больных в исследованиях ан-

глийской группы по изучению В-ХЛЛ, а также частично в работе немецкой группы.

Оценка прогноза с помощью этих маркеров предусматривает наличие молекулярной и цитогенетической лабораторий. На сегодняшний день в практической медицине это малодоступно, в том числе в Европе и в США. Получение эквивалентной информации с помощью одного метода, например иммунофенотипирования или полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени, теоретически могло бы сделать общедоступной новую генетическую классификацию В-ХЛЛ.

В последнее десятилетие было предложено множество суррогатных маркеров мутационного статуса и цитогенетических aberrаций, которые можно было бы исследовать в едином формате. Именно так были найдены CD38, *ZAP-70*, *LPL* и другие маркеры, которые можно определять с помощью иммунофенотипирования. В совместном исследовании, проведенном в Хейдельбергском (Германия) и Колумбийском (США) университетах с помощью ПЦР в реальном времени, была исследована экспрессия 18 генов (*ADAM29*, *ATM*, *CLLU1*, *DMD*, *GLO1*, *HCSL1*, *KIAA0977*, *LPL*, *MGC9913*, *PCDH9*, *PEG10*, *SEPT10*, *TCF7*, *TCL1*, *TP53*, *VIM*, *ZAP-70*, *ZNF2*) на предмет выявления наилучших суррогатных маркеров, которые предсказывали бы прогноз так же эффективно, как цитогенетика и анализ варибельного региона. Данное исследование — далеко не первое, однако в нем собрана большая выборка больных, для которых доступны цитогенетика, метод флюоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) и мутационный статус, т.е. возможно проведение корреляции новых маркеров со старыми, классическими. Исследование подтвердило множество уже известных фактов. В частности, мутационный статус лучше всего предсказывается по экспрессии *LPL* и *ZAP-70*, причем измеряемых не с помощью проточной цитофлуориметрии, а посредством метода ПЦР в реальном времени.

Однако попытка построить надежную генетическую классификацию на основании измерения уровня мРНК генов методом ПЦР в реальном времени не увенчалась успехом. Варианты В-ХЛЛ с мутациями варибельного региона и без них хорошо дискриминируются по мутационному статусу. В то же время в пределах варианта без мутаций надежно отличить пациентов с del17p/11q от больных, не имеющих этих aberrаций, не удается — неверно классифицированных больных слишком много. Авторы сделали вывод, что суррогатные маркеры пока не позволяют подменить подлинные. Тем сложнее сегодня работать с В-ХЛЛ [3].

FISH является основой цитогенетической стратификации больных В-ХЛЛ на прогностические группы. Классическая метафазная цитогенетика при В-ХЛЛ не позволяет выявить большинство цитогенетических aberrаций, поскольку клетки В-ХЛЛ плохо делятся в культуре. Именно поэтому в свое время (1978 г.) F. Mittelman назвал В-ХЛЛ «золушкой» на фоне других опухолей кроветворной системы. Вместе с тем в последние годы существенно выросли возможности культивирования клеток В-ХЛЛ, благодаря чему данные по стандартной цитогенетике В-ХЛЛ значительно обогатились. Безусловными лидерами в этой области являются немецкие исследователи. В очередной работе [4] ими приведен анализ цитогенетических данных на большой выборке больных ($n=506$). Культивация клеток В-ХЛЛ осуществлялась с использова-

нием иммуностимулирующего CpG-олигонуклеотида DSP30 и интерлейкина-2. В этих условиях метафазы зафиксированы у 98,8% больных, а цитогенетические aberrации выявлены в 83% случаев. Авторы приводят несколько интересных находок. Во-первых, случаи с делецией 13q гетерогенны и могут быть подразделены на 3 группы:

- 1) del(13q) как единственная аномалия;
- 2) del(13q) с дополнительными нарушениями;
- 3) del(13q), обусловленная реципрокной транслокацией.

Эта генетическая гетерогенность может объяснять различия в прогнозе.

Комплексный кариотип был обнаружен у 16,4% больных, как правило, без мутаций IgVH. В большинстве случаев с делецией TP53 выявляются дополнительные цитогенетические aberrации (в среднем 5 по сравнению с 1,5 у пациентов без делеции TP53).

Авторами идентифицирована особая группа больных с приобретением дополнительного хромосомного материала в районе 2p. Это нарушение имеет место в 2,7% случаев. Анализ генетического профиля экспрессии показал, что в этих случаях выявляется усиленная экспрессия целого ряда генов, участвующих в репарации ДНК и негативной регуляции апоптоза. Возможно, что приобретение дополнительного хромосомного материала на коротком плече 2-й хромосомы идентифицирует особую группу больных В-ХЛЛ.

Безусловно, детальная характеристика цитогенетических нарушений будет способствовать более точной генетической классификации В-ХЛЛ.

АНАЛИЗ СООТНОШЕНИЯ СВОБОДНЫХ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ

Совершенно новой темой в области прогностических маркеров В-ХЛЛ является исследование соотношения свободных легких цепей иммуноглобулинов, выявляемых с помощью специальных антител. Антитела можно получать к разным эпитомам легких цепей. Некоторые будут обнаруживать легкие цепи как в свободном состоянии, так и в составе молекулы иммуноглобулина. Другие направлены против скрытых эпитопов и поэтому выявляют только свободные легкие цепи. Определяемое в сыворотке или чаще в моче соотношение свободных легких цепей — чрезвычайно чувствительный показатель наличия моноклональной популяции клеток. Оценка соотношения легких цепей является давно и надежно зарекомендовавшим себя методом в диагностике несекретирующей миеломы и первичного амилоидоза. Установлено, что соотношение свободных легких цепей имеет прогностическое значение при моноклональной гаммапатии неясного значения, плазмоцитоме, миеломе, макроглобулинемии Вальденстрема и амилоидозе. Что касается В-ХЛЛ, то до последнего времени была опубликована всего одна работа, в которой проведен анализ данных 18 больных. На конференции в Лугано были представлены 2 новых больших исследования. Группой из Великобритании [5] показано, что соотношение свободных легких цепей в моче имеет независимое прогностическое значение при В-ХЛЛ, не уступающее другим маркерам: в многовариантном анализе имели значение мутационный статус, ZAP-70, β_2 -микроглобулин и аномальное соотношение свободных легких цепей (в исследование включены 226 больных). Группой авторов из Португалии [6] также выявлено прогностическое значение аномального соотношения легких цепей. Преобладание κ - или λ -цепи хуже,

чем их нормальное соотношение; преобладание λ -цепи хуже, чем преобладание κ -цепи. Эти результаты должны быть подтверждены в проспективных исследованиях.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОГНОЗА

В 80-х годах проф. E. Montserrat предложил для оценки прогноза В-ХЛЛ время удвоения числа лимфоцитов в крови. Группой из Бельгии [7] предлагается новый показатель — время удвоения растворимого CD23 в сыворотке. Ранее было показано, что уровень растворимой формы CD23 коррелирует со стадией, прогнозом и общей выживаемостью (ОВ) больных В-ХЛЛ. В проспективное исследование вошли 56 больных со стадией А и средним сроком наблюдения 64 (разброс 6—176) мес. У больных со временем удвоения sCD23 менее года время до терапии и ОВ составили 20 и 83 мес соответственно. В группе больных со временем удвоения sCD23 >12 мес медианы времени до терапии и ОВ были 141 и 177 мес ($p < 0,0001$). Едва ли этот показатель найдет широкое применение в медицине, поскольку время удвоения лимфоцитов — мощный клинический предиктор прогноза. Работа вызывает интерес в основном в связи с появлением нового моноклонального антитела (люмиликсимаб), направленного против CD23.

CD31 — физиологический лиганд CD38. Экспрессия CD38 имеет прогностическое значение при В-ХЛЛ. T. Mainou-Fowler и соавт. [8] продемонстрировали, что плотность экспрессии CD31 на клетках В-ХЛЛ обратно коррелирует с экспрессией CD38. Авторы исследовали кровь 102 больных В-ХЛЛ, прослеженных на больших сроках, и нашли, что выживаемость пациентов с низкой экспрессией CD31 была значительно хуже. Таким образом, взаимодействие между CD31 и CD38 может иметь клиническое значение и требует дальнейшего изучения.

ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ ТЕРАПИИ В-ХЛЛ

Терапия 1-й линии

Испанской группой GELLC (Grupo Español de leucemia linfática crónica) [9] представлены промежуточные результаты использования комбинации FMCR (флударабин, митоксантрон, циклофосфан, ритуксимаб) с последующей поддерживающей терапией ритуксимабом у первичных больных В-ХЛЛ. Критерием включения больных было наличие показаний к терапии при адекватном соматическом статусе. Комбинация FMCR вводи-лась в стандартном режиме; доза ритуксимаба — 500 мг/м² в день, доза митоксантрона — 6 мг/м². По завершении запланированных 6 циклов пациенты, достигшие полной (ПР) или частичной (ЧР) ремиссии, получали поддерживающую терапию ритуксимабом в дозе 375 мг/м² каждые 3 мес на протяжении 2 лет. Анализ доступны первые 47 больных из 85 включенных, которые завершили терапию. Все 6 циклов в запланированных дозах получили 91% пациентов. ПР достигнута у 74% больных, ЧР — у 13%. Среди пациентов с ПР у половины отмечена эрадикация минимальной остаточной болезни. Нейтропения III—IV степени тяжести развилась всего у 12% больных. Результаты поддерживающей фазы пока не обсуждаются. Безусловно, это исследование характеризуется интенсивной селекцией, поскольку ни в одном из опубликованных до сих пор больших рандомизированных исследований по режиму FC (флударабин, циклофосфан) частота нейтропении III—IV степени не была <40%. По данным M. Keating, режим FCR (FC + ритуксимаб) у первичных больных В-ХЛЛ вызывает глубокую нейтропению

в 50% циклов. Каким образом авторам удалось провести FMCR при частоте нейтропении 12%, остается загадкой.

Преимущество добавления митоксантрона к режиму FCR неочевидно. Режим FCR позволяет достигнуть 70% ПР у первичных пациентов, причем этот результат получен на выборке больных, которая не была так сильно отселектирована. Вообще тема использования антрациклинов в 1-й линии терапии В-ХЛЛ исследуется около 40 лет, и еще никем не было показано, что это дает какое-либо преимущество в выживаемости.

Лечение рецидивов

Бендамустин (в Америке препарат называется Тренанда) — дериват мехлоретамина, сочетающий в себе свойства алкилирующих препаратов и антиметаболитов. В структуре бендамустина имеются алкилирующая группировка, а также бензимидазольное кольцо, которое может действовать подобно аналогам пуринов. Точный механизм противоопухолевого действия препарата неизвестен, но главной его составляющей является алкилирующий эффект. Бендамустин алкилирует и образует перекрестные сшивки между макромолекулами, что приводит к подавлению синтеза ДНК, РНК и белка и, в конце концов, к апоптозу. В отличие от других алкилирующих препаратов бендамустин менее подвержен лекарственной резистентности. На конференции представлены результаты первого промежуточного анализа сравнительного рандомизированного исследования бендамустина и флударабина у больных с рецидивами В-ХЛЛ [10]. Никто из пациентов ранее не получал флударабин, допускалось только применение лейкерана. Бендамустин вводили в режиме 100 мг/м² в 1-й и 2-й дни, флударабин — в обычном 5-дневном формате. Всего проанализированы данные 89 больных: 46 из них принимали бендамустин, 43 — флудару. В группах бендамустина и флударабина общий ответ составил 78 и 65%, число клинических ПР — 29 и 10% соответственно. Гематологическая токсичность была незначительно выше в группе бендамустина. Эти данные, безусловно, носят предварительный характер, но вполне возможно, что в терапии В-ХЛЛ впервые является альтернатива флударабину, сопоставимая по эффективности с режимом FC.

FC-Cam

Немецкой группой (Т. Elter и соавт. [11]) приведены первые результаты исследования эффективности и токсичности режима FC-Cam (FC + кэмпас) у больных с рецидивами и рефрактерными формами В-ХЛЛ (протокол CLL2L). FC-Cam проводили в следующем формате: флударабин — 25 мг/м² внутривенно (в/в), циклофосфан — 200 мг/м² в/в, кэмпас — 30 мг подкожно (п/к); все препараты вводили с 1-го по 3-й дни. Включение больных в исследование, судя по всему, идет медленно: на данном этапе включены только 39 больных из запланированных 61. Проанализированы данные 20 пациентов, из которых 11 ранее получали FC, 1 — FCR, 8 — флударабин. 14 больных смогли пройти по крайней мере 4 цикла терапии. Из осложнений чаще всего наблюдались нейтропения и тромбоцитопения. Из инфекционных осложнений зафиксировано 2 случая реактивации развития цитомегаловирусной, 1 — герпетической инфекции, 12 — лихорадки неясного генеза. Общий ответ на лечение составил 70%, у 5 (25%) больных получена ПР. Прогрессия на фоне лечения наблюдалась у 2 пациентов. 25% ПР для больных с рефрактерностью и рецидивом — довольно неплохой результат,

однако авторы не сообщают, у скольких пациентов имелась рефрактерность к флударабину. Отмечено, что у больных, ранее принимавших флударабин, общий ответ был лучше (88%), чем у пациентов, получавших FC (65%).

Люмиликсимаб

Новое моноклональное антитело — люмиликсимаб (анти-CD23) испытывается в сочетании с режимом FCR (L+FCR) в ситуации рецидива в многоцентровом американском исследовании [12]. Ранее было установлено, что монотерапия люмиликсимабом (1 введение в неделю) хорошо переносится и обладает некоторой активностью при В-ХЛЛ.

К сроку публикации для анализа были доступны данные 31 больного. Люмиликсимаб вводился в дозе либо 375 мг/м² (n=3), либо 500 мг/м² (n=28); FCR — в стандартных дозах. Общий ответ на лечение составил 65%, ПР было 52%, ЧР 13%. Медиана выживаемости всей группы пациентов составила 19,3 (1,5—37,6) мес. Токсические осложнения III—IV степени тяжести наблюдались у 74% больных.

ПР были достигнуты также у больных с делецией 11q22. Режим L+FCR был эффективен вне зависимости от степени экспрессии CD38, ZAP-70, а также экспрессии CD55 и CD59 молекул, которые определяют устойчивость к системе комплемента (экспрессия CD59 — мощный фактор, характеризующий резистентность к ритуксимабу).

Проблема использования CD23 как мишени в том, что эта молекула активно секретируется клетками В-ХЛЛ. В свое время было опубликовано несколько работ по прогностическому значению растворимой формы CD23 (на данной конференции предложен новый прогностический показатель — время удвоения sCD23). Люмиликсимаб может связываться с растворимой формой CD23 и не достигать мишени — клеток В-ХЛЛ. В связи с этим в рамках данного исследования проводилась оценка связывания люмиликсимаба с поверхностными рецепторами CD23 с помощью полуколичественной проточной цитофлуориметрии. Показано, что связывание происходит и существенно не зависит от уровня CD23 в сыворотке.

С учетом довольно перспективных результатов исследования режима L+FCR в настоящее время проводится международное многоцентровое исследование LUCID, сравнивающее FCR и L+FCR, в том числе и в России [12—14].

Исследования новых препаратов *in vitro*

Вальпроевая кислота — широко применяемое противосудорожное средство (депакин). Недавно было обнаружено, что это соединение действует как ингибитор гистоновой деацетилазы. Авторы из Бельгии [15] в исследованиях *in vitro* выявили, что вальпроевая кислота в терапевтических концентрациях вызывает апоптоз и подавляет пролиферацию клеток В-ХЛЛ, а также значительно усиливает цитотоксическое действие флударабина, бортезомиба и флавопиридола в отношении клеток В-ХЛЛ. Комбинация вальпроевой кислоты со стандартными режимами потенциально может применяться в лечении В-ХЛЛ.

Аутологичная трансплантация

Группой GEL/TAMO (Испания) представлено ретроспективное исследование по высокодозной терапии (ВДТ) и аутологичной трансплантации у 72 больных с лимфомой из малых лимфоцитов (аналог В-ХЛЛ), наблюдавшихся в клиниках Испании в период с 1989 по 2006 г. [16]. 15 пациентам проведена трансплантация

стволовых клеток костного мозга, 57 — периферической крови. Группа больных была довольно разнородна по возрасту (27—68 лет) и клиническим показателям. Существенно, что перед процедурой 51% больных находился в ремиссии (36% — в 1-й, 15% — во 2-й). У 49% пациентов ремиссии не было, однако во всех случаях имелась химиочувствительность. Для кондиционирования использовали преимущественно режим BEAM (51%). От токсических осложнений, связанных с процедурой, умер 1 пациент. После трансплантации ПР констатирована у 84%, ЧР — у 14% больных. При медиане срока наблюдения 45 мес рецидивы наблюдались у 21 (34,4%) пациента. Расчетная 10-летняя ОВ составляет 49%, безрецидивная выживаемость — 32%. Из 24 случаев смерти 17 больных умерли от прогрессии опухоли, 4 — от токсических осложнений, 3 — от вторичных опухолей. По мнению авторов, у определенных категорий больных выбором может быть проведение ВДТ и аутооттрансплантация костного мозга. Главный предиктор успеха, как и всегда, — наличие ремиссии перед процедурой.

Немиелоаблятивная аллогенная трансплантация

Немецкой группой [17] были представлены финальные результаты проспективного многоцентрового исследования CLL3X, посвященного немиелоаблятивной аллогенной трансплантации у больных В-ХЛЛ. В исследовании включались больные В-ХЛЛ моложе 65 лет с крайне неблагоприятным прогнозом, определяемым по рефрактерности к флударабину и рецидиву после аутооттрансплантации костного мозга. Все больные имели вариант без мутаций IgVH. Кондиционирование проводилось флударабином и циклофосфаном. На протяжении исследования многократно тестировалась минимальная остаточная болезнь (МОБ) методами аллель-специфичной ПЦР и иммунофенотипирования. В случае неполного химеризма или МОБ проводили инфузию донорских лимфоцитов. Всего за 6 лет включено 113 больных. 64% пациентов имели неблагоприятные цитогенетические нарушения del 11q22 (36%) и del 17p13 (28%), 55% были рефрактерны к флударабину. 40% больным проведена родственная и 60% — неродственная трансплантация; источник клеток авторами не указан. При наблюдении в течение 1—70 (медиана — 12) мес после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток частота рецидивов составила 36%, ОВ — 77%. Смертность от лечения в течение 2 лет — 9%. Данные по МОБ были доступны у 58 больных. Эрадикация МОБ достигнута у 37 пациентов, причем у 1 — через 27 мес после трансплантации костного мозга. Из 23 больных, у которых эрадикация МОБ достигнута в срок до 12 мес после процедуры, рецидив развился только у 1. Из прогностических факторов на финальный результат влиял только статус болезни (рецидив или резистентность), цитогенетические aberrации были несущественны. По мнению авторов, немиелоаблятивная аллогенная трансплантация в предлагаемом ими формате вполне безопасна и эффективна для данной категории больных.

Интересная работа, посвященная аутологичному иммунному ответу против онкофетального антигена, экспрессирующегося на клетках В-ХЛЛ, была представлена М. Zeis из Гамбурга [18]. Онкофетопротейны — это белки, которые экспрессируются только в эмбриональном периоде, а также в клетках некоторых опухолей. Наиболее известные онкофетальные антигены — α -фетопротейн, раковый эмбриональный антиген. Выявление

этих белков в сыворотке давно и широко используется в диагностике опухолей.

К таким белкам относится и незрелый ламининовый рецептор (immature laminin receptor protein — ILRP), ранее обозначавшийся как онкофетальный антиген (OFA). ILRP экспрессируется у плода, а также на клетках многих опухолей в мономерной форме. В постнатальном периоде в норме ламининовый рецептор существует в виде ацетилированного димера (зрелый ламининовый рецептор, mature LRP). В таком виде он не распознается иммунной системой. Мономерная, «незрелая» форма рецептора иммуногенна. М. Zeis исследовал наличие в сыворотке больных В-ХЛЛ антител к ILRP и обнаружил их у 23 (34,3%) из 67 пациентов. Антитела к ILRP вызывали лизис клеток В-ХЛЛ посредством комплемент- и антителозависимой цитотоксичности. Выживаемость больных, у которых выявлялись антитела к ILRP, была достоверно больше по сравнению с пациентами, у которых таких антител не было ($p=0,029$). Кроме того, авторы исследовали 11 больных, подвергшихся трансплантации аллогенного костного мозга. У 8 из них антитела к ILRP были выявлены в высоком титре, что свидетельствует о том, что реакция трансплантат против лейкоза отчасти основывается на иммунном ответе против незрелого ламининового рецептора. Таким образом, в части случаев В-ХЛЛ спонтанно происходит выработка опухолеспецифичного иммунного ответа, направленного против ламининового рецептора.

СИНДРОМ РИХТЕРА И ИНФЕКЦИЯ ЭПШТЕЙНА — БАРР

D. Rossi и соавт. [19] изучали признаки, которые предсказывают развитие синдрома Рихтера при В-ХЛЛ. Авторы ретроспективно проанализировали 185 больных В-ХЛЛ и диагностировали синдром Рихтера у 17 пациентов. Вообще частота выявления этого осложнения зависит от традиций клиники (выполнение биопсий лимфатических узлов — ЛУ у больных с В-ХЛЛ), а также от сроков наблюдения за больными. Частота выявления синдрома Рихтера, на наш взгляд, недооценивается потому, что трансформация нередко происходит в абдоминальных ЛУ. По данным D. Rossi, риск развития синдрома Рихтера в течение 10 лет составляет 16,2%. Естественно, что с этим риском ассоциировалось большинство общеизвестных прогностических факторов. Однако наиболее сильная ассоциация была выявлена для 3 признаков: с использованием гена *VH4-39* клетками опухолевого клона, отсутствием делеции 13q14, а также с размерами ЛУ в дебюте >3 см.

Ни один случай в исследовании D. Rossi не был ассоциирован с инфекцией Эпштейна — Барр (EBV). По этому поводу существует множество противоречивых данных. В ряде работ, опубликованных к настоящему времени, предполагается, что реактивация вируса Эпштейна — Барр или первичная инфекция, обусловленная этим вирусом, могут озлокачивать течение В-ХЛЛ и приводить к синдрому Рихтера.

Одна из работ на эту тему была представлена на конференции в Лугано. Группа исследователей из Дании [20] изучала реактивацию вируса Эпштейна — Барр методом ПЦР в реальном времени в сыворотке больных В-ХЛЛ. Всего за 2 года в проспективном исследовании ими было идентифицировано 11 пациентов, у которых ДНК EBV выявлялась в высоком титре. У всех больных имелись факторы неблагоприятного прогноза — вариант без мутаций IgVH, неблагоприятные цитогенетические aberrации. У 9 пациентов отмечалась рефрактерность

к флударабину. У 6 больных реактивация развилась после терапии кэмпасом, у 4 она была выявлена еще до его назначения и у 1 — до начала какой бы то ни было терапии. Клинические проявления этой реактивации были разнообразны: лихорадка неясного генеза, гемофагоцитарный синдром, атипичная В-клеточная лимфопролиферация. У 4 больных с низким уровнем реактивации (<2500 копий ДНК/мл) либо не было клинических проявлений, либо наблюдалась лихорадка неясного генеза, у 1 пациента зафиксирована пневмония. У 3 больных с промежуточным уровнем реактивации в клинике наблюдались лихорадка и лимфаденопатия. Наконец, из 4 пациентов с очень высокой концентрацией EBV (45,000—3,700,000

копий/мл) у 1 был гемофагоцитарный синдром, у 3 — атипичные лимфопролиферативные синдромы. Интересно, что в 2 случаях атипичных синдромов были найдены клональные перестройки генов Ig, отличные от клона В-ХЛЛ. Таким образом, реактивация вируса Эпштейна — Барр, по-видимому, является следствием иммуносупрессии и может приводить к ряду осложнений. Из представленных данных не очевидно, что EBV как-то влияет на опухолевый клон В-ХЛЛ. Авторы сделали практический вывод о том, что реактивация EBV, определяемая методом ПЦР в реальном времени в сыворотке, должна рассматриваться как одна из причин развития лихорадки неясного генеза у больных В-ХЛЛ.

Л и т е р а т у р а

- Enjuanes A., Benavente Y., Bosch F. et al. Polymorphisms in apoptosis and immunoregulatory related genes are associated with an increased risk of chronic lymphocytic leukemia (CLL). Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 21.
- Ghia P., Dagklis A., Fazi C. et al. Striking differences in the Ig repertoire between CLL and MBL: implications for the pathogenesis of the disease. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 59.
- Kienle D., Benner A., Laeuffle C. et al. Quantitative gene expression analysis of surrogate markers for genetic risk groups and survival in CLL. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 23.
- Haferlach C., Dicker F., Schnittger S. et al. New insights into genetics of CLL based on chromosome banding analysis. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 373.
- Mead G., Harding S., Holder R. et al. Abnormal serum free light chain ratios are associated with poor survival in patients with chronic lymphocytic leukaemia. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 025.
- Perdigao C., Cabral M.J., Costa N. et al. Prognosis factors in CLL: is serum free light chain ratio a new biological marker? Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 410.
- Meuleman N., Stamatopoulos B., Azerad M. et al. Doubling time of soluble CD23 (sCD23DT): a powerful independent prognostic factor for stage a untreated chronic lymphocytic leukemia patients (CLL). Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 22.
- Mainou-Fowler T., Porteous A., Nicolle A. et al. CD31 density is a new risk factor for patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 370.
- Bosch F., Muntanola A., Villamor N. et al. Interim results of the combination rituximab, fludarabine, cyclophosphamide and mitoxantrone (R-FCM) followed by rituximab maintenance in previously untreated chronic lymphocytic leukemia (CLL). Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 377.
- Niederle N., Balleisen L., Heit W. et al. Bendamustine vs. Fludarabine as second-line treatment for patients with chronic lymphocytic leukemia - first interim results of a randomized study. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 379.
- Elter T., James R., Wendtner C.M. et al. Treatment of patients with relapsed/refractory CLL using a combination of fludarabine, cyclophosphamide and alemtuzumab: first safety analysis of the CLL2L trial of the German CLL study group. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 378.
- Byrd J., Castro J., Flinn I. et al. Lumiliximab in combination with FCR for the treatment of relapsed chronic lymphocytic leukemia (CLL): results from a phase I/II multicenter study. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 145.
- Pathan N., Estrellado A., Ranuio-Kelley J. et al. Clinical activity of lumiliximab in combination with FCR is independent of ZAP 70 expression on chronic lymphocytic leukemia cells. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 415.
- Tangri S., Estrellado A., Byrd J. et al. Immunophenotypic characterization of peripheral blood cells from relapsed chronic lymphocytic leukemia patients treated with lumiliximab in combination with FCR. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 414.
- Stamatopoulos B., Meuleman N., Martiat P. et al. The histone deacetylase inhibitor valproic acid increases chemosensitivity to several drugs, induces apoptosis, and can inhibit proliferation of chronic lymphocytic leukemia cells. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 381.
- Oliveira A., Leon A., Varela R. et al. Autologous stem cell transplantation (ASCT) in 72 patients with small lymphocytic lymphoma (SLL): the Spanish experience. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 383.
- Dreger P., Stilgenbauer S., Boettcher S. et al. A prospective multicenter trial on nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation (NST) for poor-risk chronic lymphocytic leukemia (CLL): FINAL results of the GCLLSG CLL3X study. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 60.
- Zeis M. Humoral immune responses against the immature laminin receptor protein show prognostic significance in patients with chronic lymphocytic leukemia. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 411.
- Rossi D., Capello D., Cerri M. et al. Molecular and clinical prediction of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) arising in the context of chronic lymphocytic leukemia (CLL). Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 375.
- Rath J.C., Geisler C., Christiansen C.B. et al. Epstein-Barr virus reactivation is a potentially fatal complication in CLL patients with poor prognostic biological markers and fludarabine refractory disease. Abstract book of the 10th International Conference on Malignant Lymphoma, Lugano, Switzerland, 2008. Abstr 382.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОЛЕЙКОЗА ИНГИБИТОРАМИ ТИРОЗИНКИНАЗ

С.И. Куцев, М.В. Вельченко, А.Н. Зельцер

Ростовский государственный медицинский университет

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, экспрессия гена *BCR-ABL*, мутации киназного домена гена *BCR-ABL*, ингибиторы тирозинкиназ

Успешное лечение пациентов с хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ) невозможно без соответствующего мониторинга эффективности проводимой терапии. Это положение стало особенно очевидным со времени внедрения в клиническую практику первого препарата группы ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) — иматиниба мезилата (Гливек, «Novartis Pharma»). В настоящее время прошли клинические испытания и зарегистрированы для лечения ХМЛ ИТК второго поколения — нилотиниб (Тасигна, «Novartis Pharma») и дазатиниб (Спрайсел, «Bristol-Mayers Squibb»). Во II и III фазах клинических испытаний находятся новые лекарственные вещества уже третьего поколения ИТК. Широкий диапазон доступных в настоящее время возможностей терапии ХМЛ требует унифицированной системы мониторинга эффективности его лечения для своевременного выбора оптимального и потенциально эффективного подхода к терапии ХМЛ в каждом конкретном случае.

Молекулярный мониторинг уровня *BCR-ABL* транскрипта при помощи количественной полимеразной цепной

реакции (ПЦР) в реальном времени все чаще используется в качестве метода оценки ответа на лечение у пациентов с ХМЛ. Этот метод становится особенно важным в эру терапии ХМЛ ИТК, когда резидуальный уровень лейкозных клеток обычно ниже уровня чувствительности цитогенетического исследования. Наряду с оценкой экспрессии гена *BCR-ABL* возрастает роль мутационного анализа киназного домена этого гена, поскольку мутации в этом локусе гена *BCR-ABL* рассматриваются как одна из основных причин резистентности к терапии иматинибом у части пациентов с ХМЛ.

Целью исследования, результаты которого будут опубликованы в №4 нашего журнала, было изучение возможностей комплексного молекулярно-генетического подхода с использованием методов оценки экспрессии генов и мутационного анализа для диагностики и мониторинга пациентов с ХМЛ.

В работе представлены результаты молекулярных исследований крови и костного мозга 100 пациентов с Ph (+) ХМЛ, находившихся в хронической фазе заболевания. Полученные автора-

ми данные свидетельствуют о высокой корреляции результатов молекулярно-генетического (методом ПЦР в реальном времени) и цитогенетического исследований. Использование количественной ПЦР в реальном времени для диагностики и мониторинга терапии ХМЛ целесообразно как на стадии обнаружения Ph-хромосомы методами стандартной цитогенетики, так и на стадии полного цитогенетического ответа. Анализ мутаций кДНК киназного домена гена *BCR-ABL* у пациентов, резистентных к иматинибу, позволяет выявить клинически значимые мутации, обуславливающие эту резистентность, и рационализировать тактику лечения: повысить дозу иматиниба, перейти на терапию ИТК второго поколения, рекомендовать экспериментальную терапию, воспользоваться программой трансплантации костного мозга. Авторы заключают, что поскольку для мониторинга лечения больных ХМЛ и мутационного анализа у пациентов с резистентностью к иматинибу используются одни и те же образцы кДНК, эти исследования должны проводиться в одной лаборатории.

КИСЛЯК НАТАЛЬЯ СЕРГЕЕВНА (1926—2008)

24 августа не стало Натальи Сергеевны Кисляк — главного редактора журнала «Педиатрия им. Г.Н. Сперанского», доктора медицинских наук, профессора, члена-корреспондента РАМН. Наталья Сергеевна прожила наполненную событиями, яркую и красивую жизнь. Мы не скоро привыкнем к мысли, что ее уже никогда не будет рядом с нами...

Н.С. Кисляк родилась в Саратове 4 августа 1926 г. В 1949 г. она с отличием окончила Саратовский медицинский институт, после чего в течение 3 лет работала участковым педиатром. С 1952 г. вся дальнейшая профессиональная деятельность Н.С. Кисляк была связана с Москвой, II Московским медицинским



институтом им. Н.И. Пирогова, кафедрой факультетской педиатрии и Морозовской детской клинической больницей (ДКБ). Наталья Сергеевна прошла путь от ассистента до зав. кафедрой и была просто поглощена научной работой, но основным направлением ее научного поиска стали детская гематология и лейкозология, которым была посвящена ее докторская диссертация. В учение о лейкозах детского возраста ею были внесены фундаментальные знания: показана роль нарушений триптофанового обмена в развитии врожденного лейкоза, создана цитологическая классификация лейкоза, разработаны и внедрены методы иммунотерапии лейкоза у детей.

По инициативе Н.С. Кисляк в Морозовской ДКБ создано первое в СССР детское гематологическое отделение, начат амбулаторно-консультативный прием детей с заболеваниями крови. В 1966 г. Н.С. Кисляк становится зав. кафедрой факультетской педиатрии (ныне кафедра детских болезней №1) и создает при кафедре научно-исследовательскую лабораторию (НИЛ) детской гематологии. Ученики Натальи Сергеевны изучали и другие заболевания системы крови у детей: геморрагический васкулит, гемолитические анемии, тромбоцитопении, нейтропении. По сути, при непосредственном участии Н.С. Кисляк сформировалось новое направление педиатрии — гематология и лейкозология детского возраста, а кафедра стала родоначальником детской гематологии в нашей стране.

Н.С. Кисляк является автором более 400 научных работ, под ее руководством было защищено 72 диссертации, из них 14 докторских. В 1974 г. ее избирают членом-корреспондентом Академии медицинских наук СССР. Проведенные ею исследования в области детского лейкоза ложатся в основу создания монографий «Острый лейкоз у детей», «Клетки крови в норме и патологии» и «Атласа клеток крови в норме и при патологии у детей». Высоким признанием профессиональных заслуг Н.С. Кисляк стала академическая премия им. М.С. Маслова (1978) за выпущенные монографии «Клетки крови в норме и патологии», «Атлас клеток крови в норме и при патологии у детей».

В течение ряда лет Наталья Сергеевна была деканом педиатрического факультета, постоянно отстаивая позиции педиатрического образования и совершенствуя программу обучения по детским болезням. Ее яркие эмоциональные лекции, которым аплодировали студенты, ординаторы, практические врачи, ученые, вошли в историю педагогики высшей школы, поскольку являются примером неповторимого ораторского мастерства и логического построения мысли.

Продолжением научно-исследовательской работы кафедры в области детской онкогематологии стало создание НИИ детской гематологии МЗ РФ, директором которого стал ученик Н.С. Кисляк — член-корреспондент РАМН, проф. А.Г. Румянцев.

Часть сотрудников и выпускников кафедры вошли в состав НИИ детской онкологии и гематологии РАМН. За воспитание плеяды выдающихся деятелей педиатрии в 2003 г. Наталье Сергеевне было присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки РФ».

С 1966 по 1980 г. Н.С. Кисляк работала зам. министра здравоохранения РСФСР, где курировала вопросы помощи матерям и детям, проявляя при этом замечательные организаторские способности. Одновременно она являлась членом Европейской бюро ВОЗ по педиатрическому образованию, председателем Центральной методической комиссии по преподаванию педиатрии при Минздраве СССР, членом Комитета экспертов ВОЗ по охране материнства и детства и членом президиума Комитета советских женщин.

Государство и правительство высоко оценили многогранную деятельность ученого, педиатра, педагога и организатора здравоохранения Н.С. Кисляк, наградив ее многими орденами и медалями, в числе которых орден Трудового Красного Знамени.

С 1969 г. и до последних дней Наталья Сергеевна была бессменным главным редактором журнала «Педиатрия». Она свято чтит и хранила верность традициям старейшего в нашей стране педиатрического медицинского издания еще со времен совместной работы с первым главным редактором журнала — акад. Г.Н. Сперанским.

За многие десятилетия своей яркой и самоотверженной научно-педагогической деятельности она воспитала огромное число талантливых ученых, практических врачей-педиатров и организаторов детского здравоохранения, работающих во всех уголках нашей огромной страны.

Невозможно передать словами нашу скорбь, печаль, боль от безвозвратной потери...

Любовь к Вам, дорогая Наталья Сергеевна, навсегда останется в наших сердцах!

Ваши многочисленные ученики и последователи, сотрудники и коллеги кафедры детских болезней №1 РГМУ, Морозовской детской клинической больницы, члены редколлегии журнала «Педиатрия».

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: abv@abvpress.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 подрисовочными 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 подрисовочной 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.

ВНИМАНИЕ: ПОДПИСКА!

Журнал «Онкогематология» рассылается читателям бесплатно.

Анкета для бесплатной подписки представлена на сайте: www.netoncology.ru

Чтобы получать журнал, нужно либо заполнить анкету на сайте, либо передать ее в издательство по факсу: 8 (495) 252 96 19, e-mail: abv@abvpress.ru или по почте: 109443, Москва, а/я 35.

Можно также оформить платную подписку через каталоги:

«Почта России», подписной индекс — 12313, «Пресса России», подписной индекс — 42167.