

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

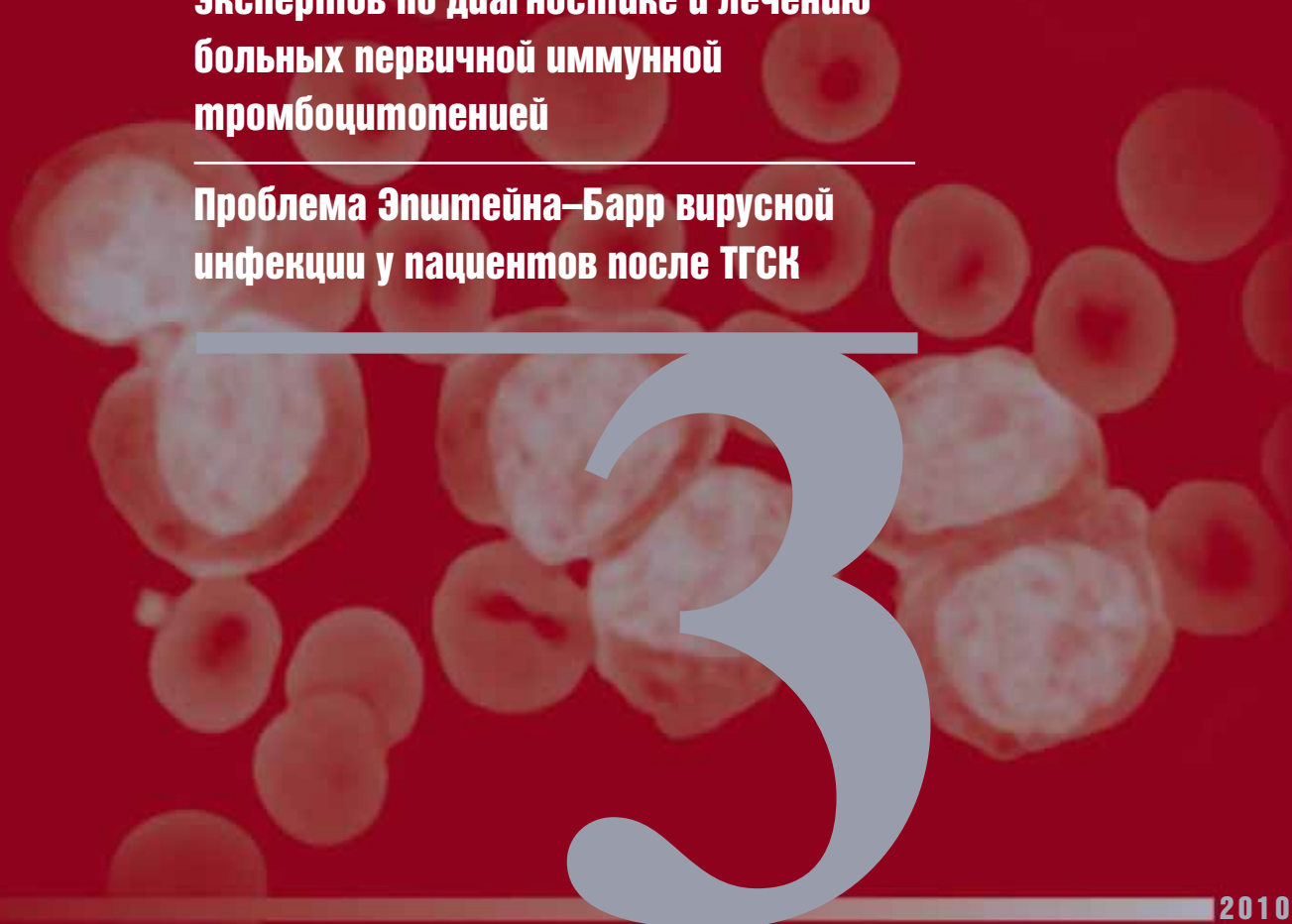
**Терапия гистиоцитоза из клеток
Лангерганса у детей**

**Лечение множественной миеломы
с литическими костными поражениями**

**Новый взгляд на лечение хронического
лимфоцитарного лейкоза**

**Рекомендации Российского Совета
экспертов по диагностике и лечению
больных первичной иммунной
тромбоцитопенией**

**Проблема Эпштейна–Барр вирусной
инфекции у пациентов после ТГСК**



3

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

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

ONCOHEMATOLOGY

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

проф., д.м.н. Е.В. Самочатова
Заместители главного редактора
д.м.н. В.В. Птушкин,
проф., д.м.н. Б.В. Афанасьев
Ответственный секретарь
к.м.н. Ю.В. Румянцева

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

проф., д.м.н. О.В. Алейникова (Минск)
проф., д.м.н. А.К. Голенков (Москва)
проф., д.м.н. А.И. Карачунский (Москва)
д.м.н. Е.Н. Паровичникова (Москва)
проф., д.м.н. Ю.А. Криволапов (С.-Петербург)
доц., д.м.н. М.Л. Минков (Австрия)
д.м.н. Н.В. Мякова (Москва)
к.м.н. Е.А. Никитин (Москва)
проф., д.м.н. О.А. Рукавицын (Москва)
проф., д.м.н. С.А. Румянцев (Москва)
д.м.н. Г.И. Сидорович (Москва)
к.м.н. Л.Г. Фечина (Екатеринбург)
д.м.н. А.Л. Усс (Минск)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

проф., д.м.н. Е.А. Лукина (Москва)
чл.-корр. РАМН И.В. Поддубная (Москва)
чл.-корр. РАМН А.Г. Румянцев (Москва)
к.м.н. В.А. Россиев (Самара)
проф., д.м.н. А.Г. Талалаев (Москва)

EDITOR-IN-CHIEF

Prof. Ye.V. Samochatova
Deputy Editor
D. Sci. V.V. Ptushkin,
Prof. B.V. Afanasiev
Executive Secretary
PhD Yu.V. Rumyantseva

EDITORIAL BOARD

Prof. O.V. Aleynikova (Minsk)
Prof. A.K. Golenkov (Moscow)
Prof. A.I. Karachunskiy (Moscow)
D. Sci. Ye.N. Parovichnikova (Moscow)
Prof. Yu.A. Krivolapov (St.-Petersburg)
D. Sci. M.L. Minkov (Austria)
D. Sci. N.V. Myakova (Moscow)
PhD Ye.A. Nikitin (Moscow)
Prof. O.A. Rukavitsyn (Moscow)
Prof. S.A. Rumyantsev (Moscow)
D. Sci. G.I. Sidorovich (Moscow)
PhD L.G. Fechina (Yekaterinburg)
D. Sci. A.L. Uss (Minsk)

EDITORIAL COUNCIL

Prof. Ye.A. Lukina (Moscow)
Prof. I.V. Poddubnaya (Moscow)
Prof. A.G. Rumyantsev (Moscow)
PhD V.A. Rossiyeu (Samara)
Prof. A.G. Talalayev (Moscow)

О с н о в а н в 2 0 0 5 г.

Адрес редакции:
Москва, Каширское шоссе, д. 24,
стр.15, НИИ канцерогенеза, 3-й этаж.
Тел./факс: +7 (499) 929-96-19
www.abvpress.ru
e-mail: abv@abvpress.ru

Заведующая редакцией Т.В. Клюковкина
Корректор Ю.А. Алексеева
Дизайн и верстка Е.В. Степанова
Служба подписки и распространения
В.Ю. Тимохина, +7 (499) 929-96-19,
baza@abvpress.ru

Служба рекламы
В.А. Клюковкин, +7 (499) 929-96-19,
gm@abvpress.ru

Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи, информационных технологий
и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
ПИ № ФС77-36928 от 21 июля 2009 г.

При полной или частичной перепечатке
материалов ссылка на журнал
«Онкогематология» обязательна.

Редакция не несет ответственности
за содержание публикуемых
рекламных материалов.

В статьях представлена точка
зрения авторов, которая может
не совпадать с мнением редакции.

ISSN 1818-8346
Онкогематология. 2010. №3. 1—72
© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2010

Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» — 42167

Отпечатано в типографии
ООО «Графика»

Тираж 1500 экз.



2010

ГЕМОБЛАСТОЗЫ: ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ, СОПРОВОДИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

*Г.Г. Солопова, Д.Д. Байдильдина, Л.И. Жарикова, И.И. Калинина, У.Н. Петрова, Е.В. Сунцова,
О.В. Горонкова, Л.А. Хачатрян, В.В. Сеницина, Г.А. Новичкова, А.А. Масчан, М.А. Масчан*

Применение 2-хлордезоксиденозина в терапии гистиоцитоза из клеток Лангерганса у детей	8
--	----------

О.А. Малихова, Б.К. Поддубный, И.В. Поддубная, А.Ю. Концевая, Г.В. Унгуадзе

Актуальные вопросы эндоскопической диагностики неходжкинских лимфом желудка	16
--	-----------

Н.А. Романенко, С.С. Бессмельцев, О.Е. Розанова, Н.С. Карпова, К.М. Абдулкадыров

Влияние уровня ФНО-α на эффективность коррекции анемии у больных лимфопролиферативными заболеваниями	22
---	-----------

*Д.Ю. Качанов, Р.Т. Абдуллаев, Т.В. Шаманская, Е.В. Инюшкина, К.В. Добренчиков,
Р.Ф. Савкова, С.Р. Варфоломеева*

Генетические синдромы у детей со злокачественными новообразованиями	29
--	-----------

От редакции	36
------------------------------	-----------

*А.А. Масчан, А.Г. Румянцев, Л.Г. Ковалева, Б.В. Афанасьев, Т.И. Поспелова, А.Ю. Зарицкий,
К.М. Абдулкадыров, В.В. Птушкин, Н.В. Цветаева, И.А. Лисуков, Г.Н. Салогуб, А.К. Голенков,
Н.В. Медведева, О.А. Рукавицын, В.Л. Иванова, И.В. Маркова*

Рекомендации Российского Совета экспертов по диагностике и лечению больных первичной иммунной тромбоцитопенией	36
---	-----------

ФАРМАКОТЕРАПИЯ

Е.А. Никитин

Бендамустин: новый взгляд на лечение хронического лимфоцитарного лейкоза	46
---	-----------

В.В. Лунин, Е.В. Юрова, О.А. Кудрявцева, С.В. Миненко, В.В. Птушкин

Маркеры остеодеструкции и показатели качества жизни при применении помегары (памидронат) у больных множественной миеломой с литическими костными поражениями.	52
--	-----------

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ С ГЕМОБЛАСТОЗАМИ

*Д.Н. Балашов, Л.Н. Шелихова, А.А. Демушкина, П.Е. Трахтман, Е.В. Скоробогатова,
Д.В. Литвинов, Е.В. Райкина, А.А. Масчан*

Проблема Эпштейна–Барр вирусной инфекции у пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток	59
---	-----------

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

*Т.В. Шаманская, Е.Ю. Осипова, Б.Б. Пурбуева, А.Ю. Устюгов, Т.А. Астрелина,
М.В. Яковлева, С.А. Румянцев*

Культирование мезенхимальных стволовых клеток <i>ex vivo</i> в различных питательных средах (обзор литературы и собственный опыт)	65
--	-----------

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ	72
---	-----------

HEMATOLOGIC MALIGNANCIES: DIAGNOSIS, TREATMENT, SUPPORTIVE CARE*G.G. Solopova, D.D. Baidildina, L.I. Zharikova, I.I. Kalinina, U.N. Petrova, Ye.V. Suntsova,**O.V. Goronkova, L.A. Hachatryan, V.V. Sinitsina, G.A. Novichkova, A.A. Maschan, M.A. Maschan*

2-Clorodeoxyadenosine in therapy of children with Langerhans cell histiocytosis	8
--	----------

O.A. Malikhova, B.K. Poddubniy, I.V. Poddubnaya, A.Yu. Kontsevaya, G.V. Ungiadze

Actual questions of endoscopic diagnostic of non-Hodgkin lymphoma of stomach	16
---	-----------

N.A. Romanenko, S.S. Bessmeltsev, O.E. Rozanova, N.S. Karpova, K.M. Abdulkadyrov

Influence of TNF-alpha on the efficacy of anemia correction in patients with lymphoproliferative disorders	22
---	-----------

*D.Yu. Kachanov, R.T. Abdullaev, T.V. Shamanskaya, Ye.V. Inyushkina, K.V. Dobrenkov,**R.F. Savkova, S.R. Varfolomeeva*

Cancer predisposition syndromes in children	29
--	-----------

From edition	36
-------------------------------	-----------

*A.A. Maschan, A.G. Rumyantsev, L.G. Kovaleva, B.V. Afanasiev, T.I. Pospelova, A.Yu. Zaritskiy,**K.M. Abdulkadyrov, V.V. Ptushkin, N.V. Tsvetaeva, I.A. Lisukov, G.N. Salogub, A.K. Golenkov,**N.V. Medvedeva, O.A. Rukavitsyn, V.L. Ivanova, I.V. Markova*

Guidelines of Russian Expert Council on diagnostic and therapy of patients with primary immune thrombocytopenia	36
--	-----------

PHARMACOTHERAPY*Ye.A. Nikitin*

Bendamustine: a new view on treatment of chronic lymphocytic leukemia	46
--	-----------

V.V. Lunin, Ye.V. Yurova, O.A. Kudryavtseva, S.V. Minenko, V.V. Ptushkin

Osteodestruction markers and quality of life parameters at pomegara (pamidronate) treatment in multiple myeloma patients with lytic bone lesions	52
---	-----------

HEMOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION*D.N. Balashov, L.N. Shelikhova, A.A. Demushkina, P.E. Trakhtman, Ye.V. Skorobogatova,**D.V. Litvinov, Ye.V. Raykina, A.A. Maschan*

Epstein-Barr virus infection in patients after hematopoietic stem cells transplantation	59
--	-----------

BASIC RESEARCH*T.V. Shamanskaya, Ye.Yu. Osipova, B.B. Purbueva, A.Yu. Ustyugov, T.A. Astrelina,**M.V. Yakovleva, S.A. Rumyantsev*

Ex vivo expansion of mesenchymal stem cells in different culture conditions (the literature review and own experience)	65
---	-----------

INFORMATION FOR THE AUTHORS.	72
---	-----------

ПРИМЕНЕНИЕ 2-ХЛОРДЕЗОКСИАДЕНОЗИНА В ТЕРАПИИ ГИСТИОЦИТОЗА ИЗ КЛЕТОК ЛАНГЕРГАНСА У ДЕТЕЙ

Г.Г. Солопова¹, Д.Д. Байдильдина¹, Л.И. Жарикова¹, И.И. Калинина¹, У.Н. Петрова², Е.В. Сунцова¹,
О.В. Горонкова², Л.А. Хачатрян², В.В. Синицина¹, Г.А. Новичкова¹, А.А. Масчан¹, М.А. Масчан¹

¹ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии

Минздравсоцразвития России, Москва

²Российская детская клиническая больница, Москва

Контакты: Михаил Александрович Масчан mmaschan@yandex.ru

Стандартная терапия пациентов высокого риска с гистиоцитозом из клеток Лангерганса (ГКЛ) ассоциирована с существенным риском неудачи терапии. В настоящем исследовании проанализированы результаты применения 2-хлордезоксиаденозина в качестве альтернативной терапии у пациентов данной группы. В исследование включено 30 пациентов с мультисистемной формой ГКЛ с вовлечением органов риска. Девятнадцать пациентов получили в 1-й линии терапии с использованием преднизолона и винбластина (стандартная группа). Девять пациентов получили терапию 2-CdA и цитозин-арабинозидом (группа 2-CdA). Пациенты, получившие стандартную терапию, достоверно чаще (55,5% против 0%, $p=0,0095$) нуждались в проведении терапии 2-й линии. Перманентные последствия заболевания чаще развивались в группе стандартной терапии (63,6% против 0%, $p=0,0147$). Общая выживаемость среди пациентов стандартной группы составила $65,7 \pm 12,8\%$ и в группе 2-CdA — $88,8 \pm 10\%$, $p=0,27$. Бессобытийная выживаемость в стандартной группе составила $33,9 \pm 12\%$, в группе 2-CdA — $88,8 \pm 10\%$, $p=0,0207$. Применение 2-CdA сопровождалось высокой гематологической токсичностью. Терапия с использованием 2-CdA высокоэффективна в лечении пациентов высокого риска с гистиоцитозом из клеток Лангерганса. Применение препарата должно быть ограничено специализированным стационаром.

Ключевые слова: гистиоцитоз из клеток Лангерганса, 2-хлордезоксиаденозин, цитозин-арабинозид, полихимиотерапия

2-CLORODEOXYADENOSINE IN THERAPY OF CHILDREN WITH LANGERHANS CELL HISTIOCYTOSIS

G.G. Solopova¹, D.D. Baidildina¹, L.I. Zharikova¹, I.I. Kalinina¹, U.N. Petrova², Ye.V. Suntsova¹, O.V. Goronkova²,
L.A. Hachatryan², V.V. Sinitsina¹, G.A. Novichkova¹, A.A. Maschan¹, M.A. Maschan¹

¹Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow

²Russian Children Clinical Hospital, Moscow

Standard therapy of high risk patients with Langerhans cell histiocytosis (LCH) is associated with essential risk of therapy failure. In the present study results of 2-clorodeoxyadenosine usage as alternative therapy in this group of patients are analyzed. In this study 31 patients with multisystem form LCH with involving of organs at risk were included. Nineteen patients have received Prednisone and Vinblastine as front line therapy (standard group). Nine patients have received therapy with 2-CdA and cytosine-arabinoside (group 2-CdA). The patients in standard group statistically significant more often (55.5% vs. 0%, $p=0.0095$) required second line therapy. Permanent disease consequences was more often developed in standard group (63.6% vs. 0%, $p=0.0147$). The overall survival was $65.7 \pm 12.8\%$ among standard group patients and $88.8\% \pm 10\%$ in 2-CdA group; $p=0.27$. The event-free survival was in standard group $33.9 \pm 12\%$, in 2-CdA group — $88.8 \pm 10\%$, $p=0.0207$. Severe hematological toxicity was observed at 2-CdA therapy. 2-CdA therapy is highly effective in treatment of high risk patients with LCH. The drug should be used only in a specialized hospital.

Key words: Langerhans cell histiocytosis, 2-clorodeoxyadenosine, cytosine-arabinoside, polychemotherapy

Введение

Гистиоцитоз из клеток Лангерганса (ГКЛ) является редким заболеванием, в основе которого лежит клональная пролиферация патологических гистиоцитов, фенотипически схожих с клетками Лангерганса, и формирование специфических инфильтратов в различных органах и тканях [1, 2]. Диагноз «гистиоцитоз из клеток Лангерганса» объединяет заболевания, ранее известные как эозинофильная гранулема, синдром Хенда—Шюллера—Крисчена и болезнь Абта—Леттерера—Зиве. Клиническая презентация варьирует от локализован-

ных, самоограниченных форм до диссеминированного мультисистемного поражения с тяжелым течением. В группе пациентов с мультисистемной формой ГКЛ вовлечение так называемых органов риска, к которым относят печень, селезенку, костный мозг и легкие, ассоциировано с плохим ответом на стандартную терапию и неблагоприятным прогнозом [1]. Винбластин (Vbl) и преднизолон (Pred) являются базовыми препаратами для лечения пациентов с ГКЛ и составляют каркас терапии в серии международных клинических исследований (DAL-90, LCH-I, LCH-II, LCH-III) [4–7]. По

данным международных исследований, общая выживаемость пациентов высокого риска (мультисистемное поражение с вовлечением органов риска МСОР+) не превышает 70%, а пациентов с отсутствием раннего ответа на терапию — 11–17% [7–9]. У пациентов с мультисистемными поражениями без вовлечения органов риска наиболее важной проблемой является развитие рецидивов заболевания (до 58%). Дополнительное неблагоприятное влияние на качество жизни пациентов оказывает развитие так называемых перманентных осложнений, в частности, несахарного диабета, задержки роста, ортопедических проблем, фиброза/цирроза печени, фиброза легких [10, 11]. Существует предположение, что позднее начало и недостаточно интенсивные режимы терапии повышают риск развития перманентных осложнений. Таким образом, несмотря на успех современных протоколов лечения, остается актуальной проблема разработки оптимальной терапии пациентов с ГКЛ МСОР+. В ряде публикаций показана эффективность 2-хлордезоксиаденозина (2-CdA) в терапии рефрактерных форм и рецидивов заболевания [12–15]. 2-CdA — нуклеозидный аналог, эффективный в терапии волосатоклеточного лейкоза и острого миелобластного лейкоза. Результаты ретроспективного исследования F. Bernard показали эффективность данной комбинации в терапии пациентов, рефрактерных

к стандартной терапии. В настоящем исследовании представлены результаты применения комбинированной химиотерапии (ХТ) 2-CdA и промежуточных доз цитозин-арабинозида (Ara-C) в группе пациентов с рефрактерным течением ГКЛ, а также результаты применения данной комбинации препаратов в терапии 1-й линии у пациентов высокого риска (МСОР+).

Материалы и методы

Исследование проведено на основании ретроспективного анализа медицинской документации 30 пациентов, поступивших в отделение общей гематологии Российской детской клинической больницы в период с 01.04.1993 по 01.05.2009 г. Медиана возраста составила 20 мес, в исследование вошло 17 мальчиков и 13 девочек. В зависимости от варианта 1-й линии терапии пациенты были поделены на 2 группы: 1-я группа — пациенты, получившие стандартные режимы ХТ ($n=19$), 2-я группа — пациенты, лечившиеся по пилотному протоколу ($n=9$) (описание и схемы терапии приведены ниже). Два пациента не получили специфической терапии (1 — досрочная летальность, 1 — отказ родителей). Исходные характеристики групп пациентов представлены в таблице 1. Родители или законные опекуны пациентов дали информированное согласие на проведение терапии и анализ результатов.

Таблица 1. Исходная характеристика пациентов

Параметры	1-я группа ($n=19$)	2-я группа ($n=9$)	Все ($n=30$)
Дата поступления	04.1993–03.2009 г.	08.2005–05.2009 г.	04.1993–05.2009 г.
Возраст при поступлении	21,4 мес (4,9 мес–17,2 года)	11 мес (3,4–27)	20 мес (2,8 мес–17,2 года)
Пол, м:д	1,4:1	0,8:1	1,3:1
Возраст на момент заболевания	11,3 мес (25 дней–16,7 года)	6,1 мес (16 дней–1,6 года)	8,5 мес (1 день–16,7 года)
Интервал «заболевание — начало терапии»	5 мес (4 дня–2,5 года)	4,4 мес (1,5 мес–1,7 года)	4,7 мес (4 дня–2,5 года)
Медиана числа пораженных органов и систем	4 (2–7)	5 (4–8)	5 (2–8)
Печень	18 (95%)	9 (100%)	27 (90%)
Селезенка	18 (95%)	9 (100%)	27 (90%)
Кожа	18 (95%)	9 (100%)	27 (90%)
Дисфункция кроветворения	14 (74%)	8 (89%)	22 (73%)
Легкие	8 (42%)	7 (78%)	15 (50%)
Костная система	8 (42%)	4 (44%)	12 (40%)
Лимфатические узлы	5 (26%)	4 (44%)	9 (30%)
ЖКТ	2 (10,5%)	1 (11%)	3 (10%)
Несахарный диабет	3 (16%)	—	3 (10%)
Мягкие ткани	2 (10,5%)	—	2 (6,6%)
Щитовидная железа	1 (5%)	—	1 (3,3%)
Хронический наружный отит	6 (32%)	6 (67%)	12 (40%)

Диагностика. Алгоритм диагностического обследования пациентов с подозрением на ГКЛ включает: клинический анализ крови; биохимический анализ крови с определением общего билирубина и его фракций, активности АЛТ, АСТ, ЩФ, общей ЛДГ, ГГТП, общего белка и альбумина, мочевины, креатинина и уровня электролитов/КЩС; коагулограмму с определением фибриногена, АЧТВ, ПИ; рентгенографию/компьютерную томографию органов грудной клетки; обзорную рентгенографию костей скелета; сцинтиграфию скелета с технецием-99м; ультразвуковое исследование органов брюшной полости; магнитно-резонансную томографию головного мозга — при подозрении на наличие специфического поражения; биопсию очага поражения (в 83% — кожи, в 13% — кости и регионарного лимфатического узла, в 3% — легкого и мягких тканей) с выполнением гистологического и иммуногистохимического исследования; проведение костномозговой пункции из 3 анатомически разных точек (при наличии цитопении в клиническом анализе крови); пробу Зимницкого; общий анализ мочи.

Диагноз устанавливали в соответствии с диагностическими критериями Международного общества по изучению гистиоцитозов (Histiocyte Society): клинические проявления в сочетании со специфической гистологической картиной и иммуногистохимическими находками в материале биоптата (CD1a, +/- S100, CD68, HLA-DR), за исключением 1 случая досуточной летальности. В 5 случаях иммуногистохимическое исследование не проводилось по техническим причинам. Критерии поражения органов риска приведены в таблице 2.

Стандартная терапия. В качестве стандартной терапии мы рассматривали лечение согласно протоколам DAL-HX, LCH-I, LCH-II, LCH-III. Терапия состоит из 2 этапов: интенсивной фазы и поддерживающей терапии. Базовыми препаратами для стандартных режимов ХТ являются преднизолон и винбластин. Интенсивная фаза I состоит из 6 введений Vbl в дозе 6 мг/м² внутри-

Таблица 2. Критерии поражения органов риска

Печень	Увеличение > 3 см из-под края реберной дуги (подтвержденное ультразвуковым исследованием) и/или нарушение функции печени (гипербилирубинемия, гипопропротеинемия, гипоальбуминемия, повышение γ -ГТП, ЩФ, АЛТ/АСТ, асцит, отеки) и/или гистологическое подтверждение
Селезенка	Увеличение > 2 см из-под края реберной дуги (подтвержденное ультразвуковым исследованием)
Костный мозг	Гемоглобин < 100 г/л, 90 г/л у детей первого года жизни (при исключении железодефицитной анемии); тромбоциты < 100×10^9 /л; лейкоциты < $4,0 \times 10^9$ /л
Легкие	Типичные изменения на КТ высокого разрешения или гистологическое подтверждение

венно струйно с интервалом 7 дней и приеме Pred в дозе 40 мг/м²/сутки (в течение 4 нед с отменой за 2 нед). В протоколе LCH-II для пациентов группы высокого риска предусмотрена рандомизация с добавлением этопозида из расчета 150 мг/м² №6 (1 раз в нед), в протоколе LCH-III — метотрексата (Mtx) в дозе 500 мг/м² в 1-й и 15-й дни протокола. При достижении полного ответа на терапию через 6 нед (окончание интенсивной фазы) начинается поддерживающая терапия. Согласно протоколу LCH-III, при достижении частичного ответа через 6 нед выполняется интенсивная фаза II, план которой аналогичен интенсивной фазе I. Решение о проведении альтернативной ХТ принимается на сроках 6 или 12 нед при прогрессии заболевания, а также при сохранении частичного ответа через 12 нед от начала терапии. Поддерживающая терапия продолжается до 12 мес и включает 4 препарата: 6-меркаптопурин (6-МП) 50 мг/м²/сут ежедневно и Mtx 20 мг/м² 1 раз в нед, а также циклы Vbl + Pred с интервалом в 21 день. Схема терапии по протоколу LCH-III приведена на рисунке 1.

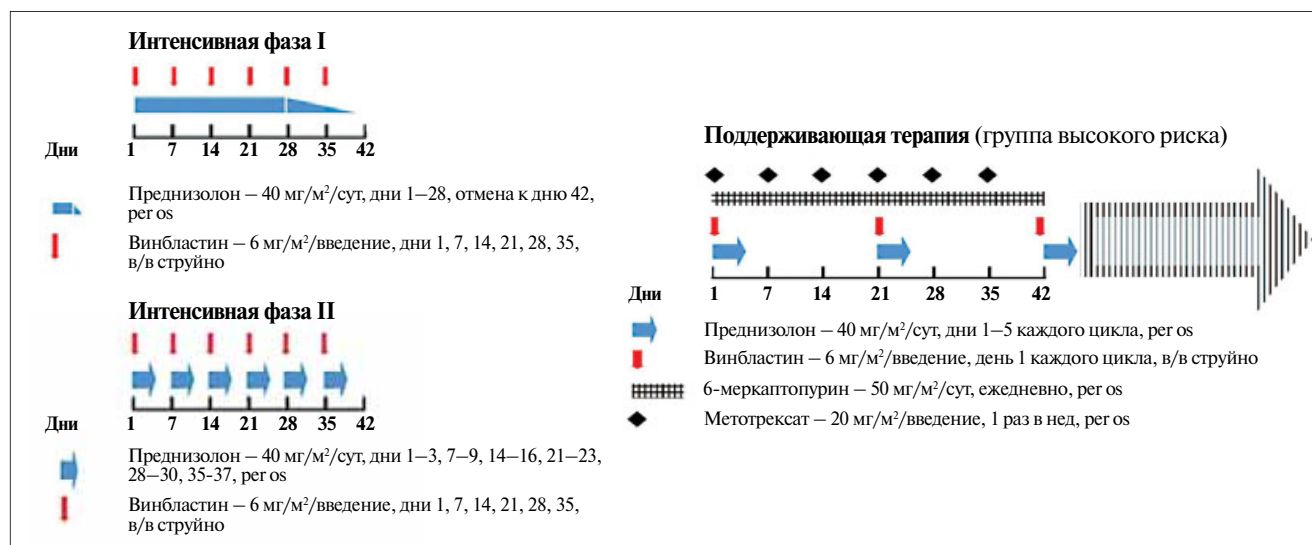


Рис. 1. Схема стандартной терапии на примере протокола LCH-III

Терапия 1-й линии была проведена по следующим протоколам: DAL-90 – 1 больному, LCH-I – 4, LCH-II – 9 и LCH-III – 5 пациентам. В связи с отсутствием ответа на терапию 1-й линии 10 пациентов (55,5%) получили альтернативную терапию. Терапия 2-CdA + Ara-C была начата через 6 нед стандартной терапии 4 пациентам, через 11 нед стандартной терапии – 1 пациенту. Два пациента до начала терапии 2-CdA + Ara-C получили курсы альтернативной ХТ. Одной пациентке после 12 нед стандартной терапии в связи с сохраняющимся парциальным ответом была назначена монотерапия 2-CdA. Детали терапии 2-й линии у пациентов группы 1 суммированы

в таблице 3. Двум пациентам была проведена альтернативная терапия без использования 2-CdA.

Пилотный протокол. Терапия состояла из 3 этапов: интенсивной фазы (Ara-C + 2-CdA №3), фазы консолидации (монотерапия 2-CdA) и поддерживающей (6-МП + Mtx) терапии. Схема терапии представлена на рисунке 2. Все пациенты получили комбинированную ХТ в составе: цитозар (Ara-C) 500 мг/м² в/в каждые 12 часов №10, кладрибин (2-CdA) 6 – 9 мг/м²/сут в/в №5, метилпреднизолон 5 мг/кг/сут в/в №5. Один пациент умер после 1-го курса ХТ через 18 дней от начала терапии. Семь пациентов получили еще 2 курса интенсивной ХТ с последующей монотерапией 2-CdA

Таблица 3. Терапия 2-й линии в 1-й группе больных

№	Возраст, мес	Терапия – статус через 6 нед	Альтернативная терапия (до 2-CdA)	Интервал до назначения 2-CdA, дни	2-CdA	Статус по окончании терапии	Исход
1	5	LCH-I – прогрессия	Метилпреднизолон (MP) 30 мг/кг №3 – 2 блока	81	2-CdA 6 мг/м ² /сут №5, Ara-C 200 мг/м ² /сут №5 – 2 блока	Прогрессия заболевания	Умер
2	28	LCH-II – прогрессия	–	37	2-CdA 7 мг/м ² /сут №5, Dauno 45 мг/м ² /сут №3; 2-CdA 7 мг/м ² /сут №5, Ara-C 1000 мг/м ² /сут №5; 2-CdA 7 мг/м ² /сут №5, Ara-C 1000 мг/м ² /сут №5 + Ida 8 мг/м ² /сут №3	Полный ответ	Жив
3	11,3	LCH-II – прогрессия	–	46	2-CdA 8 мг/м ² /сут №5, Ara-C 1000 мг/м ² /сут №5 – 4 блока	Полный ответ	Жив
4	6,3	LCH-II – прогрессия	–	60	2-CdA 7 (9) мг/м ² /сут №5, Ara-C 1000 мг/м ² /сут №5 – 3 блока	Полный ответ	Жив
5	26	LCH-II – прогрессия	MP 20 мг/кг №3; циклофосфан (Cph) 500 мг/м ² + винкристин (Vcr) 0,05 мг/кг №4 (1р/7 дней); ремикейд 4 мг/кг №1; Mtx 500 мг/м ² /24 часа + MP 20 мг/кг №3 + 6-МП; Mtx 500 мг/м ² /24 часа; FLAG (флударабин 30 мг/м ² + Ara-C 2000 мг/м ² №5)	138	2-CdA 8 (9) мг/м ² /сут №5, Ara-C 1000 мг/м ² /сут №5 – 3 блока (в блоке №3 + Dauno 45 мг/м ² /сут №2)	Прогрессия заболевания	Умерла
6	15	LCH-II – активное заболевание	Интенсивная фаза II (рукав B, Mtx+)	87	2-CdA 6 мг/м ² /сут №5, Ara-C 1000 мг/м ² /сут №5 – 3 блока	Полный ответ	Умер (фиброз печени, кровотечение)
7	24	LCH-II – прогрессия	–	29	2-CdA 6 мг/м ² /сут №5, Ara-C 1000 мг/м ² /сут №5 – 3 блока	Полный ответ	Жив
8	14	LCH-III – частичный ответ	Интенсивная фаза II (рукав A, Mtx–)	98	2-CdA 5 мг/м ² /сут №5 п/к, суммарно 7 курсов	Полный ответ	Жива
9	5,2	LCH-II – частичный ответ	Вепезид 100 мг/м ² + MP 30 мг/кг №3 – 2 блока с интервалом 7 дней	–	–	Прогрессия заболевания	Умерла
10	4	LCH-I – прогрессия	Антитимоцитарный глобулин 25 мг/кг/курс; Cph 500 мг/м ² + доксорубин 25 мг/м ² ; MP 30 мг/кг №3	–	–	Прогрессия заболевания	Умерла

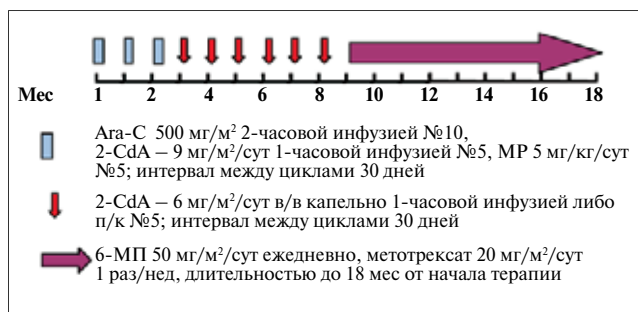


Рис. 2. Схема пилотного протокола.

Ara-C — цитозин-арабинозид; 2-CdA — 2-хлордезоксиденозин, МР- метилпреднизолон; п/к — подкожно

6 мг/м²/сут №5 подкожно в количестве от 3 до 7 курсов (медиана — 6). Одной пациентке было проведено суммарно 4 курса интенсивной ХТ с последующим назначением винбластин 6 мг/м²/сут еженедельно №6 и проведением 8-го курса 2-CdA 6 мг/м²/сут №5. По окончании монотерапии кладрибином все пациенты получили поддерживающую ХТ: 6-МП 50 мг/м²/сут ежедневно и Мтх 20 мг/м²/сут еженедельно, общей длительностью до 18 мес от начала лечения.

Сопроводительная терапия. На время интенсивной фазы лечения все пациенты помещались в изолированные палаты. По окончании интенсивной фазы лечения терапия продолжалась в амбулаторном режиме. До повышения гранулоцитов > 500/мкл пациенты находились на низкобактериальной диете. Профилактику пневмоцистной инфекции проводили триметопримом/сульфаметоксазолом в дозе 5 мг/кг по 3 дня в нед. Профилактику грибковых инфекций проводили флуконазолом в дозе 5 мг/кг/сут либо итраконазолом в дозе 4 мг/кг/сут. Терапию гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ) получали пациенты с тяжелой клинически или микробиологически документированной инфекцией, рефрактерной к проводимой противомикробной терапии. Переливания эритроцитарной массы и тромбоконцентрата выполнялись согласно принятой в клинике трансфузионной тактике. Для всех компонентов крови применялась лейкодеплексия при помощи антилейкоцитарных фильтров IV поколения. Для пациентов, получивших терапию 2-CdA, использовались облученные в дозе 25 Гр компоненты крови.

Критерии оценки ответа на терапию. В качестве критериев оценки эффективности терапии выбраны следующие: ранний ответ на терапию (6 нед от начала терапии), частота достижения «функционального» ответа, частота достижения полного ответа на терапию, общая выживаемость, частота реактивации заболевания, частота развития перманентных осложнений и токсичность проводимой терапии на основании стандартных критериев токсичности NCI. Ответ на терапию и статус заболевания оценивали через 6, 12, 24 нед от начала терапии и по завершении поддерживающей терапии. Полный ответ — разрешение всех обратимых клинических и лабораторных проявлений заболевания.

К необратимым изменениям относятся несахарный диабет, фиброз легких, склерозирующий холангит, цирроз печени. Сохранение инициальных остеолитических очагов на рентгенограммах при полной регрессии ассоциированного объемного образования не противоречит оценке ответа как полного.

«Функциональный» ответ — это разрешение дисфункции органов риска при сохраняющейся резидуальной органомегалии. Частичный ответ — это сохранение клинических и/или лабораторных проявлений заболевания при наличии положительной динамики показателей и отсутствии новых очагов поражения либо регрессия части клинических и/или лабораторных проявлений заболевания при появлении новых очагов поражения. Прогрессия заболевания — отрицательная динамика со стороны клинических и/или лабораторных проявлений заболевания и/или появление новых очагов поражения.

Статистическая обработка

Анализ данных выполнен в программе Statistica 7.0. Функция выживаемости рассчитана по методу Каплана—Майера. Сравнение выживаемости между группами выполнено при помощи log-rank теста. При анализе бессобытийной выживаемости в качестве события приняты проведение терапии 2-й линии, обусловленное прогрессией заболевания, рецидивом заболевания, отсутствием полного или частичного ответа на терапию 1-й линии, а также смерть от любой причины.

Результаты

Результаты терапии в 1-й группе. Терапия 1-й линии с использованием стандартных протоколов была проведена 19 пациентам. При оценке раннего ответа у 2 (11%) пациентов был констатирован полный ответ на терапию, у 9 (50%) — частичный, у 7 (39%) — прогрессия заболевания и 1 пациент потерян из-под наблюдения. Одиннадцать пациентов (с полным и частичным ответом) продолжили терапию согласно стандартным протоколам лечения. При оценке ответа через 12 нед от начала терапии у 4 пациентов из 11 констатирован полный ответ, у 3 — частичный, у 2 — прогрессия заболевания и 2 пациента были потеряны из-под наблюдения. Стандартную терапию продолжили 6 (37,5%) больных (4 с полным ответом и 2 — с частичным), все они живы с медианой наблюдения 5,6 (1,2–17,3) года с полным ответом на проведенную терапию. Медиана достижения полного ответа составила 96 дней (1–15,2 мес). Рецидив заболевания развился у 1 пациента с интервалом 13,5 мес с достижением полного ответа после монотерапии 2-CdA. Перманентные осложнения развились у всех 6 пациентов, получивших стандартные протоколы лечения: в виде несахарного диабета — у 3, вторичного пневмофиброза — у 4 и фиброза печени — у 1 пациента. Результаты терапии суммированы в таблице 4.

Десять (55,5%) пациентов из данной группы (9 — в связи с прогрессией заболевания, 1 пациентка с сохра-

Таблица 4. Результаты терапии

Показатель	1-я группа, n=19 (%)	2-я группа, n=9 (%)	p	Относительный риск	95% ДИ
Ранний ответ (частичный + полный)	11 (61)*	8 (100)†	0,0622	0,5789	0,3945–0,8496
Полный ответ на терапию 1-й линии	6 (33,3)*	8 (100)†	0,0022	0,4286	0,2340–0,7848
Необходимость терапии 2-й линии	10 (55,5)	0 (0)	0,0095	2,0	1,225–3,265
Рецидивы	1 (5,5)	0 (0)	1,0	1,727	1,177–2,535
Перманентные последствия	7 (63,6) ‡	0 (0)	0,0147	2,6	1,307–5,172
Живы	11 (61)	8 (88)	0,2011	0,6617	0,4158–1,053

* 1 пациент потерян из-под наблюдения до оценки раннего ответа

† 1 пациент умер на 18-й день от начала терапии

‡ у 11 пациентов с полным продолжительным ответом

няющимся парциальным ответом через 12 нед от начала терапии) получили альтернативную ХТ (режимы терапии приведены в таблице 3, где выделены 2 подгруппы: 1-я — использование 2-CdA (8 пациентов) и 2-я — без него (2 больных)). Два пациента, не получавшие терапии 2-CdA, умерли от прогрессии заболевания с медианой наблюдения 203 (64–342) дня. У 2 пациентов, получивших терапию 2-CdA + Ara-C, отмечалась кратковременная стабилизация состояния (уменьшение сыпи, купирование лихорадки, сокращение органомегалии и лимфоаденопатии) с последующим развитием стремительной прогрессии заболевания и смерти. У 6 (60%) пациентов по окончании лечения достигнут полный ответ с медианой интервала 11,7 (2,2–16,6) мес, тогда как медиана достижения «функционального» ответа составила 7,4 (2,2–8,8) мес. Медиана интервала от начала 1-й линии терапии до начала терапии 2-CdA + Ara-C составила 60 (37–138) дней, 3 пациента с наибольшим интервалом (81, 87 и 138 дней, $p=0,0571$) — умерли. Один из них умер в статусе полной ремиссии от кровотечения из варикозно-расширенных вен пищевода вследствие развития необратимого осложнения — цирроза печени. На момент последнего наблюдения с медианой 6 (3,7–7,3) лет 5 пациентов живы и находятся в состоянии полной ремиссии. Развития рецидивов, перманентных осложнений не зарегистрировано.

Результаты терапии во 2-й группе. Терапия 1-й линии согласно пилотному протоколу проведена 9 пациентам. Оценка статуса заболевания выполнялась перед каждым циклом полиХТ (ПХТ). К началу 2-го блока ПХТ с медианой 29 (24–48) дней у 8 пациентов был достигнут парциальный ответ. На сегодняшний день с медианой наблюдения 20 (18 дней–4 года) мес живы 8 (89%) пациентов. Один пациент умер через 18 дней от начала терапии от легочной недостаточности, обусловленной массивным специфическим поражением легких, течением вирусной пневмонии (аденовирус, вирус парагриппа 3-го типа) и грибкового сепсиса (*Candida parapsilosis*). У 8 пациентов был достигнут полный ответ, из них 3 пациента получают поддерживающую терапию, 5 — окончили лечение. Медиана достижения полной ремиссии составила 9 (5,9–11,1) мес, тогда как

медиана достижения «функционального» ответа — 5 (2,9–8,5) мес. Ни у одного пациента не было зарегистрировано развития рецидива/реактивации или прогрессии заболевания.

Токсичность терапии во 2-й группе. После проведения ПХТ у всех пациентов отмечалось развитие аплазии кроветворения с медианой продолжительностью 12 (9–24) дней, у 8 из них — с эпизодами фебрильной нейтропении (кроме 1 пациента без инициальной дисфункции кроветворения). За период проведения интенсивных блоков ПХТ зарегистрированы следующие документированные инфекции: 2 эпизода энтероколита с выявлением антигена *C. difficile*; 3 эпизода локальной реактивации BCG с регионарным лимфаденитом; бактериемии с высевами: *Sphingomonas paucimobilis* у 2 пациентов, *C.parapsilosis*, *C. guilliermondii*; инфекции мягких тканей с высевом *Candida parapsilosis*, *P.aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*; респираторные вирусные инфекции с выявлением риновируса, аденовируса, метапневмовируса и парагриппа. В периоды аплазии кроветворения у пациентов отмечалась высокая трансфузионная потребность с медианой количества трансфузий тромбоконцентрата 30 (13–52) и эритроцитарной массы 15 (8–23). С каждым последующим циклом ХТ, по мере разрешения костномозговой недостаточности, связанной с основным заболеванием, отмечалось уменьшение потребности в заместительных трансфузиях. При проведении консолидирующей фазы (монотерапии 2-CdA) гематологическая токсичность проявлялась нейтропенией II степени, анемией I–II степени, в 2 случаях — тромбоцитопенией с минимальным уровнем тромбоцитов 100 тыс./мкл, заместительные трансфузии не проводились. Из документированных инфекций отмечалось развитие ОРВИ с выявлением метапневмовируса и РС-вируса. Висцеральная токсичность проявлялась в виде транзиторного повышения активности печеночных ферментов (АлТ, АсТ) у 3 пациентов до максимального уровня 2N. Развития неврологической и почечной токсичности, описанной у взрослых пациентов [12], не наблюдалось.

Анализ выживаемости. Общая выживаемость пациентов 1-й группы составила $65,7 \pm 12,8\%$, 2-й груп-

пы — $88,8 \pm 10\%$, $p=0,27$. Бессобытийная выживаемость в 1-й группе составила $33,9 \pm 12\%$, во 2-й — $88,8 \pm 10\%$, $p=0,0207$. Кривые выживаемости представлены на рисунках 3 и 4.

Обсуждение

Данное исследование сосредоточено на пациентах с ГКЛ группы высокого риска ввиду неблагоприятного прогноза заболевания. Несмотря на успехи стандартной терапии, смертность в этой группе остается крайне высокой. Интенсификация терапии за счет добавления этопозиды и метотрексата не привела к качественному улучшению результатов лечения [2]. Как показано в нашем исследовании, 55,5% пациентов нуждались в проведении альтернативного лечения в связи с неэффективностью 1-й линии терапии. Согласно международным публикациям, существует несколько препаратов, эффективных в лечении пациентов с ГКЛ, не ответивших на стандартную терапию. В частности, описано применение циклоспорина А и интерферона- α , антагонистов ФНО- α , талидомида, 2-дезоксикоформицина [16–20]. Эффективность этих препаратов не была верифицирована в клинических исследованиях. Применение трансплантации гематопоэтических стволовых клеток ассоциировано с высоким риском висцеральной токсичности и смертности (до 45%), обусловленным предшествующим специфическим поражением печени и легких [21–24].

В 1994 г. появились первые сообщения об успешном применении 2-CdA в случаях рефрактерного течения моносистемного ГКЛ у взрослых пациентов и детей. Однако монотерапия 2-CdA пациентов МСОР+ в большинстве случаев была не очень успешной [12, 25, 26]. Основываясь на доказанном *in vitro* синергизме 2-CdA и Ara-C, а также успешном опыте терапии пациентов с острым миелобластным лейкозом, данную ХТ стали использовать для лечения рефрактерных форм ГКЛ группы высокого риска [27].

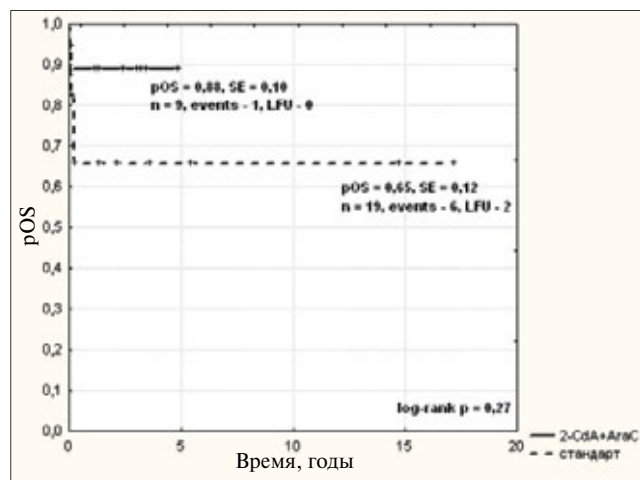


Рис. 3. Общая выживаемость пациентов, получавших стандартную терапию в 1-й линии ($n=19$) и терапию по пилотному протоколу ($n=9$)

Начиная с 2001 г. в нашем центре внедрена комбинированная ХТ 2-CdA+Ara-C в качестве 2-й линии терапии пациентов с рефрактерными формами ГКЛ. На основании успешного опыта с 2005 г. комбинация 2-CdA+Ara-C была внедрена в 1-ю линию терапии пациентов ГКЛ высокого риска. Несмотря на небольшое число и длительность наблюдений, результаты терапии позволяют предполагать, что данная комбинация является наиболее эффективной медикаментозной терапией для пациентов с ГКЛ группы высокого риска.

Следует подчеркнуть, что динамика ответа на терапию у больных с ГКЛ замедлена в сравнении с пациентами с гемобластомами. Достижение функционального ответа происходило на сроках 5 и 7,4 мес в группах, получивших 2-CdA+Ara-C в 1-ю и во 2-ю линии соответственно, тогда как время достижения полного ответа составило 9 и 11,7 мес.

Терапия 2-CdA+Ara-C у всех пациентов индуцировала развитие тяжелой гематологической токсичности с высокой потребностью в заместительных трансфузиях, а также развитие тяжелых инфекционных осложнений, потребовавших назначения множественных противомикробных и противовирусных препаратов. Отсроченной токсичности не отмечалось. Таким образом, ХТ в составе 2-CdA+Ara-C должна проводиться в специализированных клиниках в связи с высокими требованиями к сопроводительной терапии.

В нашем исследовании показано, что пациенты, получившие терапию 2-CdA+Ara-C с наибольшим интервалом по отношению к началу стандартной терапии, умерли (в 1 случае в статусе полного ответа, вследствие развития необратимого осложнения). Мы полагаем, что более раннее начало альтернативной ХТ (2-CdA+Ara-C) дает больше шансов на благоприятный исход лечения.

Рецидив заболевания развился у 1 пациента, получавшего лечение по стандартному протоколу. У пациентов, получивших 2-CdA+Ara-C как в 1-й, так и во

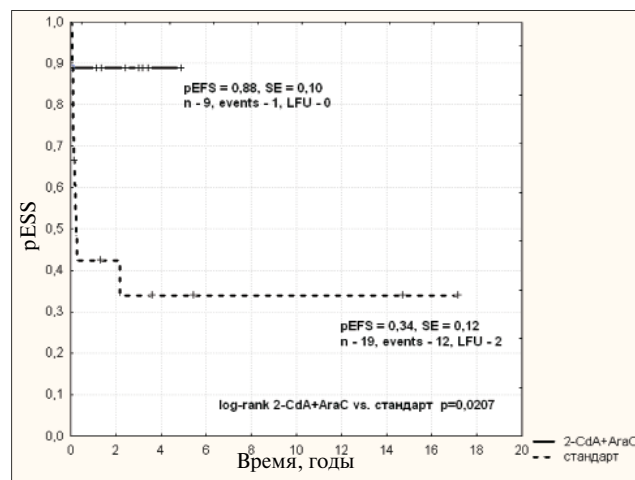


Рис. 4. Бессобытийная выживаемость пациентов, получавших стандартную терапию в 1-й линии ($n=19$) и терапию по пилотному протоколу ($n=9$)

2-й линии терапии, рецидивов заболевания не зарегистрировано.

Перманентные осложнения развились у всех 6 пациентов, получивших стандартные протоколы лечения, с преобладанием пневмофиброза (67%) и несахарного диабета (50%). В подгруппе пациентов, получивших 2-CdA+Ara-C во 2-й линии — у 1 пациента в виде несахарного диабета и цирроза печени. В группе пациентов, получивших 2-CdA+Ara-C в 1-й линии, ни у одного пациента не было зарегистрировано развития перманентных осложнений. Несмотря на небольшую длительность наблюдения, полученные данные позволяют предположить, что проведение более интенсивной ХТ (2-CdA+Ara-C) улучшает качество ответа на терапию с точки зрения риска развития перманентных осложнений.

Суммируя вышесказанное, мы делаем вывод, что назначение ХТ 2-CdA+Ara-C в качестве 2-й ли-

нии терапии становится стандартом клинической практики. Данные нашего исследования подчеркивают необходимость своевременного назначения альтернативной терапии, решение о котором должно быть принято не позднее, чем через 6 нед от начала стандартной терапии. На сегодняшний день проведение данной ХТ в 1-й линии не может быть рекомендовано к широкому применению ввиду развития тяжелой гематологической токсичности и высокой частоты жизнеугрожающих осложнений. Для окончательных выводов о целесообразности использования 2-CdA+Ara-C в 1-й линии терапии необходимо проведение сравнительных исследований, рассматривающих в качестве критериев эффективности не только частоту ответа и общую выживаемость, но и частоту реактиваций и отсроченных осложнений.

Л и т е р а т у р а

- Egeler R.M., D'Angio G.J. Langerhans cell histiocytosis. *J. Pediatr* 1995 Jul;127(1):1–11.
- Schmitz L., Favara B.E. Nosology and pathology of Langerhans cell histiocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998 Apr;12(2):221–46.
- Arico M., Egeler R.M. Clinical aspects of Langerhans cell histiocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998 Apr;12(2):247–58.
- Ladisch S., Gadner H., Arico M., Broadbent V., Grois N., Jakobson A., Komp D., Nicholson H.S. LCH-I: a randomized trial of etoposide vs. vinblastine in disseminated Langerhans cell histiocytosis. *The Histiocyte Society. Med Pediatr Oncol* 1994;23(2):107–10.
- Broadbent V., Gadner H. Current therapy for Langerhans cell histiocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998 Apr;12(2):327–38.
- Minkov M., Grois N., Heitger A., Potschger U., Westemeier T., Gadner H. Treatment of multisystem Langerhans cell histiocytosis. Results of the DAL-HX 83 and DAL-HX 90 studies. *DAL-HX Study Group. Klin Pediatr* 2000 Jul;212(4):139–44.
- Gadner H., Grois N., Potschger U., Minkov M., Arico M., Braier J., Broadbent V., Donadieu J., Henter J.I., McCarter R. et al. Improved outcome in multisystem Langerhans cell histiocytosis is associated with therapy intensification. *Blood* 2008 Mar;111(5):2556–62.
- Gadner H., Grois N., Arico M., Broadbent V., Ceci A., Jakobson A., Komp D., Michaelis J., Nicholson S., Potschger U. et al. A randomized trial of treatment for multisystem Langerhans' cell histiocytosis. *J Pediatr* 2001 May;138(5):728–34.
- Minkov M., Grois N., Heitger A., Potschger U., Westemeier T., Gadner H. Response to initial treatment of multisystem Langerhans cell histiocytosis: an important prognostic indicator. *Med Pediatr Oncol* 2002 Dec;39(6):581–5.
- Haupt R., Nanduri V., Calevo M.G., Bernstrand C., Braier J.L., Broadbent V., Rey G., McClain K.L., Janka-Schaub G., Egeler R.M. Permanent consequences in Langerhans cell histiocytosis patients: a pilot study from the Histiocyte Society-Late Effects Study Group. *Pediatr Blood Cancer* 2004 May;42(5):438–44.
- Pollono D., Rey G., Latella A., Rosso D., Chantada G., Braier J. Reactivation and risk of sequelae in Langerhans cell histiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2007 Jun;48(7):696–9.
- Saven A., Foon K.A., Piro L.D. 2-Chlorodeoxyadenosine-induced complete remissions in Langerhans-cell histiocytosis. *Ann Intern Med* 1994 Sep;121(6):430–2.
- Stine K.C., Saylor R.L., Williams L.L., Becton D.L. 2-Chlorodeoxyadenosine (2-CdA) for the treatment of refractory or recurrent Langerhans cell histiocytosis (LCH) in pediatric patients. *Med Pediatr Oncol* 1997 Oct;29(4):288–92.
- Weitzman S., Wayne A.S., Arceci R., Lipton J.M., Whitlock J.A. Nucleoside analogues in the therapy of Langerhans cell histiocytosis: a survey of members of the histiocyte society and review of the literature. *Med Pediatr Oncol* 1999 Nov;33(5):476–81.
- Weitzman S., Braier J., Donadieu J., Egeler R.M., Grois N., Ladisch S., Potschger U., Webb D., Whitlock J., Arceci R.J. 2'-Chlorodeoxyadenosine (2-CdA) as salvage therapy for Langerhans cell histiocytosis (LCH). Results of the LCH-S-98 protocol of the Histiocyte Society. *Pediatr Blood Cancer* 2009 Dec;53(7):1271–6.
- Arceci R.J., Brenner M.K., Pritchard J. Controversies and new approaches to treatment of Langerhans cell histiocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998 Apr;12(2):339–57.
- Jakobson A.M., Kreuger A., Hagberg H., Sundstrom C. Treatment of Langerhans cell histiocytosis with alpha-interferon. *Lancet* 1987 Dec;2(8574):1520–1.
- McCowage G.B., Frush D.P., Kurtzberg J. Successful treatment of two children with Langerhans' cell histiocytosis with 2'-deoxycytosine. *J Pediatr Hematol Oncol* 1996 May;18(2):154–8.
- Minkov M., Grois N., Broadbent V., Ceci A., Jakobson A., Ladisch S. Cyclosporine A therapy for multisystem langerhans cell histiocytosis. *Med Pediatr Oncol* 1999 Nov;33(5):482–5.
- Minkov M., Grois N., Braier J., Rosso D., Arico M., Broadbent V., Gadner H., Ladisch S. Immunosuppressive treatment for chemotherapy-resistant multisystem Langerhans cell histiocytosis. *Med Pediatr Oncol* 2003 Apr;40(4):253–6.
- Caselli D., Arico M. The role of BMT in childhood histiocytoses. *Bone Marrow Transplant* 2008 Jun;41 (Suppl 2):8–13.
- Conter V., Reciputo A., Arrigo C., Bozzato N., Sala A., Arico M. Bone marrow transplantation for refractory Langerhans' cell histiocytosis. *Haematologica* 1996 Sep;81(5):468–71.
- Greinix H.T., Storb R., Sanders J.E., Petersen F.B. Marrow transplantation for treatment of multisystem progressive Langerhans cell histiocytosis. *Bone Marrow Transplant* 1992 Jul;10(1):39–44.
- Kesik V., Citak C., Kismet E., Koseoglu V., Akyuz C. Hematopoietic stem cell transplantation in Langerhans cell histiocytosis: case report and review of the literature. *Pediatr Transplant* 2009 May;13(3):371–4.
- Stine K.C., Saylor R.L., Saccente S., McClain K.L., Becton D.L. Efficacy of continuous infusion 2-CdA (cladribine) in pediatric patients with Langerhans cell histiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2004 Jul;43(1):81–4.
- Saven A., Burian C. Cladribine activity in adult langerhans-cell histiocytosis. *Blood* 1999 Jun 15;93(12):4125–30.
- Bernard F., Thomas C., Bertrand Y., Munzer M., Landman P.J., Ouache M., Colin V.M., Perel Y., Chastagner P., Vermylen C. et al. Multi-centre pilot study of 2-chlorodeoxyadenosine and cytosine arabinoside combined chemotherapy in refractory Langerhans cell histiocytosis with haematological dysfunction. *Eur J Cancer* 2005 Nov;41(17):26.

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ ЖЕЛУДКА

О.А. Малихова¹, Б.К. Поддубный², И.В. Поддубная², А.Ю. Концевая¹, Г.В. Унгиадзе¹

¹Отделение эндоскопии НИИ КО ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва;

²ГОУ ДПУ Российская медицинская академия последипломного образования Росздрава, Москва

Контакты: Ольга Александровна Малихова malikhova@inbox.ru

В статье рассматривается эпидемиология неходжкинских лимфом (НХЛ), описаны основные попытки систематизации лимфом желудочно-кишечного тракта, раскрываются аспекты информативности основных методов диагностики НХЛ желудка, таких как рентгенологический и эндоскопический. Также освещено значение современных уточняющих методов эндоскопической диагностики опухолевой патологии желудка: хромогастроскопия, увеличительная и узкоспектральная эндоскопия. Отмечаются проблемы морфологического подтверждения гистологической структуры новообразования методом щипцовой биопсии в процессе эндоскопического исследования, описываются возможности расширенных методик взятия материала, таких как эндоскопическая резекция слизистой и подслизистого слоев. Подробно описаны возможности и информативность эндосонографического метода как в диагностике, так и в дифференциации НХЛ и различных опухолевых и неопухолевых патологий желудка.

Ключевые слова: неходжкинские лимфомы желудка, эндоскопия, диагностика НХЛ желудка, эндосонография НХЛ желудка

ACTUAL QUESTIONS OF ENDOSCOPIC DIAGNOSTIC OF NON-HODGKIN LYMPHOMA OF STOMACH

O.A. Malikhova¹, B.K. Poddubnyi², I.V. Poddubnaya², A.Yu. Kontsevaya¹, G.V. Ungiadze¹

¹N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

²Russian Academy for Postgraduate Medical Education, Moscow

In given article non-Hodgkin lymphomas epidemiology, main attempts of gastrointestinal tract (GIT) lymphomas sistematization, basic methods of stomach NHL diagnostics, such as radiologic and endoscopic are described. Also importance of modern endoscopic diagnostics methods is discussed: chromogastrosocopy, magnifying and narrow spectral endoscopy. Morphological confirmation problems of neoplasm histologic structure using forceps biopsies during endoscopic examination are noted; possibilities of expanded procedures taking a sample, such as endoscopic resection mucous and submucosal layers are described. Possibilities and importance of endosonography both in diagnostics and in differentiation of NHL and a various malignant and non-malignant stomach pathology are in detail described.

Key words: non-Hodgkin lymphomas of stomach, endoscopy, diagnosis of stomach NHL, endosonography of stomach NHL

За последние 20 лет отмечается неуклонная тенденция роста заболеваемости неходжкинскими лимфомами (НХЛ), в том числе НХЛ желудка. По темпу прироста эта патология опережает заболеваемость лимфогранулематозом. В экономически развитых странах этот показатель увеличился более чем на 50% [1].

В России лимфомы составляют 2,8% от числа всех злокачественных опухолей человека. Заболеваемость среди мужчин составляет 6,8 на 100 тыс. мужского населения. Заболеваемость женщин составляет 5,0 на 100 тыс. При этом уровень заболеваемости у молодых (в возрасте от 15 до 20 лет) в 10 раз ниже по сравнению с таковым у лиц в возрасте старше 75 лет [2].

Семиотика НХЛ разнообразна. Чаще всего заболевание проявляется увеличением одного из периферических лимфатических узлов — ЛУ (нодальное поражение). Наряду с этим первичный опухолевый узел может возникнуть в других органах и тканях (экстранодальное поражение) и распро-

страняться путем лимфогенного или гематогенного метастазирования. Так, лимфома с поражением медиастинальных ЛУ наблюдается в 15–25% случаев, селезенки — в 30–40% и печени — в 15–59% случаев соответственно [3].

Лимфомы гастроинтестинального тракта охватывают от 14 до 27% всех экстранодальных поражений и составляют от 1 до 15% от всех злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Чаще всего поражается желудок (50–75%), сравнительно реже тонкая кишка (20–35%). Лимфомы толстой кишки наблюдаются в 5–10% случаев. Самыми редкими признаны первичные НХЛ пищевода [4].

В последние годы установлены биологические особенности НХЛ, определена чувствительность различных типов опухоли к современным противоопухолевым препаратам. Показано, что прогноз заболевания зависит в первую очередь от степени распространенности и гистологического вариан-

та злокачественного новообразования. При этом ранняя диагностика лимфом ЖКТ проблематична, поскольку при локализации опухоли в ЖКТ не возникает патогномичных для НХЛ симптомов. Больные жалуются на общую слабость, тошноту, рвоту, отсутствие аппетита и снижение массы тела. Эти жалобы зачастую относят за счет различных интеркуррентных заболеваний, тем самым ограничивая возможности правильной интерпретации жалоб больных. При подобных обстоятельствах для установления диагноза лимфомы ЖКТ неоспоримое значение приобретают эндоскопические и рентгенологические методы исследования. Целью этих методов диагностики, в частности эндоскопических методов исследований, является ревизия различных отделов ЖКТ, выявление новообразований с возможным забором материала для бактериологического, цитологического, гистологического и иммуногистохимического исследования.

Для эндоскопической диагностики лимфом ЖКТ важными критериями являются знания макроскопических характеристик злокачественных неэпителиальных новообразований. Уже в первой классификации сарком желудка в 1921 г. были отмечены экзогастрические, эндогастрические, экзоэндогастрические и инфильтративные формы роста опухоли. Затем была выделена смешанная форма роста (З.И. Карташев, 1938).

Макроскопические проявления этих опухолей в пищеварительном тракте в целом весьма вариабельны и зависят от степени дифференцировки злокачественных клеток, характера и темпа роста опухоли, распространенности по отношению к стенке органа. В работе А.А. Машалова отмечается, что дифференцированные формы лимфом желудка имеют большую склонность к инфильтративному росту, преимущественно по собственной пластинке слизистой и подслизистому слою, что приводит к резкому утолщению складок, на поверхности которых часто визуализируются полиповидные разрастания и поверхностные эрозии [5]. Дальнейшее увеличение массы опухоли приводит к появлению обширных плоских новообразований, утолщению стенки органа, уменьшению просвета, а также к снижению эластичности и замедлению перистальтики на пораженных участках. При менее дифференцированных опухолях отмечается их склонность к инвазивному росту с образованием язв неправильной формы и мелкобугристым дном. При этом зачастую язвы глубокие и служат источником различного рода осложнений. Все эти изменения в желудке мы можем видеть при помощи эндоскопа. По данным И.В. Поддубной, инфильтративная форма роста опухоли встречается наиболее часто (50%), экзофитная форма — в 20–25% случаев, реже отмечаются смешанная и язвенная формы — менее 15%. Этим может объясняться высокая частота осложнений в виде кровотечения, перфорации, развития перитонита,

кишечной непроходимости и высокой смертностью в связи с ними (12–19%) [3, 4].

Информативность эндоскопической диагностики лимфом ЖКТ возрастает еще больше за счет сведений о микроскопических особенностях возникновения и развития лимфомы. Согласно последним представлениям лимфома возникает из мутированных В- и Т-лимфоцитов лимфоидных фолликулов, которые диффузно располагаются преимущественно в собственной пластинке слизистой на всем протяжении ЖКТ. Несмотря на то что в норме в толще слизистой оболочки желудка лимфоидной ткани не существует, она возникает и разрастается в ответ на длительно текущий бактериальный воспалительный процесс в желудке, ассоциированный с *H. pylori*. При этом в большей степени лимфоидная ткань скапливается в дистальном (антральном и препилорическом) отделе желудка.

В настоящее время основными методами диагностики заболеваний ЖКТ остаются рентгенологический и эндоскопический методы. Их значение в своевременном выявлении опухолевых и предопухолевых поражений желудка неопределимо. Рентгенологическая симптоматика хорошо описана, особенно у больных с распространенными формами злокачественных опухолей, хотя в 10–14% случаев при рентгенологическом обследовании они не диагностируются. По-прежнему остаются трудности при применении рентгенологического метода дифференциальной диагностики рака и лимфом желудка. Количество ложноотрицательных результатов диагностики является достаточно высоким (17%), что становится основной причиной поздних диагнозов и плохих результатов лечения. Рентгенологическая симптоматика инфильтративных форм опухолей дистального отдела желудка высокоинформативна, однако в ряде случаев остается недостаточной в дифференциации инфильтративной формы рака и лимфомы желудка [6, 7].

В настоящее время техническое усовершенствование эндоскопической аппаратуры позволило не только визуализировать эндоскопическую картину участка патологии, ее структурную характеристику в режиме увеличения, но и сохранять видеозапись для динамического наблюдения за больным.

По свидетельству многих авторов, при эндоскопическом исследовании по ряду признаков можно визуально установить границы новообразований, получить достоверную информацию о состоянии поверхности слизистой оболочки, оценить перистальтику, инструментально пропальпировать опухоль, правильно определить ее характер, взять материал для морфологического исследования. Независимо от локализации первичной опухоли обеспечивается тщательное исследование отделов органа в связи с возможным мультицентричным характером ее роста или наличием интрамуральных метастазов.

В последнее время направление увеличительной эндоскопии и исследования в узком спектре света занимают одно из ведущих мест в уточняющей диагностике патологии желудка. С их помощью можно проследить различные типы эпителия в разных отделах желудка, изменения архитектоники его слизистой оболочки, ее неоднородность, нерегулярность, которая появляется при том или ином патологическом процессе, а также оценивать состояние микрососудистого рисунка слизистой [8].

В последних публикациях японских авторов описываются методики, благодаря которым стало возможным визуально предполагать морфологическую структуру опухоли по типу микрососудистого рисунка в зоне опухоли. Чувствительность и специфичность исследования при раке желудка в узком спектре света составляют 92% и 96% соответственно. К сожалению, такие исследования касательно лимфом желудка в современной литературе не описаны [9, 10].

В настоящее время с целью повышения качества и точности эндоскопической диагностики в повседневной практике врача-эндоскописта стало возможным применение витального окрашивания. Для витальной окраски слизистой желудка используют красители, которые по механизму действия подразделяются на 3 группы: 1) контрастные; 2) абсорбирующие; 3) реактивные.

Проведение эзофагогастродуоденоскопии с витальной окраской слизистой оболочки желудка позволяет визуализировать невидимые при обычном осмотре патологические очаги (в т. ч. очаги опухолевого роста), выполнять их прицельную биопсию, получать адекватный биопсийный материал для морфологического исследования, уточнять истинный характер измененных участков слизистой, планировать и проводить лечение с учетом реальной распространенности опухоли.

В работах последних лет отмечается, что эндоскопический метод продолжает играть неосценимую роль в своевременном выявлении опухолевых и предопухолевых поражений ЖКТ. В своевременной диагностике опухолей желудка большое значение приобретает так называемая эндоскопическая диспансеризация — многолетнее динамическое эндоскопическое наблюдение в поликлинических условиях за пациентами, имеющими определенные факторы риска, с обязательным взятием материала для морфологического исследования. При массовых эндоскопических осмотрах у 65% обследованных выявляется разнообразная предопухолевая патология: кишечная метаплазия, аденомы, дисплазия эпителия, хронические гастриты, ассоциированные с *H. pylori*. Этой группе пациентов каждые 6 мес необходимо проводить контрольный эндоскопический осмотр желудка. Тем не менее многочисленными исследованиями подтверждено,

что наибольшие диагностические трудности в процессе эндоскопического исследования возникают при инфильтративных формах опухолей желудка. При них инфильтрация распространяется преимущественно по глубоким слоям слизистой оболочки и подслизистому слою, что затрудняет визуальную дифференциальную диагностику с инфильтративными формами лимфом и злокачественными неэпителиальными новообразованиями желудка. По данным различных авторов, морфологическая верификация визуально поставленного диагноза при различных инфильтративных опухолях колеблется от 20 до 84% [11]. Отмечаются проблемы морфологического подтверждения гистологической структуры новообразования методом щипцовой биопсии. Отметим, что в исследовании, посвященном комплексному обследованию больных эндофитной формой рака методом стандартной щипцовой биопсии, диагноз верифицирован в 81% наблюдений [12]. Согласно результатам, полученным другими авторами, отрицательные данные морфологического метода исследования при подобном методе забора материала наблюдались более чем у 20% больных. Причина малой информативности данного способа биопсии заключается в том, что он позволяет взять материал только из поверхностных слоев слизистой оболочки желудка, не захватывая более глубокие структуры.

При имеющихся трудностях визуальной дифференциации эндоскопической картины целесообразным считается применение наиболее расширенных методик забора материала для морфологического исследования. Наиболее важным для верификации диагноза является и правильно выбранный участок для взятия биопсии. Этому способствует использование таких современных уточняющих эндоскопических диагностических методик, как прижизненная окраска слизистой оболочки, увеличительная эндоскопия, узкоспектральный анализ, эндосонография (ЭУС).

В настоящее время для улучшения морфологической верификации диагноза лимфопротиферативного поражения желудка стали применять способ эндоскопической резекции слизистой и частично подслизистого слоя, а также аспирационную цитобиопсию опухоли под контролем эндосонографа. Эндоскопическая резекция слизистой показала свою высокую информативность как диагностическая процедура. По данным различных авторов, ее диагностическая ценность при лимфомах желудка достигает 97% [13, 14].

В последние годы не вызывает сомнений необходимость совершенствования догоспитальной уточняющей диагностики заболеваний ЖКТ. На современном этапе ведущая роль в уточнении характера поражения верхних отделов ЖКТ отводится эндосонографическому методу [15].

ЭУС — это метод сочетанного эндоскопического исследования, имеющий достоинства гибковолоконной эндоскопии и диагностические возможности ультразвукового сканирования стенки изучаемого органа. Это дает врачу возможность под визуальным контролем максимально приблизить ультразвуковой датчик к объекту исследования и получить более четкую картину патологии исследуемого органа и других прилежащих анатомических структур. Таким образом, можно не только осмотреть и оценить состояние слизистой оболочки желудка, но также изучить все слои стенки желудка. Пять анатомических слоев стенки желудка могут быть идентифицированы при данном исследовании с высокой степенью гистологической корреляции. Кроме того, ЭУС дает возможность оценить состояние близлежащих органов и регионарных ЛУ [16].

Первые попытки внутриволоконного ультразвукового исследования (УЗИ) пищеварительного тракта известны с 1950 г. Впервые миниатюрный датчик для введения в прямую кишку был изобретен J.J. Wild из США, о чем в своей публикации сообщает Г.К. Жерлов.

ЭУС разработана в Японии в 1980 г. для выявления опухолей панкреатобилиарной зоны небольших размеров на ранних стадиях. К началу 80-х гг. XX в. был изобретен принципиально новый диагностический прибор — эхоэндоскоп, соединивший в себе ультразвуковой датчик и гибковолоконный эндоскоп, а вместе с этим диагностические возможности УЗИ и современной эндоскопии. Впоследствии метод получил широкое распространение для диагностики заболеваний не только панкреатобилиарной зоны, но и ЖКТ.

В 1986 г. в журнале Японского общества гастроинтестинальной эндоскопии, посвященном опухолям желудка, впервые были описаны критерии определения глубины инвазии злокачественных опухолей желудка, а в 1988 г. определены критерии диагностики язвенных поражений. Диагностические критерии определения глубины инвазии основываются на 3 гиперэхогенных зонах в 5-слойной структуре стенки желудка.

Исследование осуществляется с помощью эхоэндоскопа, оснащенного миниатюрным ультразвуковым датчиком или ультразвуковыми зондами, проводимыми через биопсийный канал обычного стандартного эндоскопа.

Область клинического приложения методики обширна — это исследования патологических изменений стенки различных полых органов, регионарных ЛУ и других анатомических структур, прилежащих к стенке органов ЖКТ. Определенный интерес вызывают публикации, касающиеся показаний к проведению ЭУС. Е.Ю. Орлов и соавт. предложили список заболеваний, при которых целесообразно выполнение ЭУС:

- 1) наличие опухолей верхнего и нижнего отделов ЖКТ и гепатобилиарной зоны;
- 2) подозрительные образования стенки кишечной трубки, похожие на подслизистую локализацию;
- 3) интраампулярные опухоли Фатерова сосочка;
- 4) выявление камней в нерасширенных желчных протоках;
- 5) выраженность изменений паренхимы и протоков поджелудочной железы при различных формах острого и хронического панкреатита.

Диагностические возможности эхоэндоскопии (ЭУЗИ) при патологии желудка широко описаны ведущими отечественными и зарубежными учеными [6, 17–19]. Первые исследования были посвящены возможностям ЭУЗИ при эндофитном росте опухоли. Делалась попытка оценить возможности ЭУС в сканировании стенки желудка как в норме, так и при различных видах патологии. Было установлено, что в норме стенка желудка состоит из 5 слоев. У многих авторов есть работы об акустической картине изменений стенки желудка при различной патологии. Другие авторы указывают на возможность определять глубину инвазии опухолевого роста и слой, из которого исходит опухоль.

В основном в литературе последних лет встречается множество статей, посвященных ценности ЭУС у больных раком желудка, напротив, использование данного метода при лимфомах желудка носит единичный характер [20, 21]. По-прежнему сложной остается диагностика злокачественных лимфом желудка. Из-за выраженного полиморфизма визуальной картины ее зачастую принимают за рак или другие заболевания желудка. Учитывая, что в литературе нет подробного описания эндосонографической семиотики различных форм лимфомы желудка, основанного на большом клиническом материале, этот вопрос требует дальнейшего изучения.

Согласно данным Е. Berenstein, ЭУС, проведенная 78 пациентам с подозрением на подслизистые опухоли желудка, подтвердила «идеальную» чувствительность (95%) в определении слоя, из которого исходит опухоль. Так, S. Kelly и соавт. проанализировали результаты 27 статей, посвященных ЭУЗИ в определении стадии рака пищевода и желудка по критерию T, и пришли к выводу, что ЭУЗИ имеет высокую степень точности (до 95%). G. Caletti и соавт. [22–24] сообщают, что точность ЭУЗИ достигает 80% по критерию T и около 77% по критерию N. Согласно данным, представленным Y. Murata и соавт., чувствительность и специфичность определения инвазии в мышечную пластинку слизистой оболочки при использовании зонда с частотой 20-MHz были 97% и 87% соответственно. В дополнение к этому, по данным американских исследований по резекции слизистой оболочки желудка, наблюдается высокий уровень совпадения между данными, полученными при высокочастотном ультразвуковом сканировании, и морфологическими находками (96%).

Применение ЭУЗИ очень ценно для диагностики и дифференциации инфильтративных форм поражения желудка (рак, лимфома), при которых подслизистый рост снижает диагностические возможности стандартной эндоскопии и рентгеновского исследования.

Кроме того, эндоскопическая ЭУС дает возможность правильно устанавливать наличие и локализацию регионарных метастазов при различных опухолях желудка у 70–80% больных. В связи с тем что наличие метастазов в регионарных ЛУ не всегда коррелирует с их размером, использование данного метода особенно ценно, так как он дает возможность оценить экстроструктуру ЛУ.

ЭУС желудка позволяет решать дифференциально-диагностические задачи, она расширила возможности диагностики и предопухоловой патологии, к которой относятся хронический атрофический гастрит, гигантский гипертрофический гастрит (болезнь Менетрие), язвы желудка, полиповидные образования.

Диагноз хронического гастрита, зачастую предшественника лимфомы желудка, согласно современным требованиям предполагает эндоскопическое исследование с биопсией из различных отделов желудка. Под эндоскопическими проявлениями хронических эрозий могут скрываться изменения эпителия с утолщением собственно мышечной пластинки слизистой оболочки или гастритоподобная форма лимфомы. Эндоскопический осмотр позволяет оценить подобные измененные участки слизистой оболочки или подслизистого слоя. Неровная поверхность с нечеткими контурами или утолщение подслизистого слоя служат неблагоприятными прогностическими признаками, при этом в 76% случаев морфологически выявляется ранний рак без инвазии в собственно мышечную пластинку слизистой, а в 5% – лимфома желудка. ЭУС позволяет также провести дифференциальную диагностику гигантского гипертрофического гастрита с опухолевыми заболеваниями.

В диагностике язвенных поражений желудка главную роль играет эндоскопическое исследование с гистологическим подтверждением клинического диагноза. Заслуживает внимания тот факт, что при ЭУЗИ язвенного дефекта регистрируется нарушение целостности слизистого и подслизистого слоев в виде гипоехогенного участка деструкции, на дне которого определяются гиперэхогенные некротические массы. И, что немаловажно, четко прослеживается распространение воспалительной инфильтрации на слизистый, подслизистый, мышечный слои, с их утолщением, но сохранением дифференцировки. Что касается диагностической ценности ЭУЗИ при лимфопролиферативном поражении желудка, то данный аспект описывается в современной литературе некоторыми авторами на незначительном материале. В частности, группа авторов из Голландии

показала, что чувствительность метода ЭУЗИ при лимфоме желудка составила 89%, специфичность – 97%, а точность определения глубины инвазии опухоли достигла 95%.

Fischbach и соавт. провели мультицентровое исследование, целью которого стало определение диагностической ценности ЭУЗИ для оценки степени распространенности опухолевого процесса. Было обследовано 70 пациентов с диагнозом «первичная лимфома желудка». ЭУЗИ позволило установить диагноз лимфомы только у 37 пациентов (53%). Чувствительность метода при I стадии составила 67%, при II стадии – 83% и при III стадии – 71%. Авторы объясняют достаточно низкую информативность метода тем, что в исследование входили 34 клиники и многие из них имели малый опыт УЗИ у больных с лимфомой желудка (1–2 исследования) [25].

Shimodaira и соавт. впервые произвели стадирование лимфом желудка по системе TNM, используя при этом ЭУЗИ желудка: EUS-T1 – гипоехогенная опухоль, локализуемая в пределах слизистого и подслизистого слоев стенки желудка; EUS-T2 – гипоехогенная опухоль, распространяющаяся на мышечный слой стенки желудка или субсерозу, EUS-T3 – гипоехогенная опухоль, распространяющаяся на серозу, EUS-T4 – трансмуральная опухоль, которая инфильтрирует прилежащие анатомические структуры. Автор отмечает, что классификация TNM, сопоставленная с классификацией Энн Арбор, может быть использована в стадировании лимфомы желудка при ЭУЗИ (см. табл.).

Таблица. Сопоставление классификаций Энн Арбор и TNM

Энн Арбор	TNM	Комментарии
IE 1	T1m-sm N0	
IE 2	T2-4 N0	
II E 1	T1-4 N1	Перигастральные ЛУ
II E 2	T1-4 N2	Региональные ЛУ
III E	T1-4 N3	Региональные ЛУ по обе стороны диафрагмы
IV E	T1-4 N0-3 M1	Висцеральные метастазы или вторичное экстранодальное поражение

При ЭУЗИ могут быть визуализированы также ЛУ диаметром 3–4 мм. Однако остается проблематичным проводить дифференциальную диагностику между доброкачественной гиперплазией и метастатическим поражением ЛУ по данным EUS.

Осложнения при проведении ЭУС составляют 0,05%, смертность – 0,003%. Значительная доля осложнений приходится на перфорацию пищевода, реже – на перфорацию грушевидного синуса и желудочно-кишечное кровотечение [6].

На основании изучения данных литературы можно заключить, что внедрение в практику уточняющих эндоскопических методов диагностики, таких как хромогастроскопия, увеличительная и узкоспектральная эндоскопия, ЭУС, упростит своевременную диагностику многих предопухолевых и опухолевых изменений в желудке, позволит понять их природу и распространенность. Использо-

вание этих методик в повседневной практике с помощью новейшей эндоскопической аппаратуры даст возможность даже молодому специалисту добиваться успеха в понимании и правильной интерпретации эндоскопической картины желудка, что, несомненно, ведет к улучшению диагностики, в частности дифференциальной диагностики различных опухолей желудка.

Л и т е р а т у р а

1. Поддубная И.В. Неходжжинские лимфомы. В кн.: Клиническая онкогематология. Под ред. М.А. Волковой. М.: Медицина, 2006. с. 734–70.
2. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Злокачественные образования в России и в странах СНГ в 2007 г. М., 2008.
3. Онкогематология (современные аспекты). Под ред. И.В.Поддубной. М.: Media Medica, 2005.
4. Поддубная И.В. Лимфосаркома желудочно-кишечного тракта (клиника, диагностика, лечение). Дисс. ... докт. мед. наук. М., 1985.
5. Машалов А.А. Эндоскопическая семиотика и диагностика лимфосарком желудочно-кишечного тракта. Дисс. ... канд. мед. наук. М., 1981.
6. Руководство по ультразвуковой диагностике заболеваний пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки. Под ред. Г.К. Жерлова, С.А. Соколова и др. Новосибирск: Наука, 2005.
7. Gollub M.J. Imaging of gastrointestinal lymphoma. Radiol Clin North Am 2008 Mar;46(2):287–312.
8. Lee S.H., Ryu C.B., Jang J.Y., Cho J.Y. Magnifying endoscopy in upper gastrointestinal tract. Korean J Gastroenterol 2006 Sep;48(3):145–55.
9. Ezoe Y., Muto M., Horimatsu T., Minashi K., Yano T., Sano Y., Chiba T., Ohtsu A. Magnifying narrow-band imaging versus magnifying white-light imaging for the differential diagnosis of gastric small depressive lesions: a prospective study. Gastrointest Endosc 2010 Mar;71(3):477–84.
10. Gheorghe C., Iacob R., Dumbrava M., Becheanu G., Ionescu M. Confocal laser endomicroscopy and ultrasound endoscopy during the same endoscopic session for diagnosis and staging of gastric neoplastic lesions. Chirurgia (Bucur) 2009 Jan–Feb;104(1):17–24.
11. Arista-Nasr J., Herrera-Goepfert R., Lazos-Ochoa M., Pichardo R. Histologic changes of the gastric mucosa associated with primary gastric lymphoma in endoscopic biopsy specimens. Arch Pathol Lab Med 2000 Nov;124(11):1628–31.
12. Bartels F., Hahn H.J., Stolte M., Schmidt-Wilcke H.A. Quality of diagnostic procedures and frequency of endoscopically defined diseases of the upper gastrointestinal tract. Z Gastroenterol 2003 Apr;41(4):311–8.
13. Cantor M.J., Davila R.E., Faigel D.O. Yield of tissue sampling for subepithelial lesions evaluated by EUS: a comparison between forceps biopsies and endoscopic submucosal resection. Gastrointest Endosc 2006 Jul;64(1):29–34.
14. Fujishiro M. Endoscopic submucosal dissection for stomach neoplasms. World J Gastroenterol 2006 Aug 28;12(32):5108–12.
15. Al-Taie O.H., Dietrich C.F., Dietrich C.G., Fischbach W. Role of endoscopic ultrasound in gastrointestinal lymphomas. Z. Gastroenterol 2008 Jun;46(6):618–24.
16. Argüello L. Endoscopic ultrasonography in submucosal lesions and extrinsic compressions of the gastrointestinal tract. Minerva Med 2007 Aug;98(4):389–93.
17. Arocena M.G., Barturen A., Bujanda L., Casado O., Ramirez M.M., Oleagoitia J.M., Galdiz Iturri M., Múgica P., Cosme A., Gutiérrez-Stampa M.A., Zapata E., Echenique-Elizondo M. MRI and endoscopic ultrasonography in the staging of gastric cancer. Rev Esp Enferm Dig 2006 Aug;98(8):582–90.
18. Chen T.K., Wu C.H., Lee C.L., Lai Y.C., Yang S.S. Endoscopic ultrasonography in the differential diagnosis of giant gastric folds. J Formos Med Assoc 1999 Apr;98(4):261–4.
19. Chung I.K., Hawes R.H. Advantages and limitations of endoscopic ultrasonography in the evaluation and management of patients with gastrointestinal submucosal tumors: a review. Rev Gastroenterol Disord 2007 Fall;7(4):179–92.
20. Keter D., Melzer E. Endoscopic ultrasound in clinical practice. Acta Gastroenterol Latinoam 2008 Jun;38(2):146–51.
21. Rösch T., Kapfer B., Will U., Baronius W., Strobel M., Lorenz R., Ulm K.; German EUS Club. Endoscopic ultrasonography. Accuracy of endoscopic ultrasonography in upper gastrointestinal submucosal lesions: a prospective multicenter study. Scand J Gastroenterol 2002 Jul;37(7):856–62.
22. Caletti G., Fusaroli P., Togliani T., Bocus P., Roda E. Endosonography in gastric lymphoma and large gastric folds. Eur J Ultrasound 2000 Mar;11(1):31–40.
23. Caletti G., Fusaroli P., Togliani T. EUS in MALT lymphoma. Gastrointest Endosc 2002;56(Suppl):21–6.
24. Caletti G., Zinzani P.L., Fusaroli P., Buscarini E., Parente F., Federici T., Peyre S., De Angelis C., Bonanno G., Togliani T., Pileri S., Tura S.; Italian Gastric Lymphoma Study Group. The importance of endoscopic ultrasonography in the management of low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. Aliment Pharmacol Ther 2002 Oct;16(10):1715–22.
25. Fischbach W. Gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma: a challenge for endoscopy. Gastrointest Endosc 2008 Oct;68(4):632–4.

ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ ФНО- α НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОРРЕКЦИИ АНЕМИИ У БОЛЬНЫХ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Н.А. Романенко, С.С. Бессмельцев, О.Е. Розанова, Н.С. Карпова, К.М. Абдулкадыров

ФГУ Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА России, Санкт-Петербург

Контакты: Николай Александрович Романенко rom-nik@yandex.ru

В статье представлены механизмы развития анемии у больных с опухолевыми заболеваниями лимфатической ткани. Изучена эффективность терапии эритропоэз-стимулирующими препаратами (ЭПО) у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями с анемией ($n=21$). В группу больных входили пациенты с хроническим лимфолейкозом ($n=5$), индолентными формами лимфом ($n=7$) и множественной миеломой ($n=9$). Возраст больных составлял от 49 до 80 лет ($63,6 \pm 8,2$ года). Положительным ответом на лечение ЭПО считалось увеличение уровня гемоглобина на 20 г/л или повышение его до 120 г/л. На фоне указанной терапии уровень гемоглобина увеличился с $86,8 \pm 18,5$ г/л до $111,4 \pm 26,5$ г/л ($p < 0,001$). В целом по группе эффективность терапии ЭПО составила 61,9%. Изучена информативность цитокина (ФНО- α) в качестве фактора прогноза эффективности терапии препаратами ЭПО. Пациенты с низким уровнем ФНО- α (< 15 пг/мл) достигали положительного ответа в 92,9% случаев, у больных с высоким уровнем ФНО- α (> 15 пг/мл) положительного ответа не наблюдалось. Это позволило установить обратно пропорциональную корреляцию исходного уровня ФНО- α и положительного ответа на терапию ЭПО ($r=-0,487$; $p < 0,03$; $n=21$). Таким образом, определение уровня ФНО- α у больных лимфопролиферативными заболеваниями перед терапией ЭПО позволяет с высокой степенью достоверности предсказать ответ на данный вид терапии.

Ключевые слова: анемия, хронический лимфолейкоз, множественная миелома, лимфома, рекомбинантный эритропоэтин, эпоэтин альфа, эральфон, ФНО- α

INFLUENCE OF TNF-ALPHA ON THE EFFICACY OF ANEMIA CORRECTION IN PATIENTS WITH LYMPHOPROLIFERATIVE DISORDERS

N.A. Romanenko, S.S. Bessmeltsev, O.E. Rozanova, N.S. Karpova, K.M. Abdulkadyrov

Russian Research Institute of hematology and transfusiology, Russian Federal Medico-biological Agency, Saint-Petersburg, Russian Federation

In this article mechanisms of anaemia development in patients with lymphatic tissue malignant diseases are presented. Therapy efficacy of erythropoiesis-stimulating agents (EPO) in patients with lymphoproliferative disorders and anaemia ($n=21$) is studied. Study group included patients with a chronic lymphoid leukemia ($n=5$), indolent lymphomas ($n=7$) and multiple myeloma ($n=9$). Patients were 49–80 years of age (63.6 ± 8.2 years). The positive response to EPO therapy was considered if hemoglobin level increased on 20 g/l or its rising to 120 g/l. With given therapy hemoglobin level was increased from 86.8 ± 18.5 g/l to 111.4 ± 26.5 g/l ($p < 0.001$). EPO therapy efficacy was 61.9% for total group of patients. Importance of TNF-alpha detection as the prognosis factor of EPO therapy efficacy was studied. Patients with low level of TNF-alpha (less than 15 pg/ml) achieved the positive response in 92.9%, with a high level of TNF-alpha (more than 15 pg/ml) – the positive response was not observed. Inversely proportional correlation between initial TNF-alpha level and therapy response has been established ($r=-0.487$; $p < 0.03$; $n=21$). Thus, detection of TNF-alpha level in patients with lymphoproliferative disorders before EPO therapy allows to predict therapy response with high degree of significance.

Key words: anemia, chronic lymphocytic leukemia, multiple myeloma, lymphoma, recombinant erythropoietin, epoetin alpha, eralfon, TNF-alpha

Анемия является частым и опасным осложнением у больных различными формами гемобластозов. В целом частота ее встречаемости среди онкогематологических пациентов колеблется от 30 до 80% [1–4]. Клинически анемия проявляется общей слабостью, быстрой утомляемостью, головными болями, снижением умственной и физической активности, подавленностью, одышкой, бледностью кожных покровов, тахикардией, в некоторых случаях — снижением артериального давления,

а у пожилых пациентов — появлением или учащением приступов стенокардии [5]. Многообразная симптоматика анемии в конечном счете в значительной мере ухудшает качество жизни больных, приводя к депрессии, потере трудоспособности и дезадаптации в семейной и общественной жизни [6, 7]. Кроме того, анемия ухудшает прогноз солидных опухолей, множественной миеломы, лимфом и лейкозов. Так, L. Mouillet и соавт. [3], изучив продолжительность жизни 1077 больных

с неходжкинскими лимфомами, установили, что медиана общей выживаемости у пациентов с анемией была существенно ниже и составляла 47 мес, в то время как у больных без анемии — 146 мес. У пациентов с анемией в период проведения химиотерапевтического или комбинированного лечения снижается их эффективность и увеличивается частота летальных исходов.

В патогенезе анемии у больных гемобластозами участвуют многие механизмы. К ним относятся вытеснение нормального гемопоэза и замещение его опухолевыми клетками, гемолиз со значительным уменьшением периода жизни эритроцитов, снижение выработки эндогенного эритропоэтина, а также угнетение эритроидного роста провоспалительными цитокинами [8–11]. Известно, что взаимодействие опухолевых клеток и иммунной системы приводит к активации макрофагов с последующим повышением продукции таких цитокинов, как интерлейкин-1 β , интерлейкин-6, фактор некроза опухоли- α (ФНО- α) и ФНО- β , интерферон- γ [12, 13]. Цитокины усиливают апоптоз клеток, подавляют процесс дифференцировки клеток-предшественников эритроидного ряда и угнетают выработку эндогенного эритропоэтина. Они также нарушают утилизацию железа энтероцитами кишечника, его метаболизм и поступление в клетки эритрона. Это происходит опосредованно через повышенную продукцию гормона гепцидина, блокирующего выработку ферропортина, который в норме обеспечивает необходимое количество железа в сыворотке крови [14]. В результате снижается высвобождение железа из макрофагов, нарушается его ассимиляция в эритроциты, что приводит к функциональному дефициту железа. При этом в крови может определяться сниженное содержание сывороточного железа, но одновременно выявляется повышенный уровень ферритина, а эритроциты могут носить даже признаки гипохромных анемий. Таким образом, провоспалительные цитокины в конечном итоге приводят к снижению содержания сывороточного железа и к увеличению синтеза ферритина с повышенным депонированием железа в макрофагах и гепатоцитах, что и составляет целый комплекс так называемого функционального дефицита железа [15–17]. В развитии анемии при солидных и гематологических опухолях имеет значение нарушение питания (дефицит белков, витаминов); аутоиммунный гемолиз, мембранные дефекты эритроцитов со значительным уменьшением периода их жизни; усиленное депонирование и секвестрация клеток крови в селезенке; избыточный фиброз костной ткани; микротромбоз вследствие ДВС-синдрома; усиление свободнорадикального окисления липидов, обусловленного увеличением продукции свободных радикалов и депрессией антиоксидантной системы организма (особенно в процессе противоопухолевого лечения), а также геморрагический синдром [18, 19].

В качестве коррекции анемии у онкогематологических больных традиционно применяют трансфузии эритроцитов. Основными показаниями для перелива-

ний эритроцитов считаются анемия с уровнем гемоглобина ≤ 80 г/л и наличие циркуляторных нарушений. В то же время анемия с уровнем Hb > 80 г/л уже не является показанием для трансфузий эритроцитов. Однако такие показатели крови могут неблагоприятно отражаться на общем самочувствии пациентов, снижая качество их жизни, существенно нарушая социальную адаптацию и работоспособность [6, 7]. Поэтому с 90-х гг. XX столетия для коррекции анемии у онкогематологических больных применяют эритропоэзстимулирующие препараты (ЭПО), которые существенно уменьшают проявления анемии и улучшают качество жизни пациентов [6, 20, 21]. В то же время показано, что использование ЭПО не всегда позволяет добиться улучшения самочувствия больного и нормализации уровня гемоглобина [7, 12, 20, 22–24]. У 30–40% пациентов не наблюдается положительного ответа на ЭПО, в то время как стоимость такого лечения составляет от 90 до 240 тыс. руб. В связи с этим встает вопрос о целесообразности применения ЭПО в каждом конкретном случае и необходимости определения тех или иных факторов, способных прогнозировать положительный ответ на терапию. В качестве таких лабораторных показателей приводятся исходный низкий сывороточный уровень эритропоэтина, увеличение числа ретикулоцитов на фоне терапии ЭПО, нормальный уровень ферритина сыворотки крови, удовлетворительное насыщение трансферрина, а также повышение уровня гемоглобина у пациентов в первые недели лечения ЭПО [25]. Однако данные лабораторные критерии недостаточно показательны. Поэтому мы изучили информативность уровня ФНО- α , участвующего в патогенезе анемии, в плане возможности использования его как фактора прогноза эффективности терапии ЭПО.

Цель работы — выяснить влияние ФНО- α на эффективность терапии анемического синдрома препаратами рекомбинантного эритропоэтина альфа у больных лимфопролиферативными заболеваниями и оценить возможность его использования в качестве прогностического маркера положительного ответа на терапию ЭПО.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находился 21 пациент с лимфопролиферативным заболеванием с анемией, с целью коррекции которой был назначен рекомбинантный эпоэтин альфа — Эральфон (ЗАО «Фарм-Фирма «Сотекс», Россия). В исследуемую группу вошли больные хроническим лимфолейкозом ($n=5$), индолентными формами неходжкинских лимфом ($n=7$) и множественной миеломой ($n=9$). Возраст больных колебался от 49 до 80 лет ($63,6 \pm 8,2$ года). Эральфон назначали пациентам с анемией (уровень гемоглобина < 100 г/л) в соответствии с рекомендациями NCCN, ASH, ASCO [26]. Все больные ранее получили не менее 3 курсов химиотерапии. Трем пациентам перед терапией ЭПО ввиду опасности циркуляторных нарушений (Hb < 65 г/л) проводились трансфузии эритроцитов,

после которых уровень гемоглобина у них колебался от 80 г/л до 100 г/л. В исследование не включались больные с кровотечением, гемолизом, дефицитом железа или витамина В₁₂. Лечение препаратами ЭПО проводили в стандартных дозах [26] из расчета 150 МЕ/кг массы тела 3 раза в нед подкожно (недельная доза составляла 450 МЕ/кг) параллельно с курсовым химиотерапевтическим лечением. Средняя продолжительность терапии ЭПО составила $10,1 \pm 3,6$ нед (4–16 нед). Перед назначением препаратов ЭПО определяли исходные показатели гемограммы (уровень гемоглобина, гематокрит, эритроциты, ретикулоциты) и уровень ФНО- α сыворотки крови. Для определения уровня ФНО- α использовали реактивы фирмы ООО «Протеиновый контур» (набор реагентов «Pro Con TNF-alpha» для количественного определения ФНО- α человека), г. Санкт-Петербург. Результаты оценивались по уровню прироста гемоглобина. Положительным ответом на лечение считали увеличение за время терапии препаратами ЭПО уровня Hb на 20 г/л или до нормальных цифр (≥ 120 г/л), а ежемесячный его прирост составлял ≥ 10 г/л. При достижении целевого уровня Hb (≥ 120 г/л) терапию ЭПО отменяли. При очень быстром увеличении уровня гемоглобина (> 20 г/л в мес) дозу препарата редуцировали на 25–50% по сравнению с исходной. Препарат отменяли при достижении целевого уровня гемоглобина (≤ 120 г/л), а также при отсутствии положительного ответа в течение 8–12 нед.

Статистическую обработку проводили при помощи созданной электронной базы данных, в которую вносили исследуемые показатели. Расчеты выполнялись с использованием прикладных программ Microsoft Windows (Microsoft Excel, Ver. 2000) и STATISTICA 5.0 for Windows.

Результаты исследования

В целом по группе положительный ответ на лечение ЭПО наблюдался у 13 (61,9%) из 21 больного. Отмечалось увеличение ($p < 0,01$) уровня гемоглобина с $86,8 \pm 18,5$ г/л (46–100 г/л) до $111,4 \pm 26,5$ г/л (67–147 г/л), числа эритроцитов – с $2,78 \pm 0,74 \times 10^{12}/л$ ($1,30$ – $3,50 \times 10^{12}/л$) до $3,50 \pm 0,93 \times 10^{12}/л$ ($2,08$ – $4,78 \times 10^{12}/л$), уровня гематокрита с $26,8 \pm 6,3\%$ (13,4–32,7%) до $34,9 \pm 6,8\%$ (20,6–46,2%). На 2–3-й неделе лечения ЭПО констатировали повышение числа ретикулоцитов с $28,1 \pm 10,9 \times 10^9/л$ до $79,9 \pm 50,3 \times 10^9/л$.

В группе больных, ответивших на лечение эпоэтином альфа, ежемесячный прирост гемоглобина составил $19,2 \pm 14,4$ г/л. В то же время в группе пациентов с отрицательным ответом на терапию ЭПО прирост гемоглобина (Hb) был гораздо меньше ($1,3 \pm 4,3$ г/л) (табл. 1). Между тем продолжительность лечения эральфоном в группах ответивших и не ответивших на ЭПО различалась незначительно, $9,5 \pm 3,4$ нед против $11,1 \pm 3,3$ нед соответственно ($p > 0,05$). При этом у 4 из 13 больных с положительным ответом на терапию ЭПО уже спустя 4 нед лечения уровень Hb повысился более, чем на 20 г/л (с 23 г/л до 55 г/л). Поэтому у этих пациентов доза

препарата была снижена на 1/3 от исходной дозы, т. е. вместо 3 раз в нед рекомбинантный эритропоэтин вводили 2 раза в нед по 10 000 МЕ (из расчета 300 МЕ/кг в нед). Такая тактика позволяла предотвратить осложнения, связанные с быстрым приростом гемоглобина (артериальная гипертензия, тромбоз сосудов, нарушение мозгового кровообращения). Лишь у 1 (из этих четверых) пациентки 56 лет с диагнозом фолликулярная лимфома IV А ст., страдающей гипертонической болезнью, на фоне терапии ЭПО, несмотря на прием антигипертензивных средств (эналаприл по 10 мг 2 раза в день), наблюдался подъем артериального давления со 130/80 до 170/100 мм рт. ст. с последующим развитием нарушения мозгового кровообращения (заторможенность сознания, расстройство речи, парез левой верхней конечности). У этой пациентки уровень Hb с 88 г/л в течение 4 нед лечения ЭПО повысился до 112 г/л. Эральфон был отменен, совместно с неврологом начата терапия возникшего осложнения. Через 1 сутки все двигательные и речевые функции восстановились. Больная в течение 3 мес наблюдалась, не получая ни химиотерапию, ни препараты рекомбинантного эритропоэтина. За этот период у пациентки уровень гемоглобина снизился до 91 г/л. Лечение эральфоном под контролем артериального давления и на фоне гипотензивных препаратов было возобновлено, но по 10 000 МЕ 2 раза в нед.

У всех пациентов перед назначением ЭПО исследовался уровень ФНО- α в сыворотке крови. Выявлено его колебание в широких пределах от 3,2 до 484,3 пг/мл ($50,2 \pm 110,5$ пг/мл). Как видно на рисунке 1, корреляционной зависимости между уровнями гемоглобина и ФНО- α найдено не было ($r = +0,049$, $p > 0,5$).

Однако, распределив всех больных на группы с низким (≤ 15 пг/мл) и высоким (> 15 пг/мл) уровнями ФНО- α , мы выявили принципиальное различие в ответе больного на терапию препаратами ЭПО. В группе с низким уровнем ФНО- α (от 3,2 до 13,2 пг/мл) на терапию ЭПО ответили 13 (92,9%) из 14 больных. В то же время в группе больных с высоким уровнем ФНО- α (от 19,2 до 484,3 пг/мл) ни у одного из 7 пациентов не было зафиксировано положительного ответа на лечение (табл. 2). Более того, у 2 больных с уровнем ФНО- $\alpha > 15$ пг/мл отмечалось снижение уровня гемоглобина. Попытка увеличения дозы эпоэтина альфа в 2 раза (900 МЕ/кг в нед) для преодоления резистентности к препарату была безуспешной. В целом по группе больных обнаружена достоверная обратная пропорциональная корреляционная связь уровня ФНО- α с ответом на лечение ЭПО ($r = -0,487$; $p < 0,03$), что наглядно представлено на рисунке 2.

Таким образом, полученные данные, на наш взгляд, свидетельствуют о том, что исходный уровень ФНО- α в сыворотке крови можно использовать для прогноза эффективности лечения ЭПО. Вероятность предсказания положительного ответа на терапию эпоэтином

Таблица 1. Динамика изменения показателей крови на фоне терапии препаратами рекомбинантного эритропоэтина альфа

Группы больных	Исходный уровень Hb (г/л)	Уровень Hb после лечения (г/л)	Ежемесячное повышение Hb (г/л)	Уровень ФНО-α (пг/мл)	Длительность лечения (нед)
Положительный ответ (n=13)	86,6±19,9 (46–100)	125,8±14,1 (105–157)	19,2±14,4 (10–55,3)	9,1±3,1 (3,2–13,2)	9,5±3,4 (4–16)
Нет ответа (n=8)	87,1±17,3 (48–100)	88,3±23,9 (47–113)	1,3±4,3 (–6–6,9)	117,0±163,1 (3,2–484,3)	11,1±3,3 (4–15)
Все пациенты (n=21)	86,8±18,5 (46–100)	111,4±26,5 (67–147)	12,4±14,5 (–6–55,3)	50,2±110,5 (3,2–484,3)	10,1±3,6 (4–16)

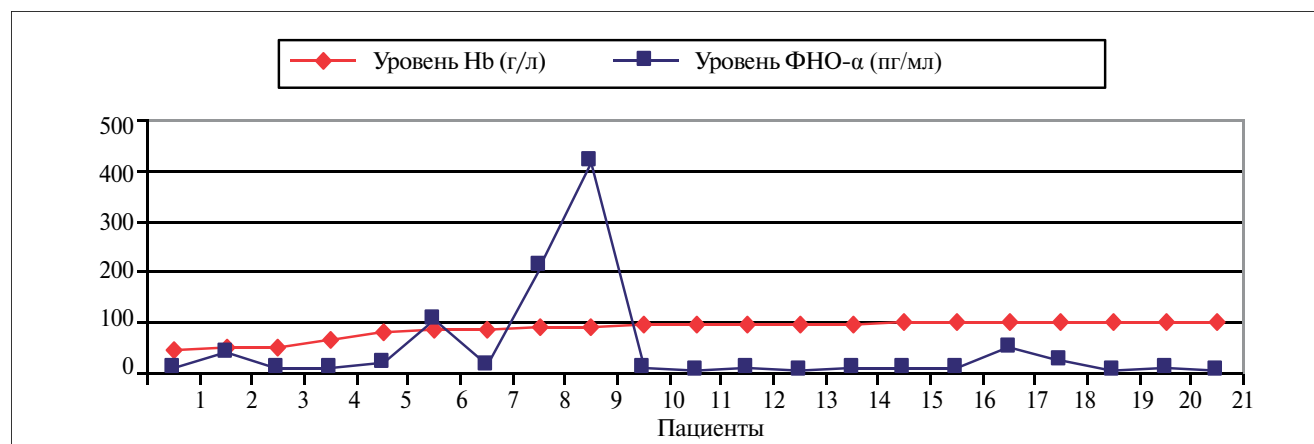
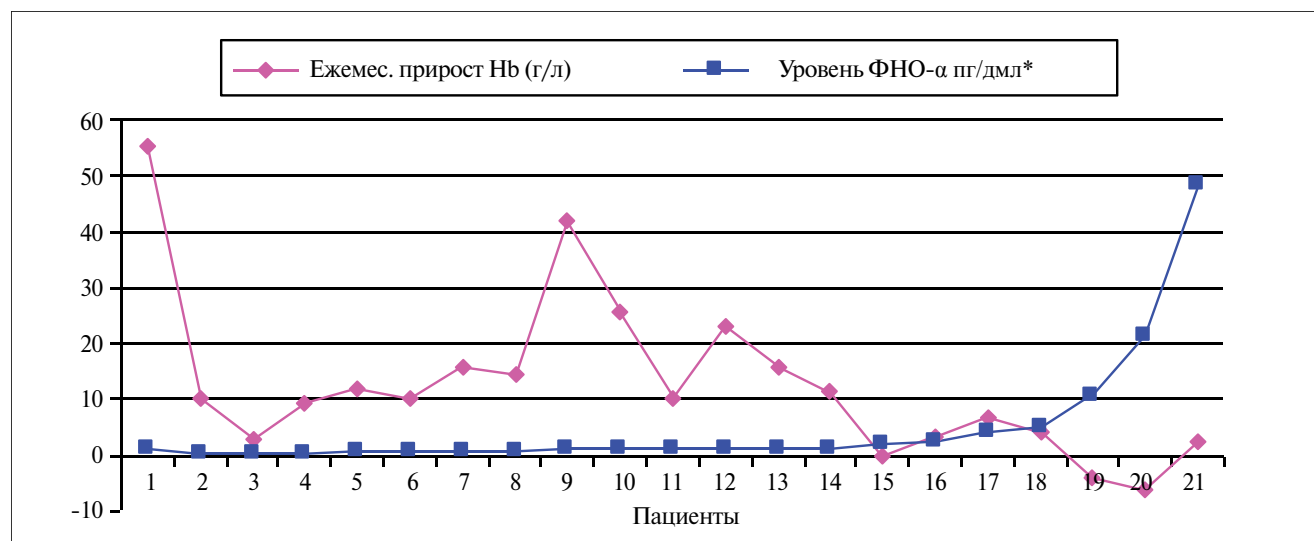


Рис. 1. Показатели исходного уровня гемоглобина и ФНО-α у больных лимфопролиферативными заболеваниями с анемией

Таблица 2. Распределение больных по группам в зависимости от исходного уровня ФНО-α в сыворотке крови и динамики уровня гемоглобина на фоне терапии препаратами рекомбинантного эритропоэтина

Группы больных	Уровень ФНО-α (пг/мл)	Исходный уровень Hb (г/л)	Уровень Hb после лечения (г/л)	Ежемесячное повышение Hb (г/л)	Суммарное повышение Hb (г/л)	Ответ на терапию (n/%)
Уровень ФНО-α < 15 пг/мл (n=14)	8,6±3,3 (3,2–13,2)	87,6±19,4 (46–100)	124,5±14,3 (105–157)	18,0±14,6 (2,7–55,6)	36,9±21,1 (8–83)	У 13 из 14 (92,9%)
Уровень ФНО-α > 15 пг/мл (n=7)	133,3±167,0 (19,2–484,3)	85,3±17,8 (48–100)	85,4±24,3 (47–113)	1,0±4,7 (–6–6,9)	5,0±10,7 (–10–19)	У 0 из 7 (0%)
Вся группа (n=21)	50,2±110,5 (3,2–484,3)	86,8±18,5 (46–100)	111,4±26,5 (67–147)	12,4±14,5 (–6–55)	26,3±23,7 (–10–83)	У 13 у 21 (61,9%)

Рис. 2. Зависимость ежемесячного прироста уровня гемоглобина от исходного уровня ФНО-α на фоне терапии эпоэтином альфа
*пг/дмл = пг/0,1 мл.

альфа у пациентов с низким уровнем ФНО- α составила 92,9%. Такой показатель может быть даже более ценным, чем определение уровня сывороточного эритропоэтина, числа ретикулоцитов и ферритина сыворотки, которые, как установлено, позволяют предсказать ответ с вероятностью приблизительно 70–90% [7, 25, 27–30].

Обсуждение

Анемический синдром у больных онкологическими заболеваниями ухудшает физическое, социальное, эмоциональное благополучие, снижает вероятность ответа на противоопухолевое лечение, ухудшает прогноз общей и бессобытийной выживаемости больных [3, 6, 31–34]. Для коррекции анемии используют переливания эритроцитов, благодаря которым достигается быстрое улучшение общего состояния пациента, но, как правило, не стойкое (не более 3–4 нед [2]). Кроме того, существует риск развития посттрансфузионных осложнений, таких как гемолитические реакции, перенос трансмиссивных инфекций (вирусные гепатиты В и С, ВИЧ-инфекция, ЦМВ-инфекция и др.), а при частых трансфузиях эритроцитов – гемосидероза с необратимыми последствиями в виде сердечной, печеночной недостаточности. Поэтому в настоящее время показания к трансфузионной терапии существенно сократились. Они ограничиваются лишь теми нижними пределами уровня гемоглобина (< 70 – 80 г/л) и эритроцитов ($< 2,3$ – $2,5 \times 10^{12}$ /л), которые позволяют уменьшить риск циркуляторных осложнений, потенциально опасных для жизни [23]. Однако такая ограничивающая тактика не всегда обеспечивает удовлетворительное качество жизни больных, так как при таких показателях красной крови у больных могут сохраняться слабость, снижение работоспособности, головная боль, одышка. Кроме того, через 3–4 нед у пациентов возникает потребность в повторных переливаниях эритроцитов [2].

В последние годы для коррекции анемии у больных лимфомами, множественной миеломой и хроническим лимфолейкозом в комплексе с химиопрепаратами широко используют метод медикаментозной стимуляции эритроидного ростка. Он позволяет быстро улучшить общее состояние больного и качество его жизни, в течение 2–3 мес достичь нормальных показателей красной крови, а главное, сократить число трансфузий или вовсе отказаться от них [26, 35]. Эффективность ЭПО-терапии у больных лимфоидными опухолями составляет 60–70% [7, 12, 20, 22–24]. В нашем исследовании в целом по группе больных с анемией эффективность эпоэтина альфа составила 61,9%. Стоимость такого метода лечения для одного больного составляет 90–240 тыс. руб. (в нашем исследовании с использованием отечественного эпоэтина альфа стоимость составляла от 40 до 200 тыс. руб.). В связи с этим в целях обоснованного принятия решения о рациональности при-

менения ЭПО необходимо выявить прогностические факторы, которые предсказывают эффективность лечения. Они позволят ограничить применение ЭПО у той категории пациентов, которые имеют потенциально низкую вероятность ответа, что снизит стоимость средств, затрачиваемых на необоснованное назначение терапии ЭПО у больных лимфопролиферативными заболеваниями [25].

К факторам прогноза эффективности ЭПО-терапии относят:

1. Относительно низкие цифры сывороточного эритропоэтина, не соответствующие степени анемии больного (< 100 мМЕ/мл) [36].

2. Низкое соотношение имеющегося уровня эндогенного эритропоэтина к гипотетическому (предполагаемому) уровню эритропоэтина, который должен быть при данной степени тяжести анемии. Если это соотношение меньше 0,9, то ожидается высокая вероятность ответа на терапию ЭПО.

3. Регистрация первых признаков терапевтического ответа на ранних этапах (2–4 нед) применения препаратов ЭПО: повышение числа ретикулоцитов на 40 000/мл и увеличение уровня гемоглобина на 10 г/л [7, 27, 28, 30, 37].

4. Значительное повышение уровня растворимого трансферрина в сыворотке крови в сочетании с низким исходным уровнем сывороточного эритропоэтина, позволяющее получить до 88% положительных ответов от терапии ЭПО [38].

5. Повышение гемоглобина на 5 г/л в сочетании с исходно низким уровнем сывороточного эритропоэтина (< 100 МЕ/мл) и уровнем ферритина 400 нг/мл позволяет получить положительный ответ до 95% случаев [25, 29].

6. Число гипохромных эритроцитов $\leq 5\%$, ретикулоцитов ≥ 50 000/мл, ферритина сыворотки крови ≥ 100 нг/мл и насыщение трансферрина (растворимые рецепторы к трансферрину) $\geq 20\%$ также благоприятны для терапии ЭПО [39, 40].

Однако перечисленные факторы прогноза не всегда удобны для использования, особенно когда речь идет о сочетании 2 и более лабораторных показателей в динамике. В этой связи нами была поставлена задача поиска информативного лабораторного показателя, позволяющего прогнозировать вероятность положительного ответа на ЭПО-терапию.

Известно, что в патогенезе анемического синдрома у больных с опухолевыми заболеваниями кроветворной системы важную роль играют провоспалительные цитокины, в том числе ФНО- α , интерферон- γ , интерлейкины 1 α и 1 β [13]. Их уровень в сыворотке крови зависит от выраженности ответа организма на опухоль. В то же время считается, что повышенное содержание цитокинов в крови может принимать участие в генезе развития и самой анемии при опухолевых заболеваниях лимфатической системы, даже при нормальных показателях

миелограммы. В частности, установлено, что сверхэкспрессия гена ФНО- α приводит к развитию тяжелой анемии с выраженной ретикулоцитопенией [41]. В работах А. Kato [42] показано, что у пациентов с хронической почечной недостаточностью и наличием резистентной к ЭПО анемии выявлялось повышенное содержание рецептора р80 ФНО- α . Ряд исследователей [12, 30, 43] выявили также отрицательное влияние провоспалительных цитокинов ФНО- α , интерлейкина-1 β , интерлейкина-6 на эффективность терапии ЭПО. Эти данные позволили предположить возможность использования такого лабораторного показателя, как уровень ФНО- α , в качестве фактора прогноза ответа на терапию препаратами рекомбинантного эритропоэтина. Таким образом, низкий уровень ФНО- α предполагает положительный ответ на терапию ЭПО, а его высокий уровень — отсутствие ответа, следовательно, у больных ожидается резистентное течение анемии.

В нашем исследовании у больных лимфопролиферативными заболеваниями выявлено, что исходный уровень ФНО- α сыворотки крови варьировал в широких пределах (от 3,2 до 484,3 пг/мл). При этом он не был связан с тяжестью анемии. Однако мы выявили отчетливую закономерность, сопоста-

вив уровень ФНО- α с ответом на лечение эпоэтином альфа в стандартной дозе (150МЕ/кг 3 раза в нед). У пациентов с положительным ответом ($n=13$) на терапию ЭПО исходный уровень ФНО- α не превышал 15 пг/мл. В то же время в группе пациентов с отсутствием ответа ($n=8$) уровень ФНО- α был существенно выше и в ряде случаев достигал > 400 пг/мл. Лишь у 1 пациентки он был < 15 пг/мл. С помощью оценки уровня ФНО- α нам удалось показать высокую его информативность как фактора прогноза положительного ответа на ЭПО-терапию.

Таким образом, оценка исходного уровня ФНО- α у больных лимфопролиферативными заболеваниями с анемией перед началом лечения препаратами рекомбинантного эритропоэтина позволяет предсказать ответ на данный вид терапии. При низком уровне ФНО- α сыворотки крови ожидается большая вероятность ответа на препараты рекомбинантного эритропоэтина и, наоборот, при высоком уровне — малая вероятность ответа на данный вид лечения. Следовательно, пациентам с высоким уровнем ФНО- α терапия ЭПО не показана. Однако в процессе химиотерапевтического лечения у этих больных нередко снижается уровень ФНО- α , что может служить показанием к назначению ЭПО.

Л и т е р а т у р а

- Kyle R.A. Multiple myeloma: review of 869 cases. *Mayo Clin Proc* 1975;50:29–40.
- Ludwig H., Rai K., Blade J. et al. Management of disease-related anemia in patients with multiple myeloma or chronic lymphocytic leukemia: epoetin treatment recommendations. *Hematol J* 2002;3(3):121–30.
- Moulet L., Salles G., Ketterer N. et al. Frequency and significance of anemia in non-Hodgkin's lymphoma patients. *Ann Oncol* 1998;9(10):1109–15.
- Straus D.J. Epoetin alfa therapy for parameters with hematologic malignancies and mild anemia. *Clin Lymphoma* 2003;4(Suppl 1):13–7.
- Богданов А.Н., Новик А.А. Диагностика и дифференциальная диагностика анемий. *Вестн Гематол* 2005, Т.1;4:63–70.
- Hudis C.A., van Belle S., Chang J., Muenstedt K. rHuEPO and treatment outcomes: the clinical experience. *Oncologist* 2004;9(Suppl. 5):55–69.
- Mittelman M. The implications of anemia in multiple myeloma. *Clin Lymphoma* 2003;4(Suppl 1):23–9.
- Гусева С.А. Анемия при хронических и опухолевых заболеваниях. *Укр. журн. гематол и трансфуз* 2003;4:32–8.
- Rizzo J. Douglas, Lichtin Alan E., Woolf Steven 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. *Blood* 2002;100(7):2303–20.
- Мулле И., Саль Г., Кеттерер Н. и др. Частота и значение анемии у больных с неходжкинскими лимфомами. *Анемия у онкол больных* 2002;1:19–21.
- Littlewood T., Mandelli F. The effects of anemia in hematologic malignancies: more than a symptom. *Semin Oncol* 2002;29(3(Suppl 8)):40–4.
- Romanenko N.A., Rozanova O.E., Glazanova T.V., Abdulkadyrov K.M. A study of the influence of TNF-alpha on the efficacy of treatment with recombinant erythropoietin in patients with lymphoproliferative disorders. *Haematologica* 2010;95(S2):354–5.
- Pierce C.N., Larson D.F. Inflammatory cytokine inhibition of erythropoiesis in patients implanted with a mechanical circulatory assist device. *Perfusion* 2005;20(2):83–90.
- Птушкин В.В. Дискуссионные вопросы применения эритропоэтинов в лечении анемии у пациентов с опухолевыми заболеваниями. *Онкогематол* 2007;2:31–6.
- Jonson J.Y., Waddelow T.A., Caro J. et al. Chronic exposure to tumor necrosis factor in vivo preferentially inhibits erythropoiesis in nude mice. *Blood* 1989;74:130–8.
- Lombard M., Chua E., O'Toole P. Regulation of intestinal non-haem iron absorption. *Gut* 1997;40:435–9.
- Moldawer L.L., Marano M.A., Wei H. et al. Cachectin/ tumor necrosis factor-alpha alters red blood cell kinetics and induces anemia in vivo. *FASEB J* 1989;3:1637–43.
- Романенко Н.А., Абдулкадыров К.М. Лечение анемии у больных с лимфопролиферативными заболеваниями рекомбинантным эпоэтином α . *Клин онкогематол* 2008;1(3):233–7.
- Сараева Н.О. Механизмы развития анемии при гемобластозах. *Гематол и трансфуз* 2007;Т.52(1):31–7.
- Ludwig H., Pohl G., Osterborg A. Anemia in multiple myeloma. *Clin Adv Hematol Oncol* 2004;2(4):233–41.
- Romanenko N.A., Abdulkadyrov K.M. Study of effectiveness recombinant human erythropoietin in lymphoproliferative disorders patients with anemia. *Haematologica* 2010;95(Suppl 2):190.
- Бессмельцев С.С., Романенко Н.А., Абдулкадыров К.М. Эритропоэтины в лечении анемии у пациентов с гематологическими и солидными опухолями. *Вестн Гематол* 2010;6(2):124–35.
- Романенко Н.А. Коррекция и лечение анемии у больных с гемобластомами эритроцитосодержащими компонентами крови и препаратами рекомбинантного эритропоэтина. *Вестн Гематол* 2007;3(4):46–54.
- Osterborg A., Brandberg Y., Molostova V. et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of recombinant human erythropoietin, epoetin Beta, in hematologic malignancies. *J Clin Oncol* 2002;20(10):2486–94.
- Гусева С.А., Дарушин Е.В., Гончаров Я.П. Коррекция анемии рекомбинантным эритропоэтином-альфа у больных миеломной болезнью. *Укр. журн. гематол и трансфуз* 2003;5:11–6.

26. Henry D.H. Guidelines and recommendations for the management of anaemia in patients with lymphoid malignancies. *Drugs* 2007;67(2):175–94.
27. Cazzola M., Messinger D., Battistel V. et al. Recombinant human erythropoietin in anemia associated with multiple myeloma or non-Hodgkin's lymphoma: Dose finding and identification of predictors of respons. *Blood* 1995;86:4446–53.
28. Henry D.H., Clinical application of recombinant erythropoietin in anemic cancer patients. *Hematol Oncol Clin North Am* 1994;8:961–74.
29. Ludwig H., Leitgeb C., Fritz E. et al. Erythropoietin treatment of chronic anemia of cancer. *Europ J Cancer* 1993;29A(Suppl 2):8–12.
30. Musto P., Falcone A.D'Arena et al. Clinical results of recombinant human erythropoietin in transfusion-dependent patients with refractory multiple myeloma; role of cytokines and monitoring of erythropoiesis. *Eur J Haematol* 1997;58:314–9.
31. Cella D. The Functional Assessment of Cancer Therapy-Anemia (FACT-An) Scale: a new tool for the assessment of outcomes in cancer anemia and fatigue. *Semin Hematol* 1997;34(3 Suppl 2):13–9.
32. Straus D.J., Testa M.A., Sarokhan B.J. et al. Quality-of-life and health benefits of early treatment of mild anemia: a randomized trial of epoetin alfa in patients receiving chemotherapy for hematologic malignancies. *Cancer* 2006;107(8):1909–17.
33. Pujade-Lauraine E., Topham C. Once-weekly treatment of anemia in patients with cancer: a comparative review of epoetins. *Oncology* 2005;68(2–3):122–9.
34. De La Motte Rouge T., Schneider M. Anemia in lymphoma. *Bull Cancer* 2005;92(5):429–31.
35. Shehata N., Walker I., Meyer R. et al. The use of erythropoiesis-stimulating agents in patients with non-myeloid hematological malignancies: a systematic review. *Ann Hematol* 2008;87(12):961–73.
36. Cazzola M., Beguin Y., Kloczko J. et al. Once-weekly epoetin beta is highly effective in treating anaemic patients with lymphoproliferative malignancy and defective endogenous erythropoietin production. *Br J Haematol* 2003;122(3):386–93.
37. Takagi M., Migamoto Y., Kosaka M. et al. Clinical significance of serum erythropoietin levels in patients with multiple myeloma. *Rinsho Ketsueki* 1992;33:1151–7.
38. Cazzola M., Messinger D., Battistel V. et al. Recombinant human erythropoietin in anemia associated with multiple myeloma or non-Hodgkin's lymphoma: Dose finding and identification of predictors of respons. *Blood* 1997;90:358a.
39. Beguin Y. Prediction of response to optimize outcome of treatment with erythropoietin. *Semin Oncol* 1998;25(3 Suppl 7):27–34.
40. Katodritou E., Terpos E., Zervas K. et al. Hypochromic erythrocytes (%): a reliable marker for recognizing iron-restricted erythropoiesis and predicting response to erythropoietin in anemic patients with myeloma and lymphoma. *Ann Hematol* 2007;86(5):369–76.
41. Roodman G.D., Johnson R.A., Clifton U. Tumor necrosis factor alpha and the anemia of chronic disease: effects of chronic exposure to TNF on erythropoiesis in vivo. *Adv Exp Med Biol* 1989;271:185–96.
42. Kato A., Odamaki M., Takita T. et al. High blood soluble receptor p80 for tumour necrosis factor-alpha is associated with erythropoietin resistance in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(9):1838–44.
43. Stasi R., Brunetti M., Bussa S. et al. Serum levels of tumour necrosis factor-alpha predict response to recombinant human erythropoietin in patients with myelodysplastic syndrome. *Clin Lab Haematol* 1997;19:197–201.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ У ДЕТЕЙ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

Д.Ю. Качанов^{1,2}, Р.Т. Абдуллаев^{1,3}, Т.В. Шаманская¹, Е.В. Инюшкина^{1,2}, К.В. Добренков¹,
Р.Ф. Савкова², С.Р. Варфоломеева¹

¹ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии
Минздрава России, Москва;

²Московский областной онкологический диспансер, Балашиха;

³Научно-практический центр медицинской помощи детям с пороками развития челюстно-лицевой области
и врожденными заболеваниями нервной системы, Москва

Контакты: Денис Юрьевич Качанов totti111@list.ru

Цель настоящего исследования — изучение распространенности генетических синдромов у детей со злокачественными новообразованиями (ЗН) на территории Московской области (МО). Данные о пациентах были получены из базы данных Детского популяционного канцер-регистра МО. Всего за период с января 2000 по февраль 2010 г. на территории МО зарегистрировано 1173 случая заболевания детей ЗН, из них генетические синдромы выявлены у 35 (3,0%) пациентов. В 9 (25,7%) случаях имела место наследственная ретинобластома, по 8 (22,8%) случаев пришлось на синдром Дауна и нейрофиброматоз I типа. Наиболее часто генетические синдромы выявлялись у больных с ретинобластомой — 31%, герминогенными опухолями — 6,8% и саркомами мягких тканей — 4,5%. Показан повышенный риск развития лейкозов у детей с синдромом Дауна. Относительный риск (ОР) развития лейкозов и острого миелобластного лейкоза (ОМЛ) составил 15,0 (95% ДИ=1,9–333,1) и 57,1 (95% ДИ=9,3–1398,0) соответственно. Подтверждена ассоциация нейрофиброматоза I типа с развитием опухолей центральной нервной системы (ЦНС) и сарком мягких тканей. ОР составил 62,5 (95% ДИ=8,1–1388,6) и 150,0 (95% ДИ=26,9–3480,9) соответственно.

Ключевые слова: дети, злокачественные новообразования, генетические синдромы, канцер-регистр

CANCER PREDISPOSITION SYNDROMES IN CHILDREN

D. Yu. Kachanov^{1,2}, R. T. Abdullaev^{1,3}, T. V. Shamanskaya¹, Ye. V. Inyushkina^{1,2}, K. V. Dobrenkov¹, R. F. Savkova², S. R. Varfolomeeva¹

¹Federal research center of pediatric hematology, oncology and immunology, Moscow;

²Moscow Regional Oncological Hospital, Balashiha,

³Scientific and Applied Center for the Treatment of Children with Craniofacial and Neurological Disorders, Moscow

The aim of the study was to assess the prevalence of cancer predisposition syndromes among children with cancer in Moscow Region (MR). The data on patients were retrieved from the database of Childhood Population-based Cancer Registry of MR. 35 (3.0%) children with cancer predisposition syndromes were revealed among 1173 registered from 2000 till February 2010. The most prevalent syndromes were hereditary retinoblastoma (RB) — 9 (25.7%), Down syndrome — 8 (22.8%) and neurofibromatosis type 1 — 8 (22.8%). Genetic syndromes were observed in patients with retinoblastoma — 31%, germ-cell tumors — 6.8% and soft tissue sarcomas (STS) — 4.5%. The increased risk of development of leukemia in patients with Down syndrome was observed. The relative risk (RR) of 15.0 (95% CI 1.9–333.1) for leukemia and 57.1 (95% CI 9.3–1398.0) for AML was observed. The association of neurofibromatosis type 1 with the development of tumors of central nervous system and soft tissue sarcomas was proved. The RR was 62.5 (95% CI 8.1–1388.6) for CNS tumors and 150.0 (95% CI 26.9–3480.9) for STS.

Key words: children, cancer, cancer predisposition syndromes, cancer registry

Злокачественные новообразования (ЗН) у детей относятся к редким заболеваниям с частотой встречаемости 12–15 на 100 тыс. детского населения [1, 2]. Семейная агрегация ряда ЗН детского возраста была известна еще в XIX в. [3]. В середине прошлого века появились описания случаев развития ЗН у детей с генетическими заболеваниями, такими как синдром Дауна [4]. В дальнейшем было описано несколько десятков генетических синдромов, предрасполагающих к развитию ЗН у детей [5–7]. Тем не менее в настоящее время большинство случаев ЗН, развившихся в дет-

ском возрасте, рассматриваются как спорадические. Показано, что генетическая предрасположенность к формированию опухолевого процесса выявляется лишь у 1–10% пациентов со ЗН [8].

Данные о распространенности генетических синдромов, предрасполагающих к развитию ЗН, у детей в Российской Федерации (РФ) изучены недостаточно полно. Ряд работ посвящен вкладу генетических факторов в возникновение определенных видов ЗН, таких как нефробластома [9]. Однако это не дает представления о масштабах проблемы на уровне

всей популяции детей, страдающих онкологическими заболеваниями.

Цель настоящего исследования — изучение распространенности генетических синдромов у детей со ЗН на территории Московской области (МО).

Пациенты и методы

Данные о пациентах были получены из базы данных Детского популяционного канцер-регистра (КР) МО, регистрирующего случаи заболевания у детей и подростков на территории МО. В базе данных КР проспективно регистрируется информация, способствующая идентификации пациента, и информация, касающаяся заболевания, включающая дату постановки диагноза, локализацию первичного ЗН, гистологический вариант ЗН, распространенность опухолевого процесса, вид лечения, которому подвергся пациент. Кроме того, систематически проводится регистрация сопутствующих заболеваний, включая генетические синдромы.

Для сбора и уточнения информации использовали разработанную карту учета пациентов с онкологическими заболеваниями, состоящих на учете в медицинских учреждениях МО [10]. Карта учета пациентов с онкологическими заболеваниями разработана совместно сотрудниками детского онкологического отделения №7 Московского областного онкологического диспансера и Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии и является документом обязательной ежегодной отчетности руководителей муниципальных управлений/департаментов здравоохранения муниципальных образований МО.

Морфологические диагнозы стратифицировались согласно Международной классификации болезней в онкологии 3-го пересмотра (International Classification of Diseases for Oncology, 3 ed., ICD-O-3) [11], далее опухоли группировались согласно Международной классификации ЗН детского возраста 3-го пересмотра (International Classification of Childhood Cancer, 3 ed., ICC-3) [12]. В исследование включались пациенты со злокачественными опухолями (код биологического поведения по ICD-O-3 «3»). Исключение составили опухоли центральной нервной системы (ЦНС) (диагностическая группа III) и интракраниальные и интраспинальные герминогенные опухоли (диагностическая подгруппа Ха). Согласно международным рекомендациям опухоли, относящиеся к указанным группам, регистрировались вне зависимости от биологического поведения [12].

В исследование включались дети 0–14 лет с установленным диагнозом ЗН и генетическими синдромами, предрасполагающими к развитию ЗН. К наследственным формам ретинобластомы, в основе которых лежит герминальная мутация гена *RBI*, относили все случаи билатеральных опухолей и унilaterальных опухолей при наличии положительного семейного анамнеза [3].

Пациенты, имеющие врожденные аномалии развития, не укладывающиеся в диагностические критерии известных генетических синдромов, предрасполагающих к развитию ЗН, в настоящее исследование не вошли.

В исследование были включены пациенты за период с января 2000 по февраль 2010 г. (122 мес). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ Excel 2003 и Statistica 6.0. Статистический анализ проведен на 01.03.2010 г. Относительный риск (ОР) развития ЗН рассчитывался как отношение наблюдаемого числа случаев заболевания у детей с генетическими синдромами к ожидаемому числу случаев. Ожидаемое число случаев заболевания рассчитывалось как произведение распространенности генетических синдромов в популяции к общему числу зарегистрированных случаев заболевания ЗН у детей. Распространенность синдрома Дауна была рассчитана по данным регистра врожденных пороков развития, функционирующего на территории МО, и составила 1 на 850 человек [13]. Распространенность нейрофиброматоза I типа сопоставима в различных географических регионах и равна 1 на 3000 [14]. Значения *p* и 95% доверительные интервалы (ДИ), ассоциированные с ОР развития ЗН, рассчитывались с использованием двустороннего теста Пуассона (метод Блейкера) в пакете программ R (версия 2.10.1) [15, 16].

Результаты исследования

За период с 2000 по февраль 2010 г. зарегистрировано 1173 случая ЗН у детей, из них генетические синдромы выявлены у 35 (3,0%) пациентов. В 9 (25,7%) случаях имела место наследственная ретинобластома, по 8 (22,8%) случаев пришлось на синдром Дауна и нейрофиброматоз I типа (табл. 1). В 4 (11,4%) случаях диагностирован синдром Ниймеген, в 2 (5,7%) случаях — 46XY дисгенезия гонад, по 1 (2,9%) случаю пришлось на атаксию-телеангиэктазию, синдром Тюрко, туберозный склероз, WAGR синдром

Таблица 1. Генетические синдромы у детей со ЗН

Генетический синдром	Число больных (%), абс.
Наследственная ретинобластома	9 (25,7)
Синдром Дауна	8 (22,8)
Нейрофиброматоз I типа	8 (22,8)
Синдром Ниймеген	4 (11,4)
46XY дисгенезия гонад	2 (5,7)
Атаксия-телеангиэктазия	1 (2,9)
Туберозный склероз	1 (2,9)
Синдром Тюрко	1 (2,9)
WAGR синдром	1 (2,9)
Всего	35 (100,0)

(Wilms tumor, Aniridia, Genital abnormalities, Mental Retardation – нефробластома, аниридия, пороки развития мочеполовой системы, задержка умственного развития).

Наиболее часто генетические синдромы выявлялись у больных с ретинобластомой – 31%, герминогенными опухолями – 6,8% и саркомами мягких тканей – 4,5% (табл. 2).

Таблица 2. Частота встречаемости генетических синдромов в различных группах ЗН у детей

Диагностическая группа	Число больных, абс.	Число больных с генетическими синдромами, (%)
Лейкозы	365	8 (2,2)
Лимфомы	151	4 (2,6)
Опухоли ЦНС	252	6 (2,4)
Нейробластома	71	0 (0,0)
Ретинобластома	29	9 (31,0)
Опухоли почек	73	1 (1,4)
Опухоли печени	19	0 (0,0)
Опухоли костей	70	0 (0,0)
Саркомы мягких тканей	67	3 (4,5)
Герминогенные опухоли	44	3 (6,8)
Карциномы	32	1 (3,1)
Все ЗН	1173	35 (3,0)

Чаше других в популяции детей со ЗН в МО встречалась наследственная ретинобластома. Соотношение мальчики:девочки было равно 1,25:1. Из 9 пациентов с наследственной ретинобластомой в 7 (77,7%) случаях имела место билатеральная опухоль. Медиана возраста на момент постановки диагноза билатеральной ретинобластомы составила 6 мес (разброс 3,2–17,9 мес). Живы с медианой наблюдения 87,1 мес 5 пациентов, 2 – потеряны из-под наблюдения через 44,5 и 45,5 мес с момента постановки диагноза. В 2 (22,3%) случаях имела место унилатеральная опухоль, сочетающаяся с положительным семейным анамнезом. Возраст больных на момент постановки диагноза был 24,4 и 14,1 мес, оба пациента живы с длительностью наблюдения 4,8 и 116,8 мес.

Из 8 пациентов с синдромом Дауна в 4 (50,0%) случаях был диагностирован острый миелобластный лейкоз (ОМЛ), у 2 (25,0%) больных – острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), по 1 (12,5%) случаю пришлось на лимфому и незрелую тератому. Соотношение мальчики:девочки составило 1:1.

Возраст пациентов с синдромом Дауна и ОМЛ варьировал от 21,2 до 41,1 мес. В 3 (75,0%) случаях был диагностирован острый мегакариоцитарный

лейкоз (М7 вариант по FAB-классификации (French-American-British cooperative group)), в 1 (25,0%) случае – ОМЛ без признаков созревания (М1 вариант по FAB-классификации). Родители пациента с ОМЛ, М1 вариантом отказались от терапии – ребенок погиб через 2,3 мес с момента постановки диагноза. Все пациенты с ОМЛ, М7 вариантом живы, двое из них продолжают получать специальное лечение на момент написания статьи.

У 2 пациентов с синдромом Дауна в возрасте 53,2 и 58,7 мес был диагностирован ОЛЛ, ВП-иммуновариант. Оба больных живы с длительностью наблюдения 29,0 и 31,5 мес.

В 1 случае у ребенка в возрасте 9,3 года установлен клинический диагноз неходжкинской лимфомы с поражением внутрибрюшных лимфатических узлов. Морфологически диагноз подтвержден не был. Больной погиб через 0,4 мес с момента постановки диагноза из-за развития полиорганной недостаточности.

У девочки в возрасте 11,5 мес был установлен диагноз незрелой тератомы левой почки. В настоящее время ребенок жив без признаков заболевания (длительность наблюдения 55,6 мес).

ОР развития всех видов ЗН у детей с синдромом Дауна был равен 5,7 (95% ДИ=0,9–126,4), ОР развития лейкоза – 15,0 (95% ДИ=1,9–333,1), ОР развития ОМЛ – 57,1 (95% ДИ=9,3–1398,0) (табл. 3).

За исследуемый период времени выявлено 8 случаев развития ЗН у детей с нейрофиброматозом I типа. Медиана возраста на момент постановки диагноза составила 10 лет. При распределении по полу отмечено превалирование лиц мужского пола, соотношение мальчики:девочки равно 3:1. В 5 (62,5%) случаях были выявлены опухоли ЦНС: у 4 больных диагностированы астроцитарные опухоли, у 1 пациента – менингиома. При распределении больных с опухолями ЦНС по локализации первичной опухоли по 2 (40%) случая пришлось на поражение зрительных нервов и спинного мозга, в 1 (20%) случае отмечено вовлечение четверохолмия. У больной с менингиомой отмечено первично множественное поражение спинного мозга. Четыре пациента с астроцитарными опухолями живы с медианой наблюдения 63,5 мес. Пациентка с менингиомой потеряна из-под наблюдения через 29,6 мес с момента постановки диагноза.

В 3 (37,5%) случаях у пациентов с нейрофиброматозом I типа выявлены саркомы мягких тканей. У 2 больных диагностирована злокачественная опухоль из оболочек периферических нервов с локализацией в области шеи и ягодичной области. Опухоли на момент постановки диагноза признаны неоперабельными. Оба пациента погибли от прогрессирования заболевания через 4,0 и 7,6 мес с момента постановки диагноза. У 1 больного в возрасте 1,4 года установлен диагноз эмбриональной рабдомиосаркомы брюшной полости. В настоящее время пациент

Таблица 3. Относительный риск развития ЗН при синдроме Дауна и нейрофиброматозе I типа

ЗН	Число наблюдаемых больных	Число ожидаемых больных	ОР (95% ДИ)	p
Синдром Дауна				
Лейкозы	6	0,40	15,0 (1,9–333,1)	0,003
ОЛЛ	2	0,33	6,0 (1,5–170,6)	0,16
ОМЛ	4	0,07	57,1 (9,3–1398,0)	< 0,001
Лимфомы	1	0,17	5,8 (0,1–216,8)	0,279
Герминогенные опухоли	1	0,05	20,0 (0,5–744,2)	0,096
Все ЗН	8	1,38	5,7 (0,9–126,4)	0,089
Нейрофиброматоз I типа				
Опухоли ЦНС	5	0,08	62,5 (8,1–1388,6)	< 0,001
Саркомы мягких тканей	3	0,02	150,0 (26,9–3480,9)	< 0,001
Все ЗН	8	0,39	20,5 (3,2–446,1)	< 0,001

жив без признаков заболевания при длительности наблюдения 20,2 мес.

ОР развития ЗН у пациентов с нейрофиброматозом I типа был равен 20,5 (95% ДИ=3,2–446,1). ОР развития опухолей ЦНС и сарком мягких тканей составил 62,5 (95% ДИ=8,1–1388,6) и 150,0 (95% ДИ=26,9–3480,9) соответственно (табл. 3).

У 4 пациентов диагностирован синдром Ниймеген, при этом во всех случаях у больных развивались различные формы гемобластозов. Медиана возраста на момент постановки диагноза составила 7,1 года (разброс 3,6–12,2). При распределении по полу соотношение мальчики:девочки было равно 0,33:1. В 2 (50,0%) случаях у пациентов в возрасте 10,4 и 12,2 года диагностирована диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома. По 1 (25,0%) случаю пришлось на ОЛЛ, ВП-иммунологический вариант и ОМЛ, М5а вариант по FAB-классификации, развившихся в возрасте 3,9 и 3,6 мес, соответственно.

Трое пациентов живы с медианой наблюдения 56,2 мес. Больная с ОМЛ погибла на фоне проведения терапии от инфекционных осложнений.

В 2 случаях выявлено сочетание 46ХУ дисгенезии гонад и дисгерминомы. У обоих пациенток, имеющих женский фенотип, диагноз был подтвержден путем проведения кариотипирования. Возраст на момент постановки диагноза составил 14,4 и 14,6 года. Опухоль исходила из гонад, при этом у одной больной отмечено билатеральное поражение. Обе пациентки живы с длительностью наблюдения 63,7 и 95,6 мес.

Редкие варианты генетических синдромов, выявленные в популяции детей со ЗН, представлены в таблице 4.

Обсуждение

Канцерогенез представляет собой сложный много-стадийный процесс, для реализации которого необходимо несколько последовательных генетических событий. Первой ступенью процесса канцерогенеза могут быть

Таблица 4. Редкие виды генетических синдромов у детей со ЗН

Генетический синдром	Пол	Диагноз	Возраст (годы)	Длительность наблюдения (мес)	Исход
Синдром Тюрко	Ж	Первая опухоль – Глиобластома лобной доли головного мозга	7,8	83,5	Жив
		Вторая опухоль – Аденокарцинома толстой кишки	13,6		
Туберозный склероз	М	Субэпендимальная гигантоклеточная астроцитома левого бокового желудочка	11,2	103,2	Жив
WAGR синдром	М	Билатеральная нефробластома	2,0	23,6	Жив
Атаксия-телеангиэктазия	М	Лимфома Ходжкина, смешанно-клеточный вариант, IIA	10,6	14,3	Умер

наследуемые мутации генов, участвующих в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток. Необходимо подчеркнуть, что под наследственными формами ЗН понимают как генетические изменения, полученные от отца или матери, так и конституциональные мутации, развившиеся в гаметах до оплодотворения [17]. Как уже отмечалось выше, наследственные формы ЗН у детей достаточно редки. В крупном исследовании, проведенном в Великобритании, авторы проанализировали более 16 тыс. случаев ЗН у детей и показали, что частота наследственных форм ЗН составила всего 3,1% [8]. При этом частота встречаемости генетических синдромов варьировала в зависимости от вида ЗН. Наибольший вклад наследственных факторов был выявлен при ретинобластоме (37,2%), опухолях почек (7,2%) и лейкозах (2,6%) [8].

Пропорция пациентов с генетическими синдромами, предрасполагающими к развитию ЗН, полученная в нашем исследовании (3,0%), сопоставима с данными цитируемого выше исследования. Как и в работе английских авторов, наибольший вклад генетических факторов в развитие ЗН отмечался при ретинобластоме (31,0%). Тремя наиболее частыми генетическими синдромами, как у детей со ЗН в МО, так и в Великобритании, служили наследственная ретинобластома, синдром Дауна и нейрофиброматоз I типа.

Ретинобластома является редкой опухолью, на долю которой приходится 2–3% от всех ЗН у детей [1, 2]. В основе развития заболевания лежит мутация в гене *RBI*. Наследственные формы заболевания, обусловленные герминальной мутацией гена *RBI*, описаны в 40% случаев [18]. При наличии герминальной мутации в большинстве случаев развивается билатеральное и/или мультифокальное поражение, реже унилатеральное поражение. Положительный семейный анамнез выявляется примерно в 10% случаев. Показано, что билатеральные опухоли диагностируются раньше, чем унилатеральные. Медиана возраста на момент постановки диагноза составляет 11 и 22 мес соответственно [3]. В группе пациентов с наследственной формой ретинобластомы в МО также было отмечено превалирование случаев билатеральных опухолей, при этом медиана возраста на момент постановки диагноза была равна 6 мес. Тем не менее удельный вес наследственной формы заболевания был меньше ожидаемого, что может быть обусловлено отсутствием данных о семейном анамнезе у части пациентов.

Синдром Дауна (трисомия по хромосоме 21) — один из наиболее частых генетических синдромов, предрасполагающих к развитию ЗН. Большое число опубликованных эпидемиологических исследований подтвердило его ассоциацию с повышенным риском развития лейкозов, особенно ОМЛ [19, 20]. Лейкозы составляют до 95% от всех случаев ЗН у детей с синдромом Дауна [21], при этом механизмы лейкемогенеза существенно отличаются от таковых у пациентов с отсутствием данного синдрома. В качестве ранних событий канцерогенеза

не рассматривается как «дозовый» эффект дополнительной 21-й хромосомы, так и мутации в гене *GATA1*, расположенном на X-хромосоме [22]. ОР развития лейкоза составляет 10–20 [23], при этом для отдельных редких в детской популяции форм лейкозов ОР существенно выше. Так, ОР развития миелодиспластического синдрома у детей с синдромом Дауна равен 175, для острого мегакариоцитарного лейкоза (M7 вариант) ОР составляет 400 [23]. Показано, что у детей с синдромом Дауна риск развития ОЛЛ не зависит от возраста ребенка, тогда как наибольший риск развития ОМЛ отмечается в первые 5 лет жизни [8, 24]. Кумулятивный риск развития лейкоза составляет 2,1% к возрасту 5 лет и только 2,7% к возрасту 30 лет [21]. Интересной особенностью является то, что повышенный риск развития лейкозов, преимущественно в детском возрасте, компенсируется низким риском формирования солидных опухолей, сохраняющимся во взрослом возрасте. Так, международное европейское исследование не выявило ни одного пациента с синдромом Дауна из более чем 6 тыс. больных с нейробластомой [25].

Результаты нашего исследования согласуются с данными других авторов. Из 8 случаев ЗН у детей с синдромом Дауна у 6 пациентов диагностирован острый лейкоз, при этом в 50% случаев был диагностирован острый мегакариоцитарный лейкоз. Наибольший ОР отмечен для ОМЛ, при этом у всех пациентов с ОМЛ возраст на момент постановки диагноза был меньше 5 лет.

Нейрофиброматоз I типа (болезнь Реклингаузена) — относительно частое генетическое заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, в основе которого лежит мутация гена *NFI*. Диагноз в большинстве случаев устанавливается клинически с использованием специально разработанных диагностических критериев [26]. Частота встречаемости ЗН у больных с нейрофиброматозом I типа различается в зависимости от методики сбора информации и включения в исследование больных с астроцитомами зрительных нервов. В работах, анализирующих пациентов с нейрофиброматозом I типа по данным госпитальных регистров, частота ЗН может достигать 18% [27]. Напротив, международное исследование показало, что частота развития опухолей ЦНС (за исключением астроцитом зрительных нервов) и экстракраниальных ЗН (за исключением нейрофибром) не превышает 2,0% и 4,9% соответственно [28]. Между тем при проведении визуализирующих методов исследования число пациентов, имеющих астроцитомы зрительных нервов, может составлять 15% [29]. Крупное популяционное исследование, проведенное в Японии, выявило 56 (0,21%) случаев ЗН (включая глиомы зрительных нервов), ассоциированных с нейрофиброматозом I типа, из более чем 26 тыс. детей со ЗН [30]. Наиболее частые опухоли, за исключением нейрофибром, у пациентов с нейрофиброматозом I типа — опухоли ЦНС и саркомы мягких тканей [27, 30, 31]. Опухоли ЦНС могут поражать различные отделы головного и спинного мозга, однако наиболее излю-

бленной локализацией является вовлечение зрительных нервов. В структуре заболеваемости саркомами мягких тканей преобладают злокачественные опухоли оболочек периферических нервов и рабдомиосаркома.

Частота встречаемости нейрофиброматоза I типа у детей со ЗН в МО (8/1173, 0,68%) была сопоставима с результатами исследований зарубежных авторов. Тем не менее известные трудности сбора информации о пациентах с опухолями ЦНС, обусловленные тем, что ряд больных получает лечение только в специализированных нейрохирургических стационарах и не попадает в поле зрения детских онкологов, могли привести к недоучету части случаев нейрофиброматоза I типа из-за отсутствия информации о сопутствующей патологии у больных. Вместе с тем наше исследование подтвердило ассоциацию нейрофиброматоза I типа с развитием опухолей ЦНС и сарком мягких тканей. ОР развития всех видов ЗН, опухолей ЦНС и сарком мягких тканей у больных с данным синдромом составил 20,5, 62,5 и 150 соответственно. В исследовании английских авторов ОР был равен 16,3, 46,5, и 53,8 [8].

Интересным результатом настоящего исследования явилось выявление 4 случаев синдрома Ниймеген, ассоциированных с развитием ЗН. Данный синдром, описанный в 1981 г., характеризуется триадой симптомов: иммунодефицит, микроцефалия и хромосомная нестабильность [32, 33]. Тип наследования — аутосомно-рецессивный. В основе заболевания лежит мутация в гене *NBS1*, кодирующем белок нибрин, участвующий в репарации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Точная распространенность синдрома в популяции в настоящее время неизвестна, что не позволило нам рассчитать ОР развития ЗН. Данные международного регистра больных с синдромом Ниймеген, опубликованные в 2000 г., свидетельствуют о четкой предрасположенности к развитию ЗН, являющихся наряду с инфекциями наиболее частой причиной смерти больных. Из 55 пациентов, включенных в регистр, ЗН развились у 22 (40%) [32]. Возраст на момент диагноза ЗН варьировал от 1 до 22 лет. Наиболее частыми видами ЗН служили лимфомы (16/22, 72,7%), преимущественно В-клеточные, к редким видам ЗН относились лейкозы, рабдомиосаркома и опухоли ЦНС. В нашем исследовании у 2 (50,0%) больных развилась В-клеточная лимфома, по 1 (25,5%) случаю пришлось на ОЛЛ и ОМЛ.

Полученная в настоящем исследовании частота генетических синдромов, ассоциированных с развитием ЗН, по-видимому, несколько ниже реально существующих величин. С одной стороны, на это могли повлиять особенности сбора информации на популяционном уровне, с другой — недостаточная подготовка врачей-педиатров и детских онкологов в области генетики, затрудняющая выявление указанных синдромов.

Своевременное выявление генетических синдромов, как у здоровых детей, так и у детей с уже развившемся ЗН, является чрезвычайно важным по нескольким причинам. Прежде всего, для многих генетических

синдромов разработаны эффективные программы скрининга с целью выявления ЗН на более ранних стадиях. Примерами могут служить проведение ультразвукового скрининга пациентам с синдромами, предрасполагающими к развитию нефробластомы, такими как изолированная гемигипертрофия, синдром Беквита—Видемана, WAGR синдром [34] и регулярные осмотры офтальмологом детей, имеющих семейный анамнез по ретинобластоме [5]. Тем не менее впервые о наличии генетического синдрома у ребенка чаще всего задумывается детский врач-онколог уже после развития у больного ЗН.

Кроме того, наличие генетического синдрома у больного со ЗН может, с одной стороны, оказывать существенное влияние на прогноз заболевания, а с другой — определять выбор программы противоопухолевой терапии, поскольку для многих заболеваний разработаны специальные протоколы лечения (например, ОМЛ при синдроме Дауна, лимфомы у больных с дефектами репарации ДНК) [35].

Один из важных аспектов ведения пациентов с генетическими синдромами — возможность развития первично-множественных и вторых злокачественных опухолей (ВЗО). Повышенный риск развития ВЗО описан при многих синдромах. Например, показано, что пациенты с наследственной ретинобластомой имеют огромный риск развития ВЗО, существенно превышающий (в 19 раз) риск для общей популяции и пациентов с ненаследственной формой [36].

Кроме того, при ряде генетических синдромов возможно более частое развитие тяжелых отдаленных последствий противоопухолевой терапии, связанное как с повышенной чувствительностью к определенным группам химиопрепаратов и лучевой терапии, так и с уже имеющимися на момент постановки диагноза ЗН заболеваниями отдельных органов и систем организма. Так, показана частая встречаемость застойной сердечной недостаточности у больных с синдромом Дауна и ОМЛ, получавших терапию антрациклинами в связи с наличием у значительной части пациентов врожденного порока сердца [22]. Кумулятивная заболеваемость терминальной хронической почечной недостаточностью к 20 годам наблюдения при нефробластоме составляет 74% у больных с синдромом Денис—Драш и 36% у больных с WAGR синдромом против 0,6% у пациентов, не имеющих указанных заболеваний [37].

Для улучшения выявления семейных форм ЗН чрезвычайно важным является тщательно собранный семейный анамнез, включающий информацию обо всех случаях ЗН в 3 предшествующих поколениях с обязательным указанием возраста на момент постановки диагноза и возраста смерти больных, а также данных об этническом происхождении и возможных близкородственных браках [38]. Одной из мер, которая, по нашему мнению, позволит улучшить выявление генетических синдромов у детей со ЗН, станет активное включение клинического генетика в мультидисциплинарную ко-

манду, занимающуюся оказанием специализированной помощи детям с онкологическими заболеваниями. В пользу этого свидетельствуют данные исследования, проведенного в Нидерландах. Авторы обследовали 1073 лиц, излеченных от ЗН в детском возрасте, и выявили генетические синдромы у 42 (3,9%) больных, при этом в 47,6% (20/42) случаев ранее они не устанавливались

[39]. Кроме того, в случае выявления генетического синдрома необходимо проведение медико-генетического консультирования для решения вопроса о проведении генетического тестирования родственников больного, в первую очередь сиблингов, и необходимости включения их в программы скрининга для раннего выявления ЗН [5].

Л и т е р а т у р а

- Kaatsch P., Spix C. German Childhood Cancer Registry — annual report 2006/07 (1980–2006). Institute of Medical Biostatistics, Epidemiology and Informatics, University of Mainz, Germany, 2008. www.kinderkrebsregister.de. [access 15.08.2009].
- Desandes E., Clavel J., Berger C. et al. Cancer incidence among children in France, 1990–1999. *Pediatr Blood Cancer* 2004;43(7):742–8.
- Lohmann D.R., Gallie B.L. Retinoblastoma: revisiting the model prototype of inherited cancer. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2004;129C(1):23–8.
- Krivit W., Good R.A. The simultaneous occurrence of leukemia and mongolism; report of four cases. *AMA J Dis Child* 1956;91(3):218–22.
- Tischkowitz M., Rosser E. Inherited cancer in children: practical/ethical problems and challenges. *Eur J Cancer* 2004;40(16):2459–70.
- Strahm B., Malkin D. Hereditary cancer predisposition in children: genetic basis and clinical implications. *Int J Cancer* 2006;119(9):2001–6.
- Clericuzio C.L. Recognition and management of childhood cancer syndromes: a systems approach. *Am J Med Genet* 1999;89(2):81–90.
- Narod S.A., Stiller C., Lenoir G.M. An estimate of the heritable fraction of childhood cancer. *Br J Cancer* 1991;63(6):993–9.
- Козлова В.М., Шароев Т.А., Соколова И.Н. и др. Генетическая гетерогенность и клинический полиморфизм билатеральной нефробластомы (опухоли Вильмса). *Детская онкология* 2008;2:13–8.
- Шаманская Т.В. Дескриптивная эпидемиология гемобластозов у детей и подростков Московской области. Дисс. ... кан. мед. наук. М., 2005.
- Fritz A., Percy C., Jack A. et al. (eds). *International Classification of Diseases for Oncology*. 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2000; p. 43–104.
- Steliarova-Foucher E., Stiller C., Lacour B., Kaatsch P. *International Classification of Childhood Cancer*, Third Edition. *Cancer* 2005;103:1457–67.
- Жученко Л.А., Летуновская А.Б., Демикова Н.С. Частота и динамика врожденных пороков развития у детей в Московской области. Материалы регистра врожденных пороков развития за период 2000–2005 гг. *Рос вестн перинат и пед* 2008;2:30–8.
- OMIM 162200. Neurofibromatosis, type 1. [access 01.03.2010]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=162200>.
- Blaker H. Confidence curves and improved exact confidence intervals for discrete distributions. *Canad J of Statist* 2000;28:783–98.
- Fay M.P. Confidence intervals that Match Fisher's exact and Blaker's exact tests. *Biostatistics* 2010;11(2):373–4.
- Plon S.E., Malkin D. Childhood cancer and heredity. In: *Principles & Practice of Pediatric Oncology*. Editor(s): Pizzo P.A., Poplack, D.G. 5th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2005;15–37.
- Sanders B.M., Draper G.J., Kingston J.E. Retinoblastoma in Great Britain 1969–80: incidence, treatment, and survival. *Br J Ophthalmol* 1988;72(8):576–83.
- Mili F., Khoury M.J., Flanders W.D., Greenberg R.S. Risk of childhood cancer for infants with birth defects. I. A record-linkage study, Atlanta, Georgia, 1968–1988. *Am J Epidemiol* 1993;137(6):629–38.
- Bjorge T., Cnattingius S., Lie R.T. et al. Cancer risk in children with birth defects and in their families: a population based cohort study of 5.2 million children from Norway and Sweden. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17(3):500–6.
- Hasle H., Clemmensen I.H., Mikkelsen M. Risks of leukaemia and solid tumours in individuals with Down's syndrome. *Lancet* 2000;355:165–9.
- Zwaan M.C., Reinhardt D., Hitzler J., Vyas P. Acute leukemias in children with Down syndrome. *Pediatr Clin North Am* 2008;55(1):53–70.
- Ross J.A., Spector L.G., Robison L.L., Olshan A.F. Epidemiology of leukemia in children with Down syndrome. *Pediatr Blood Cancer* 2005;44(1):8–12.
- Zeller B., Gustafsson G., Forestier E. et al.; Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology (NOPHO). Acute leukaemia in children with Down syndrome: a population-based Nordic study. *Br J Haematol* 2005;128(6):797–804.
- Satgé D., Sasco A.J., Carlsen N.L.T. et al. A lack of neuroblastoma in Down's syndrome: a study from 11 European countries. *Cancer Res* 1998;58:448–52.
- Gutmann D.H., Aylsworth A., Carey J.C. et al. The diagnostic evaluation and multidisciplinary management of neurofibromatosis 1 and neurofibromatosis 2. *JAMA* 1997;278:51–7.
- Blatt J., Jaffe R., Deutsch M. et al. Neurofibromatosis and childhood tumors. *Cancer* 1986;57:1225–9.
- Friedman J.M., Birch P.H. Type 1 neurofibromatosis: a descriptive analysis of the disorder in 1,728 patients. *Am J Med Genet* 1997;70:138–43.
- Lewis R.A., Gerson L.P., Axelsson K.A. et al. Von Recklinghausen neurofibromatosis. II. Incidence of optic gliomata. *Ophthalmology* 1984;91:929–35.
- Matsui I., Tanimura M., Kobayashi N. et al. Neurofibromatosis type 1 and childhood cancer. *Cancer* 1993;72(9):2746–54.
- Korf B.R. Malignancy in neurofibromatosis type 1. *Oncologist* 2000;5(6):477–85.
- International Nijmegen Breakage Syndrome Study Group. Nijmegen breakage syndrome. *Arch Dis Child* 2000;82:400–6.
- Resnick I.B., Kondratenko I., Togoiev O. et al. Nijmegen breakage syndrome: clinical characteristics and mutation analysis in eight unrelated Russian families. *J Pediatr* 2002;140(3):355–61.
- Green D.M., Breslow N.E., Beckwith J.B., Norkool P. Screening of children with hemihypertrophy, aniridia, and Beckwith-Wiedemann syndrome in patients with Wilms tumor: a report from the National Wilms Tumor Study. *Med Pediatr Oncol* 1993;21(3):188–92.
- Creutzig U., Reinhardt D., Diekamp S. et al. AML patients with Down syndrome have a high cure rate with AML-BFM therapy with reduced dose intensity. *Leukemia* 2005;19(8):1355–60.
- Kleinerman R.A., Tucker M.A., Tarone R.E. et al. Risk of new cancers after radiotherapy in long-term survivors of retinoblastoma: an extended follow-up. *J Clin Oncol* 2005;23(10):2272–9.
- Breslow N.E., Collins A.J., Ritchey M.L. et al. End stage renal disease in patients with Wilms tumor: results from the National Wilms Tumor Study Group and the United States Renal Data System. *J Urol* 2005;174(5):1972–5.
- Acton R.T., Nabell L.M. Assessing genetic risk of cancer. In: *Inherited cancer syndromes: current clinical management*. Editor Ellis C.N. Springer-Verlag, New York;2004:1–29.
- Merks J.H., Caron H.N., Hennekam R.C. High incidence of malformation syndromes in a series of 1,073 children with cancer. *Am J Med Genet A* 2005;134A(2):132–43.

От редакции

Журнал продолжает публикацию современных стандартов и протоколов диагностики и лечения заболеваний, не только объединяемых в раздел онкогематологических, но и состояний, которые часто попадают в поле зрения гематолога или онколога, особенно в структурах амбулаторной сети.

Первичная иммунная тромбоцитопения относится к заболеваниям, начальная диагностика и диспансерное наблюдение которых проводится врачами разных специальностей, от педиатра и терапевта до онкогематолога, особенно в регионарных поликлиниках и стационарах, где нет узкого разделения врачей, занимающихся проблемами патологии гемопоэза, включая цитопенические состояния и гемобластозы.

Рекомендации, подготовленные Российским Советом экспертов, по диагностике и лечению первичной иммунной тромбоцитопении, представляют чрезвычайно полезную информацию, необходимую широкому кругу практикующих врачей и организаторов здравоохранения тех учреждений, которые оказывают помощь больным с такой нередкой патологией.

РЕКОМЕНДАЦИИ РОССИЙСКОГО СОВЕТА ЭКСПЕРТОВ ПО ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНОЙ ИММУННОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИЕЙ

А.А. Масчан¹, А.Г. Румянцев¹, Л.Г. Ковалева², Б.В. Афанасьев³, Т.И. Поспелова⁴, А.Ю. Зарицкий⁵,
К.М. Абдулкадыров⁶, В.В. Птушкин¹, Н.В. Цветаева², И.А. Лисуков³, Г.Н. Салогуб⁷, А.К. Голенков⁸,
Н.В. Медведева⁹, О.А. Рукавицын¹⁰, В.Л. Иванова¹¹, И.В. Маркова³

¹ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии Минздравсоцразвития России, Москва; ²Гематологический научный центр РАМН, Москва; ³Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург; ⁴Кафедра терапии, гематологии и трансфузиологии Новосибирского государственного медицинского университета, Новосибирск; ⁵Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург; ⁶Российский НИИ гематологии и трансфузиологии; ⁷Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова; ⁸Отделение клинической гематологии и иммунотерапии Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М.Ф. Владимирского, Москва; ⁹ГКБ № 31, Санкт-Петербург; ¹⁰Отделение гематологии Главного военного клинического госпиталя им. акад. Н.Н. Бурденко, Москва; ¹¹Городской гематологический центр при ГКБ им. С.П. Боткина, Москва

Контакты: Алексей Александрович Масчан amaschan@mail.ru

Представлены новые рекомендации по диагностике и лечению первичной иммунной тромбоцитопении (ИТП) у взрослых и детей, разработанные на основе современных знаний о патогенезе заболевания и учитывающие возможности гематологической практики в России. Рекомендации основаны на согласованном мнении ведущих международных и российских экспертов по ИТП. Отмечены особенности диагностики ИТП и предложены различные варианты лечения 1, 2 и 3-й линий, включающие новые эффективные лекарственные препараты, недавно появившиеся на российском рынке, в частности, агонисты тромбоцетиновых рецепторов (ромиплостим, элтромбопаг), значительно расширившие возможности консервативного лечения заболевания. Представленные рекомендации могут помочь специалистам-гематологам выработать индивидуальную тактику ведения каждого конкретного больного ИТП и улучшить качество жизни пациентов.

Ключевые слова: иммунная тромбоцитопения, ИТП, терминология, терапия, агонисты рецептора тромбоцетина

GUIDELINES OF RUSSIAN EXPERT COUNCIL ON DIAGNOSTIC AND THERAPY OF PATIENTS WITH PRIMARY IMMUNE THROMBOCYTOPENIA

A.A. Maschan¹, A.G. Rumyantsev¹, L.G. Kovaleva², B.V. Afanasiev³, T.I. Pospelova⁴, A.Yu. Zaritskiy⁵, K.M. Abdulkadyrov⁶, V.V. Ptushkin¹, N.V. Tsvetaeva², I.A. Lisukov³, G.N. Salogub⁷, A.K. Golenkov⁸, N.V. Medvedeva⁹, O.A. Rukavitsyn¹⁰, V.L. Ivanova¹¹, I.V. Markova³

¹Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow; ²Russian Hematological Scientific Center, RAMS, Moscow; ³Raisa Gorbacheva Memorial Institute of Pediatric Hematology and Transplantation, St.-Petersburg State Pavlov Medical University, St.-Petersburg; ⁴Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk; ⁵Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre, St.-Petersburg; ⁶Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St.-Petersburg; ⁷St.-Petersburg State Pavlov Medical University; ⁸M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow; ⁹Municipal Clinical Hospital № 31, St.-Petersburg; ¹⁰N.N. Burdenko Main Military Clinical Hospital, Moscow; ¹¹Municipal Hematological Center, Moscow

New guidelines on diagnosis and treatment of a primary immune thrombocytopenia (ITP) in children and adults, on the basis of modern pathogenesis conceptions and considering possibilities of hematological practice in Russia are presented. Guidelines are based on a consensus of international and Russian experts on ITP. Diagnostic features of ITP are noted and various I, II and III lines treatment, including new effective medical products which have recently appeared in Russia, in particular, trombopoietin receptor agonists (romiplostim, eltrombopag), considerably expanded conservative treatment possibilities are offered. The presented guidelines can help hematologists to develop individual schedule for each given patients with ITP and to improve patients quality of life.

Key words: immune thrombocytopenia, ITP, terminology, treatment, TPO-agonists

Введение

До недавнего времени аббревиатура ИТП означала идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, однако современные представления об иммунной опосредованности заболевания и отсутствие у большинства пациентов каких-либо клинических признаков кровотечения привели к пересмотру терминологии. Наряду с традиционными представлениями о повышенной аутоиммунной деструкции тромбоцитов пришло понимание более сложного патогенеза заболевания, включающего нарушения образования тромбоцитов на фоне поражения клеточно-гуморальных звеньев иммунитета.

В настоящее время первичная иммунная тромбоцитопения (ИТП) — это самостоятельное заболевание, представляющее собой изолированную иммуноопосредованную тромбоцитопению (количество тромбоцитов в периферической крови менее $100 \times 10^9/\text{л}$), возникающую и/или сохраняющуюся без каких-либо явных причин [59, 61]. Выделяют впервые диагностированную, персистирующую (продолжительность 3–12 мес) и хроническую (≥ 12 мес) формы ИТП [61]. Данные эпидемиологических исследований свидетельствуют, что в возрасте от 30 до 60 лет заболевание чаще встречается у женщин [56, 64]. Начало ИТП у взрослых, как правило, бессимптомное и не связано с какими-либо предшествующими вирусными или другими заболеваниями и у большинства пациентов переходит в хроническую форму [68] с широкой вариабельностью симптомов: от отсутствия клинических проявлений или наличия небольших геморрагий до тяжелых желудочно-кишечных, маточных, носовых кровотечений и внутричерепных кровоизлияний. Отмечена определенная связь тяжести тромбоцитопении и вероятности кровотечения [56, 66]. К факторам риска развития кровотечения относят воз-

раст, образ жизни пациента, уремию и др. Все они должны быть тщательно проанализированы и учтены при выработке тактики лечения больного.

Отсутствие единого подхода к ведению больных ИТП и внедрение в клиническую практику новых эффективных лекарственных препаратов, разработанных на основе современных представлений о патогенезе заболевания, привели ведущих российских специалистов гематологов к обсуждению международных рекомендаций по диагностике и лечению ИТП, предложенных ведущими экспертами стран Европы, США и Канады, опубликованных в журнале Blood в январе 2010 г. [59]. В результате обсуждения разработаны рекомендации, адаптированные к возможностям гематологической практики в России. В состав участников Российского Совета экспертов вошли: А.А. Масчан, А.Г. Румянцев, Л.Г. Ковалева, Б.В. Афанасьев, Т.И. Поспелова, А.Ю. Зарицкий, К.М. Абдулкадыров, В.В. Птушкин, Н.В. Цветаева, И.А. Лисуков, Г.Н. Салогуб, А.К. Голеньков, Н.В. Медведева, О.А. Рукавицын, В.Л. Иванова, И.В. Маркова.

Диагностика ИТП

В связи с отсутствием «золотого стандарта» диагностики ИТП все методы обследования разделены на 3 группы: основные, потенциально информативные и тесты с недоказанной или неопределенной информативностью (табл. 1).

Предварительный диагноз ИТП может быть установлен только в том случае, когда данные анамнеза заболевания, физикального обследования, общего анализа крови и результаты исследования мазков периферической крови позволяют исключить другую этиологию тромбоцитопении. Ответ на ИТП-специфическую

Таблица 1. Рекомендации по диагностике ИТП у взрослых

Основные методы обследования	Тесты для диагностики ИТП	
	Потенциально информативные	С недоказанной / неопределенной информативностью
• Анамнез заболевания • Наследственная предрасположенность • Физикальное обследование • Общий анализ крови с определением количества ретикулоцитов • Мазок периферической крови • Определение уровня иммуноглобулинов • Исследование костного мозга • Rh-фактор • Прямой антиглобулиновый тест* • <i>Helicobacter pylori</i>** • ВИЧ • Вирус гепатита С	• Специфические антитела к глико-протеинам тромбоцитов • Антифосфолипидные антитела (в т. ч. антикардиолипин и волчаночный антикоагулянт) • Антитиреоидные антитела и оценка функции щитовидной железы • Тест на беременность у женщин детородного возраста • Антинуклеарные антитела • ПЦР для определения парвовируса и цитомегаловируса	• Тромбопоэтин • Ретикулярные тромбоциты • IgG, связанный с тромбоцитами • Выживаемость тромбоцитов • Время кровотечения • Комплемент сыворотки крови

*Не рекомендовано у пациентов без анемии и повышенного ретикулоцитоза

**В России рутинно не рекомендовано в связи с отсутствием стандартизованных воспроизводимых методик

терапию лишь подтверждает диагноз, но не исключает *вторичную тромбоцитопению*, которая может быть обусловлена следующими патологическими состояниями:

- ВИЧ; гепатит С; другие инфекции и аутоиммунные/иммунодефицитные нарушения (например, системная красная волчанка); злокачественные новообразования (например, лимфопролиферативные заболевания); недавняя вакцинация.
- Заболевания печени (в том числе алкогольный цирроз печени).
- Применение лекарственных препаратов; злоупотребление спиртными напитками и напитками, содержащими хинин; воздействие токсических веществ окружающей среды.
- Заболевания с поражением костного мозга, включая миелодиспластические синдромы, лейкозы, миелофиброз, апластическую анемию и мегалобластную анемию.
- Недавние трансфузии компонентов крови (посттрансфузионная пурпура).
- Наследственные тромбоцитопении.

Тщательный сбор *анамнеза*, как правило, позволяет избежать многих ошибок в диагностике первичной и вторичной тромбоцитопении.

Физикальное обследование больных ИТП обычно не выявляет никаких отклонений. При гипертермии, снижении массы тела, гепатомегалии или лимфаденопатии необходимо провести дополнительное обследование для уточнения причин (ВИЧ-инфекция, системная красная волчанка, лимфопролиферативное заболевание и др.).

При интерпретации результатов *общего анализа крови* следует учитывать, что для ИТП характерна изолированная тромбоцитопения, остальные показатели — в пределах нормы. В ряде случаев возможна анемия, обусловленная либо обширной кровопотерей, которая должна быть пропорциональна объему и продолжительности кровотечения, либо дефицитом железа, связанным с хронической необильной кровопотерей. Оценка количества ретикулоцитов может помочь в определении при-

чины анемии (например, вследствие недостаточного образования или повышенного разрушения эритроцитов).

Исследование *мазков периферической крови* квалифицированным цитологом дает возможность выявить аномалии, исключающие диагноз ИТП, например шизоциты, включения в лейкоциты при мутации гена *MYH9*, чрезмерное количество гигантских или мелких тромбоцитов при наследственной тромбоцитопении, псевдотромбоцитопении и др.

Исследование костного мозга показано всем больным > 60 лет, пациентам с признаками системных заболеваний, а также при решении вопроса о спленэктомии [22, 23, 27, 40]. Рекомендуется проводить и аспирацию, и биопсию костного мозга. Дополнением к морфологической оценке может стать цитогенетическое тестирование и проточная цитометрия, особенно информативная при подозрении на хроническую лимфоцитарную лейкемию [51].

Диагностику *H.pylori* рекомендуется проводить с помощью мочевинового дыхательного теста или определения антигенов *H.pylori* в кале [67]. Российские эксперты советуют обследовать на наличие *H.pylori* только пациентов с отягощенным анамнезом и/или клиническими проявлениями язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки.

Диагностика ВИЧ и вируса гепатита С проводится независимо от их распространенности в месте проживания пациентов и наличия индивидуальных факторов риска. Клинические проявления первичной ИТП и тромбоцитопении, ассоциированной с ВИЧ и гепатитом С, нередко аналогичны и могут на несколько лет опережать другие симптомы этих инфекций [39].

Определение исходного *уровня иммуноглобулинов G, A и M* помогает диагностировать общую вариабельную иммунологическую недостаточность, при которой иммуносупрессивное лечение ИТП относительно противопоказано.

К основным методам обследования в международных рекомендациях отнесен также *прямой антиглобу-*

линовый тест (DAT). По данным литературы, он положителен у 22% больных ИТП [1]. Российские эксперты рекомендуют проводить его только в 2 случаях: больным с анемией, сопровождающейся повышенным ретикулоцитозом, и пациентам, у которых планируется лечение антирезусным иммуноглобулином (анти-D). У последних необходимо определять и **Rh-фактор**, так как препарат эффективен только у резус-положительных больных.

Группа потенциально информативных диагностических тестов включает исследования *специфических антител к гликопротеинам тромбоцитов, антифосфолипидных антител, антитиреоидных антител и оценку функции щитовидной железы, тест на беременность у женщин детородного возраста, исследование антинуклеарных антител, ПЦР для определения парвовируса и цитомегаловируса* [7, 38, 49, 69]. К диагностическим тестам с недоказанной или неопределенной информативностью отнесены исследования тромбопоэтина, ретикулярных тромбоцитов, связанного с тромбоцитами IgG, выживаемости тромбоцитов, времени кровотечения, комплемента сыворотки крови (табл. 1). Ввиду отсутствия или малого количества научных исследований результаты тестов, включенных в 3-ю группу, в настоящее время не могут служить основанием для постановки диагноза ИТП.

Проанализировав все диагностические исследования, популярные в нашей стране, члены Российского Совета экспертов рекомендуют исключить из плана обследования следующие тесты, обладающие низкой чувствительностью и малой доступностью:

1. Определение тромбоцит-ассоциированных антител.
2. Определение антитромбоцитарных антител в сыворотке.
3. Определение уровня гликокалицина в сыворотке.

Лечение ИТП

Вслед за международными рекомендациями российские эксперты акцентируют внимание на индивидуальном подходе к лечению ИТП, который должен быть обусловлен не только уровнем тромбоцитов, но и выраженностью кровотечения; сопутствующими заболеваниями; активностью и образом жизни пациента; осложнениями специфических видов лечения и их переносимостью; возможными вмешательствами, которые могут вызывать кровотечение; доступностью медицинской помощи; ожиданиями больного и его беспокойством по поводу бремени болезни, а также потребностью в других лекарственных средствах, которые могут создать опасность кровотечения. Лечение ИТП не рекомендовано при уровне тромбоцитов более $50 \times 10^9/\text{л}$. Исключением являются кровотечение, травма, оперативное вмешательство, необходимость антикоагулянтной терапии, профессия или образ жизни, представляющие опасность к травмам [72].

Рекомендации, отражающие наиболее распространенные подходы к лечению ИТП, представлены в таблицах 2 и 3. Следует отметить ограниченное число рандомизированных исследований традиционных видов лечения ИТП, кроме того, несовпадение критериев оценки ответов, использованных в различных исследованиях, затрудняет прямое сопоставление отдельных вариантов лечения.

Первая линия терапии

Глюкокортикоиды. Первая линия лечения (табл. 2) впервые диагностированной ИТП включает глюкокортикоидные гормоны (дексаметазон, метилпреднизолон, преднизолон*), внутривенное введение высоких доз поливалентных иммуноглобулинов и антирезусного иммуноглобулина (анти-D) [1, 2, 3, 5, 8, 9, 14, 18, 21, 31, 32, 44, 45, 53, 57, 62, 65, 68, 71].

Таблица 2. Варианты 1-й и 2-й линий лечения ИТП у взрослых

Вариант лечения	Частота ответа	Время до ответа	Продолжительность ответа	Неблагоприятные явления
1-я линия лечения				
Глюкокортикоидные гормоны: <i>дексаметазон</i> 40 мг ежедневно, 4 дня, каждые 2–4 нед, 1–4 цикла	До 90% на начальной стадии лечения	От нескольких дней до нескольких нед	До 50–80% после 3–6 циклов при сроке наблюдения 2–5 лет	Снижение толерантности к глюкозе, угнетение функции надпочечников, синдром Иценко–Кушинга, «стероидная» язва желудка и 12-перстной кишки, эрозивный эзофагит, кровотечения и перфорация ЖКТ, метеоризм, икота, гиперкоагуляция, бессонница, эйфория, возбуждение, тревога, депрессия, развитие вторичных бактериальных, грибковых, вирусных инфекций, повышение массы тела, остеопороз, петехии, гипер-/гипопигментация, генерализованные и местные аллергические реакции
<i>Метилпреднизолон</i> в/в 1000 мг в сут за 1 час, 3–5 дней, 2–6 циклов с интервалом 10–21 день	До 95%	4,7 дня (при высокой дозе)	39 мес у 23% больных	
<i>Предниз(ол)он</i> 0,5–2,0 мг/кг/сут; 2–4 нед	70–80% на начальной стадии лечения	От нескольких дней до нескольких нед	10-летняя безрецидивная выживаемость — 13–15%	

* Здесь и в табл. 2 препараты указаны в алфавитном порядке.

Внутривенное введение иммуноглобулинов 0,4 г/кг/сут, 5 дней; или 1 г/кг/сут, 1–2 дня	До 80% на начальной стадии лечения	От 24 ч до 2–4 дней	От 2–4 нед до нескольких мес (в редких случаях)	Головные боли, преходящая нейтропения, почечная недостаточность, асептический менингит, тромбоз, гиперемия, гипертермия, озноб, утомляемость, тошнота, диарея, колебания АД, тахикардия
Антирезусный иммуноглобулин (анти-D) 50–75 мкг/кг	До 80%; зависит от дозы	4–5 дней	От 3–4 нед до нескольких мес	Гемолитическая анемия (дозолимитирующая), гипертермия, озноб
2-я линия лечения				
Спленэктомия	80%	1–24 дня	2/3 ответов сохраняется на протяжении 5–10 лет без дополнительной терапии	Кровотечение, перипанкреатические гематомы, поддиафрагмальные абсцессы, раневые инфекции, пневмококковая инфекция, гипертермия, синдром генерализованного сепсиса, тромбоз, летальный исход
Агонисты тромбоцетиновых рецепторов: <i>ромиплостим</i> 1–10 мкг/кг подкожно, ежедневно	88% у больных без спленэктомии и 79% — после спленэктомии	1–4 нед (при увеличении уровня тромбоцитов $c < 30$ до $> 50 \times 10^9/\text{л}$)	До 5 лет при продолжении лечения	У 20% больных головная боль, утомляемость. Связанные с лечением серьезные неблагоприятные явления: повышенный уровень костномозгового ретикулина, усугубление тромбоцитопении после прекращения лечения, тромбоз
<i>Элтромбопаг</i> 25–75 мг per os, ежедневно	70% при дозе 50 мг, 81% — при дозе 75 мг	К 15-му дню у $> 80\%$ больных	До 1,5 года при продолжении лечения	У 20% больных головная боль. Связанные с лечением серьезные неблагоприятные явления: повышенный уровень костномозгового ретикулина, усугубление тромбоцитопении после прекращения лечения, тромбоз, нарушения функции печени (13%)
<i>Азатиоприн</i> 1–2 мг/кг (максимум 150 мг/сут)	До 60%	Медленный ответ; лечение может быть продолжено еще 3–6 мес	У 25% больных ответ сохраняется после окончания лечения	Слабость, потливость, повышенный уровень трансаминаз, тяжелая нейтропения с инфекционными осложнениями, панкреатит
<i>Циклоспорин А</i> 5 мг/кг/сут, 6 дней, далее по 2,5–3 мг/кг/сут	Зависит от дозы	3–4 нед	$\geq 50\%$ ремиссий в течение 2 лет	Повышение уровня креатинина, повышение АД, утомляемость, парестезии, миалгии, диспепсия, гипертрихоз, тремор
<i>Циклофосфамид</i> per os, 1–2 мг/кг/сут, 16 нед или 0,3–1,0 г/м ² в/в, 1–3 дозы каждые 2–4 нед	24–85%	1–16 нед	50% стабильных ответов	Нейтропения, острый тромбоз глубоких вен, тошнота, рвота
<i>Даназол</i> 200 мг, 2–4 раза ежедневно	40–67%	3–6 мес	46% ремиссий в течение 119 ± 45 мес	Угри, повышение уровня холестерина, аменорея, аритмии, главным образом при предшествующей кардиопатии
<i>Микофенолата мофетил</i> 1000 мг 2 р/сут, 3–4 нед	До 75%; 45% полных ответов	4–6 нед	Непродолжительное время после прекращения лечения	Головные боли, боли в спине, метеоризм, анорексия, тошнота
<i>Ритуксимаб</i> 375 мг/м ² ежедневно $\times 4$ (могут быть эффективны дозы 100 мг/м ²)	30–60%; 40% полных ответов	2–8 нед	15–20% стабильных ответов на протяжении 3–5 лет	Гипертермия, сыпь или «ссаднение» в горле после первой инфузии, сывороточная болезнь, бронхоспазм, эмболия легочной артерии, окклюзия артерий сетчатки, инфекции
Химиотерапия с включением винкалкалоидов: <i>винкристин</i> в суммарной дозе 6 мг (разовая доза 1–2 мг, ежедневно); <i>винбластин</i> в суммарной дозе 30 мг (разовая доза 10 мг, ежедневно)	10–75% нестабильных ответов	5–7 дней	3–36 мес (в среднем — 10 мес)	Нейропатия, особенно при многократных введениях и у пожилых больных; нейтропения, гипертермия, воспаление или тромбофлебит в месте инфузии

Глюкокортикоиды — первый стандарт 1-й линии лечения ИТП. Рекомендованная доза предниз(ол)она составляет 0,5–2 мг/кг/сут. Сроки лечения колеблются от нескольких дней до 2–3 нед, пока уровень тромбоцитов не возрастет до $\geq 30\text{--}50 \times 10^9/\text{л}$. После этого нужно медленно снижать дозу до полной отмены. Дексаметазон используют в дозе 40 мг/сут на протяжении 4 дней (эквивалентно ~ 400 мг преднизолона в сутки), что дает возможность получить стойкий ответ у 50% больных с впервые выявленной ИТП. Четыре цикла лечения, проводимые каждые 14 дней, эффективны у 86% пациентов, причем в 74% случаев ответ сохраняется в среднем в течение 8 мес [3, 44, 65]. Для окончательной оценки обнадеживающих результатов пульс-терапии нужны рандомизированные исследования с контрольными группами. Пульс-терапия метилпреднизолоном в/в в суточной дозе 1000 мг длительностью 3–5 дней является эффективной терапией ИТП. Доказанного преимущества суточных доз, превышающих 1 г (что типично при расчете дозы для взрослых 30 мг/кг), нет, в то время как количество и тяжесть побочных явлений существенно выше.

Эффективность глюкокортикоидов ограничена дозозависимыми нежелательными явлениями. Для их профилактики Российский Совет экспертов по ИТП рекомендует постепенно снижать дозы препаратов. Консенсуса в отношении общей длительности терапии преднизолоном нет, однако большинство экспертов останавливает лечение в интервале 3–6 мес от начала терапии. При отсутствии эффекта от терапии преднизолоном необходима его полная отмена к концу 5-й недели от начала терапии.

Внутривенные иммуноглобулины (ВВИГ). Внутривенное введение высоких доз поливалентных иммуноглобулинов обеспечивает более быстрое повышение количества тромбоцитов при сопоставимой с глюкокортикоидами частоте ответа [23]. В связи с плохой переносимостью режима однократных введений иммуноглобулинов в дозе 1 г/кг 1–2 инфузии на протяжении 2 дней (повторное введение назначается на следующий день при подъеме количества тромбоцитов $< 50 \times 10^9/\text{л}$). Учитывая возможность плохой переносимости инфузии ВВИГ за 1–2 дня, российские эксперты по ИТП считают возможным использовать у взрослых также и «классический» режим: 0,4 г/кг/сут в течение 5 дней.

При назначении иммуноглобулинов у взрослых необходимо принимать во внимание вероятность того, что ответ будет кратковременным, поэтому основными показаниями к их применению являются ситуации, в которых необходим быстрый подъем тромбоцитов, например на поздних сроках беременности, при подготовке к оперативным вмешательствам.

Антирезусный иммуноглобулин. У больных с положительным Rh-фактором, не подвергавшихся спленэктомии, альтернативным методом контроля

ИТП может быть антирезусный иммуноглобулин (анти-D). Так как в настоящее время в России нет препаратов, разрешенных для внутривенного введения, то Российский Совет экспертов (в отличие от международного консенсуса) рекомендует использовать в нашей стране только подкожное введение анти-D Ig в тех случаях, когда не требуется срочного повышения уровня тромбоцитов.

Вторая линия терапии ИТП

Основная цель 2-й линии лечения ИТП — это достижение того безопасного уровня тромбоцитов, которое снижает риск кровотечения у данного конкретного больного. В настоящее время лечение 2-й линии включает спленэктомию, агонисты тромбоцетиновых рецепторов (ромиплостим, элтромбопаг), азатиоприн, даназол, микофенолата мофетил, ритуксимаб, циклоспорин А, циклофосфамид [1, 4, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 19, 25, 26, 28, 29, 30, 33, 34, 35, 37, 41, 48, 50, 52, 54, 55, 58, 63, 70] (табл. 2). Все они могут быть подразделены на средства, назначаемые однократно или одним курсом (спленэктомию, ритуксимаб), и средства, требующие продолжительного или постоянного введения (кортикостероиды, иммунодепрессанты, агонисты тромбоцетиновых рецепторов).

Длительное время спленэктомию оставалась стандартом 2-й линии лечения взрослых больных ИТП. Как показали проведенные исследования [33, 63, 70], частота ответов на спленэктомию составляет 80%. У 66% больных ремиссия сохраняется на протяжении 5 и более лет без какой-либо дополнительной терапии [24]. При отсутствии полного ответа во многих случаях наблюдается частичный или транзиторный ответ [22, 26], частота рецидивов, которые могут развиваться спустя несколько недель, месяцев и даже лет, составляет порядка 20% [63]. Приблизительно у 14% больных спленэктомию оказывается неэффективной. По данным различных исследований, частота осложнений спленэктомии колеблется в широких пределах и наиболее высока у больных ≥ 65 лет [17, 30, 33, 52, 58, 63]. После лапаротомии осложнения возникают у 12,9% пациентов, после лапароскопии — у 9,6%; летальность составляет 1,0% и 0,2% соответственно [33]. Развитие таких осложнений спленэктомии, как кровотечение, инфекция и тромбоз, требует дополнительных хирургических и терапевтических вмешательств, а также продолжительных и повторных госпитализаций [33]. Одним из осложнений спленэктомии [48] является тромбоэмболия, поэтому все пациенты длительное время должны получать соответствующее профилактическое послеоперационное лечение. Кроме того, на протяжении всей жизни у них сохраняется угроза развития неконтролируемой инфекции, вызванной *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* [4, 19], для профилактики ко-

торой необходима вакцинация и постоянная ревакцинация у детей [15], что создает дополнительные неудобства и снижает качество жизни.

Альтернативой脾эктомии является назначение агонистов тромбопоэтиновых рецепторов, внедрение которых в клиническую практику значительно расширило возможности консервативного лечения ИТП. В настоящее время FDA (Федеральное агентство по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов, США) одобрило только 2 препарата, повышающих выработку тромбоцитов, — ромиплостим и элтромбопаг. Оба прошли серьезные рандомизированные клинические испытания с контрольными группами (I–III фаза) [10, 11, 12, 13, 25, 34, 35, 37, 54] и зарегистрированы в России. В настоящее время период наблюдения за больными ИТП, получающими ромиплостим с обнадеживающе высоким эффектом, достигает уже 5 лет [36].

Ромиплостим применяют в дозе 1–10 мкг/кг в виде еженедельных подкожных инъекций [13, 37]. В двухрандомизированных двойных слепых плацебо-контролируемых исследованиях (III фаза) ромиплостим вводили в течение 6 мес 125 больным, 63 из которых ранее перенесли脾эктомии [37]. Общий показатель тромбоцитарного ответа (уровень тромбоцитов $> 50 \times 10^9/\text{л}$ в течение ≥ 4 из 24 нед исследования) у неоперированных пациентов достиг 88%, у больных, перенесших脾эктомии, он составил 79% (уровень доказательности 1b). В контрольных группах, получавших плацебо, показатели были значительно хуже: только 14% и 0% соответственно [37]. По данным двух исследований, 87% больных, получавших ромиплостим, снизили дозы или полностью прекратили сопутствующую терапию ИТП, в том числе кортикостероиды и внутривенные введения иммуноглобулинов [37]. Длительные наблюдения показывают сохранение ответа на ромиплостим в течение, как минимум, 5 лет [36], что является важным и обнадеживающим результатом, так как касается больных, ранее получавших иммуносупрессивную терапию в течение длительного времени.

Элтромбопаг — таблетированный непептидный агонист тромбопоэтиновых рецепторов — назначают в дозе 25, 50 или 75 мг ежедневно [10, 13, 25]. Исследования показали эффективность препарата у 59% больных хронической рецидивирующей или рефрактерной ИТП ($n=114$) [13]. Увеличение уровня тромбоцитов до $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$ отмечено на 43-й день лечения (в группе больных, получавших плацебо, частота ответа составила 16%) [13].

Агонисты тромбопоэтиновых рецепторов назначают постоянно для поддержания уровня тромбоцитов, предохраняющего от кровоточивости и/или кровотечений. После прекращения лечения у большинства больных уровень тромбоцитов уменьшается до исходного уровня и ниже, однако в некоторых

случаях наблюдается стойкая ремиссия, и лечение может быть успешно прекращено [37].

Третья линия терапии ИТП

Варианты 3-й линии лечения ИТП представлены в таблице 3 [6, 10, 11, 12, 13, 16, 20, 37, 42, 43, 46, 47, 60]. Для взрослых рекомендованы агонисты тромбопоэтиновых рецепторов (ромиплостим, элтромбопаг). Комбинации вариантов терапии, использовавшихся в 1 и 2-й линии, комбинированная химиотерапия, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток и алемтузумаб (кэмпас) могут рассматриваться в качестве терапии 3-й линии лишь в редких случаях, только после тщательного анализа соотношения риск/польза.

Агонисты тромбопоэтиновых рецепторов ромиплостим и элтромбопаг являются единственными терапевтическими средствами, эффективность которых при рефрактерной ИТП доказана в рандомизированных исследованиях с контрольными группами. Учитывая низкую токсичность и хорошую переносимость препаратов, многие больные могут предпочесть принимать эти препараты неопределенно долгое время. К настоящему времени наблюдение за пациентами, получающими ромиплостим, продолжается уже 5 лет. Положительный эффект лечения сохраняется, накопления нежелательных явлений нет [10, 11, 12, 13, 36, 37].

В заключение данного раздела целесообразно остановиться на конкретных рекомендациях Российского Совета экспертов по лечению взрослых больных хронической ИТП: для 1-й линии терапии показаны те же препараты, что и для 1-й линии лечения впервые выявленной ИТП. При их недостаточной эффективности (отсутствие ответа или рецидивирующее течение) или неприемлемых побочных эффектах (главным образом, глюкокортикоиды) можно использовать варианты 2-й линии лечения, большинство из которых являются иммуносупрессивной терапией.

По данным исследований, выполненных у больных тяжелой хронической ИТП, лишь 2 метода обладают высокой эффективностью:脾эктомия и консервативное лечение агонистами тромбопоэтиновых рецепторов (ромиплостим, элтромбопаг). Спленэктомия — это метод, не требующий поддерживающей терапии для обеспечения безопасного количества тромбоцитов, однако риск оперативного вмешательства, послеоперационных осложнений (например, тромбоз печеночных вен) и пожизненный риск развития инфекции ограничивают его применение. Альтернативой脾эктомии служит консервативное лечение ромиплостимом или элтромбопагом. Их главное преимущество — альтернативный механизм действия, не имеющий отношения к иммуносупрессии.

Учитывая невозможность прогнозирования ответа на тот или иной вид традиционного медикаментозного лечения 2-й линии, высокую вероятность

рецидива и потенциально смертельные осложнения множественных попыток иммуносупрессии, российские эксперты категорически возражают против «ожесточенного» поиска иммуносупрессивной терапии 2-й линии, эффективной лишь для конкретного пациента. Они рекомендуют сразу рассматривать возможность лечения агонистами тромбопоэтиновых рецепторов (ромиплостим, элтромбопаг) или спленэктомии у больных тяжелой хронической ИТП, резистентной к терапии 1-й линии.

Рассмотрев рекомендации по диагностике и лечению ИТП у детей, члены Российского Совета экспертов выделили следующее:

- При постановке первичного диагноза ИТП у детей следует проводить оценку всей истории болезни, результатов физикального обследования, расширенного анализа крови и квалифицированную оценку мазков периферической крови. Наличие изолированной тромбоцитопении и отсутствие отклонений при физикальном обследовании или в мазке периферической крови является основанием для отказа от аспирации костного мозга у детей.

- У детей с острой ИТП и мягким течением за-

болевания можно использовать «выжидательную тактику» с гарантированной возможностью круглосуточного обращения за медицинской помощью. Для исключения вторичной ИТП такие пациенты нуждаются в повторных клинических и лабораторных обследованиях, частота которых зависит от проявлений заболевания и направленности сдвигов уровня тромбоцитов.

- Детям с повышенной физической активностью можно проводить периодическое профилактическое лечение, направленное на увеличение количества тромбоцитов, однако при этом необходимо тщательно проанализировать соотношение риск/польза (включая расходы и неблагоприятные явления, связанные с медикаментозной терапией).

- Рекомендации по терапии 1-й линии у детей должны учитывать высокую вероятность спонтанного восстановления количества тромбоцитов до достаточного гемостатического уровня. Поэтому лечение глюкокортикоидами независимо от его эффективности не должно превышать 4 недели.

Можно назначить короткий курс преднизолона (1–2 мг/кг/сут) с редукцией дозы в зависимости от

Таблица 3. Варианты 3-й линии лечения ИТП у взрослых

Вариант лечения	Частота ответа	Время до ответа	Продолжительность ответа	Неблагоприятные явления
Категория А: варианты лечения, подтвержденные достаточным количеством данных				
Агонисты тромбопоэтиновых рецепторов: ромиплостим 1–10 мкг/кг подкожно, еженедельно	88% у больных без спленэктомии и 79% — после спленэктомии	1–4 нед (при увеличении уровня тромбоцитов с < 30 до $> 50 \times 10^9/\text{л}$)	До 5 лет при продолжении лечения	У 20% больных головная боль, утомляемость. Связанные с лечением серьезные неблагоприятные явления: повышенный уровень костномозгового ретикулина, усугубление тромбоцитопении после прекращения лечения, тромбоз
Элтромбопаг 25–75 мг per os, ежедневно	70% при дозе 50 мг, 81% — при дозе 75 мг	К 15-му дню у $> 80\%$ больных	До 1,5 лет при продолжении лечения	У 20% больных головная боль. Связанные с лечением серьезные неблагоприятные явления: повышенный уровень костномозгового ретикулина, усугубление тромбоцитопении после прекращения лечения, тромбоз, нарушения функции печени (13%)
Категория В: варианты лечения, подтвержденные минимальным количеством данных, и варианты с потенциально серьезными неблагоприятными явлениями				
Сампат-1Н	67%	1 нед–9 мес	В течение 24 мес рецидивы у всех, кроме 1 больного	Гипертермия, озноб, внутричерепные кровоизлияния, тромбоз церебральных вен, тяжелый внутрисудистый гемолиз, инфекции, летальный исход
Комбинированная химиотерапия	$> 60\%$	2–3 мес	Длительная ремиссия у 2/3 больных	Вторичные злокачественные новообразования (острый лейкоз), незначительные тошнота и рвота, алоpecia, угри, геморрагический цистит, нейропатия, панцитопения
Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток	43%	5 нед	Длительная полная ремиссия — у 1/3 больных. Поздние рецидивы (2 года)	Частые серьезные неблагоприятные явления в пери- и посттрансплантационном периоде: инфекции, кровотечения, миелосупрессия, анорексия, реакция «трансплантат против хозяина», летальный исход

количества тромбоцитов и быстрой отменой лечения. В качестве альтернативы можно использовать метилпреднизолон (4 мг/кг/сут) на протяжении 4–7 дней.

У детей стандартный подход к внутривенному введению высоких доз поливалентных иммуноглобулинов – это однократное введение в дозе 0,8–1 г/кг. Повторное введение проводится на следующий день, если количество тромбоцитов < 50×10⁹/л.

• Неотложная терапия у детей с внутримозговыми кровоизлияниями или иными серьезными кровотечениями включает трансфузии тромбоцитов в сочетании с внутривенным введением стероидов и высоких доз поливалентных иммуноглобулинов.

• Для терапии 2-й линии у детей успешно используется ритуксимаб, который в некоторых случаях может стать альтернативой脾эктомии. Однако нужны дополнительные исследования для оценки безопасности ритуксимаба у детей в долгосрочной перспективе.

В период ожидания самопроизвольной ремиссии или решения вопроса о проведении лечения, изменяющего течение заболевания, кровотечения можно сдерживать с помощью пульс-терапии высокими до-

зами глюкокортикоидов или регулярным внутривенным введением высоких доз поливалентных иммуноглобулинов.

• Спленэктомия редко показана детям с ИТП и должна проводиться только после консультации гематолога, имеющего опыт лечения детей, больных ИТП. Одним из показаний к спленэктомии может быть кровотечение, угрожающее жизни, и тяжелое течение хронической ИТП (более 12–24 мес), протекающей без ремиссий и с кровотечениями и существенно ухудшающей качество жизни.

Российские эксперты настоятельно советуют всем специалистам-гематологам ознакомиться с полным текстом международного консенсуса, представленным в журнале *Blood* [59], и принять участие в дальнейшем обсуждении данной проблемы. Следует подчеркнуть, что ни международные, ни российские рекомендации не могут описать всех ситуаций, возникающих при обследовании и лечении пациентов с ИТП. Окончательное решение о тактике ведения каждого конкретного больного остается за лечащим врачом, который несет полную ответственность за жизнь и здоровье пациента.

Л и т е р а т у р а

- Aledort L.M., Hayward C.P., Chen M.G., Nichol J.L., Bussel J. Prospective screening of 205 patients with ITP, including diagnosis, serological markers, and the relationship between platelet counts, endogenous thrombopoietin, and circulating antithrombopoietin antibodies. *Am J Hematol* 2004;76(3):205–13.
- Alpdogan O., Budak-Alpdogan T., Ratip S. et al. Efficacy of high-dose methylprednisolone as a first-line therapy in adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1998;103(4):1061–3.
- Andersen J.C. Response of resistant idiopathic thrombocytopenic purpura to pulsed high-dose dexamethasone therapy. *N Engl J Med* 1994;30(22):1560–4.
- Balmer P., Falconer M., McDonald P. et al. Immune response to meningococcal serogroup C conjugate vaccine in asplenic individuals. *Infect Immun* 2004;72(1):332–7.
- Ben-Yehuda D., Gillis S., Eldor A. Clinical and therapeutic experience in 712 Israeli patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. Israeli ITP Study Group. *Acta Haematol* 1994;91(1):1–6.
- Boruchov D.M., Gururangan S., Driscoll M.C., Bussel J.B. Multiagent induction and maintenance therapy for patients with refractory immune thrombocytopenic purpura (ITP). *Blood* 2007;110(10):3526–31.
- Brighton T.A., Evans S., Castaldi P.A., Chesterman C.N., Chong B.H. Prospective evaluation of the clinical usefulness of an antigen-specific assay (MAIPA) in idiopathic thrombocytopenic purpura and other immune thrombocytopenias. *Blood* 1996;88(1):194–201.
- Bussel J. Intravenous immune serum globulin in immune thrombocytopenia: clinical results and biochemical evaluation. *Vox Sang* 1985;49 (Suppl 1):44–50.
- Bussel J.B. Autoimmune thrombocytopenic purpura. *Hematol Oncol Clin North Am* 1990;4(1):179–91.
- Bussel J.B., Cheng G., Saleh M.N. et al. Eltrombopag for the treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 2007;357(22):2237–47.
- Bussel J.B., Kuter D.J., George J.N. et al. AMG 531, a thrombopoiesis-stimulating protein, for chronic ITP. *N Engl J Med* 2006;355(16):1672–81.
- Bussel J.B., Kuter D.J., Pullarkat V. et al. Safety and efficacy of long-term treatment with romiplostim in thrombocytopenic patients with chronic ITP. *Blood* 2009;113(10):2161–71.
- Bussel J.B., Provan D., Shamsi T. et al. Effect of eltrombopag on platelet counts and bleeding during treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2009;373(9664):641–8.
- Cayco A.V., Perazella M.A., Hayslett J.P. Renal insufficiency after intravenous immune globulin therapy: a report of two cases and an analysis of the literature. *J Am Soc Nephrol* 1997;8(11):1788–94.
- Center for Disease Control. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): use of vaccines and immunoglobulins in persons with altered immunocompetence. *MMWR* 1993;42 (RR-4):1–18.
- Cohen Y.C., Djulbegovic B., Shamai-Lubovitz O., Mozes B. The bleeding risk and natural history of idiopathic thrombocytopenic purpura in patients with persistent low platelet counts. *Arch Intern Med* 2000;160(11):1630–8.
- Cortelazzo S., Finazzi G., Buelli M. et al. High risk of severe bleeding in aged patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1991;77(1):31–3.
- Cunningham-Rundles C., Knight A.K. Common variable immune deficiency: reviews, continued puzzles, and a new registry. *Immunol Res* 2007;38(1–3):78–86.
- de Montalembert M., Lenoir G. Antibiotic prevention of pneumococcal infections in asplenic hosts: admission of insufficiency. *Ann Hematol* 2004;83(1):18–21.
- Figuerola M., Gehlsen J., Hammond D. et al. Combination chemotherapy in refractory immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1993;328(17):1226–9.
- George J.N., el-Harake M.A., Raskob G.E. Chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1994;331(18):1207–11.
- George J.N., Woolf S.H., Raskob G.E. et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura: a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. *Blood* 1996;88(1):3–40.
- Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and in pregnancy. *Br J Haematol* 2003;120(4):574–96.
- Houwerzijl E.J., Blom N.R., van der Want J.J. et al. Ultrastructural study shows morphologic features of apoptosis and para-apoptosis in megakaryocytes from patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2004;103(2):500–6.
- Jenkins J.M., Williams D., Deng Y. et al. Phase

- 1 clinical study of eltrombopag, an oral, nonpeptide thrombopoietin receptor agonist. *Blood* 2007; 109(11):4739–41.
26. Johansson E., Engervall P., Landgren O. et al. Response to splenectomy is durable after a certain point in time in adult patients with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol* 2006;77(1):61–6.
27. Jubelirer S.J., Harpold R. The role of the bone marrow examination in the diagnosis of immune thrombocytopenic purpura: case series and literature review. *Clin Appl Thromb Hemost* 2002;8(1):73–6.
28. Kaplinsky C., Spierer Z. Post-splenectomy antibiotic prophylaxis—unfinished story: to treat or not to treat? *Pediatr Blood Cancer* 2006;47(Suppl 5):740–1.
29. Kaushansky K. Thrombopoietin: the primary regulator of megakaryocyte and platelet production. *Thromb Haemost* 1995;74(1):521–5.
30. Keidar A., Sagi B., Szold A. Laparoscopic splenectomy for immune thrombocytopenic purpura in patients with severe refractory thrombocytopenia. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003;33(2):116–9.
31. Kitchens C.S., Weiss L. Ultrastructural changes of endothelium associated with thrombocytopenia. *Blood* 1975;46(4):567–78.
32. Kitchens C.S. Amelioration of endothelial abnormalities by prednisone in experimental thrombocytopenia in the rabbit. *J Clin Invest* 1977;60(5):1129–34.
33. Kojouri K., Vesely S.K., Terrell D.R., George J.N. Splenectomy for adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura: a systematic review to assess long-term platelet count responses, prediction of response, and surgical complications. *Blood* 2004;104(9):2623–34.
34. Kumagai Y., Fujita T., Ozaki M. et al. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of AMG 531, a thrombopoiesis-stimulating peptibody, in healthy Japanese subjects: a randomized, placebocontrolled study. *J Clin Pharmacol* 2007;47(12):1489–97.
35. Kuter D.J. New thrombopoietic growth factors. *Blood* 2007;109(11):4607–16.
36. Kuter D. et al. Evaluation of efficacy and safety of long-term romiplostim treatment for patients with immune thrombocytopenia (ITP) enrolled in an open-label extension study: A patient cohort analysis. *EHA 2010: Abstract №0189*.
37. Kuter D.J., Bussel J.B., Lyons R.M. et al. Efficacy of romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura: a double-blind randomised controlled trial. *Lancet* 2008;371(9610):395–403.
38. Liebman H. Other immune thrombocytopenias. *Semin Hematol* 2007;44(4 Suppl 5):24–34.
39. Liebman H.A., Stasi R. Secondary immune thrombocytopenic purpura. *Curr Opin Hematol* 2007;14(5):557–73.
40. Mak Y.K., Yu P.H., Chan C.H., Chu Y.C. The management of isolated thrombocytopenia in Chinese adults: does bone marrow examination have a role at presentation? *Clin Lab Haematol* 2000;22(6):355–8.
41. Makris M., Greaves M., Winfield D.A., Preston F.E., Lilleyman J.S. Long-term management after splenectomy. *Lifelong penicillin* unproved in trials. *BMJ* 1994;308(6921):131–2.
42. Mathias S.D., Bussel J.B., George J.N. et al. A disease-specific measure of health-related quality of life for use in adults with immune thrombocytopenic purpura: its development and validation. *Health Qual Life Outcomes* 2007;5:11.
43. Mathias S.D., Gao S.K., Miller K.L. et al. Impact of chronic Immune Thrombocytopenic Purpura (ITP) on health-related quality of life: a conceptual model starting with the patient perspective. *Health Qual Life Outcomes* 2008;6:13.
44. Mazzucconi M.G., Fazi P., Bernasconi S. et al. Therapy with high-dose dexamethasone (HD-DXM) in previously untreated patients affected by idiopathic thrombocytopenic purpura: a GIMEMA experience. *Blood* 2007;109(4):1401–7.
45. McMillan R. Chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1981;304(19):1135–47.
46. McMillan R. Long-term outcomes after treatment for refractory immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 2001;344(18):1402–3.
47. McMillan R., Bussel J.B., George J.N., Lalla D., Nichol J.L. Self-reported health-related quality of life in adults with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* 2008;83(2):150–4.
48. McMillan R., Durette C. Long-term outcomes in adults with chronic ITP after splenectomy failure. *Blood* 2004;104(4):956–60.
49. McMillan R., Wang L., Tani P. Prospective evaluation of the immunobead assay for the diagnosis of adult chronic immune thrombocytopenic purpura (ITP). *J Thromb Haemost* 2003;1(3):485–91.
50. McMullin M., Johnston G. Long term management of patients after splenectomy. *BMJ* 1993;307(6916):1372–3.
51. Mittal S., Blaylock M.G., Culligan D.J., Barker R.N., Vickers M.A. A high rate of CLL phenotype lymphocytes in autoimmune hemolytic anemia and immune thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 2008;93(1):151–2.
52. Naouri A., Feghali B., Chabal J. et al. Results of splenectomy for idiopathic thrombocytopenic purpura. Review of 72 cases. *Acta Haematol* 1993;89(4):200–3.
53. Newland A.C., Treleaven J.G., Minchinton R.M., Waters H. High-dose intravenous IgG in adults with autoimmune thrombocytopenia. *Lancet* 1983;1(8316):84–7.
54. Newland A., Caulier M.T., Kappers-Klunne M. et al. An open-label, unit dose-finding study of AMG 531, a novel thrombopoiesis-stimulating peptibody, in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2006;135(4):547–553.
55. Newland A., Provan D., Myint S. Preventing severe infection after splenectomy. *BMJ* 2005;331(7514):417–8.
56. Neylon A.J., Saunders P.W., Howard M.R., Proctor S.J., Taylor P.R. Clinically significant newly presenting autoimmune thrombocytopenic purpura in adults: a prospective study of a population-based cohort of 245 patients. *Br J Haematol* 2003;122(6):966–74.
57. Pizzuto J., Ambriz R. Therapeutic experience on 934 adults with idiopathic thrombocytopenic purpura: Multicentric Trial of the Cooperative Latin American group on Hemostasis and Thrombosis. *Blood* 1984;64(6):1179–83.
58. Portielje J.E., Westendorp R.G., Kluin-Nelemans H.C., Brand A. Morbidity and mortality in adults with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2001;97(9):2549–54.
59. Provan D., Stasi R., Newland A., Blanchette V., Bolton-Maggs P. et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood* 2010;115(2):168–186.
60. Psaila B., Bussel J.B. Refractory immune thrombocytopenic purpura: current strategies for investigation and management. *Br J Haematol* 2008;143(1):16–26.
61. Rodeghiero F., Stasi R., Gernsheimer T. et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood* 2009;113(11):2386–93.
62. Schiavotto C., Ruggeri M., Rodeghiero F. Adverse reactions after high-dose intravenous immunoglobulin: incidence in 83 patients treated for idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) and review of the literature. *Haematologica* 1993;78(6 Suppl 2):35–40.
63. Schwartz J., Leber M.D., Gillis S. et al. Long term follow-up after splenectomy performed for immune thrombocytopenic purpura (ITP). *Am J Hematol* 2003;72(2):94–8.
64. Segal J.B., Powe N.R. Prevalence of immune thrombocytopenia: analyses of administrative data. *J Thromb Haemost* 2006;4(11):2377–83.
65. Stasi R., Brunetti M., Pagano A. et al. Pulsed intravenous high-dose dexamethasone in adults with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood Cells Mol Dis* 2000;26(6):582–6.
66. Stasi R., Evangelista M.L., Stipa E. et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura: current concepts in pathophysiology and management. *Thromb Haemost* 2008;99(1):4–13.
67. Stasi R., Sarpatwari A., Segal J.B. Effects of eradication of *Helicobacter pylori* infection in patients with immune thrombocytopenic purpura. A systematic review. *Blood* 2009;113(6):1231–40.
68. Stasi R., Stipa E., Masi M. et al. Long-term observation of 208 adults with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Med* 1995;98(5):436–42.
69. Stasi R., Stipa E., Masi M. et al. Prevalence and clinical significance of elevated antiphospholipid antibodies in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1994;84(12):4203–8.
70. Vianelli N., Galli M., de Vivo A. et al. Efficacy and safety of splenectomy in immune thrombocytopenic purpura: long-term results of 402 cases. *Haematologica* 2005;90(1):72–7.
71. Von dem Borne A.E., Vos J.J., Pegels J.G., Thomas L.L., van der Lelie. High dose intravenous methylprednisolone or high dose intravenous gammaglobulin for autoimmune thrombocytopenia. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1988;296(6617):249–50.
72. Yang R., Han Z.C. Pathogenesis and management of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: an update. *Int J Hematol* 2000;71(1):18–24.

БЕНДАМУСТИН: НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА ЛЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА

Е.А. Никитин

Гематологический научный центр РАМН, Москва

Контакты: Евгений Александрович Никитин eugene_nikitin@mail.ru

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) — самый частый вид лейкозов у взрослых. Несмотря на значительные достижения в терапии этого заболевания у молодых пациентов, лечение пожилых больных представляет большую проблему, прежде всего из-за неудовлетворительной переносимости режимов, содержащих пуриновые аналоги. В 2010 г. в России зарегистрирован новый препарат рибомустин, сочетающий в себе свойства алкилирующих соединений и аналогов пуринов. Большое преимущество рибомустина состоит в его низкой токсичности. В нескольких исследованиях показано, что рибомустин эффективен как в ситуации рецидива, так и в терапии 1-й линии больных ХЛЛ. В данном обзоре рассматриваются результаты клинических испытаний рибомустина у больных ХЛЛ.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, бендамустин, рибомустин

BENDAMUSTINE: A NEW VIEW ON TREATMENT OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Ye.A. Nikitin

Hematological Scientific Center, Moscow

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most frequent leukemia type in adults. Despite significant achievements in therapy of this disease in young adults, treatment of elderly patients represents the problem, first of all, because of the unsatisfactory acceptability of the regimens containing purine analogues. The new drug — ribomustine — combining properties of alkylating agents and purine analogues is registered in 2010 in Russia. The major advantage of ribomustine is its low toxicity. In several researches it is shown, that ribomustine is effective both in relapse and as front line therapy in CLL patients. Results of clinical studies of ribomustine in CLL patients are discussed in the given review.

Key words: chronic lymphocytic leukemia, bendamustine, ribomustine

Введение

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) — самый частый вид лейкозов у взрослых [1]. В последние годы продолжительность жизни больных ХЛЛ увеличилась благодаря появлению новых высокоэффективных препаратов — аналогов пуринов и моноклональных антител [2–4]. Однако это касается пациентов < 65 лет. У пожилых больных существенного прогресса нет. Между тем ХЛЛ — болезнь людей преимущественно пожилого возраста [5]. Проведение химиотерапии пожилому пациенту с множеством сопутствующих заболеваний представляет собой серьезную задачу. Токсичность лечения является лимитирующим фактором, не позволяющим добиться успеха в этой группе больных. Если обратить внимание на причины смерти, указанные в одном из немногочисленных клинических исследований, посвященных пожилым больным (исследование CLL5 немецкой группы), большинство смертей связано именно с ХЛЛ и его осложнениями, а не с другими причинами [6]. Поэтому поиск нетоксичных вариантов лечения является одной из основополагающих задач в терапии этой болезни.

ХЛЛ в настоящее время неизлечим. Выбор терапии 2-й линии зависит от срока наступления рецидива, от того, какая терапия проводилась исходно и как ее переносил пациент [2]. Любые химиотерапевтические режимы в ситуации рецидива более токсичны, чем в терапии 1-й линии. Рецидивы хуже поддаются терапии нередко именно из-за худшей переносимости больными терапии 2-й и последующих линий, поэтому снижение токсичности химиотерапевтических режимов особенно важно в ситуации рецидива [7–9].

Бендамустин — алкилирующий препарат, синтезированный в Германии. Авторы ставили задачу создать препарат, сочетающий в себе свойства алкилирующего соединения и антиметаболита [10]. Бендамустин широко применялся в Германии для лечения ХЛЛ [11–15], неходжкинских лимфом (НХЛ) [16–20] и множественной миеломы [21, 22]. В США препарат зарегистрирован в марте 2008 г. в качестве терапии 1-й линии у больных ХЛЛ, а также для лечения НХЛ. В России препарат в настоящее время зарегистрирован компанией Астеллас как рибомустин (международное непатентованное название бендамустин).

В данном обзоре приводится характеристика препарата и суммируются результаты клинических исследований бендамустина при ХЛЛ.

Молекула бендамустина

Молекула бендамустина состоит из 3 структурных элементов: мехлорэтаминовой группы, бензимидазолового кольца и масляной кислоты. Мехлорэтамин (мустарген) обладает алкилирующими свойствами, сходными с активностью циклофосфана и хлорамбуцила. Бензимидазоловое кольцо, замещающее бенzenовое кольцо, как в молекуле хлорамбуцила, обладает антиметаболической активностью, сходной с активностью пуриновых аналогов. Наконец, цепь гидроксированной масляной кислоты обеспечивает водорастворимость.

Механизм действия

Механизм действия бендамустина точно не определен. Бендамустин отличается по действию от алкилирующих препаратов и пуриновых аналогов. Полагают, что он вызывает 3 основных эффекта:

- 1) активацию апоптоза в ответ на повреждение ДНК, которая происходит в том числе по альтернативному, независимому от p53 пути;
- 2) подавление механизмов, действующих в сверточной точке митотического цикла;
- 3) повреждение митоза.

Бендамустин вызывает двуцепочечные разрывы ДНК. В отличие от циклофосфана, кармустина и мелфалана бендамустин приводит к более мощному повреждению ДНК: число разрывов больше, они существуют дольше и значительно хуже поддаются репарации, как было показано в исследованиях с использованием в качестве модели клеточной линии рака молочной железы [23]. Тяжелое повреждение ДНК активирует p53, запускает апоптоз и останавливает клеточный цикл в сверточной точке из-за неэффективности механизмов репарации [24]. Значительные изменения клеточного цикла приводят к митотической катастрофе — еще одному пути, активирующему апоптоз [25].

Повреждение ДНК в результате действия алкилирующих препаратов вызывает активацию алкилтрансферазного пути, в результате чего алкильные группы непосредственно удаляются с нуклеотидных оснований. Высокая экспрессия алкилгуанилтрансферазы — один из механизмов лекарственной устойчивости. Эксперименты *in vitro* показывают, что в отличие от других алкилирующих препаратов бендамустин активирует преимущественно эксцизионную репарацию ДНК, в которой участвуют совсем другие ферменты [25]. Таким образом, действие бендамустина не подвержено влиянию одного из важных механизмов лекарственной устойчивости к алкилирующим препаратам [25]. Возможно, это объясняет, почему бендамустин бывает эффективен в случаях рефрактерности к алкилирующим препаратам.

Ни один из описанных механизмов не доказан окончательно. По механизму действия бендамустин напоминает другие алкилирующие препараты, но, как показывают клинические исследования, он эффективен и в ситуации рефрактерности к алкилирующим препаратам. Антиметаболическая активность предполагается исходя из структуры — сходства бензимидазолового кольца со сходным кольцом в молекуле кладрибина и других пуриновых аналогов. Прямых доказательств существования антиметаболической активности нет.

Фармакокинетика

Данные, полученные у больных с рецидивами вялотекущих лимфом, свидетельствуют, что после часовой внутривенной инфузии плазменная концентрация бендамустина подчиняется трехфазной кинетике. Первая фаза быстрого распределения (α -фаза, $t_{1/2}=17$ мин) сменяется промежуточной β -фазой ($t_{1/2}=42$ мин), после которой наступает медленная финальная δ -фаза ($t_{1/2}=110$ ч) [26]. Финальная фаза занимает менее 1% площади под кривой плазменной концентрации. Поэтому принято считать, что период полувыведения препарата составляет около часа. Средний объем распределения препарата составляет 15–20 литров, что говорит о высокой степени связывания с белками плазмы [40]. Средний клиренс равен 265–288 мл/мин/м².

Основным путем метаболизма бендамустина у человека является гидролиз до гидроксibenдамустина и дигидробендамустина. Гидроксibenдамустин выводится с мочой и, в меньшей степени, с желчью [27]. Существует и еще один метаболический путь, по которому бендамустин под действием цитохрома CYP1A2 превращается в 2 метаболически активных соединения альфа-гидроксibenдамустин и N-десметилбендамустин. У человека содержание всех метаболитов бендамустина в плазме составляет 23% от концентрации исходного соединения. Поэтому метаболиты не имеют существенного значения: основной эффект оказывает непосредственно бендамустин. Owen и соавт. установили, что фармакокинетика бендамустина не зависит от пола и возраста, не меняется при умеренном снижении почечной и печеночной функций [26]. Фармакокинетика бендамустина не изучалась у больных с почечной и печеночной недостаточностью. Препарат противопоказан лицам с клиренсом креатинина менее 40 мл/мин.

Доклинические испытания

В доклинических испытаниях показано, что бендамустин вызывает дозо- и времязависимый апоптоз в первичных культурах клеток В-ХЛЛ, а также в клеточных линиях НХЛ и миеломы NCI-H929, RPMI-8226 и U266 [28–31]. Более того, бендамустин был эффективен в клеточных линиях опухолей, рефрактерных к алкилирующим препара-

ратам [23, 32]. В частности, культуры клеток ХЛЛ, полученные от больных с рефрактерностью, были менее устойчивы к бендамустину, нежели к другим алкилирующим препаратам [28]. В отличие от других алкилирующих препаратов бендамустин обладает антагонизмом с доксорубицином, как было показано в исследованиях *in vitro* [30]. Кроме того, бендамустин демонстрирует только частичную перекрестную резистентность с хлорамбуцилом, циклофосфаном и мелфаланом, что может иметь значение при лечении больных В-ХЛЛ с рефрактерностью к алкилирующим препаратам. Наконец, показан синергизм комбинации бендамустина и ритуксимаба. Исследования на животных и исследования *in vitro* показали значительно большее подавление роста опухолевых клеток и индукцию апоптоза в культуре при сочетанном действии бендамустина и ритуксимаба, причем действие ритуксимаба в этом контексте не зависит от комплемента [33, 34].

Применение бендамустина при ХЛЛ

Монотерапия бендамустином в исследованиях I/II фазы. У пациентов с рецидивами и рефрактерными формами ХЛЛ было проведено 2 исследования [12, 15]. Bergmann и соавт. провели исследование I/II фазы, в которое включили 16 предлеченных пациентов (медиана возраста 67 лет), получавших, в среднем, 3 варианта терапии [12]. В исследовании была идентифицирована максимально переносимая доза бендамустина — 70 мг/м². Препарат назначали в 1-й и 2-й день каждые 3 недели. Дозолимитирующая токсичность определялась как любые негематологические осложнения $\geq$ 3-й степени или гематологические осложнения $>$ 4-й степени, развившиеся на первом цикле терапии и не связанные с ХЛЛ. Из осложнений, отнесенных в категорию дозолимитирующей токсичности, отмечались лейкопения ($n=2$), анемия ($n=1$), тромбоцитопения ($n=1$), гиперурикемия ($n=1$), повышение трансаминаз ($n=1$) и инфекции ($n=3$). Шесть пациентов были сняты с лечения бендамустином из-за токсичности при приеме в дозах от 70 до 100 мг/м². Из оставшихся 10 пациентов у 9 была получена ремиссия. Анализ эффективности проводился в формате «intent to treat» (по намерению лечить). Общий ответ составил 56% (9 из 16), полная ремиссия была получена у 2 больных (12%), нодулярные частичные ремиссии — у 1 (6%), частичные ремиссии — у 4 (25%), стабилизация — у 2 из 16 (12,5%). Медиана продолжительности ответа составила 43,6 мес (95% доверительный интервал 42,2–45).

В другом исследовании было выявлено, что максимально переносимая доза бендамустина составляет 110 мг/м² [15]. В исследование включено 15 пациентов (медиана возраста 61 год (47–72 лет)). Все пациенты были предлечены, но никто ранее не получал флударабин. Получали ранее $\leq$ 3 вариантов терапии 11 пациентов (73%), $>$ 3 вариантов — 4 (27%). Бен-

дамустин назначали в 1-й и 2-й день каждые 3 нед, больные получали по 6 таких циклов. Дозы эскалировались. При приеме дозы 110 мг/м² наблюдались следующие осложнения: диарея 3-й степени у 1 пациента, билирубинемия 4-й степени у 1 пациента. Гипербилирубинемия 3–4-й степени отмечалась у 4 пациентов. Повышение билирубина в этом исследовании необычно, поскольку это осложнение не описано в других клинических испытаниях. Из гематологических осложнений 4-й степени наблюдались анемия, тромбоцитопения и нейтропения — по 1 случаю. Общий ответ составил 60%, полная ремиссия получена у 26% больных. Медиана продолжительности ответа составила 22 нед (18–27+). Наибольшая эффективность (общий ответ 100%) была у больных, получавших препарат в дозе 100 мг/м². Результаты этих работ свидетельствуют о том, что основной токсичностью бендамустина является миелосупрессия. В обоих исследованиях отмечена гепатотоксичность.

Результаты трех других небольших исследований (Kath и соавт. [14], Aivado и соавт. [11] и Bremer и соавт. [16]) суммированы в таблице 1. Эти исследования трудно интерпретировать, поскольку выборки больных невелики и гетерогенны, а критерии ответа неоднозначны. Так, в исследование Kath и соавт. включали как первичных, так и предлеченных пациентов [14]. Интересно, что частота ремиссий была у них примерно одинакова. Эти исследования также подтвердили, что бендамустин обладает клинической активностью у больных ХЛЛ, в том числе в ситуации рефрактерности к алкилирующим препаратам. Препарат вызывает умеренную миелосупрессию, негематологических осложнений почти нет.

В исследовании Niederle и соавт. бендамустин сравнивали с флударабином у больных с первым рецидивом ХЛЛ [35]. Бендамустин назначали в дозе 100 мг/м² в 1-й и 2-й дни каждые 4 нед, флударабин в дозе 25 мг/м² с 1-го по 5-й день каждые 4 нед. Пациенты получали до 8 циклов терапии. Включено 96 больных, данные о 89 из них доступны анализу. Общий ответ в группе бендамустина составил 78%, число полных ремиссий — 29%, в группе флударабина — 65% и 10% соответственно. Результаты этого исследования предполагают, что бендамустин может составлять альтернативу флударабину.

Монотерапия бендамустином в исследованиях III фазы. Wolfgang Knauf и соавт. провели рандомизированное исследование III фазы, в котором сравнивалась эффективность и переносимость бендамустина и хлорамбуцила у первичных больных ХЛЛ [36]. В исследование было включено 306 больных в возрасте до 75 лет с благоприятным соматическим статусом (0–2 по шкале ВОЗ). Бендамустин назначали в дозе 100 мг/м² внутривенно в 1-й и 2-й дни ($n=154$) каждые 4 нед; хлорамбуцил в дозе 0,8 мг/кг внутрь с 1-го по 15-й день ($n=144$) каждые 4 нед. К настоящему времени представлены результаты первого промежуточ-

Таблица 1. Исследования монотерапии бендамустина у больных ХЛЛ

Авторы	Фаза	Режим	Число больных	Общий ответ, % (ПР, %)	Медиана бессобытийной выживаемости
Kath 2001 [14]	II	Пациенты < 70 лет — 60 мг/м ² Пациенты > 70 лет — 50 мг/м ² Дни 1–5, каждые 28 дней	Всего 23, предлечены 13	65 (26)	Нет данных
Aivado 2002 [11]	II	100 мг/м ² , дни 1–2, каждые 28 дней	23 с рецидивом и рефрактерностью	67 (29)	ТТР 6 (4–19)
Bremer 2002 [16]	II	60 мг/м ² , дни 1–5, каждые 28 дней	15 с рецидивом и рефрактерностью	93 (7)	Не достигнута
Bergmann 2005 [12]	I/II	70 мг/м ² , дни 1–2, каждые 28 дней	16 с рецидивом и рефрактерностью	56 (13)	Нет данных
Lissitchkov 2006 [15]	I/II	100 мг/м ² , дни 1–2, каждые 28 дней	15 с рецидивом и рефрактерностью	60 (27)	Нет данных
Niederle 2008 [35]	II	В: 100 мг/м ² , дни 1–2, каждые 28 дней F: 25 мг/м ² , дни 1–5, каждые 28 дней	96 больных с рецидивами	В: 78 (29) F: 65 (10)	83 нед против 64 нед
Кнаuf 2009 [36]	III	В: 100 мг/м ² , дни 1–2, каждые 28 дней С: 0,8 мг/кг, дни 1-й и 15-й, каждые 28 дней	319 первичных	В: 68 (31) С: 31 (2)	БПВ (В v С) 21,5 мес против 8,3 мес

ного анализа. Общий ответ составил 68% в группе больных, получавших бендамустин, и 31% в группе получавших хлорамбуцил ($p < 0,0001$), частота полных ремиссий 31% и 2% соответственно. Медиана беспрогрессивной выживаемости (БПВ) в группе бендамустина составила 21,7 мес, в группе хлорамбуцила — 9,3 мес. Данные по осложнениям представлены в таблице 2.

Таблица 2. Сравнение токсичности бендамустина и хлорамбуцила в исследовании Кнаuf и соавт. [36]

Осложнения	Бендамустин	Хлорамбуцил
Лейкопения	29%	4%
Нейтропения	43%	24%
Тромбоцитопения	12%	10%
Анемия	12%	9%
Со стороны ЖКТ, I–IV степени	32%	22%
Синдром лизиса опухоли	1%	0%
Инфекции III–IV степени	6%	4%
Кожные сыпи	5%	4%

В исследовании показана высокая эффективность и приемлемая токсичность бендамустина в терапии 1-й линии ХЛЛ. На основании результатов этого исследования бендамустин был зарегистрирован в США в качестве терапии 1-й линии больных ХЛЛ. В настоящее время немецкой группой по изучению ХЛЛ проводится

большое рандомизированное исследование, сравнивающее схемы BR и FCR.

Комбинированная терапия

В трех исследованиях I и II фазы бендамустин испытывался в сочетании с митоксантроном [37], ритуксимабом [13], а также в сочетании с обоими препаратами [38] у больных ХЛЛ.

Koppler и соавт. представили результаты исследования комбинации бендамустина и митоксантрона у 22 предлеченных больных (59% мужчин; медиана возраста 71 год (53–86 лет)) [37]. Доза бендамустина эскалировалась от 80 до 240 мг/м² на курс. Восемь больных получили 150 мг/м² на курс, 6 больных — 240 мг/м² на курс. Доза митоксантрона составила 8–10 мг/м² на курс. Полная ремиссия была получена у 6 пациентов (27%), частичная ремиссия — у 13 (59%), общий ответ составил 86%. Наибольшая эффективность бендамустина наблюдалась у больных, получавших 150 мг/м² на курс (87,5%). При медиане срока наблюдения 20 мес медиана общей выживаемости была 39 мес (6–50 мес), медиана БПВ — 10 мес (4–22 мес). Нейтропения 3–4-й степени тяжести наблюдалась в 64% случаев, анемия — в 41%, тромбоцитопения — в 36%, фебрильная нейтропения — в 27%. Инфекции 3-й степени наблюдались у 4 из 6 больных, получивших бендамустин в дозе 240 мг/м² на курс. Таким образом, доза 240 мг/м² слишком высока — она вызывает осложнения, которые приводят к задержке получения терапии и снижению эффективности.

Основанием к сочетанию бендамустина с ритуксимабом является синергизм этих препаратов *in vitro* [34].

Немецкая группа исследовала эту комбинацию в многоцентровом исследовании у больных с рецидивами и рефрактерностью к флударабину [13]. Всего в исследование был включен 81 больной. Предварительные данные по эффективности и безопасности доступны для 24 и 31 пациента соответственно. Медиана возраста пациентов 67,3 года; 71% больных были > 65 лет. Ранее больные получали 2 и более вариантов терапии (от 1 до 3). Общий ответ составил 67%, полная ремиссия была получена у 3 больных (13%), частичная ремиссия — у 13 больных (54%). Анализ токсичности доступен 135 циклов у 31 пациента. Самыми частыми были осложнения, обусловленные миелотоксичностью и последующими инфекциями. Нейтропения 3–4-й степени наблюдалась у 15 больных (11% циклов), тромбоцитопения — у 17 больных (13% циклов), анемия — у 9 больных (7% циклов), гемолиз — у 1 пациента, аллергические реакции — у 2 больных (1% циклов). Инфекции 3–4-й степени тяжести отмечались у 6 больных на 4% циклов. Было сообщено о 6 смертях: 2 случая (пневмония и уrosepsis) были расценены как связанные с лечением, в 2 случаях (инфаркт миокарда и сепсис) связь с лечением не определена, 2 больных умерли от прогрессии ХЛЛ.

Weide и соавт. исследовали комбинацию бендамустина, ритуксимаба и митоксантрона у больных с рецидивами и рефрактерными формами НХЛ [38]. Всего в исследование было включено 54 пациента, из них 22 — с ХЛЛ. Медиана числа линий в анамнезе — 2,5 (1–7); 27% больных ранее получали флударабин. Общий ответ на лечение составил 96%, полная ремиссия была получена у 5 больных (23%), частичная — у 16 (73%). Медиана БПВ составила 17 мес. Данные по токсичности были представлены для всей выборки больных. Лейкопения 3–4-й степени наблюдалась у 50% больных, нейтропения — у 54%, анемия — у 7% и тромбоцитопения — у 15%. Из негематологических осложнений наблюдались стоматит (4%), реакции гиперчувствительности (7%), инфекции без нейтропении (2%). Госпитализация не потребовалась ни в одном случае.

Рекомендации по введению бендамустина

В клинических исследованиях использовали разные дозы бендамустина, в зависимости от того, применялся ли он в виде монотерапии или в комбинации, а также в зависимости от типа опухоли. В трех исследованиях

больные ХЛЛ получали бендамустин в дозе 100 мг/м² в 1-й и 2-й день каждые 4 нед (табл. 1) [36]. У больных с рецидивами, в особенности после флударабина, препарат может назначаться в более низких дозах — по 70 мг/м² в 1-й и 2-й дни.

Перед введением порошок бендамустина растворяется водой для инъекций и разводится в 500 мл 0,9% раствора хлорида натрия [39, 40].

Содержимое флакона 25 мг разводят в 10 мл воды для инъекций и встряхивают до полного растворения.

Содержимое флакона 100 мг разводят в 40 мл воды для инъекций и встряхивают до полного растворения.

Полученный бесцветный прозрачный концентрат содержит 2,5 мг/мл бендамустина. После 5–10 минутной экспозиции необходимая доза рибомустина растворяется в 500 мл 0,9% раствора натрия хлорида для инфузии. Химическая и физическая стабильность данного раствора сохраняется на протяжении 5 часов при комнатной температуре и 5 дней при хранении в холодильнике.

С микробиологической точки зрения препарат следует вводить сразу же после приготовления раствора, если метод разведения не исключает возможности его микробного обсеменения.

Заключение

Бендамустин — уникальный алкилирующий препарат, с особыми структурными характеристиками, которые отличают его от обычных алкилирующих препаратов. В течение нескольких десятилетий бендамустин использовали в Германии для лечения как гематологических, так и солидных опухолей. Препарат зарегистрирован в США в качестве терапии 1-й линии у больных ХЛЛ. В настоящее время немецкой группой по изучению ХЛЛ проводится большое рандомизированное исследование, в котором сравниваются режимы FCR и BR. Безопасность бендамустина выгодно отличает его от флударабина и других химиопрепаратов. Бендамустин может также успешно применяться у такой сложной группы пациентов, как больные с аутоиммунной гемолитической анемией, иммунной тромбоцитопенией. Большие перспективы связаны с применением бендамустина в комбинированных курсах химиотерапии в сочетании с моноклональными антителами и другими цитостатиками.

Л и т е р а т у р а

1. American Cancer Society [Web site]. Cancer Facts & Figures 2008. Atlanta: American Cancer Society. Available at: <http://www.cancer.org/downloads/STT/2008CAFFfinalsecured.pdf>. Accessed: November 1, 2008.
2. National Comprehensive Cancer Network [Web site]. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Non-Hodgkin's Lymphomas. Version 3. 2008. Available at: <http://www.nccn.org>

3. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia (CLL): first-line treatment. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2005:285–99.
4. Keating M.J., O'Brien S., Albitar M. et al. Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic

- lymphocytic leukemia. J Clin Oncol 2005;23:4079–88.
5. National Cancer Institute [Web site]. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2002, National Cancer Institute. Bethesda, MD. Based on November 2004 SEER data submission, posted to the SEER Web site 2005. Available at: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2002/. Accessed: November 1, 2008.

6. Eichhorst B.F., Busch R., Stilgenbauer S. et al. First-line therapy with fludarabine compared with chlorambucil does not result in a major benefit for elderly patients with advanced chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2009 Oct 15;114(16):3382–91.
7. Wierda W.G., Kipps T.J., Keating M.J. Novel immune-based treatment strategies for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005;23:6325–32.
8. Keating M.J., O'Brien S., Kontoyiannis D. et al. Results of first salvage therapy for patients refractory to a fludarabine regimen in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2002;43:1755–62.
9. Nabhan C., Shanafelt T.D., Kay N.E. Controversies in the front-line management of chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2008;32:679–88.
10. Gandhi V. Metabolism and mechanisms of action of bendamustine: rationales for combination therapies. *Semin Oncol* 2002;29:4–11.
11. Aivado M., Schulte K., Henze L. et al. Bendamustine in the treatment of chronic lymphocytic leukemia: results and future perspectives. *Semin Oncol* 2002;29:19–22.
12. Bergmann M.A., Goebeler M.E., Herold M. et al. Efficacy of bendamustine in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia: results of a phase I/II study of the German CLL Study Group. *Haematologica* 2005;90:1357–64.
13. Fischer K., Stilgenbauer S., Schweighofer C.D. et al. Bendamustine in combination with rituximab (BR) for patients with relapsed chronic lymphocytic leukemia (CLL): a multicentre phase II trial of the German CLL Study Group (GCLLSG). *Blood* 2007;110:913A (Abstract 3106).
14. Kath R., Blumenstengel K., Fricke H.J. et al. Bendamustine monotherapy in advanced and refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001;127:48–54.
15. Lissitchkov T., Arnaudov G., Peytchev D. et al. Phase-I/II study to evaluate dose limiting toxicity, maximum tolerated dose, and tolerability of bendamustine HCl in pre-treated patients with B-chronic lymphocytic leukaemia (Binet stages B and C) requiring therapy. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006;132:99–104.
16. Bremer K. High rates of long-lasting remissions after 5-day bendamustine chemotherapy cycles in pre-treated low-grade non-Hodgkin's-lymphomas. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002;128:603–9.
17. Heider A., Niederle N. Efficacy and toxicity of bendamustine in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphomas. *Anticancer Drugs* 2001;12:725–9.
18. Herold M., Schulze A., Niederwieser D. et al. Bendamustine, vincristine and prednisone (BOP) versus cyclophosphamide, vincristine and prednisone (COP) in advanced indolent non-Hodgkin's lymphoma and mantle cell lymphoma: results of a randomised phase III trial (OSHO# 19). *J Cancer Res Clin Oncol* 2006;132:105–12.
19. Koenigsmann M., Knauf W., Herold M. et al. Fludarabine and bendamustine in refractory and relapsed indolent lymphoma – a multicenter phase I/II trial of the East German Society of Hematology and Oncology (OSHO). *Leuk Lymphoma* 2004;45:1821–7.
20. Rummel M.J., Al-Batran S.E., Kim S.Z. et al. Bendamustine plus rituximab is effective and has a favorable toxicity profile in the treatment of mantle cell and low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2005;23:3383–9.
21. Knop S., Straka C., Haen M. et al. The efficacy and toxicity of bendamustine in recurrent multiple myeloma after high-dose chemotherapy. *Haematologica* 2005;90:1287–8.
22. Ponisch W., Mitrou P.S., Merkle K. et al. Treatment of bendamustine and prednisone in patients with newly diagnosed multiple myeloma results in superior complete response rate, prolonged time to treatment failure and improved quality of life compared to treatment with melphalan and prednisone—a randomized phase III study of the East German Study Group of Hematology and Oncology (OSHO). *J Cancer Res Clin Oncol* 2006;132:205–12.
23. Strumberg D., Harstrick A., Doll K. et al. Bendamustine hydrochloride activity against doxorubicin-resistant human breast carcinoma cell lines. *Anticancer Drugs* 1996;7:415–21.
24. Hartmann M., Zimmer C. Investigation of cross-link formation in DNA by the alkylating cytostatic IMET 3106, 3393 and 3943. *Biochim Biophys Acta* 1972;287:386–9.
25. Leoni L.M., Bailey B., Reifert J. et al. Bendamustine (Treanda) displays a distinct pattern of cytotoxicity and unique mechanistic features compared with other alkylating agents. *Clin Cancer Res* 2008;14:309–17.
26. Owen J.S., Melhem M., D'Andrea D. et al. Population pharmacokinetics of bendamustine and metabolites in patients with indolent non-Hodgkin lymphoma. *Pharmacol Ther* 2008;83(Suppl 1):54.
27. Teichert J., Baumann F., Chao Q. et al. Characterization of two phase I metabolites of bendamustine in human liver microsomes and in cancer patients treated with bendamustine hydrochloride. *Cancer Chemother Pharmacol* 2007;59:759–70.
28. Schwanen C., Hecker T., Hubinger G. et al. In vitro evaluation of bendamustine induced apoptosis in B-chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2002;16:2096–105.
29. Konstantinov S.M., Kostovski A., Topashka-Ancheva M. et al. Cytotoxic efficacy of bendamustine in human Leukemia and breast cancer cell lines. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002;128:271–8.
30. Chow K.U., Boehrer S., Geduldig K. et al. In vitro induction of apoptosis of neoplastic cells in low-grade non-Hodgkin's lymphomas using combinations of established cytotoxic drugs with bendamustine. *Haematologica* 2001;86:485–93.
31. Gaul L., Mandl-Weber S., Baumann P. et al. Bendamustine induces G2 cell cycle arrest and apoptosis in myeloma cells: the role of ATM-Chk2-Cdc25A and ATMp53-p21-pathways. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008;134:245–53.
32. Leoni L.M., Bailey B., Niemeyer C.C. et al. In vitro and ex vivo activity of SDX-105 (bendamustine) in drug-resistant lymphoma cells. *Proc Amer Assoc Cancer Res* 2004;45:1215.
33. Chow K.U., Sommerlad W.D., Boehrer S. et al. Anti-CD20 antibody (IDEC-C2B8, rituximab) enhances efficacy of cytotoxic drugs on neoplastic lymphocytes in vitro: role of cytokines, complement, and caspases. *Haematologica* 2002;87:33–43.
34. Rummel M.J., Chow K.U., Hoelzer D. et al. In vitro studies with bendamustine: enhanced activity in combination with rituximab. *Semin Oncol* 2002;29(4 Suppl 13):12–4.
35. 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. *Ann Oncol*;19 (Suppl 4), iv194 (2008) (Abstract 379).
36. Knauf W., Lissitchkov T., Aldoud A. et al. Bendamustine versus chlorambucil in treatment-naïve patients with B-cell chronic lymphocytic Leukemia (BCLL): results of an international phase III study *J Clin Oncol* 2009;Vol 27;N26:4378–84.
37. Koppler H., Heymanns J., Pandorf A. et al. Bendamustine plus mitoxantrone—a new effective treatment for advanced chronic lymphocytic leukaemia: results of a phase I/II study. *Leuk Lymphoma* 2004;45:911–3.
38. Weide R., Pandorf A., Heymanns J. et al. Bendamustine/mitoxantrone/rituximab (BMR): a very effective, well tolerated outpatient chemioimmunotherapy for relapsed and refractory CD20-positive indolent malignancies. Final results of a pilot study. *Leuk Lymphoma* 2004;45:2445–9.
39. Treanda® (bendamustine hydrochloride) for Injection [prescribing information]. Frazer, PA: Cephalon, Inc; 2008.
40. Инструкция по медицинскому применению препарата рибомустин.

МАРКЕРЫ ОСТЕОДЕСТРУКЦИИ И ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПОМЕГАРЫ (ПАМИДРОНАТ) У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ С ЛИТИЧЕСКИМИ КОСТНЫМИ ПОРАЖЕНИЯМИ

В.В. Лунин¹, Е.В. Юрова¹, О.А. Кудрявцева¹, С.В. Миненко², В.В. Птушкин²

¹ГКБ им. С.П. Боткина, Москва;

²Отдел подростковой и возрастной гематологии и онкологии ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии Минздрава России, Москва

Контакты: Светлана Владимировна Миненко svetlanaminenko@yandex.ru

Данное исследование проводилось с целью выявления влияния дженерического препарата памидроновой кислоты (помегара) на маркеры остеодеструкции и показатели качества жизни у пациентов с множественной миеломой и литическими поражениями костей. Для этого до начала исследования и через каждые 4 недели после введения помегары на протяжении 16 недель определялась концентрация СТХ крови и деоксипиридинолина мочи. Кроме этого у пациентов мониторировалась интенсивность симптоматики опухоли по опросникам MDASI и FACT и исследовалась выраженность болевого синдрома по аналоговой шкале.

Восемнадцать пациентов закончили исследование. Показатели маркеров костной резорбции (СТХ в сыворотке крови и ДПИД в моче) существенно снизились после четвертой инъекции помегары, составив для СТХ 33% от медианы его исходного значения ($p < 0,05$) и для ДПИД — 73% ($p=NS$). Статистически значимое улучшение интегрального показателя качества жизни в сравнении с исходными показателями зарегистрировано к 12-й неделе лечения ($p < 0,05$). Большинство выявленных в исследовании побочных действий были легкой и промежуточной степени тяжести и не потребовали отмены препарата. Общая частота и спектр осложнений (лихорадка, скелетно-мышечные боли и др.) соответствовали аналогичным показателям, выявленным в крупных контролируемых исследованиях по применению бисфосфонатов при множественной миеломе. Тщательный мониторинг функции почек при терапии помегарой не показал существенного отрицательного влияния на почечную функцию, в том числе у больных с исходным ее поражением.

Полученные в данном, ограниченном по объему, исследовании результаты позволяют сделать вывод о том, что применение помегары у пациентов с множественной миеломой и остеолитическими поражениями костей сопровождается снижением интенсивности остеодеструкции, улучшением качества жизни и снижением выраженности болевого синдрома. Переносимость препарата принципиально не отличалась от переносимости оригинального памидроната, показанного в контролируемых исследованиях.

Ключевые слова: множественная миелома, поражение костей, бисфосфонаты, памидроновая кислота, качество жизни, нефротоксичность

OSTEODESTRUCTION MARKERS AND QUALITY OF LIFE PARAMETERS AT POMEGERA (PAMIDRONATE) TREATMENT IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS WITH LYTIC BONE LESIONS

V.V. Lunin¹, Ye.V. Yurova¹, O.A. Kudryavtseva¹, S.V. Minenko², V.V. Ptushkin²

¹Botkin Municipal Clinical Hospital, Moscow

²Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow

The aim of the given study is investigation of influence on osteodestruction markers and quality of life parameters of therapy with generic preparation of pamidronic acid (pomegara) in patients with multiple myeloma (MM) and lytic bone lesions. For this purpose prior to the beginning of the study and every 4 week after pomegara injection throughout 16 weeks blood CTX (terminal crosslinking telopeptide of type I collagene) concentration and urine DPD (deoxypyridinoline) were detected. In addition monitoring of tumor symptoms intensity using MDASI (M.D. Anderson Symptom Inventory) and FACT (Functional Assessment of Cancer Therapy) questionnaires was conducted and pain intensity was also investigated using analogue scale.

Study is finished in eighteen patients. Bone resorption markers (serum CTX and urine DPD) have essential decreased after fourth pomegara injection to 33% of median initial value for CTX ($p < 0.05$) and to 73% — for DPD ($p=ns$). Statistically significant increasing of integrated quality of life parameter in comparison with initial value is registered by 12th week of treatment ($p < 0.05$). The majority of pomegara side effects were mild and moderate severity and preparation cancelling has not necessary. The frequency and spectrum of complications (fever, skeletal and muscular pain, etc.) corresponded to the similar parameters revealed in large controlled studies of bisphosphonate treatment in MM. Careful monitoring of renal function during pomegara treatment has not shown significant negative effect, including patients with initial renal involvement.

According to data received in this restricted volume study we can conclude that pomegara treatment in patients with MM and lytic bone lesions result in decrease of bone destruction, quality of life improvement and decrease severity of pain. Drug acceptability did not principally differ from original pamidronate shown in controlled studies.

Key words: multiple myeloma, bone lesion, bisphosphonates, pamidronic acid, quality of life, nephrotoxicity

Множественная миелома (ММ) составляет около 10% всех случаев гематологических новообразований. В РФ ежегодно заболевает около 2000 человек. Субстратом этой опухоли являются долгоживущие плазматические клетки, накапливающиеся в основном в костном мозге и продуцирующие моноклональные иммуноглобулины или их фрагменты [1]. Опухолевая инфильтрация приводит к вытеснению клеток-предшественников гемопоэза, сопровождаясь в продвинутых стадиях болезни цитопенией и снижением содержания поликлональных иммуноглобулинов вследствие сокращения числа нормальных плазматических клеток. Однако кроме этого клетки миеломы могут оказывать разрушающее действие на костную ткань. Диффузная остеопения и/или литические дефекты наблюдаются у 85% больных ММ. В основе данного эффекта лежит способность клеток миеломы стимулировать остеокласты — клетки, осуществляющие резорбцию костной ткани [2–4].

Деструкция костной ткани значительно снижает ее прочность, что приводит к микро-, а затем и к макропереломам и сопровождается выраженным болевым синдромом со снижением качества жизни. Разрушение кости с высвобождением элементов костного матрикса, содержащего кальций, нередко приводит к гиперкальциемии. Гиперкальциемия не имеет четких клинических проявлений, протекая под маской общих симптомов опухоли, — слабость, анорексия, запоры. В то же время нарастание тяжести электролитных нарушений может стать причиной смерти вследствие нарушений сердечного ритма и почечной недостаточности. Предсказать развитие этого осложнения сложно в связи с отсутствием четких радиологических признаков активности разрушения кости в каждый конкретный момент времени. Относительно специфично определить интенсивность остеолитического процесса помогают биохимические маркеры, уровень которых в крови или в моче коррелирует и с клиническими проявлениями остеодеструкции. Такими маркерами явились аминотерминал и карбокситерминал телопептидов коллагена I типа (NTX I и CTX I соответственно), а также фрагмент поперечных связей молекул коллагена деоксипиридинолин (ДПИД), которые высвобождались в кровь и мочу при разрушении кости остеокластами [5, 6]. Содержание этих маркеров в крови и моче в некоторых исследованиях существенно повышалось при развитии метастазов в кости, прогрессировании болевого синдрома и, напротив, снижение их содержания сопровождалось ослаблением болевой реакции,

сокращением частоты переломов и увеличением общей выживаемости [7]. В ряде работ содержание концевых телопептидов коллагена в крови или моче использовалось в качестве суррогатных маркеров выраженности костного ремоделирования, позволяя получать информацию об эффективности лечения (торможение остеодеструкции) существенно раньше, чем при стандартном накоплении определенного числа костных событий [8].

В качестве одного из главных методов лечения костных метастазов, наряду с цитостатическим и лучевым подходами, используют бисфосфонаты. Бисфосфонаты — пирофосфат-подобные молекулы — тормозят разрушение кости остеокластами. Антирезорбтивный эффект наиболее активных азотсодержащих бисфосфонатов (памидронат, золедронат, ибандронат) реализуется благодаря их связыванию с кристаллами гидроксиапатита кальция матрикса кости с последующим поглощением остеокластами, что сопровождается снижением их активности и гибелью [9–11].

За последние 20 лет было проведено много клинических исследований применения различных классов бисфосфонатов у пациентов с ММ. Среди этих препаратов наибольший эффект по снижению частоты переломов, гиперкальциемии и болевого синдрома показали памидронат и золедронат [12, 13]. Они оказались сопоставимы и в сравнительном исследовании с точки зрения общей частоты скелетных событий, включая гиперкальциемию [14]. Переносимость препаратов существенно не различалась — 10% отмены из-за побочных действий. В то же время применение памидроната в отличие от золедроната оказалось безопасным у больных с тяжелыми поражениями функции почек (клиренс креатинина < 30 мл/мин) [15], а при длительном применении памидронат реже вызывал остеонекрозы челюсти [16, 17]. Это, по мнению ряда экспертов, может дать ему преимущество при лечении больных с ММ, у которых чаще поражаются почки и требуется длительное (2 года и более) применение бисфосфонатов [18, 19]. Недостатком памидроната является необходимость 90-минутной инфузии в отличие от золедроната, который можно вводить в течение 15 минут.

Окончание срока патентной защиты на бисфосфонаты (аредиа (памидронат), Новартис и зомета (золедронат), Новартис) позволяет многим компаниям производить и продавать эти препараты по низким ценам. В то же время эффективность и безопасность дженерических препаратов остается вопросом дискуссионным из-за отсутствия необходи-

мости дополнительных клинических исследований для начала их использования. С целью определения безопасности и эффективности применения дженерического памидроната (помегара) было проведено данное пострегистрационное исследование.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе гематологического отделения городской клинической больницы и было утверждено локальным этическим комитетом. Пациенты должны были соответствовать следующим критериям: иметь диагноз ММ, подтвержденный иммунохимическим исследованием крови, цитологическим исследованием костного мозга и наличием остеолитических очагов выявляемых рентгенологически. Предполагаемое время жизни больных должно было превышать 6 мес, общесоматический статус по ECOG ≤ 2 . Учитывая возможность влияния системной противоопухолевой терапии на показатели качества жизни и некоторые маркеры остеодеструкции, не позволялось вносить изменения в схему лечения за месяц до начала введения бисфосфоната или менее чем через 4 недели после последней инфузии препарата, если не отмечалось признаков прогрессии заболевания. Всего было включено 19 пациентов с ММ и остеолитическими поражениями. Средний возраст пациентов составил 64,1 (43–70) года. Клинические характеристики больных представлены в таблице 1.

Таблица 1. Клинические характеристики больных

Характеристика	Число больных
Стадия	
IIA	2
IIIA	10
IIIV	7
Общесоматический статус	
0	1
1	8
2	10
Патологические переломы в анамнезе	1
Необходимость в назначении анальгетиков до введения помегары	6
Противоопухолевое лечение до назначения помегары	19
Лучевая терапия	19
Химиотерапия	14
Гормональная терапия	1
Противоопухолевое лечение на фоне приема помегары	19

Всем больным, включенным в исследование, на фоне проводимой противоопухолевой терапии, внутривенно в течение 90 мин вводилась помегара (памидроновая кислота) в дозе 90 мг с интервалом в 28 дней. Четыре введения получили 17 пациентов, 3 введения – 1 и 1 введение – 1.

Для определения эффективности и безопасности препарата у пациентов с миеломой и литическими костными поражениями методом ферментного иммунного анализа (EIA) был исследован уровень СТХ сыворотки крови и ДПИД мочи до начала, а затем через каждые 4 нед после введения помегары в течение 4 мес лечения. Одновременно с этим до начала лечения и в течение 4-месячной терапии все больные ежемесячно заполняли опросники состояния функциональных параметров при проведении противоопухолевой терапии и выраженности симптомов (MDASI и FACT) для оценки качества жизни [20, 21]. Качество жизни пациентов оценивалось по следующим профилям: физическое функционирование, ролевое физическое функционирование, общее здоровье, жизнеспособность, социальное функционирование, ролевое эмоциональное функционирование, психическое здоровье. Также у больных определяли интенсивность болевого синдрома (выраженность боли по визуальной шкале ВАШ [28] и количество принимаемых анальгетических препаратов). Безопасность препарата устанавливалась по количеству побочных эффектов, изменению стандартных лабораторных параметров, а также по уровню альбуминурии (нефротоксичность). Степень выраженности побочных действий оценивали по критериям Национального института рака США (the National Cancer Institute Common Toxicity Criteria for Adverse Events version 3.0). Определение биохимических маркеров остеодеструкции и уровня альбуминурии проводилось в лаборатории биохимии ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва (Л.В. Любимова), обработка полученных данных и параметров качества жизни и выраженности симптомов проводилась в Межнациональном центре исследования качества жизни, Санкт-Петербург (Т.И. Ионова).

Результаты

При анализе содержания маркеров остеодеструкции на фоне лечения препаратом помегара было показано, что у 12 из 17 пациентов, получивших все 4 запланированные инфузии, отмечено снижение уровня СТХ в сыворотке. Содержание ДПИД в моче снизилось у 3 из 13 больных, у которых было проведено данное исследование (суммарно снижение 1 или 2 маркеров – 71%). Степень снижения СТХ в сыворотке оказалась выраженной, составив 2/3 от медианы его исходного содержания ($p < 0,05$). Показатели маркеров костной резорбции в сыворотке крови и моче до назначения помегары и после 4-й инъекции представлены в таблице 2. Медиана содер-

жания маркеров после 4-й инъекции препарата дана в виде процентной доли от количества маркера перед 1-й инъекцией. Уровень маркера (медиана содержания СТХ и ДПИД) до начала исследования принят за 100%.

Таблица 2. Динамика изменений маркеров остеодеструкции

Маркер	Содержание маркера		
	До назначения помегары		После 4-й инъекции помегары
	Медиана (абс. диапазон)	Медиана, %	Медиана, %
СТХ (n=17)	0,5 (0,2 – 3,31)	100	33
ДПИД (n=13)	8,4 (4,3 – 21,0)	100	73

Для характеристики динамики выраженности боли у каждого пациента регистрировали изменения ее интенсивности по аналоговой шкале болевой самооценки (LAS) в сравнении с этим же показателем до назначения помегары. Динамика выраженности боли на фоне противоопухолевой терапии в комбинации с помегарой представлена в таблице 3.

У большинства больных за время наблюдения зарегистрировано снижение или стабилизация интенсивности боли. Необходимо отметить, что интенсивность боли у пациентов со стабилизацией была незначительной. При оценке потребности больных в приеме анальгетиков (I группа ВОЗ – нестероидные противовоспалительные препараты) было отмечено уменьшение дозы или отмена препаратов, принимавшихся с целью обезболивания, у 8 из 18 больных (44%).

Наибольшая деформация профилей качества жизни отмечалась до назначения помегары. После 2-й, 3-й инъекции препарата наблюдалось уменьшение компрессии и деформации профилей качества жизни по большинству шкал. Динамика интегрального показателя (ИП) качества жизни больных на фоне противоопухолевой терапии в комбинации с помегарой представлена на рисунке 1.

Как видно из рисунка, самое низкое значение ИП качества жизни отмечалось до назначения помегары. На фоне противоопухолевой терапии в комбинации

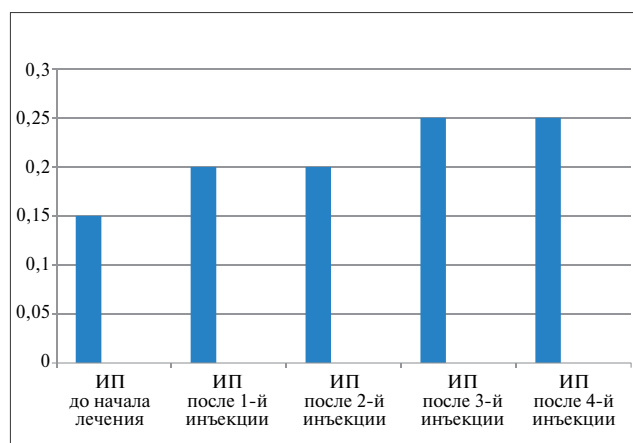


Рис. 1. Динамика интегрального показателя качества жизни

с бисфосфонатом происходило улучшение ИП качества жизни. Статистически значимое улучшение в сравнении с исходными показателями зарегистрировано после 3-й инъекции препарата ($p < 0,05$).

Токсичность лечения

Большинство выявленных в исследовании побочных действий были легкой и промежуточной степени тяжести и не потребовали отмены помегары. Общая частота и спектр осложнений соответствовали аналогичным показателям, выявленным в крупных контролируемых исследованиях по применению бисфосфонатов (памидроната и золедроната) при ММ [22]. Наиболее частые осложнения, выявленные в исследовании (анемия, артериальная гипертензия и нейропатия), скорее можно связать с основным заболеванием (анемия) или предшествующим и настоящим противоопухолевым лечением (нейропатия). Целевые осложнения, характерные для бисфосфонатов назначаемых внутривенно (лихорадка и скелетно-мышечные боли), наблюдались в исследовании соответственно с частотой 11% и 6%, что не превышает аналогичных показателей в контролируемых исследованиях (20–30%). Один пациент в исследовании погиб через 3 нед после 1-го введения помегары, однако причина смерти (острая сердечно-сосудистая недостаточность с множественными сопутствующими заболеваниями) не связана с применением препарата.

Таблица 3. Интенсивность болевого синдрома на фоне противоопухолевой терапии в комбинации с помегарой

Изменение выраженности боли	После 1-й инъекции помегары N=12 (100%)		После 2-й инъекции помегары N=13 (100%)		После 3-й инъекции помегары N=13 (100%)		После 4-й инъекции помегары N=13 (100%)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Снижение выраженности боли	2	17	2	15	2	15	2	15
Стабилизация	9	75	8	62	8	62	7	54
Нарастание болевого синдрома	1	8	3	2	33	2	34	3

Таблица 3. Интенсивность болевого синдрома на фоне противоопухолевой терапии в комбинации с помегарой

Побочные реакции (ПР)	Количество больных с ПР различной степени тяжести (NCI-CTC 3.0)				Число больных с ПР (%)
	I	II	III	IV	
Анемия	4	1			5 (29,4)
Артериальная гипертензия	3	1			4 (22,2)
Нейропатия	3				3 (19,5)
Лихорадка	1		1		2 (11,1)
Транзиторные боли в костях	1				1 (5,9)
Головная боль	1				1 (5,9)
Гастрит	1				1 (5,9)
Слабость	1				1 (5,9)
Бессонница	1				1 (5,9)

Анализ безопасности помегары включал исследование функции почек в процессе лечения. С этой целью осуществлялся мониторинг клиренса креатинина и соотношение альбумин/креатинин в моче. Последний тест является высокочувствительным показателем, позволяющим выявить начальные стадии почечной недостаточности. Небольшие размеры молекулы альбумина дают возможность этому протеину одним из первых секретироваться в мочу при поражении нефрона. Креатинин, поступающий в относительно стабильном количестве в мочу независимо от ее суточного объема, служит ориентиром, позволяющим вносить корректирующий коэффициент при измерении суточной или разовой альбуминурии. Этот тест в настоящее время широко применяется при мониторинге ранних изменений почек у пациентов с сахарным диабетом или артериальной гипертензией [23].

Уровень альбуминурии был исследован у 15 больных до начала лечения помегарой и у 11 из них имеются результаты теста на протяжении всего периода терапии. До назначения помегары 8 из 15 (53%) больных имели нормальные показатели альбумина мочи. У 5 больных этот показатель был увеличен умеренно, составив 0,9–21,3 мг/г. У 2 пациентов отмечено существенное превышение нормальных показателей (160 и 286 мг/г). После 4-го введения помегары у 1 больного с нормальным исходным уровнем показателя выявлено двукратное превышение нормы. Среди больных с исходно повышенным уровнем альбуминурии введение препарата привело к нарастанию альбуминурии у 1 пациента. Напротив, у пациентов с очень высоким исходным показателем теста лечение помегарой не сопровождалось прогрессией альбуминурии. Анализ

уровня креатинина в процессе лечения не выявил существенной динамики. Медиана этого показателя, изначально составившая 90 мкмоль/л, не претерпела существенного изменения в процессе лечения и составила 97 мкмоль/л ($p=NS$). Максимальное снижение клиренса креатинина в процессе лечения составило 85 мкмоль/л.

Обсуждение

Применение бисфосфонатов является стандартной практикой у пациентов с ММ и очагами литической остеодеструкции. В целом ряде исследований показана способность клодроната, памидроната и золедроната существенно снижать у этих больных риск переломов, гиперкальциемии и болевого синдрома. Американским обществом клинических онкологов (ASCO) рекомендовано использование памидроната или золедроната (как наиболее активных при этом заболевании) в течение 2 лет всем больным с ММ [18]. На данном этапе важным является применение имеющихся рекомендаций наиболее рациональным образом, включая экономию ресурсов. Одним из путей достижения этого результата является использование дженерических препаратов, предлагаемых различными производителями, как правило, существенно дешевле, чем оригинальные. Дискуссионным остается вопрос эквивалентности новых препаратов оригинальным с точки зрения эффективности и безопасности. В большинстве стран не требуется проведения формализованных исследований и производители, предъявляя формально идентичную молекулу, автоматически получают разрешение на использование нового препарата по всем тем показаниям, по которым был зарегистрирован оригинальный препарат. На деле производство лекарственной формы технологически может приводить к определенным различиям, способным хоть и незначительно, но влиять на биодоступность и токсичность конечного продукта [24, 25].

Бисфосфонаты — группа препаратов, обладающих широким спектром побочных действий, что может привести к отмене препарата у каждого 10-го пациента. Существенна и способность бисфосфонатов снижать почечную функцию, страдающую у этих больных вследствие основного заболевания. С этой точки зрения нам представилось важным провести исследование эффективности и, особенно, безопасности помегары — дженерического препарата памидроновой кислоты (Астра Зенека).

Полученные результаты свидетельствуют о существенном влиянии помегары на содержание некоторых маркеров остеодеструкции. Медиана содержания СТХ на протяжении лечения снизилась до 33% от ее исходного значения. Медиана уровня ДПИД не претерпела такого изменения (73%), однако, по мнению ряда специалистов, данный маркер является менее чувствительным и по отношению к таким кли-

ническим показателям как болевой синдром или ИП качества жизни в сравнении с уровнем фрагментов тепепептидов коллагена I типа (СТХ и NTX) [7]. В настоящем исследовании выраженность клинических проявлений остеодеструкции (боль, снижение качества жизни) имела тенденцию к ослаблению на фоне терапии помегарой. Существенная доля пациентов (8 из 18) снизила дозу анальгетиков, у большинства больных повысился ИП качества жизни. Безусловно, эффект отмечался далеко не у всех. У части больных болевой синдром на фоне лечения усилился, что в какой-то мере совпадало с отсутствием признаков торможения остеодеструкции. Бисфосфонаты не способны полностью и навсегда остановить процесс разрушения кости опухолевыми клетками. У большинства больных рано или поздно наступает прогрессирование процесса, однако в течение длительного времени эта группа препаратов способна оказывать защитное влияние на кость, снижая риск развития переломов и болевого синдрома практически в 2 раза [26].

Переносимость помегары в настоящем, небольшом по объему, исследовании существенно не отличалась от переносимости оригинального памидроната (аредиа, Новартис) по спектру выявленных побочных реакций. Общая частота осложнений была существенно ниже, и ни у кого из пациентов не потребовалось отменить препарат, что может быть отчасти объяснено более коротким (4 мес) периодом лечения в сравнении с данными контролируемых исследований (9–24 мес). Целевым осложнением, прослеженным в данном исследовании, была нефротоксичность. По данным различных авторов, нефротоксичность бисфосфонатов встречается с частотой от 2 до 15%, и это серьезная проблема [22]. Анализ применения золедроновой кислоты на протяжении нескольких лет показал существенный риск развития острой почечной недостаточности при применении препарата в стан-

дартной дозе (4 мг), причем в 25% случаев осложнение развилось после первой инфузии препарата [28]. В существующих рекомендациях снижение клиренса креатинина < 30 мл/мин у пациентов с ММ является противопоказанием для назначения золедроновой кислоты. В настоящем исследовании клиренс креатинина не претерпел существенной динамики на фоне лечения, несмотря на то что у 5 больных из 19 (26%) исходно его показатель превышал норму. Содержание альбумина в моче до лечения оказалось повышенным у 8 пациентов из 15 (53%), что может свидетельствовать о способности данного теста выявлять более ранние, скрытые нарушения почечной функции. В то же время у 2 больных с многократным превышением данного показателя применение помегары не привело к нарастанию альбуминурии, что подтверждает ранние наблюдения о безопасности препарата у пациентов с тяжелой почечной дисфункцией [15]. Ограниченность времени исследования не позволяет подробно проследить взаимосвязь между ранними изменениями функции почек по альбуминовому тесту и риску развития последующей почечной недостаточности. Наблюдения продолжаются.

Таким образом, в настоящем, хотя и ограниченном по объему, исследовании было показано, что применение помегары (памидронат, Астра Зенека) у пациентов с ММ и остеолитическими поражениями костей сопровождается снижением уровня ряда биохимических маркеров остеодеструкции, увеличением ИП качества жизни и позволяет уменьшить дозу анальгетических препаратов. Переносимость препарата принципиально не отличалась от переносимости оригинального памидроната, показанной в контролируемых исследованиях. Тщательный мониторинг функции почек при терапии помегарой не показал существенного отрицательного влияния на почечную функцию, в том числе, у больных с исходным ее поражением.

Л и т е р а т у р а

1. Malpas J.S., Bergsagel D.E., Kyle R., Anderson K. Multiple Myeloma: Biology and Management. Oxford University Press: Oxford.
2. Hsu H., Lacey D.L., Dunstan C.R. et al. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:3540–5.
3. Dankbar B., Padro T., Leo R. et al. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in paracrine tumor-stromal cell interactions in multiple myeloma. *Blood* 2000;95:2630–6.
4. Abe M., Hiura K., Wilde J. et al. Role for macrophage inflammatory protein (MIP)-1alpha and MIP-1beta in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *Blood* 2002;100:2195–202.
5. Calvo M.S., Eyre D.R., Gundberg C.M. Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover. *Endocr Rev* 1996;17:333–68.
6. Delmas P.D., Schlemmer A., Gineyts E., Riis B., Christiansen C. J Bone Miner Res. Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis. 1991 Jun;6(6):639–44.
7. Clemons M.J., Dranitsaris G., Ooi W.S. et al. Phase II trial evaluating the palliative benefit of second-line zoledronic acid in breast cancer patients with either a skeletal-related event or progressive bone metastases despite first-line bisphosphonate therapy. *J Clin Oncol* 2006;24:4895–900.
8. Coleman R.E., Major P., Lipton A. et al. Predictive value of bone resorption and formation markers in cancer patients with bone metastases receiving the bisphosphonate zoledronic acid. *J Clin Oncol* 2005;23:4925–35.
9. Russell R.G.G. Bisphosphonates: from bench to bedside. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1068:367–401.
10. Ridley A.J., Hall A. The small GTP-binding protein Rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 1992;70:389–99.
11. Ridley A.J., Paterson H.F., Johnston C.L., Diekmann D., Hall A. The small GTP-binding protein, rac, regulates

- growth factor-induced membrane ruffling. *Cell* 1992;70:401–10.
12. Berenson J.R., Lichtenstein A., Porter L. et al. Efficacy of pamidronate in reducing the skeletal events in patients with advanced multiple myeloma. *N Engl J Med* 1996;334:488–93.
 13. Berenson J.R., Rosen L.S., Howell A. et al. Zoledronic acid reduces skeletal-related events in patients with osteolytic metastases. *Cancer* 2001;91:1191–200.
 14. Rosen L.S., Gordon D., Kaminski M. et al. Zoledronic acid versus pamidronate in the treatment of skeletal metastases in patients with breast cancer or osteolytic lesions of multiple myeloma: a phase III, double-blind, comparative trial. *Cancer J* 2001;7:377–87.
 15. Machado C.E., Flombaum C.D. Safety of pamidronate in patients with renal failure and hypercalcemia. *Clin Nephrol* 1996;45(3):175–9.
 16. Durie B.G., Katz M., McCoy J., Crowley J. Osteonecrosis of the jaws in myeloma: Time dependent correlation with Aredia and Zometa use. *Blood* 2004;104(ASH Annual Meeting Abstracts):756.
 17. Zervas K., Verrou E., Teleioudis Z. et al. Incidence, risk factors and management of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma: a single center experience in 303 patients. *Brit J of Haemat* 2006;134:620–3.
 18. Kyle R.A., Yee G.C., Somerfield M. et al. ASCO 2007 clinical practice guidelines update on the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2007;25:2464–72.
 19. Lacy M.Q., Dispenzieri A., Gertz M.A. et al. Mayo clinic consensus statement for the use of bisphosphonates in multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 2006;81:1047–53.
 20. Cleeland C.S., Mendoza T., Wang S. et al. Assessing symptom distress in cancer patients. The M.D. Anderson Symptom Inventory. *Cancer* 2000;89(7):1634–46.
 21. Ivanova M.O., Ionova T.I., Kalyadina S.A. et al. Cancer-related symptom assessment in Russia: Validation and utility of the Russian M. D. Anderson Symptom Inventory. *J Pain Sympt Management* 2005;30(5):443–53.
 22. Rosen L.S., Gordon D., Kaminski M. et al. Long-term efficacy and safety of zoledronic acid compared with pamidronate disodium in the treatment of skeletal complications in patients with advanced multiple myeloma or breast carcinoma: a randomized, double-blind, multicenter, comparative trial. *Cancer* 2003;98:1735–44.
 23. American Diabetes Association. Diabetes nephropathy. *Diabetes Care* 1999;22(Suppl 1):66–9.
 24. Верткин А.Л., Талибов О.Б. Генерики и эквивалентность – что стоит за терминами. *Неотложная терапия* 2004;1–2:16–7.
 25. Чумак В. Т. Оборот лекарственных средств в Украине. Проблемы и перспективы. Материалы I Международной конференции «Клинические испытания лекарственных средств в Украине». Киев, 2006, ноябрь.
 26. Djulbegovic B., Wheatley K., Ross J. et al. Bisphosphonates in multiple myeloma. *Cochrane Database Syst Rev* 2002;3:CD003188.
 27. Chang J.T., Green L., Beitz J. Renal failure with the use of zoledronic acid. *N Engl J Med* 2003;349:1676–9.
 28. Wewers M.E. & Lowe N.K. A critical review of visual analogue scales in the measurement of clinical phenomena. *Research in Nursing and Health* 1990;13:227–36.

ПРОБЛЕМА ЭПШТЕЙНА–БАРР ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Д.Н. Балашов^{1,2}, Л.Н. Шелихова^{1,2}, А.А. Демушкина², П.Е. Трахтман^{1,2}, Е.В. Скоробогатова^{1,2},
Д.В. Литвинов^{1,2}, Е.В. Райкина¹, А.А. Масчан¹

¹ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии Минздрава России, Москва;

²Российская детская клиническая больница, Москва

Контакты: Дмитрий Николаевич Балашов bala8@yandex.ru

Эпштейна–Барр вирус (ЭБВ) является членом семейства герпес-вирусов. В настоящее время хорошо известно, что он может служить причиной широкого спектра лимфопролиферативных заболеваний. Данная проблема особенно серьезна в контексте пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Частота летальных исходов, связанных с этим осложнением, может достигать 50–90%. Факторами, компрометирующими развитие посттрансплантационных лимфопролиферативных синдромов (ПТЛС), являются: применение парциально совместимого трансплантата, Т-клеточная деплеция, наличие у пациента тяжелой острой реакции «трансплантат против хозяина», использование антилимфоцитарного глобулина и т. д. Тяжесть посттрансплантационных осложнений, ассоциированных с ЭБВ, а также ряд проблем, связанных с отсутствием четкого алгоритма проведения диагностики, профилактики и терапии ПТЛС – аргументы в пользу необходимости дальнейших исследований в данном направлении.

Ключевые слова: Эпштейна–Барр вирус, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, лимфопролиферативный синдром

EPSTEIN–BARR VIRUS INFECTION IN PATIENTS AFTER HEMATOPOIETIC STEM CELLS TRANSPLANTATION

D.N. Balashov^{1,2}, L.N. Shelikhova^{1,2}, A.A. Demushkina², P.E. Trakhtman^{1,2}, Ye.V. Skorobogatova^{1,2},
D.V. Litvinov^{1,2}, Ye.V. Raykina¹, A.A. Maschan¹

¹Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow

²Russian Children Clinical Hospital, Moscow

Epstein–Barr virus (EBV) is a member of herpes-viruses family. Now it is well-known, that it can be a cause of wide spectrum lymphoproliferative disorders. The given problem is especially serious after hematopoietic stem cells transplantation (HSCT); frequency of death linked to this complication can achieve 50–90%. Risk factors for development of posttransplant lymphoproliferative syndromes (PTLS) are: using partially compatible graft, T-cell depletion, presence of severe acute graft-versus-host reaction (GVHD), using of antilymphocytic globulin, etc. Severity of associated with EBV posttransplant complications and problems relate to absence of clear diagnostic algorithm, PTLS prophylactic and therapy schedule are argument for necessity of the further studies.

Key words: Epstein–Barr virus, hematopoietic stem cell transplantation, lymphoproliferative syndroms

Введение

Эпштейна–Барр вирус (ЭБВ) является членом семейства герпес-вирусов. По аналогии с другими вирусами данной группы ЭБВ состоит из ДНК, которая окружена икосаэдрическим нуклеокапсидом и оболочкой вируса.

ЭБВ – первый вирус, отнесенный к группе онковирусов; в настоящее время известно, что он может стать причиной широкого спектра В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний, таких как лимфома Беркитта, лимфома Ходжкина, ЭБВ-ассоциированные лимфомы у иммунокомпро-

мированных пациентов. В соответствии с существующей в настоящее время классификацией посттрансплантационные лимфопролиферативные синдромы (ПТЛС) делятся на ранние, представляющие собой ЭБВ-ассоциированные поликлональные пролиферации лимфоидной ткани, и истинные моноклональные заболевания, в том числе полиморфные и мономорфные ПТЛС, которые впоследствии могут дифференцироваться в лимфому Беркитта, Беркитт-подобную лимфому, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому и лимфому Ходжкина. В то время как ПТЛС, выявляемые на ран-

них этапах после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), как правило, ЭБВ-ассоциированы, поздние ПТЛС нередко не связаны с ЭБВ-инфекцией.

Основное этиологическое звено развития ПТЛС заключается в иммуносупрессивной терапии и снижении Т-клеточного ответа, что может приводить к неконтролируемой пролиферации В-клеток. Иначе говоря, риск реактивации ЭБВ значительно увеличивается при наличии у пациента достаточного количества В-клеток и снижении количества циркулирующих Т-лимфоцитов [1–3]. Существует также мнение, что для развития ЭБВ-ассоциированного ПТЛС (ЭБВ-ПТЛС) в лимфоblastных В-клетках должен произойти еще ряд событий, компрометирующих выживание клеток и развитие опухоли. В частности, ЭБВ-инфицированные В-клетки должны потерять способность выхода из клеточного цикла и перехода в состояние покоя. И, кроме того, пролиферирующие клетки могут в дальнейшем приобрести вторичные генетические изменения, предрасполагающие к развитию злокачественного клона [4].

В настоящее время количество летальных исходов, связанных с ПТЛС, составляет 50–90% [5, 6]. Несмотря на то что в общем частота развития ПТЛС невелика (1–3%) [7], такие факторы, как применение парциально совместимого трансплантата, Т-клеточная деплеция, наличие тяжелой острой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), использование анти timоцитарного глобулина (АТГ), могут увеличивать вероятность развития ПТЛС до 15–25% [8]. Наибольшее количество случаев ПТЛС приходится на первые 6 мес после ТГСК [9, 10].

Особенности проводимого режима кондиционирования перед трансплантацией по-разному влияют на вероятность развития ЭБВ-ассоциированного ПТЛС. К факторам, способствующим развитию ПТЛС после миелоаблативных режимов кондиционирования, относятся [11]: Т-клеточная деплеция, использование альтернативного донора (неродственного или парциально совместимого родственного), применение АТГ или анти-CD3 моноклональных антител для профилактики и лечения острой РТПХ. По данным Curtis и соавт. [11], при наличии 3 и более из вышеперечисленных факторов частота развития ЭБВ-ассоциированного ПТЛС достигает 22%. Van Esser и соавт. [12] продемонстрировали, что комбинация Т-клеточной деплеции и АТГ является наиболее значимым фактором риска развития ЭБВ-ПТЛС у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) (рис. 1).

Лишь небольшое количество публикаций посвящено развитию ЭБВ-ассоциированного ПТЛС после немиелоаблативных режимов кондиционирования. Наличие высокого уровня ДНК ЭБВ в крови, как правило, не считается предиктивным показателем для развития ПТЛС после ТГСК от HLA-идентичного

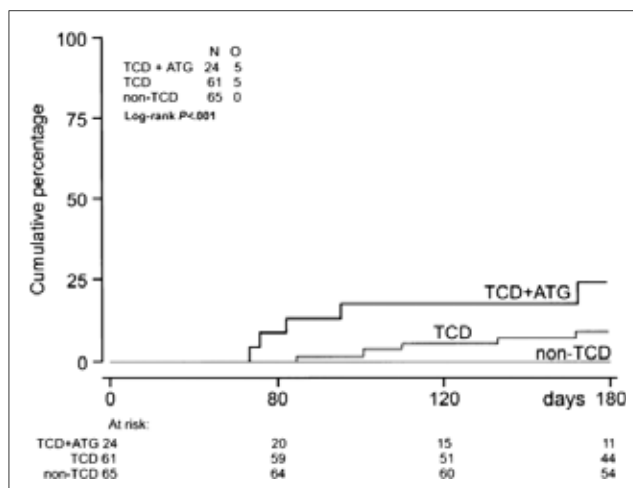


Рис. 1. Сравнение частоты развития ЭБВ-ПТЛС у пациентов после аллогенной ТГСК с использованием Т-клеточной деплеции в комбинации с АТГ во время кондиционирования, после Т-клеточной деплеции без АТГ, а также после ТГСК без Т-клеточной деплеции и АТГ [12]

сиблинга [13]. В ряде исследований была выявлена относительно высокая частота развития поздних ЭБВ-ассоциированных ПТЛС (1–3%) после немиелоаблативных режимов кондиционирования с применением алемтосузаба, что объяснялось медленной реконституцией ЭБВ-специфических цитотоксических Т-лимфоцитов [14, 15]. В то же время J. Cohen и соавт. [16] продемонстрировали, что частота развития ЭБВ-ПТЛС при деплеции Т-клеток *in vivo* посредством применения АТГ может быть весьма высокой (15%) и даже превосходить вероятность развития ПТЛС, выявляемую при миелоаблативных режимах. Частота развития ЭБВ-виремии была также значительно выше в группе пациентов, получавших АТГ (15 из 43 пациентов; 35%), по сравнению с группой, получавшей алемтосузаб (12 из 73; 16,4%; $p < 0,05$). По мнению E. Meijer и соавт. [17], меньшая частота развития ЭБВ-ПТЛС при миелоаблативных режимах (по сравнению с немиелоаблативными режимами) может объясняться химиоаблацией В-клеток у пациента.

Учитывая вышеизложенное, можно говорить о том, что частота развития ЭБВ-ПТЛС невысока, а применение АТГ и использование ГСК от альтернативного донора служат наиболее важными компрометирующими факторами развития ЭБВ-инфекции и ЭБВ-ПТЛС [17].

Мониторинг ЭБВ-ПТЛС

В 1994 г. появились первые публикации, посвященные анализу эффективности диагностики ЭБВ-инфекции посредством определения ДНК ЭБВ у пациента [18, 19].

В настоящее время с точки зрения интерпретации результатов наиболее точным и правильным является метод количественной ПЦР «в реальном времени» («*real time*» ПЦР). Wagner и соавт. [20] опу-

бликовали результаты исследования, посвященного оценке роли «real-time» ПЦР в периферической крови и плазме в контексте ЭБВ-инфекции. Это исследование было выполнено на пациентах после трансплантации почки и здоровых добровольцах. Чувствительность в обоих случаях составляла 100%, хотя специфичность определения ДНК ЭБВ в мононуклеарах составила 89%, а в плазме — 100%. В случае достижения ремиссии со стороны ЭБВ-ПТЛС плазма крови более эффективно санировалась от ЭБВ по сравнению с мононуклеарной фракцией крови, что дало возможность предположить, что измерение ДНК ЭБВ в плазме лучше отражает эффективность проводимой терапии. Van Esser и соавт. [12] опубликовали результаты проспективного исследования, посвященного анализу прогностической ценности тестирования ДНК ЭБВ посредством количественной «real-time» ПЦР. В исследование вошли 85 ЭБВ-серопозитивных реципиентов Т-деплементированных ГСК и 65 ЭБВ-серопозитивных реципиентов неманипулированных ГСК. Вероятность развития ЭБВ-виремии (более 50 копий/мл) была высокой как после неманипулированного, так и после Т-деплементированного трансплантата (31% и 65% соответственно), однако развитие ПТЛС определялось исключительно после проведения Т-клеточной деплеции. Вероятность развития ЭБВ-ПТЛС при различном уровне виремии после Т-деплезированной ТГСК была также проанализирована в данном исследовании. Прогностическая ценность выявления 1000 копий ДНК ЭБВ/мл составила 39%, а 10 000 копий ДНК ЭБВ/мл — 50% (табл. 1).

Таблица 1. Частота развития ЭБВ-ПТЛС после ТГСК с Т-деплецией в зависимости от вирусной нагрузки [12]

ЭБВ нагрузка (копий ДНК ЭБВ/мл)	Число больных со специфической реактивацией	Число больных с ЭБВ-ПТЛС	Прогностическая ценность, %	
			Позитивная	Негативная
100	41	10	24	100
1000	26	10	39	100
10 000	14	7	50	96
100 000	7	5	71	94
500 000	1	1	100	89

В настоящее время существует мнение о правильности интерпретации рисков развития ЭБВ-ПТЛС исходя не только из уровня ДНК ЭБВ в крови, но и из соотношения количества ДНК ЭБВ и количества нуклеарных клеток у пациента. В частности, по мнению ряда авторов, максимально допустимой вирусной нагрузкой является 1000 копий ДНК вируса в периферической крови на 10^5 нуклеарных клеток [4]. По данным A. Dominetto и соавт. [21], риск развития ПТЛС выше

у пациентов с виремией, превышающей 1000 копий ДНК ЭБВ/ 10^5 нуклеарных клеток (33%) по сравнению с пациентами, у которых количество ДНК ЭБВ было 1000 копий/ 10^5 клеток (2%).

Ранняя терапия ЭБВ-ПТЛС

Существуют, как минимум, 2 основных подхода к проведению ранней терапии. Одним из них является упреждающая терапия, которая основана на тщательном и регулярном мониторинге уровня ДНК ЭБВ и начале лечения до развития ПТЛС. Вторым подходом является так называемая безотлагательная терапия, которая проводится с учетом эскалации уровня ДНК ЭБВ, но только при наличии очевидных клинических признаков прогрессии ПТЛС.

Под упреждающей терапией подразумевают отмену или редукцию иммуносупрессивной терапии [22], использование ритуксимаба (анти-CD20) [23], а также инфузию ЭБВ-специфических цитотоксических лимфоцитов [24].

S. Cesaro и соавт. [25] исследовали эффективность редукции иммуносупрессивной терапии у 79 детей, получивших ТГСК (совместимый родственный донор, $n=22$; неродственный донор, $n=57$) после миелоаблативного кондиционирования. Мониторинг ДНК ЭБВ осуществлялся с помощью количественной ПЦР. У 28 из 79 пациентов после выявления не менее 300 копий ДНК ЭБВ/ 10^5 в периферической крови иммуносупрессивная терапия была либо редуцирована ($n=11$), либо отменена ($n=17$). В результате у всех больных произошла негативизация ДНК ЭБВ в крови. Таким образом, редукция иммуносупрессии является одним из возможных вариантов контроля ЭБВ-инфекции у пациентов после ТГСК. Естественно, что, принимая решение о таком подходе, необходимо оценить и другие возможные варианты развития событий, связанных с отменой иммуносупрессии (РТПХ, отторжение трансплантата и т. д.).

Одним из возможных вариантов упреждающей терапии служит также превентивное введение ритуксимаба. Van Essen и соавт. [23] провели проспективное исследование данного подхода у пациентов после ТГСК с Т-деплецией. Только у 1 больного из группы, получавшей ритуксимаб (при > 1000 копий ДНК ЭБВ/мл), в дальнейшем было диагностировано развитие ЭБВ-ПТЛС. В группе исторического контроля, не получавшей упреждающую терапию при > 1000 копий ДНК ЭБВ/мл, ЭБВ-ПТЛС было диагностировано у 10 из 26 пациентов (38,5%). Это исследование продемонстрировало важность мониторинга ЭБВ у пациентов высокого риска, а также возможность терапии ритуксимабом.

«Безотлагательная» терапия, предложенная и описанная Wagner и соавт. [26], также оказалась весьма эффективной. Она не является стандартным подходом, поэтому использовалась исключительно в качестве исследовательского протокола у пациентов

с высоким титром ДНК ЭБВ и клинической симптоматикой (лихорадка, лимфаденопатия, данные визуализирующих методов исследования, характерные для ЭБВ-ПТЛС). В исследование вошло 85 больных после ТГСК от неродственного/парциально совместимого донора с Т-деплецией трансплантата. Шестнадцать из них имели вирусную > 4000 копий ЭБВ-ДНК/мл, а 8 из этих 16 — клиническую симптоматику, характерную для ПТЛС. Ритуксимаб получили 5 пациентов, 2 — специфические цитотоксические Т-лимфоциты, а 1 — и то, и другое. Все больные продемонстрировали разрешение клинической симптоматики и нормализацию титра ДНК ЭБВ.

Таким образом, количественный мониторинг ДНК ЭБВ в крови пациентов высокого риска и ранние терапевтические меры служат достаточно эффективным методом, способствующим снижению заболеваемости и смертности пациентов от ЭБВ-ПТЛС. Естественно, что у каждой из методик (упреждающей и безотлагательной) есть свои положительные и отрицательные стороны. К сожалению, до настоящего момента не было проведено ни одного исследования, посвященного сравнительному анализу эффективности данных подходов. Недостаток упреждающей терапии — вероятность переоценки проблемы и, как следствие, проведение ненужной терапии. Однако в исследовании Van Essen и соавт. [12] было продемонстрировано, что однократное применение ритуксимаба не является причиной развития каких-либо побочных эффектов (в том числе причиной развития оппортунистических инфекций). С другой стороны, ЭБВ-ПТЛС может развиваться агрессивно и быстро, что может потребовать интенсивной терапии с несколькими применениями ритуксимаба, применением инфузии донорских лимфоцитов и т. д. Естественно, что идеальное решение вопроса о приоритетной терапии — проведение проспективного рандомизированного исследования. Однако, учитывая эффективность этих подходов, статистически значимые результаты могут быть получены только после исследования, включающего значительное число пациентов.

Тем не менее совокупность имеющихся данных склоняет большинство клиницистов в пользу проведения исключительно упреждающей терапии пациентов высокого риска после аллогенной ТГСК [17].

Лечение ЭБВ-ПТЛС после аллогенной ТГСК проводится, как правило, с помощью ритуксимаба и/или адоптивной Т-клеточной иммунотерапии. Необходимость проведения специфической противовирусной терапии до настоящего времени остается предметом дискуссии.

Противовирусная терапия

Ганцикловир и ацикловир (нуклеозидные аналоги) — наиболее часто используемые вирусостатические препараты для лечения ЭБВ. Посредством вирусных энзимов (тимидин киназа в случае ЭБВ-инфекции)

нуклеозиды конвертируются в монофосфаты. С помощью клеточных киназ происходит 2-е и 3-е фосфорилирование. Трифосфаты ганцикловира и ацикловира встраиваются в вирусную ДНК с помощью ДНК-полимеразы, что в конечном итоге приводит к нарушению репликации вирусной ДНК [27]. Однако объективных статистически значимых данных, свидетельствующих об эффективности использования этих препаратов в качестве одного из компонентов терапии ЭБВ-ПТЛС, до настоящего времени не получено, а эффективность таких препаратов, как сидофовир и фоскарнет, в контексте ЭБВ-ПТЛС до настоящего времени вообще не исследовалась.

Анти-В-клеточная терапия

Применение ритуксимаба (анти-CD20 моноклональных антител) в качестве терапии ЭБВ-ПТЛС показало свою эффективность в ряде исследований. Ответ на терапию регистрировался в 66–100% случаев [28–30] (табл. 2). Ритуксимаб применялся от 1 до 9 раз в дозе 375 мг/м² с интервалом в 7 дней. Тяжелых побочных эффектов при проведении терапии не наблюдалось.

Первое проспективное исследование эффективности ритуксимаба было недавно проведено у пациентов после трансплантации солидных органов [31]. В исследование вошли 43 больных с ЭБВ-ПТЛС, не ответивших на редукцию или отмену иммуносупрессии. Все больные получили 4 введения препарата в дозе 375 мг/м² с интервалом в 7 дней. Через 360 дней после начала терапии частота ответа на ритуксимаб составила 68%.

Безусловно, эти результаты не могут быть напрямую экстраполированы на пациентов после ТГСК. Тем не менее они являются свидетельством эффективности терапии ритуксимабом при лечении ЭБВ-ПТЛС.

Адоптивная Т-клеточная иммунотерапия

Т-клеточная иммунотерапия — одна из эффективных опций для лечения ЭБВ-ПТЛС у пациентов после ТГСК. O'Reilly и соавт. [32] опубликовали результаты лечения 18 реципиентов ГСК с ЭБВ-ПТЛС, которым проводились трансфузии неселектированных донорских лимфоцитов. У 16 из 18 больных была достигнута полная ремиссия (ПР) ЭБВ-ПТЛС. В настоящее время живы и находятся в ПР по ПТЛС 10 из 18 больных. Трое пациентов умерли от РТПХ, 1 — от прогрессии ЭБВ-ПТЛС. Эти данные весьма обнадеживают по сравнению с исследованием Lucas и соавт. [33], где ПР достигли только 4 из 13 больных, а выжили 2 пациента (4 — погибли от тяжелой РТПХ).

Таким образом, для лечения ЭБВ-ПТЛС может быть использована анти-В-клеточная терапия (ритуксимаб), адоптивная Т-клеточная иммунотерапия, а также комплексное применение методов. Учитывая имеющиеся данные относительно эффективности и безопасности адоптивной Т-клеточной терапии, ритуксимаб на сегод-

Таблица 2. Эффективность терапии ритуксимабом у больных с ЭБВ-ПТЛС

Исследование	Число больных	Полная ремиссия, %	Общая выживаемость, %	Средний срок наблюдения, мес
Kuehnle и соавт. [28]	3	10	100	8 (7–9)
Milpied и соавт. [29]	6	83	66	8 (1–16)
Fayeu и соавт. [30]	12	66	83	24 (12–34)

нышний день является терапией 1-й линии при лечении ЭБВ-ПТЛС. В качестве дополнительной лечебной опции для пациентов, не ответивших на терапию ритуксимабом, необходимо принятие решения о проведении инфузии ЭБВ-специфических Т-клеток.

Клиническое наблюдение

В январе 2007 г. в отделении трансплантации костного мозга Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии на базе Российской детской клинической больницы г. Москвы была выполнена ТГСК от неродственного донора мальчику с диагнозом «острый нелимфобластный лейкоз (M7 по FAB классификации), первый ранний рецидив, рефрактерное течение». На момент проведения трансплантации возраст пациента составлял 2 года.

Учитывая сверхвысокий риск неудачного лечения, ребенку проведена инфузия препарата гемтузумаб в дозе 6 мг/м², затем кондиционирование по протоколу: треосульфат 42 г/м², флударабин 100 мг/м², тимоглобулин 10 мг/кг. Источником ГСК служил костный мозг. Количество нуклеарных клеток (NC) в трансплантате составило 9×10⁸/кг веса реципиента, CD34+ – 7×10⁶/кг веса реципиента.

Профилактика острой РТПХ проводилась посредством комбинированного использования препаратов такролимус (с -1 дня) и микофенолата мофетила (с +1 дня).

Приживление нейтрофилов констатировано на +30 день, тромбоцитов – на +25 день.

На +66 день у ребенка регистрировалась ЭБВ-виремия (до 100 тыс. копий ЭБВ ДНК/мл), сопровождающаяся увеличением парааортальных и мезентериальных лимфатических узлов, что было интерпретировано как течение ЭБВ-ПТЛС. Проводилась терапия ритуксимабом в стандартной дозе 375 мг/м² еженедельно. После 4 введений препарата достигнуты разрешение виремии и нормализация размеров пораженных лимфатических узлов.

На +100 день у ребенка появилась неврологическая симптоматика, фебрилитет. При вирусологическом исследовании ликвора обнаружен ЭБВ в количестве 32 400 копий/мл; уровень ЭБВ в крови составил 4200 копий/мл. При проведении компьютерной томографии и магнитно-резонансного исследования верифицированы множественные очаги в различных участках головного мозга: субкортикально в белом веществе мозга, в стволе, в ножках мозга, в области подкорко-

вых ядер слева (рис. 2). Учитывая имеющиеся данные, у мальчика было диагностировано ЭБВ-поражение головного мозга. Начата терапия ритуксимабом: 4 введения в дозе 375 мг/м² в/в и 3 интратекальных введения в дозе 15 мг с интервалом в 7 дней. На фоне проводимой терапии достигнуто снижение титра ЭБВ в ликворе до 1396 копий/мл. Несмотря на это, состояние ребенка ухудшалось, появились новые неврологические очаговые нарушения. Кроме того, был диагностирован костномозговой рецидив острого нелимфобластного лейкоза и смещение химеризма в пользу собственных клеток (79%). Начаты цитостатическая терапия и трансфузии донорских лимфоцитов с целью попытки достижения ремиссии.

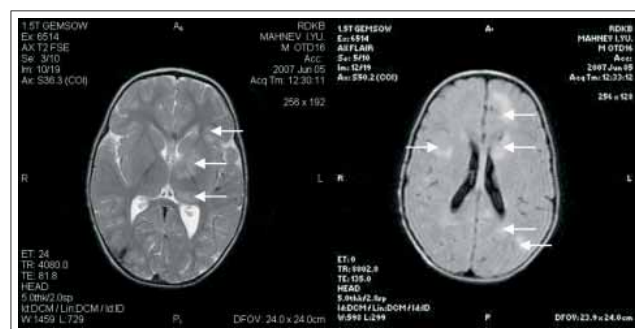


Рис. 2. Типичное для первичных лимфом ЦНС-перивентрикулярное поражение с вовлечением базальных ганглиев, таламуса и мозолистого тела. Больной М. (2 года). МРТ 1,5T System. Аксиальные срезы T2–И4 и FLAIR. Визуализируются множественные гиперинтенсивные зоны поражения с акцентом в подкорковых ядрах, мозолистом теле; с «размытыми» контурами и умеренно выраженным объемным воздействием на передний рог левого бокового желудочка

Несмотря на проводимую терапию, на +182 день ребенок умер от прогрессии полиорганной недостаточности на фоне рецидива основного заболевания и сохраняющихся неврологических нарушений.

Заключение

Проблема ЭБВ-инфекции, наряду с другими посттрансплантационными проблемами, является чрезвычайно актуальной. Ее недооценка может ключевым образом повлиять на результаты трансплантаций потенциально curaбельных пациентов. Тяжесть посттрансплантационных осложнений, ассоциированных с ЭБВ, а также ряд проблем, связанных с отсутствием четкого алгоритма проведения диагностики, профилактики и терапии ЭБВ, – весомые аргументы в пользу необходимости дальнейших исследований в данном направлении.

Л и т е р а т у р а

1. Babcock G.J., Decker L.L., Volk M., Thorley-Lawson D.A. EBV persistence in memory B cells in vivo. *Immunity* 1998;9:395–404.
2. Murray R.J., Kurilla M.G., Brooks J.M., Thomas W.A., Rowe M., Kieff E. et al. Identification of target antigens for the human cytotoxic T-cell response to Epstein–Barr virus (EBV): implications for the immune control of EBV-positive malignancies. *J Exp Med* 1992;176:157–68.
3. Khanna R., Burrows S.R. Role of cytotoxic T-lymphocytes in Epstein–Barr virus-associated diseases. *Annu Rev Microbiol* 2000;54:19–48.
4. Bacigalupo A. Antithymocyte globuline for prevention of graft-versus-host disease. *Curr Opin Hematol* 2005;12:457–62.
5. Markasz L., Stuber G., Flaberg E., Jernberg A.G., Eksborg S., Olah E. et al. Cytotoxic drug sensitivity of Epstein–Barr virus transformed lymphoblastoid B-cells. *BMC Cancer* 2006;6:265.
6. Bower M. The management of lymphoma in the immunosuppressed patient. *Best Pract Res Clin Haematol* 2002;15:517–32.
7. Meijer E. and Cornelissen J.J. Epstein–Barr virus-associated lymphoproliferative disease after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: molecular monitoring and early treatment of high-risk patients *Current Opinion in Hematology* 2008;15:576–85.
8. Juvonen E., Aalto S., Tarkkanen J. et al. Retrospective evaluation of serum Epstein–Barr virus DNA levels in 406 allogeneic stem cell transplant patients. *Haematologica* 2007;92:819–25.
9. Ocheni S., Kroeger N., Zabelina T. et al. EBV reactivation and post transplant lymphoproliferative disorders following allogeneic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2008;43:181–6.
10. Sundin M., Le Blanc K., Ringden O. et al. The role of HLA mismatch, splenectomy and recipient Epstein–Barr virus seronegativity as risk factors in posttransplant lymphoproliferative disorder following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2006;91:1059–67.
11. Curtis R.E., Travis L.B., Rowlings P.A. et al. Risk of lymphoproliferative disorders after bone marrow transplantation: a multiinstitutional study. *Blood* 1999;94:2208–16.
12. Van Esser J.W., van der Holt B., Meijer E. et al. Epstein–Barr virus (EBV) reactivation is a frequent event after allogeneic stem cell transplantation (SCT) and quantitatively predicts EBV-lymphoproliferative disease following T-cell-depleted SCT. *Blood* 2001;98:972–8.
13. Meijer E., Dekker A.W., Lokhorst H.M. et al. Low incidence of infectious complications after nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* 2004;6:171–8.
14. Chakrabarti S., Milligan D.W., Pillay D. et al. Reconstitution of the Epstein–Barr virus-specific cytotoxic T-lymphocyte response following T-cell-depleted myeloablative and nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2003;102:839–42.
15. Snyder M.J., Stenzel T.T., Buckley P.J. et al. Posttransplant lymphoproliferative disorder following nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Am J Surg Pathol* 2004;28:794–800.
16. Cohen J., Gandhi M., Naik P. et al. Increased incidence of EBV-related disease following paediatric stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Br J Haematol* 2005;129:229–39.
17. Meijer E. and Cornelissen J.J. Epstein–Barr virus-associated lymphoproliferative disease after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: molecular monitoring and early treatment of high-risk patients. *Current Opinion in Hematology* 2008;15:576–85.
18. Meijer E., Dekker A.W., Weersink A.J. et al. Prevention and treatment of Epstein–Barr virus-associated lymphoproliferative disorders in recipients of bone marrow and solid organ transplants. *Br J Haematol* 2002;119:596–607.
19. Weinstock D.M., Ambrossi G.G., Brennan C. et al. Preemptive diagnosis and treatment of Epstein–Barr virus-associated post transplant lymphoproliferative disorder after hematopoietic stem cell transplant: an approach in development. *Bone Marrow Transplant* 2006;37:539–46.
20. Wagner H.J., Wessel M., Jabs W. et al. Patients at risk for development of posttransplant lymphoproliferative disorder: plasma versus peripheral blood mononuclear cells as material for quantification of Epstein–Barr viral load by using real-time quantitative polymerase chain reaction. *Transplantation* 2001;72:1012–9.
21. Dominetto A., Tedone E., Soracco M. et al. Epstein–Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplant based on molecular monitoring is predictive of lymphoproliferative disease. *Bone Marrow Transplantation*. 2004;33(Suppl 1):192.
22. Meerbach A., Wutzler P., Hafer R. et al. Monitoring of Epstein–Barr virus load after hematopoietic stem cell transplantation for early intervention in posttransplant lymphoproliferative disease. *J Med Virol* 2008;80:441–54.
23. Van Esser J.W., Niesters H.G., van der Holt B. et al. Prevention of Epstein–Barr virus-lymphoproliferative disease by molecular monitoring and preemptive rituximab in high-risk patients after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2002;99:4364–9.
24. Gustafsson A., Levitsky V., Zou J.Z. et al. Epstein–Barr virus (EBV) load in bone marrow transplant recipients at risk to develop posttransplant lymphoproliferative disease: prophylactic infusion of EBV-specific cytotoxic T-cells. *Blood* 2000;95:807–14.
25. Cesaro S., Murrone A., Mengoli C. et al. The real-time polymerase chain reaction-guided modulation of immunosuppression enables the preemptive management of Epstein–Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2005;128:224–33.
26. Wagner H.J., Cheng Y.C., Huls M.H. et al. Prompt versus preemptive intervention for EBV lymphoproliferative disease. *Blood* 2004;103:3979–81.
27. Ljungman P. Prophylaxis against herpesvirus infections in transplant recipients. *Drugs* 2001;61:187–96.
28. Kuehnle I., Huls M.H., Liu Z. et al. CD20 monoclonal antibody (rituximab) for therapy of Epstein–Barr virus lymphoma after hemopoietic stem-cell transplantation. *Blood* 2000;95:1502–5.
29. Milpied N., Vasseur B., Parquet N. et al. Humanized anti-CD20 monoclonal antibody (Rituximab) in post transplant B-lymphoproliferative disorder: a retrospective analysis on 32 patients. *Ann Oncol* 2000;11(Suppl 1):113–6.
30. Faye A., Quartier P., Reguerre Y. et al. Chimaeric anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) in posttransplant B-lymphoproliferative disorder following stem cell transplantation in children. *Br J Haematol* 2001;115:112–8.
31. Choquet S., Leblond V., Herbrecht R. et al. Efficacy and safety of rituximab in B-cell posttransplantation lymphoproliferative disorders: results of a prospective multicenter phase 2 study. *Blood* 2006;107:3053–7.
32. O'Reilly R.J., Small T.N., Papadopoulos E. et al. Biology and adoptive cell therapy of Epstein–Barr virus-associated lymphoproliferative disorders in recipients of marrow allografts. *Immunol Rev* 1997;157:195–216.
33. Lucas K.G., Burton R.L., Zimmerman S.E. et al. Semiquantitative Epstein–Barr virus (EBV) polymerase chain reaction for the determination of patients at risk for EBV-induced lymphoproliferative disease after stem cell transplantation. *Blood* 1998;91:3654–61.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК EX VIVO В РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ (обзор литературы и собственный опыт)

Т.В. Шаманская^{1,2}, Е.Ю. Осипова^{1,2}, Б.Б. Пурбуева^{1,2}, А.Ю. Устюгов¹, Т.А. Астрелина^{1,2},
М.В. Яковлева², С.А. Румянцев¹

¹ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии Минздрава России, Москва

²ГУЗ Банк стволовых клеток Департамента Здравоохранения, Москва

Контакты: Татьяна Викторовна Шаманская totti111@list.ru

В последнее время мезенхимальные стволовые клетки (МСК) нашли широкое применение во многих областях медицины, где используются их иммуносупрессивные свойства, влияние на процессы регенерации поврежденных тканей и т. д. В связи с этим возникает потребность в разработке стандартизированных протоколов экспансии МСК, которые позволят получить необходимое количество клеток для клинического применения без нарушения их способности к самовозобновлению и мультилинейного дифференцированного потенциала. В настоящей статье обобщены данные литературы о различных питательных средах и добавках, применяемых при культивировании ex vivo МСК. Представлен собственный опыт использования стандартной питательной среды для культивирования МСК ДМЕМ с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки и бессывороточной питательной среды MesenCult MSC Basal Medium (Human) (StemCell technologies Inc) с добавлением Mesenchymal Stem Cell Stimulatory Supplements (Human). Проведена оценка их влияния на рост и иммунофенотипические характеристики МСК.

Ключевые слова: мезенхимальные клетки, экспансия, питательные среды

EX VIVO EXPANSION OF MESENCHYMAL STEM CELLS IN DIFFERENT CULTURE CONDITIONS (the literature review and own experience)

T.V. Shamanskaya^{1,2}, Ye. Yu. Osipova^{1,2}, B.B. Purbueva^{1,2}, A. Yu. Ustyugov¹, T.A. Astrelina^{1,2}, M.V. Yakovleva², S.A. Rumyantsev¹

¹Federal Clinical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow

²The Stem cell bank Moscow Department of Public health, Moscow

Mesenchymal stem cells (MSC) have been widely used in different areas of medicine because of their immunosuppressive properties and influence on regeneration of the damaged tissues. The improvement of MSC expansion standard protocols allowing receiving necessary MSC amount with the ability of self-renewal and multilineage differentiation potential for clinical application is required. The present article summarizes the current experience concerning uses of various culture mediums and supplements for the ex vivo MSC expansion. The author's experience of ex vivo MSC expansion using both standard medium DMEM with the supplementation of fetal bovine serum (FBS) and serum-free medium MesenCult MSC Basal Medium (Human) (StemCell technologies Inc.) with addition Mesenchymal Stem Cell Stimulatory Supplements (Human) is presented. The influence of medium type on MSC growth and immunophenotype is analyzed.

Key words: mesenchymal stem cells, expansion, culture medium

В настоящее время мезенхимальные стволовые клетки (МСК) являются важным инструментом для проведения клеточной терапии, так как они могут быть легко изолированы и обладают большим потенциалом для экспансии.

В клинических протоколах в среднем используется количество МСК, составляющее 2×10^6 /кг веса пациента (например, при лечении тяжелой степени реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ)). В связи с этим появляется необходимость разработки такого протокола культивирования МСК, который позволит получить максимальное количество

клеток при минимальном числе пассажей и за минимально короткое время.

МСК могут быть получены из разных тканей (костный мозг, жировая ткань, скелетные мышцы, печень, плацента и др.), и для их культивирования применяются различные протоколы.

В настоящее время существует большая несогласованность среди лабораторий относительно выбора питательных сред и добавления разнообразных факторов для успешной изоляции и экспансии МСК. Ввиду этого и с учетом большого терапевтического потенциала МСК возникает потребность в разработ-

ке более точного и стандартизированного протокола для экспансии.

Целый ряд факторов оказывает влияние на рост МСК: основа питательной среды, концентрация глюкозы и глутамина в среде, а также плотность пассажа, свойства адгезивной поверхности и т. д. [1, 2].

Важным компонентом для успешного культивирования МСК служит выбор питательной среды. Ее основа включает в себя глюкозу, аминокислоты и ионы кальция, магния, калия, натрия и фосфаты. Наиболее часто используемые питательные среды для экспансии МСК — DMEM (среда Eagle's, модифицированная Dulbecco) и α -MEM. При их применении МСК сохраняют свой мультилинейный потенциал дифференцировки и способность к самовозобновлению при последующих пассажах.

Добавками к основным питательным средам, чаще всего используемым при культивировании МСК, являются эмбриональная бычья сыворотка (Fetal Bovine Serum — FBS) или эмбриональная телячья сыворотка (Fetal Calf Serum — FCS). Они содержат в себе большое количество веществ, стимулирующих рост клеток (питательные вещества, факторы роста и т. д.).

В большинстве преclinical исследований предпочтение отдается МСК, выращенным в питательной среде с использованием 10–20% FCS [1, 3, 4].

Существует порядка 10 клинических протоколов, которые используют МСК, культивированные с присутствием животной сыворотки. Они показали безопасность клинического применения МСК, культивированных в среде с добавлением FCS [6, 7].

Например, в исследовании Katarina Le Blanc и соавт. для лечения стероид-резистентной формы РТПХ использовались МСК, выращенные в среде с добавлением животной сыворотки (10% FBS). Доза МСК составляла от 0,4 до 9×10^6 /кг веса пациента. Всего было выполнено до 92 введений МСК. Некоторые пациенты получили по 2 и более инфузии. Побочных реакций не было отмечено ни во время введения МСК, ни после [8].

Применение FCS и FBS для клинических испытаний одобрено также Американским управлением по контролю за продуктами и лекарственными препаратами (U.S. Food and Drug Administration) [9].

И все же, когда ставится вопрос о клиническом применении готового продукта, сыворотка животных является нежелательным источником ксеногенных антигенов и несет риск передачи вирусов животных, прионов и т. д. Хотя, как считают некоторые исследователи, риск передачи прионов и возбудителей зоонозных инфекций при использовании сыворотки животного невелик. Поэтому, как уже было сказано выше, некоторые протоколы для экспансии МСК и дальнейшего их использования в клинике разработаны с применением FCS [7].

Кроме того, бычьи белки и пептиды могут соединяться с МСК и в дальнейшем вызывать иммунные

реакции, особенно при повторных вливаниях МСК, а также могут вызвать отторжение пересаженных клеток [9]. Как показали исследования, в 10^8 МСК, культивированных из костного мозга человека с добавлением FCS, находится приблизительно 7–30 мг белков животной сыворотки.

Однако некоторые авторы показали, что МСК, выращенные с применением FCS, оказались более эффективны в подавлении вызванной аллоантиген-индуцированной пролиферацией субпопуляции лимфоцитов, предполагая, что среда с содержанием FCS является подходящей для предупреждения или лечения аллореактивных иммунных осложнений [10].

Повышение иммуносупрессивных свойств МСК, культивированных в среде с добавлением животной сыворотки, может быть также связано с повышенной экспрессией гена простагландин-синтазы [11].

Таким образом, культивирование МСК с присутствием FBS может быть применимо в клинических протоколах, где используются иммуносупрессивные свойства МСК (лечение тяжелой РТПХ после проведения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) и/или отторжения трансплантата после ТГСК или трансплантации солидных органов).

И хотя для полной оценки клинического воздействия животных белков на организм человека необходимы дополнительные исследования, в ряде работ было показано, что использование при культивировании МСК аутологичной сыворотки (АС) вместо FCS позволило предотвратить возникновение опасных для жизни аритмий при проведении клеточной кардиоластики. В результате несколько стран запретили к использованию в клинике клеточный продукт, выращенный с использованием FCS.

Для того чтобы получить гарантированный рост МСК и подтвердить безопасность клеточного продукта, обычно проводится скрининг FCS. Однако качество сыворотки может изменяться от партии к партии, что оказывает влияние на процесс культивирования.

Как альтернатива животной сыворотке при экспансии МСК было предложено использование препаратов, приготовленных на основе крови человека, способных обеспечить растущие клетки всеми необходимыми питательными веществами и факторами роста, например лизата тромбоцитов (ЛТ) (Platelet Lysate — PL) и других производных, полученных из тромбоцитов крови человека [12], а также использование аллогенной и аутогенной человеческой сыворотки, человеческой плазмы и сыворотки пуповинной крови (ПК).

Тромбоцитарный концентрат уже использовался в хирургии и стоматологии для генерации костных структур благодаря содержанию большого количества ростовых факторов, которые можно получить путем адгезии, агрегации и лизиса тромбоцитов [13–15].

ЛТ является биологическим продуктом, содержащим высокие концентрации человеческих факторов роста в малом объеме плазмы: фактор роста тромбоци-

тов (Platelet-derived Growth Factors (PDGFs)), основной фактор роста фибробластов (Basic Fibroblast Growth Factor (b-FGF)), сосудистый эндотелиальный фактор роста (Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)), инсулиноподобный фактор роста-1 (Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1)), трансформирующий фактор роста- β (Transforming Growth Factor- β (TGF- β)) [12, 16].

Исследования, проведенные *in vitro*, показали, что содержание ростовых факторов может меняться в зависимости от концентрации тромбоцитов, способа заготовки конечного продукта, контаминации лейкоцитами и механизма выделения этих факторов [17–20].

В работах, использующих МСК, полученные из ПК, было показано, что питательные среды с добавлением ЛТ могут быть использованы для культивирования МСК и их дальнейшего применения в клинике с целью поддержания гемопоэза, иммунного регулирования и сосудистой регенерации [21].

Среды с добавлением плазмы, обогащенной тромбоцитами, пригодны также для культивирования МСК, полученных из костного мозга [3].

Клетки, полученные при экспансии с добавлением в среду ЛТ, несут все критерии, характерные для МСК (прилипание к пластику, веретенообразная форма при морфологическом исследовании, характерные иммунологические характеристики, отсутствие маркеров гемопоэтических клеток, сохраненный мультилинейный дифференцированный потенциал). Кроме того, клетки не имели цитогенетических нарушений и сохраняли свой иммунопривилегированный потенциал, подавляя аллогенную реакцию Т-лимфоцитов [22].

Использование ЛТ в качестве добавки в среду при культивировании МСК уменьшало время, необходимое для трипсинизации: в данной среде МСК быстрее отделялись от пластика. Это свойство было описано и при использовании АС [11].

Однако было продемонстрировано, что ЛТ проявляет дозозависимый эффект на рост МСК, а также обуславливает тонкие различия в морфологии культивируемых клеток. МСК имели более тонкую и вытянутую форму и росли преимущественно сгруппированно, а не равномерно распределялись по всему флакону. В ряде исследований представлено, что МСК, культивированные с добавлением ЛТ, по сравнению с МСК, выращенными с 10% FCS, показали лучшую пролиферативную способность и клоногенную активность, чем обеспечили более эффективную экспансию, сократив время культивирования (для получения МСК в количестве 1×10^6 /кг) до 2–3 нед по сравнению с 4–5 нед при применении стандартных протоколов. Однако этот эффект был дозозависимым и максимально выраженным при экспансии с 5% концентрацией ЛТ [10, 12, 23].

МСК, культивированные с добавлением ЛТ, показали низкую иммуносупрессивную активность, и поэтому они могут быть предложены для использования в реконструктивной/генеративной клеточной терапии и в протоколах, направленных на улучшение гемато-

поэтического/иммунного восстановления после проведения ТГСК.

Недостатком этой добавки (ЛТ) является вариабельность концентрации факторов роста, связанная с эффективностью их выделения грануляциями тромбоцитов. На этот процесс могут оказывать влияние условия хранения лизата. Для получения производственной значимости в его приготовлении необходимо использование свежей плазмы, содержащей не менее 1×10^9 /мл тромбоцитов, и использование высокоскоростного центрифугирования во избежание наличия остаточных тел тромбоцитов, особенно при аллогенном применении. Поэтому возникает необходимость в проведении дальнейших исследований для описания более полного состава факторов роста в ЛТ и оптимизации процедуры подготовки добавки и протоколов экспансии.

Альтернативой FCS в протоколах экспансии может служить человеческая сыворотка, использование которой для культивирования МСК несет в себе несколько факторов (соматотропин, инсулин и т. д.), оказывающих влияние на адипогенную дифференцировку.

Использование АС является дискуссионным вопросом из-за ее ограниченной пригодности и высокой вариабельности.

Есть некоторые данные, что применение АС для экспансии показывает лучшие результаты, чем использование животной сыворотки [24–28].

Работа Norbert Stute была первым систематическим *in vitro* исследованием, которое показало выполнимость проведения экспансии МСК в среде без FCS с добавлением АС в 3 различных концентрациях и получения достаточного количества МСК без применения каких-либо дополнительных факторов роста [24]. Авторы выяснили, что использование 10% АС показывает сопоставимые результаты с экспансией в среде с 10% FCS относительно выделения и роста клеток в кратковременных культурах, их морфологии, фенотипа, способности к самообновлению и мультилинейной дифференцировке. Однако для успешного проведения экспансии МСК необходимая концентрация АС составляет не менее 10%. Меньшие ее концентрации (например, 1% или 3%) приводят к недостаточной экспансии. В этой работе также было показано, что использование 10% АС дает лучшие результаты в отношении остеогенной дифференцировки МСК, и это может быть рекомендовано для использования при регенерации дефектов кости.

Таким образом, АС может быть пригодна лишь для клинических протоколов, где используется небольшое количество МСК (не более 1×10^6 /кг веса пациента), что в свою очередь потребует небольшого объема периферической крови для приготовления сыворотки. Для протоколов с использованием больших количеств МСК необходимо и большее количество питательных сред, а это приведет к потребности в больших объемах периферической крови [7].

Некоторые авторы продемонстрировали эффективную экспансию с 20% АС только после первичной

экспансии с FCS. AC использовалась в дальнейшем для культивирования с целью наиболее полного очищения от бычьих белков [29].

Ограничение применения AC также связано с большой вариабельностью сыворотки (колебанием уровня ростовых факторов), особенно у пациентов, получавших химиотерапию. Koller и соавт., Kuznetsov и соавт. и Yamaguchi и соавт. показали лучшие результаты при культивировании с FCS по сравнению с AC [30, 31, 32].

Данные по применению аллогенной сыворотки/плазмы для экспансии МСК также противоречивы. Одни авторы показывают успешные результаты по применению аллогенной сыворотки для изоляции и экспансии МСК [27, 32, 33], в других работах добавление аллогенной сыворотки при культивировании вызывало быстрое старение и прекращение роста клеток [11, 31, 34].

Показаны хорошие результаты экспансии МСК в среде с добавлением замороженной человеческой плазмы и ЛТ, но только в первые 6 нед культивирования, в дальнейшем отмечалось прекращение роста и гибель клеток [3].

Как альтернатива животной сыворотке при добавлении в основную питательную среду было предложено использование ПК, которая содержит все необходимые цитокины, обеспечивающие рост различных типов стволовых гемопоэтических клеток [35].

Плацентарный трофобласт продуцирует такие факторы роста, как инсулиноподобный фактор роста (Insulin-like Growth Factor (IGF)), трансформирующий фактор роста (Transforming Growth Factor- β (TGF- β)), сосудистый эндотелиальный фактор роста (Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)).

P. Shetty и соавт. показали, что сыворотка ПК, полученная от нескольких доноров, поддерживает экспансию МСК, полученных из разных источников (костный мозг, пуповина) и от разных животных индивидумов (человека или свиньи). МСК, культивированные в среде с добавлением 10% FBS или 10% сыворотки ПК, имели схожую типичную морфологию и фенотип CD73+/CD105+/CD45-. При культивировании с добавлением сыворотки ПК на 3-м пассаже было получено 4,1-кратное увеличение клеток, против 2,3-кратного с FBS. Однако в дальнейшем адгезия к пластику была нарушена, в то время как в среде с FBS рост МСК продолжался в однослойных культурах и после 3-го пассажа. Возможно, FBS содержит некоторые факторы, которые обеспечивают прилипание клеток к пластику. Однако это может являться незначительным препятствием, так как некоторые клинические протоколы не требуют большого количества МСК. В этом случае возможно использование флаконов для культивирования, покрытых слоем клеточной культуры, которые улучшат адгезию клеток при использовании сыворотки ПК и позволят провести культивирование и после 3-го пассажа. Авторы считают, что преимуществом использования сыворотки ПК также является возможность ее получения от разных доно-

ров в достаточном количестве для экспансии [36].

Применение бессывороточных сред было предложено в качестве альтернативы, чтобы добиться большей безопасности при использовании МСК в клинике и избежать нежелательных инфекционных осложнений.

Химически стандартизированный состав бессывороточных сред мог бы быть хорошей альтернативой при проведении экспансии МСК. Но на настоящий момент культивирование МСК в бессывороточных питательных средах не показало больших преимуществ. И пока никакого прорыва в этой области не произошло.

Бессывороточная питательная среда без применения цитокинов и факторов роста не может вызвать рост человеческих МСК [37, 38]. Возможно, это происходит потому, что сыворотка вызывает внутриклеточные изменения концентрации кальция, которые жизненно важны для пролиферации и дифференцирования стволовой клетки [39].

Использование бессывороточной питательной среды показало поддержку роста МСК на животных моделях, но только после 2 пассажей, подкрепленных добавлением FBS [40]. И, возможно, из-за специфических разновидностей МСК человека и животных бессывороточные среды не применимы при культивировании человеческих МСК.

Были проведены работы по экспансии МСК в бессывороточной среде с добавлением субстрата (ULTROSER), включающего в себя все необходимые для роста клеток субстанции, такие как факторы роста клеток, витамины, гормоны, связывающие белки. Устойчивый качественный и количественный состав субстрата может гарантировать качество при проведении культивирования от партии к партии.

При проведении культивирования в этой бессывороточной среде процент клеток, которые несли на себе маркеры гемопоэтических клеток, был ниже, чем при культивировании в стандартной среде MEM с добавлением 15% FCS (51% против 12%). Для того чтобы удалить примесь гемопоэтических клеток при культивировании в стандартной среде, требовалось больше времени. При культивировании клеток с ULTROSER после первичного посева и 1-го пассажа было получено большее количество МСК. Уже после 1-го пассажа в среде ULTROSER было получено достаточно клеток для клинического применения (если брать из расчета 1×10^6 /кг веса пациента). Эти клетки также сохраняли свою мультилинейность и способность поддерживать гемопоэз. Возможно, преимущество бессывороточной питательной среды было связано с наличием в ней низких концентраций инсулина, белка и трансферрина, что может играть главную роль в пролиферации клеток. Однако авторы сравнивали использование ULTROSER как добавку к питательной среде DMEM, а FBS добавлялась в среду α -MEM, которая не служит наилучшей средой для культивирования. Возможно, что использование одинаковой питательной среды не показало бы преимуществ при применении ULTROSER, кроме того, такие

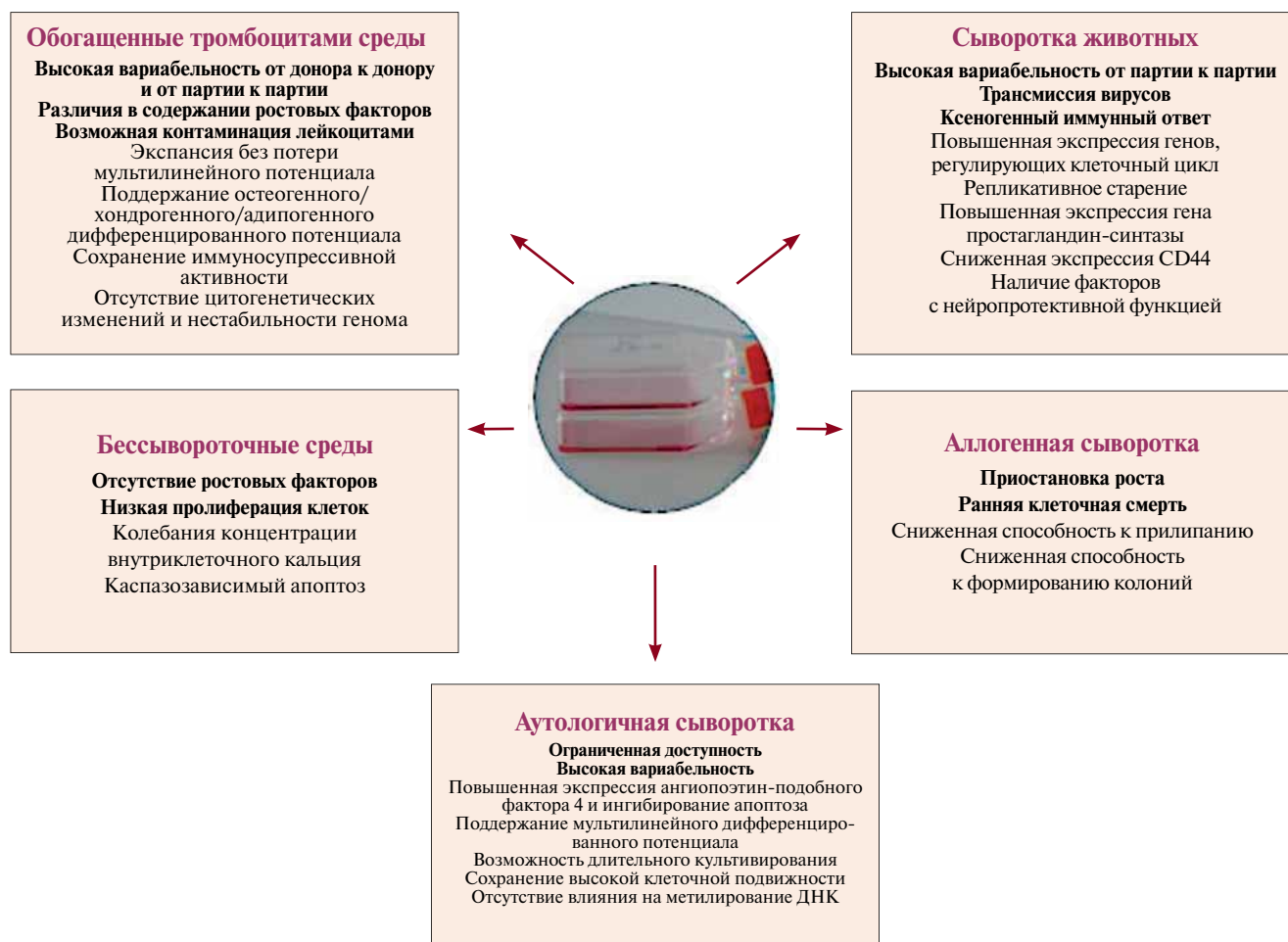


Рис. 1. Положительные и отрицательные стороны культивирования МСК при использовании различных питательных сред [42]

результаты были выявлены при использовании добавки только до 2-го пассажа, и, возможно, при продолжении культивирования ULTROSER был бы не в состоянии поддерживать рост МСК [41].

Основные особенности культивирования МСК при использовании различных питательных сред представлены на рисунке 1.

Мы в своей работе попытались провести сравнение использования различных сред для экспансии МСК (стандартная питательная среда с добавлением FCS и бессывороточная питательная среда). Мы сравнивали влияние этих сред на выход МСК, пролиферацию, различия в иммунологии.

Изоляция и культивирование МСК

Для культивирования МСК использовался костный мозг (КМ) в объеме 20–40 мл от 6 здоровых доноров, полученный при проведении пункции подвздошной кости.

Мононуклеарные клетки были изолированы путем проведения центрифугирования по градиенту плотности при выделении на фиколе плотностью 1,077 (ООО «БиолоТ»). После 2-кратного повторного центрифугирования со средой DMEM клетки были подсчитаны в камере Горяева, разделены по количеству на 3 равные

части и высажены на пластиковые флаконы площадью 75 см² со средней плотностью 109,8×10⁶/образец (диапазон 37,5–300×10⁶/образец).

Для пассажа были использованы 3 варианта питательной среды:

1. Стандартная среда DMEM (ООО «БиолоТ») с низким содержанием глюкозы с добавлением 20% FCS (сыворотка крови плодов коровы, ООО «БиолоТ»).
2. Бессывороточная среда MesenCult MSC Basal Medium (Human) (StemCell technologies Inc) с добавлением Mesenchymal Stem Cell Stimulatory Supplements (Human).
3. Бессывороточная среда MesenCult MSC Basal Medium (Human) (StemCell technologies Inc) с добавлением Mesenchymal Stem Cell Stimulatory Supplements (Human) и 5% FCS.

Смена среды после первичной посадки была выполнена на 2–3-й день для удаления примеси неприлипших клеток.

По достижении 70–80% конфлюэнтности, когда МСК покрывали примерно 70–80% поверхности дна флакона (14-й день), был выполнен 1-й пассаж (P1). Клетки пересаживали на новые флаконы для дальнейшего пассирования.

Всего было проведено 10 пассажей. Количество МСК подсчитывали на ранних пассажах (от P1 до P4).

Иммунофенотипическое исследование проводили на ранних (P4) и поздних пассажах (P10) с использованием следующей панели антител: CD45, CD14, CD73, CD105, CD3, CD19, CD44, CD25, CD13, CD38, CD106, Ki-67.

Результаты работы

После 14 дней культивирования была проведена трипсинизация и 2-кратное центрифугирование с последующим подсчетом клеток. На среде №1 было получено в среднем $4,58 \times 10^6$ /образец (диапазон 0,2–14,1), на среде №2 – $2,08 \times 10^6$ /образец (разброс 0,1–8,1), на среде №3 – $5,04 \times 10^6$ /образец (разброс 0,1–16) (рис. 2).

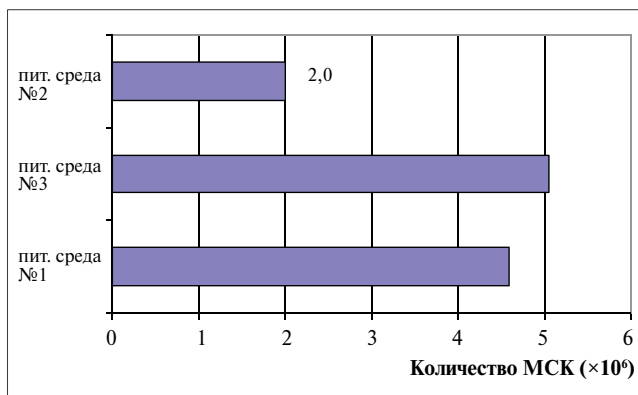


Рис. 2. Влияние культуральной среды на рост МСК. Количество МСК ($\times 10^6$), полученных после 14 дней культивирования

Представленные на графике различия не являются достоверными из-за малого количества выполненных проб. Однако видно, что большее количество клеток было получено при добавлении в питательную среду для культивирования сыворотки плодов коровы.

В дальнейшем подсчет клеток проводился после

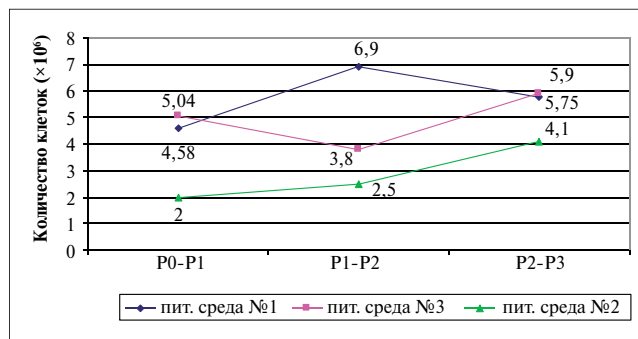


Рис. 3. Сравнение кривой роста МСК при культивировании в различных средах

каждого пассажа до P4 (рис. 3).

На рисунке 3 видно, что наименьшее количество клеток к 3-му пассажу (P3) получено при культивировании в бессывороточной среде; добавление только 5% FCS увеличивает число клеток, приближая результаты культивирования, сравнимые с культивированием с добавлением 20% FCS. Данные не являются статистически

достоверными. К 4-му пассажу на среде №1 было получено в среднем $28,6 \times 10^6$ /МСК на образец (разброс 0,3–116,3), на среде №2 – $3,9 \times 10^6$ /образец (разброс 0–14), на среде №3 – $18,5 \times 10^6$ /образец (разброс 0,25–93,8).

Анализ экспрессии иммунологических маркеров МСК проводился на ранних и поздних пассажах при культивировании в стандартной среде DMEM с добавлением FCS и в среде без добавления сыворотки. Данные представлены в таблице.

Таблица. Фенотипический профиль МСК при культивировании в различных средах, %

Иммунологические маркеры	Питательная среда №1		Питательная среда №2	
	P4	P10	P4	P10
CD45	4,78	1,13	1,32	0,5
CD14	0,56	0,04	0,64	0,01
CD73	87,03	78,26	85,1	80,2
CD105	58,5	19,25	43,8	48,9
CD3	1,1	0,71	0,72	0,20
CD19	0,69	0,1	0,89	0,05
CD44	79,6	83,25	86,1	89,6
CD25	0,24	0,14	0,43	0,08
CD13	35,7	14,18	49,1	41,57
CD38	0,93	0,25	0,81	0,07
Ki-67	1,2	—	2,2	—
CD106	0,87	0,29	0,72	0,26

В обоих случаях при культивировании с животной сывороткой или без клетки имели поверхностные маркеры, характерные для МСК: CD44, CD73, CD105 и др. Контаминация гемопоэтическими клетками была менее выражена при экспансии в бессывороточной среде, как на ранних, так и на поздних пассажах (данные не достоверны).

В нашем исследовании была изучена возможность культивирования МСК на различных средах. Ограничением настоящего исследования является небольшое количество образцов, которое не позволило получить статистически значимого различия в числе полученных при культивировании клеток. Тем не менее была отмечена тенденция к меньшему числу прироста МСК при культивировании их на средах, не содержащих животной сыворотки. Вместе с тем, как следует из приведенного выше международного опыта, бессывороточные среды могут быть использованы для культивирования МСК и получения адекватного количества клеток, достаточного для применения в клинической практике.

Необходимо проведение дальнейших исследований, которые позволят определить место бессывороточных сред в протоколах *ex vivo* экспансии МСК, в том числе и для клинического применения.

Л и т е р а т у р а

1. Caterson E.J., Nesti L.J., Danielson K.J., Tuan R.S. Human marrow derived mesenchymal progenitor cells: Isolation culture, expansion and analysis of differentiation. *Mol Biotechnol* 2002;20:245–56.
2. Draper J.S., Moore H.D., Ruban N.N. et al. Culture and characterisation of human embryonic stem cells. *Stem Cells Dev* 2004;13:325–36.
3. Muller I., Kordowich S., Holzwarth C. et al. Animal serum-free culture conditions for isolation and expansion of multipotent mesenchymal stromal cells from human BM. *Cytotherapy* 2006;8(5):437–44.
4. Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143–7.
5. Ringden O., Uzunel M., Rasmusson I. Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Therapy-Resistant Graft-versus-Host Disease. *Transplantation* 2006;81:1390–7.
6. Berger M.G., Veyrat-Masson R., Rapatel C. et al. Cell culture medium composition and translational adult bone marrow-derived stem cell research. *Stem Cells* 2006;24:2888–90.
7. Sotiropoulou P.A., Perez S.A., Salagianni M. et al. Cell culture medium composition and translational adult bone marrow-derived stem cell research. *Stem Cells* 2006;24(5):1409–10.
8. Le Blanc K., Frassoni F., Ball L. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet* 2008;371:1579–86.
9. Horwitz E.M., Gordon P.L., Fitzpatrick L.A. Transplantability and therapeutic effects of bone-marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. *Nat Med* 1999;5:309–13.
10. Bernardo M.E., Avanzini M.A., Perotti C. et al. Optimization of in vitro expansion of human multipotent mesenchymal stromal cells for celltherapy approaches: Further insight in the search for a fetal calf serum substitute. *J Cell Physiol* 2007;211:121–30.
11. Shahdadfar A., Fronsdal K., Haug T. et al. In vitro expansion of human mesenchymal stem cells: choice of serum is a determinant of cell proliferation, differentiation, gene expression, and transcriptome stability. *Stem Cells* 2005;23:1357–66.
12. Doucet C., Emou I., Zhang Y. et al. Platelet lysates promote mesenchymal stem cell expansion: A safety substitute for animal serum in cell-based therapy applications. *J Cell Physiol* 2005;205:228–36.
13. Camargo P.M., Lecovic V., Weiniaender M. et al. Platelet-rich plasma and bovine porous mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodont Res* 2002;37(4):300–6.
14. Dugrillon A., Eichler H., Kern S., Klüter H. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002;31(6):615–9.
15. Tözüm T.F., Demiralp B. Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry. *J Can Dent Assoc* 2003;69(10):664.
16. Eppley B.L., Woodell J.E., Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: Implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2004;114:1502–8.
17. Zimmermann R., Arnold D., Strasser E. et al. Sample preparation technique and white cell content influence the detectable levels of growth factors in platelet concentrates. *Vox Sang* 2003;85:283–9.
18. Zimmermann R., Jakubietz R., Jakubietz M. et al. Different preparation methods to obtain platelet components as a source of growth factors for local application. *Transfusion* 2001;41:1217–24.
19. Borzini P., Mazzucco L. Tissue regeneration and in loco administration of platelet derivatives: clinical outcome heterogeneous products, and heterogeneity of the effector mechanisms. *Transfusion* 2005;45:1759–67.
20. Everts P.A., Hoffmann J., Weibrich G. et al. Differences in platelet growth factor release and leucocyte kinetics during autologous platelet gel formation. *Transfus Med* 2006;16:363–8.
21. Reinisch A., Bartmann C., Rohde E. et al. Humanized system to propagate cord blood-derived multipotent mesenchymal stromal cells for clinical applications. *Regen Med* 2007;2:371–82.
22. Lange C., Cakiroglu F., Spiess A.-N. et al. Accelerated and safe expansion of human mesenchymal stromal cells in animal serum-free medium for transplantation and regenerative medicine. *J Cell Physiol* 2007;213:18–26.
23. Carrancio S., Lopez-Holgado N., Sanchez-Guijo F.M. et al. Optimization of mesenchymal stem cell expansion procedures by cell separation and culture conditions modification. *Exp Hematol* 2008;36(8):1014–21.
24. Stute N., Holtz K., Bubenheim M. et al. Autologous serum for isolation and expansion of human mesenchymal stem cells for clinical use. *Exp Hematol* 2004;32:1212–25.
25. Kobayashi T., Watanabe H., Yanagawa T. et al. Motility and growth of human bone-marrow mesenchymal stem cells during ex vivo expansion in autologous serum. *J Bone Joint Surg Br* 2005;87:1426–33.
26. Shigeno Y., Ashton B.A. Human bone-cell proliferation in vitro decreases with human donor age. *J Bone Joint Surg Br* 1995;77:139–42.
27. Anselme K., Broux O., Noel B. et al. In vitro control of human bone marrow stromal cells for bone tissue engineering. *Tissue Eng* 2002;8:941–53.
28. Yamamoto N., Isobe M., Negishi A. et al. Effects of autologous serum on osteoblastic differentiation in human bone marrow cells. *J Med Dent Sci* 2003;50:63–9.
29. Spees J.L., Gregory C.A., Singh H. et al. Internalized antigens must be removed to prepare hypoinnogenic mesenchymal stem cells for cell and gene therapy. *Mol Ther* 2004;9:747–56.
30. Koller M.R., Maher R.J., Manchel I. et al. Alternatives to animal sera for human bone marrow cell expansion: human serum and serum-free media. *J Hematother* 1998;7:413–23.
31. Kuznetsov S.A., Mankani M.H., Robey P.G. Effect of serum on human bone marrow stromal cells: ex vivo expansion and in vivo bone formation. *Transplantation* 2000;70:1780–7.
32. Yamaguchi M., Hirayama F., Wakamoto S. et al. Bone marrow stromal cells prepared using AB serum and bFGF for hematopoietic stem cells expansion. *Transfusion* 2002;42:921–7.
33. Oreffo R.O., Virdi A.S., Triffitt J.T. Modulation of osteogenesis and adipogenesis by human serum in human bone marrow cultures. *Eur J Cell Biol* 1997;74:251–61.
34. Gregory C.A., Reyes E., Whitney M.J. et al. Enhanced engraftment of mesenchymal stem cells in a cutaneous wound model by culture in allogeneic species-specific serum and administration in fibrin constructs. *Stem cells* 2006;24:2232–43.
35. Lam A.C., Li K., Zang Z.B. et al. Preclinical ex vivo expansion of cord blood hematopoietic stem and progenitor cells: duration of culture; the media, serum supplements, and growth factors used; and engraftment in NOD/SCID mice. *Transfusion* 2001;41:1567.
36. Shetty P., Bharucha K., Tanavde V. Human umbilical cord blood serum can replace fetal bovine serum in the culture of mesenchymal stem cells. *Cell Biology International* 2007;31:293–8.
37. Gronthos S., Simmons P.J. The growth factor requirements of STRO-1- positive human bone marrow stromal precursors under serum-deprived conditions *in vitro*. *Blood* 1995;85:929–40.
38. Kuznetsov S.A., Friedenstien A.J., Robey P.G. Factors required for bone marrow stromal fibroblast colony formation *in vitro*. *Br J Haematol* 1997;97:561–70.
39. Foreman M.A., Smith J., Publicover S.J. Characterisation of serum-induced intracellular Ca²⁺ oscillations in primary bone marrow stromal cells. *J Cell Physiol* 2006;206(3):664–71.
40. Lennom D.P., Haynesworth S.E., Young R.G. A chemically defined medium supports in vitro proliferation and maintains the osteochondral potential of rat marrow-derived mesenchymal stem cell. *Exp Cell Res* 1995;219:211–22.
41. Meuleman N., Tondreau T., Delforge A. et al. Human marrow mesenchymal stem cell culture: serum-free medium allows better expansion than classical a-MEM medium. *Eur J Haematol* 2006;76:309–16.
42. Tonti G.A., Mannello F. From bone marrow to therapeutic applications: different behaviour and genetic/epigenetic stability during mesenchymal stem cell expansion in autologous and foetal bovine sera? *Int J Dev Biol* 2008;52(8):1023–32.

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.

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 которым 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** на русском языке, отражающее содержание работы, с названием статьи, фамилиями и инициалами авторов, названием учреждений. 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. При невозможности представления файлов в данном формате необходимо связаться с редакцией.
- Все рисунки должны быть пронумерованы и снабжены подрисуночными подписями. Подписи к рисункам даются на отдельном листе. На рисунке указываются «верх» и «низ»; фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита — «а», «б» и т. д. Все сокращения и обозначения, использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подрисуночной подписи.
- Все таблицы должны быть пронумерованы, иметь название. Все сокращения расшифровываются в примечании к таблице.

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

5. Единицы измерений даются в СИ.

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

Название генов пишется курсивом, название белков — обычным шрифтом.

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

- Список ссылок 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, указываются первые 3 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, название 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 Интернета**, указывают электронный адрес цитируемого источника.
- Все ссылки на литературные источники печатаются арабскими цифрами в квадратных скобках (например, [5]).
- Количество цитируемых работ: в оригинальных статьях желательно не более 20—25 источников, в обзорах литературы — не более 60.

7. Представление в редакцию ранее опубликованных статей не допускается.

8. Все статьи, в том числе подготовленные аспирантами и соискателями ученой степени кандидата наук по результатам собственных исследований, принимаются к печати бесплатно.

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.

Авторы могут присылать свои материалы по адресу: 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, а/я 35 либо по электронной почте на адрес редакции: redactor@abvpress.ru с обязательным указанием названия журнала.