

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

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

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

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

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

Е.А. Никитин

Гематологический научный центр РАМН, Москва

КАК НАСЛЕДУЕТСЯ В-КЛЕТОЧНЫЙ ХРОНИЧЕСКИЙ ЛИМФОЛЕЙКОЗ?

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

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

МОНОКЛОНАЛЬНЫЙ В-КЛЕТОЧНЫЙ ЛИМФОЦИТОЗ — ПРЕДРАК?

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

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

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

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

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Эта генетическая гетерогенность может объяснять различия в прогнозе.

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

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

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

АНАЛИЗ СООТНОШЕНИЯ СВОБОДНЫХ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ

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

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

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОГНОЗА

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

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

ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ ТЕРАПИИ В-ХЛЛ

Терапия 1-й линии

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

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

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

Лечение рецидивов

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

FC-Cam

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

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

Люмиликсимаб

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

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

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

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

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

Исследования новых препаратов *in vitro*

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

Аутологичная трансплантация

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

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

Немиелоаблятивная аллогенная трансплантация

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

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

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

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

СИНДРОМ РИХТЕРА И ИНФЕКЦИЯ ЭПШТЕЙНА — БАРР

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

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

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

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

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

Л и т е р а т у р а

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