

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

**Семейная тромбоцитопения/
тромбоцитопатия
с предрасположенностью
к развитию острого миелоидного
лейкоза**

**Аллогенная трансплантация
гемопозитических стволовых
клеток у детей с острым
лимфобластным лейкозом**

Первичный миелофиброз

4

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

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

ONCOHEMATOLOGY

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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
д.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. Л.П. Менделеева (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 Editors
D. Sci. V.V. Ptushkin,
Prof. B.V. Afanasiev
Executive Secretary
D. Sci. 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. L.P. Mendeleeva (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. Rossiyev (Samara)
Prof. A.G. Talalaye (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 В.В. Калинина
Дизайн и верстка Е.В. Степанова

Служба подписки и распространения
В.Ю. Тимохина, +7 (499) 929-96-19
e-mail: baza@abvpress.ru
Служба рекламы
В.А. Клюковкин, +7 (499) 929-96-19
e-mail: 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. 2011. № 4. 1–64
© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2011

Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» — 42167

Отпечатано в типографии
ООО «Графика»

Тираж 3000 экз.



2011

ГЕМОБЛАСТОЗЫ: ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ, СОПРОВОДИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

В.О. Бобрынина, О.Ю. Баранова, Е.В. Самочатова, А.А. Масчан

Семейная тромбоцитопения/тромбоцитопатия с предрасположенностью к развитию острого миелоидного лейкоза: описание новой семьи и мутации в гене *RUNX1* 6

Д.Ю. Качанов, Р.Т. Абдуллаев, Т.В. Шаманская,

К.В. Добренчиков, Е.Ю. Климова, Е.В. Инюшкина, С.Р. Варфоломеева

Медико-частотные характеристики лимфом у детей Московской области (популяционное исследование) 12

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Е.В. Семенова, Н.В. Станчева, А.Л. Алянский, Е.В. Бабенко, В.Н. Вавилов, Е.В. Морозова, С.Н. Бондаренко,

А.А. Сипол, О.В. Паина, О.А. Слесарчук, И.М. Бархатов, Л.С. Зубаровская, Б.В. Афанасьев

Аллогенная трансплантация гемопоэтических клеток с режимами кондиционирования со сниженной интенсивностью доз у детей и подростков с прогностически неблагоприятными формами острого лимфобластного лейкоза 19

А.Ю. Вашура, М.В. Коновалова, Е.В. Скоробогатова, С.В. Бельмер, Г.Я. Цейтлин

Нутритивный статус и тканевый состав тела у детей после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток 27

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

Ю.В. Соколова, Л.Н. Бубнова, И.Е. Павлова, С.С. Бессмельцев

Генетические особенности иммуноглобулинподобных рецепторов киллерных клеток у доноров стволовых гемопоэтических клеток 33

ЛЕКЦИИ ДЛЯ ВРАЧЕЙ И ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

Д.А. Домнинский

Молекулярные механизмы лейкозогенеза. Гемобласты лимфоидного происхождения (лекция № 4) 39

Л.М. Мещерякова, О.В. Пороткова, Л.Г. Ковалева, Л.Ю. Колосова, С.Н. Бычкова

Первичный миелофиброз 50

Н.Б. Булиева

Аспергиллез у онкогематологических больных 58

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ 64

HEMATOLOGIC MALIGNANCIES: DIAGNOSIS, TREATMENT, SUPPORTIVE CARE*V.O. Bobrynina, O.Yu. Baranova, E.V. Samochatova, A.A. Maschan***Family platelet disorder with propensity to acute myeloid leukemia: new family with *RUNX1* mutation 6***D.Yu. Kachanov, R.T. Abdullaev, T.V. Shamanskaya,**K.V. Dobrenkov, E.Yu. Klimova, E.V. Inushkina, S.R. Varfolomeeva***Epidemiology of childhood lymphomas in Moscow region (population-based study) 12****HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION***E.V. Semenova, N.V. Stancheva, A.L. Alyanskiy, E.V. Babenko, V.N. Vavilov, E.V. Morozova, S.N. Bondarenko,**A.A. Sipol, O.V. Paina, O.A. Slesarchuk, I.M. Barkhatov, L.S. Zubarovskaya, B.V. Afanasiev***Allogeneic hematopoietic stem cells transplantation with reduced intensity conditioning regimen in children and adolescents with unfavorable forms of acute lymphoblastic leukemia 19***A.Yu. Vashura, M.V. Konovalova, E.V. Skorobogatova, S.V. Belmer, G.Ya. Tseytlin***Nutritional status and tissue composition in children after hematopoietic stem cell transplantation 27****BASIC RESEARCH***Iu.V. Sokolova, L.N. Bubnova, I.E. Pavlova, S.S. Bessmeltsev***Genetic features of the killer cell immunoglobulin-like receptors in the haematopoietic stem cell donors 33****LECTURES AND LITERATURES REVIEWS***D.A. Domninsky***Molecular mechanisms of leukaemogenesis. Lymphoid hematological malignancies 39***L.M. Meshcheryakova, O.V. Porotkova, L.G. Kovaleva, L.Yu. Kolosova, S.N. Bychkova***Primary myelofibrosis 50***N.B. Bulieva***Aspergillosis in patients with hematological malignancies 58****INFORMATION FOR THE AUTHORS 64**

Семейная тромбоцитопения/тромбоцитопатия с предрасположенностью к развитию острого миелоидного лейкоза: описание новой семьи и мутации в гене *RUNX1*

В.О. Бобрынина¹, О.Ю. Баранова², Е.В. Самочатова¹, А.А. Масчан¹

¹ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Москва;

²ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Контакты: Власта Олеговна Бобрынина vlastabobrynina@yandex.ru

Семейная тромбоцитопения/тромбоцитопатия с предрасположенностью к развитию острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) является редким аутомосомно-доминантным синдромом, связанным с мутацией в гене *RUNX1*. К настоящему времени известно 35 семей с данным заболеванием. Мы описываем семью, в которой у 6 членов в 4 поколениях зарегистрировано нарушение функции и числа тромбоцитов и у 3 членов в 2 поколениях развился ОМЛ. Возраст развития ОМЛ составил 11, 19 и 76 лет. При молекулярно-биологическом анализе у 5 доступных для исследования членов семьи выявлена новая мутация гена *RUNX1* (с.2018 A > C, р.Т147Р), локализующаяся в *Runt*-домене. Описанная мутация должна нарушать связь транскрипционного комплекса *CBF* с ДНК. Два пациента с ОМЛ умерли и у 1 проведена успешная трансплантация гемопоэтических клеток от HLA-идентичного сиблинга, у которого было доказано отсутствие мутации в гене *RUNX1*.

Ключевые слова: семейная тромбоцитопения/тромбоцитопатия, острый миелоидный лейкоз, *RUNX1*

Family platelet disorder with propensity to acute myeloid leukemia: new family with *RUNX1* mutation

V.O. Bobrynina¹, O. Yu. Baranova², E. V. Samochatova¹, A.A. Maschan¹

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

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

Familial platelet disorder with propensity to develop acute myeloid leukemia (FPD/AML) is a rare autosomal dominant disorder caused by inherited mutation of *RUNX1*. To date only 35 families have been described. We report on a family in which number and function of platelet were impaired in members of 4 generations. Acute myeloid leukemia developed in 3 members of 2 generations. The age of leukemia development was 11, 19 and 76 years. In all 5 affected family members available for study novel heterozygous mutation in runt domain of *RUNX1* (c.2018 A > C, p.T147P) was detected by direct sequencing. This mutation is predicted to impair binding of *CBF* to core motif of DNA. Two affected patients died of leukemia; while in one complete remission was achieved with conventional and consolidated with allogeneic BMT from HLA-matched sister proved to be *RUNX1* mutation negative.

Key words: family thrombocytopenia/thrombocytopathia, acute myeloid leukemia, *RUNX1*

Введение

Подавляющее большинство острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) у детей является редчайшими спорадическими событиями (частота составляет около 5 случаев на 1 млн детей в возрасте до 15 лет в год) и для их становления требуется минимум 2 последовательных генетических нарушения, затрагивающие процессы регуляции, пролиферации и дифференцировки предшественников миелопоэза. Относительно часто ОМЛ развивается в рамках наследственных синдромов, в патогенез которых вовлечены гены, ответственные за элиминацию опухолевых или предопухолевых клеток, репарацию ДНК и регуляцию пролиферации миелоидных предшественников. К этим заболеваниям относятся синдром Ли–Фромени, анемия Фанкони, нейрофиброматоз I типа, врожденная тяжелая нейтропения и некоторые

другие. В 1985 г. Dowton et al. была описана большая семья из 192 человек, у 22 членов которой в 7 поколениях отмечена кровоточивость и тромбоцитопения и развитие острого лейкоза у 6 [1].

В дальнейшем было описано еще несколько десятков семей с подобными признаками. Кровоточивость — носовые кровотечения, метроррагии, кровотечения после удаления зубов — у пораженных членов этих семей не коррелировала с тяжестью тромбоцитопении и соответствовала «аспириноподобному» дефекту тромбоцитов со снижением агрегации под действием арахидоновой кислоты и адреналина [1].

Частота развития гемобластозов в описанных семьях варьирует в широких пределах от 24 до 57 %, причем помимо ОМЛ описаны и несколько случаев лимфобластных лейкозов и лимфом [1, 2].

Тип наследования заболевания согласно анализу родословных (поражение лиц обоего пола и передача от родителей детям) является аутосомно-доминантным. Медиана возраста развития ОМЛ / миелодиспластического синдрома составляет 33 года и варьирует в крайне широких пределах — от 5,5 до 62 лет и не коррелирует с возрастом развития тромбоцитопении и тромбоцитопатии — нередко от первых проявлений кровоточивости до момента диагностики ОМЛ проходит несколько 10-летий. Гематологические находки при синдроме, получившем название *familial platelet disorder with propensity to develop acute myeloid leukemia (FPD/AML)*, разнообразны и зависят от фазы заболевания — на этапе тромбоцитопении/тромбоцитопатии характерным является морфологически нормальное костномозговое кроветворение с нормальным числом мегакариоцитов, имеющих черты незрелости. Другие ростки кроветворения морфологически не изменены.

В 1996 г. Ho et al. при исследовании 52 членов семьи, описанной Dowton, из которых 24 были здоровы, а у 28 была тромбоцитопения разной степени выраженности, показали, что ген-кандидат локализуется на длинном плече 21-й хромосомы (q22.1) в области, охватывающей гены *AML1*, рецептора интерферона α/β , фосфорилизглицинамидформилтрансферазы и *SON* [3].

В 1999 г. Song et al. при анализе 6 семей было показано, что причиной FPD/AML во всех случаях являются мутации гена *AML1* (также известного как *AMLCR1*, *CBFA2* и *PEBP2A2*). В настоящее время ген *AML1* называется *RUNX1* по гомологичному гену *runt*, впервые описанному у дрозофилы [4].

Белок *CBF α* , кодируемый геном *RUNX1*, входит в состав гетеродимера *CBF* (Core Binding Factor), который является ключевым регулятором гемопоэза на всех этапах его развития и функционирования, за исключением кроветворения в желточном мешке. Сам *RUNX1* является геном, наиболее часто (за вычетом транслокаций с вовлечением гена *MLL* у детей до 1 года) вовлеченным в лейкомогенные транслокации, выявляемые при ОМЛ, — t(8;21), t(3;21), t(16;21) и транслокацию t(12;21) при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) [5–7]. Более того, нарушение числа копий гена *RUNX1* характерно для ОЛЛ с гипердиплоидным кариотипом и ОМЛ при синдроме Дауна.

В отечественной литературе описаний FPD/AML нет. Ниже мы рассказываем о семье с FPD/AML с прослеживанием ОМЛ в 4 поколениях и выявленную новую мутацию в гене *RUNX1*.

Описание семьи

Пациент III-3. К.В., родился 27.10.1979, с 1-го года страдал геморрагическим синдромом в виде необычно множественных и крупных экхимозов на ногах. Ребенок развивался согласно возрасту, пороков внутренних органов и внешнего дисморфизма не было. С возраста 5,5 лет отмечалось снижение тромбоцитов до $75-80 \times 10^9/\text{л}$, других изменений числа или морфологии клеточных элементов

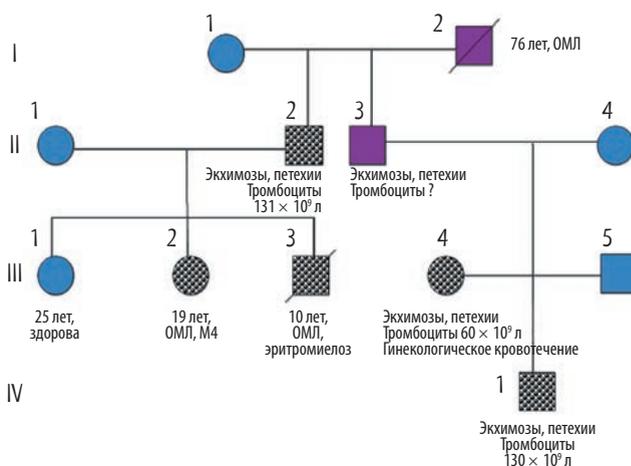


Рис. 1. Родословная семьи К.

крови не было. Миелограмма: костный мозг клеточный с небольшим раздражением гранулоцитарного ростка. Мегакариоцитов нормальное количество; небольшое количество мегакариоцитов — со слабой «отшнуровкой» тромбоцитов. Агрегация тромбоцитов с ристомидином и АДФ — в норме, с арахидоновой кислотой и адреналином — не исследовалась. Учитывая выраженный кожный геморрагический синдром и тромбоцитопению, ребенку назначалась длительная терапия преднизолоном в дозе 2 мг/кг в сутки и нандролоном без эффекта в отношении геморрагического синдрома. В возрасте 8 лет отмечена спленомегалия до + 5 см, падение количества тромбоцитов до единичных, появление эритробластов 2:100 в периферической крови и базофильная пунктация эритроцитов. В 1987 г. проведена спленэктомия — без эффекта в отношении числа тромбоцитов. В 1989 г. отмечено нарастание гемопоэтической недостаточности: гемоглобин — 72 г/л, лейкоциты $16 \times 10^9/\text{л}$, нормобласты — 330:100, тромбоциты — единичные. В миелограмме: эритроидный росток 47,7%, лимфоциты 15%, бластные клетки 17,2% (> 30% от незрелого компонента), что соответствовало диагнозу эритромиелоза (ОМЛ, М6). 23 марта 1989 г. зафиксирована смерть от кровоизлияния в головной мозг.

Пациентка III-2. К.Т., родилась 01.01.1981. Была клинически здорова до февраля 2010 г., когда отмечено появление геморрагического синдрома в виде носовых кровотечений и синяков. В апреле 2010 г. госпитализирована в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. В миелограмме — бластные клетки 65%, с положительной окраской на миелопероксидазу (20%), черный судан (45%) и неспецифическую эстеразу с ингибцией NaF (30%). Иммунофенотип бластных клеток $CD34^+$, $CD33^+$, $CD13^+$, $CD64^+$. На основании морфологических, цитохимических и иммунофенотипических характеристик бластных клеток был установлен диагноз ОМЛ, М4 субвариант. Цитогенетическое исследование бластных клеток — кариотип 46 XX, методом FISH inv 16 не обнаружена. Ремиссия достигнута после курса стандартных доз цитозин-арабинозида (AraC), идарубицина и этопозида по схеме 7+3+2 и консолидирована 2 курсами высоких доз AraC 3000 мг/м² в сутки в дни 1, 3, 5-й и ида-

рубицином 12 мг/м^2 в дни 2-й и 4-й. При HLA-типировании выявлено, что старшая сестра является геноидентичной и запланирована аллогенная трансплантация.

У отца пациенток в 1987 г. также выявлена тромбоцитопения $30:1000$ и отмечена кровоточивость в виде легкого возникновения петехий и экхимозов. В анализе крови от января 2011 г.: лейкоциты $6,1 \times 10^9/\text{л}$, Hb 126 г/л , тромбоциты $131 \times 10^9/\text{л}$. Дед по линии отца умер в возрасте 76 лет от ОМЛ. Учитывая семейный анамнез, заподозрен синдром FPD/AML и предпринято исследование мутационного статуса гена *RUNX1* для подтверждения диагноза и определения, может ли геноидентичная сестра стать донором гемопоэтических клеток.

Материалы и методы

К настоящему моменту описано более 10 различных транскрибируемых мРНК гена *RUNX1*, образующихся в результате альтернативного сплайсинга. Методом прямого секвенирования на приборе 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems) с использованием ABI PRISM BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit были проанализированы все транскрибируемые последовательности гена *RUNX1* и прилегающие к ним участки интронов. Одни и те же пары праймеров были использованы для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) и реакции секвенирования:

Название	Последовательность 5'-3'
<i>RUNX1</i> 1–3 exon F	GGGGAACAGTTAAATTTGTAATTTGG
<i>RUNX1</i> 1–3 exon R	GCTGAGCAAAAGTAGATATTACAAGACC
<i>RUNX1</i> 4 exon F	TCGGGGGAAAGTTAATTTTAAAC
<i>RUNX1</i> 4 exon R	AAATCATATACACATCTATGAAGGTGTGTAC
<i>RUNX1</i> 5 exon F	GTGGAGGGACTCATGGTGAC
<i>RUNX1</i> 5 exon R	GCTGGAAGGAAAGTTGAAAGC
<i>RUNX1</i> 6–8 exon F	CCCTGAACGTGTATGTTGGTC
<i>RUNX1</i> 6–8 exon R	GGGCCCTTTCCAGAATC
<i>RUNX1</i> 9–11 exon F	GATGTCTGCATTTGTCTTTGAC
<i>RUNX1</i> 9–11 exon R	AACGTGTTTCAAGCATAGTTTGTAC
<i>RUNX1</i> 12–13 exon F	GCTGGACAGCATAAATTAATGATTG
<i>RUNX1</i> 12–13 exon R	GCTCAGTGCACAGAAACAAGC
<i>RUNX1</i> 14 exon F	GGAAATCCACAATACTTTTCTGTAC
<i>RUNX1</i> 14 exon R	GGGAAACCCAGTTGGTC
<i>RUNX1</i> 15 exon F	CGCGGCTCTATAAAGAATTGTC
<i>RUNX1</i> 15 exon R	GAGGATGAGATGGAAAAGATAGCTC
<i>RUNX1</i> 16 exon F	CATAGGCCACATACATGTATGTGAC
<i>RUNX1</i> 16 exon R	CTCCTTCATGCACCTCTAGTCTC
<i>RUNX1</i> 17–21 exon F	CCATCCTCTAGGCGGTATC
<i>RUNX1</i> 17–21 exon R	GGGCTGTGCGGAACAG

Условия ПЦР: 95°C 5 мин, 10 циклов (95°C 20 с, 65°C 20 с, 72°C 40 с); 26 циклов (95°C 20 с, 60°C 20 с, 72°C 40 с; финальный шаг 72°C 10 мин). Очистка ПЦР-продукта, реакция секвенирования и очистка продукта реакции секвенирования проводились согласно инструкции производителя.

У пациентки III-2 были выявлены 2 ранее не описанные мутации в последовательности гена *RUNX1*. Одна из мутаций расположена в 5'-некодирующей области (с.310 A > G), вторая затрагивает Runt-домен (с.2018 A > C, р. T147P). Координаты мутаций указаны в соответствии с формами мРНК *AML1c* (с.310 A > G) и *AML1b* (с.2018 A > C), впервые найденными в библиотеках кДНК, полученных из человеческих тканей и культур человеческих клеток и описанными Miyoshi et al. в 1995 г. [8].

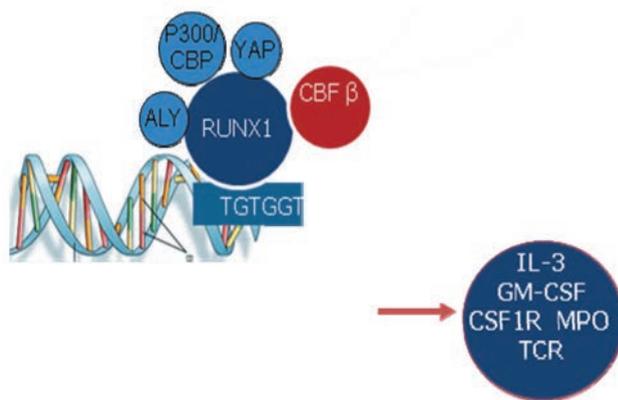


Рис. 2. Активирующий комплекс CBF

Обе мутации были обнаружены и у отца пациентки. При этом ни у матери пациентки, ни у HLA-идентичной сестры не было найдено каких-либо изменений в экзонах и прилежащих к ним интронных последовательностях гена *RUNX1*. На основании этого можно предположить, что обе мутации присутствуют в одном аллеле гена *RUNX1* (цис-положение).

Таким образом, мутации в гене *RUNX1* выявлены у пациентки III-2 и у ее отца, но не были обнаружены у клинически и гематологически здоровой, HLA-идентичной сестры. Аллогенная трансплантация Г-КСФ стимулированных предшественников периферической крови после немиелоаблативного кондиционирования бусульфаном 8 мг/кг , флударабином 150 мг/м^2 и антитимоцитарным глобулином была проведена 29.10.2010. В настоящее время пациентка находится в промежуточном посттрансплантационном периоде, протекающем без осложнений.

После обнаружения мутации в гене *RUNX1* нами был предпринят расширенный поиск пораженных членов семьи по линии отца, и выявлено еще 3 его родственника с гематологическими аномалиями: брат отца (II-3), его дочь (III-4) 28 лет и ее сын (IV-1) 3 лет.

Брат отца отмечает повышенную кровоточивость, однако анализы крови его неизвестны. У доче-

ри (двоюродной сестры пациенток) выявлена тромбоцитопения $84 \times 10^9/\text{л}$ и сниженный средний объем тромбоцитов (MPV 7,81fl), у ее сына (двоюродный племянник пациенток) – геморрагический синдром в виде петехий и экхимозов и тромбоцитопения $86 \times 10^9/\text{л}$ со сниженным MPV (7,24fl). Молекулярное исследование показало у обоих наличие идентичной мутации в гене *RUNX1* (с.2018 A > C). Остальные клинические признаки, а также количественные и качественные показатели периферической крови были в норме, в связи с чем проведение расширенного гематологического обследования с выполнением миелограммы и кариотипирования было решено отложить.

Обсуждение

Наследственные случаи злокачественных новообразований представляют собой уникальные модели для изучения процессов онкогенеза. Благодаря анемии Фанкони, синдрому Ли–Фромени, семейному раку молочной железы и яичника и др., расшифрованы сложнейшие системы репарации повреждений ДНК и функционирования точек «онкологического» контроля, что позволяет не только надеяться на создание в будущем препаратов, корригирующих функцию пораженных генов, но и уже сегодня заниматься грамотным генетическим консультированием и скринингом ранних стадий опухолей.

Семейные случаи ОМЛ крайне редки, и обсуждаемая в данной статье семейная тромбоцитопения/тромбоцитопатия с предрасположенностью к развитию ОМЛ является одним из таких редких синдромов. Включая наше наблюдение, анализирующее первую российскую семью, в мировой литературе описано всего лишь 35 родословных с FPD/AML.

Транскрипционный фактор СВФ состоит из 2 субъединиц – СВФ α и СВФ β . Именно α -субъединица распознает *core*-последовательность (Pu/T)ACC PuCA в промоторных участках тех генов, экспрессия которых зависит от СВФ. Комплекс СВФ α с ДНК стабилизируется β -субъединицей. За взаимодействие и с ДНК, и с СВФ β отвечает филогенетически консервативный Runt-домен СВФ α [9].

СВФ регулирует активность важнейших для мило- и лимфопоэза генов, кодирующих рецептор макрофагального колониестимулирующего фактора, Т-клеточный рецептор α и β , миелопероксидазу, эластазу нейтрофилов и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, IL-3. Если к комплексу СВФ-ДНК присоединяются ассоциированные с ним транскрипционные факторы (С/ЕВР- α , PU.1, с-МЫВ, ETS, LEF-1) и коактиваторы (p300, СВР, ALY, YAP), то экспрессия зависимых генов увеличивается, а если СВФ-ДНК вступает во взаимодействие с репрессорами (Sin3A, Eaf-2, TLE), то транскрипция зависимых генов подавляется [10–18].

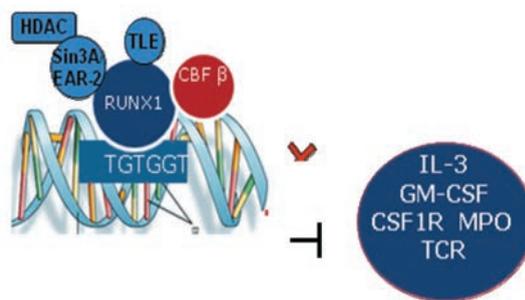


Рис. 3. Репрессирующий комплекс СВФ

В частности, СВФ играет важную роль в регуляции мегакариоцитопоэза [19–22].

Кроме того, *RUNX1* регулирует экспрессию легкой цепи миозина тромбоцитов, которая является важным компонентом в обеспечении нормальной адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов, что может объяснять тромбоцитопатию при FPD/AML [23].

Ген *RUNX1*, расположенный на 21-й хромосоме, кодирует субъединицу СВФ α , а ген *CBFB* на 16-й хромосоме – СВФ β . *RUNX1* и *CBFB* наиболее часто становятся мишенью транслокаций и точечных мутаций, выявляемых при ОМЛ. Если транслокации касаются СВФ α , то в состав химерного гена неизменно включается Runt-домен.

При FPD/AML описаны самые разнообразные мутации – от точечных замен до крупных делеций, захватывающих весь ген *RUNX1*. Интересно, что вероятность развития ОМЛ при полной делеции *RUNX1* существенно ниже, чем при точечных мутациях [24–28].

Первая из 2 нуклеотидных замен, выявленных в описываемой нами семье, является нейтральной мутацией, поскольку она расположена вне кодирующих или регуляторных участков гена [29]. При анализе 30 образцов крови здоровых доноров эта замена была обнаружена на 25 из 60 хромосом.

Что касается 2-й замены треонина в положении 147 на пролин, то, согласно структуре Runt-домена, представленной в работе Tahirov et al. (2001), боковая цепь треонина стабилизирует структуру α -субъединицы за счет водородных связей и входит в состав одной из двух гидрофильных зон контакта между α - и β -субъединицей СВФ [9]. Li et al. на примере индуцированного мутагенеза штаммов дрожжей продемонстрировали, что замена соседнего фенилаланина 146 на аланин в 10 раз снижает прочность комплекса СВФ-ДНК и ведет к снижению уровня транскрипции зависимых генов [30].

Появление пролина вместо треонина изменяет конформацию α -субъединицы, во-первых, за счет обязательного поворота аминокислотной цепи в месте включения пролина, во-вторых, за счет потери водородных связей треонина, стабилизирующих вторичную структуру. Разрушается и одна из гидрофильных зон, обеспечивающих контакт

с β -субъединицей. Все эти изменения должны со всей очевидностью привести к дестабилизации комплекса CBF-ДНК.

Гомологи гетеродимера CBF найдены у нематод, насекомых, рыб и т. д. Они принимают участие в каскадах, регулирующих эмбриональное развитие. Первоначально функции гена *runt* были установлены именно в ходе сегментации эмбриона дрозофилы, а потом было показано, что тот же ген включается и на более поздних этапах уже в составе других каскадов, например, при определении пола и в нейrogenезе.

Можно надеяться, что современные методы анализа полного транскриптома клетки позволят в ближайшее время очертить круг зависимых от CBF генов, нарушение активности которых влечет за собой изменение структуры и/или функции мегакариоцитов человека и облегчает трансформацию клетки [31].

Кажется естественным предположить, что нарушение функции тромбоцитов или их числа вызваны пониженной активностью транскрипционных комплексов, включивших в свой состав мутантную α -субъединицу. Подробное описание известных мутаций приведено в обзоре Osato (2004) [32].

Механизм развития ОМЛ при FPD/AML не до конца ясен. Возможно, наличие мутации в гене *RUNX1* ведет также к нарушению функционирования репрессорных комплексов, в которые входит мутантная α -субъединица, что облегчает трансформацию клеток. Но очевидно, что наличия самой по себе мутации *RUNX1* недостаточно для развития лейкоза — в пользу этого говорят как широкие вариации в частоте развития гемобластозов в пораженных семьях, так и подчас очень длинный интервал между выявлением тромбоцитопении и развитием ОМЛ. Так, в нашем наблюдении у первого пациента ОМЛ развился в возрасте 10 лет, у его сестры — в 19 лет,

а у деда — в 78 лет. Это говорит о том, что для развития ОМЛ, как это и предсказывает современная модель лейкогенеза, при FPD/AML необходимо 2-е генетическое событие. Таким вторым событием часто бывает мутация 2-го аллеля *RUNX1* или другие, «классические» лейкомогенные хромосомные нарушения — трисомия 8, трисомия 21, моносомия 5 и 7, FLT3-ITD [32–34].

Хотя подход к лечению FPD/AML с развившимся ОМЛ или МДС не отработан, логичным представляется выполнение аллогенной ТГСК, поскольку даже успешная химиотерапия не вылечивает пациента, а лишь возвращает его к предлейкемическому заболеванию. В этой ситуации, так же как и при других семейных генетических синдромах, чрезвычайно важной задачей является проведение соответствующего молекулярно-генетического исследования потенциального донора (сиблинга или другого семейного совместимого донора) во избежание выполнения трансплантации от больного FPD/AML. Случаи таких трансплантаций с развитием лейкозов из клеток донора описаны в литературе [34, 35].

К счастью, у нашей пациентки идентифицирована HLA-геноидентичная сестра, у которой было продемонстрировано отсутствие мутации в гене *RUNX1*, что позволило без опасений предложить проведение аллогенной трансплантации.

В заключение отметим, что, как показывает наше наблюдение, часть случаев FPD/AML может оставаться недиагностированной, учитывая зачастую умеренную тромбоцитопению и трудность выявления нетяжелых семейных случаев кровоточивости. Любой факт тромбоцитопении, прослеживающийся более чем в одном поколении одной семьи, особенно при сочетании с выявлением лейкозов (не только ОМЛ, но и ОЛЛ), должен быть исследован на предмет наличия мутаций в гене *RUNX1*.

Л и т е р а т у р а

1. Downton S.B., Beardsley D., Jamison D. et al. Studies of a familial platelet disorder. *Blood* 1985 Mar;65(3):557–63.
2. Linden T., Schnittger S., Groll A.H. et al. Childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia in a patient with familial thrombocytopenia and *RUNX1* mutation. *Br J Haematol* 2010 Dec;151(5):528–30.
3. Ho C.Y., Otterud B., Legare R.D. et al. Linkage of a familial platelet disorder with a propensity to develop myeloid malignancies to human chromosome 21q22.1-22.2. *Blood* 1996 Jun 15;87(12):5218–24.
4. Song W.J., Sullivan M.G., Legare R.D. et al. Haploinsufficiency of CBFA2 causes familial thrombocytopenia with propensity to develop acute myelogenous leukaemia. *Nat Genet* 1999;23(2):166–75.
5. De Braekeleer E., Douet-Guilbert N., Morel F. et al. *RUNX1* translocations and fusion genes in malignant hemopathies. *Future Oncol* 2011 Jan;7(1):77–91.
6. Swiers G., de Bruijn M., Speck N.A. Hematopoietic stem cell emergence in the conceptus and the role of *Runx1*. *Int J Dev Biol* 2010;54(6–7):1151–63.
7. Dowdy C.R., Xie R., Frederick D. et al. Definitive hematopoiesis requires *Runx1* C-terminal-mediated subnuclear targeting and transactivation. *Hum Mol Genet* 2010 Mar 15;19(6):1048–57.
8. Miyoshi H., Ohira M., Shimizu K. et al. Alternative splicing and genomic structure of the AML1 gene involved in acute myeloid leukemia. *Nucl Acids Res* 1995;23(14):2762–9.
9. Tahirov T.H., Inoue-Bungo T., Morii H. et al. Structural analyses of DNA recognition by the *AML1/Runx-1* Runt domain and its allosteric control by CBF β . *Cell* 2001;104(5):755–67.
10. Kamachi Y., Ogawa E., Asano M. et al. Purification of a mouse nuclear factor that binds to both the A and B cores of the polyomavirus enhancer. *J Virol* 1990;64(10):4808–19.
11. Ogawa E., Maruyama M., Kagoshima H. et al. PEBP2/PEA2 represents a family of transcription factors homologous to the products of the Drosophila runt gene and the human *AML1* gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90(14):6859–63.
12. Mikhail F.M., Sinha K.K., Sauntharajah Y. and Nucifora G. Normal and transforming functions of RUNX1: a perspective. *J Cell Physiol* 2006;207(3):582–93.
13. Speck N.A., Terry S. A new transcription factor family associated with human leukemias. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*

- 1995;5(3-4):337-64.
14. Zhang D.E., Fujioka K., Hetherington C.J. et al. Identification of a region which directs the monocytic activity of the colony-stimulating factor 1 (macrophage colony-stimulating factor) receptor promoter and binds PEBP2/CBF (AML1). *Mol Cell Biol* 1994;14:8085-95.
15. Sun W., Graves B.J., Speck N.A. Transactivation of the Moloney murine leukemia virus and T-cell receptor beta-chain enhancers by CBF and ets requires intact binding sites for both proteins. *J Virol* 1995;69:4941-9.
16. Cockerill P.N., Osborne C.S., Bert A.G., Grotto R.J. Regulation of GM-CSF gene transcription by core-binding factor. *Cell Growth Differ* 1996;7:917-22.
17. Austin G.E., Zhao W.G., Regmi A. et al. Identification of an upstream enhancer containing an AML1 site in the human myeloperoxidase (MPO) gene. *Leuk Res* 1998;22:1037-48.
18. Nuchprayoon I., Meyers S., Scott L.M. et al. PEBP2/CBF, the murine homolog of the human myeloid AML1 and PEBP2/CBF proto-oncoproteins, regulates the murine myeloperoxidase and neutrophil elastase genes in immature myeloid cells. *Mol Cell Biol* 1994;14:5558-68.
19. Elagib K.E., Racke F.K., Mogass M. et al. RUNX1 and GATA-1 coexpression and cooperation in megakaryocytic differentiation. *Blood* 2003 Jun 1;101(11):4333-41.
20. Ben-Ami O., Pencovich N., Lotem J. et al. A regulatory interplay between miR-27a and *Runx1* during megakaryopoiesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009 Jan 6;106(1):238-43.
21. Goldfarb A.N. Megakaryocytic programming by a transcriptional regulatory loop: A circle connecting RUNX1, GATA-1, and P-TEFb. *J Cell Biochem* 2009 Jun 1;107(3):377-82.
22. Pencovich N., Jaschek R., Tanay A., Groner Y. Dynamic combinatorial interactions of RUNX1 and cooperating partners regulates megakaryocytic differentiation in cell line models. *Blood* 2011 Jan 6;117(1):e1-14.
23. Jalagadugula G., Mao G., Kaur G. et al. Regulation of platelet myosin light chain (MYL9) by RUNX1: implications for thrombocytopenia and platelet dysfunction in RUNX1 haploinsufficiency. *Blood* 2010 Dec 23;116(26):6037-45.
24. Michaud J., Wu F., Osato M. et al. *In vitro* analyses of known and novel RUNX1/AML1 mutations in dominant familial platelet disorder with predisposition to acute myelogenous leukemia: implications for mechanisms of pathogenesis. *Blood* 2002 Feb 15;99(4):1364-72.
25. Minelli A., Maserati E., Rossi G. et al. Familial platelet disorder with propensity to acute myelogenous leukemia: genetic heterogeneity and progression to leukemia via acquisition of clonal chromosome anomalies. *Genes Chromosomes Cancer* 2004 Jul;40(3):165-71.
26. Kirito K., Sakoe K., Shinoda D. et al. A novel *RUNX1* mutation in familial platelet disorder with propensity to develop myeloid malignancies. *Haematologica* 2008 Jan;93(1):155-6.
27. Owen C.J., Toze C.L., Koochin A. et al. Five new pedigrees with inherited RUNX1 mutations causing familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancy. *Blood* 2008 Dec 1;112(12):4639-45.
28. Béri-Dexheimer M., Latger-Cannard V., Philippe C. et al. Clinical phenotype of germline RUNX1 haploinsufficiency: from point mutations to large genomic deletions. *Eur J Hum Genet* 2008 Aug;16(8):1014-8.
29. Levanon D., Glusman G., Bangsow T. et al. Architecture and anatomy of the genomic locus encoding the human leukemia-associated transcription factor RUNX1/AML1. *Gene* 2001 Jan 10;262(1-2):23-33.
30. Li Z., Yan J., Matheny C.J. et al. Energetic contribution of residues in the Runx1 Runt domain to DNA binding. *J Biol Chem* 2003 August 29;278(35):33088-96.
31. Michaud J., Simpson K.M., Escher R. et al. Integrative analysis of *RUNX1* downstream pathways and target genes. *BMC Genomics* 2008;9:363.
32. Osato M. Point mutations in the *RUNX1/AML1* gene: another actor in RUNX leukemia. *Oncogene* 2004;23(24):4284-96.
33. Preudhomme C., Renneville A., Bourdon V. et al. High frequency of RUNX1 biallelic alteration in acute myeloid leukemia secondary to familial platelet disorder. *Blood* 2009 May 28;113(22):5583-7.
34. Buijs A., Poddighe P., van Wijk R. et al. A novel CBFA2 single-nucleotide mutation in familial platelet disorder with propensity to develop myeloid malignancies. *Blood* 2001;98:2856-8.
35. Owen C.J., Toze C.L., Koochin A. et al. Five new pedigrees with inherited RUNX1 mutations causing familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancy. *Blood* 2008;112:4639-45.

Медико-частотные характеристики лимфом у детей Московской области (популяционное исследование)

Д.Ю. Качанов^{1,2}, Р.Т. Абдуллаев^{1,3}, Т.В. Шаманская², К.В. Добренков²,
Е.Ю. Климова^{2,4}, Е.В. Инюшкина^{2,4}, С.Р. Варфоломеева^{1,2}

¹Кафедра онкологии и гематологии Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова Минздравсоцразвития России, Москва;

²ФГБУ ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздравсоцразвития России, Москва;

³Научно-практический центр медицинской помощи детям с пороками развития челюстно-лицевой области и врожденными заболеваниями нервной системы Департамента здравоохранения Москвы;

⁴Московский областной онкологический диспансер, Балашиха

Контакты: Денис Юрьевич Качанов totti111@list.ru

Целью исследования был анализ медико-частотных характеристик лимфом у детей 0–14 лет на территории Московской области (МО). Источником информации служила база данных Детского популяционного канцер-регистра МО. За период 2000–2008 гг. выявлено 136 случаев заболевания. В структуре заболеваемости лимфомами превалировала лимфома Ходжкина (ЛХ) – 55,8 %. Стандартизированный по возрасту показатель заболеваемости (СПЗ) лимфомами у детей составил – 1,47 на 100 тыс. детского населения. СПЗ ЛХ у детей был равен 0,77 на 100 тыс. детского населения, СПЗ неходжкинскими лимфомами (НХЛ) – 0,70 на 100 тыс. детского населения. Показаны особенности заболеваемости детей ЛХ в зависимости от пола и возраста. Пятилетняя наблюдаемая выживаемость (НВ) детей с лимфомами была равна $0,83 \pm 0,03$. Пятилетняя НВ при ЛХ и НХЛ составила $0,86 \pm 0,04$ и $0,80 \pm 0,05$ соответственно.

Ключевые слова: дети, лимфома Ходжкина, неходжкинские лимфомы, заболеваемость, выживаемость, канцер-регистр

Epidemiology of childhood lymphomas in Moscow region (population-based study)

D. Yu. Kachanov^{1,2}, R. T. Abdullaev^{1,3}, T. V. Shamanskaya², K. V. Dobrenkov², E. Yu. Klimova^{2,4}, E. V. Inushkina^{2,4}, S. R. Varfolomeeva^{1,2}

¹Department of oncology and hematology, Russian National Research Medical University, Moscow;

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

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

⁴Moscow Regional Oncological Hospital, Balashikha

The aim of the study was to analyze the main epidemiologic characteristics of lymphomas in children 0–14 years of age in Moscow Region (MR). The database of childhood population-based cancer registry of MR served as a data source. 136 cases of lymphomas were identified during 2000–2008 years. Hodgkin disease constitutes of 55.8 % of cases. Age-standardized incidence rate (ASR) of all types of lymphomas was 1.47 per 100,000 children. ASR of Hodgkin disease was 0.77 per 100,000 children; ASR of non-Hodgkin's lymphomas was 0.70 per 100,000 children. Distinct epidemiologic features of Hodgkin disease in different gender's and age groups were shown. 5-year observed survival (OS) of all patients with lymphomas was 0.83 ± 0.03 . 5-year OS of patients with Hodgkin disease and non-Hodgkin lymphomas was 0.86 ± 0.04 and 0.80 ± 0.05 respectively.

Key words: children, Hodgkin disease, non-Hodgkin's lymphomas, incidence, survival, cancer registry

Лимфомы представляют собой гетерогенную группу злокачественных новообразований (ЗН) лимфоидной ткани внекостномозгового происхождения, возникающих в центральных органах иммуногенеза, лимфатических узлах или экстранодально.

Лимфомы подразделяют на 2 большие группы: лимфому Ходжкина (ЛХ) и неходжкинские лимфомы (НХЛ). Данное разделение обусловлено особенностями клинического течения заболевания, различным ответом на терапию и прогнозом.

Лимфомы занимают 3-е место в структуре заболеваемости ЗН детского населения большинства

развитых стран, составляя 10–11,8 % от всех видов ЗН [1, 2]. Эпидемиологическими исследованиями показаны значительные географические различия в заболеваемости детей лимфомами [3]. Наибольший вклад лимфом в структуру заболеваемости детского населения отмечен в странах Африки. В развитых странах Европы и Северной Америки стандартизованный показатель заболеваемости (СПЗ) лимфомами детей 0–14 лет равен 1,41–1,60 на 100 тыс. детского населения [1, 2]. В Российской Федерации (РФ) в 2008 г. СПЗ лимфомами составил 1,53 на 100 тыс. детского населения [4], при этом изучение регио-

нальных различий в заболеваемости лимфомами в нашей стране не представляется возможным, поскольку данные по регионам представлены только для всей группы гемобластозов.

В последние годы в зарубежных странах достигнут существенный прогресс в терапии лимфом у детей. Улучшение результатов лечения в первую очередь связано с внедрением программной терапии лимфом и повышением качества сопроводительной терапии. Данные популяционных исследований свидетельствуют о существенном увеличении 5-летней наблюдаемой выживаемости (НВ) детей с лимфомами. Так, по данным проекта EURO CARE-4, в европейских странах у больных с диагнозом, установленным за период 1995–1999 гг., 5-летняя НВ составляет 93,4–96,8 % при ЛХ и 60,0–86,6 % – при НХЛ [5].

Результаты лечения лимфом у детей в РФ, основанные на данных госпитальных регистров, также свидетельствуют о значительном успехе в терапии данной группы ЗН [6]. Тем не менее, отсутствие в большинстве регионов РФ популяционных канцер-регистров не позволяет проводить анализ популяционной выживаемости, которая является более объективным отражением качества оказания специализированной медицинской помощи детям со ЗН.

В настоящей статье мы представляем анализ основных медико-частотных характеристик лимфом у детей по данным детского популяционного канцер-регистра Московской области (МО) за период с 2000 по 2008 г.

Пациенты и методы

Данные о пациентах были получены из базы данных Детского популяционного канцер-регистра МО, проспективно регистрирующего случаи заболевания ЗН детей и подростков на территории МО. В исследование включались дети от 0 до 14 лет с диагнозом лимфома, установленным за период 2000–2008 гг. (9 лет). В процессе сбора информации учитывались данные, способствующие идентификации пациента, и информация, касающаяся заболевания, включающая дату диагноза, локализацию первичного ЗН, гистологический вариант ЗН, распространенность опухолевого процесса, вид лечения, которому подвергся больной. Под морфологической верификацией понимали гистологическое исследование субстрата опухоли.

Всего в исследование было включено 136 больных, из них 91 (66,9 %) пациент получал специальное лечение только в условиях Московского областного онкологического диспансера (МООД), 6 (4,4 %) пациентов – в МООД и одном из онкологических отделений г. Москвы, 37 (27,2 %) пациентов – только в онкологических отделениях г. Москвы, у 2 (1,5 %) больных точное место лечения не было известно. Для сбора и уточнения информации использовали разработанную карту учета пациентов с онкологи-

ческими заболеваниями, состоящих на учете в медицинских учреждениях МО [7]. Карта учета пациентов с онкологическими заболеваниями разработана совместно сотрудниками детского онкологического отделения № 7 МООД и ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» (ФГБУ ФНКЦ ДГОИ).

Диагноз был подтвержден морфологически у 135 (99,2 %) пациентов. Случаев заболевания, зарегистрированных только на основании свидетельства о смерти, выявлено не было. Морфологические диагнозы были стратифицированы согласно Международной классификации болезней в онкологии 3-го пересмотра (International Classification of Diseases for Oncology, 3 ed. – ICD-O-3) [8], далее опухоли группировались согласно Международной классификации ЗН детского возраста 3-го пересмотра (International Classification of Childhood Cancer, 3 ed. – ICCC-3) [9]. Согласно ICCC-3 лимфомы относятся ко II диагностической группе и подразделяются на 5 подгрупп: Па – ЛХ, Пб – НХЛ, Пс – лимфома Беркитта, Пд – смешанно-клеточные лимфоретикулярные опухоли, Пе – неуточненные лимфомы.

В дальнейшем в тексте статьи, если не оговорено особо, под термином «неходжкинские лимфомы» будут пониматься лимфомы, относящиеся к подгруппам Пб, Пс, Пд, Пе.

Показатель заболеваемости (ПЗ) рассчитывали на 100 тыс. детского населения. Рассчитывали грубый ПЗ и СПЗ. СПЗ рассчитывали на 100 тыс. детского населения с использованием World Population в качестве стандарта. Повозрастные ПЗ лимфомами рассчитывались в группах детей < 1 года, 1–4, 5–9 и 10–14 лет. Для анализа временных изменений заболеваемости использовался показатель среднегодового темпа прироста (убыли). НВ рассчитывалась по методу Каплана–Майера. Для сравнения кривых выживаемости использовался непараметрический log-rank-критерий. Для сравнения качественных признаков использовался точный критерий Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные о ежегодной численности населения рассчитывались на основании данных переписи населения РФ 2002 г. Средняя численность детского населения 0–14 лет за анализируемый период времени составила $877\ 558 \pm 16\ 270$. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ Excel 2003 и Statistica 6.0. Статистический анализ проведен на 01.12.2010.

Результаты исследования и их обсуждение

За период 2000–2008 гг. на территории МО выявлено 136 случаев заболевания лимфомами у детей в возрасте 0–14 лет, что составило 13,2 % от всех случаев заболевания ЗН. При распределении по полу отмечено преобладание лиц мужского пола, соотно-

шение мальчики: девочки равно 1,7:1. Наибольшее число случаев заболевания пришлось на возрастную группу 10–14 лет – 94 (69,1 %), в возрасте 5–9 лет зарегистрировано 28 (20,6 %) случаев, в возрасте 1–4 лет – 14 (10,3 %) пациентов. У детей первого года жизни случаев заболевания лимфомами выявлено не было. Медиана возраста на момент постановки диагноза составила 11 лет.

Вклад лимфом в структуру заболеваемости ЗН у детей зависел от возраста. В возрастной группе 1–4 лет на долю лимфом приходилось 4,0 % от всех видов ЗН, в возрасте 5–9 лет – 11,3 %, в возрасте 10–14 лет – 25,9 %. Удельный вес как ЛХ, так и НХЛ в структуре заболеваемости ЗН увеличивался с возрастом, при этом наиболее выражено эта закономерность прослеживалась при ЛХ (рис. 1).

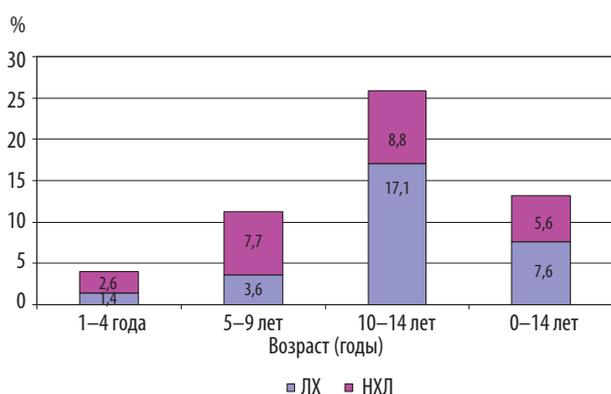


Рис. 1. Удельный вклад ЛХ и НХЛ в структуру заболеваемости ЗН детей в зависимости от возраста

Грубый ПЗ лимфомами у детей в возрасте 0–14 лет за период 2000–2008 гг. составил 1,72 на 100 тыс. детского населения (табл. 1). СПЗ за аналогичный период времени был равен 1,47 на 100 тыс. детского населения. ПЗ лимфомами увеличивался с возрастом, максимальное значение ПЗ было выявлено в возрастной группе 10–14 лет – 2,93 на 100 тыс. детского населения. Анализ временных изменений заболеваемости детей лимфомами показал, что среднегодовой темп убыли за весь период исследования составил 0,40 %.

При анализе структуры заболеваемости лимфомами по подгруппам согласно ИССС-3 на долю подгруппы «ЛХ» (IIa) пришлось 76 (55,8 %) случаев, далее следовали подгруппа «НХЛ» (IIb) – 39 (28,7 %) случаев, подгруппа «лимфома Беркитта» (IIc) – 17 (12,5 %) случаев, на долю подгрупп «различные лимфоретикулярные опухоли» (IIд) и «неуточненные лимфомы» (IIе) – по 2 (1,5 %) случая (табл. 1).

Проведен анализ медико-частотных характеристик ЛХ и НХЛ. За период 2000–2008 гг. на территории МО выявлено 76 случаев заболевания ЛХ у детей в возрасте 0–14 лет, что составило 7,6 % от всех случаев заболевания ЗН и 55,8 % от всех случаев заболевания лимфомами. Наибольшее число случа-

ев заболевания выявлено в возрастной группе 10–14 лет – 62 (81,6 %), в возрасте 5–9 лет зарегистрировано 9 (11,8 %) случаев, в возрасте 1–4 лет – 5 (6,6 %) пациентов. Медиана возраста на момент постановки диагноза лимфома Ходжкина составила 12 лет.

При распределении по полу отмечено преобладание лиц мужского пола, соотношение мальчики:девочки составило 1,3:1. Распределение пациентов с ЛХ по полу зависело от возраста на момент постановки диагноза. Случаев заболевания девочек в возрасте младше 10 лет отмечено не было, напротив, в возрастной группе 10–14 лет отмечено преобладание лиц женского пола. Соотношение мальчики:девочки в данной возрастной группе составило 0,87:1.

Грубый ПЗ ЛХ детей в возрасте 0–14 лет за период 2000–2008 гг. составил 0,96 на 100 тыс. детского населения, СПЗ был равен 0,77 на 100 тыс. детского населения. ПЗ ЛХ детей увеличивался с возрастом (табл. 1). Различия по возрастной заболеваемости в зависимости от пола показаны на рис. 2. Как уже отмечалось выше, ПЗ ЛХ у девочек резко увеличивался, начиная с возраста 10 лет. Напротив, у мальчиков в 32,5 % случаев (14/43 пациентов) диагноз был установлен в возрасте младше 10 лет, что отражалось на форме кривой по возрастной заболеваемости. При анализе динамики заболеваемости детей ЛХ было показано, что среднегодовой темп убыли составил 7,97 %.

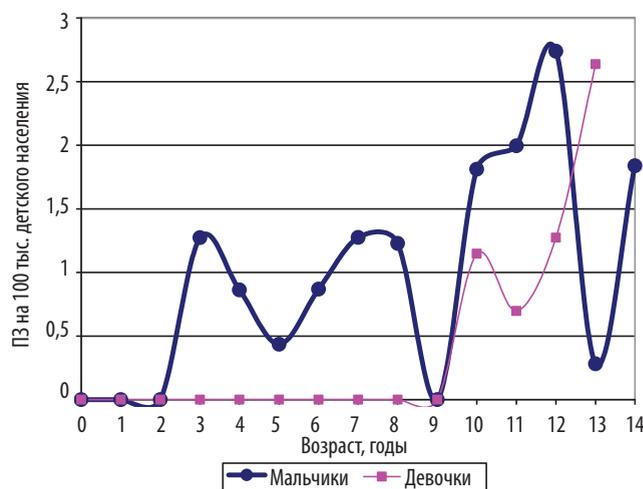


Рис. 2. Повозрастной ПЗ ЛХ у детей 0–14 лет в зависимости от пола

При анализе распределения случаев ЛХ по гистологическим вариантам было отмечено, что наиболее часто у детей в возрасте 0–14 лет выявлялся смешанно-клеточный вариант ЛХ – 28 (36,8 %) случаев (табл. 2). Вариант нодулярного склероза был отмечен в 25 (32,9 %) случаях, у 17 (22,3 %) больных была зарегистрирована ЛХ без уточнения варианта, к редким вариантам ЛХ относили вариант лимфоидного преобладания и лимфоидного истощения, на

Таблица 1. Заболеваемость лимфомами у детей МО за период 2000–2008 гг.

Диагностическая группа	Число случаев	%	ПЗ на 100 тыс. детского населения						М:Д
			Повозрастной				Грубый	СПЗ	
			< 1 года	1–4 года	5–9 лет	10–14 лет			
П. Лимфомы и ретикулоэндотелиальные опухоли	136	100	0,00	0,75	1,20	2,93	1,72	1,47	1,7
(Па) ЛХ	76	55,8	0,00	0,27	0,39	1,93	0,96	0,77	1,3
(Пб) НХЛ	39	28,7	0,00	0,22	0,47	0,75	0,49	0,44	2,0
(Пс) Лимфома Беркитта	17	12,5	0,00	0,16	0,34	0,19	0,22	0,21	16,0
(Пд) Различные лимфоретикулярные опухоли	2	1,5	0,00	0,05	0,00	0,03	0,03	0,03	1,0
(Пе) Неуточненные лимфомы	2	1,5	0,00	0,05	0,00	0,03	0,03	0,03	0,0

долю которых приходилось по 3 (4,0 %) случая. Распределение гистологических вариантов ЛХ коррелирует как с возрастом больных на момент постановки диагноза, так и с полом пациентов. Так, смешанно-клеточный вариант ЛХ превалировал у детей в возрасте младше 10 лет – 10 случаев (71,4 %), тогда как в возрастной группе 10–14 лет данный вариант заболевания был выявлен только в 18 случаях (29,0 %) (табл. 2). После исключения из анализа пациентов с неуточненным вариантом ЛХ было показано, что смешанно-клеточный вариант существенно чаще встречался у детей в возрасте 0–9 лет (10 из 12 случаев) по сравнению с детьми из возрастной группы 10–14 лет (18 из 47 случаев) ($p = 0,0083$). Напротив, вариант нодулярного склероза чаще выявлялся у детей в возрасте 10–14 лет (25 из 47 случаев) по сравнению с детьми более младших возрастных групп (0 из 12 случаев) ($p = 0,0006$). Смешанно-клеточный вариант ЛХ превалировал у лиц мужского пола (М:Д = 1,8:1), в то время как вариант нодулярного склероза чаще выявлялся у лиц женского пола (М:Д = 0,78:1).

За период 2000–2008 гг. на территории МО выявлено 60 случаев заболевания НХЛ (подгруппы Пб,

Пс, Пд, Пе) у детей в возрасте 0–14 лет, что составило 5,6 % от всех случаев заболевания ЗН и 44,2 % от всех случаев заболевания лимфомами. Наибольшее число случаев заболевания выявлено в возрастной группе 10–14 лет – 32 (53,3 %), в возрасте 5–9 лет зарегистрировано 19 (31,7 %), в возрасте 1–4 лет – 9 (15,0 %) случаев. Медиана возраста на момент постановки диагноза НХЛ составила 10 лет. При распределении по полу отмечено существенное превалирование лиц мужского пола (М:Д = 2,3:1).

Грубый ПЗ НХЛ у детей в возрасте 0–14 лет за период 2000–2008 гг. составил 0,76 на 100 тыс. детского населения, СПЗ был равен 0,70 на 100 тыс. детского населения. При анализе повозрастной заболеваемости детей НХЛ выявлено 2 пика заболеваемости: первый в возрасте 5 лет, 2-й у детей 10–11 лет. Максимальные значения ПЗ в подгруппе «НХЛ» (Пб) были отмечены в возрасте 10–14 лет – 0,75 на 100 тыс. детского населения. Максимальные значения ПЗ в подгруппе «лимфома Беркитта» (Пс) зарегистрированы у детей в возрасте 5–9 лет – 0,34 на 100 тыс. детского населения (табл. 1). При анализе динамики заболеваемости НХЛ отмечено, что среднегодовой темп прироста был равен 7,78 %.

Анализ распределения случаев НХЛ по гистологическим вариантам показал, что наиболее часто у детей в возрасте 0–14 лет выявлялись лимфома Беркитта и лимфобластная лимфома, на которые пришлось по 17 (28,3 %) случаев, далее следовали диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) – 12 (20,0 %) случаев и анапластическая крупноклеточная лимфома – 9 (15,0 %) случаев. У 5 (8,4 %) пациентов выявлялись редкие и неуточненные варианты НХЛ.

Проведен анализ результатов терапии пациентов с лимфомами. Пятилетняя НВ пациентов с лимфомами составила $0,83 \pm 0,03$. Пятилетняя НВ была равна $0,86 \pm 0,04$ при ЛХ и $0,80 \pm 0,05$ – при НХЛ (рис. 3). Анализ выживаемости больных с ЛХ и НХЛ в зависимости от возраста и пола не выявил статистически

Таблица 2. Распределение пациентов в возрасте 0–14 лет с ЛХ в зависимости от гистологического варианта

Гистологический вариант ЛХ	Возраст (годы)					
	< 10 лет		> 10 лет		0–14 лет	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Смешанно-клеточный	10	71,4	18	29,0	28	36,8
Нодулярный склероз	0	0,0	25	40,3	25	32,9
Лимфоидное преобладание	1	7,2	2	3,3	3	4,0
Лимфоидное истощение	1	7,2	2	3,3	3	4,0
Неуточненный	2	14,2	15	24,1	17	22,3
Всего	14	100,0	62	100,0	76	100,0

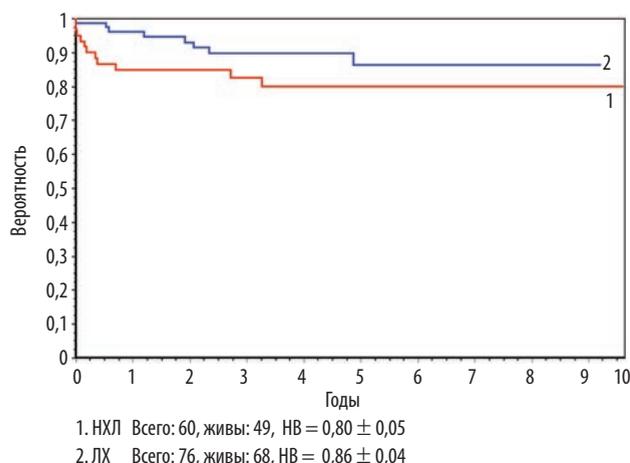


Рис. 3. Пятилетняя НВ детей 0–14 лет с ЛХ и НХЛ

значимых различий. Так, 5-летняя НВ больных ЛХ в возрасте младше 10 лет и старше 10 лет была равна $0,93 \pm 0,07$ и $0,84 \pm 0,05$ соответственно ($p = 0,619$). Пятилетняя НВ лиц мужского пола с ЛХ была равна $0,88 \pm 0,05$ против $0,86 \pm 0,06$ у лиц женского пола ($p = 0,540$). При НХЛ лучшие результаты терапии выявлены в группе детей 1–4 лет, 5-летняя НВ составила $0,89 \pm 0,10$. Данный показатель у детей 5–9 лет и 10–14 лет был равен $0,69 \pm 0,11$ и $0,84 \pm 0,06$, соответственно (различия статистически незначимы). Пятилетняя НВ лиц мужского пола с НХЛ была равна $0,78 \pm 0,07$ против $0,84 \pm 0,08$ у лиц женского пола ($p = 0,654$). Результаты терапии больных подгрупп «НХЛ» (IIb) и «лимфома Беркитта» (IIc) продемонстрировали сопоставимые значения 5-летней НВ, которая была равна $0,83 \pm 0,06$ и $0,81 \pm 0,09$ соответственно ($p = 0,735$).

В результате планомерной работы по созданию популяционного канцер-регистра и изучению медико-частотных характеристик и результатов терапии ЗН, в том числе и лимфом, у детей впервые удалось провести анализ, избежав селекции пациентов на территории крупного субъекта РФ – МО.

Лимфомы занимают 3-е место в структуре заболеваемости ЗН детского населения МО, составляя 13,2 % от всех видов ЗН, уступая только лейкозам и опухолям центральной нервной системы. При этом вклад лимфом в структуру заболеваемости ЗН детей увеличивался с возрастом и был максимальным в возрастной группе 10–14 лет (25,9 %). Данные зарубежных канцер-регистров согласуются с результатами настоящего исследования [1–2, 10, 11].

В структуре заболеваемости лимфомами детей МО превалировала ЛХ, на долю которой пришлось 55,8 %. Следует отметить, что соотношение ЛХ и НХЛ имеет географические различия. В странах Западной Европы и Северной Америки отмечается преобладание НХЛ, на долю которых приходится около

60 % случаев заболевания лимфомами [1, 2]. Данные отдельных канцер-регистров подтверждаются результатами проекта Автоматизированной информационной системы по учету ЗН у детей (Automated Childhood Cancer Information System – ACCIS) – крупного эпидемиологического исследования, проведенного в 19 европейских странах. Показано, что Восточная Европа является единственным из 5 регионов Европы, где в структуре заболеваемости лимфомами превалирует ЛХ, составляя 57,5 % [10].

Соотношение ЛХ и НХЛ в структуре заболеваемости лимфомами детского населения МО зависит от возраста: у детей младше 10 лет отмечается преобладание НХЛ, у детей старше 10 лет данное соотношение меняется в пользу ЛХ за счет значительного повышения заболеваемости в данной возрастной группе. Указанные особенности описаны и в других эпидемиологических исследованиях [1].

Вклад различных подгрупп НХЛ в структуру заболеваемости лимфомами с географической точки зрения также значительно различается. Так, удельный вес лимфомы Беркитта в различных регионах Европы варьировал от 22,7 % в Южной Европе до 3,5 % в странах Восточной Европы, в среднем по Европе составляя 12,3 % [11]. В нашем исследовании диагноз лимфомы Беркитта был установлен у 12,5 % пациентов с лимфомами.

СПЗ лимфомами детей МО составил 1,47 на 100 тыс. детского населения и был сопоставим с данными канцер-регистров зарубежных стран. По данным проекта ACCIS аналогичный показатель в Европе за период 1987–1998 гг. был равен 1,52 на 100 тыс. детского населения, варьируя от 1,16 на 100 тыс. детского населения в Великобритании до 1,92 на 100 тыс. детского населения в северном регионе Европы [12]. СПЗ ЛХ у детей 0–14 лет на территории МО составил 0,77 на 100 тыс. детского населения и был сопоставим с СПЗ в странах Восточной Европы (0,8 на 100 тыс. детского населения), в которых зафиксированы наиболее высокие значения заболеваемости ЛХ в Европе [10]. Напротив, СПЗ НХЛ у детей МО составил 0,70 на 100 тыс. детского населения, что несколько ниже, чем в других европейских странах, где СПЗ варьировал от 0,74 до 1,25 на 100 тыс. детского населения [11].

Заболеваемость всеми видами лимфом детского населения в МО оставалась стабильной на протяжении всего периода исследования. Однако при анализе динамики заболеваемости ЛХ и НХЛ выявлены противоположные тенденции. Было отмечено снижение заболеваемости ЛХ и повышение заболеваемости НХЛ. Следует отметить, что официальные статистические данные по заболеваемости ЛХ в РФ [4] также свидетельствуют о снижении заболеваемости. Среднегодовой темп убыли за период 1998–2008 гг. был равен 4,35 %. Аналогичная тенденция к снижению забо-

леваемости ЛХ у детского населения прослеживается по данным детского канцер-субрегистра Республики Беларусь [13]. Напротив, заболеваемость НХЛ детей в РФ оставалась стабильной. Повышение ПЗ НХЛ у детей на территории МО, по-видимому, обусловлено не истинным ростом заболеваемости, а улучшением выявляемости и регистрации больных данной группы ЗН. Следует отметить, что обобщенные данные по заболеваемости ЛХ и НХЛ детей в европейских странах свидетельствуют о среднегодовом увеличении ПЗ за период 1978–1997 гг. на 0,72 и 0,86 % соответственно [11]. Причины подобных изменений в настоящее время до конца не изучены.

Интересными представляются результаты анализа медико-частотных характеристик ЛХ у детей на территории МО. Наши данные свидетельствуют о влиянии возраста и пола больных на заболеваемость ЛХ и частоту встречаемости отдельных гистологических вариантов. У детей младше 10 лет все случаи заболевания развились у лиц мужского пола, при этом доминирующим гистологическим вариантом ЛХ являлся смешанно-клеточный вариант (71,4 %). Напротив, у детей в возрастной группе 10–14 лет было выявлено преобладание лиц женского пола и варианта нодулярного склероза, на долю которого пришлось 40,4 %.

Полученные данные свидетельствуют о гетерогенности ЛХ и совпадают с результатами других исследований. Данные проекта ACCIS подтверждают некоторые выявленные закономерности. Так, смешанно-клеточный вариант и вариант нодулярного склероза являются преобладающими, при этом их соотношение изменяется с возрастом и проявляется уменьшением удельного веса смешанно-клеточного варианта по мере увеличения возраста больных. Кроме того, смешанно-клеточный вариант преобладает у лиц мужского пола во всех регионах Европы и во всех возрастных группах. При этом в странах Восточной Европы отмечен наибольший удельный вес данного гистологического варианта ЛХ (40 %), тогда как во всех остальных европейских регионах на него приходится только 28 % случаев [10].

В настоящее время высказывается гипотеза о том, что ЛХ является гетерогенным заболеванием, в развитии которого участвуют генетические факторы и факторы окружающей среды, прежде всего инфекции. Эпидемиологические исследования свидетельствуют о 2 различных формах ЛХ у детей: детской и подростковой [1, 10, 14, 15].

Детская форма ЛХ, ассоциированная с Эпштейна–Барр вирусной инфекцией, характеризуется экспрессией вирусного генома в клетках Березовского–Рид–Штернберга. Данный вариант чаще встречается в странах с менее развитой экономикой, в группах людей с низким социально-экономическим ста-

тусом. Для детской формы ЛХ характерно преобладание в структуре заболеваемости мальчиков (М:Д = 2–3:1) и высокая доля смешанно-клеточного варианта ЛХ (30–35 %). Вторая форма ЛХ – подростковая, не ассоциирована с инфицированием вирусом Эпштейна–Барр, выявляется преимущественно у детей более старшего возраста и подростков. Наиболее частым гистологическим вариантом является вариант нодулярного склероза ЛХ, что составляет 70–80 % [1, 10, 14, 15]. К факторам риска относят высокий социально-экономический статус, маленький размер семьи, что может свидетельствовать о влиянии позднего контакта с инфекциями на формирование болезни [1, 10, 14, 15].

Значения 5-летней НВ детей с лимфомами, полученные в настоящем исследовании, были несколько ниже, чем значения аналогичного показателя в развитых странах Европы. Следует отметить, что в странах Восточной Европы отмечаются худшие результаты терапии лимфом у детей, по сравнению с другими регионами Европы. Так, по данным проекта ACCIS, 5-летняя НВ детей с ЛХ в странах Восточной Европы за период 1993–1997 гг. была равна 89 % [10], 5-летняя НВ детей с НХЛ за период 1988–1997 гг. составила 58 % [11]. Данные проекта EUROCARE-4 свидетельствуют об улучшении выживаемости больных лимфомами в Европе в целом и странах Восточной Европы в частности [5]. В Республике Беларусь, по данным детского канцер-субрегистра за период 2001–2006 гг., 5-летняя НВ детей с ЛХ была равна 97,3 %, у больных в подгруппе «НХЛ» (Ib) – 71,8 %, в подгруппе «лимфома Беркитта» (Ic) – 85,7 % [13]. Одним из объяснений более низких значений выживаемости, полученных в нашем исследовании, может служить тот факт, что программная терапия лимфом на территории МО была начата только в 2000 г., после проведения реорганизации детской онкологической службы.

Выводы

Таким образом, полученные в настоящем исследовании результаты подтвердили данные других авторов, свидетельствующие об особенностях эпидемиологических характеристик лимфом у детей в странах Восточной Европы и РФ. Необходима дальнейшая оптимизация терапии лимфом и повышение качества сопроводительной терапии, которые, в свою очередь, позволят улучшить результаты лечения детей на территории МО.

Благодарности

Авторы выражают благодарность медицинскому статистическому Республиканскому научно-практическому центру детской гематологии и онкологии Республики Беларусь О.И. Быданову за помощь в статистической обработке данных.

Л и т е р а т у р а

1. Percy C.L., Smith M.A., Linet M. et al. Lymphomas and reticuloendotelial neoplasms. In: Ries L.A.G., Smith M.A., Gurney J.G., Linet M., Tamra T., Young J.L., Bunin G.R. (eds). Cancer Incidence and Survival among Children and Adolescents: United States SEER Program 1975–1995, National Cancer Institute, SEER Program. NIH Pub. No. 99-4649. Bethesda, MD, 1999. P. 35–50.
2. 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 01.12.2010].
3. Stiller C.A., Parkin D.M. Geographic and ethnic variations in the incidence of childhood cancer. *Br Med Bull* 1996;52(4):682–703.
4. Злокачественные новообразования в России в 2008 году (заболеваемость и смертность). Под ред. В.И. Чиссова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2010. С. 225–253.
5. Gatta G., Zigon G., Capocaccia R., et al. EURO-CARE Working Group. Survival of European children and young adults with cancer diagnosed 1995–2002. *Eur J Cancer* 2009;45(6):992–1005.
6. Феоктистов Р.И., Румянцева Ю.В., Абугова Ю.Г. и др. Результаты лечения детей и подростков с лимфомой Ходжкина: данные моноцентрового исследования. *Онкогематол* 2010;2:6–12.
7. Шаманская Т.В. Дескриптивная эпидемиология гемобластозов у детей и подростков Московской области. Автореф. дис. ... к.м.н. М., 2005.
8. Fritz A., Percy C., Jack A. et al. (eds.). International Classification of Diseases for Oncology, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2000.
9. Steliarova-Foucher E., Stiller C., Lacour B., Kaatsch P. International Classification of Childhood Cancer, 3rd ed. *Cancer* 2005;103:1457–67.
10. Clavel J., Steliarova-Foucher E., Berger C. et al. Hodgkin's disease incidence and survival in European children and adolescents (1978–1997): report from the Automated Cancer Information System project. *Eur J Cancer* 2006;42(13):2037–49.
11. Izarzugaza M.I., Steliarova-Foucher E., Martos M.C., Zivkovic S. Non-Hodgkin's lymphoma incidence and survival in European children and adolescents (1978–1997): report from the Automated Childhood Cancer Information System project. *Eur J Cancer* 2006;42(13):2050–63.
12. Stiller C.A., Marcos-Gragera R., Ardanaz E. et al. Geographical patterns of childhood cancer incidence in Europe, 1988–1997. Report from the Automated Childhood Cancer Information System project. *Eur J Cancer* 2006;42(13):1952–60.
13. Савва Н.Н., Зборовская А.А., Алейникова О.В. Злокачественные новообразования у детей Республики Беларусь. Заболеваемость, выживаемость, смертность, паллиативная помощь. Минск, 2008. С. 22–27.
14. Grufferman S., Delzell E. Epidemiology of Hodgkin's disease. *Epidemiol Rev* 1984;6:76–106.
15. Stiller C.A. What causes Hodgkin's disease in children? *Eur J Cancer* 1998;34(4):523–8.

Аллогенная трансплантация гемопоэтических клеток с режимами кондиционирования со сниженной интенсивностью доз у детей и подростков с прогностически неблагоприятными формами острого лимфобластного лейкоза

Е.В. Семенова, Н.В. Станчева, А.Л. Алянский, Е.В. Бабенко, В.Н. Вавилов,
Е.В. Морозова, С.Н. Бондаренко, А.А. Сипол, О.В. Паина, О.А. Слесарчук,
И.М. Бархатов, Л.С. Зубаровская, Б.В. Афанасьев

ГБОУ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова
Минздравоохранения России; Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой

Контакты: Елена Владимировна Семенова alena-semenova@yandex.ru

В статье представлены результаты сравнения эффективности аллогенной трансплантации гемопоэтических клеток (алло-ТГСК) с миелоаблативными (МАК) и режимами кондиционирования со сниженной интенсивностью доз (РИК) у детей и подростков с прогностически неблагоприятными формами острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ). В исследование включено 102 пациента в возрасте от 1 до 21 года (средний возраст — 12 лет) с ОЛЛ, получивших алло-ТГСК с 2000 по 2010 г. (31 больной с РИК и 71 пациент с МАК). Анализ общей и бессобытийной выживаемости в обеих группах показал сопоставимую эффективность. Авторы обсуждают возможность использования РИК как альтернативного варианта кондиционирования при алло-ТГСК у детей и подростков с ОЛЛ группы высокого риска, имеющих плохое общее состояние, сопутствующую патологию и инфекционные осложнения.

Ключевые слова: аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, режимы кондиционирования со сниженной интенсивностью, дети и подростки, острый лимфобластный лейкоз

Allogeneic hematopoietic stem cells transplantation with reduced intensity conditioning regimen in children and adolescents with unfavorable forms of acute lymphoblastic leukemia

E.V. Semenova, N.V. Stancheva, A.L. Alyanskiy, E.V. Babenko, V.N. Vavilov,
E.V. Morozova, S.N. Bondarenko, A.A. Sipol, O.V. Paina, O.A. Slesarchuk,
I.M. Barkhatov, L.S. Zubarovskaya, B.V. Afanasiev

Memorial R.M. Gorbacheva Institute of Children Hematology and Transfusiology, Saint-Petersburg Pavlov State Medical University

Treatment results of allogeneic hematopoietic stem cells transplantation (allo-HSCT) with myeloablative (MAC) and reduced intensity (RIC) conditioning regimen in children and adolescents with unfavorable forms of acute lymphoblastic leukemia (ALL) were shown. One hundred and two ALL patients aged 1 to 21 years (mean — 12 years) who received allo-HSCT from 2000 to 2010 (31 patients with RIC and 71 patients with MAC) are included in the study. Analysis of overall and event-free survival in both groups showed comparable efficacy. The use of RIC as alternative conditioning regimen in children and adolescents with high risk ALL and poor general condition, comorbidities and infectious complications are discussed.

Key words: allogeneic hematopoietic stem cells transplantation, reduced intensity conditioning regimen, children and adolescents, acute lymphoblastic leukemia

Введение

Основным методом лечения острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у детей является химиотерапия (ХТ). Применение современных комбинаций химиопрепаратов позволяет достигнуть полной клинико-гематологической ремиссии у 95–99 % детей с ОЛЛ (5-летняя бессобытийная выживаемость (БСВ) достигает 80 %) [1, 2]. Однако 5–10 % пациентов от общего числа больных ОЛЛ рефрактерны к первичной

терапии, у других в первые 3 года после достижения полной клинико-гематологической ремиссии наступает рецидив [3], 5-летняя общая выживаемость (ОВ) этих детей не превышает 21 % [4]. Второй и последующие рецидивы ОЛЛ снижают ОВ до 15–30 %.

Применение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) сделало возможным излечение детей с прогностически неблагоприятными вариантами ОЛЛ [5, 6]. Исторически

сложилось, что основная задача ТГСК заключалась в интенсификации ХТ с помощью применения высоких доз химиопрепаратов. При алло-ТГСК с миелоаблативным режимом кондиционирования (МАК) используются сверхвысокие дозы цитостатических препаратов. Эти дозы рассчитаны на циторедукцию патологических клеток и освобождение плацдарма для донорских гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в костном мозге, а также создание иммуноаблации в организме реципиента. Миелоаблативная ХТ с последующей ТГСК показала хорошие результаты в лечении больных острыми лейкозами. Тем не менее, большое количество осложнений и ранняя смертность, связанная с токсичностью режимов кондиционирования, остаются серьезной проблемой при проведении трансплантации. Несмотря на молодой возраст часть пациентов имеет плохое общее состояние (индекс Карновского (Ланского) < 80 %), обусловленное сопутствующей патологией, тяжелыми инфекциями и большим количеством осложнений, полученных в ходе предшествующей ХТ.

Кроме того, отдаленные последствия, вызванные цитостатической терапией, являются актуальной проблемой, особенно для пациентов детского и подросткового возраста. По данным ряда исследователей, пациенты, получившие лечение в детском возрасте по поводу онкологических заболеваний, имеют большой риск развития поздних осложнений, часть которых приводит к инвалидизации и смерти в молодом возрасте [7, 8]. Это послужило основанием для разработки менее интенсивных протоколов лечения онкологических заболеваний у детей. Так как миелоаблативные режимы, особенно содержащие тотальное облучение тела, имеют необратимые отдаленные последствия, отрицательно влияющие на здоровье, продолжительность и качество жизни пациента, появилась необходимость в разработке новых подходов предтрансплантационной подготовки пациентов [9]. Режимы кондиционирования со сниженной интенсивностью (РИК – кондиционирование редуцированной интенсивности) в клинической практике применяются более 10 лет [10–13]. Они обладают меньшей токсичностью, в том числе органной, и лучшей переносимостью. Действие РИК направлено на создание условий максимального иммуноаблативного, но не миелоаблативного воздействия, при которых аллогенные ГСК успешно развиваются в организме реципиента, приживление трансплантата происходит медленно, через стадию частичного «химеризма». При этом создаются оптимальные условия для реализации еще одного терапевтического воздействия алло-ТГСК, а именно реакции «трансплантат против лейкоза» [14–16].

Несмотря на широкое применение РИК у взрослых пациентов с различной онкогематологической патологией и большое количество исследований, опубликованных в периодических изданиях [17, 18],

в литературе имеются только единичные сообщения о результатах использования этих режимов у детей [19, 20]. В нашей клинике накоплен опыт по применению РИК у детей с ОЛЛ, которым по разным причинам невозможно было применить МАК.

Материалы и методы

В исследование включено 102 ребенка и подростка в возрасте от 1 до 21 года с прогностически неблагоприятными формами ОЛЛ (табл. 1), получивших алло-ТГСК с 2000 по 2010 г.

Таблица 1. Характеристики пациентов

Параметры	МАК, n	РИК, n
Число пациентов	71	31
Средний возраст (интервал)	12,3 (1–21) года	12,2 (2–21) года
1–17 лет	53 (74,5 %)	22 (71 %)
18–21 год	18 (25,5 %)	9 (29 %)
Пол: м/ж	46/25	19/12
Индекс Карновского (Ланского)		
≤ 80 %	1 (1,4 %)	26 (83,8 %)
> 80 %	70 (98,6 %)	5 (16,2 %)
Стадия ОЛЛ на момент алло-ТГСК		
1-я ПКГР	11 (3 МОБ*) 15,5 %	4 (1 МОБ*) 13 %
2-я ПКГР	30 (42 %)	16 (52 %)
3–4-я ПКГР	9 (12,5 %)	2 (6,5 %)
1-й рецидив	5 (7 %)	2 (6,5 %)
2-й рецидив	10 (14 %)	3 (9,5 %)
3–4–5-й рецидив	6 (9 %)	3 (9,5 %)
Первично-резистентное течение	0	1 (3 %)
Тип донора		
родственный	23 (32 %)	7 (22,5 %)
неродственный	48 (68 %)	24 (77,5 %)
Источник ГСК		
КМ	30 (42 %)	19 (61 %)
ПСКК	41 (58 %)	12 (39 %)
Профилактика о. РТПХ		
Циклоспорин А+	57 (80 %)	22 (71 %)
Такролимус	14 (20 %)	9 (29 %)

*Высокий уровень минимальной остаточной болезни (молекулярно-биологический рецидив); ПКГР – полная клинико-гематологическая ремиссия, КМ – костный мозг, ПСКК – периферические стволовые клетки крови, о. РТПХ – острая реакция «трансплантат против хозяина».

Режимы кондиционирования сниженной интенсивности доз на основе флударабина фосфата (Flu, 150 мг/м²) в комбинации с бусульфаном (Bu, 8 мг/кг) или мелфаланом (Mel, 140 мг/м²) ± АТГ (Атгам), 60 мг/кг или Тимоглобулин, 7,5 мг/кг или АЛГ, 40 мг/кг) проводились 31 больному: при родственных алло-ТГСК – 7 (21 %), при неродственных – 24 (79 %) пациентам.

В группу пациентов, которым выполнена алло-ТГСК с РИК, вошли только те, у кого было невозможно проведение миелоаблативных режимов ввиду ожидаемой высокой летальности, ассоциированной с трансплантацией.

Показания для выполнения алло-ТГСК с РИК:

- большое количество курсов предшествующей ХТ («предлеченность») и как результат – плохой соматический статус (индекс Карновского (Ланско-го) ≤ 80 %;
- плохая переносимость и тяжелые осложнения цитостатической терапии: побочные эффекты, токсичность, инфекционные осложнения;
- тяжелые инфекции на момент проведения алло-ТГСК;
- алло-ТГСК после аутологичной ТГСК.

В группе пациентов, которым провели алло-ТГСК с РИК, было 4 (13 %) больных в I ремиссии, 16 (52 %) пациентов во II ремиссии, 2 (6 %) ребенка в III ремиссии, 9 (29 %) больных в рецидиве.

У всех пациентов, которым выполнена алло-ТГСК в I ремиссии, был крайне неблагоприятный прогноз (врожденный лейкоз, t(9;22), t(4;11), отсутствие ремиссии после индукционной терапии (поздний ответ) и/или высокий уровень минимальной остаточной болезни (МОБ) ($> 10^{-2}$) (у пациентов с VCR/ABL или MLL/AF4).

МАК (бусульфан (Bu, 16 мг/кг) и циклофосфан (Cy, 120 мг/кг) ± АТГ (Атгам, 60 мг/кг или Тимоглобулин, 7,5 мг/кг или АЛГ, 40 мг/кг) или треоосульфат (Трео, 30–42 г/м²) и циклофосфан (Cy, 120 мг/кг) ± АТГ (Атгам, 60 мг/кг или Тимоглобулин, 7,5 мг/кг или АЛГ, 40 мг/кг) использовали у 71 больного, среди них алло-ТГСК от родственных доноров – 23 (33 %) пациентам, от неродственных доноров – 48 (67 %) пациентам.

На момент алло-ТГСК с МАК: I ремиссия – у 11 (16 %) больных, II ремиссия – у 30 (42 %) пациентов, III ремиссия – у 8 (11 %) детей и подростков, IV ремиссия – у 1 (2 %) ребенка, рецидив – у 21 (29 %).

Профилактику острой реакции «трансплантат против хозяина» (о. РТПХ) проводили с использованием различных комбинаций циклоспорина А (ЦсА) или такролимуса с метотрексатом (МТХ), глюкокортикостероидами (ГКС) и микофенолатом мофетила (Селлсепт) (ММФ).

В обеих группах соотношение использования костного мозга и периферических стволовых клеток крови в качестве источника гемопоэтических кле-

ток, так же как и возрастное распределение по группам, было одинаковым.

Оценка эффективности различных режимов кондиционирования перед алло-ТГСК проведена среди пациентов, у которых было приживление трансплантата (у 26 пациентов после алло-ТГСК с РИК и у 65 пациентов после алло-ТГСК с МАК).

Всех пациентов в зависимости от состояния заболевания на момент алло-ТГСК разделили на 2 группы: 1-я группа – 58 больных в I и II ремиссии ОЛЛ, 2-я группа – 33 пациента с другими стадиями ОЛЛ.

Статистический анализ выполнен в программах SPSS Statistics v.17 и Statistica 7.0. Выживаемость и кумулятивная вероятность рассчитаны по методу Каплана–Майера. Пациенты, живущие в состоянии ремиссии на момент анализа данных, цензурированы 01.06.2011. Сравнение выживаемости выполнялось при помощи log-rank теста, сравнительный анализ разности долей – точного теста Fisher.

Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты

Выживаемость пациентов. ОВ пациентов 1-й группы после алло-ТГСК в зависимости от интенсивности режимов кондиционирования составила: 51 % после РИК и 57 % после МАК ($p = 0,43$) (рис. 1). БСВ пациентов этой же группы – 36 % и 46 % соответственно ($p = 0,14$) (рис. 2). И в том, и в другом случае между группами с РИК и МАК значимых различий не выявлено. ОВ пациентов 2-й группы (рис. 3) после РИК составила 0 %, после МАК – 18 % ($p = 0,07$).

Восстановление. У пациентов после алло-ТГСК с РИК восстановление гранулоцитов ($> 0,5 \times 10^9/л$) происходило в среднем на Д+18 (Д+13 – Д+31): в 1-й группе – Д+17,5, во 2-й группе – Д+18,2. Восстановление гранулоцитов у пациентов после МАК отмечалось в среднем на Д+20 (Д+10 – Д+49) ($p = 0,24$): в 1-й группе – на Д+17,5, во 2-й группе – на Д+21,4.

Неприживление трансплантата отмечалось у 8 пациентов на фоне резистентного рецидива: у 4 больных после РИК и у 4 детей после МАК. У 1 пациента (с высоким уровнем МОБ на момент трансплантации) после алло-ТГСК с РИК восстановился собственный гемопоэз и через 4 мес после трансплантации развился резистентный костномозговой рецидив. У 2 больных, несмотря на наличие 2-й ремиссии на момент родственной алло-ТГСК с МАК, зафиксировано неприживление. Один из них умер через 1 мес после алло-ТГСК с МАК до восстановления от полиорганной недостаточности и тромбоза верхней полой вены, развившихся на фоне токсических и инфекционных осложнений, другой – от 2-го резистентного рецидива на фоне восстановившегося собственного кроветворения.

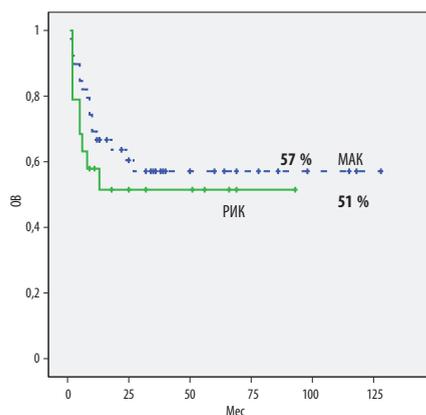


Рис. 1. ОВ пациентов 1-й группы после алло-ТГСК в зависимости от интенсивности режима кондиционирования (log-rank 0,433)

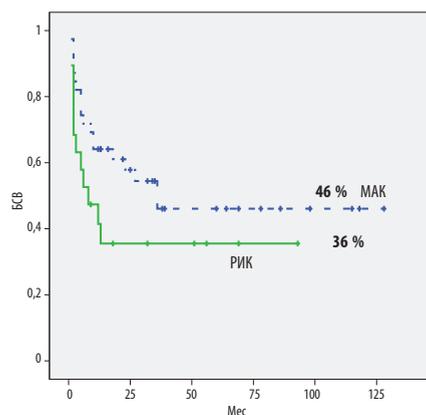


Рис. 2. БСВ пациентов 1-й группы после алло-ТГСК в зависимости от интенсивности режима кондиционирования (log-rank 0,145)

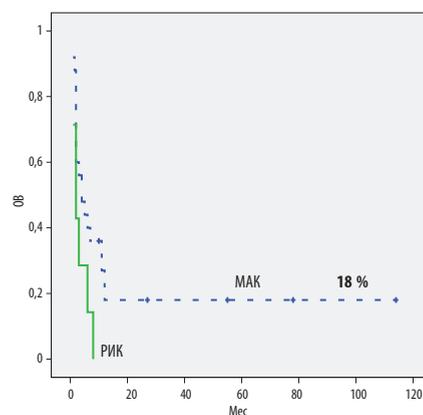


Рис. 3. ОВ пациентов 2-й группы после алло-ТГСК в зависимости от интенсивности режимов кондиционирования (log-rank 0,063)

У 80 % пациентов после РИК и 81 % после МАК определялся полный донорский химеризм к 30-му дню после алло-ТГСК (табл. 2).

Таблица 2. Приживление, восстановление, химеризм

Параметры	МАК, n	РИК, n	p
Неприживление	6 (8 %)	5 (16 %)	0,25
Средний день восстановления нейтрофилов ($> 0,5 \times 10^9/\text{л}$)	День +21 (Д+10 – Д+49)	День +18 (Д+13 – Д+31)	0,24
Полный химеризм к +30-му дню	81 %	80 %	0,35

Посттрансплантационные рецидивы. Рецидив развился у 16 (27 %) из 58 больных 1-й группы.

Из 19 пациентов, которым была выполнена алло-ТГСК с РИК в I или II ремиссию ОЛЛ, рецидив после алло-ТГСК развился у 6 (31 %) больных в среднем через 5 (1–13) мес, повторная ремиссия достигнута у 5 пациентов: у 2 больных после отмены иммуносупрессивной терапии (длительность наблюдения 4 и 20 мес), у 3 пациентов после применения донорских лимфоцитов в сочетании с ХТ (2 из них в связи с наличием экстрамедуллярного очага было выполнено оперативное лечение); длительность наблюдения 4, 5 и 7 мес. У 1 пациентки рецидив развился через 3 мес после алло-ТГСК, в качестве терапии «спасения» была проведена гаплоидентичная ТГСК, однако больная умерла от прогрессии заболевания до приживления трансплантата.

У 10 (26 %) из 39 пациентов, имевших на момент алло-ТГСК с МАК I или II ремиссию, через 9 (5–22) мес развился рецидив ($p = 0,63$). В дальнейшем у 2 пациентов достигнута ремиссия: у 1 пациента после повторной родственной алло-ТГСК с РИК от того же донора с последующей иммуноадаптивной терапией (инфузии донорских лимфоцитов в сочетании с интерфероном) (длительность наблюдения 17 мес) и у 2-го больного

после инфузии донорских лимфоцитов в сочетании с ХТ (длительность наблюдения 20 мес). Восемь пациентов, несмотря на проводимое лечение (4 больных получили только ХТ, 3 – ХТ в сочетании с инфузией донорских лимфоцитов и 1 подросток – повторную родственную алло-ТГСК), погибли от резистентного рецидива.

Вторая группа. У 3 пациентов из 5, у которых на момент алло-ТГСК с РИК был резистентный рецидив, достигнута ремиссия ОЛЛ, но эти больные умерли. Причиной смерти у 2 из них стали инфекционные осложнения, у 1 – токсическое поражение центральной нервной системы. Двое оставшихся пациентов умерли от прогрессии заболевания.

У 15 пациентов из 17, которым алло-ТГСК с МАК была выполнена в резистентном рецидиве, достигнута ремиссия, длительность которой составила в среднем 5 (2–11) мес. У 8 больных возник повторный рецидив, который явился причиной гибели. Трое из этой группы пациентов погибли от инфекционных осложнений и 2 пациента – от о. РТПХ. Двое больных живы и находятся в ремиссии в течение 23 и 50 мес.

Из 11 человек, у которых на момент алло-ТГСК (9 пациентов с МАК, 2 детей с РИК) была III или IV ремиссия, рецидив диагностирован у 2 пациентов, что стало причиной смерти, 4 больных погибли от инфекционных осложнений и 3 – от РТПХ. Два пациента живы и находятся в ремиссии 61 и 110 мес.

Осложнения. Одним из основных осложнений, возникающих после алло-ТГСК, является РТПХ. Из 26 пациентов, у которых зарегистрировано приживление трансплантата после алло-ТГСК с РИК, клинические признаки о. РТПХ I–IV степени наблюдались у 16 (61,5 %) больных: у 11 (57 %) пациентов из 1-й группы и у 5 (71 %) детей и подростков из 2-й группы (табл. 3). После алло-ТГСК с МАК ($n = 65$) у 43 (66 %) пациентов были клинические признаки о. РТПХ I–IV степени: у 25 (64 %) детей в 1-й группе и у 18 (69 %) во 2-й группе.

Хроническая РТПХ при алло-ТГСК развивается у пациентов после 100 дней. Длительность жизни больше 100 дней в группе с РИК была у 16 (61,5 %) пациен-

Таблица 3. Осложнения после алло-ТГСК у пациентов в зависимости от стадии на момент трансплантации и интенсивности режима кондиционирования

Осложнения	МАК, n		РИК, n		p
	I, II ремиссия n = 39	вне I, II ремиссии n = 26	I, II ремиссия n = 19	вне I, II ремиссии n = 7	
о. РТПХ I–IV стадии	25 (64 %)	18 (69 %)	11 (57 %)	5 (71 %)	0,65 0,73
Хроническая РТПХ	16/30 (53 %)	5/11 (45 %)	9/13 (69 %)	1/3 (33 %)	0,53 0,78
Ранние инфекционные осложнения					
Инвазивный микоз	13 (33 %)	12 (46 %)	3 (15 %)	3 (43 %)	0,27 0,78
Вирусные инфекции	20 (51 %)	16 (61 %)	12 (63 %)	5 (71 %)	0,57 0,97
Бактериальные инфекции	15 (38 %)	15 (58 %)	3 (15 %)	4 (57 %)	0,15 0,69
Ранние токсические осложнения					
Токсический гепатит	10 (26 %)	9 (34 %)	3 (15 %)	2 (28 %)	0,61 0,88
Нейротоксичность	7 (18 %)	7 (27 %)	2 (10 %)	2 (28 %)	0,23 0,93
Нефротоксичность	7 (18 %)	4 (15 %)	1 (5 %)	1 (14 %)	0,03 0,61
Геморрагический цистит	11 (28 %)	6 (23 %)	1 (5 %)	1 (14 %)	0,03 0,61
Мукозит III–IV степени	15 (38 %)	17 (63 %)	2 (10 %)	1 (14 %)	0,02 0,01

тов, в группе с МАК – у 41 (63 %) больного. Признаки хронической РТПХ наблюдали у 10 (62 %) пациентов после алло-ТГСК с РИК и у 21 (51 %) пациента с МАК. При использовании РИК чаще наблюдали ограниченную форму с изолированным поражением кожи, при распространенной форме наряду с другими органами чаще поражалась конъюнктура. После алло-ТГСК с МАК наблюдали только распространенные формы.

Таким образом, частота и степень клинических проявлений хронической и о. РТПХ после алло-ТГСК с РИК и с МАК была одинаковой ($p > 0,05$).

Кроме РТПХ, в посттрансплантационном периоде возникают и другие осложнения. Они разделены на несколько основных групп: токсические и инфекционные, отдельно выделены мукозиты и геморрагический цистит. Чаще всего у одного и того же пациента проявляются комбинированные осложнения. Частота возникновения и вариант ранних осложнений у пациентов после алло-ТГСК с РИК и после алло-ТГСК с МАК несколько отличаются.

Мукозит III–IV степени после алло-ТГСК с РИК наблюдали у 3 (8 %) пациентов и у всех 32 (49 %) пациентов после МАК ($p = 0,008$).

Геморрагический цистит у пациентов с РИК и МАК развивался с разной частотой. После алло-ТГСК с РИК это осложнение диагностировано у 2 (7,5 %) пациентов, после алло-ТГСК с МАК – у 17 (26 %) пациентов ($p = 0,04$).

Токсические осложнения со стороны внутренних органов в ранний посттрансплантационный период также чаще наблюдали у пациентов, трансплантированных с МАК ($p = 0,02$). Из этой группы осложнений наблюдали как изолированные поражения органов (токсические гепатиты, нефропатии, энцефалонейропатии), так и полиорганную недостаточность, обусловленную воздействием цитостатических препаратов, содержащихся в режимах кондиционирования.

В раннем посттрансплантационном периоде инфекционные осложнения грибковой этиологии после алло-ТГСК с РИК развились у 6 (23 %), после алло-ТГСК с МАК – у 25 (38 %) пациентов; вирусные инфекции (чаще всего цитомегаловирус и герпес 1-го и 2-го типов) отмечались у 17 (65 %) больных после РИК и у 36 (55 %) пациентов после МАК; инфекционные процессы, обусловленные бактериями, чаще всего проявляющиеся сепсисом, развились у 7 (26 %) больных после РИК и у 30 (46 %) пациентов после МАК. Несмотря на то, что в процентном соотношении после миелоаблативных трансплантаций инфекционных осложнений было больше, при статистическом сравнении данных достоверного различия не получено, что, скорее всего, связано с исходным плохим общим состоянием пациентов и наличием у них инфекционных процессов на момент проведения алло-ТГСК, что явилось причиной выбора для них режимов со сниженной интенсивностью доз.

Данные по всем основным осложнениям представлены в табл. 3.

Показатели летальности и причины смерти. Основной причиной смерти детей и подростков с ОЛЛ после алло-ТГСК независимо от стадии заболевания на момент трансплантации являются рецидивы (табл. 4).

Таблица 4. Причины смерти в зависимости от интенсивности режима кондиционирования

Параметры	МАК, n	РИК, n	p
Число пациентов	65	26	
Число умерших больных	37	16	0,69
Рецидив ОЛЛ	18	5	0,24
до 100-го дня	2	3	0,89
после 100-го дня	16	2	0,25
РТПХ	9	5	0,67
до 100-го дня	5	4	0,75
после 100-го дня	4	1	0,34
Инфекции	9	5	0,45
до 100-го дня	8	2	0,23
после 100-го дня	1	3	0,12
Токсические осложнения	1	1	0,64
до 100-го дня	1	1	0,64
после 100-го дня	0	0	

Из 19 пациентов 1-й группы после алло-ТГСК с РИК живы и находятся в ремиссии 10 (53 %) человек. Двое больных умерли от рецидива, 4 пациентов от РТПХ, 3 детей от инфекционных осложнений.

После миелоаблативной алло-ТГСК из 1-й группы ($n = 39$) живы и находятся в ремиссии 23 (59 %) больных. Главной причиной смерти был рецидив ОЛЛ ($n = 8$), о. РТПХ ($n = 5$), инфекционные ($n = 2$) и токсические ($n = 1$) осложнения.

Летальность, обусловленная трансплантацией, у пациентов 1-й группы составила 26 %.

Во 2-й группе после алло-ТГСК с РИК ($n = 7$) 3 пациентов умерли от рецидива, 2 больных – от инфекционных осложнений, 1 – от токсического поражения центральной нервной системы и 1 – от о. РТПХ. После миелоаблативной алло-ТГСК ($n = 26$) 10 пациентов умерли от рецидива, 7 больных – от инфекционных осложнений и 4 – от РТПХ.

Летальность, обусловленная трансплантацией, у пациентов 2-й группы составила 45 %.

До 100-го дня основными причинами смерти в обеих группах после трансплантации с РИК и МАК послужили о. РТПХ и инфекционные осложнения, в позднем посттрансплантационном периоде (после 100 дней) – рецидив.

Обсуждение

Несмотря на то, что традиционными для алло-ТГСК у детей с ОЛЛ остаются МАК, внедрение режимов кондиционирования со сниженной интенсивностью доз приобрело актуальность. Это обусловлено рядом причин: во-первых, большим количеством тяжелых осложнений, связанных с органотоксичностью, при назначении цитостатических препаратов в миелоаблативных дозах; во-вторых, невозможностью проведения МАК у пациентов с тяжелым соматическим статусом (низким индексом Карновского (Ланского)) и высокой степенью предлеченности; в-третьих, развитием рецидивов острого лейкоза после алло-ТГСК несмотря на использование цитостатических препаратов в максимальных дозах и, следовательно, невозможностью преодоления резистентности злокачественного клона клеток путем интенсификации ХТ, а также появлением экспериментальных и клинических данных, свидетельствующих о наличии иммунологической реакции «трансплантат против лейкоза».

До недавнего времени превалировало мнение, что иммуноадаптивный эффект при острых лейкозах менее выражен [21]. В последние 5 лет появились работы, доказывающие существование реакции «трансплантат против лейкоза» при ОЛЛ [11–14].

Несмотря на то что РИК преимущественно применяется у взрослых пациентов, чаще в пожилом возрасте, несколько исследовательских групп применили РИК у детей, подростков и молодых взрослых с различными онкогематологическими и неонкологическими заболеваниями. В 2009 г. были опубликованы результаты исследования (ONC0313) Американской педиатрической исследовательской группы, проанализировавшей алло-ТГСК с РИК у 47 детей в возрасте от 2 до 21 года с онкогематологическими заболеваниями (ОЛЛ ($n = 17$), острый миелобластный лейкоз ($n = 15$), миелодиспластический синдром ($n = 10$), хронический миелолейкоз ($n = 1$), лимфома ($n = 5$)), которым невозможно было применить МАК [19]. Общая 4-летняя выживаемость составила 44,5 %, БСВ – 40,2 %. При этом отсутствие признаков заболевания на момент ТГСК и неиспользование тотального облучения тела в режимах кондиционирования повысило ОВ до 75 %. В 2010 г. проанализированы результаты мультицентрового исследования по применению РИК у детей и подростков с ОЛЛ, куда вошли данные нашей клиники [20]. Всего было включено 38 пациентов в возрасте от 1 до 18 лет (средний возраст – 12 лет). На момент алло-ТГСК I ремиссия была у 5, II ремиссия – у 13, III или IV ремиссия – у 10 и рецидив – у 10 больных. Общая 3-летняя выживаемость составила 36 %, безрецидивная – 30 %, частота развития рецидива – 38 %, летальность, обусловленная ТГСК, – 32 %.

Так как эффективность трансплантации во многом зависит от состояния пациента, для оценки ОВ и БСВ мы разделили пациентов на 2 группы в зависимости от стадии заболевания на момент алло-ТГСК. ОВ и БСВ

после алло-ТГСК с РИК детей и подростков с I или II полной клинико-гематологической ремиссией ОЛЛ составили 51 % и 36 % соответственно. Эти показатели не имеют достоверных различий с таковыми после алло-ТГСК с МАК. Отсутствие различий может свидетельствовать о сопоставимой эффективности алло-ТГСК с РИК и МАК.

Применение режимов кондиционирования со сниженной интенсивностью у детей и подростков при алло-ТГСК вне ремиссии менее эффективно, скорее всего, это обусловлено высокой пролиферативной активностью лейкемических клеток. Однако у 3 из 5 пациентов удалось получить повторную ремиссию. Эти данные не поддаются анализу ввиду малочисленности группы.

Среди пациентов с рецидивом ОЛЛ, у которых был применен МАК, живы 2 больных. Сходные результаты получены в исследовании группы ВФМ [22], где из 51 пациента с рецидивом ОЛЛ только 2 больных живы и находятся в ремиссии. Это свидетельствует о преимуществе выполнения алло-ТГСК в ремиссии, либо о необходимости применения более активной посттрансплантационной терапии (ХТ, иммуноадаптивной, таргетной или комбинированной).

Ряд авторов отмечают высокую частоту рецидивирования после алло-ТГСК с РИК, чаще всего это происходит при быстро прогрессирующих заболеваниях [23]. Как было отмечено ранее, главный терапевтический эффект в виде реакции «трансплантат против лейкоза» после алло-ТГСК с РИК может проявляться медленнее, чем развивается патологический процесс.

В нашем исследовании в группе пациентов, которые на момент алло-ТГСК находились в ремиссии, рецидивы встречались с одинаковой частотой независимо от интенсивности режимов кондиционирования. Обращает на себя внимание тот факт, что лечение посттрансплантационных рецидивов проходило более успешно в группе пациентов после алло-ТГСК с РИК. Но она была немногочисленна, поэтому окончательные выводы сделать трудно. Таким образом, появилась возможность излечивать злокачественные заболевания с помощью специфического эффекта «трансплантат против лейкоза», индуцированного алло-ТГСК с РИК.

Неприживления трансплантата в основном наблюдались при алло-ТГСК, выполненных у больных с резистентным рецидивом, с одинаковой частотой в обеих группах. Восстановление уровня нейтрофилов $> 500/\text{мкл}$ (основной показатель приживления донорских ГСК) не показало значимых различий: после алло-ТГСК с РИК оно происходило в среднем на 18-й день, после МРК — в среднем на 20-й день. К 30-му дню у 80 % больных после РИК и у 81 % после МРК наблюдался полный донорский химеризм.

Обращает на себя внимание, что в группы с РИК и МАК попали пациенты, неравнозначные по исходному состоянию. Дети и подростки, которым провели алло-ТГСК с РИК, в основном тяжелые больные, как по стадии и течению заболевания, так и по клиниче-

скому состоянию, на которое оказала влияние предшествующая интенсивная цитостатическая терапия. В связи с этим было затруднительно провести сравнительный анализ осложнений, развившихся у пациентов в посттрансплантационном периоде. В исследовании частота развития хронической и о. РТПХ одинакова в обеих группах. Вирусные и грибковые инфекции встречались с одинаковой частотой, вопреки ожидаемому меньшему количеству инфекционных осложнений после РИК. Это обусловлено, прежде всего, наличием инвазивного аспергиллеза и цитомегаловирусных инфекций на момент алло-ТГСК, что являлось одним из показаний к назначению РИК. Бактериальные инфекции, которые проявлялись в виде сепсиса, реже наблюдались после алло-ТГСК с РИК, но статистически достоверных различий не было получено.

Редукция доз цитостатических препаратов снижает риск развития и тяжесть многих токсических осложнений. В нашем исследовании мукозит III–IV степени достоверно чаще встречался у пациентов после МАК ($p = 0,003$). Геморрагический цистит значимо реже развивался у детей и подростков после РИК ($p = 0,01$). Токсические поражения печени, почек и центральной нервной системы также реже встречались после РИК.

Таким образом, частота возникновения, степень проявления и риск развития ранних осложнений, таких как мукозит, геморрагический цистит и токсические поражения внутренних органов при использовании МАК достоверно выше в сравнении с РИК, что является важным аргументом в пользу режимов кондиционирования со сниженной интенсивностью доз.

Снижение дозы препаратов уменьшает риск развития поздних осложнений, которые являются результатом суммирования доз предшествующей цитостатической терапии, что особенно актуально у детей и подростков. К этим осложнениям в первую очередь относятся задержка физического и умственного развития, нарушения со стороны эндокринной системы, опорно-двигательного аппарата, зрения и слуха, проблемы в половой сфере и отсутствие фертильности. Все перечисленные и многие другие осложнения требуют детального изучения. Основной целью дальнейшего исследования будет оценка отдаленных последствий алло-ТГСК с различными по интенсивности режимами кондиционирования.

Заключение

Таким образом, алло-ТГСК является терапией выбора прогностически неблагоприятных форм ОЛЛ у детей и подростков.

Режимы кондиционирования со сниженной интенсивностью сопоставимы по эффективности с миелоаблативными при выполнении алло-ТГСК в ремиссии ОЛЛ у детей и подростков группы высокого риска.

Л и т е р а т у р а

1. Eden T., Pui C.H., Schrappe M. et al. All children have a right to full access to treatment for cancer. *Lancet* 2004;364(9440):1121–2.
2. Pui C.H., Evans W.E. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2006;354(2):166–78.
3. Chessells J.M., Vèys P., Kempki H. et al. Long-term follow-up of relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2003;123:396–405.
4. Nguyen K., Devidas M., Cheng S.C. et al. Factors influencing survival after relapse from acute lymphoblastic leukemia: A Children's Oncology Group study. *Leukemia* 2008;22:2142–50.
5. Афанасьев Б.В., Зубаровская Л.С. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток крови. *Детская онкология. Руководство*. СПб., 2002. С. 90–108.
6. Румянцев А.Г., Масчан А.А. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей. *Руководство для врачей*. М., 2003.
7. Kenney L.B., Nancarrow C.M., Najita J. et al. Health status of the oldest adult survivors of cancer during childhood. *Cancer* 2010;15:497–506.
8. Sundberg K.K., Doukkali E., Lampic C. et al. Long-term survivors of childhood cancer report quality of life and health status in parity with a comparison group. *Pediatr Blood Cancer* 2010;55:337–43.
9. Abou-Mourad Y.R., Lau B.C., Barnett M.J. et al. Long-term outcome after allo-SCT: close follow-up on a large cohort treated with myeloablative regimens. *Bone Marrow Transplantation* 2010;45:295–302.
10. Slavin S., Nagler A. et al. Shifting towards better immunotherapy rather than more intensive chemoradiotherapy using a non-myeloablative approach in patients with leukemia. In: Buchner T., Hiddemann W., Wormann B., Schellong G., Ritter J., Creutzig U. *Acute leukemias. Prognostic factors and treatment strategies*. Berlin: Springer, 1999; pp. 674–677.
11. Giralt S., Estey E., Albitar M. et al. Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with purine analog-containing chemotherapy: harnessing graft-versus-leukemia without myeloablative therapy. *Blood* 1997;89(12):4531–6.
12. Champlin R. Nonmyeloablative chemotherapy with allogeneic hematopoietic transplantation as adoptive immunotherapy for malignancies. *Hematology* 1999:413–6.
13. Storb R.F., Champlin R., Riddell S.R. et al. Non-myeloablative transplants for malignant disease. *Hematology* 2001:375–91.
14. Kolb H.J., Schattenberg A. et al. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusion in marrow grafted patients. *Blood* 1995;86:2041–4.
15. Weiden P.L., Sullivan K.M., Flournoy N. et al. Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease: contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med* 1981;304:1529–31.
16. Sullivan K.M., Storb R., Buckner C.D. et al. Graft-versus-host-disease as adoptive immunotherapy in patients with advanced hematologic neoplasms. *N Engl J Med* 1989;320:828–33.
17. Mohty M., Labopin M., Tabrizi R. et al. Reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation for adult patients with acute lymphoblastic leukemia: a retrospective study from the European Group for Blood and Marrow Transplantation Haematologica 2008;93(2):303–6.
18. Bachanova V., Verneris M.R., DeFor T. et al. Prolonged survival in adults with acute lymphoblastic leukemia after reduced-intensity conditioning with cord blood or sibling donor transplantation. *Blood* 2009;26;113(13):2902–5.
19. Pulsipher M.A., Boucher K.M., Wall D. et al. Reduced-intensity allogeneic transplantation in pediatric patients ineligible for myeloablative therapy: results of the Pediatric Blood and Marrow Transplant Consortium Study ONC0313. *Blood* 2009;114:1429–36.
20. Verneris M.R., Eapen M., Duerst R. et al. Reduced-Intensity conditioning regimens for allogeneic transplantation in children with acute lymphoblastic leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;1–8.
21. Horowitz M., Gale R.P., Sondel P.M., Goldman J.M. et al. Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood* 1990;75:555–62.
22. Stackelberg A., Volzke E., Kuhl J.-S. et al. Outcome of children and adolescents with relapsed acute lymphoblastic leukaemia and non-response to salvage protocol therapy: a retrospective analysis of the ALL-REZ BFM Study Group. *Eur J Cancer* 2011;47(1):90–7.
23. Michallet M., Bilger K., Garban F. et al. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation after nonmyeloablative preparative regimens: impact of pretransplantation and posttransplantation factors on outcome. *J Clin Oncol* 2001;19(14):3340–9.

Нутритивный статус и тканевый состав тела у детей после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

А.Ю. Вашура¹, М.В. Коновалова¹, Е.В. Скоробогатова², С.В. Бельмер³, Г.Я. Цейтлин¹

¹ФГБУ ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздравсоцразвития России, Москва;

²ФГУ Российская детская клиническая больница Минздравсоцразвития России, Москва;

³ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздравсоцразвития России, Москва

Контакты: Григорий Янкевич Цейтлин GrigoryTs@yandex.ru

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) в настоящее время широко применяется для лечения солидных опухолей, гемобластозов и аутоиммунных заболеваний. Осложнения в посттрансплантационном периоде, а также специфическое лечение этих осложнений приводят к нарушению нутритивного статуса у таких пациентов, что утяжеляет течение посттрансплантационного периода и влияет на исходы лечения. Все вышеперечисленное делает актуальной проблему организации лечебного питания и нутритивной поддержки этих пациентов и диктует обязательное проведение мониторинга состояния питания.

Цели данной работы: 1) изучить особенности и динамику состояния питания и тканевого состава тела детей после ТГСК и 2) определить значение метода биоимпедансометрии в комплексной оценке состояния питания у детей после ТГСК.

В работе проанализирована динамика изменений нутритивного статуса и тканевого состава тела 34 детей с различными онкологическими и неонкологическими заболеваниями после ТГСК. Для оценки тканевого состава тела использовались методы биоимпедансометрии и соматометрии. Было показано достоверное ухудшение нутритивного статуса, потеря скелетно-мышечной массы при относительно стабильном состоянии жировой ткани к +100-му дню. Отмечалось достоверное снижение на всех этапах исследования активной клеточной массы и фазового угла (ФУ). Получена высокая корреляция индекса жировой массы и величины кожно-жировой складки над трицепсом ($r = 0,86$), а также индекса скелетно-мышечной массы и величины окружности мышц плеча ($r = 0,82$).

Сделан вывод о том, что у детей в раннем посттрансплантационном периоде (до +100-го дня) достоверно ухудшается нутритивный статус и развивается тканевый дисбаланс с относительным преобладанием жирового компонента и снижением соматического пула белка. Обоснована важность комплексной оценки и мониторинга нутритивного статуса для выработки стратегии нутритивной поддержки и диетологического сопровождения детей после ТГСК.

Ключевые слова: дети, детская онкология, нутритивный статус, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, биоимпедансометрия, соматометрия

Nutritional status and tissue composition in children after hematopoietic stem cell transplantation

A. Yu. Vashura¹, M. V. Konovalova¹, E. V. Skorobogatova², S. V. Belmer³, G. Ya. Tseytlin¹

¹Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow; ²Russian Children Clinical Hospital, Moscow;

³Russian National Research Medical University, Moscow

Hematopoietic stem cells transplantation (HSCT) is currently widely used for solid tumors, leukemia and autoimmune diseases therapy. Complications in post-transplant period, as well as specific therapy of these complications lead to nutritional status changes, which worsen post-transplant period and influence of outcome. To analyze nutritional status and tissue composition characteristics and determine the value of bioimpedance methods for complex examination of nutritional status in children after HSCT are the goal of this study.

Changes in nutritional status and tissue composition of 34 children during HSCT due to various malignant and non-malignant diseases were analyzed. Bioimpedance measurements and somatometry was used to assess tissue composition. Significant worsening of nutritional status, skeletal muscle mass loss with a relatively stable adipose tissue to day +100 has been shown. A significant decrease of active cell mass and phase angle in all study phases were revealed. A high correlation between body fat mass index and skin-fat folds size over the triceps ($r = 0.86$), as well as between skeletal muscle mass index and shoulder muscles circle size ($r = 0.82$) was revealed.

It is concluded that in the early post-transplant period (up to 100 days) nutritional status significantly worsened and tissue imbalance developed with a relative predominance of fat component and somatic protein pool reduction. Importance of comprehensive evaluation and monitoring of nutritional status to develop a strategy for nutritional support in children after HSCT is discussed.

Key words: children, oncology, nutritional status, hematopoietic stem cell transplantation, bioimpedance measurements, somatometry

Введение

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) широко применяется для лечения солидных опухолей, гемобластозов и аутоиммунных заболеваний [1, 2]. Высокодозная химиотерапия и лучевая терапия, используемые в различных режимах кондиционирования, а также терапия, направленная на улучшение приживления трансплантата, на профилактику и лечение реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), вызывают различные тяжелые осложнения, среди которых особое место занимают осложнения со стороны желудочно-кишечного тракта [1]. Токсическое действие лекарств, инфекционно-воспалительные поражения слизистых, кишечная форма РТПХ приводят к синдрому вторичной мальабсорбции и нутритивной недостаточности [2, 3].

Нарушение поступления нутриентов через кишечник – не единственный механизм ухудшения состояния питания пациентов. В ряде исследований, посвященных оценке метаболического статуса детей после ТГСК, было показано, что ухудшение состояния питания связано также с нарушением метаболизма нутриентов [4, 5] и с повреждением функции печени [3, 6]. Таким образом, в посттрансплантационном периоде у детей отмечается нарушение питания, что делает необходимым проведение постоянного мониторинга изменений нутритивного статуса, причем важно не только констатировать изменение веса ребенка, но и знать, за счет каких тканей происходит это изменение. Такой мониторинг является необходимым условием организации лечебного питания и нутритивной поддержки этих пациентов.

Адекватная оценка состояния питания детей после ТГСК представляет известные трудности. Как указывалось, высокая токсичность режимов кондиционирования, применение иммунодепрессантов, стероидных гормонов вызывают выраженные метаболические нарушения. Индикатором этих нарушений является тканевый дисбаланс, который может выражаться, например, в увеличении абсолютного и относительного количества жировой ткани и снижении безжировой массы тела, в основном за счет уменьшения массы скелетных мышц [7].

В данной работе для оценки нутритивного статуса применены соматометрия и биоимпедансный анализ (БИА) тканевого состава тела. Соматометрический метод предусматривает оценку ряда показателей: масса тела (МТ), рост, индекс массы тела (ИМТ), кожно-жировая складка над трицепсом нерабочей руки (КЖСТ), окружность плеча нерабочей руки (ОП) и окружность мышц плеча (ОМП). Величина КЖСТ отражает состояние жировых депо организма, величина ОМП – состояние соматического пула белка [8].

БИА в последние годы широко применяется у нас в стране и за рубежом в диетологии, фитнесе, клинической и спортивной медицине [7, 9]. В отечественной онкопедиатрической клинике этот метод

используется впервые. БИА основан на измерении электрической проводимости тканей тела и позволяет оценить ряд важных показателей: массу жировой ткани, безжировую МТ, скелетно-мышечную массу (СММ), общую, внутри- и внеклеточную жидкость, активную клеточную массу (АКМ) и фазовый угол (ФУ). Эти 2 последних показателя представляют особый интерес для оценки состояния питания детей, получающих тяжелое лечение – химиотерапию, ТГСК и пр.

Совокупность клеток организма, потребляющих большую часть кислорода и энергии и выделяющих основную часть углекислого газа, в которых наиболее интенсивно протекают обменные процессы, принято определять как АКМ [10]. АКМ не включает клетки соединительной, костной и других тканей с низкой скоростью обменных процессов [11]. Понятие «активная клеточная масса» объединяет компоненты тела, подверженные наибольшему изменению под влиянием режима питания, физических нагрузок, заболеваний, лечения. Величина АКМ коррелирует с величиной энергии основного обмена, которая в разной степени снижается у большинства детей после ТГСК в сроки до 100-го дня [12].

ФУ определяется как арктангенс отношения реактивного и активного сопротивлений тканей тела человека, измеренных на частоте 50 кГц. ФУ характеризует состояние клеточных мембран [13, 14]. При хронических заболеваниях – цирроз печени, ВИЧ-инфекция, хроническая обструктивная болезнь легких – величина ФУ коррелирует с тяжестью состояния пациентов и прогнозом [15–17]; при некоторых формах рака установлен более низкий показатель выживаемости больных со сниженными значениями ФУ [18]. Таким образом, ФУ служит чувствительным индикатором состояния пациентов.

Метод является неинвазивным, безопасным, безболезненным, простым в применении. Измерение осуществляется с помощью портативного прибора массой около 0,5 кг, совмещенного с персональным компьютером с программным обеспечением, может применяться в боксе. Ограничения применения БИА: 1. Возраст – программа рассчитана на детей в возрасте 5 лет и старше. 2. Воспалительные изменения кожи в месте контакта с электродами. 3. Крайнее истощение и/или тяжелый эксикоз.

Цели работы: 1. Изучить особенности и динамику состояния питания и тканевого состава тела детей после ТГСК. 2. Определить значение метода биоимпедансометрии в комплексной оценке состояния питания у детей после ТГСК.

Пациенты и методы

Проведено открытое моноцентровое сравнительное нерандомизированное исследование. Обследовались все пациенты, которым в отделении трансплантации костного мозга Российской детской

клинической больницы производилась ТГСК в период с августа 2009 по февраль 2011 г.

Оценку нутритивного статуса с использованием соматометрического и биоимпедансного методов проводили на 4 этапах наблюдения: 1-й этап – непосредственно перед началом кондиционирования, 2, 3 и 4-й этапы на 10–25, 45–60 и 90–110-й дни после трансплантации соответственно. Если пациент по какой-либо причине не был обследован на всех этапах, он в данный анализ не включался.

Таким образом, всего включено 34 пациента в возрасте от 6 месяцев до 17 лет (медиана – 5,5 года), с различными онкологическими и неонкологическими заболеваниями, которым была произведена ТГСК. Аутологичную трансплантацию среди них получили 2 пациента.

Соматометрический метод применен при обследовании 34 пациентов. МТ измеряли на медицинских весах с точностью до 100 г; длину тела определяли ростомером с точностью до 0,5 см; ИМТ вычисляли по формуле: $ИМТ = МТ (кг) / \text{рост}^2 (м^2)$. КЖСТ измеряли с помощью калипера AF-FT 03 с электронным индикатором; ОП измеряли на уровне средней трети плеча гибкой сантиметровой лентой со специальным устройством, позволяющим оказывать при измерении одинаковое давление на мягкие ткани; ОМП вычисляли по формуле: $ОМП (мм) = ОП (мм) - 3,14 КЖСТ (мм)$. Показатели сравнивали с возрастным стандартом для детей по центильным таблицам: ИМТ [19], КЖСТ и ОМП [20].

БИА использовали при обследовании 14 детей с помощью прибора ABC-01 (Медасс, Москва). Измерения проводили в положении пациентов лежа на спине с наложением адгезивных одноразовых измерительных электродов в области правых лучезапястного и голеностопного суставов по стандартной схеме при частоте зондирующего тока 50 кГц. На основании полученных значений жировой массы (ЖМ), СММ, АКМ вычисляли: индекс ЖМ (иЖМ) = $ЖМ (кг) / \text{рост}^2 (м^2)$, индекс СММ (иСММ) = $СММ (кг) / \text{рост}^2 (м^2)$, индекс АКМ (иАКМ) = $АКМ (кг) / \text{рост} (м)$. Полученные показатели использовали для оценки динамики нутритивного статуса и изменений тканевого состава тела пациентов в посттрансплантационном периоде.

Статистическую обработку данных проводили с применением критерия Фишера, критерия Вилкоксона для парных сравнений и корреляционного анализа Спирмена с использованием пакета Statistica 7.0.

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлена динамика ИМТ у детей после ТГСК. Видно, что ИМТ достоверно снижается на 10–25-й и 45–60-й дни по сравнению со значением до кондиционирования. Статистическая обработка не выявила существенной разницы между значениями ИМТ на 2, 3 и 4-м этапах ($p > 0,05$).

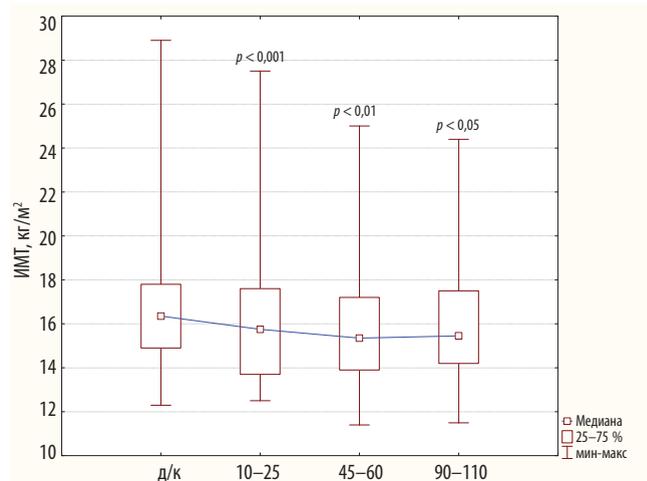


Рис. 1. ИМТ у детей в различные сроки после ТГСК: д/к – показатель ИМТ до кондиционирования; значение p указано по отношению к значению ИМТ_{д/к}

Распределение пациентов соответственно значению ИМТ (перцентили) в различные сроки после ТГСК

ИМТ (перцентили)	Этапы обследования (дни)							
	д/к		10–25-й		45–60-й		90–110-й	
	n	%	n	%	n	%	n	%
< 5	7	20,6	9	26,5	13	38,2	9	26,5
5–14	4	11,8	6	17,6	5	14,7	10	29,4*
15–84	14	41,2	13	38,2	8	23,5	6	17,6*
85–94	5	14,7	1	2,9*	2	5,9	2	5,9
> 94	4	11,8	5	14,7	6	17,6	7	20,6

Примечание: д/к – до кондиционирования; n – абсолютное число пациентов; * – значения, достоверно отличающиеся от показателя до кондиционирования ($p < 0,05$).

В таблице представлено распределение пациентов на каждом этапе обследования соответственно значению ИМТ в центилях. Анализ этих данных показал, что число пациентов с нормальным нутритивным статусом снижается с 41,2 % на начальном этапе до 17,6 % на 4-м этапе (90–110-й дни) наблюдения ($p < 0,05$). Также отмечено достоверное уменьшение числа детей с исходно избыточным весом на 10–25-й дни с 14,7 до 2,9 % ($p < 0,05$), которое далее, при других сроках наблюдения, существенно не менялось. Наоборот, число детей с пониженным питанием существенно увеличилось с 11,8 % до кондиционирования до 29,4 % на 90–110-й день ($p < 0,05$). Всего детей с недостаточностью питания и с пониженным питанием исходно было 32,4 %, а после трансплантации детей с таким низким состоянием питания стало существенно больше и на 45–60-й дни их было 52,9 % ($p < 0,05$), на 90–110-й дни – 55,9 % ($p < 0,05$) соответственно.

Таким образом, можно с уверенностью говорить об ухудшении нутритивного статуса пациентов в посттрансплантационном периоде. Об этом свидетельствует

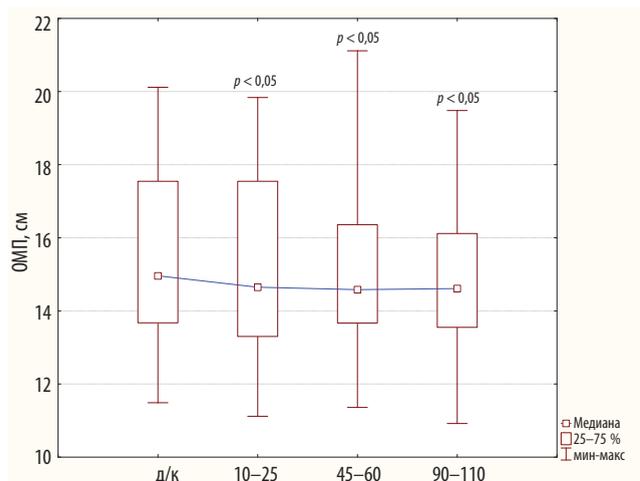


Рис. 2. ОМП у детей в различные сроки после ТГСК: д/к – показатель ОМП до кондиционирования; значение p указано по отношению к значению $ОМП_{д/к}$

достоверное уменьшение числа детей с нормальными значениями и увеличение числа детей с низкими значениями ИМТ – маркера нутритивного статуса.

Для детальной оценки нутритивного статуса детей после ТГСК очень важно исследовать за счет каких тканей произошли указанные изменения. На рис. 2 представлена динамика ОМП у детей в различные сроки после трансплантации. Анализ показал, что величина ОМП существенно снижается к 10–25-му дню относительно исходного и остается на этом уровне на последующих этапах наблюдения, поскольку дополнительная оценка не выявила существенной разницы между значениями ОМП на 2, 3 и 4-м этапах ($p > 0,05$).

Так как величина ОМП отражает состояние соматического пула белка, ассоциированного со скелетной мускулатурой [8], представилось важным оценить биоимпедансным методом изменения СММ после ТГСК. На рис. 3 показана динамика иСММ у детей в различные сроки после трансплантации. Анализ показал достоверное снижение иСММ на 10–25-й дни после ТГСК, который оставался существенно ниже исходного весь период наблюдения.

Мы нашли высокую степень корреляции между соматометрическим (ОМП) и биоимпедансным (иСММ) показателями состояния скелетно-мышечной ткани: $r = 0,82$ (рис. 4).

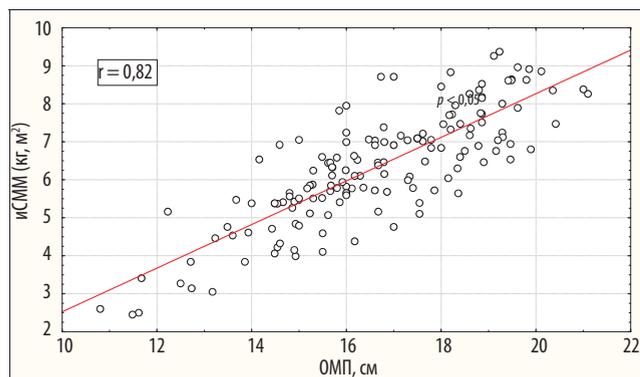


Рис. 4. Оценка корреляции показателей иСММ и ОМП

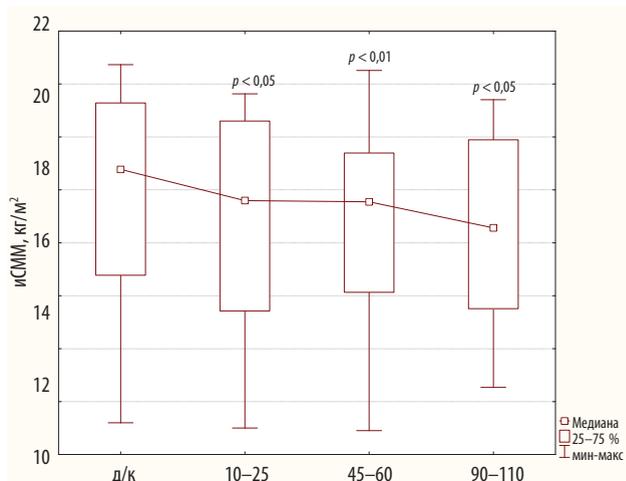


Рис. 3. иСММ у детей в различные сроки после ТГСК: д/к – показатель иСММ до кондиционирования; значение p указано по отношению к значению $иСММ_{д/к}$

Оценка состояния жировой ткани у детей после ТГСК соматометрическим методом показала достоверное снижение КЖСТ на 10–25-й дни после трансплантации, но, в отличие от динамики ОМП и иСММ, на следующем этапе наблюдения (45–60-й дни) значение этого показателя увеличилось и не отличалось от исходного до окончания наблюдения (рис. 5). Практически аналогичная динамика изменения количества жировой ткани после ТГСК получена при применении БИА (рис. 6). Видно, что значение иЖМ на всех этапах обследования существенно не отличалось от исходного.

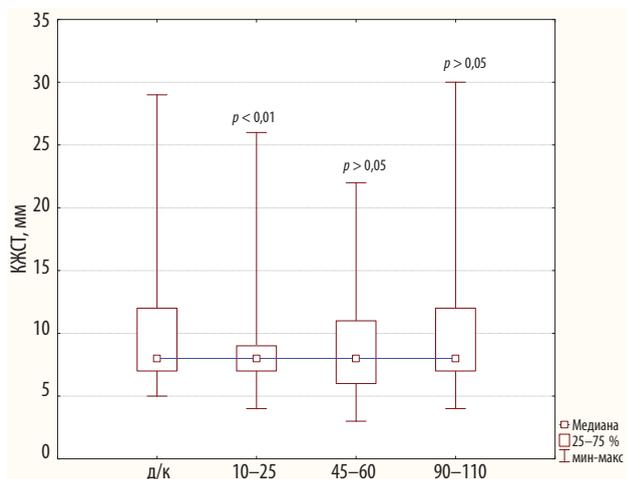


Рис. 5. КЖСТ у детей в различные сроки после ТГСК: д/к – показатель КЖСТ до кондиционирования; значение p указано по отношению к значению $КЖСТ_{д/к}$

Аналогично тому, как это было показано для мышечной ткани, здесь также обнаружена высокая степень корреляции между соматометрическим (КЖСТ) и биоимпедансным (иЖМ) показателями, характеризующими состояние жировой ткани: $r = 0,86$ (рис. 7).

Наличие тесной корреляционной связи между биоимпедансными (иСММ, иЖМ) и соматометри-

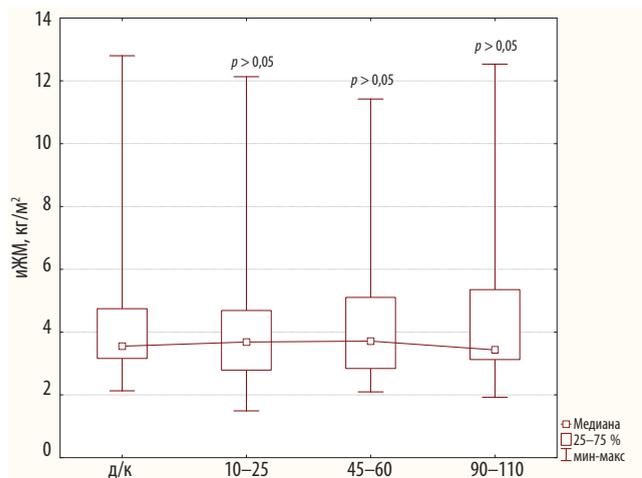


Рис. 6. иЖМ у детей в различные сроки после ТГСК:

д/к – показатель иЖМ до кондиционирования; значение *p* указано по отношению к значению иЖМ_{д/к}

ческими (ОМП и КЖСТ) показателями имеет существенное практическое значение, так как показывает, во-первых, что соматометрия после ТГСК может заменять биоимпедансометрию в тех случаях, когда применить последнюю по техническим причинам не представляется возможным; во-вторых, что можно сопоставлять данные о состоянии мышечной и жировой тканей, полученные с помощью биоимпедансометрии, с данными соматометрии; в-третьих, является показателем корректного выполнения методики соматометрии и биоимпедансометрии в данной работе.

Использование БИА позволяет дополнить характеристику нутритивного статуса такими важными показателями, как АКМ и ФУ. Как указывалось, АКМ – это клетки организма, в которых наиболее интенсивно протекают обменные процессы, следовательно, именно этот компонент клеточной МТ в основном определяет потребность организма в макро- и микронутриентах и энергии. На рис. 8 пред-

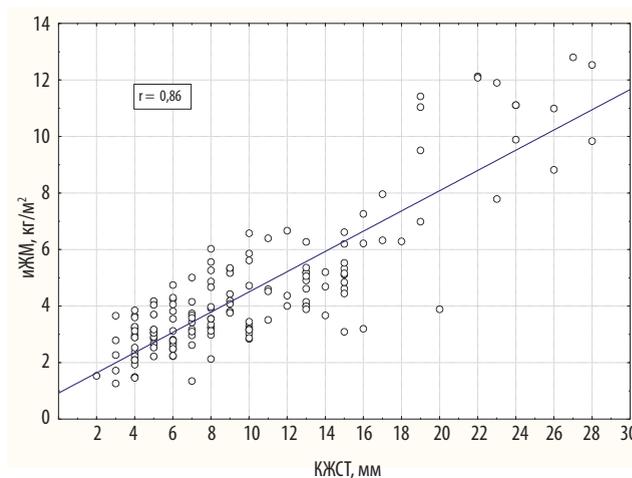


Рис. 7. Оценка корреляции показателей иЖМ и КЖСТ

ставлена динамика индекса АКМ (иАКМ), на рис. 9 – динамика величины ФУ у детей в различные сроки после трансплантации. Статистический анализ этих данных показал, что и иАКМ, и ФУ уменьшаются на каждом этапе и остаются достоверно ниже исходного значения на всех этапах наблюдения.

Заключение

Результаты мониторинга тканевого состава тела с использованием обоих методов показывают, что у обследованных детей в раннем посттрансплантационном периоде развивается дисбаланс компонентного состава тела с относительным преобладанием жирового компонента. Ухудшение состояния питания (снижение ИМТ) происходит в основном за счет уменьшения скелетно-мышечной ткани (безжировой МТ), т. е. редукции соматического пула белка. Показано значительное снижение в течение всего периода наблюдения АКМ, количество которой в основном определяет энергопотребность организма, что, по-

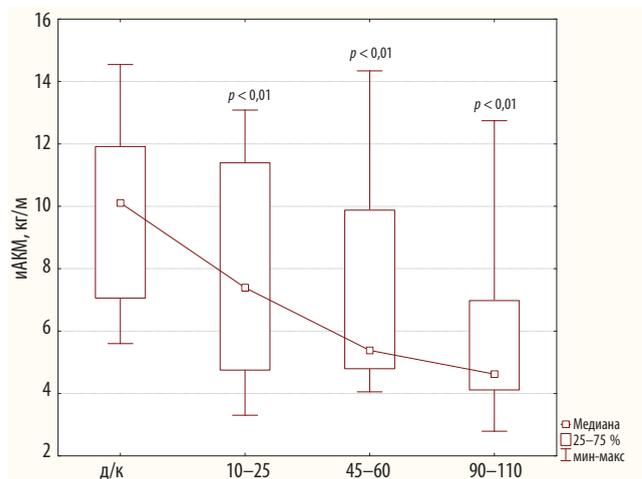


Рис. 8. Индекс АКМ у детей в различные сроки после трансплантации:

д/к – показатель иАКМ до кондиционирования; уровень *p* указан по отношению к значению иАКМ_{д/к}

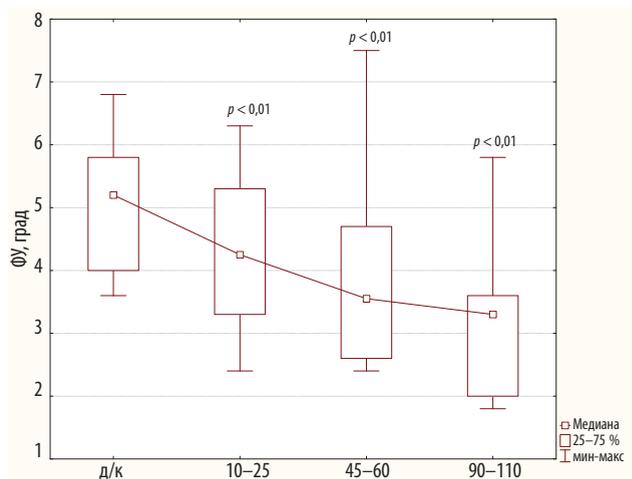


Рис. 9. ФУ у детей в различные сроки после ТГСК:

д/к – показатель ФУ до кондиционирования; значение *p* указано по отношению к значению ФУ_{д/к}

видимому, играет ключевую роль в уменьшении энергии основного обмена у детей после ТГСК [12, 21].

Кроме того, известно, что количество метаболически АКМ в организме положительно коррелирует с величиной ФУ [22], поэтому низкие значения ФУ рассматриваются как индикатор нарушения состояния питания [16, 23]. Значительное уменьшение ФУ после ТГСК подтверждает вывод о существенном ухудшении состояния питания обследованных детей. Полученные данные показывают, что биоимпедансометрия является информативным методом, адекватным задаче комплексной оценки нутритивного статуса детей в посттрансплантационном периоде.

На основании полученных в работе данных можно с уверенностью говорить, во-первых, о необходимости мониторинга нутритивного статуса каждого пациента в посттрансплантационном периоде с целью организации рационального клинического питания и нутритивной поддержки и, во-вторых, применение БИА позволяет получить ценную в практическом отношении информацию о тканевом балансе и состоянии питания ребенка.

Таким образом, у врача появляется инструмент, с помощью которого можно оценить изменение тканевого состава (например, мышечной или жировой

массы), происходящее во время лечения, а не ориентироваться только на изменения общей МТ у данного пациента, как это чаще всего практикуется в настоящее время. Изучение тканевого состава тела позволяет определить тип белково-энергетической недостаточности в соответствии с МКБ-10. Также важной задачей является диагностика нарушений жирового обмена у детей, получающих глюкокортикоиды; биоимпедансный метод позволяет диагностировать ожирение даже при нормальной МТ – скрытое ожирение («ожирение нормального веса»). Так как тканевый состав тела отражает баланс энергии и степень удовлетворения потребности в нутриентах, знание этого состава на практике позволяет корректировать рацион питания. Поскольку задачей лечебного питания и нутритивной поддержки является не простое увеличение МТ пациента, а восстановление тканевого баланса, работа врача должна быть направлена на решение именно этой задачи.

В дальнейшем планируется проведение анализа динамики нутритивного статуса и состава тела у детей после ТГСК с учетом типа кондиционирования, диагноза, вида трансплантации, а также наличия тяжелых ранних и поздних посттрансплантационных осложнений.

Л и т е р а т у р а

- Скворцова Ю.В., Скоробогатова Е.В., Масчан А.А. Поражение гастроинтестинального тракта после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток крови у детей. Вопросы детской диетологии 2009;7(2):36–40.
- Papadopoulou A., Nathavitharana K., Williams M., Darbyshire P., Booth I. Diarrhea and weight loss after bone marrow transplantation in children. *Pediatr Hematol Oncol* 1994;11:601–11.
- Guiot H.F.L., Biemond J., Klasen E. et al. Protein loss during acute graft versus host disease: diagnostic and clinical significance. *Eur J Haematol* 1987;24:55–67.
- Szeluga D.J., Stuart R.K., Brookmeyer R., Utermohlen V., Santos G.W. Energy requirements of parenterally fed bone marrow transplant recipients. *JPEN* 1985;9:139–43.
- Muscaritoli M., Grieco G., Capria S. et al. Nutritional and metabolic support in patients undergoing bone marrow transplantation. *Am J Clin Nutr* 2002;75:183–90.
- McDonald G.B., Shulman H.M., Wolford J.L. et al. Liver disease after human marrow transplantation. *Semin Liver Dis* 1987;7:210–29.
- Kushner R.F. Bioelectrical impedance analysis: a review of principles and applications. *J Am Coll Nutr* 1992;11(2):199–209.
- Бахман А.Л. Искусственное питание. Под ред. А.Л. Костюченко, пер. с англ. М.: Изд. Бино, 2001. 183 с.
- Николаев Д.В., Смирнов А.В., Бобринская И.Г., Руднев С.Г. Биоимпедансный анализ состава тела человека. М.: Наука, 2009.
- Moore F.D., Olesen K.N., McMurray J.D. et al. *The body cell and its supporting environment*. Philadelphia: Sanders, 1963.
- Forbes G.B. *Human body composition: growth, aging, nutrition and activity*. N.Y.: Springer, 1987. P. 350.
- Коновалова М.В., Вашура А.Ю., Литвинов Д.В. и соавт. Изучение энергетического обмена у детей с онкологическими заболеваниями. *Мед вестн Юга России* 2010;2:90–3.
- Baumgartner R.N., Chumlea W.C., Roche A.F. et al. Bioelectric impedance phase angle and body composition. *Amer J Clin Nutr* 1988;48(1):16–23.
- Bosy-Westphal A., Danielzik S., Dorhofer R.-P. et al. Phase angle from bioelectrical impedance analysis: population reference values by age, sex, and body mass index. *JPEN* 2006;30(4):309–16.
- Selberg O., Selberg D. Norms and correlates of bioimpedance phase angle in healthy human subjects, hospitalized patients, and patients with liver cirrhosis. *Eur J Appl Physiol* 2002;86(6):509–16.
- Gupta D., Lammersfeld C.A., Burrows J.L. et al. Bioelectrical impedance phase angle in clinical practice: implications for prognosis in advanced colorectal cancer. *Am J Clin Nutr* 2004;80(6):1634–8.
- Николаев Д.В., Руднев С.Г. Свиридов С.В. Применения биоимпедансного анализа у пациентов в критических состояниях. Сб. докладов XV международной конференции «Новые информационные технологии в медицине, фармакологии, биологии и экологии», Ялта–Гурзуф, 31 мая – 9 июня 2007;272–4.
- Paiva S.I., Borges L.R., Halpern-Silveira D. et al. Standardized phase angle from bioelectrical impedance analysis as prognostic factor for survival in patients with cancer. *Supp Care Cancer* 2011;19:187–92.
- Cole T.J., Flegal K.M., Nicholls D., Jackson A.A. Body mass index cut offs to define thinness in children and adolescents: international survey. *BMJ* 2007 July 28;335(7612):194.
- Frisancho A.R. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1981;34(11):2540–5.
- Duggan C., Bechard L., Donovan K., Vangel M., O'Leary A., Holmes C., Lehmann L., Guinan E. Changes in resting energy expenditure among children undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Am J Clin Nutr* 2003;78:104–9.
- Lautz H.U., Selberg O., Korber J. et al. Protein-calorie malnutrition in liver cirrhosis. *Clin Invest* 1992;70:478–6.
- Santarpia L., Marra M., Montagnese C. et al. Prognostic significance of bioelectrical impedance phase angle in advanced cancer: preliminary observations. *Nutrition* 2009;25(9):930–1.

Генетические особенности иммуноглобулинподобных рецепторов киллерных клеток у доноров стволовых гемопоэтических клеток

Ю.В. Соколова, Л.Н. Бубнова, И.Е. Павлова, С.С. Бессмельцев

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

Контакты: Юлия Валериевна Соколова July_sokolova@mail.ru

Целью данного исследования явилось изучение генетических особенностей иммуноглобулинподобных рецепторов киллерных клеток (KIR) у потенциальных доноров Республиканского регистра доноров гемопоэтических стволовых клеток Российского НИИ гематологии и трансфузиологии (Санкт-Петербург).

KIR-система — недавно открытая вторая иммуногенетическая система, которая обладает высоким уровнем полиморфизма и играет ключевую роль в регуляции цитолитической активности естественных киллеров, взаимодействуя с антигенами главного комплекса гистосовместимости I класса. KIR-генотип донора может оказывать влияние на эффективность трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) при онкогематологических заболеваниях.

При сравнительном анализе частоты встречаемости KIR-генов и KIR-генотипов у доноров ГСК Республиканского регистра нами были обнаружены черты сходства с другими европеоидными популяциями. Характерные специфические особенности обусловлены, в основном, различиями в частоте встречаемости активирующих KIR-генов (KIR2DS5). Более выраженные различия были выявлены при сравнении с монголоидными популяциями. Частота ассоциированных с гаплотипом В ингибирующего (KIR2DL2) и активирующих (KIR2DS2, KIR2DS3) генов в обследованной нами группе была значительно выше, чем в популяциях Японии, Китая и Южной Кореи, что характерно для европеоидных популяций в целом.

В группе доноров ГСК Республиканского регистра обнаружена более высокая по сравнению с другими популяциями частота встречаемости KIR-генотипов, оказывающих наиболее благоприятный клинический эффект при трансплантации при остром миелоидном лейкозе. Это различие достигает статистической значимости в сравнении с монголоидными популяциями.

Результаты данного исследования могут быть использованы для выбора наиболее предпочтительных доноров с целью улучшения терапевтического эффекта трансплантации ГСК, а также для оптимизации банка Республиканского регистра доноров ГСК по количественному и популяционному составу.

Ключевые слова: KIR-гены, KIR-генотип, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, донор, Республиканский регистр

Genetic features of the killer cell immunoglobulin-like receptors in the haematopoietic stem cell donors

Iu. V. Sokolova, L. N. Bubnova, I. E. Pavlova, S. S. Bessmeltsev

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St.-Petersburg

The aim of this study was to determine genetic features of the killer cell immunoglobulin-like receptors of donors from Republican Register haematopoietic stem cells donors of the Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology (St.-Petersburg).

KIR is a recently discovered high polymorphic second immunogenetic system that interacts with class I human leukocyte antigen molecules and plays a crucial role in the control of natural killer cell cytolytic activity. Donor KIR genotype affects outcome of unrelated donor transplantation.

The frequency of KIR genes and genotypes in donors of Northwest region of Russia shares several general features with other Caucasoid populations, with the exception of some B haplotype associated activating KIR genes (KIR2DS5). Significant differences were observed as compared to Asian populations. The frequency of the B haplotype associated inhibitory (KIR2DL2) and activating (KIR2DS2, KIR2DS3) genes were significantly higher as compared to the populations of Japan, China and South Korea.

The frequency of the «best» donor B content group, that improves clinical outcomes after unrelated donor transplantation, was higher in the population under the study as compared to other populations. These differences were significant as compared to Asian populations.

The results of the present study can be used to selection of donors with the favorable KIR types in order to improve therapeutic effect of transplantation, as well as to optimize database of the Republican Register of haematopoietic stem cells donors.

Key words: KIR genes, KIR genotype, haematopoietic stem cell transplantation, donor, Republican register

Введение

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) от родственных и неродственных доноров в настоящее время является стандартным видом терапии при многих онкогематологических заболеваниях. Известно, что успех трансплантации зависит прежде всего от совместности донора и реципиента по антигенам главного комплекса гистосовместимости – системе HLA. Открытие второй иммуногенетической системы – иммуноглобулинподобных рецепторов киллерных клеток (KIR) [1], взаимодействующих с антигенами HLA I класса локусов A, B и C, и изучение их влияния на регуляцию функциональной активности естественных киллеров (NK) существенно дополнили наши представления о роли системы HLA в развитии аллореактивности NK-лимфоцитов при трансплантации ГСК.

Локусы KIR и HLA, для которых характерен исключительный уровень полиморфизма, расположены на разных хромосомах и сегрегируют независимо друг от друга. Поэтому лишь небольшое количество HLA-совместимых трансплантатов являются KIR-совместимыми. Так, только 25 % HLA-совместимых сиблингов идентичны по KIR-рецепторам, а неродственные HLA-совместимые доноры редко являются KIR-совместимыми [2].

Несмотря на то, что в настоящее время идет процесс активного накопления данных по оценке влияния KIR-системы на эффективность трансплантации, механизм этого влияния еще окончательно не выяснен. Отдельные публикации свидетельствуют о неблагоприятном влиянии несовместимости по KIR-генам на исход трансплантации при острых лейкозах [3]. В то же время в многочисленных исследованиях получены данные, позволяющие предполагать, что KIR-несовместимость в целом позволяет улучшить терапевтический эффект пересадки стволовых клеток за счет развития реакции «трансплантат против лейкоза» [4–6]. Разработано несколько моделей, объясняющих роль несовместимости между донором и реципиентом по KIR-рецепторам и их лигандам в развитии клинических исходов трансплантации. Модель «лиганд – лиганд» (KIR-ligand mismatched), основанная только на HLA-типировании, а также модель «рецептор – лиганд» (missing KIR-ligand), которая была предложена для реципиентов, гомозиготных по группам HLA-C1, C2, или Bw6, при наличии у донора по меньшей мере одного KIR-рецептора к отсутствующим у реципиента лигандам, не показали убедительных однозначных результатов [7].

Наиболее привлекательной моделью на настоящий момент представляется разделение KIR-гаплотипов на 2 биологически различные группы – A и B. В соответствии с этим все индивидуумы могут иметь либо AA-генотип (гомозиготы по гаплотипу A), либо Bx-генотип (имеют 1 или 2 B-гаплотипа).

Для B-гаплотипов характерно большее число генов, кодирующих активирующие рецепторы. Было показано, что наличие B-гаплотипа у донора (Bx-генотип), независимо от KIR-генотипа реципиента, улучшает клинический исход трансплантации при остром миелоидном лейкозе и множественной миеломе [4, 7]. Позднее было установлено, что, по всей видимости, ведущую роль в развитии реакции «трансплантат против лейкоза» имеют центромерные KIR-гены, ассоциированные с гаплотипом B. Присутствие в генотипе донора теломерных и особенно центромерных B-фрагментов («B-motifs») позволяет снизить риск развития рецидива и повысить выживаемость, свободную от болезни, после аллогенной трансплантации при остром миелоидном лейкозе, но не при остром лимфоидном лейкозе [8].

Следовательно, определение KIR-генотипа донора необходимо для обеспечения наиболее благоприятного клинического исхода трансплантации и повышения эффективности терапии.

Республиканский регистр доноров гемопоэтических стволовых клеток Российского НИИ гематологии и трансфузиологии (Санкт-Петербург) в течение многих лет входит в Международную поисковую систему доноров костного мозга (Bone Marrow Donors Worldwide – BMDW), осуществляя подбор доноров для больных гемобластозами.

С целью развития стратегии подбора неродственных доноров с выбором наиболее предпочтительного KIR-генотипа нами было проведено изучение распределения KIR-генов и KIR-генотипов у доноров ГСК, представляющих русскую популяцию жителей Санкт-Петербурга, и сравнительный анализ этой группы с другими европейскими и азиатскими популяциями.

Материалы и методы исследования

Для изучения распределения KIR-генов и KIR-генотипов у потенциальных доноров ГСК было проведено молекулярно-генетическое типирование 100 образцов крови русских лиц из Республиканского регистра доноров костного мозга / гемопоэтических стволовых клеток (Санкт-Петербург) в возрасте от 20 до 60 лет.

Геномную ДНК для проведения молекулярного типирования KIR-генов выделяли из лейкоцитов периферической крови с помощью коммерческого набора реагентов фирмы Protrans (Германия). Концентрация выделенной ДНК составляла 50–100 нг/мкл.

Генотипирование осуществляли методом полимеразной цепной реакции с сиквенс-специфическими праймерами (PCR-SSP) с использованием наборов KIR Genotyping SSP Kit (Invitrogen, WI, USA).

Визуализацию продуктов, полученных в результате полимеразной цепной реакции, проводили посредством электрофореза в горизонтальном 2 % агарозном геле. Интерпретацию полученных резуль-

татов осуществляли с помощью таблиц, прилагаемых к набору праймеров.

Для проведения сравнительного анализа частот встречаемости KIR-генов и KIR-генотипов у потенциальных доноров ГСК нашего регистра и в других популяциях были использованы данные Allele Frequencies KIR Database. Эта база является частью онлайн-базы данных Allele Frequency Net Database, содержащей информацию о частотах встречаемости генов иммунной системы, в том числе и KIR-генотипов, KIR-генов и их аллелей, в различных популяциях (<http://www.allelefrequencys.net>). Обозначение KIR-генотипов производили в соответствии с этой же базой.

Распределение потенциальных доноров на группы в соответствии с их KIR-B статусом («best», «better», «neutral») проводили при помощи калькулятора <http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/> [8].

Частоту встречаемости KIR-генов и генотипов определяли методом прямого подсчета. Статистическую значимость различий в частоте встречаемости оценивали с использованием критерия χ^2 и точно-го критерия Фишера с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

KIR-гены. Частота встречаемости KIR-генов у неродственных потенциальных доноров Республиканского регистра представлена на рис. 1.

Частота встречаемости ингибирующих KIR-генов в обследованной нами популяции выше, чем активирующих, за исключением гена *KIR2DS4*. Почти у всех лиц в обследованной группе присутствовали ингибирующие гены *KIR2DL1* (96,0 %), *KIR2DL2/3* (100,0 %) и *KIR3DL1* (96,0 %), псевдогены *KIR2DP1* (97,0 %) и *KIR3DP1* (100,0 %) и 1 активирующий ген *KIR2DS4* (96,0 %). Структурные ингибирующие гены *KIR2DL4*, *KIR3DL2*

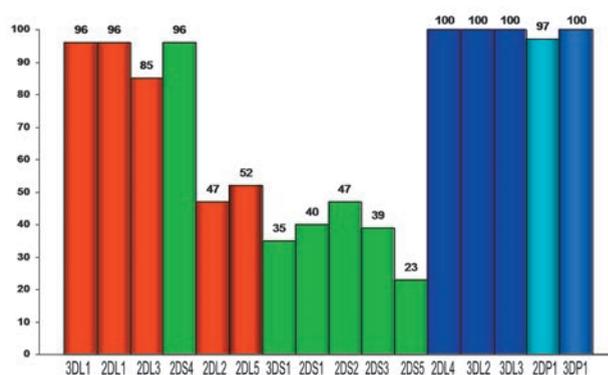


Рис. 1. Частота встречаемости KIR-генов у неродственных потенциальных доноров Республиканского регистра: красным цветом выделены ингибирующие KIR-гены, зеленым – активирующие, синим – «структурные» гены, голубым – псевдоген

и *KIR3DL3* были обнаружены у всех обследованных лиц. Активирующие KIR-гены встречались с частотой около 40%: *KIR2DS2* (47,0 %), *KIR2DS1* (40,0 %), *KIR2DS3* (39,0 %), *KIR3DS1* (35,0 %). Наименьшая частота встречаемости была характерна для гена *KIR2DS5* (23,0 %).

Наряду с этим нами был проведен сравнительный анализ частот встречаемости ингибирующих и активирующих KIR-генов в русской популяции и других европеоидных и монголоидных популяциях с использованием данных Allele Frequencies KIR Database (табл. 1 и 2).

Сравнительный анализ распределения ингибирующих KIR-генов у потенциальных доноров ГСК нашего регистра выявил отсутствие статистически значимых различий с другими европеоидными популяциями. Обнаруженная нами более высокая по сравнению с монголоидными популяциями частота встречаемости генов *KIR2DL2* и *KIR2DL5* характерна для европеоидов в целом (см. табл. 1).

Распределение активирующих KIR-генов у обследованных нами лиц также имеет общие с други-

Таблица 1. Распределение ингибирующих KIR-генов в различных популяциях

Популяции	n	KIR-гены					Авторы
		2DL1	2DL2	2DL3	2DL5	3DL1	
Россия	100	96,0	47,0	85,0	52,0	96,0	собственные данные
Италия	50	98,0	50,0	92,0	60,0	94,0	J. Hollenbach et al., 2010 [9]
Чехия	125	94,4	59,2	85,6	48,0	94,4	Y. Pavlova et al., 2008 [10]
Англия	584	96,2	52,9	89,7	55,5	94,7	S.E. Hiby et al., 2010 [11]
Франция	102	97,1	58,8	89,2	57,8	93,1	R.D. Levinson et al., 2008 [12]
Португалия	65	100,0	60,0	96,9	55,4	90,8	J. Hollenbach et al., 2010 [9]
США (европеоиды)	255	95,3	52,9	86,7	54,9	94,9	J. Hollenbach et al., 2010 [9]
Япония (Токио)	239	92,9	11,7*	92,9	43,5	89,5	R. Miyashita et al., 2006 [13]
Япония (популяция 2)	41	100,0	14,6*	100,0	39,0	97,6	M. Yawata et al., 2002 [14]
Япония (популяция 3)	132	100,0	11,4*	100,0	35,6*	99,2	M. Yawata et al., 2006 [15]
Южная Корея	154	99,4	14,3*	99,4	38,3	94,2	D.H. Whang et al., 2005 [16]
Таиланд	100	97,0	36,0	95,0	44,0	96,0	J. Hollenbach et al., 2010 [9]
Китай	104	99,0	17,3*	99,0	34,6*	94,2	K. Jiang et al., 2005 [17]

Примечание (здесь и в табл. 2): * различия в сравнении с русской популяцией статистически значимы ($p < 0,05$).

Таблица 2. Распределение активирующих KIR-генов в различных популяциях

Популяции	n	KIR-гены					Авторы
		2DS1	2DS2	2DS3	2DS5	3DS1	
Россия	100	40,0	47,0	39,0	23,0	35,0	собственные данные
Италия	50	40,0	50,0	40,0	30,0	44,0	J. Hollenbach et al., 2010 [9]
Чехия	125	43,2	56,8	35,2	24,8	37,6	Y. Pavlova et al., 2008 [10]
Англия	584	43,3	53,6	29,5	36,6*	44,3	S.E. Hiby et al., 2010 [11]
Франция	102	45,1	57,8	32,4	36,3*	45,1	R.D. Levinson et al., 2008 [12]
Португалия	65	33,8	60,0	33,8	27,7	33,8	J. Hollenbach et al., 2010 [9]
США (европеоиды)	255	41,2	53,3	29,4	34,5*	38,8	J. Hollenbach et al., 2010 [9]
Япония (Токио)	239	41,8	11,7*	14,2*	28,9	42,3	R. Miyashita et al., 2006 [13]
Япония (популяция 2)	41	34,1	14,6*	14,6*	24,4	29,3	M. Yawata et al., 2002 [14]
Япония (популяция 3)	132	33,3	11,4*	13,6*	22,0	31,8	M. Yawata et al., 2006 [15]
Южная Корея	154	37,7	16,9*	16,2*	26,6	36,4	D.H. Whang et al., 2005 [16]
Таиланд	100	36,0	35,0	24,0*	29,0	32,0	J. Hollenbach et al., 2010 [9]
Китай	104	33,7	17,3*	12,5*	23,1	32,7	K. Jiang et al., 2005 [17]

ми популяциями европеоидов черты – более высокую в сравнении с монголоидными популяциями частоту генов *KIR2DS2* и *KIR2DS3*. В то же время для гена *KIR2DS5* характерна более низкая частота встречаемости по сравнению со всеми проанализированными нами европеоидными популяциями. Это различие достигает статистической значимости при сопоставлении с популяциями Франции ($\chi^2 = 4,58$; $p = 0,032$), Англии ($\chi^2 = 7,02$; $p = 0,008$), США ($\chi^2 = 4,43$; $p = 0,035$).

KIR-генотипы. AA-генотип (ID1) был обнаружен у 33 % доноров ГСК, что сопоставимо с данными, полученными для других популяций европеоидов. Единственный активирующий ген, присутствующий в AA-генотипе – *KIR2DS4*, был выявлен у всех лиц, имеющих данный генотип. При этом 2/3 из них были гомозиготны по аллельным вариантам *KIR2DS4*003-007*,

имеющим делецию в экзоне 5 и кодирующим неэкспрессируемые формы KIR-рецепторов. Только 1 из 33 носителей AA-генотипа был гомозиготен по аллельным вариантам *KIR2DS4*001/002*, кодирующим экспрессируемые рецепторы.

Среди Vx-генотипов наиболее часто встречались ID 5 (11 %), ID 2 (8 %), ID 4 (7 %) и ID 71 (6 %), что составило вместе почти треть популяции. Шестнадцать из 21 Vx-генотипа имели частоту встречаемости менее 4 %, и вместе также составили около трети популяции – 35 % (рис. 2).

На основе данных, представленных в Allele Frequencies KIR Database, нами был проведен сравнительный анализ частот встречаемости групп KIR-генотипов у потенциальных доноров ГСК Республиканского регистра и в других этнических популяциях Европы и Азии (рис. 3).

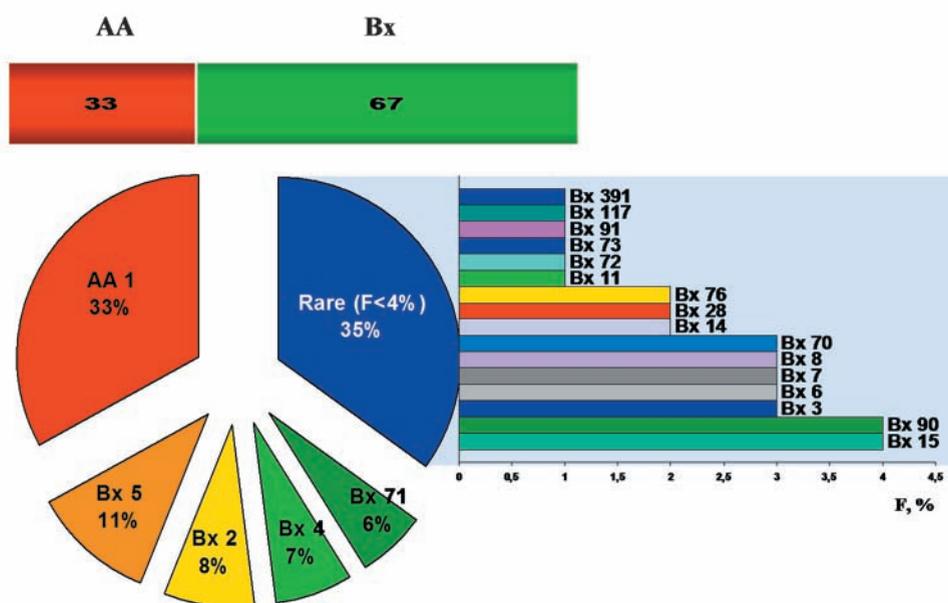


Рис. 2. Распределение KIR-генотипов у доноров ГСК Республиканского регистра (Санкт-Петербург)

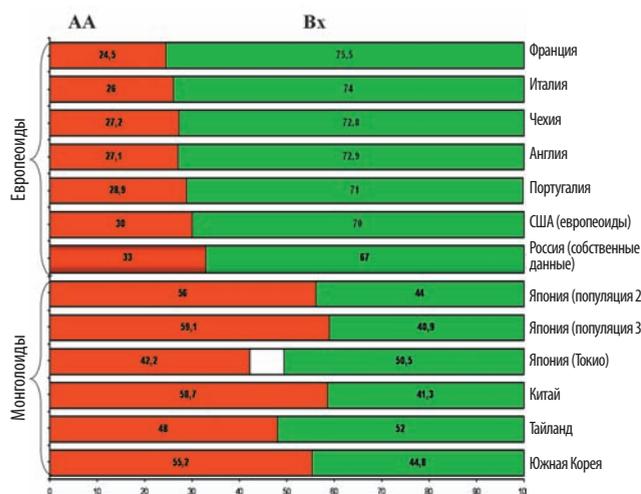


Рис. 3. Сравнение частоты встречаемости групп генотипов в различных популяциях [9–17]

Частоты встречаемости генотипа AA у потенциальных доноров ГСК не имели статистически значимых отличий от других европеоидных популяций. При сравнении с монголоидными популяциями были обнаружены закономерные для представителей белой расы значимые различия с популяциями Таиланда ($\chi^2 = 4,67; p < 0,05$), Южной Кореи ($\chi^2 = 12,01; p < 0,001$), Японии (популяция 3 – $\chi^2 = 15,52; p < 0,001$; популяция 2 – $\chi^2 = 6,47; p < 0,05$) и Китая ($\chi^2 = 13,50; p < 0,001$).

S. Cooley et al. (2010) [8] разработали алгоритм выбора наиболее предпочтительного донора для трансплантации при остром миелоидном лейкозе на основе определения KIR-B-статуса: количества и сочетаний центромерных и теломерных B-фрагментов. Все доноры могут быть разделены на 3 группы: 1) «наилучшие» («best»), имеющие 2 и более B-фрагмента при отсутствии *KIR2DL3* и наличии *KIR2DS2* и/или *KIR2DL2*; 2) «лучшие» («better»), также имеющие 2 и более B-фрагмента, но с другими сочетаниями ингибирующих и активирующих KIR-генов: при наличии *KIR2DL3* обязательно присутствие *KIR3DS1* и/или *KIR2DS1*; 3) «нейтральные» («neutral»), имеющие 1 или ни одного B-фрагмента.

Интересным было оценить потенциальных доноров ГСК, входящих в наш регистр, в соответствии с этой классификацией, а также провести сравни-

тельный анализ с другими популяциями на основе данных, представленных в Allele Frequencies KIR Database, с использованием калькулятора, разработанного на сайте Европейского института биоинформатики (European Bioinformatics Institute) (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/>) (рис. 4).

Среди всех проанализированных популяций потенциальные доноры Республиканского регистра доноров гемопоэтических стволовых клеток Российского НИИ гематологии и трансфузиологии имеют наибольшую частоту KIR-генотипов, входящих в первую группу («Best»), т. е. трансплантация ГСК от этих доноров окажет наиболее выраженный положительный терапевтический эффект при остром миелоидном лейкозе, позволит уменьшить число рецидивов и увеличить выживаемость свободную от болезни. Эти различия достигают статистической значимости при сравнении с азиатскими популяциями. При этом обращает на себя внимание полное отсутствие наиболее предпочтительных KIR-генотипов во всех проанализированных японских популяциях.

Частота встречаемости доноров с генотипами, не оказывающими положительного клинического эффекта при трансплантации (группа «Neutral»), в русской популяции не отличалась от других европеоидных популяций. Статистически значимые отличия от популяций Китая, Японии и Южной Кореи обусловлены высокой частотой данной группы в монголоидных популяциях в целом.

Частота лиц с генотипами, входящими в промежуточную по клиническому эффекту 2-ю группу («Better»), в обследованной нами группе была несколько ниже, чем в других европейских популяциях. При этом статистически значимые отличия наблюдались только в сравнении с чешской популяцией.

Заключение

Таким образом, распределение KIR-генов и KIR-генотипов у потенциальных доноров ГСК Республиканского регистра имеет выраженные черты сходства с другими европеоидными популяциями. Характерные специфические особенности обусловлены, в основном, различиями в частоте встречаемости активирующих KIR-генов (*KIR2DS5*).

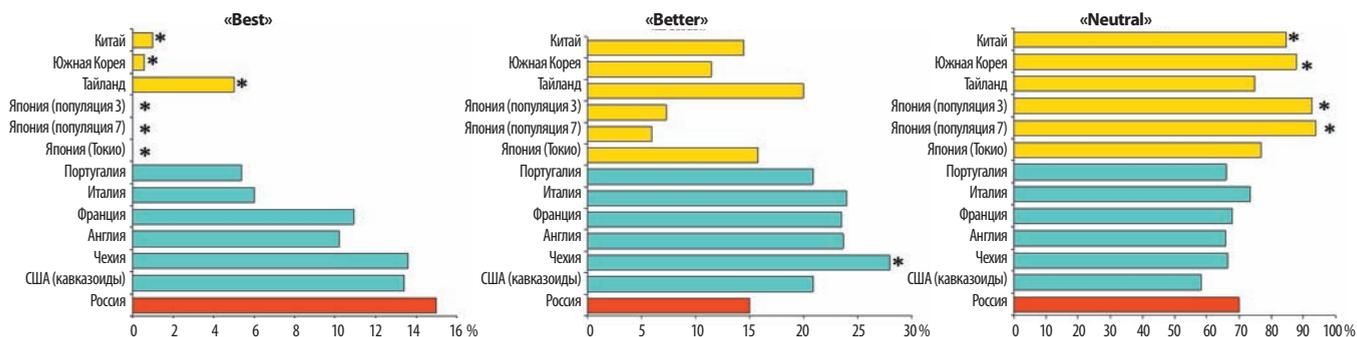


Рис. 4. Сравнение частоты встречаемости групп доноров, распределенных на основе KIR-B-статуса, в различных популяциях [9–17]: * различия в сравнении с русской популяцией статистически значимы ($p < 0,05$), желтый цвет – монголоидные популяции, голубой цвет – европеоидные популяции

Более выраженные различия отмечаются при сравнении с азиатскими популяциями. Для европейцев характерна более высокая, чем у монголоидов, частота гаплотипа В и ассоциированных с ним генов. Та же закономерность была обнаружена нами у потенциальных доноров ГСК нашего регистра: частота ассоциированных с этим гаплотипом ингибирующего (*KIR2DL2*) и активирующих (*KIR2DS2*, *KIR2DS3*) генов была значительно выше, чем в популяциях Японии, Китая и Южной Кореи.

В обследованной нами группе доноров ГСК обнаружена более высокая по сравнению со всеми популяция-

ми сравнения частота встречаемости KIR-генотипов, оказывающих наиболее благоприятный клинический эффект при трансплантации при остром миелоидном лейкозе. Это различие достигает статистической значимости в сравнении с азиатскими популяциями.

Результаты данного исследования могут быть использованы для выбора наиболее предпочтительных доноров с целью улучшения терапевтического эффекта трансплантации ГСК, а также для оптимизации банка Республиканского регистра неродственных доноров-добровольцев по количественному и популяционному составу.

Л и т е р а т у р а

1. Parham P. MHC class I molecules and KIRs in human history, health and survival. *Nature Reviews Immunology* 2005;5:201–14.
2. Shilling H., Young N., Guethlein L.A. et al. Genetic control of human NK cell repertoire. *J Immunol* 2002;169:239–47.
3. Gane K., Busson M., Balere-Appert M.L. et al. Relevance of KIR gene matching in unrelated hematopoietic stem cell transplantations. *Tissue Antigens* 2007;69(S1):118–22.
4. Cooley S., Trachtenberg E., Bergemann T.L. et al. Donors with group B KIR haplotypes improve relapse-free survival after unrelated hematopoietic cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood* 2009;113(3):726–32.
5. Stringaris K., Adams S., Uribe M. et al. Donor KIR genes 2DL5A, 2DS1 and 3DS1 are associated with a reduced rate of leukaemia relapse after HLA-identical sibling stem cell transplantation for acute myeloid leukaemia but not other haematological malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16(9):1257–64.
6. Symons H.J., Leffell M.S., Rossiter N.D. et al. Improved survival with inhibitory killer immunoglobulin receptor (KIR) gene mismatches and KIR haplotype B donors after nonmyeloablative, HLA-haploidentical bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16(4):533–42.
7. Kröger N., Zabelina T., Berger J. et al. Donor KIR haplotype B improves progression-free and overall survival after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma. *Leukemia* 2011;25(10):1657–61.
8. Cooley S., Weisdorf D.J., Guethlein L.A. et al. Donor selection for natural killer cell receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood* 2010;116(14):2411–9.
9. Hollenbach J.A., Meenagh A., Sleator C. et al. Report from the killer immunoglobulin-like receptor (KIR) anthropology component of the 15th International Histocompatibility Workshop: worldwide variation in the KIR loci and further evidence for the co-evolution of KIR and HLA. *Tissue Antigens* 2010;76:9–17.
10. Pavlova Y., Kolesar L., Striz I. et al. Distribution of KIR genes in the Czech population. *International Journal of Immunogenetics* 2008;35:57–61.
11. Hiby S.E., Ashrafiyan-Bonab M., Farrell L. et al. Distribution of killer cell immunoglobulin-like receptors (KIR) and their HLA-C ligands in two Iranian populations. *Immunogenetics* 2010;62:65–73.
12. Levinson R.D., Du Z., Luo L. et al. Combination of KIR and HLA gene variants augments the risk of developing birdshot chorioretinopathy in HLA-A*29-positive individuals. *Genes and Immunity* 2008;9:249–58.
13. Miyashita R., Tsuchiya N., Yabe T. et al. Association of killer cell immunoglobulin-like receptor genotypes with microscopic polyangiitis. *Arthritis and rheumatism* 2006;54:992–7.
14. Yawata M., Yawata N., McQueen K.L. et al. Predominance of group A KIR haplotypes in Japanese associated with diverse NK cell repertoires of KIR expression. *Immunogenetics* 2002;54:543–50.
15. Yawata M., Yawata N., Draghi M. et al. Roles for HLA and KIR polymorphisms in natural killer cell repertoire selection and modulation of effector function. *The Journal of Experimental Medicine* 2006;203:633–45.
16. Whang D.H., Park H., Yoon J.A. et al. Haplotype analysis of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in 77 Korean families. *Human Immunology* 2005;66:146–54.
17. Jiang K., Zhu F.-M., Ly Q.-F., Yan L.-X. Distribution of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in the Chinese Han population. *Tissue Antigens* 2005;65:556–63.

Молекулярные механизмы лейкозогенеза

Лекция № 4

Гемобластозы лимфоидного происхождения

Д.А. Домнинский

ФГБУ ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздравсоцразвития России, Москва

Контакты: Дмитрий Анатольевич Домнинский D7777777@yandex.ru

Molecular mechanisms of leukemogenesis 4. Lymphoid hematological malignancies

D.A. Domninskiy

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

Предисловие

Ранее были рассмотрены главные клеточные процессы, нарушение которых индуцирует онкогенез в кроветворных клетках, и основные типы генов, которые особенно часто становятся мишенями лейкозогенных геномных aberrаций [1–2]. Предыдущая лекция была посвящена геномным нарушениям, которые наиболее характерны для неоплазий миелоидного происхождения [3]. Эта лекция рассказывает о генетических повреждениях, выявляемых в лимфоидных опухолевых клетках, и о свойственном им уникальном механизме превращения протоонкогенов в онкогены. В заключение будут рассмотрены условия возникновения рекуррентных хромосомных транслокаций, помогающие понять, почему эти транслокации происходят в клетках данного типа и на определенном этапе их развития, предопределяя, таким образом, фенотип опухоли.

Глава I. Классификация опухолей лимфоидного происхождения

В последней классификации лимфоидных опухолей Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в отличие от классификации миелоидных неоплазий, отсутствует выделение определенных подтипов заболевания на основе рекуррентных молекулярно-генетических изменений. Рабочая группа ВОЗ, разрабатывавшая классификацию, объяснила свое решение тем, что в настоящее время собрано недостаточно доказательств, чтобы признать опухоли, несущие специфичные геномные aberrации, отдельными заболеваниями [4]. Хотя такая позиция и вызвала некоторое недоумение [4, 5], но она имеет логичное объяснение. С одной стороны, традиционный цитоморфологический подход позволил построить очень удобную классификацию лимфом по анатомии их локализации (фолликулярная лимфо-

ма, лимфома маргинальной зоны селезенки и т. п.) или по типу опухолевых клеток (В-крупноклеточная лимфома, плазмочитома и т. п.). С другой стороны, лимфоидные клетки помимо их подразделения на 2 основных типа (В- и Т-клетки) по экспрессии иммунорецепторов разного вида (BCR/Ig и TCR) несут на своей поверхности большое число маркерных белков (CD, cluster of differentiation), многие из которых определяют статус клеточной дифференцировки. А так как трансформация лимфоидных клеток чаще всего ассоциирована с блоком («арестом») дифференцировки, то специфичная иммунофенотипическая CD-характеристика опухолевых клеток, которая соответствует стадии клеточного развития на момент малигнизации, является адекватным маркером многих типов опухолей. Но в то же время сегодня хорошо известно, что некоторые типы лимфоидных неоплазий, представленные в классификации ВОЗ, связаны со специфичными рекуррентными хромосомными aberrациями. Такие aberrации имеют явное диагностическое значение ([3], глава I), поэтому некоторые заболевания, например лимфома из клеток мантии (ЛКМ) или лимфома Беркитта (ЛБ), могут быть выделены в отдельные категории как болезни, ассоциированные с конкретными молекулярными нарушениями. Геномные aberrации, которые наиболее часто встречаются в опухолях В- и Т-клеточного происхождения, приведены в табл. 1 и 2.

Глава II. Особенности геномных aberrаций в лимфоидных опухолях

В клетках организма постоянно возникают разнообразные хромосомные aberrации, механизм генерации которых может быть различным [9]. Большинство таких модификаций носит нейтральный характер, некоторые из них приводят к гибели клетки, и совсем ничтожное количество — к опухолевой

Таблица 1. Рекуррентные хромосомные aberrации, выявляемые при ОЛЛ [6, 7]

Хромосомные aberrации	Продукт aberrации	Тип онкогена	Частота, %	
			дети	взрослые
<i>B</i>-клеточный ОЛЛ (<i>B</i>-ОЛЛ)				
<i>химерные гены</i>				
t(9;22)(q34;q11)	BCR-ABL	протеинкиназы (*)	5	30
t(12;21)(p13;q22)	ETV6-RUNX11	факторы транскрипции	25	5
t(1;19)(q23;p13)	TCF3-PBX1	факторы транскрипции	5	5–10
t(4;11)(q21;q23)	MLL1-AF4	факторы транскрипции	90 (**)	10
<i>мутации и делеции</i>				
9p13	PAX5	фактор транскрипции	30	30
<i>T</i>-клеточный ОЛЛ (<i>T</i>-ОЛЛ)				
<i>химерные гены</i>				
t(10;11)(p12;q14)	CALM-AF10	факторы транскрипции	10	10
1p32 делеция	SIL-TAL1	факторы транскрипции	25	5–10
<i>TCR</i>-транслокации (***)				
t(10;14)(q24;q11)	HOX11-TCR α/δ	фактор транскрипции	10	20–30
t(5;14)(q35;q11)	HOX11L2-TCR α/δ	фактор транскрипции	25	10–15
t(1;14)(p32;q11)	TAL1-TCR α/δ	фактор транскрипции	15	10–15
t(11;14)(p13;q11)	LMO2-TCR α/δ	фактор транскрипции	5–10	< 5
<i>мутации и делеции</i>				
9q34.3	NOTCH1	рецептор и фактор транскрипции	50	50
4q31.3	FBW7	E3 убиквитин-лигаза	25–30	25–30

(*) ABL – тирозинкиназа (T); BCR – серин-треонин протеинкиназа (S/T). (**) Указана частота встречаемости при B-ОЛЛ у младенцев, с возрастом она падает (см. [3], глава III). (***) Транслокация онкогенов может осуществляться в разные TCR-локусы, но частота рекомбинации падает в ряду: TCR α/δ – TCR β – TCR γ . При B-ОЛЛ транслокация онкогенов в BCR/Ig-локусы происходит очень редко (см. главу II).

Аббревиатуры: AF4 – ALL1-fused gene from chromosome 4 (где ALL1 – старое название гена MLL); BCR – breakpoint cluster region (S/T протеинкиназа); CALM – clathrin assembly lymphoid myeloid leukemia gene; ETV6 – ETS variant gene 6 (также известен как TEL – translocation ets leukemia); FBXW7 – F-box and WD repeat domain containing protein 7; HOX11 – homeobox 11 (также известен как TLX1 – T-cell leukemia homeobox 1); HOX11L2 – homeobox 11-like 2 (также известен как TLX3); LMO2 – LIM domain only 2 protein (также известен как TTG2 – T-cell translocation gene 2); MLL – mixed lineage (myeloid/lymphoid) leukemia; PAX5 – paired box 5 (также известен как BSAP – B-cell lineage specific activator protein); PBX1 – pre-B-cell leukemia transcription factor 1; RUNX1 – runt-related transcription factor 1 (также известен как AML1 – acute myeloid leukemia 1); SIL – SCL/TAL1 interrupting locus; TAL1 – T-cell acute leukemia 1 (также известен как SCL – stem cell leukaemia); TCF3 – transcription factor 3 (также известен как E2A – transcription factor E2a); TCR – T-cell receptor.

Таблица 2. Некоторые рекуррентные хромосомные транслокации, выявляемые при лимфомах B-клеточного происхождения [8]

Тип лимфомы	Хромосомные транслокации	Продукты транслокации	Возможный механизм (*)	Частота, %
ЛКМ	t(11;14)(q13;q32)	циклин D1-IgH	V(D)J	95
ФЛ	t(14;18)(q32;q21)	IgH-Bcl-2	V(D)J	90
	t(3;14)(q27;q32)	Bcl-6-IgH	CSR	5
ДВККЛ	t(14;18)(q32;q21)	IgH-Bcl-2	V(D)J	25–30
	t(3;14)(q27;q32)	Bcl-6-IgH	CSR/SHM	35
	t(8;14)(q24;q32)	c-MYC-IgH	CSR/SHM	10
	t(8;22)(q24;q11)	c-MYC-Ig	SHM	5
ЛБ	t(8;14)(q24;q32)	c-MYC-IgH	CSR/SHM	80
	t(8;22)(q24;q11)	c-MYC-Ig	SHM	15
	t(2;8)(p12;q24)	c-MYC-Igk	SHM	5
ЛПЛ	t(9;14)(p13;q32)	PAX5-IgH	SHM	50

(*) Хромосомные транслокации в Ig-локусах могут быть индуцированы V(D)J-рекомбинацией, рекомбинацией переключения класса (CSR) или соматическими гипермутациями (SHM).

Аббревиатуры: Bcl-2 – B-cell leukemia/lymphoma 2; c-MYC – cellular homolog v-MYC myelocytomatosis avian viral oncogene; ДВККЛ – диффузная В-крупноклеточная лимфома; ЛПЛ – лимфома плазмочитарная лимфома; ФЛ – фолликулярная лимфома; циклин D1 (CCND1, G1/S-specific cyclin D1) – впервые был идентифицирован в локусе транслокации t(11;14) как ген Bcl-1 (B-cell leukemia/lymphoma 1).

трансформации. В предыдущей лекции мы рассмотрели хромосомные транслокации, приводящие к малигнизации миелоидных клеток, которые генерируют образование химерных генов с онкогенными свойствами. Вероятность возникновения таких транслокаций достаточно мала, так как для их осуществления требуется «прицельная» рекомбинация между 2 генами. Это связано с тем, что онкогенный гибридный продукт таких транслокаций, как правило, представляет собой уникальную комбинацию белковых доменов, кодируемых генами-партнерами [10]. Поэтому точки разрыва ДНК (breakpoints) при онкогенных транслокациях этого типа расположены достаточно «кучно» – в пределах 1 или 2 генных интронов.

В лимфоидных опухолях также были выявлены рекуррентные геномные aberrации, свойственные опухолям миелоидного происхождения. Но гораздо чаще в них реализуется особый механизм лейкозогенеза, который позволяет «эксплуатировать» большое число регуляторных элементов (промоторов и энхансеров), конститутивно активированных на многих стадиях клеточного развития и содержащихся в локусах В-клеточного (BCR/Ig) и Т-клеточного (TCR) рецепторов (см. Приложение 1). Протоонкогены, попадающие в эти локусы в результате хромосомных транслокаций, избегают строгого клеточного контроля (т. е. превращаются в онкогены) и генерируют развитие опухолеродного процесса. В отличие от возникновения химерных генов, высокая точность рекомбинации здесь не нужна, так как некоторые энхансеры генов *BCR/Ig* и *TCR* могут активировать генную экспрессию на очень большом расстоянии (см. ниже). Способствуют возникновению хромосомных транслокаций процессы V(D)J-рекомбинации, рекомбинации переключения класса (CSR) и соматические гипермутации (SHM) (см. Приложения 1 и 2), индуцируемые на некоторых стадиях развития лимфоидных клеток. Рекомбинации и гипермутации сопровождаются возникновением двунитевых разрывов (DSBs, double-strand breaks) в ДНК, которые затем «ремонтируются» клеточными системами репарации NHEJ (non-homologous end joining), соединяющими сломанные ДНК-концы. Любая неточность в работе этих систем может привести к хромосомным транслокациям (рис. 1) [11, 12].

Например, комплекс RAG1/2-нуклеаз расщепляет последовательности *BCR/Ig* и *TCR* в области небольших специфичных сигнальных участков (RSS, recombination signal sequence). Однако если другая хромосома содержит последовательность, похожую на RSS (cRSS, cryptic RSS), то ошибка RAG1/2 может привести к хромосомной транслокации. Аналогичные ошибки может совершать NHEJ-система, соединяя DSBs, созданные RAG1/2 в *BCR/Ig*- или *TCR*-локусах со случайно возникшими разрывами ДНК на других хромосомах (рис. 1А). Транслокации могут возникать и при ошибках AID (activation-induced cytidine

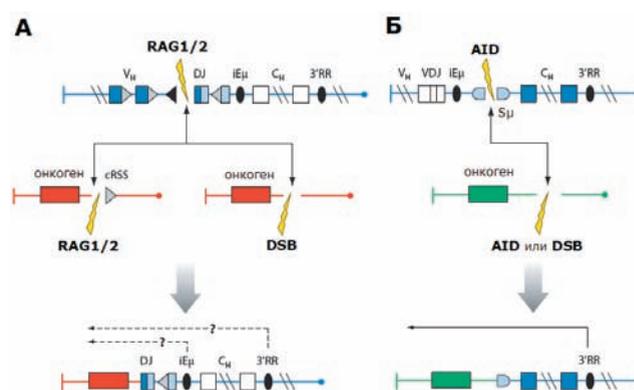


Рис. 1. Механизмы активации онкогенов, специфичные для лимфоидных клеток

Активирующие онкоген хромосомные транслокации могут индуцироваться двунитевыми разрывами ДНК (DSB), которые вносятся нуклеазами V(D)J-рекомбинации (А) или возникают в результате мутаций, опосредованных AID-активностью во время SHM или CSR (Б). Подробности см. в тексте лекции и в Приложениях 1 и 2. AID – activation-induced cytidine deaminase; CSR – class switch recombination; cRSS – cryptic RSS; DSB – double-strand break; iEμ – intronic enhancer Cμ region; 3'RR – IgH 3' regulatory region (IgH3'RR); RAG1/2 – recombination activating gene 1 & 2; SHM – somatic hypermutation; Sμ – switch Cμ region. Рисунок адаптирован из статьи M. Gostissa et al. [13].

deaminase), которая вносит мутации в GC-богатые области генома (рис. 1Б).

Анализируя точки разрыва ДНК при онкогенных транслокациях, можно в принципе определить, какой из приведенных выше механизмов (V(D)J, CSR или SHM) ответственен за возникновение этих aberrаций. Например, если точка разрыва находится рядом с RSS в интактной ДНК *BCR/Ig*- или *TCR*-локуса (при V(D)J сигнальные последовательности элиминируются), то это свидетельствует о V(D)J-опосредованном механизме рекомбинации. Наличие точек разрыва ДНК в CDR (complementarity determining region) области вариабельного *BCR/Ig*-локуса или в сайтах «переключения» S (switch) Cμ-локуса свидетельствует об AID-опосредованной рекомбинации (см. Приложения 1 и 2). RAG1/2- и AID-активность ассоциированы с разными стадиями дифференцировки В-лимфоцитов, что позволяет определить, на какой стадии их развития произошла опухолеродная трансформация (табл. 2).

По отношению к уникальным механизмам рекомбинации, обеспечивающим разнообразие антител и Т-клеточных рецепторов, лимфоидные опухоли можно подразделить на 3 большие группы: 1) опухоли, возникшие из V(D)J-некомпетентных клеток, которые в зависимости от уровня дифференцировки и степени коммитирования располагаются в следующей последовательности: поздние мультипотентные предшественники (MPPs, multipotent progenitors), еще способные к дифференцировке как в лимфоидные, так и в миелоидные линии – общие лимфоидные предшественники (CLPs, common lymphoid progenitors) – про-В- и про-Т-клетки; 2) опухоли, возникшие из V(D)J-компетентных клеток,

Приложение 1. Рекомбинационные процессы в лимфоидных клетках

Для формирования ответа на огромное разнообразие антигенов в клетках иммунной системы происходит целый ряд индивидуальных геномных перестроек и мутационных изменений в генах, кодирующих антиген-связывающие белки. Таким модификациям в В-лимфоцитах подвергаются гены, кодирующие молекулы BCR/Ig (BCR, **B-cell receptor**, некоторые типы BCR называют «поверхностными иммуноглобулинами», **slg**), которые у человека сгруппированы в крупные локусы (размером до 2 млн пар нуклеотидов; **п. н.**) на 3 хромосомах: IgH (14q32), Igk (2p12) и Igl (22q11). Гены, кодирующие Т-клеточные рецепторы (TCR, **T-cell receptor**) и претерпевающие рекомбинации в процессе развития Т-лимфоцитов, сгруппированы в 3 локусах на 2 хромосомах: TCR α/δ (14q11.2), TCR β (7q35) и TCR γ (7p15). В каждом BCR/Ig- и TCR-локусе присутствуют области, содержащие несколько копий (от 5 до 500) генных сегментов (экзонов) разного типа, из которых в результате геномных перестроек собирается огромное число индивидуальных комбинаций активных BCR/Ig- и TCR-генов. На рис. 1А показана схема организации локуса 14q32, кодирующего гены тяжелой цепи BCR/Ig (IgH) человека. В IgH-локусе можно выделить несколько регионов – область, кодирующая 11 различных копий неизменяемой части гена (C_H), и IgV (**immunoglobulin variable**) область, которая состоит из 3 групп разных генных сегментов: 123–129 копий варибельных (V_H) сегментов, 27 копий сегментов разнообразия (D_H – diversity) и 9 копий сегментов соединения (J_H – joining). В процессе соматической V(D)J-рекомбинации в каждой В-клетке происходит соединение разных V_H , D_H и J_H -генных сегментов в произвольном сочетании, что является первым этапом формирования разнообразия Ig и BCR. Аналогично IgH устроены локусы, кодирующие легкие цепи (Igk и Igl) иммуноглобулинов, только в них отсутствуют D-сегменты.

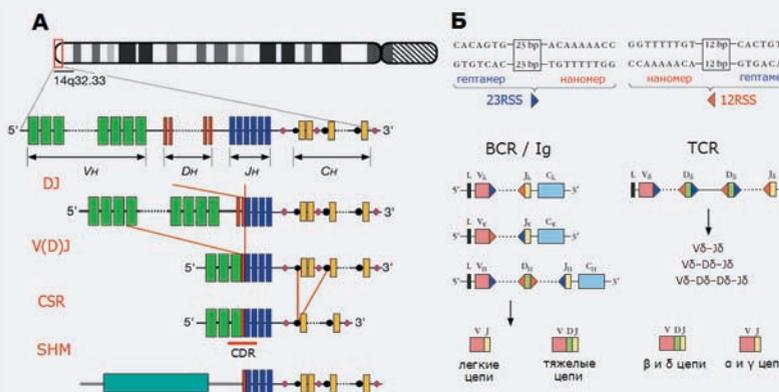


Рис. 1. Процессы рекомбинации в BCR/Ig- и TCR-локусах: (А) Схема IgH-локуса. Локус IgH человека расположен в прителомерной части q-плеча 14-й хромосомы. Он состоит из кластеров V_H (зеленый цвет), D_H (красный цвет), J_H (синий цвет) и C_H (желтый цвет) генных сегментов. Красными линиями отмечены варианты V(D)J- и CSR-рекомбинаций, горизонтальной красной чертой – гиперварибельная область (CDR), модифицируемая при SHM. Красные ромбы – энхансеры транскрипции, черные кружки – S-сигналы CSR-рекомбинации в C_H -области. Внизу показан типичный случай хромосомной транслокации, в результате которой онкоген (темно-зеленый прямоугольник) попадает в IgH-локус (см. рис. 1); (В) Сверху показана структура 12RSS и 23RSS (bp – base pairs = п. н.). В центре слева изображено расположение 12RSS и 23RSS на различных генных сегментах Igl, Igk и IgH-локусов. В результате VJ- и V(D)J-рекомбинации собираются варибельные области легких и тяжелых цепей BCR/Ig соответственно (внизу слева). В центре справа показано расположение RSSs на различных генных сегментах TCR δ -локуса. Асимметричное расположение RSSs на $D\delta$ -сегментах приводит к возможности альтернативного соединения и возникновения различных вариантов TCR δ -цепи. Это является важным механизмом повышения разнообразия TCR, учитывая, что SHM/CSR-реакции в Т-клетках отсутствуют. Внизу приведены структуры собранных варибельных регионов области α , β , δ и γ цепей TCR. Рисунок адаптирован из статьи М. Dyer et al. [39] и монографии Т. Kindt et al. [40]

Для правильной сборки функциональных генов из различных сегментов с помощью рекомбинации необходимо, чтобы этот процесс происходил очень точно. Для этого все варибельные сегменты снабжены специальными метками – RSS (recombination signal sequences), которые представляют собой 2 очень консервативные последовательности ДНК – гептамер (7 п. н.) и наномер (9 п. н.), разделенные спейсерами размером 12 (12RSS) или 23 п. н. (23RSS) (рис. 1Б). Размеры спейсеров примерно соответствуют длине 1 (12RSS) или 2 (23RSS) витков спирали ДНК, поэтому их также называют «один виток» (one-turn) RSS и «два витка» (two-turn) RSS. То есть сигнальные последовательности (гептамер и наномер) 12RSS и 23RSS находятся на одной стороне спирали ДНК, но на расстоянии 1 или 2 витков ДНК друг от друга. Такая конфигурация позволяет ферментам V(D)J-рекомбинации различать сегменты с разными RSS, и соединять сегменты, несущие 12RSS, только с 23RSS сегментами («правило 12/23»). Рекомбинация осуществляется с помощью так называемой «V(D)J-рекомбиназы», которая на самом деле является сложным комплексом различных белков. В этот комплекс входят нуклеазы RAG1 и RAG2 (recombination activating gene), которые вносят в ДНК двунитевые разрывы (DSBs, **double-strand breaks**) в области сигнальной последовательности (гептамера). После этого DSBs восстанавливаются клеточной системой репарации, которая соединяет негомологичные участки разрыва ДНК (NHEJ, **nonhomologous DNA end-joining**) путем соединения DSBs из разных локусов. Этот процесс сопровождается потерей фрагмента ДНК, который ранее разделял сайты рекомбинации. Кроме того, в момент соединения DSBs терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза (TdT) добавляет к месту стыковки DSBs несколько (N) случайных нуклеотидов, что является еще одним механизмом разнообразия репертуара молекул BCR/Ig и TCR.

Сочетание разных сегментов в BCR/Ig-локусах происходит постепенно в процессе развития В-лимфоцитов, сначала осуществляется DJ-рекомбинация, приводящая к соединению D- и J-сегментов, а затем V(D)J-рекомбинация завершает сборку варибельных VDJ-участков (рис. 1А и рис. 2). Собранные таким образом рецепторы экспрессируются на мембранах и если они функциональны, то внутриклеточные эффекторы BCR- и TCR-сигнализации подавляют рекомбинационную активность в клетке, предотвращая рекомбинации на гомологичных парах хромосом (аллельное исключение). В редких случаях (аутоиммунная активность BCR) в незрелых В-клетках может снова стимулироваться RAG1/2-активность, которая приводит к новому раунду рекомбинаций в Igk- и/или Igl-локусах гомологичных хромосом (редактирование рецептора).

в которых арест дифференцировки происходит на уровне пре-В- и пре-Т- (DN) клеток – незрелых В- (наивных) или Т- (DP) клеток; 3) опухоли, возникшие из зрелых В- или Т-клеток (рис. 2) [6]. К опухолям 1-й группы относятся почти все В-клеточные острые лимфобластные лейкозы (В-ОЛЛ), которые по спектру генетических aberrаций очень схожи с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ). Транслокации, связанные с *BCR/Ig*-рекомбинациями при В-ОЛЛ, не выявляются, за исключением редких случаев развития классических лимфом (например, ЛБ) по лейкозному «сценарию», с потерей привязанности к определенной анатомической локализации. Рекуррентные онкогенные транслокации, затрагивающие *BCR/Ig*-локус, происходят и в пре-В-клетках, однако их «реализация» отодвинута во времени из-за особенностей регуляторного механизма в *BCR/Ig*, который в *TCR*-локусах отсутствует.

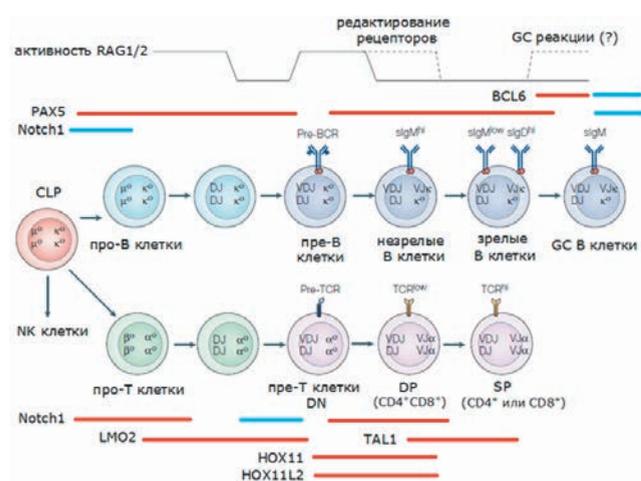


Рис. 2. Активность *V(D)J*-рекомбинации и стадии развития лимфоидных клеток

Показаны основные стадии развития В- и Т-клеток с указанием рекомбинационных процессов (*DJ*, *VDJ*, *VJ*) и экспрессирующихся на поверхности клеток *BCR*- (*sIg*) и *TCR*-рецепторов. Сверху представлен уровень активности *RAG1/2*-комплекса. Также показана экспрессия (ассоциированная со стадиями развития) некоторых протоонкогенов, которые принимают участие в дифференцировке В- (сверху) и Т-клеток (внизу) и часто становятся мишенью онкогенных aberrаций. Некоторые протоонкогены (как, например, *Notch1* или *PAX1*) экспрессируются на разных стадиях развития лимфоцитов, причем в одних случаях они могут активировать или поддерживать (красные линии), а в других – блокировать (синие линии) клеточную дифференцировку в определенном направлении [6, 14–16]. Рисунок адаптирован из статьи М. Schlissel [17].

CLPs – common lymphoid progenitors; *DN* и *DP* – двойные негативные и позитивные (по экспрессии *CD4* и *CD8*) Т-клетки соответственно; *hi* (высокий) и *low* (низкий) уровень экспрессии *BCR* (*sIg*).

Интересно, что у некоторых лимфом, имеющих хромосомные транслокации, индуцированные *V(D)J*-рекомбинацией (табл. 2) и приобретенные на стадии пре-В-клеток, манифестация опухоли происходит на более поздней стадии зрелых В-клеток. Этот феномен объясняется тем, что в *IgH*-локусе

присутствует несколько энхансеров транскрипции, участвующих в формировании комплексов активации транскрипции путем образования петель ДНК (см. [1], Приложение 2). Один из них (*iEμ*) расположен между варибельной и *C_H*-частями *IgH*-локуса, активен в пре-В- и незрелых В-клетках и действует на небольшое расстояние, образуя короткие петли ДНК. Поэтому *iEμ*-энхансер может активировать транскрипцию только после *V(D)J*-рекомбинации, которая сближает *iEμ* с промоторами *BCR/Ig*-генов, расположенными перед каждым *V*-генным сегментом (см. Приложение 1, рис. 1А). В зрелых клетках *iEμ* инактивируется или вообще удаляется в процессе *CSR*, и транскрипция *BCR/Ig* регулируется *IgH3'RR*-энхансером, который расположен в конце *C_H*-локуса и активен на значительные расстояния – до 200 тыс. п. н. (рис. 1А) [13, 15]. В пре-В-клетках уровень экспрессии онкогена, встроенного в *IgH*-локус в результате *V(D)J*-рекомбинации, без помощи энхансера (*iEμ* «не дотягивается» до промотора) будет низким, недостаточным для трансформации. Но после переключения энхансеров на более поздних стадиях развития В-клеток, сильный *IgH3'RR*-энхансер обеспечивает высокий уровень транскрипции онкогена, и происходит своего рода «отсроченная» малигнизация.

Рекуррентные aberrации, встречающиеся во многих типах лимфоидных опухолей, приводят к активации генов, которые контролируют программы клеточной дифференцировки. Чаще всего такая активация связана с перемещением этих генов в *BCR/Ig*- (В-клеточные опухоли) или *TCR*- (Т-клеточные опухоли) локусы в результате хромосомных транслокаций. Программа дифференцировки клетки состоит из сложной иерархии сменяющих друг друга в пространстве и времени каскадов транскрипционных активностей. Решение о включении программы определяется взаимодействием между внутренними и внешними сигналами (см. [1], глава II). Обычно такие транскрипционные программы запускаются и контролируются ограниченным числом ключевых факторов транскрипции («мастер-факторов») – своего рода «спусковых крючков» (триггеров), которые имеют много генов-мишеней. Гены, которые часто подвергаются атакам в лимфоидных опухолях, кодируют именно такие факторы транскрипции. После запуска программы в клетке формируется специфичный набор (паттерн) активированных генов, продукты которых определяют клеточный фенотип на данном этапе развития. Паттерны транскрипции клеток разных тканей и разного уровня дифференцировки, а также клеток при различных патологиях сегодня интенсивно изучаются с использованием технологии «микрочипов» (*microarray*), которая позволяет получить так называемый профиль геной экспрессии, выявляющий большинство активных генов.

Приложение 2. Созревание лимфоцитов в периферических лимфоидных органах и происхождение гематологических опухолей

В ранних лимфоидных клетках-предшественниках (про-В- и про-Т- клетках) процессы V(D)J-рекомбинации еще не происходят, что является одним из маркеров этих клеток. На более поздних этапах развития в клетках появляется рекомбинационная активность, и они переходят в категорию пре-В- и пре-Т-клеток. В дальнейшем незрелые В- и Т-клетки мигрируют из костного мозга в лимфатические органы и тимус соответственно, где продолжается их дифференцировка (см. рис. 2).

В «темной зоне» герминативных центров (GC, germinal centre) (рис. 11) антиген-активированные клетки (здесь они называются центробластами) стимулируются стромой к активной пролиферации. Причем каждое клеточное деление сопровождается введением большого числа мутаций (SHM, somatic hypermutation) в область контакта BCR/Ig с антигеном – гипервариабельную область (CDR, complementarity determining region) (рис. 1). Триггером SHM является цитидин-дезаминаза, индуцируемая активацией (AID, activation-induced cytidine deaminase), которая осуществляет превращение цитозина в урацил во многих местах CDR. Репарация такого рода повреждений ДНК приводит к возникновению DSBs, ликвидация которых системами репарации приводит к появлению мутаций в CDR. Механизм возникновения этих мутаций отличается от того, который наблюдается при V(D)J-рекомбинации, так как в клетках уже отсутствует TdT-активность. Центробласты мигрируют из «темной зоны» в «светлую зону» GC (теперь они называются центроцитами), где подвергаются селекции по силе связывания BCR с антигеном иммунизации. Центроциты с низкой avidностью уничтожаются цитотоксическими Т-киллерами путем индукции в них процессов апоптоза. В-клетки с высокой avidностью переживают атаки Т-киллеров, так как прочная связь BCR с антигеном приводит к устойчивой BCR-сигнализации, активирующей фактор транскрипции kB (NF-kB, nuclear factor kB), который, в свою очередь, повышает выживаемость клеток, стимулируя синтез антиапоптотических белков. Выжившие центроциты вступают в дальнейшую дифференцировку, в ходе которой они превращаются в зрелые В-клетки памяти или плазмобласты. Незрелые В-лимфоциты экспрессируют молекулы BCR/Ig, которые содержат ближайший к вариабельной области C_H генный сегмент, а именно C_{H1} (BCR/IgM). При дальнейшей дифференцировке происходит диверсификация тяжелой цепи BCR/Ig за счет замены C_{H1} -сегмента в первичных BCR/IgM-генах на другие сегменты C_H -локуса. Такой процесс сдвига изотипа осуществляется за счет рекомбинации переключения класса (CSR, class-switch recombination). Так как RAG1/2-активность на этом этапе развития В-клеток отсутствует или крайне мала, а активность AID очень высока, то именно AID индуцирует CSR-перестройки. AID модифицирует цитозины в сайтах «переключения» (S, switch), расположенных между разными сегментами в C_H -локусе (рис. 1A). Возникновение DSBs около разных C_H -сегментов индуцирует рекомбинацию, при которой удаляется участок ДНК между этими сегментами и вариабельной частью BCR/Ig-гена, что приводит к образованию BCR/Ig-генов с разными C_H -экзонами (C δ , C γ , C ϵ и C α).

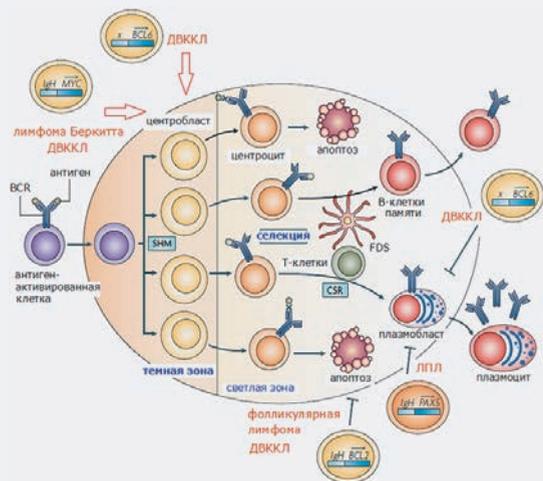


Рис. 11. Схема, показывающая основные процессы, протекающие в GC (подробности в тексте). Красным цветом выделены некоторые виды лимфом, которые могут возникать и прогрессировать в GC (см. главы II и III), внутри силуэтов опухолевых клеток показаны активированные онкогены. Красные стрелки означают пролонгацию стадии центробласта, черные тупые стрелки — блокировку процесса (апоптоза) или клеточной дифференцировки. FDCs (follicular dendritic cells) — антиген, представляющий клетки в GC. Рисунок адаптирован из статьи U. Klein et al. [26]

Программы дифференцировки центроцитов в В-клетки памяти или плазмобласты/плазмочиты содержат важный этап «переключения» характера процессинга (созревания) мРНК BCR/Ig. В результате альтернативного сплайсинга из мРНК BCR/Ig в плазмочитах удаляется расположенный в C_H -локусе экзон, который кодирует трансмембранный (ТМ) домен белка, в результате чего плазмочиты синтезируют главным образом секретиремый продукт BCR/Ig-гена (иммуноглобулины). Сплайсинг мРНК в В-клетках памяти проходит с сохранением ТМ-эксона, что приводит к синтезу связанного с мембраной белка (BCR).

Геномные aberrации, приводящие к нарушению нормальной экспрессии ключевых регуляторов дифференцировки, блокируют нормальный ход развития лимфоцитов, не отменяя предшествующих этапов («консервация» клеток на определенной стадии развития путем поддержания специфичного паттерна экспрессии). Сами по себе эти изменения, как правило, не могут вызвать развитие злокачественной опухоли, однако «арест» дифференцировки приводит к активной клональной пролиферации (экспансии) клеток, несущих

инициирующую онкогенез aberrацию. Увеличение клеточной массы, в свою очередь, повышает вероятность возникновения дополнительных мутаций, приводящих к малигнизации первичных лейкозных клеток. Такие дополнительные aberrации могут иметь разную природу и воздействовать на различные клеточные процессы, поэтому они порождают дифференциацию опухолевой эволюции, что проявляется в существовании нескольких молекулярных подтипов опухолей с идентичной инициирующей aberrацией.

Глава III. Геномные aberrации при В-клеточных неоплазиях

В рамках данного курса лекций рассмотреть все рекуррентные онкогенные aberrации, приведенные в табл. 1 и 2, не представляется возможным, тем более что по своей сути такие aberrации при В-ОЛЛ мало чем отличаются от тех, что встречаются при ОМЛ [3]. Хромосомные транслокации с участием «мастер»-фактора *AML1* (*RUNX1*) происходят как при ОЛЛ, так и при ОМЛ. При одной из самых распространенных при В-ОЛЛ транслокаций *t*(12;21) геном-партнером *AML1* является *TEL* (*ETV6*), кодирующий репрессор транскрипции, как и *ETO* – ген-партнер *AML1* при ОМЛ. В результате оба химерных белка (*TEL-AML1* и *AML-ETO*), несущие «репрессорные» домены *TEL* или *ETO*, при связывании с промоторами генов-мишеней *AML1* вместо кофакторов активации транскрипции рекрутируют репрессирующие транскрипцию белки, что приводит к «аресту» дифференцировки клеток-предшественников и лейкозогенезу [19, 20]. Одно из вероятных объяснений того, почему при ОМЛ ген *AML1* рекомбинирует с геном *ETO*, а при В-ОЛЛ – с *TEL*, будет изложено далее. Предлагаю читателю несколько хороших обзоров по молекулярным aberrациям при В-ОЛЛ [6, 20–23], а в заключение главы кратко рассмотрим 2 интересных примера патогенеза В-клеточных лейкозов и лимфом.

«Арест» дифференцировки клеток может быть обусловлен нарушением функций активаторов или репрессоров транскрипции. Но есть такие регуляторы, которые могут одновременно действовать и как активаторы, и как репрессоры транскрипции. К таким регуляторам относится *PAX5*, родственный *НОХ*-факторам транскрипции (см. главу IV) белок, который контролирует коммитирование общих лимфоидных предшественников в В-клеточном направлении дифференцировки, и экспрессия которого необходима на многих стадиях развития В-лимфоцитов (рис. 2) [24]. Такая особенность *PAX5* связана с наличием у него доменов, которые могут связываться с коактиваторами или корепрессорами транскрипции (см. [1], Приложение 3). *PAX5* активирует транскрипцию генов, которые необходимы для В-клеточного развития (например, *CD19*, основной рецептор *BCR*-сигнализации), и подавляет активность генов, определяющих не-В-клеточную дифференцировку (например, *FLT3* и *Notch*). Поэтому инактивирующие мутации/делеции гена *PAX5* в про-В клетках приводят к аресту дифференцировки и могут инициировать развитие про-В-клеточного ОЛЛ (табл. 1). На поздних этапах созревания В-клеток *PAX5* подавляет экспрессию генов (в частности *XBP1*), индуцирующих дифференцировку плазмобластов в плазмочиты. Это приводит к тому, что активация гена *PAX5* в результате его транслокации в *IgH*-локус вызывает развитие лимфоплазмочитарной лимфомы [22–24] (табл. 2).

Самая запутанная ситуация сложилась с определением диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ), к которой относятся опухоли, возникшие из клеток герминативного центра (ГС, см. Приложение 2). Традиционный цитоморфологический/иммунофенотипический подход свел «много разных заболеваний в одну диагностическую категорию» [23]. При ДВККЛ выявляется несколько рекуррентных хромосомных aberrаций (табл. 2), при которых активируются гены, контролирующие совершенно разные клеточные функции [23, 25]. Это отличает ДВККЛ, например, от ювенильного миеломоноцитарного лейкоза (ЮММЛ), при котором нарушения в разных генах приводят к активации одного сигнального пути [3], или от Т-ОЛЛ, где набор гетерогенных aberrаций вызывает с помощью различных механизмов активацию одного «мастер»-фактора (*Notch1*, глава IV). К ДВККЛ относят варианты опухолей, при которых в клетках с *ГС*-фенотипом активируются гены, кодирующие разные регуляторные белки. Это может быть фактор активации транскрипции *c-MYC*, фактор репрессии транскрипции *Bcl-6* или основной антиапоптотический белок *Bcl-2*. Все эти aberrации приводят к увеличению пролиферативного потенциала (*c-MYC*) или выживаемости (*Bcl-6* и *Bcl-2*) *ГС*-клеток. Сегодня ДВККЛ подразделяют на несколько подгрупп, но лишь одна из них (*ГСВ*, *germinal-center B-cell*), объединяющая случаи с *t*(14;18)/*IgH-Bcl-2*-транслокацией, кажется логически обоснованной. Действительно, негативная селекция В-клеток в *ГС* (см. Приложение 2) будет способствовать отбору клеток, синтезирующих повышенный уровень *Bcl-2*. Такие клетки могут длительное время выживать и пролиферировать в агрессивном микроокружении *ГС* до тех пор, пока не приобретут дополнительные повреждения, необходимые для малигнизации. Поэтому *ГСВ*-подгруппу ДВККЛ, вероятно, можно выделить в отдельную диагностическую категорию, имеющую специфичный молекулярный маркер.

Следует отметить, что все рекуррентные aberrации, описанные для ДВККЛ, сами по себе не могут вызвать злокачественную трансформацию В-клеток [23, 26]. Они, как правило, только создают «привилегированные условия» для существования мутантных клеток в условиях *ГС*, способствуя их выживанию и накоплению опосредованных *AID* вторичных онкогенных мутаций. Именно разнообразие таких вторичных мутаций вносит существенный вклад в полиморфный, трудный для систематизации характер протекания различных молекулярных вариантов ДВККЛ. Действительно, у здоровых людей часто обнаруживают В-клетки с *t*(14;18)/*IgH-Bcl-2*-транслокацией. Эта аномалия даже получила особое определение – «В-клетки типа фолликулярной лимфомы» (*follicular lymphoma-like B cells*), которые, как правило, уже «прошли» через *ГС*, претерпели определенные *SHM/CSR*-модификации и циркулируют в качестве В-клеток памяти без каких-



Приложение 3. Архитектура интерфазного клеточного ядра

ДНК отдельных хромосом в интерфазном ядре расположены не хаотически, а занимают определенные территории (chromosome territory) (рис. IIIA). Расположение территорий разных хромосом не случайно, оно может варьировать в клетках разных тканей и в клетках крови разного происхождения [44]. Различные участки ДНК имеют разную степень упаковки (конденсацию), что определяет поляризацию территорий хромосом. Участки, обедненные генами (гетерохроматин), более сильно сконденсированы и располагаются ближе к ядерной мембране. Транскрипционно активные участки, обогащенные генами (эухроматин), ориентированы внутрь ядра. Территории хромосом являются динамичными образованиями. Отдельные локусы ДНК могут передвигаться в ядре и приходить в соприкосновение с ДНК одной или нескольких хромосом («генные поцелуи», gene kissing) (рис. IIIB). Такие контакты между разными хромосомами могут происходить в специализированных компартментах интерфазного ядра, выполняющих определенные функции. Это могут быть, например, так называемые «фабрики транскрипции» (transcription factories), крупные субмолекулярные структуры, в которых повышена концентрация различных компонентов «машины» транскрипции [45, 46]. Такие зоны активной транскрипции могут формироваться с участием петель активного хроматина, принадлежащих одной или нескольким хромосомам. «Фабрики транскрипции» являются мобильными структурами, они появляются и исчезают в разных участках ядра, вовлекая в транскрипцию различные наборы генов. Паттерны «фабрик транскрипции», представляющие собой определенное отражение конфигурации активных участков генома, различаются в клетках разного происхождения и на разных стадиях их дифференцировки [13].

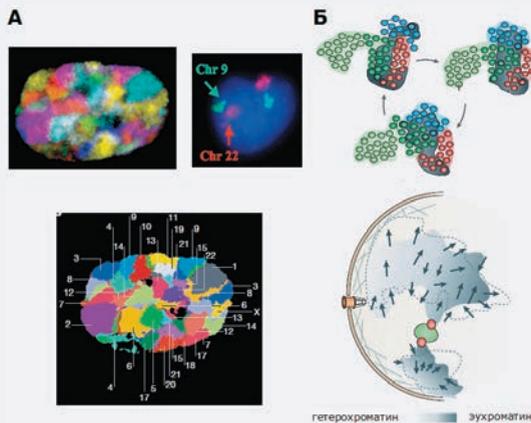


Рис. III. Территории хромосом и мобильность ДНК в ядре клетки: (А) Вверху слева показан снимок интерфазного ядра, в котором ДНК каждой хромосомы окрашена с помощью специфических для каждой хромосомы ДНК-зондов, несущих флуорофор определенного цвета. Внизу представлена расшифровка верхней фотографии с указанием положения территории каждой хромосомы. Ближайшее окружение для пар гомологичных хромосом может совпадать или различаться. Например, обе пары гомологичных хромосом 9 и 22 (участвующие в транслокации t(9;22) при ХМЛ) располагаются в соседних компартментах ядра (вверху справа на этом снимке окрашены только 9-я и 22-я хромосомы); (Б) Вверху показана реконструкция наблюдений перемещения в течение определенного времени (показано 3 позиции) отдельных участков ДНК 3 хромосом (окрашены разным цветом) в область активного хроматина (темное поле).

В хроматине можно выделить отдельные «домены» размером ≈ 1 млн п. н. (показаны кружками), которые имеют разную подвижность в ядре. Более интенсивно окрашенные кружки указывают области хромосом, обогащенные генами. Внизу представлена схема, отражающая перемещение (стрелки) отдельных локусов 2 хромосом (контуры территорий хромосом очерчены пунктирной линией). Более темные области хроматина соответствуют обогащенным генами хромосомным локусам (эухроматин). Два активных локуса разных хромосом (красные кружки) перемещаются в область «фабрики транскрипции» (зеленый цвет). Рисунок адаптирован из работ М. Speicher & N. Carter [41], А. Guffei et al. [42] и С. Lancot et al. [43]

либо морфологических признаков трансформации. Такого типа клетки (с первичными aberrациями генов *Vcl-2*, *c-MYC* или *Vcl-6*) могут быть источником недавно описанной группы лимфом зрелых В-клеток, имеющих сразу 2 рекуррентные aberrации — так называемые лимфомы с «двойным поражением» (DH, double hit) [27]. Наиболее частой комбинацией повреждений генома в DH-лимфомах является активация генов *c-MYC* и *Vcl-2*, которая приводит к увеличению онкогенного потенциала опухолевых клеток, их клональной экспансии и агрессивному, плохо поддающемуся терапии течению заболевания.

Глава IV. Геномные aberrации при Т-клеточных неоплазиях

В случае Т-ОЛЛ все рекуррентные хромосомные транслокации активируют гены (*TAL1*, *LYL1*, *LMO2*, *HOX11*, *HOX11L2*), участвующие в поддержании дифференцировки Т-лимфоцитов на определенных стадиях их развития (табл. 1, рис. 2) [14, 28]. Кроме этих изменений для Т-ОЛЛ описано множество нарушений, которые, однако, нельзя отнести к рекуррент-

ным или диагностическим из-за их раритетности или повсеместной встречаемости во многих опухолях человека, хотя была попытка как-то упорядочить эти многочисленные aberrации, разнеся их на несколько функциональных групп [29]. Из «классических», собранных в кластеры семейств *HOX*-генов (*HoxA*, *HoxB*, *HoxC* и *HoxD*), отвечающих за правильное позиционирование в пространстве и времени различных частей тела во время эмбриогенеза (так называемый «HOX-код»), в патогенных aberrациях при Т-ОЛЛ крайне редко участвуют гены только *HoxA*-семейства. Зато некоторые *HOX*-гены (*HOX11* и *HOX11L2*), которые рассеяны по всему геному и не входят в кластеры *HoxA–HoxD*-семейств, часто вовлекаются в хромосомные транслокации при Т-ОЛЛ [30]. Условно к группе «HOX-aberrаций» можно отнести и многочисленные транслокации с участием гена *MLL*, так как он кодирует «мастер»-фактор, регулирующий активность *HOX*-генов [3].

Однако в последние годы было установлено, что настоящим молекулярным маркером опухолей Т-клеточного происхождения является ген,

кодирующий Notch1-рецептор [15, 31, 32]. Notch-сигнализация, вероятно, является примером древнейшего способа коммуникации между клетками в многоклеточных организмах, о чем свидетельствует функциональная универсальность Notch-белков: они одновременно являются и мембрано-связанными рецепторами и «мастер»-факторами транскрипции (рис. 3А). При очень редкой ($\approx 1\%$ случаев Т-ОЛЛ) хромосомной транслокации t(7;9)(q34;q34.3) происходит перенос части *Notch1*-гена, лишенной почти всего внеклеточного домена, в TCR β -локус. Это приводит к аномально высокому уровню экспрессии лиганд-независимого рецептора, внутриклеточная часть которого (ICN) конститутивно активирует свои гены-мишени. Наиболее часто происходят мутации в HD- и PEST-доменах, которые приводят к лиганд-независимому расщеплению рецептора и стабилизации ICN-комплексов активации транскрипции соответственно (рис. 3Б). Такие мутации встречаются в $\approx 50\%$ случаев Т-ОЛЛ. Но, кроме этого, в $\approx 30\%$ случаев наблюдаются мутации, инактивирующие негативный регулятор ICN-комплексов (FBW7). Таким образом, в 80% случаев Т-ОЛЛ наблюдается аномальная активация Notch1-сигнальной системы.

Notch1 участвует в регулировке Т-клеток на разных этапах их развития (рис. 2). В норме сила и продолжительность Notch-сигнализации полностью зависит от клеток микроокружения, несущих Notch-лиганды, поэтому уровень активности Notch1 может сильно варьировать в различных компартментах тимуса. Это важный момент, так как развитие Т-клеток во многом определяется согласованным взаимодействием TCR-сигнализации с Notch1-сигналами разной интенсивности, которое, как считается, контролирует выживание и линейное коммитирование тимоцитов [33]. Поэтому аномально высокий уровень Notch1-сигнализации может, вероятно, приводить к самым разным результатам на определенных этапах развития Т-клеток: от коммитирования тимоцитов преимущественно в каком-то одном направлении или «ареста» их дифференцировки до клеточной гибели. «Онкогенным» вариантом, по всей видимости, будет «арест» дифференцировки Т-клеток, приводящий к их избирательному выживанию и/или клональной экспансии. В случае приобретения дополнительных опухолеродных aberrаций из этих клеток могут развиваться опухоли, в которых будут обнаружены различные повреждения Notch1-сигнализации. Способность мутаций, активирующих Notch1-сигнализацию, содействовать трансформации Т-клеток на нескольких этапах их развития не позволяет Notch1 быть диагностическим маркером, выявляющим опухоли разной этиологии. Однако компоненты Notch1-сигнального пути могут быть прекрасной мишенью для разработки новых перспективных таргетных препаратов для лечения Т-клеточных гемобластозов.

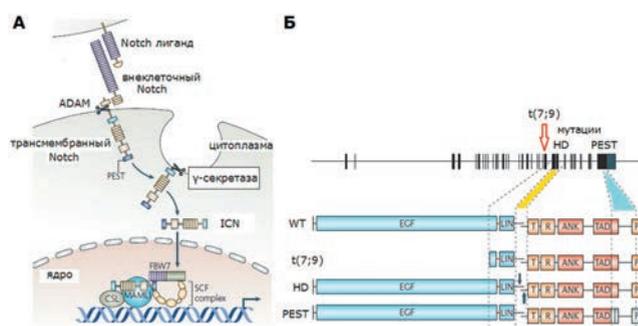


Рис. 3. Notch1-сигнализация (А) и ее нарушение при Т-ОЛЛ человека (Б): (А) Рецептор Notch1 синтезируется в виде одного полипептида, который при созревании разрезается на 2 части (внеклеточную и трансмембранную), соединенные друг с другом через домены гетеродимеризации (HD). При связывании с лигандом в HD происходят конформационные изменения, что приводит к его расщеплению металлопротеазой межклеточного матрикса ADAM и γ -секретазой. Освободившаяся от мембраны внутриклеточная часть рецептора (ICN) является фактором транскрипции. ICN перемещается в ядро, где совместно с несколькими кофакторами (CSL, MAML1) формирует комплексы активации транскрипции на промоторах генов-мишеней. ICN не имеет ДНК-связывающего домена (в комплексах эту функцию выполняет CSL), но он содержит много доменов и повторов (R, ANK и TAD на рис. 3Б), через которые может осуществлять различные белок-белковые взаимодействия, необходимые для формирования комплексов активации транскрипции. E3 убиквитин-лигаза FBW7 (компонент SCF-регуляторного комплекса) связывается с PEST-доменом ICN и убиквитинирует его. После чего ICN становится мишенью для протеасомной деградации (см. [2], Приложение 3); (Б) Сверху показана схема строения гена, кодирующего Notch1 (вертикальные черные полосы — экзоны), который состоит из 34 экзонов. Хромосомная транслокация t(7;9) приводит к удалению почти всей внеклеточной части рецептора и образованию конституционно активной внутриклеточной части Notch1. Мутации в HD-домене (область мутаций в экзонах 26 и 27 отмечена желтым цветом) приводят к лиганд-независимому расщеплению рецептора и освобождению ICN. Онкогенные мутации в PEST-домене (34-й экзон, область мутаций отмечена голубым цветом) приводят к нарушению его связывания с FBW7 и, следовательно, делают комплексы активации транскрипции стабильными. ADAM — a disintegrin and metalloproteinase; HD — heterodimerization domain; ICN — intracellular domains of Notch; PEST — proline- (P), glutamic-acid- (E), serine- (S) & threonine- (T) rich; WT — wild type. Рисунок адаптирован из работ I. Aifantis et al. [14] и C. Grabher et al. [15]

Глава V. Возможные механизмы генерации рекуррентных хромосомных транслокаций

Двунитевые разрывы ДНК (DSBs) являются триггерами хромосомных рекомбинаций при сборке функциональных генов BCR/Ig и TCR (см. главу II). Ошибки RAG1/2-рекомбиназ и/или чрезмерная активность AID могут приводить к возникновению DSBs в эктопических участках ДНК на других хромосомах (рис. 2). Кроме того, многие внешние и внутренние мутагенные факторы индуцируют образование DSBs. В делящейся клетке возникает ≈ 10 DSBs в день и не все они ликвидируются системой репарации ДНК надлежащим образом [34]. Расчеты показывают, что в организме каждый день ≈ 1000 В-клеток (где особенно часто индуцируются DSBs) могут генерировать случайные хромосомные транслокации [35]. К счастью, подавляющее большинство таких транслокаций носит нейтральный

характер и не дает клеткам никаких селективных преимуществ.

Но все равно остается неясным, почему в клетках одного типа с завидной постоянностью происходят определенные хромосомные транслокации, а в других их не наблюдается, зато часто встречаются другие транслокации? По всей видимости, здесь важнейшим фактором являются отличия в организации хроматина в ядрах этих клеток, способствующие физическому сближению определенных хромосомных локусов. Такие механистические факторы, повышающие вероятность возникновения специфических хромосомных транслокаций в клетках определенного вида (и даже на определенном этапе их развития), связаны с особенностями архитектуры их интерфазных ядер. К понятию «архитектура интерфазного ядра» в контексте возникновения специфичных транслокаций относятся: 1) взаиморасположение территорий хромосом, участвующих в транслокации; 2) взаиморасположение локусов этих хромосом, в которых наиболее часто происходят взаимные рекомбинации (см. Приложение 3). Конфигурация хромосомных территорий в ядре может изменяться в клетках не только разных тканей, но и в клетках, находящихся на разных ступенях своего развития. Таким образом, задействованные в транслокациях хромосомы могут находиться в непосредственной близости в клетках определенного типа дифференцировки. Сближение локусов хромосом, участвующих в транслокациях, может происходить при создании «фабрик» транскрипции, паттерн которых может существенно меняться в процессе клеточного развития. Подтверждением того, что активный хроматин, формирующий «фабрики транскрипции», может быть мишенью транслокаций, является тот факт, что белок RAG2 имеет PHD-домен, который узнает и взаимодействует с H3K4me – меткой активного хроматина (см. [1], Приложение 4) [13]. То есть RAG1/2-комплекс «работает» в области инициации транскрипции, там, где произошла модификация гистонов, приводящая к ослаблению их связи с ДНК, – в такой «открытой» форме ДНК становится доступна не только для RAG1/2, но и для мутагенных факторов, способных генерировать DSBs. Предполагается, что V(D)J-рекомбинация может осуществляться в специализированных «центрах рекомбинации» (recombination centres), существующих в рамках «фабрик транскрипции», где в условиях активного (открытого) хроматина локально сконцентрированы различные RSSs из BCR/Ig- или TCR-локусов

и ферменты комплекса рекомбинации [36]. Понятно, что если такие центры действительно формируются, то наличие в непосредственной близости от них (в той же «фабрике транскрипции») открытых локусов других хромосом существенно повышает вероятность возникновения рекуррентных транслокаций. Дискуссионным остается вопрос о существовании в ядрах клеток млекопитающих специализированных «ремонтных фабрик» (repair factories), где бы аккумуляровались и подвергались репарации DSBs (и где легко «перепутать» концы ДНК от разных хромосом, что приведет к транслокации). У дрожжей локальные структуры такого рода были обнаружены [13].

Сегодня есть ряд доказательств, подтверждающих важную роль механистических факторов (физическое сближение) и активности хроматина (доступность ДНК) в индукции рекуррентных хромосомных aberrаций. Так, например, при ЛБ с разной частотой выявляется несколько типов хромосомных транслокаций, приводящих к перемещению гена *c-MYC* в различные BCR/Ig-локусы (табл. 2). Выяснилось, что частота встречаемости каждого варианта транслокации пропорциональна расстоянию гена *c-MYC* от IgH, Igλ и Igκ-локусов в ядрах В-лимфоцитов [13]. Было также показано, что локализация и конформация BCR- и TCR-локусов изменяется на разных этапах развития В- и Т-клеток, соответственно [37], а специфичные геномные локусы (типа IgH и *c-MYC*) имеют очевидную предрасположенность к частым хромосомным перестройкам [35]. Кроме того, было установлено, что в активированных В-клетках мыши хромосомные локусы IgH и *c-MYC* локализуются в одной «фабрике транскрипции» [38].

В рамках описанных выше представлений можно предположить, почему в миелоидных клетках ген *AML1* рекомбинирует с геном *ETO*, а в лимфоидных – с *TEL* (см. главу III). Эти клетки, вероятно, могут отличаться друг от друга паттернами «фабрик транскрипции» и архитектурой хромосомных территорий. То есть, в промиелообластах ген *AML1* экспрессируется в одной (или соседней) «фабрике» с геном *ETO*, а совместная его экспрессия с геном *TEL* затруднена конфигурацией хромосомных территорий. В пролимфообластах ситуация, вероятно, повторяется «с точностью до наоборот»...

В заключительной лекции будут рассмотрены принципы выбора молекулярных мишеней для создания таргетных препаратов и современные подходы к разработке эффективных лекарств для противоопухолевой терапии.

Л и т е р а т у р а

1. Домнинский Д.А. Молекулярные механизмы лейкозогенеза. Лекция № 1. Онкогематол 2010;4:49–56.
2. Домнинский Д.А. Молекулярные механизмы лейкозогенеза. Лекция № 2. Механизмы реализации сигнальной трансдукции. Онкогематол 2011;1:76–84.
3. Домнинский Д.А. Молекулярные механизмы лейкозогенеза. Лекция № 3. Гемобластозы миелоидного происхождения. Онкогематол 2011;3:82–93.
4. Campo E., Swerdlow S., Harris N. et al. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. Blood 2011;117:5019–32.
5. Jaffe E., Harris N., Stein H., Isaacson P. Classification of lymphoid neoplasms: the microscope as a tool for disease discovery. Blood 2008;112:4384–99.
6. Asnafi V., Macintyre E. Molecular pathogenesis of acute lymphoblastic leukaemia: an immunoglobulin/T cell receptor-centric view. Hematol Education (13 Congress EHA) 2008;2:54–63.
7. Chiaretti S., Foa R. T-cell acute lymphoblastic leukemia. Haematol 2009;94:160–2.
8. Bende R., Smit L., van Noesel C. Molecular pathways in follicular lymphoma. Leukemia 2007;21:18–29.
9. Gollin C. Mechanisms leading to nonrandom, nonhomologous chromosomal translocations in leukemia. Semin Cancer Biol 2007;17:74–9.
10. De Mendibil I., Vizmanos J., Novo F. Signatures of selection in fusion transcripts resulting from chromosomal translocations in human cancer. PLoS ONE 2009;4:e4805.
11. Jung D., Giallourakis C., Mostoslavsky R., Alt F. Mechanism and control of V(D)J recombination at the immunoglobulin heavy chain locus. Annu Rev Immunol 2006;24:541–70.
12. Nussenzweig A., Nussenzweig M. Origin of chromosomal translocations in lymphoid cancer. Cell 2010;141:27–38.
13. Gostissa M., Alt F., Chiarle R. Mechanisms that promote and suppress chromosomal translocations in lymphocytes. Annu Rev Immunol 2011;29:319–50.
14. Aifantis I., Raetz E., Buonamici S. Molecular pathogenesis of T-cell leukaemia and lymphoma. Nat Rev Immunol 2008;8:380–90.
15. Grabher C., von Boehmer H., Look L. Notch1 activation in the molecular pathogenesis of T-cell acute lymphoblastic leukaemia. Nat Rev Cancer 2006;6:347–59.
16. Seto M. Genetic and epigenetic factors involved in B-cell lymphomagenesis. Cancer Sci 2004;95:704–10.
17. Schlissel M. Regulating antigen-receptor gene assembly. Nat Rev Immunol 2003;3:890–9.
18. Gostissa M., Yan C., Bianco J. Long-range oncogenic activation of IgH/c-MYC translocations by the IgH 3' regulatory region. Nature 2009;462:803–7.
19. Рулина А., Спиринов П., Прасолов В. Активированные лейкозные онкогены *AML1-ETO* и *c-KIT*: роль в развитии острого миелоидного лейкоза и современные подходы к их ингибированию. Успехи биологической химии 2010;50:349–86.
20. Pui C-H., Relling M., Downing J. Acute lymphoblastic leukemia. New Eng J Med 2004;350:1535–48.
21. Pui C-H., Robison L., Look T. Acute lymphoblastic leukaemia. Lancet 2008;371:1030–43.
22. Teitel M., Pandolfi P. Molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. Annu Rev Pathol Mech Dis 2009;4:175–98.
23. Shaffer A., Rosenwald A., Staudt L. Lymphoid malignancies: the dark side of B-cell differentiation. Nat Rev Immunol 2002;2:920–33.
24. Cobaleda C., Schebesta A., Delogu A., Busslinger M. Pax5: the guardian of B cell identity and function. Nat Immunol 2007;8:463–70.
25. Lenz G., Staudt L. Aggressive lymphomas. New Engl J Med 2010;362:1417–29.
26. Klein U., Dalla-Favera R. Germinal centres: role in B-cell physiology and malignancy. Nat Rev Immunol 2008;8:22–33.
27. Aukema S., Siebert R., Schuurings E. et al. Double-hit B-cell lymphomas. Blood 2011;117:2319–31.
28. Schnell S., Van Vlierberghe P., Ferrando A. The molecular basis of T-cell acute lymphoblastic leukemia. Hematol Education (16 Congress EHA) 2011;5:1–8.
29. Van Vlierberghe P., Pieters R., Beverloo B., Meijerink J. Molecular-genetic insights in paediatric T-cell acute lymphoblastic leukaemia. Brit J Haematol 2008;143:153–68.
30. He H., Hua X., Yan J. Epigenetic regulations in hematopoietic Hox code. Oncogene 2011;30:379–88.
31. Pui C-H. T-cell acute lymphoblastic leukemia: NOTCHing the way toward a better treatment outcome. Cancer Cell 2009;15:85–7.
32. Koch U., Radtke F. Notch in T-ALL: new players in a complex disease. Trends in Immunol 2011;32:434–42.
33. Garbe A., von Boehmer H. TCR and Notch synergize in $\alpha\beta$ versus $\gamma\delta$ lineage choice. Trends in Immunol 2007;28:124–31.
34. Lieber M. The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway. Annu Rev Biochem 2010;79:181–211.
35. McCord R., Dekker J. Translocation mapping exposes the risky lifestyle of B cells. Cell 2011;147:20–2.
36. Schatz D., Ji Y. Recombination centres and the orchestration of V(D)J recombination. Nat Rev Immunol 2011;11:251–63.
37. Jhunjhunwala S., van Zelm M., Peak M., Murre C. Chromatin architecture and the generation of antigen receptor diversity. Cell 2009;138:435–8.
38. Osborne C., Chakalova L., Mitchell J. et al. Myc dynamically and preferentially relocates to a transcription factory occupied by IgH. PLoS Biol 2007;5:e192.
39. Dyer M., Akasaka T., Capasso M. et al. Immunoglobulin heavy chain locus chromosomal translocations in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: rare clinical curios or potent genetic drivers? Blood 2010;115:1490–9.
40. Kindt T., Goldsby R., Osborne B. Kuby Immunology (6 ed.). Freeman & Company, 2006.
41. Speicher M., Carter N. The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. Nat Rev Genetics 2005;6:782–92.
42. Guffei A., Sarkar R., Klewes L. et al. Dynamic chromosomal rearrangements in Hodgkin's lymphoma are due to ongoing three-dimensional nuclear remodeling and breakage-bridge-fusion cycles. Haematol 2010;95:2038–46.
43. Lanctot C., Cheutin T., Cremer M. et al. Dynamic genome architecture in the nuclear space: regulation of gene expression in three dimensions. Nat Rev Genetics 2007;8:104–15.
44. Parada L., McQueen P., Misteli T. Tissue-specific spatial organization of genomes. Genome Biology 2004;5:R44.1–R44.9.
45. Разин С., Гаврилов А., Яровая О. Транскрипционные фабрики и пространственная организация эукариотического генома. Биохимия 2010;75:1477–88.
46. Chakalova L., Fraser P. Organization of transcription. Cold Spring Harb Perspect Biol 2010;2:1–15.

Первичный миелофиброз

Л.М. Мешерякова¹, О.В. Пороткова², Л.Г. Ковалева¹, Л.Ю. Колосова¹, С.Н. Бычкова¹

¹ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России, Москва;

²БУЗ Воронежская областная клиническая больница № 1

Контакты: Людмила Михайловна Мешерякова ludmilagem@mail.ru

В статье представлены литературные данные о идиопатическом миелофиброзе. Приведена классификация, диагностические критерии, относящиеся к идиопатическому миелофиброзу, а также клинические, морфологические и молекулярные особенности первичного миелофиброза. Особое внимание уделено тактике лечения различных клинических форм первичного миелофиброза.

Ключевые слова: идиопатический миелофиброз, классификация, диагностические критерии, клинические формы, первичный миелофиброз

Primary myelofibrosis

L.M. Meshcheryakova¹, O.V. Porotkova², L.G. Kovaleva¹, L.Yu. Kolosova¹, S.N. Bychkova¹

¹Hematological Research Center, Moscow;

²Regional clinical hospital № 1, Voronezh

Literature data of idiopathic myelofibrosis are presented: classification, diagnostic criteria, morphological and molecular features. Particular attention is given to therapy of various clinical forms of primary myelofibrosis.

Key words: idiopathic myelofibrosis, classification, diagnostic criteria, clinical forms, primary myelofibrosis

Впервые идиопатический миелофиброз (ИМФ) описал Neuck в 1878 г. Он представил пациента с анемией, лейкоцитозом, массивной спленомегалией и генерализованным остеосклерозом [1]. Эта болезнь появлялась в литературе под множеством названий: миелофиброз, остеомиелофиброз, миелоидная спленомегалия, идиопатическая миелоидная метаплазия и пр. В 1951 г. В. Дамешек ввел термин «хронические миелопролиферативные заболевания», под которыми объединил истинную полицитемию (ИП), эссенциальную тромбоцитемию (ЭТ), ИМФ, хронический миелолейкоз (ХМЛ) [1]. В 2001 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) в классификацию миелоидных новообразований включила хронический нейтрофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз / гиперэозинофильный синдром и миелопролиферативные заболевания, неклассифицируемые ранее. В 2008 г. согласно классификации ВОЗ термин «хронические миелопролиферативные заболевания» был изменен на «миелопролиферативные новообразования» [2, 3].

Таким образом, ИМФ относится к группе хронических миелопролиферативных новообразований (ХМПН), связан с трансформацией полипотентной стволовой кроветворной клетки, повышенной продукцией миелоидных и стромальных клеток, ранним и значительным развитием фиброза костного мозга и появлением экстрамедуллярных очагов патологического гемопоэза [4–6].

При всем разнообразии клинико-гематологических критериев для Ph-негативных ХМПН общими считаются следующие характеристики:

1. Неизвестная этиология, хотя существуют теоретические предположения о том, что причиной ХМПН могут быть воздействующие химические агенты, радиация, вирусы.

2. Существование пролиферации одной или нескольких клеточных линий в костном мозге или в экстрамедуллярных очагах кроветворения. По мере развития болезни происходит генерализация миелоидной пролиферации в селезенке, печени, надпочечниках и развитие миелоидной метаплазии.

3. Начавшаяся миелопролиферация не останавливается и восстановление нормального кроветворения при имеющихся методах лечения невозможно.

4. Гематологическая и клиническая картины ХМПН зависят от преобладания пролиферации одной из клеточных линий и превалирующего вовлечения в патологический процесс органа или органов.

5. ХМПН могут переходить одно в другое или сочетаться между собой, при этом встречаются переходные, интермедиарные или пограничные формы [5].

Специалисты Международной рабочей группы по изучению и лечению миелофиброза (IWG-MRT) в ноябре 2006 г. стандартизировали номенклатуру, относящуюся к хроническому ИМФ:

1. Первичный миелофиброз (ПМФ).
2. Постэритремический миелофиброз (миелофиброз, развившийся вследствие течения ИП).

3. Посттромбоцитомический миелофиброз (миелофиброз, развившийся вследствие течения ЭТ).
4. Бластная трансформация:
 - бластная трансформация ПМФ;
 - бластная трансформация постэритремического миелофиброза;
 - бластная трансформация посттромбоцитомического миелофиброза [7].

По данным иностранных авторов, в год регистрируется от 0,3 до 0,7 случаев заболевания ПМФ на 100 тыс. населения [8]. Мужчины болеют несколько чаще женщин. В 90 % случаев заболевание диагностируется после 40 лет. Максимальная заболеваемость отмечается в возрасте 50–70 лет. Известны случаи ПМФ в молодом и детском возрасте [8]. По данным J. Theile, средняя продолжительность жизни с момента установления диагноза составляет всего 5 лет [9]. Бластный криз встречается примерно у 25–30 % больных [5, 10].

Заболевание протекает в 2 стадиях: миелопролиферативной и костномозговой недостаточности с фиброзом.

Причины ПМФ неизвестны. Вторичный миелофиброз встречается при опухолях, инфекциях, при приеме эстрогенов и миелосупрессивных препаратов, при воздействии радиации, органических (бензол, тетрагидрид углерода) и неорганических соединений (мышьяк, фосфор, фторит). Следует учитывать, что увеличение количества тромбоцитов может быть физиологическим – при повышенной физической нагрузке, при беременности; реактивным – после спленэктомии, кровотечений, при опухолевых процессах, инфекционных заболеваниях. И только клиническая картина заболевания, показатели периферической крови, данные цитологического и гистологического исследований костного мозга позволяют уточнить форму ХМППН.

Наиболее частыми первоначальными симптомами при ПМФ являются: усталость, бледность, снижение аппетита, потеря веса и ощущение тяжести в левом подреберье. Общее состояние изменяется примерно у 40 % больных. Более редко больные обращаются к врачу по поводу лихорадки (15 %), желтухи (15 %), артралгий (3 %). В некоторых случаях заболевание начинается с повышенной кровоточивости: кожная пурпура, кровотечения из носа, кровоточивость десен, меноррагии. Приблизительно у 5 % больных начальные жалобы отсутствуют, а увеличение селезенки обнаруживается совершенно случайно. Промежуток времени между появлением первых симптомов и постановкой диагноза первичный миелофиброз варьирует от 2 до 48 мес. Большинство случаев заболевания диагностируется в течение 18 мес с момента появления первых симптомов [10]. Доминирующим признаком является спленомегалия. Уже на ранних этапах развития болезни увеличение селезенки отмечается у 95 % больных. Оно происходит медленно и постепенно. В основном продолжительность болезни можно оценивать по спленомегалии. Как было установлено, селезенка увеличивается примерно

на 1 см в год. Более быстрое ее увеличение происходит в результате развития инфаркта или гематом. В период разгара болезни селезенка становится огромной, она может доходить до лобковой кости и переходить за срединную линию живота. На ощупь она твердая, гладкая, безболезненная. Периспленит бывает у 20 % больных, особенно в тех случаях, когда края селезенки переходят за пупочную линию. Случаи малого и умеренного увеличения селезенки считаются редкостью.

Печень увеличивается почти во всех случаях ПМФ в начале или в течение болезни (98 %). При пальпации она плотная, иногда болезненная.

Небольшое увеличение лимфатических узлов возникает примерно у 30 % больных.

Кости в большинстве случаев болезненные спонтанно или при пальпации. Из редких симптомов можно наблюдать отеки, кардиомегалию, функциональные шумы в сердце, асцит и неврологические нарушения (головокружение, нарушение слуха, зрения).

Для больных ПМФ характерна лейкоэритробластическая картина периферической крови (миелофтиз): умеренный нейтрофильный лейкоцитоз (количество лейкоцитов до $10\text{--}50 \times 10^9/\text{л}$; цифры выше $50 \times 10^9/\text{л}$ встречаются редко и почти никогда не превышают $100 \times 10^9/\text{л}$) с палочкоядерным сдвигом, с единичными мета- и миелобластами, редко миелобластами, анемия, наличие нормобластов и эритробластов, каплевидные эритроциты, нормальное или умеренно повышенное количество тромбоцитов, изменение морфологии тромбоцитов в виде вариаций – гигантские формы, причудливые формы, фрагменты циркулирующих мегакариоцитов. Базофилия отмечается в более чем 30 % случаев, а эозинофилия – в 10 %. Отмечается увеличение селезенки (размеры селезенки $> 45 \text{ см}^2$ в зависимости от стадии заболевания при ультразвуковом исследовании или компьютерной томографии).

ПМФ имеет различные варианты течения, которые выделяются в виде клинических форм [4, 5].

В зависимости от преобладающих клинико-лабораторных симптомов выделяют 6 форм ПМФ: классическую, тромбоцитомическую, эритремическую, анемическую без ретикулоцитоза, анемическую с ретикулоцитозом, тромбоцитопеническую.

Классическая форма характеризуется умеренной гиперплазией гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков, с небольшой степенью мегакариоцитоза. Картина периферической крови типичная для ПМФ.

Из клинических данных при тромбоцитомической форме ПМФ наиболее демонстративны тромбозы – 48 % и геморрагии – 12 %. Расстройства микроциркуляции проявляются в эритромелалгиях, неврозоподобной симптоматике – головокружении, нарушении слуха, зрения. Тромбоцитомическая форма характеризуется тромбоцитозом, обусловленным повышенным образованием тромбоцитов, а не увеличением продолжительности их жизни, а также увеличением числа мегакариоцитов, их размеров и полиплоидности ядер. Для

тромбоцитемической формы ПМФ характерно повышение количества тромбоцитов более $400 \times 10^9/\text{л}$.

При эритремической форме ПМФ нарастают: покраснение кожных покровов, общая слабость, артериальная гипертония, у половины больных появляется мучительный кожный зуд после водных процедур. Иногда первыми проявлениями могут быть эритромелалгии, тромбозы крупных артерий, некрозы пальцев, инфаркт миокарда и легкого, инсульт. Эритремическая клиническая форма ПМФ характеризуется гиперплазией эритроидного и гранулоцитарного ростков с небольшой степенью мегакариоцитоза. Картина периферической крови при эритремической форме: повышение гемоглобина более 160 г/л, эритроцитов более $6 \times 10^9/\text{л}$.

При анемической форме в 50 % случаев у больных бывают усталость, потеря работоспособности, отсутствие аппетита, бледность с иктеричным оттенком, которые прогрессивно усугубляются в зависимости от степени анемии. Анемия у больных ПМФ часто определяет клиническую картину заболевания, особенно на поздних стадиях. В основе анемического синдрома лежит сужение плацдарма кроветворения и недостаточность костного мозга, депонирование и секвестрация эритроцитов в увеличенной селезенке, реже — гемолиз эритроцитов, в основе которого лежит либо аутоиммунный компонент, либо — дефект мембраны эритроцитов. Картина периферической крови при анемической форме ПМФ: снижение гемоглобина ниже 100 г/л, ретикулоцитоз при гемолизе более 18 промилле. По мере прогрессирования болезни анемия нарастает, отмечается полихромазия, анизоцитоз, пойкилоцитоз, появляются клетки каплевидной формы, ядросодержащие эритроциты.

В основе геморрагического синдрома у больных ПМФ чаще всего лежит тромбоцитопения, обусловленная уменьшением продукции тромбоцитов, усилением их депонирования и деструкцией в увеличенной селезенке, реже — повышенным потреблением в результате ДВС-синдрома. Геморрагический синдром проявляется, как правило, на поздних стадиях заболевания. Картина периферической крови при тромбоцитопенической форме ПМФ: количество тромбоцитов ниже $100 \times 10^9/\text{л}$.

У больных ПМФ установлены нарушения в свертывающей системе крови. Так, выявленная у 30–37 % больных гиперкоагуляция сопровождалась клинически тромбозами, кровоточивостью. При лабораторном обследовании отмечено ускорение времени свертывания цельной крови и плазмы, снижение активированного частичного тромбопластинового времени, положительный этаноловый тест, торможение фибринолиза, повышение скорости и степени агрегации тромбоцитов к аденозиндифосфату, ристомицину, в меньшей степени к адреналину. Эти нарушения наблюдались в 2–2,5 раза чаще у больных с тромбоцитозами. Развитие гиперкоагуляции отмечалось также у 20 % больных с тромбоцитопениями. Гемореологические нарушения, про-

явившиеся в повышенной вязкости крови и плазмы, в повышении индекса ригидности эритроцитов и коэффициента агрегации эритроцитов, отмечены у 70 % больных с тромбоцитозом. Эти нарушения наблюдались в 3 раза реже у больных с тромбоцитопениями и нормальным числом тромбоцитов [5, 11].

Повышение сывороточной щелочной фосфатазы находится в соответствии со степенью миелопролиферативной инфильтрации в печени.

Сывороточные трансаминазы оказываются повышенными в менее чем 10 % случаев [5].

Повышение уровня мочевой кислоты в сыворотке крови наблюдается весьма часто (у 40 % больных) в виде урикемии и урикозурии, что приводит к развитию пиелонефрита, нефросклероза, артериальной, почечно-паренхиматозной гипертензии. Патологии почек способствует их смещение увеличенной селезенкой или печени [10].

Гиперкальциемия была обнаружена у больных с остеолитическими костными поражениями. Рентгенологические костные изменения были отмечены в более чем 50 % случаев: остеосклероз появился у 65 % больных, остеопороз — у 15 % больных и очаговые разрежения — у 20 % больных [5].

ПМФ может осложняться портальной гипертензией, частота которой составляет 10–20 %. Ее причинами служат циррозы печени, вторичные по отношению к миелоидной метаплазии с сопутствующим образованием фиброзной ткани, обструкция тока крови очагами миелопоэза в печени и тромбозы в системе воротной вены [1].

В костном мозге при ПМФ наблюдается фиброз, постепенно переходящий в остеомиелосклероз. В начале заболевания костный мозг представляется гиперклеточным с повышенным количеством эритробластов, гранулоцитов, мегакариоцитов и фибробластов (клеточная фаза миелофиброза, рис. 1). По мере прогрессирования заболевания гиперклеточный мозг в 90 % случаев становится гипопластичным (рис. 2). В этой фазе костная пункция производится обычно с трудом из-за утолщения кортикального слоя кости. Во всех случаях, подозрительных на ПМФ, необходима трепанобиопсия, которая дает возможность выявить характерную фибробластическую картину. Количество фиброзной ткани значительно варьирует в зависимости от стадии болезни. Рост костной ткани, остеомиелосклероз встречаются гораздо реже (рис. 3). Между полосами склероза могут находиться островки активного кроветворения костного мозга. Нередко на срезах и отпечатках можно наблюдать атипические мегакариоциты, которые отличаются большими размерами и уродливостью строения. В стадии образования неполноценной остеоидной кости резко увеличивается число трабекул, имеющих причудливый вид, суживаются костномозговые пространства, заполненные тяжами соединительной ткани и редуцированным кроветворным костным мозгом. В отдельных полях зрения видна жировая ткань, прежде отсутство-

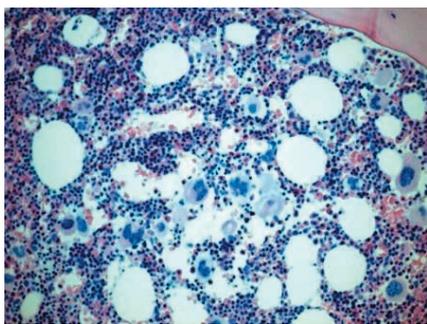


Рис. 1. ПМФ в клеточной стадии

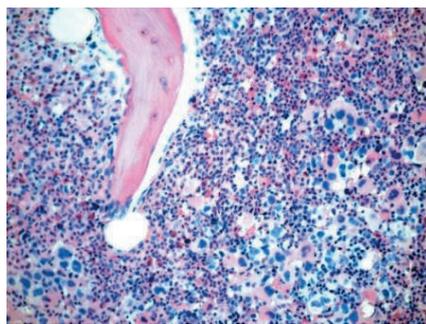


Рис. 2. ПМФ в стадии миелофиброза

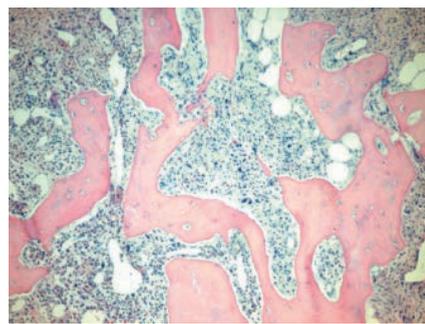


Рис. 3. ПМФ в стадии остеомиелосклероза

вавшая. Наблюдаются случаи ассоциации миелофиброза и остеосклероза с полным жировым перерождением костного мозга, чаще в одном и том же препарате имеются участки локальной гиперплазии кроветворных клеток, рядом — участки жира, грубоволокнистого миелофиброза и остеосклероза.

В селезенке и в печени выявляется трехростковое кроветворение с локализацией в синусах. Фолликулярная структура часто сохраняется, но в далеко зашедших случаях заболевания она нарушается; фолликулы малых размеров, имеются очаги фиброза, отложения гемосидерина, увеличено содержание макрофагов. Преобладают элементы эритропоэза, но часты случаи преимущественно гранулоцитарной или мегакариоцитарной направленности миелоидной метаплазии. Особенностью экстрамедуллярного гемопоэза при ПМФ является его локализация в селезенке и печени, однако изредка патологоанатомически он выявляется и в других органах (легкие, почки), а также в мезентериальных или забрюшинных лимфатических узлах.

В 2005 г. у больных, страдающих ХМПН, была обнаружена точечная мутация 14-го экзона гена киназы JAK2, при которой в псевдокиназном домене JH2 белка JAK2 происходит замена аминокислоты валин на фенилаланин в положении 617 (мутация JAK2V617F). Белок JAK2 принадлежит к семейству Janus-киназ (JAK), которое включает в себя 4 представителя (JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2), но для гемопоэза особое значение среди них имеет именно киназа JAK2, которая осуществляет передачу сигнала не только от эритропоэтина, но и от тромбопоэтина и колониестимулирующего фактора гранулоцитов. Ген JAK2 расположен в локусе 9q24. Таким образом, удалось обнаружить и охарактеризовать молекулярный дефект хромосомы 9, лежащий в основе патогенеза ХМПН, который ранее наблюдали только путем анализа сцепления патогенетического признака с косвенными молекулярными маркерами, расположенными в локусе 9q24. С помощью анализа герминальной ДНК было показано, что JAK2V617F является соматической мутацией, возникающей в гемопоэтических клетках-предшественниках. Обнаружение мутации JAK2V617F у больных с Ph-отрицательными ХМПН стало подтверждением высказанного Вильямом Дамешекком предположения о том, что в основе этой группы заболеваний должен быть общий пато-

генетический механизм. Однако, несмотря на то что патогенетическая роль мутации JAK2V617F для манифестации классических ХМПН не вызывает сомнений, остается еще много неясных вопросов, которые относятся к этиологии ХМПН, не связанных с JAK2V617F. Кроме того, не вполне понятно, каким образом один и тот же молекулярный дефект может приводить к развитию заболеваний, далеко не всегда совпадающих по своим клиническим проявлениям, хотя и относящихся к одной группе ХМПН. Обнаружение мутации JAK2V617F позволило разрешить существовавшую до недавнего времени дилемму: когда же при ХМПН происходит злокачественная трансформация — на уровне стволовой гемопоэтической клетки или на уровне более поздних плюрипотентных клеток-предшественниц? При разделении клеток крови с помощью проточной цитофлуориметрии на отдельные фракции было показано, что у JAK2V617F-положительных больных с ХМПН эта мутация обнаруживается не только в миелоидных клетках, но и в В- и Т-лимфоцитах, а также в клетках естественных киллеров. Таким образом, было показано, что эта мутация возникает у общего раннего предшественника миелоидных и лимфоидных клеток, однако только клетки миелоидной линии в связи с этим генетическим дефектом получают пролиферативное преимущество в сравнении с нормой. Мутация JAK2V617F обнаруживается в 40–50 % случаев ПМФ. Мутация JAK2V617F оказалась полезным маркером, с помощью которого можно проводить первичную и дифференциальную диагностику ХМПН, она позволяет верно определять даже незначительное увеличение аллельной нагрузки у пациента, что может быть использовано для молекулярного мониторинга минимальной остаточной болезни. Определение мутации V617F гена JAK2 включено в перечень диагностических критериев ВОЗ для миелопролиферативных новообразований [12–22].

Характерных для ПМФ цитогенетических изменений нет, но у 1/3 пациентов могут быть выявлены клональные нарушения: 20q-, 13q-, трисомия +21, комплексные нарушения [23].

Таким образом, диагностическими критериями для ПМФ, согласно ВОЗ 2008 г., являются следующие.

I. Основные критерии:

— пролиферация гранулоцитов, мегакариоцитарная пролиферация с признаками атипичности мегакариоцитов,

сопровождается ретикулиновым и/или коллагеновым фиброзом, часто с редукцией эритропоэза;

- отсутствие критериев, характерных для ХМЛ, ЭТ, ИП, миелодиспластического синдрома;
- обнаружение мутации V617F гена *JAK2* или другого клонального маркера (например, MPLW515K/L).

II. Второстепенные критерии:

- лейкоэритробластическая картина периферической крови;
- повышение уровня сывороточной лактатдегидрогеназы;
- анемия;
- пальпируемое увеличение селезенки.

III. Диагностические комбинации:

- все основные критерии + 2 второстепенных критерия [2].

Дифференциальный диагноз ПМФ проводится в первую очередь с ХМЛ и ИП (см. табл.) [5].

Другой важной задачей является дифференциальная диагностика ПМФ с вторичным миелофиброзом.

Международной рабочей группой по исследованию и лечению миелофиброза (IWG-MRT) предложены диагностические критерии для постэритромиического и посттромбоцитемического миелофиброза.

Критериями для постэритромиического миелофиброза служат следующие.

I. Основные критерии:

- документальное подтверждение предшествующего диагноза ИП по критериям ВОЗ;
- костномозговой фиброз II–III степени (в соответствии с европейской классификацией) и III–IV степени (в соответствии со стандартной классификацией).

II. Дополнительные критерии (требуется 2 критерия):

- анемия (снижение гемоглобина у мужчин ниже 140 г/л, у женщин 120 г/л) или длительное отсутствие потребности в флеботомии (при отсутствии циторедуктивной терапии) или циторедуктивной терапии по поводу эритроцитоза;
- лейкоэритробластическая картина периферической крови;
- увеличение размеров селезенки > 5 см;
- появление 1 и более из 3 сопутствующих симптомов: снижение массы тела более 10 % за 6 мес, ночная потливость, повышение температуры тела > 37,5 °С.

Критериями для посттромбоцитемического миелофиброза служат следующие.

I. Основные критерии:

- документальное подтверждение предшествующего диагноза эссенциальная тромбоцитемия по критериям ВОЗ;

– костномозговой фиброз II–III степени (в соответствии с европейской классификацией) и III–IV степени (в соответствии со стандартной классификацией).

II. Дополнительные критерии (требуется 2 критерия):

- анемия (снижение гемоглобина на 20 г/л ниже исходного значения);
- лейкоэритробластическая картина периферической крови;
- увеличение размеров селезенки > 5 см;
- увеличение уровня сывороточной лактатдегидрогеназы;
- появление 1 и более из 3 сопутствующих симпто-

Клинико-гематологические показатели некоторых форм миелопролиферативного синдрома

Диагноз	ХМЛ	ПМФ	ИП
Селезенка	увеличена	значительно увеличена	немного, умеренно увеличена
Число лейкоцитов	$50 \times 10^9/\text{л}$ и выше	$20\text{--}30 \times 10^9/\text{л}$	$10\text{--}20 \times 10^9/\text{л}$
Число тромбоцитов	норма, повышенное	норма, повышенное или пониженное	норма, повышенное, редко – пониженное
Ph-хромосома	обнаруживается	не обнаруживается	не обнаруживается
Мутация гена <i>JAK2V617F</i>	не обнаруживается	обнаруживается в 40–50 % случаев	обнаруживается в 90–95 % случаев
Содержание щелочной фосфатазы в лейкоцитах	низкое, в отдельных случаях норма или повышенное	повышенное, в редких случаях норма или повышенное	повышенное
Содержание витамина В ₁₂ в сыворотке крови	высокое	нормальное или несколько сниженное	нормальное или повышенное
Миелограмма	костный мозг богат клеточными элементами, преобладание незрелых форм гранулопоэза, сужение красного ростка	бедность клеточными элементами, преобладание зрелых форм гранулопоэза	расширение всех 3 ростков гемопоэза
Трепанобиопсия	миелоидная гиперплазия с преобладанием незрелых гранулоцитов	– полиморфный состав костного мозга кроветворения, мегакарицитоз; – очаговый фиброз, клеточный костный мозг, мегакарицитоз; – диффузный миелофиброз, вытеснение деятельного костного мозга; – сочетание миелофиброза с остеосклерозом	расширение всех 3 ростков гемопоэза

мов: снижение массы тела более 10 % за 6 мес, ночная потливость, повышение температуры тела $> 37,5^{\circ}\text{C}$ [2].

По европейской классификации II–III степени костномозгового фиброза представляют собой диффузную, часто грубую волокнистую сеть без признаков коллагенизации (отрицательный результат окрашивания на трихром) или грубую волокнистую сеть с участками коллагенизации (положительное окрашивание на трихром).

По стандартной классификации III–IV степени костномозгового фиброза представляют собой диффузное или плотное увеличение количества ретикулина с множественными пересечениями; иногда только очаговые пучки коллагена и/или очаги остеосклероза, или диффузное и плотное увеличение ретикулина, характеризующееся множественными пересечениями, с грубыми пучками коллагена, часто сопровождающееся значительным остеосклерозом [2].

При костномозговом туберкулезе селезенка увеличивается незначительно, и на первый план выступают симптомы интоксикации. В анализе крови, как правило, бывает моноцитоз. Выявление в костном мозге гранулематозных очагов и микобактерий туберкулеза служит основным критерием для постановки диагноза.

Среди опухолей, поражающих костный мозг и вызывающих фиброз, наиболее частой является лимфогранулематоз.

Остеопетроз легко отличить от ПМФ, так как он начинается в детстве и редко имеет лейкоэритробластическую картину.

Острый лейкоз, лимфомы, протекающие со сплено-мегалией, легко отличить благодаря четким дифференциальным признакам.

При дифференциальной диагностике ПМФ от неопластического остеосклероза необходимо учитывать: наличие в анамнезе опухолевых заболеваний, наличие признаков метастазирования в кости (оссалгии), в другие органы, определение характерных клеток неоплазий, обнаружение очагов деструкции и диффузного остеосклероза [5].

Часто правильное разграничение клинической и гематологической картины бывает затруднительным. Иногда точно диагностированная болезнь впоследствии меняет свою клиническую и цитологическую картину, вызывая споры из-за правильности нозологической формы [5].

Терапия ПМФ разнообразна и зависит от формы, стадии заболевания и включает в себя применение цитостатических препаратов (гидреа, милеран, циклофосфан, 6-меркаптопурин, цитозар), глюкокортикостероидов (преднизолон, дексаметазон), интерферонов (реаферон, роферон, интрон-А), андрогенов (ретаболил, оксиметазон), лучевой терапии на область селезенки, гемозксфузий, дезагрегантов и как этап терапии применяется оперативное удаление селезенки [5, 24–28].

В стадии миелопролиферации и прогрессивном увеличении селезенки показано цитостатическое ле-

чение. Наиболее часто применяют препарат гидреа. Лечебная суточная доза 20–30 мг/кг веса в сутки. Затем больной получает поддерживающую дозу 500 мг в сутки или через день, а также чередование доз препарата: 1-й день – 1000 мг, другой день – 500 мг. Существует программа приема гидреа в дозе 20–30 мг/кг в сутки 2–3 раза в неделю. Лечение продолжается до количества тромбоцитов $100 \times 10^9/\text{л}$ и лейкоцитов $3 \times 10^9/\text{л}$, далее перерыв, возобновление очередного курса при повышении тромбоцитов до $200 \times 10^9/\text{л}$, лейкоцитов более $5 \times 10^9/\text{л}$.

Следует отметить, что лечебный эффект гидреа проявляется только при приеме препарата, отмена же его приводит к возобновлению первоначальной симптоматики. В связи с этим при лечении гидреа необходима постоянная поддерживающая терапия. Возможны побочные действия препарата: анорексия, тошнота, рвота, стоматит, лейкопения, тромбоцитопения, анемия, мегалобластоз, аллопеция, дерматит.

Милеран (миелосан) может быть эффективным в стадии миелопролиферации. Лечебная суточная доза 2–6 мг. Курсовая доза 300 мг. Препарат назначается при количестве лейкоцитов не ниже $10\text{--}20 \times 10^9/\text{л}$ и тромбоцитов не ниже $150\text{--}200 \times 10^9/\text{л}$. Если количество тромбоцитов до $200 \times 10^9/\text{л}$, а лейкоцитов $15\text{--}17 \times 10^9/\text{л}$, милеран можно назначать в сочетании с преднизолоном (средние дозы), а при количестве лейкоцитов ниже $10 \times 10^9/\text{л}$ и тромбоцитов на уровне $100\text{--}130 \times 10^9/\text{л}$ назначают преднизолон за 1–2 недели до начала терапии милераном, в тех случаях, когда процесс сопровождается аутоиммунным гемолизом. Изредка встречаются побочные действия милерана: тромбоцитопения, лейкопения, анемия, аменорея, гиперпигментация, аддисоноподобный синдром, редко фиброз легких.

Милеран хорошо переносится больными. Резистентность к препарату развивается постепенно. После первого курса лечения милераном ремиссия в среднем продолжается 12–15 мес, повторные ремиссии короче на 7–10 мес. Поддерживающее лечение милераном способствует удлинению ремиссии.

При лечении ПМФ применяются препараты альфа-интерферона, которые наиболее эффективны в отношении повышенного количества тромбоцитов и эритроцитов, и меньше – в отношении повышенного количества лейкоцитов. Установлено, что в ряде случаев препараты альфа-интерферона приостанавливают течение заболевания, а в 1 % происходит обратное развитие миелофиброза в костном мозге. Как правило, доза интерферона составляет 3–5 млн МЕ 6 раз в неделю в период индукции ремиссии, далее при уменьшении селезенки на 3/4 и нормализации показателей тромбоцитов, эритроцитов и лейкоцитов (что занимает 4–6 мес) больного переводят на поддерживающую терапию – 3 млн МЕ 2–3 раза в неделю, которую применяют не менее года, а при хорошей переносимости 2–3 года. Степень токсичности препаратов альфа-интерферона оценивается по шкале токсичности и служит основанием для снижения дозы или отмены препарата [5, 29].

В терапии анемической формы ПМФ с ретикулоцитозом, синдромом аутоиммунной гемолитической анемии, подтвержденным положительной пробой Кумбса, полибренновым тестом, используется преднизолон в дозе 1 мг/кг массы тела. Применение кортикостероидов при ПМФ связано с участием иммунных процессов и активацией системы комплемента. Возможно назначение преднизолона в сочетании с другими химиотерапевтическими препаратами, чем достигается больший эффект.

Лечение анемической формы без ретикулоцитоза представляет определенные трудности, так как преднизолон в этом случае неэффективен. Имеется определенный опыт лечения этой формы анемии препаратами рекомбинантного эритропоэтина (эритростим, эпокрин, рекормон, эпрекс). При применении эритростима в дозе 2000 ЕД 3 раза в неделю подкожно уровень гемоглобина повышается на 20–30 г/л в течение 3 месяцев более чем у половины больных, увеличение первоначальной дозы в 2 раза приводит к повышению гемоглобина на 40–50 г/л.

Обнадёживающие результаты получены при лечении анемической формы без ретикулоцитоза от применения циклоспорина в дозе 300 мг/сутки, в течение 4–8 месяцев. При этом стойкую ремиссию удается получить более чем у половины больных.

При анемической форме, обусловленной неэффективным эритропоэзом, определенный эффект оказывают андрогены: ретаболил 50 мг внутримышечно 1 раз в неделю, 20 инъекций с 2-месячным перерывом; тестостерона энантат по 600 мг внутримышечно 1 раз в неделю, 20 инъекций; оксиметазон 200 мг в сутки. Если после 1 проведенного курса не отмечается осложнений со стороны печени в виде увеличения трансаминаз, щелочной фосфатазы, то лечение можно продолжить до 4–6 недель. У женщин возможны нарушения менструального цикла, огрубение голоса, усиление роста волос по мужскому типу, повышение либидо. У мужчин возможна гипертрофия предстательной железы. Все вышеуказанные явления быстро проходят после отмены препарата [26, 30].

Лечение тромбоцитопенической формы проводится кортикостероидными гормонами: преднизолон назначают в дозе 15–40 мг, иногда 60 мг/сутки в течение 4 недель с последующим постепенным снижением дозы на 2,5 мг каждые 3–5 дней до полной отмены. В период приема кортикостероидов необходимо назначать соли калия.

Рентгенотерапия на область селезенки не потеряла своей актуальности и в настоящее время при выраженной спленомегалии и синдроме сдавления соседних органов, т. е. когда необходимо быстрое уменьшение селезенки. Облучение проводят осторожно малыми дозами (суммарная доза до 10 Гр) на нижнюю треть селезенки и при уменьшении размера органа облучение необходимо прекратить. Ремиссия после лучевой терапии 2–6 мес.

При нарастании темпа увеличения селезенки и/или в сочетании с тромбоцитопенией при субнормальном количестве лейкоцитов возможно применение циклофосфана. Циклофосфан вводится внутривенно в дозе 200, 400, 600 мг через день в зависимости от исходного состояния кроветворения. Суммарная доза колеблется от 1,2 до 10 г. Эффект от лечения циклофосфаном кратковременный, до 2–4 месяцев, лишь в отдельных случаях — до 12 месяцев. Отменяется циклофосфан при снижении количества лейкоцитов до $3\text{--}4 \times 10^9/\text{л}$. В последующем, примерно через 30 дней, при постепенном повышении числа лейкоцитов до $8\text{--}10 \times 10^9/\text{л}$ целесообразно назначение милерана или гидреа. Препарат переносится больными хорошо, только у отдельных больных вызывает тошноту, рвоту и цистит.

Следует отметить, что вся цитостатическая терапия должна сочетаться с назначением аллопуринола в связи с повышением уровня урикемии и возможностью развития мочекаменного диатеза [5].

Спленэктомия, не являясь основным методом лечения ПМФ, имеет свое место в программе лечения ряда больных по строгим показаниям: спленомегалия с компрессионным синдромом; при невозможности применения средств, сокращающих селезенку, однако без признаков бластной трансформации; гемолитическая анемия, рефрактерная к иммунодепрессивной терапии или со значительной секвестрацией эритроцитов в селезенке, несокращаемой цитостатической терапией; глубокая тромбоцитопения с геморрагическим синдромом или без него, рефрактерная к глюкокортикоидам и препятствующая адекватной цитостатической терапии. К противопоказаниям следует отнести: бластную трансформацию; быстрое прогрессирование процесса на стадии предвестников бластной трансформации, особенно с анемическим синдромом и выраженным фиброзом костного мозга; наличие тяжелых некомпенсируемых сопутствующих заболеваний. Пациенты, оперированные в соответствии с выработанными показаниями, имели значительно лучшую выживаемость, чем те пациенты, которым спленэктомия проводилась без учета специальных показаний и противопоказаний [5, 31, 32].

В настоящее время для лечения ПМФ делаются попытки назначения препаратов, ингибирующих ангиогенез (талидомид, леналидомид как в монорежиме, так и в сочетании с преднизолоном). Талидомид в дозе 300 мг в сутки назначают при хорошей переносимости на длительный период. У 50 % больных достигается уменьшение анемии. Более хорошие результаты с уменьшением или ликвидацией анемического синдрома ПМФ получены при назначении малых доз талидомида (50 мг в сутки в сочетании с преднизолоном) — эффект достигается у 60 % больных. Леналидомид назначают по 10 мг в сутки, а при количестве тромбоцитов ниже $100 \times 10^9/\text{л}$ по 5 мг в сутки на протяжении 3–4 месяцев, при получении эффекта терапию продолжают до 2 лет в дозе, сниженной наполовину. Сообщается о нормализации ко-

личества тромбоцитов у 50 % пациентов и эритроцитов у 25 % больных [33]. В клинических исследованиях продемонстрирована активность ингибитора JAK2-киназы (TG101348) на мышинных моделях. Продолжаются клинические исследования ингибиторов JAK2-киназы (INC018424, XL019, CEP-701 и TG101348) у пациентов

с ПМФ, постэритремическим и посттромбоцитемическим миелофиброзом, ИП, JAK2V617F-позитивной ЭТ [2]. Открытие новых мутаций при ХМПН способствует разработке новых лекарственных препаратов, дающих надежду на уменьшение клинических проявлений болезни и улучшения качества жизни пациентов.

Л и т е р а т у р а

1. Абдулкадыров К.М. Клиническая гематология. Справочник. СПб.: Издательский дом Питер, 2006. С. 181–186.
2. Vannuchi A., Gudlielmelti P., Tefferi A. et al. Progress in understanding myeloproliferative neoplasms. *Cancer J Clin* 2009;59:171–91.
3. Tefferi A., Thiele J., Vardiman J.W. The 2008 World Health Organization classification system for myeloproliferative neoplasms: order out chaos. *Blood* 2009 Sep 1;115(17):3842–7.
4. Клиническая онкогематология. Под ред. М.А. Волковой. М.: Медицина, 2001. С. 290–300.
5. Мещерякова Л.М., Ковалева Л.Г. и соавт. Патфизиологические основы лечения сублейкемического миелоидоза. В кн.: Патфизиология крови. Экстремальные состояния. Под ред. А.И. Воробьева. М., 2004. С. 122–135.
6. Рукавицын О.А., Поп В.П., Серяков А.П. Результаты клинико-гематологического и гистоморфометрического исследований больных хроническими миелолипролиферативными заболеваниями. *Гематол и трансфузиол* 2003;48(1):22–6.
7. Mesa R.A., Verstovsek S., Cervantes F. et al. Primary myelofibrosis (PMF), post polycythemia vera myelofibrosis (post-PV MF), post essential thrombocythemia myelofibrosis (post-ET MF): Consensus on terminology by the international working group for myelofibrosis research and treatment (IWG-MRT). *Leuk Res* 2007 Jun;31(6):737–40. Epub 2007 Jan 8.
8. Le Bousse-Kerdiles M.C. Second International Congress: Myeloproliferative Diseases and Myelodysplastic Syndromes. New York, 2003; p. 33.
9. Theile J. Second International Congress: Myeloproliferative Diseases and Myelodysplastic Syndromes. New York, 2003; p. 37.
10. Руководство по гематологии. Под ред. акад. А.И. Воробьева. М.: Ньюдиамед, 2003. Т. 2. С. 16–29.
11. Мещерякова Л.М., Балакина Т.А., Маркова М.Л. и соавт. Особенности свертывающей системы крови у больных сублейкемическим миелоидозом. Материалы конференции «Новое в гематологии и клинической трансфузиологии». Москва, 15–16 апреля 2003 г.;2:50.
12. Бердюгина О.В. Опыт определения доли мутантного аллеля JAK2V617F в клинической практике. *Онкогематол* 2011;2:35.
13. Мисюрин А.В. Молекулярный патогенез миелолипролиферативных заболеваний. *Клин онкогематол* 2009;2(3):211–9.
14. Agrawal M., Gard R.J., Cortes J. et al. Experimental therapeutics for patients with myeloproliferative neoplasias. *Cancer* 2011;117(4):662–76.
15. Baxter E.G., Scot L.M., Campbell P.J. et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005;365(9464):1054–61.
16. Bench A.J., Nacheva E.P., Champion K.M., Green A.M. Molecular genetics and cytogenetics of myeloproliferative disorders. *Baillieres Clin Haematol* 1998;11:819–48.
17. Bornhauser M., Mohr B., Oelschlaegel U. et al. Concurrent JAK2V617F mutation and BCR-ABL translocation within committed myeloid progenitors in myelofibrosis. *Leukemia* 2007;21(8):1824–6.
18. Kralovics R., Passmonti F., Buser A.S. et al. Again-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779–90.
19. Levine R.L., Wadleigh M., Cools J., Wlodarska I. et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 2005;7(4):387–97.
20. Reilly J.T., Snowden J.A., Spearing R.L. et al. Cytogenetic abnormalities and their prognostic significance in idiopathic myelofibrosis: a study of 106 cases. *Br J Haematol* 1997;98:96–102.
21. Spivak J.L. The chronic myeloproliferative disorders: clonality and clinical heterogeneity. *Semin Haematol* 2004;41(3):1–5.
22. Tefferi A., Mesa R.A., Schroeder G. et al. Cytogenetic findings and their clinical relevance in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 2001;113:763–71.
23. Моисеев С.И., Зарицкий А.Ю., Салогуб Г.Н. Хронические миелолипролиферативные заболевания. Классификация, диагностика и лечение. Пособие для студентов IV, V, VI курсов, интернов, клинических ординаторов и врачей. СПб., 2005. С. 7.
24. Ковалева Л.Г., Горбунова Н.А., Мещерякова Л.М. и соавт. Хронические миелолипролиферативные заболевания: патогенез основных синдромов и выбор терапевтической тактики. Материалы I Всероссийского съезда гематологов, Москва, 16–18 апреля 2002 г. *Проблемы гематологии и переливания крови* 2002;1:56.
25. Ковалева Л.Г., Мещерякова Л.М., Колосова Л.Ю., Вахрушева М.В. Хронические миелолипролиферативные заболевания: клинико-терапевтические особенности и перспективы. Тезисы Российской научно-практической конференции «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии», Санкт-Петербург, 8–10 июня 2004 г. С. 36–37.
26. Мещерякова Л.М., Ковалева Л.Г., Колосова Л.Ю. Сублейкемический миелоидоз — течение и лечение пожилых больных. Тезисы конференции «Заболевания крови у пожилых людей: диагностика, лечение, особенности иммуносупрессии». М., 2004. С. 42–45.
27. Мещерякова Л.М., Колосова Л.Ю., Ковалева Л.Г. Лечение больных сублейкемическим миелоидозом в зависимости от формы заболевания. Тезисы конференции «Проблемы гематологии и переливания крови». М., 2005. С. 44.
28. Micheile J.J., Kutti J., Stark P. et al. Diagnosis, pathogenesis and treatment of the myeloproliferative disorders essential thrombocythemia, polycythemia vera and essential megakaryocytic granulocytic metaplasia and myelofibrosis. *Neth J Med* 1999;54(2):46–62.
29. Мещерякова Л.М., Колосова Л.Ю., Ковалева Л.Г. Лечение больных сублейкемическим миелоидозом препаратами альфа-интерферона. Материалы конференции «Новое в гематологии и клинической трансфузиологии». Москва, 15–16 апреля 2003 г.;2:45.
30. Колосова Л.Ю., Ковалева Л.Г., Мещерякова Л.М. Лечение анемической формы сублейкемического миелоидоза. Тезисы конференции «Заболевания крови у пожилых людей: диагностика, лечение, особенности иммуносупрессии». М., 2004. С. 45–47.
31. Ковалева Л.Г., Караголян С.Р. и соавт. Спленэктомия при сублейкемическом миелоидозе. *Гематол и трансфузиол* 2004;49(5):14–21.
32. Ковалева Л.Г., Караголян С.Р., Колосова Л.Ю., Мещерякова Л.М. Анализ результатов спленэктомии при сублейкемическом миелоидозе. Тезисы Российской научно-практической конференции «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии». Санкт-Петербург, 8–10 июня 2004 г. С. 37.
33. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. Под ред. Н.И. Переводчиковой. М.: Практическая медицина, 2011. С. 318–321.

Аспергиллез у онкогематологических больных

Н.Б. Булиева

Ханты-Мансийская государственная медицинская академия

Контакты: Наталья Борисовна Булиева a-editor@yandex.ru

Инвазивный аспергиллез (ИА) — распространенное инфекционное осложнение у онкогематологических больных, которое отличается тяжестью клинических проявлений и высокой летальностью. Основными принципами эффективной терапии ИА являются своевременная диагностика и незамедлительное назначение высокоэффективных антимикотических препаратов.

Ключевые слова: аспергиллез, факторы риска, галактоманнан, антимикотики, принципы лечения

Aspergillosis in patients with hematological malignancies

N.B. Bulieva

Khanty-Mansiysk State Medical Academy

An invasive aspergillosis (IA) is a common infectious complication in patients with hematological malignancies characterized by severe manifestation of clinical syndromes and high mortality. Timely diagnosis and immediate use of high effective antimycotic drugs are the basic principles of IA effective therapy are timely diagnosis and immediate use of high effective antimycotic drugs.

Key words: aspergillosis, risk factors, galactomannan, antimycotic drugs, therapy

Поражения, вызванные грибами рода *Aspergillus*, известны очень давно, однако инвазивный аспергиллез (ИА) возник в качестве важнейшей проблемы онкогематологии сравнительно недавно, а именно — в последние 30 лет после доказательства принципиальной возможности излечения гемопоэтических опухолей с помощью химиопрепаратов. Раннее и массовое применение интенсивной химиотерапии и особенно аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в сотни раз увеличило число больных с ИА. Это заболевание отличается тяжестью клинических проявлений и чрезвычайно высокой летальностью. У некоторых категорий пациентов, например у больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) и реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), именно ИА является основной причиной летальных исходов, которые у разных категорий пациентов составляют 50–100 % [6, 7, 9, 16].

Из известных более чем 150 видов *Aspergillus spp.* основными возбудителями ИА являются *A. fumigatus* (≈ 70–90 %), *A. flavus* (≈ 10–15 %) и *A. niger* (≈ 2–6 %), другие (*A. terreus*, *A. nidulans* (*A. nidulellus*) и пр.) встречаются реже. При этом соотношение различных видов возбудителей зависит от популяции пациентов. *Aspergillus spp.* могут вызывать различные заболевания легких: ИА, хронический некротизирующий аспергиллез, аспергиллому и аллергический бронхолегочный аспергиллез (АБЛА). Они различаются по патогенезу, клиническим проявлениям и прогнозу, возникают у разных контингентов больных и требуют различных диагностических и лечебных мероприятий [5, 13, 18].

Факторы риска: длительная нейтропения (количество нейтрофилов в периферической крови < 500 клеток/мм на протяжении более 10 дней) в период диагностики или в предшествующие 60 дней; длительное (более 3 нед) использование системных глюкокортикостероидов (преднизолон более 0,3 мг/кг/сут) в течение 60 дней перед диагностикой; недавнее или текущее использование иммуносупрессоров (циклоsporин А, алемтузумаб и пр.); реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и цитомегаловирусная инфекция у реципиентов при алло-ТГСК; СПИД; первичные иммунодефициты (хроническая гранулематозная болезнь и пр.); контаминация больничных, жилых и производственных помещений *Aspergillus spp.* [9, 10].

ИА наиболее часто развивается у больных острым лейкозом во время цитостатической индукции или консолидации ремиссии, реципиентов алло-ТГСК при развитии РТПХ, а также у пациентов, длительно получающих глюкокортикостероиды и иммуносупрессоры. В отделении реанимации и интенсивной терапии частота ИА составляет 0,3–4 % [3, 21, 26].

В развитии ИА также велико значение длительно сохраняющейся нейтропии. S. Gerson et al. показали значимую корреляцию между длительностью нейтропии и развитием ИА. Вероятность развития аспергиллеза прогрессивно возрастала после 6-го дня нейтропии ежедневно на 1 %, и так до 22-го дня, но между 22-м и 36-м днями наблюдался стремительный прирост возможной инвазии аспергиллами, который увеличивался ежедневно уже на 4,5 %. Продолжительность инкубационного перио-

да не определена. У многих пациентов поверхностную колонизацию *Aspergillus spp.* дыхательных путей и придаточных пазух носа выявляют до госпитализации и ятрогенной иммуносупрессии [12, 29]. При ИА первичное поражение легких выявляют у 80–90 % больных, придаточных пазух носа – у 5–10 %. *Aspergillus spp.* ангиотропны, способны проникать в сосуды и вызывать тромбозы, что приводит к частой (15–40 %) гематогенной диссеминации с поражением различных органов, например, головного мозга (\approx 3–30 %), кожи и подкожной клетчатки, костей, щитовидной железы, печени, почек и пр. Следует подчеркнуть, что у иммунокомпрометированных больных выраженность симптомов не отражает тяжесть заболевания, поэтому у пациентов с факторами риска обязательными являются раннее выявление клинических признаков и незамедлительные диагностические мероприятия [8, 17].

Наиболее частыми клиническими признаками ИА легких у больных с нейтропенией являются рефрактерное к антибиотикам широкого спектра повышение температуры тела более 38 °С длительностью более 96 ч, непродуктивный кашель, боли в грудной клетке, кровохарканье и одышка. Клинические признаки обычно появляются после 10–12 дней агранулоцитоза. У 10–15 % больных повышение температуры тела не отмечают. Иногда проявления ИА легких напоминают признаки тромбоза ветвей легочной артерии: внезапно возникшие боли в груди и одышка. Летальность при ИА легких у больных с нейтропенией составляет от 35 до 60 % и зависит от времени начала лечения и разрешения нейтропении [11, 33]. Особенности клинических проявлений ИА легких у реципиентов алло-ТГСК по сравнению с больными с нейтропенией являются развитие клинических симптомов в поздние сроки после трансплантации, очень быстрое прогрессирование, нередко отсутствие лихорадки у получающих стероиды больных, а также очень высокая (> 50 %) частота поражения экстрапульмональных органов, особенно центральной нервной системы (ЦНС). Кроме того, летальность при ИА у реципиентов алло-ТГСК существенно выше, чем у больных с нейтропенией, и составляет от 80 до 90 % [4].

У больных в отделении реанимации и интенсивной терапии клинические признаки ИА легких чрезвычайно неспецифичны. Рефрактерная к антибиотикам лихорадка отмечается лишь у половины больных, типичные признаки ангиоинвазии, например кровохарканье или «плевральные» боли в груди, еще реже. Поэтому заболевание обычно диагностируют поздно, нередко посмертно [13, 16].

Острый инвазивный аспергиллезный риносинусит составляет \approx 5–10 % всех случаев ИА. Этот вариант инфекции развивается преимущественно у больных гемобластозами с длительной постцитостатической нейтропенией и апластической ане-

мией, а также у реципиентов алло-ТГСК. У других категорий иммунокомпрометированных больных этот вариант инфекции возникает редко, чаще развивается хронический аспергиллезный риносинусит. Ранние клинические признаки (повышение температуры тела, односторонние боли в области пораженной придаточной пазухи, появление отделяемого из носа) неспецифичны, их часто принимают за проявления бактериальной инфекции. Быстрое прогрессирование процесса приводит к появлению боли в области орбиты глаза, нарушению зрения, конъюнктивиту и отеку век, разрушению твердого и мягкого неба с появлением черных струев. При поражении головного мозга развиваются головные боли, обмороки и нарушение сознания [19, 21].

Гематогенная диссеминация является частым осложнением прогрессирующего ИА легких или придаточных пазух носа у больных с тяжелой иммуносупрессией, в том числе с длительным агранулоцитозом, РТПХ III–IV степени, высокодозной терапией стероидами и пр. У таких пациентов гематогенная диссеминация происходит очень быстро, при этом могут поражаться различные органы и ткани, наиболее часто – головной мозг, кожа и подкожная клетчатка, кости, кишечник и пр. Летальность при диссеминированном ИА достигает 90 % [31].

Аспергиллез ЦНС характеризуется очень высокой летальностью (80–99 %) и нередко диагностируется лишь посмертно. Обычно поражение ЦНС возникает в результате гематогенной диссеминации, а также распространения инфекции из придаточной пазухи или орбиты. Частота поражения ЦНС широко варьирует (3–30 %) у разных категорий больных и зависит от степени иммуносупрессии. Основными вариантами церебрального аспергиллеза являются абсцесс и кровоизлияние в вещество головного мозга, менингит развивается редко. Клинические проявления (головная боль, головокружение, тошнота и рвота, очаговые неврологические симптомы и нарушение сознания) неспецифичны. Аспергиллез ЦНС необходимо исключить во всех случаях появления необъясненной неврологической симптоматики у больных с ИА другой локализации [21]. Диссеминация с поражением кожи (5–20 %) проявляется быстро увеличивающимися макуло-папулезными элементами с очагом изъязвления и некроза в центре. При поражении щитовидной железы (3–15 %) обычно возникают локализованные абсцессы либо диффузное увеличение органа. Аспергиллезный остеомиелит может возникать вследствие гематогенной диссеминации (позвонки, череп, длинные кости), а также распространения инфекции из придаточной пазухи (мастоидит, поражение орбиты). Клинические проявления неспецифичны и неотличимы от бактериального остеомиелита [19].

Аспергиллезный перикардит может возникать при распространении инфекции из легкого, а так-

же вследствие гематогенной диссеминации. У большинства больных развиваются симптомы инфекционного перикардита, у 30 % – тампонады перикарда. Аспергиллезный перикардит обычно заканчивается летальным исходом. Диагноз подтверждается выявлением возбудителя или специфического антигена при исследовании перикардиальной жидкости [28]. Поражение желудка и кишечника обычно появляется в терминальном периоде ИА у больных гемобластозами, апластической анемией и реципиентов алло-ТГСК. Основным проявлением являются тяжелые желудочно-кишечные кровотечения, обычно заканчивающиеся летальным исходом [15].

Важнейшее условие успешного лечения ИА – ранняя диагностика, которая нередко является трудной задачей. Клинические признаки заболевания неспецифичны, радиологические – недостаточно специфичны, получение материала для микробиологического подтверждения диагноза часто затруднено в связи с тяжестью состояния больных и высоким риском осложнений.

Методы диагностики (EORTC/MSG, 2002):

- компьютерная томография (КТ) или рентгенография легких, придаточных пазух;
- при наличии неврологической симптоматики – КТ или магнитно-резонансная томография головного мозга (или других органов при выявлении симптомов диссеминации);
- определение антигена *Aspergillus* (галактоманна) в сыворотке крови, бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ), спинномозговой жидкости – СМЖ (*Platelia Aspergillus*, Bio-Rad);
- бронхоскопия, БАЛ, биопсия очагов поражения;
- микроскопия и посев БАЛ, мокроты, отделяемого из носа, биопсийного материала [6].

Доступность иммуноферментного метода выявления антигена галактоманна является значительной составляющей некультуральных методов подтверждения диагноза ИА. Мониторинг определения антигена галактоманна в крови производят 2 раза в неделю в группе больных высокого риска возникновения ИА (больные с ОМЛ, острым лимфобластным лейкозом, миелодиспластическим синдромом, реципиенты алло-ТГСК) в период нейтропении, при лихорадке (даже при субфебрильной температуре), а у реципиентов алло-ТГСК при терапии глюкокортикоидами мониторинг проводят даже при нормальной температуре). В группе больных невысокого риска (лимфомы, множественная миелома) исследование антигена галактоманна проводят только при пневмониях у указанных выше пациентов [28]. Основным методом радиологической диагностики ИА легких является КТ в режиме высокого разрешения. При наличии факторов риска и появлении клинических признаков у иммунокомпрометированного больного показано срочное проведение КТ

грудной полости в режиме высокого разрешения [19]. «Ранними» КТ-признаками ИА легких являются: мелкие (< 2 см), связанные с сосудами округлые очаги, расположенные субплеврально; симптом «ореола», а также уплотнения треугольной формы, примыкающие основанием к плевре. По мере прогрессирования заболевания при КТ легких определяют «поздние» признаки: очаги деструкции, а также полости с содержимым и прослойкой воздуха (симптом «полумесяца» или «погремушки»). Симптом «ореола» обычно возникает в течение первых 3–7 дней ИА у больных с агранулоцитозом [28].

Основными принципами эффективной терапии ИА являются своевременная диагностика и незамедлительное назначение высокоэффективных антимикотиков [2, 22, 27, 31]. Арсенал антимикотических препаратов, используемых в лечении инвазивных микозов, невелик: это – амфотерицин В, вориконазол, итраконазол, липосомальный амфотерицин В, каспофунгин (см. таблицу).

Препаратом выбора для лечения ИА является вориконазол [23]. Лечение вориконазолом следует проводить во всех случаях ИА, если нет абсолютных противопоказаний к его назначению, например, препарат противопоказан больным печеночной порфирией. Вориконазол можно применять как внутривенно, так и перорально. Препарат отличается высокой биодоступностью при приеме внутрь (~ 96 %), на которую не влияет рН желудочного содержимого. Метаболизируется в печени, менее 2 % препарата выводится с мочой в неизменном виде. Для вориконазола характерны свойственные азолам лекарственные взаимодействия. Концентрация вориконазола в плазме крови может снижаться при совместном использовании с рифампицином, карбамазепином, барбитуратами длительного действия. Незначительно снижают концентрацию вориконазола в плазме крови циметидин, ранитидин, эритромицин, азитромицин и индинавир.

Эффективность вориконазола доказана в контролируемых клинических исследованиях [23, 34]. При этом вориконазол был достоверно более эффективен, чем амфотерицин В, как при пульмональном, так и при экстрапульмональном аспергиллезе, а также у различных категорий больных (реципиентов аллогенной и аутологичной трансплантации костного мозга, пациентов с нейтропенией и без нее). Частота обусловленных аспергиллезом летальных исходов при лечении вориконазолом была более чем в 2 раза меньше, чем при использовании амфотерицина В. Нежелательные явления при использовании вориконазола возникали достоверно реже по сравнению с амфотерицином В. Результаты исследования показали, что вориконазол – более эффективное и безопасное средство лечения ИА, чем амфотерицин В.

Лечение ИА вориконазолом начинают с дозы 6 мг/кг в/в каждые 12 ч (2 дозы), затем по 4 мг/кг каж-

Спектр антимикотического действия и некоторые фармакокинетические параметры антифунгальных средств [10]

Препарат	Наиболее чувствительные к препарату возбудители	Биодоступность	Проникновение
Амфотерицин В	Практически все возбудители глубоких микозов: • диморфные грибы (<i>Blastomyces</i> , <i>Histoplasma</i> , <i>Coccidioides</i>) • плесневые грибы (<i>Aspergillus</i>) • дрожжеподобные грибы (<i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i>)	0–2 %	2–4 %
Вориконазол	• <i>Candida spp.</i> , в том числе резистентные к флуконазолу <i>C. krusei</i> и <i>C. glabrata</i> • <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Trichosporon asahii</i> и <i>Saccharomyces cerevisiae</i> • <i>Aspergillus spp.</i> , в том числе резистентные к амфотерицину В, <i>A. terreus</i> и <i>A. nidulans</i> • <i>Scedosporium</i> и <i>Fusarium spp.</i> Кроме того, установлена клиническая эффективность вориконазола в лечении инфекций, обусловленных <i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Fonsecaea</i> , <i>Paecilomyces spp.</i>	96 %	75–80 %
Миконазол	• Спектр кетоконазола + плесневые грибы (<i>Aspergillus</i>)	25 %	10 %
Итраконазол	• Дрожжеподобные грибы (<i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i>) • Возбудители дерматомикозов (<i>Trichophyton</i> , <i>Microsporium</i> , <i>Epidermophyton</i>) • Диморфные грибы (<i>Blastomyces</i> , <i>Histoplasma</i> , <i>Coccidioides</i>) • Плесневые грибы (<i>Aspergillus</i>)	70–75 %	
Каспофунгин	• <i>Candida spp.</i> , включая резистентные (<i>C. krusei</i>) и со сниженной чувствительностью (<i>C. glabrata</i>) к азолам или резистентные к амфотерицину В (<i>C. lusitaniae</i>) штаммы • <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> и <i>A. terreus</i> , в том числе на резистентные к амфотерицину В изоляты • <i>Acremonium</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Trichoderma</i> и <i>Alternaria spp.</i> • <i>Paecilomyces variotii</i> и <i>Scedosporium apiospermum</i> , <i>Blastomyces dermatitidis</i> , <i>Histoplasma capsulatum</i> и <i>Sporothrix schenckii</i> • В отличие от амфотерицина В и триазолов каспофунгин действует на <i>Pneumocystis jiroveci</i>	Более 80 %	

дые 12 ч. Эти дозы выше, чем обычно назначаемые при пероральном приеме (200 мг каждые 12 ч). Поскольку у детей имеет место более быстрый метаболический клиренс, доза вориконазола у них должна быть выше. Поддерживающая доза вориконазола у детей составляет 7 мг/кг 2 раза в сутки, что рекомендуется Европейским медицинским агентством (European Medicines Agency — ЕМЕА) для достижения концентраций препарата в плазме, сравнимых с таковыми у взрослых. При нейтропении вориконазол назначают внутривенно, при улучшении клинического состояния больного препарат можно принимать и в таблетированной форме.

Эхинокандины являются новым классом антимикотиков с отличным от других антимикотиков механизмом действия, связанным с блокадой синтеза 1,3-β-D-глюкана — важного структурного и функционального компонента клеточной стенки грибов. В связи с тем, что 1,3-β-D-глюкан отсутствует в организме человека, эхинокандины обладают очень хорошей переносимостью с минимальным количеством нежелательных явлений.

Все эхинокандины назначаются только внутривенно. Они обладают дозозависимой фармако-

кинетикой с β-периодом полувыведения 10–15 ч, что позволяет назначать их 1 раз в сутки. Каспофунгин и эхинокандины метаболизируются в печени и медленно экскретируются с мочой и калом. Каспофунгин показан пациентам с вероятным или возможным ИА при неэффективности или непереносимости других зарегистрированных препаратов [14, 25]. Рекомендованная на настоящий момент доза каспофунгина для взрослых составляет 70 мг в качестве нагрузочной (в первый день), затем по 50 мг/сут в виде медленной внутривенной инфузии примерно в течение 1 ч. Появились данные об использовании более высоких доз каспофунгина (70 мг/сут) в качестве комбинированной «терапии спасения». В случаях значимого снижения функции печени доза препарата для взрослых пациентов должна быть снижена до 35 мг/сут [2, 25].

Эффективность каспофунгина оценивали при ИА, рефрактерном к амфотерицину В или итраконазолу. Активно исследуется эффективность комбинированного применения каспофунгина с другими антимикотиками (обычным и липосомальным амфотерицином В, вориконазолом, итраконазолом и пр.) при различных микозах, рефрактерных к стандартному лечению. Например, при

рефрактерном к липосомальному амфотерицину В ИА эффективность комбинированной терапии каспофунгином и липосомальным амфотерицином В составила 46 % и 60 % [14, 17].

Применение амфотерицина В и амбизома ограничивают недостаточная эффективность, дозозависимая нефротоксичность и инфузионные реакции. Амфотерицин В назначают при непереносимости или недоступности других антимикотиков. Для снижения нефротоксичности применяют гидратацию физиологическим раствором, восполнение дефицита калия и магния, а также отмену других нефротоксичных препаратов. Совместное применение лазикса и амфотерицина В повышает нефротоксичность последнего. У больных с выраженным нарушением функции почек применение амфотерицина В не рекомендуют, однако при проведении хронического гемодиализа амфотерицин В используют в обычной дозе – 1–1,5 мг/кг/сут [22].

Итраконазол выпускается в виде капсул, перорального раствора в гидроксипропил-β-циклодекстрине (HPCD) и парентерального раствора, который также содержит HPCD в качестве растворителя [20, 30]. Абсорбция активного вещества при приеме капсул, которой способствует низкий уровень рН желудка и пищевых жиров, может изменяться и становиться минимальной при приеме препарата натощак, особенно у пациентов

с гранулоцитопенией на фоне онкологических заболеваний и пациентов с пониженной кислотностью желудка. Рекомендуемая доза итраконазола при пероральном приеме для взрослых составляет 400 мг/сут (капсулы) и 2,5 мг/кг 2 раза в сутки (пероральный раствор). Итраконазол 200 мг 2 раза в сутки (суспензия) назначают при стабилизации состояния больного после начального применения вориконазола и др. В связи с вариабельной биодоступностью итраконазол для лечения аспергиллеза у больных в отделениях реанимации и интенсивной терапии не применяют [21, 22]. Антифунгальную терапию продолжают до исчезновения клинических признаков заболевания, эрадикации возбудителя из очага инфекции, а также завершения нейтропении. Средняя продолжительность лечения до стабилизации состояния больного составляет 20 дней, достижения полной ремиссии – 60 дней. Обычно антифунгальную терапию продолжают не менее 3 мес, у больных с сохраняющейся иммуносупрессией необходимо более длительное лечение [3, 8].

Без адекватной терапии ИА почти всегда неуклонно прогрессирует, заканчиваясь фатальным исходом, поэтому чрезвычайно важным является раннее назначение противогрибковой терапии предпринимаемым вкуче с контролем ее эффективности.

Л и т е р а т у р а

- Алехина Л.К., Клясова Г.А., Сперанская Л.Л. и др. Грамотрицательные бактерии при нейтропении. Материалы I Всероссийского съезда гематологов (16–18 апреля 2002 г., Москва) 2002. С. 38.
- Багирова Н.С., Дмитриева Н.В. Дрожжевые грибы: идентификация и резистентность к противогрибковым препаратам в онкогематологическом стационаре. Инфекции и противомикробная терапия 2001;3:178–82.
- Волкова М.А. Клиническая онкогематология. М: Медицина, 2001. 576 с.
- Галстян Г.М., Гласко Е.Н., Городецкий В.М., Гржимоловский А.В., Данишян К.И., Демидова И.А., Капланская И.Б., Кесельман С.А., Клясова Г.А., Любимова Л.С., Шулушко Е.М., Савченко В.Г. Биопсия легкого в диагностике причин поражения легких у больных гемобластозами. Тер Архив 2003;75(10):57–60.
- Городецкий Г.М., Галстян Г.М., Шулушко Е.М. Рождение и современное состояние реанимационной гематологии. Гематол и трансфузиол 2001;3:59–64.
- Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Российские национальные рекомендации. Под ред. Н.Н. Клишко. М.: Боргес, 2010. 92 с.
- Дмитриева Н.В., Петухова И.Н., Иванова Л.Ф. и др. Грибковые инфекции у больных солидными опухолями и гемобластозами. Инфекции и антимикробная химиотерапия 2001;3(3):92–3.
- Долгих М.С. Герпесвирусные инфекции у иммунодефицитных пациентов. Тер архив 2001;11:59–65.
- Клишко Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. В кн.: Руководство для врачей, 2-е изд., перераб. и доп. М.: Ви Джи Групп, 2008. 336 с.
- Клясова Г.А. Микотические инфекции: клиника, диагностика, лечение. Инфекции и антимикробная терапия 2000;2(6):184–9.
- Клясова Г.А., Масчан А.А., Веселов А.В. Лечение инвазивного аспергиллеза легких на основании рекомендаций американского общества по инфекционным болезням. Онкогематология 2008;1–2:58–63.
- Клясова Г.А., Савченко В.Г. Тактика антибиотической терапии инфекционных осложнений у больных с критической нейтропенией. Проблемы гематологии 1998;4:54–60.
- Козлова Ю.Е., Петрова Н.А., Клясова Г.А. Распространение потенциально патогенных мицелиальных грибов в гематологическом стационаре. Проблемы гематологии 2002;1:41–3.
- Ларионов В.Б., Фаломеева Н.А., Рябухина Ю.Е. и др. Опыт применения каспофунгина (кансидас) у онкогематологических больных. Сопроводительная терапия в онкологии 2006;4:2–10.
- Лессовой В.С., Липницкий А.В., Очкурова О.М. Микозы пищеварительного тракта. Проблемы мед. микологии 2004;6(2):19–23.
- Масчан А.А. Клиника, диагностика и лечение инвазивного аспергиллеза у детей с онкогематологическими заболеваниями. Пособие для врачей. М., 2005.
- Масчан А.А., Клясова Г.А., Веселов А.В. Обзор рекомендаций американского общества по инфекционным болезням по лечению аспергиллеза. Методические рекомендации. М., 2008. 134 с.
- Петрова Н.А., Клясова Г.А. Возможные источники инфицирования аспергиллами в гематологическом стационаре. Тер Архив 2005;7:71–7.
- Ричардсон М.Д., Кокки М. Руководство по лечению системных микозов. М.: Гилед Сайнсиз, 1999. 64 с.
- Стецюк И.В., Поночевная Е.В.,

Кавардакова Н.В. Опыт использования итраконазола у детей с онкогематологическими заболеваниями на фоне проведения интенсивных химиотерапевтических программ. Украинський журнал гематології та трансфузіології 2004;6:27–9.

21. Тимофеева В.Н., Румянцева Ю.В., Мансурова Е.Г. и др. Характеристика инфекционных осложнений у пациентов с онкогематологическими заболеваниями: результаты проспективного исследования в России. Материалы VI симпозиума «Биологические основы терапии онкологических и гематологических заболеваний», Москва, 29–30 января 2009. С. 76–7, 472.
22. Baden L.R., Katz J.T., Fishman J.A. Salvage therapy with voriconazole for invasive fungal infections in patients failing or intolerant to standard antifungal therapy. *Transplantation* 2003;76:1632–7.
23. Beyer J., Schwartz S., Heinemann V. Strategies in prevention of invasive pulmonary aspergillosis in immunosuppressed or neutropenic patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:911–7.
24. Brodman D., Rosenthal D., Redner A.

Immunodeficiency in children with acute lymphoblastic leukemia after completion of modern aggressive chemotherapeutic regimens. *J Pediatr* 2005;146(5):654–61.

25. Brown H.A. Invasive fungal infections: a review of epidemiology and management options. *J Med Microbiol* 2006;55:809–18.
26. Carratala J. The antibiotic lock technique for therapy of «highly needed» infected catheters. *Clin Microbiol Infect* 2002;8:282–9.
27. Cornely O., Lasso M., Betts R. Caspofungin for the treatment of less common forms of invasive candidiasis. *J Antimicrob Chemother* 2007;60:363–9.
28. Cornely O., Maertens J., Winston D. Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N Engl J Med* 2007;356:348–59.
29. Denning D., Kibbler C., Barnes R. Society for Medical Mycology proposed standards of care for patients with invasive fungal infections. *British Lancet* 2003;3:230–40.
30. Herbrecht R., Denning D.W., Patterson T.F., Invasive Fungal Infections Group of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer and the

Global Aspergillus Study Group. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med* 2002;8:408–15.

31. Pagano L., Caira M., Candoni A. The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica* 2006;91:1068–75.
32. Pappas P.G. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect* 2009;48:503–35.
33. Patterson T.F., Kirkpatrick W.R., White M. Invasive aspergillosis disease spectrum, treatment practices, and outcomes. *Medicine* 2000;7(9):250–60.
34. Rex J.H., Pfaller M.A. Has antifungal susceptibility testing come of age? *Clin Infect Dis* 2002;35:982–98.
35. Stevens D.A., Kan V.L., Judson M.A. Practice guidelines for diseases caused by *Aspergillus*. *Clin Infect Dis* 2000;30:676–709.
36. Wingard J.R., Leather H.L. Empiric antifungal therapy for the neutropenic patient. *Oncology* 2001;15:351–63.

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 необщепринятых сокращений не допускается.

Название генов пишется курсивом, название белков — обычным шрифтом.

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

- Список 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 желательнее 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, д. 24, стр. 15 либо по электронной почте на адрес редакции: redactor@abvpress.ru с обязательным указанием названия журнала.