

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

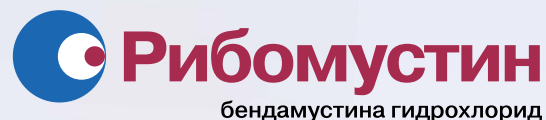
Первичный миелофиброз

**Вориконазол в лечении инвазивного
аспергиллеза**

**Микрофлора ротовой полости
у детей с онкогематологическими
заболеваниями**

**Триоксид мышьяка
в лечении рецидивов острого
промиелоцитарного лейкоза**

2



ДВОЙНОЙ УДАР ПО БОЛЕЗНИ

- Высокая частота и длительность ремиссий у пациентов с ХЛЛ, в том числе рефрактерных к флударабину^{1,2}
- На три года большая выживаемость без прогрессирования, в сравнении с R-CHOP у пациентов с и-НХЛ и ЛЗМ³
- Быстрый ответ на терапию и длительная ремиссия у пациентов с ММ⁴
- Не требуется коррекции дозы у пациентов с хронической почечной недостаточностью⁵

ХЛЛ – хронический лимфолейкоз / иНХЛ – индолентные неходжкинские лимфомы / ЛЗМ – лимфома зоны мантии / ММ – множественная миелома

1. Knauf W. et al., British Journal of Haematology, 2012, 159, 67–77. 2. Fischer K. et al. J Clin Oncol 29: 3559–3566. 2011. 3. Rummel et al., Lancet. 2013 Apr 6; 381(9873): 1203–10. 4. Pönisch et al., J Cancer Res Clin Oncol. 2006 Apr; 132(4): 205–12. 5. Pönisch et al., J Cancer Res Clin Oncol. 2012 Aug;138(8): 1405–12.

РУ ЛСР-006546/10 от 08.07.2010 г. Информация для специалистов здравоохранения. Имеются противопоказания, перед назначением необходимо ознакомиться с инструкцией grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx

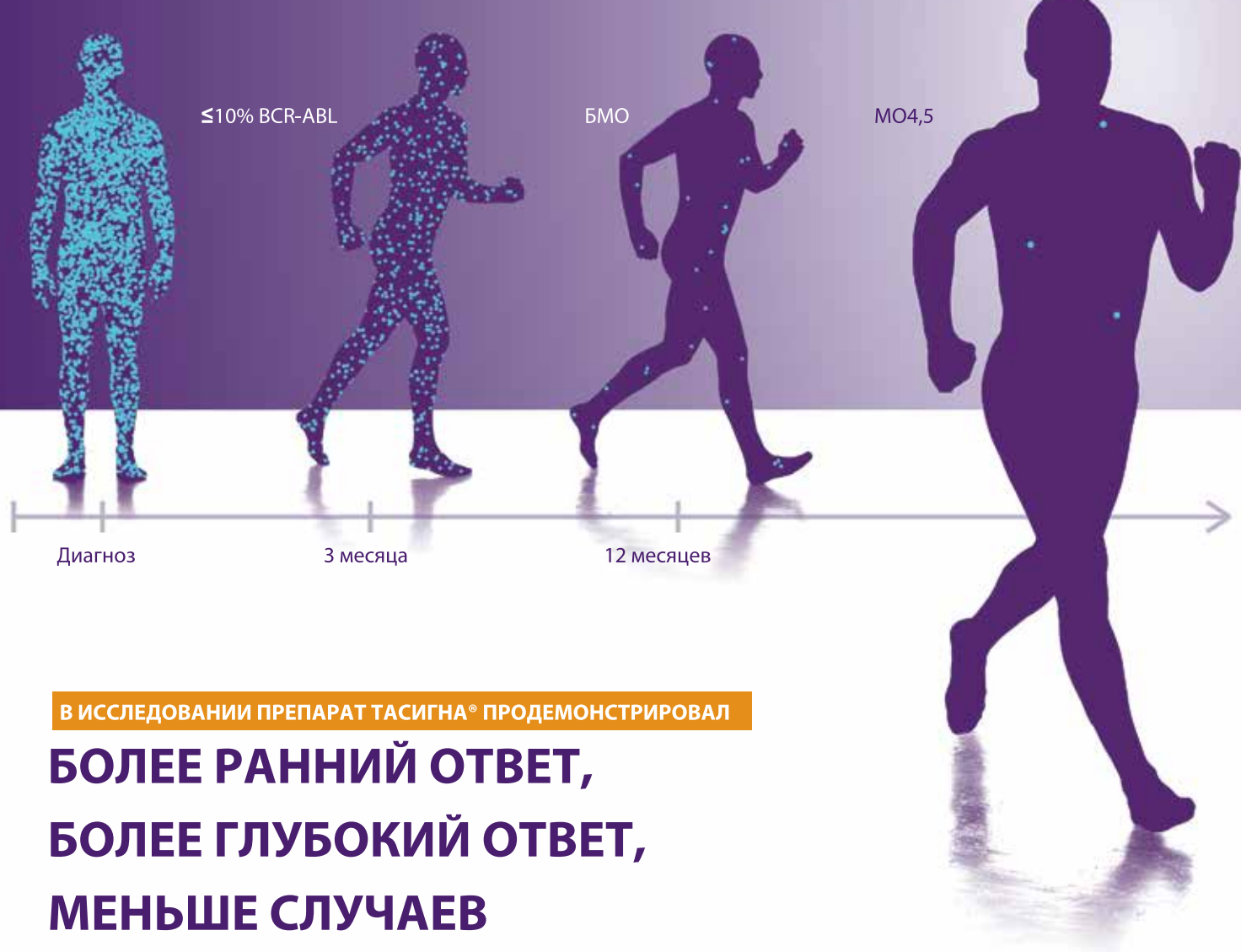
Представительство частной компании с ограниченной ответственностью

«Астеллас Фарма Юроп Б.В.» (Нидерланды) г. Москва

Россия, 109147, Москва, ул. Марксистская, 16 • Тел. +7 495 737 07 55

Реклама. RUS/BEN/01.2015/1/Tamion/489





В ИССЛЕДОВАНИИ ПРЕПАРАТ ТАСИГНА® ПРОДЕМОНСТРИРОВАЛ

БОЛЕЕ РАННИЙ ОТВЕТ, БОЛЕЕ ГЛУБОКИЙ ОТВЕТ, МЕНЬШЕ СЛУЧАЕВ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ*

по сравнению с иматинибом¹⁻⁵

Терапия препаратом Тасигна® позволяет пациентам с Ph+ ХМЛ достигать более раннего и более глубокого ответа по сравнению с иматинибом, что способствует значительному увеличению выживаемости без прогрессирования¹⁻⁵

*до фазы акселерации/бластного криза (ФА/БК) Ph+ ХМЛ – хроническая миелоидная лейкемия с положительной Филадельфийской хромосомой

1. Kantarjian et al. Lancet Oncol 2011, Sep;12(9): pp.841-851
2. Larson et al. Leukemia 2012; 26: pp.2197-2203
3. Larson et al. J Clin Oncol 31, 2013; suppl; abstr 7052^
4. Saglio G, et al. Blood 2013; 92: 122 (21)
5. Larson RA, et al. Blood 2014; 124: 124 (21)
6. Baccarani M, et al. Blood 2013; vol.12; num.6: pp.872-884
7. Timothy P. Hughes, et al. Blood 2014; 123: pp.1353-1360

 **Тасигна®**
(НИЛОТИНИБ)

**ОТВЕТ имеет
ЗНАЧЕНИЕ^{6,7}**

 **NOVARTIS**
ONCOLOGY

Полную информацию о препарате можно
получить в ООО "Новartis Фарма":
Москва, ул. Ленинградский проспект, дом 72, корпус 3.
Тел. +7(495) 967 1270. Факс +7(495) 967 1268
www.novartis.ru

© Novartis 2015

402918/TAS/AM-A4/0515/3000

Краткое описание ТАСИГНА®/TASIGNA®

Лекарственная форма

Нилотиниба гидрохлорид моногидрат. Капсулы 150 мг и 200 мг.

Показания

Впервые выявленный положительный по филадельфийской хромосоме (Ph+) хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) в хронической фазе у взрослых.

Лечение положительного по филадельфийской хромосоме хронического миелолейкоза в хронической фазе и фазе акселерации у взрослых пациентов при непереносимости или резистентности к предшествующей терапии, включая иматиниб.

Дозы и способ применения

Для лечения впервые выявленного Ph+ХМЛ в хронической фазе у взрослых рекомендовано применять препарат Тасигна® в дозе 300 мг дважды в сутки.

Для лечения Ph+ХМЛ в хронической фазе и фазе акселерации у взрослых пациентов при непереносимости или резистентности к предшествующей терапии, включая иматиниб, рекомендуемая доза препарата Тасигна® составляет 400 мг 2 раза в сутки. Препарат следует принимать 2 раза в сутки (каждые 12 ч), через 2 часа после еды. После применения препарата Тасигна® принимать пищу можно не ранее, чем через 1 час. Для пациентов с затрудненным глотанием возможно растворение содержимого капсул в одной чайной ложке яблочного пюре непосредственно перед приемом. Для растворения содержимого капсул следует использовать только яблочное пюре. Содержимое капсул не следует растворять в более чем одной чайной ложке яблочного пюре. На фоне применения препарата Тасигна® отмечалось повышение концентрации холестерина в сыворотке крови. Следует проводить оценку липидного профиля до начала лечения, а также во время лечения препаратом Тасигна®.

На фоне применения препарата Тасигна® отмечалось повышение концентрации глюкозы в плазме крови. Следует оценивать концентрацию глюкозы в плазме крови до начала лечения, а также, при необходимости, во время лечения препаратом Тасигна®.

Противопоказания

Повышенная чувствительность к активному веществу или любому другому компоненту препарата.

Беременность и период кормления грудью.

Детский и подростковый возраст до 18 лет (данные по применению отсутствуют).

Предосторожности

Возникающие на фоне применения препарата Тасигна® тромбоцитопения, нейтропения и анемия, в большинстве случаев являются обратимыми и исчезают после временной отмены препарата или уменьшения его дозы. Необходимо проводить клинический анализ крови каждые 2 недели в течение первых 2 месяцев терапии препаратом, а затем – ежемесячно или в случае возникновения клинической необходимости. С осторожностью применять у пациентов с удлиненным интервалом QT или риском удлинения интервала QT (у пациентов с гипокалиемией или гипомagneмией, с врожденным синдромом удлиненного интервала QT, получающих лечение антиаритмическими препаратами или другими препаратами, удлиняющими интервал QT, с медикаментозно неконтролируемыми или тяжелыми заболеваниями сердца (включая недавно перенесенный инфаркт миокарда, стойкую сердечную недостаточность, нестабильную стенокардию или клинически значимую брадикардию, у пациентов, принимающих антиаритмические препараты, или другие препараты, которые могут способствовать удлинению интервала QT). Следует проводить электрокардиографию (ЭКГ) перед началом, а также во время терапии препаратом Тасигна® в соответствии с клиническими показаниями. Следует провести коррекцию гипокалиемии или гипомagneмии перед началом терапии препаратом. В клинических исследованиях при применении препарата Тасигна® (не у пациентов с впервые выявленным ХМЛ в хронической фазе) отмечались случаи (частота 0,1–1%, градиция – «нередко») внезапной смерти пациентов, имеющих высокий риск развития сердечно-сосудистых осложнений (включая нарушения реполяризации желудочков) или имеющих сопутствующие заболевания/получающих сопутствующую терапию. По данным постмаркетинговых исследований Ph+ХМЛ в хронической фазе и фазе акселерации у взрослых пациентов при непереносимости или резистентности к предшествующей терапии, включая иматиниб, частота спонтанных сообщений о случаях внезапной смерти составила 0,02% на 1 пациента в год. Перед началом и в процессе лечения препаратом рекомендуется проводить ЭКГ-исследование.

При применении препарата Тасигна® в клинических исследованиях, а также в постмаркетинговых исследованиях у пациентов с впервые диагностированным ХМЛ отмечены случаи развития осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы (окклюзия периферических артерий, ишемическую болезнь сердца и ишемические цереброваскулярные явления). При появлении соответствующих жалоб или симптомов острых нарушений со стороны сердечно-сосудистой системы пациенту следует немедленно обратиться за медицинской помощью. Следует контролировать функцию сердечно-сосудистой системы, а также оценивать факторы риска развития осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы у пациентов на всем протяжении терапии препаратом Тасигна®. При внезапном и быстром увеличении массы тела у пациентов, получающих лечение нилотинибом, следует провести тщательное обследование с целью выяснения причины. При появлении симптомов задержки жидкости тяжелой степени следует уточнить этиологию данного явления и провести соответствующее лечение.

На фоне применения препарата Тасигна® отмечалось повышение концентрации холестерина в сыворотке крови. Следует проводить оценку липидного профиля до начала лечения, а также через 3 и 6 месяцев после начала лечения препаратом Тасигна® и минимум 1 раз в год при длительном применении. При необходимости одновременного применения ингибиторов ГМГ-КоА редуктазы см. раздел «Взаимодействие», поскольку некоторые ингибиторы ГМГ-КоА редуктазы метаболизируются при помощи изофермента CYP 3A4.

На фоне применения препарата Тасигна® отмечалось повышение концентрации глюкозы в плазме крови. Следует оценивать концентрацию глюкозы в плазме крови до начала лечения, а также во время лечения препаратом Тасигна®. Если результаты тестов требуют дополнительной терапии, врач должен следовать локальным стандартам и руководствам.

Следует с осторожностью применять препарат у пациентов с панкреатитом в анамнезе. При повышении активности липазы в плазме крови, сопровождающейся абдоминальными симптомами, прием препарата должен быть прекращен. Вследствие риска развития синдрома лизиса опухоли перед назначением препарата следует скорректировать клинически выраженный дегидратацию и повышенную концентрацию мочевой кислоты у пациентов.

Не следует принимать препарат Тасигна® одновременно с пищей. Необходимо избегать одновременного приема препарата с грейпфрутовым соком или продуктами, являющимися ингибиторами CYP3A4.

Взаимодействия

Следует избегать одновременного применения нилотиниба с препаратами, вызывающими удлинение интервала QT (например, метадон, хлорохином, галофантрином, кларитромицином, галоперидолом, моксифлоксацином, бепридиллом, пимозидом); с препаратами, являющимися индукторами изофермента CYP3A4 (в т.ч. фенитоином, рифампицином, карбамазепином, фенобарбиталом и зверобоем); с антиаритмическими лекарственными средствами (например, амиодароном, дизопирамидом, прокаинам, хинидином, соталолом); с препаратами, являющимися сильными ингибиторами CYP3A4 (например, нетоконазолом, ритонавиром, итраконазолом, вориконазолом, телитромицином), а также с грейпфрутовым соком.

Возможно одновременное применение препарата Тасигна® с эзомепразолом или другими ингибиторами протонной помпы.

Возможно одновременное применение препарата Тасигна® с варфарином.

Соблюдать осторожность при применении вместе с лекарственными средствами, действующими на систему Р-гликопротеина. Нилотиниб является умеренными ингибитором изофермента CYP3A4, в связи с чем при одновременном применении препаратов, метаболизирующихся главным образом с участием изофермента CYP3A4 (например, некоторые ингибиторы ГМГ-КоА редуктазы), их системная экспозиция может увеличиваться. При одновременном применении нилотиниба и препаратов, являющихся субстратами изофермента CYP3A4, имеющих узкий терапевтический индекс (в том числе, алфентанил, циклоспорин, дигидроэрготамин, эрготамин, фентанил, сирилимус, такролимус и др.), может потребоваться соответствующий контроль и коррекция доз.

При необходимости одновременного применения H2-блокаторов гистаминовых рецепторов с препаратом Тасигна®, их следует принимать за 10 часов до или через 2 часа после приема препарата Тасигна®.

При необходимости применения антацидов их можно принимать за 2 часа до или примерно через 2 часа после приема препарата Тасигна®.

Побочное действие

Очень часто: головная боль, тошнота, запор, рвота, боль в верхних отделах живота, сыпь, зуд, алопеция, миалгия, артралгия, повышенная утомляемость, миелосупрессия (тромбоцитопения, нейтропения, анемия), гипофосфатемия (в т.ч. уменьшение содержания фосфора в крови), гипергиллибуринемия (в т.ч. увеличение концентрации билирубина в крови), увеличение активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ), увеличение активности липазы, увеличение концентрации холестерина липопротеинов (в т.ч. высокой и низкой плотности), увеличение концентрации общего холестерина, увеличение концентрации триглицеридов крови.

Часто: фарингит, инфекции верхних дыхательных путей (включая фарингит, назофарингит и ринит), папиллома кожи, лейкопения, зооинофия, фебрильная нейтропения, панцитопения, лимфопения, нарушение водно-электролитного баланса (гипомагнезия, гипер/гипокалиемия, гипонатриемия, гипер/гипоалькалемия, гиперфосфатемия), сахарный диабет, гипергликемия, гиперхолестеринемия, гиперлипидемия, гипертриглицеридемия, снижение аппетита, депрессия, бессонница, тревожность, головокружение, периферическая нейропатия, гистезии, парестезии, внутриглазное кровоизлияние, периорбитальный отек, зуд в глазах, конъюнктивит, синдром «сухого глаза» (включая ксерофтальмию), вертиго, стенокардия, аритмия (включая атеротрикулярную блокаду, трепетание и мерцание предсердий, экстрасистолию, тахикардию, брадикардию), ощущение сердцебиения, удлинение интервала QT на ЭКГ, повышение артериального давления, «приливы», одышка в покое и при физической нагрузке, носовое кровотечение, кашель, дисфония, боль в животе диарея, панкреатит, дискомфорт в животе, вздутие живота, диспепсия, дисгевзия, метеоризм, нарушение функции печени, ночная потливость, экзема, крапивница, гипергидроз, подкожные кровоизлияния, анге, дерматит (включая аллергический эксфолиативный и акнеформный), мышечные спазмы, боли в костях, боли в конечностях, костно-мышечные боли, костно-мышечные боли в грудной клетке, боли в спине и шее, боли в боку, мышечная слабость, полланурия, астеня, периферические отеки, лихорадка, боли в грудной клетке (в том числе, не кардиального происхождения), боли различной локализации, дискомфорт в груди, недомогание, снижение уровня гемоглобина, повышение в плазме крови активности амилазы, гамма-глутамилтрансферазы, креатинфосфокиназы, щелочной фосфатазы, гиперинсулинемия, уменьшение или увеличение массы тела, уменьшение концентрации глобулинов.

Нечасто: пневмония, инфекции мочевыводящих путей, гастроэнтерит, бронхит, герпетическая инфекция, кандидоз (включая кандидоз ротовой полости), гипертиреоз, гипотиреоз, подагра, дегидратация, повышение аппетита, внутричерепные кровоизлияния, ишемический инсульт, преходящее нарушение мозгового кровообращения ишемического характера, инфаркт мозга, мигрень, потеря сознания (включая синкопе), тремор, нарушение внимания, гиперестезия, ухудшение зрения, затуманивание зрения, снижение остроты зрения, отек век, фотопсия, гиперемия (склеры, конъюнктивы), раздражение глаз, кровоизлияния в конъюнктиву, сердечная недостаточность, инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца, появление шумов в сердце, выпот в полость перикарда и плевры, цианоз, гипертонический криз, окклюзия периферических артерий, перемежающаяся хромота, стеноз артерий конечностей, гематома, атеросклероз, отек легких, интерстициальные заболевания легких, плевральный выпот, плевропальная боль, плеврит, боли в области глотки и/или гортани, раздражение слизистой оболочки глотки, желудочно-кишечные кровотечения, мелена, изъязвления слизистой оболочки полости рта, гастро-эзофагеальный рефлюкс, стоматиты, боль в пищеводе, сухость во рту, гастрит, повышение чувствительности зубной эмали, гепатотоксичность, токсическое поражение печени (в том числе гепатит), желтуха, эксфолиативная сыпь, лекарственная сыпь, болезненность кожи, эхтимозы, отек лица (включая припухлость), спонтанность движений, отеки суставов, дизурия, императивные позывы к мочеиспусканию, никтурия, боль в грудной железе, гинекомастия, зрительная дисфункция, отек лица, отеки ног, гриппоподобный синдром, озноб, ощущение изменения температуры тела (чередование «ощущения жара» и «ощущения холода»), повышение в плазме крови активности лантатдегидрогеназы, повышение уровня мочевины.

Частота неизвестна: сепсис, подкожный абсцесс, абсцесс перинальной области, фурункул, дерматомиты стопы, папилломы ротовой полости, парaproктит, тромбоцитопения, лейкоцитоз, гиперчувствительность, вторичный гиперпаратиреоз, тиреоидит, гиперурикемия, гипогликемия, дезориентация, спутанность сознания, амнезия, дисфория, преходящее нарушение мозгового кровообращения, стеноз базиллярной артерии, отек мозга, неврит зрительного нерва, заторможенность, дисестезия, синдром «беспокойных» ног, отек диска зрительного нерва, диплопия, светобоязнь, припухлость век, блефарит, боль в глазу, хориоретинопатия, аллергические конъюнктивиты, заболевания слизистых оболочек глаз, снижение остроты слуха, боль в ушах, шум в ушах, нарушение функции желудочков, перикардит, снижение фракции выброса, геморрагический шок, снижение артериального давления, тромбоз, стеноз периферических артерий, легочная гипертензия, хрипы, боль во рту и в глотке, перфорация желудочно-кишечных язв, ретроперитонеальное кровоизлияние, рвота с кровью, язва желудка, язвенный эзофагит, частичная кишечная непроходимость, энтероколит, геморрой, грыжа пищеводного отверстия диафрагмы, ректальные кровотечения, гингивит, холестаз, гепатомегалия, псориаз, многоформная экссудативная эритема, узловатая эритема, язвы кожи, синдром ладонно-подошвенной эритродисестезии, петехии, фоточувствительность, волдыри, кожные кисты, гиперплазия саленных желез, атрофия кожи, изменение цвета кожи, шелушение кожи, гиперпигментация кожи, гипертрофия кожи, гиперкератоз, артриты, почечная недостаточность, гематурия, недержание мочи, хроматурия, уплотнение молочных желез, меноррагия, набухание сосков, локализованные отеки, повышение в плазме крови уровня неконъюгированного билирубина, тропонина, понижение уровня инсулина в крови, понижение активности С-пептида в крови, повышение уровня паратормона в плазме крови, синдром лизиса опухоли.

Формы выпуска

Первичная упаковка

По 4 или по 8 капсул в блистер из ПВХ/ПВДХ.

Вторичная упаковка

По 7 блистеров по 4 капсулы вместе с инструкцией по применению в картонную пачку – недельная упаковка (28 капсул).

По 5 блистеров по 8 капсул вместе с инструкцией по применению в картонную пачку – 10-дневная упаковка (40 капсул).

По четыре недельные упаковки (4 x 28) помещают в картонную коробку – месячная упаковка (112 капсул).

По три 10-ти-дневные упаковки (3 x 40) помещают в картонную коробку – 30-ти-дневная упаковка (120 капсул).

Примечание для врача

Прежде, чем назначить препарат, пожалуйста, прочитайте также инструкцию по применению.

Новартис Фарма АГ, произведено Новартис Фарма Штейн АГ, Швейцария

В случае упаковки в РФ дополнительно указывают:

Упаковщик (вторичная (потребительская) упаковка) / выпускающий контроль качества

ОАО «Фармстандарт-УфаВИТА», Россия

Организация, принимающая претензии потребителей

ОАО «Фармстандарт-УфаВИТА»

450077, Россия, г. Уфа,

ул. Худайбердина, д. 28,

тел./факс (347) 272 92 85,

www.pharmstd.ru

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

С 2006 года журнал «Онкогематология» включен в Научную электронную библиотеку и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), имеет импакт-фактор.

С 2015 года журнал зарегистрирован в CrossRef, все статьи будут проиндексированы с помощью цифрового идентификатора DOI.

С 2015 года электронная версия журнала представлена в ведущих российских и мировых электронных библиотеках, в том числе EBSCO.

ОНКО ГЕМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ
ONCOHEMATOLOGY

www.oncohematology.abvpress.ru

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Самочатова Елена Владимировна, заслуженный врач России, д.м.н., профессор, заведующая отделом клинических исследований ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Афанасьев Борис Владимирович, д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, директор Института детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, заведующий кафедрой гематологии, трансфузиологии и трансплантологии ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» (Санкт-Петербург, Россия)
Птушкин Вадим Вадимович, д.м.н., профессор, заместитель главного врача по гематологии ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы», заведующий отделом кооперированных исследований в гематологии/онкологии подростков и взрослых ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Румянцев Юлиа Васильевна, д.м.н., заведующая отделом исследования лимфопролиферативных заболеваний ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Алейникова Ольга Витальевна, профессор, член-корреспондент Национальной академии наук Республики Беларусь, директор ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» Министерства здравоохранения Республики Беларусь, врач-гематолог высшей квалификационной категории (Минск, Республика Беларусь)

Адрес редакции:
115478, 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
Редактор-координатор Т.И. Гнатеева
Корректор В.Е. Ефремова
Дизайн Е.В. Степанова
Верстка О.В. Гончарук

Служба подписки и распространения
И.В. Шургаева, +7 (499) 929-96-19
e-mail: baza@abvpress.ru
Служба рекламы
В.А. Клюковкин, +7 (926) 203-04-77
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. 2015. № 2. 1–70
© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2015

Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» — 42167

Отпечатано в типографии
ООО «Тверская Фабрика
Печати»
Тираж 3000 экз.

www.oncohematology.abvpress.ru

О с н о в а н в 2 0 0 5 г.

2 ТОМ 10
'15

Голенков Анатолий Константинович, д.м.н., профессор, академик РАЕН, руководитель отделения клинической гематологии и иммунотерапии ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. Н.Ф. Владимирского», главный гематолог Московской области (Москва, Россия)

Карачунский Александр Исаакович, д.м.н., профессор, заместитель генерального директора — директор института онкологии, радиологии и ядерной медицины ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва, Россия)

Криволапов Юрий Александрович, д.м.н., профессор, член панели патологов Европейской сети исследования лимфом, член Европейской рабочей группы исследования костного мозга, заведующий патологоанатомическим отделением клинической молекулярной морфологии Клиники им. Э.Э. Эйхвальда ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Менделеева Лариса Павловна, д.м.н., заместитель генерального директора по науке и инновациям — директор НИИ гематологии и трансплантации костного мозга ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России (Москва, Россия)

Мякова Наталья Валерьевна, д.м.н., профессор, заведующая отделением онкогематологии ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России (Москва, Россия)

Никитин Евгений Александрович, д.м.н., руководитель дневного стационара городского гематологического центра ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы» (Москва, Россия)

Паровичникова Елена Николаевна, д.м.н., руководитель отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России (Москва, Россия)

Рукавицын Олег Анатольевич, д.м.н., профессор, начальник Гематологического центра ФГКУ «Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко», главный гематолог госпиталя (Москва, Россия)

Усс Анатолий Леонидович, д.м.н., профессор, главный гематолог Министерства здравоохранения Республики Беларусь, член Комитета по трансплантологии Совета Европы и Европейской группы по трансплантации костного мозга, руководитель Республиканского центра гематологии и трансплантации костного мозга (Минск, Республика Беларусь)

Фечина Лариса Геннадиевна, заслуженный врач РФ, заместитель главного врача по онкологии и гематологии Областной детской клинической больницы № 1, руководитель Центра детской онкологии и гематологии (Свердловская область, Екатеринбург, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Крыжановский Олег Игоревич, к.м.н., руководитель программы лечения злокачественных гематологических заболеваний онкологического центра «Alta Bates» (Калифорния, США)

Лукина Елена Алексеевна, д.м.н., профессор, руководитель научно-клинического отделения редких заболеваний, ведущий научный сотрудник отделения химиотерапии лейкозов и патологии эритронов ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России (Москва, Россия)

Поддубная Ирина Владимировна, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующая кафедрой онкологии ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России на базе ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» (Москва, Россия)

Россиес Виктор Анатольевич, к.м.н., врач высшей категории, заведующий гематологическим отделением Самарской областной клинической больницы им. М.И. Калинина (Самара, Россия)

Румянцев Александр Григорьевич, д.м.н., профессор, академик РАН, генеральный директор ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, главный внештатный специалист детский гематолог Минздрава России, член правления Союза педиатров (Москва, Россия)

Талалаев Александр Гаврилович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ГБОУ ВПО «Российский научно-исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России на базе ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница», главный детский патологоанатом г. Москвы (Москва, Россия)

CHIEF EDITOR

Samochatova Elena V., Honored Doctor of Russia, MD, PhD, Professor, Head of Clinical Research Department in Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitry Rogachev of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

DEPUTIES OF CHIEF EDITOR

Afanasiev Boris V., MD, PhD, Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, Director of Raisa Gorbacheva Memorial Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Head of the Department of Haematology, Transfusion and Transplantation at I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University (St. Petersburg, Russia)

Ptushkin Vadim V., MD, PhD, Professor, Deputy Chief Physician for hematology of S.P. Botkin City Clinical Hospital, Moscow Health Care Department; Head of Department of Cooperated Research in Adolescents/Adults Hematology/Oncology in Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitry Rogachev of Ministry of Health of Russia; Professor of the Oncology, Hematology and Radiotherapy Department, Faculty of Pediatrics in Russian Research Medical University named after N.I. Pirogov of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EXECUTIVE SECRETARY

Rumyantseva Yulia V., MD, PhD, Head of Department of Lymphoproliferative Diseases Studies in Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitry Rogachev of Ministry of Health of Russia; Professor of the Oncology, Hematology and Radiotherapy Department, Faculty of Pediatrics in Russian Research Medical University named after N.I. Pirogov of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Aleynikova Olga V., Associate Member of the National Academy of Science of the Republic of Belarus, Professor, Director of Republican Research and Medical Center for Oncology, Hematology and Immunology, Physician Hematologist of the Highest Qualification Grade (Minsk, Republic of Belarus)

Golenkov Anatoly K., MD, PhD, Professor, Academician of Russian Academy of Natural Sciences, Head of Department of Clinical Hematology and Immune Therapy in N.F. Vladimirovsky Moscow Region Research Clinical Institute, Chief Hematologist of Moscow Region (Moscow, Russia)

Karachunsky Alexander I., MD, PhD, professor, Deputy General Director – Director of the Institute of Oncology, Radiology and Nuclear Medicine of Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitry Rogachev of Ministry of Health of Russia; Professor of the Oncology, Hematology and Radiotherapy Department, Faculty of Pediatrics in Russian Research Medical University named after N.I. Pirogov of Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Krivolapov Yuriy A., MD, PhD, Professor, Member of Pathologists Panel of European Lymphomas Research Group, Member of European Bone Marrow Research Group, Head of Anatomico-Pathological Department of Clinical Molecular Morphology of E.E. Eichwald Clinics, I.I. Mechnikov North-West State Medical University of the Ministry of Health of Russia (St. Petersburg, Russia)

Mendeleeva Larisa P., MD, PhD, Deputy General Director for Science and Innovation - Director of the Research Institute of Hematology and Transplantation of Hematology Research Center of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Myakova Natalya V., MD, PhD, Professor, Head of Oncohematology Department of Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitry Rogachev of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Nikitin Evgeny A., MD, PhD, Head of the Day Hospital in Hematology Center of S.P. Botkin City Clinical Hospital, Moscow Health Care Department (Moscow, Russia)

Parovichnikova Elena N., MD, PhD, Head of Department of Chemotherapy of Hematological Malignancy, Hematosis Depressions and Bone Marrow Transplantation in Hematology Research Center of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Rukavitsyn Oleg A., MD, PhD, Professor, Head of Hematology Center of N.N. Burdenko General Military Clinical Hospital, Chief Hematologist of the Hospital (Moscow, Russia)

Uss Anatoly L., MD, PhD, Professor, Chief Hematologist of the Ministry of Health of the Republic of Belarus, Member of Transplantology Committee of the Council of Europe and European Bone Marrow Transplantation Group, Head of Republican Center for Hematology and Bone Marrow Transplantation (Minsk, Republic of Belarus)

Fechina Larisa G., Honored Doctor of the Russian Federation, Deputy Chief Physician for Oncology and Hematology of Region Children's Clinical Hospital № 1, Head of Center of Children's Oncology and Hematology (Yekaterinburg, Russia)

EDITORIAL COUNCIL

Kryzhanovsky Oleg I., MD, PhD, Director of Malignant Hematology Program Comprehensive Cancer Center "Alta Bates" Summit Medical Center (Berkeley, CA, USA)

Lukina Elena A., MD, PhD, Professor, Head of Clinical Research Branch of Rare Diseases, Leading Researcher of the Department of Pathology and Leukemia Chemotherapy Erythron of Hematology Research Center of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Poddubnaya Irina V., MD, PhD, Corresponding Member of Russian Academy of Science, Professor, Head of Oncology Department of Russian Medical Postgraduate Academy of the Ministry of Health of Russia on the basis of N.N. Blokhin Russian Oncology Research Center (Moscow, Russia)

Rossiev Viktor A., MD, PhD, Highest Grade Doctor, Head of Hematology Department in M.I. Kalinin Samara Regional Clinical Hospital (Samara, Russia)

Rumyantsev Alexander G., MD, PhD, professor, Academician of Russian Academy of Sciences, General Director of Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitry Rogachev of Ministry of Health of Russia; Professor of the Oncology, Hematology and Radiotherapy Department, Faculty of Pediatrics in Russian Research Medical University named after N.I. Pirogov of Ministry of Health of Russia; Chief Pediatric Hematologist of Ministry of Health of Russia; Board Member of Russian Association of Pediatricians (Moscow, Russia)

Talalaev Alexander G., MD, PhD, Professor, Head of Department of Anatomical Pathology in N.I. Pirogov Russian Research Medical University of the Ministry of Health of Russia based in Morozovskaya Children's Clinical Hospital, Chief Children's Anatomical Pathologist of the City of Moscow (Moscow, Russia)

ГЕМОБЛАСТОЗЫ: ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ, СОПРОВОДИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

- А.Н. Соколов, Е.Н. Паровичникова, В.В. Троицкая, Л.А. Кузьмина, В.Г. Савченко*
**Сочетание триоксида мышьяка с полностью трансретиноевой кислотой
в лечении рецидивов острого промиелоцитарного лейкоза 8**
- В.И. Игнатьева, М.В. Авксентьева*
**Клинико-экономический анализ использования вориконазола
для лечения инвазивного аспергиллеза в Российской Федерации 14**
- К.М. Абдулкадыров, В.А. Шуваев, И.С. Мартынкевич*
**Первичный миелофиброз: собственный опыт
и новое в диагностике и лечении 26**
- В. В. Птушкин, Н.В. Жуков, В.И. Борисов, С.В. Миненко, Ю.В. Ларина*
**Профилактика нейтропении при химиотерапии
миелостимуляторами пролонгированного действия 37**
- Л.М. Мещерякова, А.А. Левина, М.М. Цыбульская, Т.В. Соколова*
Лабораторные возможности дифференциальной диагностики анемий 46

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ
НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ**

- М.Ф. Вечерковская, Г.В. Тец, Б.В. Афанасьев, В.В. Тец*
Микрофлора ротовой полости детей с онкогематологическими заболеваниями 51
- А.Г. Бабаева, Н.М. Геворкян, Н.В. Тишевская,
Л.Л. Головкина, Ю.О. Муратова, А.А. Рагимов*
**О гемопоэтических свойствах рибонуклеиновой кислоты лимфоцитов
периферической крови больных истинной полицитемией и здоровых доноров 58**
- О.В. Карпова, И.В. Образцов, П.Е. Трахтман,
А.А. Игнатова, М.А. Пантелеев, С.А. Румянцев*
**Сравнительная характеристика методов заготовки
и клинического применения аферезных концентратов тромбоцитов
с использованием добавочного раствора 63**

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ (ОБНОВЛЕННАЯ) 69

HEMATOLOGIC MALIGNANCIES: DIAGNOSIS, TREATMENT, SUPPORTIVE CARE

- A.N. Sokolov, E.N. Parovichnikova, V.V. Troitskaya, L.A. Kuzmina, V.G. Savchenko*
**Combination of arsenicum trioxide and all trans retinoic acid in the treatment
of relapsed acute promyelocytic leukemia 8**
- V.I. Ignatieva, M.V. Avksentieva*
**Clinical and economic analysis of voriconazole using for treatment
of invasive aspergillosis in Russian Federation 14**
- K.M. Abdulkadyrov, V.A. Shuvaev, I.S. Martynkevich*
Primary myelofibrosis: own experience and news from diagnostic and treatment 26
- V.V. Ptushkin, N.V. Zhukov, V.I. Borisov, S.V. Minenko, Yu.V. Larina*
**Prevention of neutropenia during chemotherapy
by prolonged myelostimulatory preparations 37**
- L.M. Meshcheryakova, A.A. Levina, M.M. Tsybulskaya, T.V. Sokolova*
Laboratory capacity of differential anemia diagnosis 46

BASIC RESEARCH

- M.F. Vecherkovskaya, G.V. Tets, B.V. Afanasiev, V.V. Tets*
Oral microflora in children with hematologic malignancies 51
- A.G. Babaeva, N.M. Gevorkyan, N.V. Tishevskaya,
L.L. Golovkina, Yu.O. Muratova, A.A. Ragimov*
**About hematopoietic properties of peripheral blood lymphocytes RNA
from patients with polycythemia vera and healthy donors 58**
- O.V. Karpova, I.V. Obraztsov, P.E. Trakhtman,
A.A. Ignatova, M.A. Pantelev, S.A. Rumyantsev*
**Comparison of harvesting methods and clinical application
of apheresis platelet concentrates with additive solution 63**

INFORMATION FOR AUTHORS (UPDATED) 69

Сочетание триоксида мышьяка с полностью трансретиноевой кислотой в лечении рецидивов острого промиелоцитарного лейкоза

А.Н. Соколов, Е.Н. Паровичникова, В.В. Троицкая, Л.А. Кузьмина, В.Г. Савченко

ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России; Россия, 125167, Москва, Новый Зыковский проезд, 4а

Контакты: Андрей Николаевич Соколов cat@blood.ru

С 2001 по 2013 г. у 11 больных с рецидивами острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ) использовали в лечении триоксид мышьяка (*arsenicum trioxide*, АТО). Медиана возраста больных — 30 лет. АТО во 2-й линии лечения рецидивов назначали 9 больным, в 1-й линии — 2 пациентам. У 7 больных доза АТО была 0,1 мг/кг, у 4 — 0,15 мг/кг. Длительность индукции составила 14 дней у 3 пациентов, 24–35 дней — у 2, 60 дней — у 6 больных. С первого дня курса АТО больные получали полностью трансретиноевую кислоту (*all trans retinoic acid*, АТРА) в дозе 45 мг/м² (1 больной — с 29-го дня курса). Поддерживающую терапию АТО + АТРА курсами 10–14 дней с интервалом 4 нед проводили на протяжении 10–15 мес. Использование 14-дневных курсов АТО в лечении молекулярных рецидивов позволило достичь ремиссий у 2 из 3 больных длительностью 57 и 89 мес. Лечение костномозговых рецидивов 24–35-дневными курсами привело к становлению ремиссии у 1 из 2 пациентов длительностью 27 мес. Шестидесятидневные курсы были эффективны у 5 из 6 больных, у 4 из них сохраняется ремиссия длительностью 16, 19, 27, 57 мес. У 1 пациента наступил рецидив через 12 мес, у 1 больного не удалось достичь молекулярной ремиссии. Трем пациентам выполнена трансплантация аллогенного костного мозга (алло-ТКМ). Двое из них живы и находятся в ремиссии. Одному больному выполнена трансплантация аутологичного костного мозга во 2-й молекулярной ремиссии (жив в ремиссии). Умерли 4 больных: 1 — в 3-м рецидиве (длительность 2-й ремиссии — 9 мес), 1 — в ремиссии от осложнений после алло-ТКМ, 1 — от прогрессии ОПЛ, 1 — внезапная смерть во 2-й ремиссии на сроке 72 мес.

АТО + АТРА в течение 60 дней с поддерживающей терапией являются более эффективным лечением рецидивов ОПЛ, чем химиотерапия. Нецелесообразно использовать интерферон α + АТРА в лечении молекулярных и цитогенетических рецидивов ОПЛ. Использование аутологичной трансплантации костного мозга во 2-й молекулярной ремиссии позволит улучшить результаты лечения рецидивов ОПЛ.

Ключевые слова: острый промиелоцитарный лейкоз, рецидив, триоксид мышьяка, полностью трансретиноевая кислота

DOI: 10.17650/1818-8346-2015-10-2-8-13

Combination of arsenicum trioxide and all trans retinoic acid in the treatment of relapsed acute promyelocytic leukemia

A.N. Sokolov, E.N. Parovichnikova, V.V. Troitskaya, L.A. Kuzmina, V.G. Savchenko

Hematological Research Center, Ministry of Health of Russia; 4a Novyy Zykovskiy Pr-d, Moscow, 125167, Russia

From 2001 to 2013 eleven patients with relapsed acute promyelocytic leukemia (APL) (median age — 30 years) received arsenicum trioxide (ATO). ATO was administered as a 2nd line relapse therapy in 9 patients, as 1st line relapse therapy in 2 patients. ATO was administered in a dose of 0.1 mg/kg in 7 patients, 0.15 mg/kg — in 4 patients. The induction duration was 14 days in 3 patients, 24–35 days in 2 patients, 60 days in 6 patients. From the 1st day of ATO patients received 45 mg/m² all trans retinoic acid (ATRA) (1 patient — from day 29 of ATO therapy). Maintenance therapy ATO + ATRA (10–14 days courses, every four weeks) patients were receiving during 10–15 months. 2 from 3 patients with molecular relapses achieved remission lasting 57 and 89 months after the 14-day ATO courses. 1 from 2 patients with bone marrow relapse achieved remission lasting 27 months after the 24–35-day ATO courses. 60-day courses were effective in 5 of 6 patients: in 4 of which remission are retained during 16, 19, 27, 57 months; 1 patient was relapsed after 12 months; 1 patient did not achieve molecular remission. 3 patients received allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHSCT), 2 of which alive in remission. 1 patient received autologous hematopoietic stem cell transplantation in the 2nd molecular remission (alive in remission). 4 patients died: 1 — in the 3rd relapse (duration of 2nd remission — 9 months), 1 — in remission from complications after alloHSCT, 1 — from APL progression, 1 — sudden death in 2nd remission lasting 72 months.

ATO + ATRA for 60 days with supportive therapy are more effective than chemotherapy in the treatment of APL relapse. Interferon α + ATRA are inappropriate treatment of APL molecular and cytogenetic relapse. Using autologous HSCT in 2nd molecular remission will improve the results of APL relapse treatment.

Key words: acute promyelocytic leukemia, relapse, arsenicum trioxide, all trans retinoid acid

Введение

Производные мышьяка в качестве лекарственных препаратов известны европейской и восточной меди-

цине на протяжении нескольких тысячелетий. Однако только в конце XX столетия начинается изучение триоксида мышьяка (*arsenicum trioxide*, АТО) как лекар-

ственного препарата для лечения острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ), вначале — как компонента традиционного средства китайской медицины (Ai-Lin I), а с 1970-х годов — как отдельного активного вещества. Первая публикация результатов использования Ai-Lin I (длительные, более 5 лет, ремиссии рецидивов ОПЛ) была в 1992 г. [1]. Последующие исследования подтвердили эффективность АТО [2]. Основными механизмами действия АТО являются индукция апоптоза опухолевых клеток (подавление Bcl-2, повышение экспрессии каспаз, активация Jun-киназ, деградация онкогенного домена PML (POD), разрывы цитоскелета, ингибирование NF-κB) и индукция дифференцировки (деградация PML-RARα, метилирование гистонов) атипичных промиелоцитов. Противоопухолевый эффект АТО осуществляется также за счет нарушения процессов окисления—восстановления в клетке (образование активных форм кислорода, связывание глутатиона) и ингибирования ангиогенеза за счет подавления фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [3–5].

Основными проявлениями токсичности АТО являются дифференцировочный синдром, удлинение QT-интервала, периферическая нейропатия, гипергликемия, гепатотоксичность. Наличие признаков гепатотоксичности напрямую коррелирует с эффективностью лечения [5]. В настоящей публикации мы приводим результаты лечения рецидивов ОПЛ препаратами АТО в Гематологическом научном центре Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГНЦ МЗ РФ).

Материалы и методы

С 2001 по 2013 г. в ГНЦ МЗ РФ в лечении 11 больных рецидивами ОПЛ использовались следующие препараты АТО: asadin (TTY Biopharm, Taiwan) — у 6 пациентов, препарат триоксида мышьяка, который изготавливался и тестировался в производственной лаборатории ГНЦ МЗ РФ, — у 4 больных [6], trisenox (Cephalon, USA) — у 1 пациента. Характеристика больных представлена в табл. 1. Возраст больных составил 21–66 лет, медиана — 30 лет. Распределение по полу — 5 женщин, 6 мужчин. Продолжительность первой ремиссии от 5 до 34 мес, медиана — 19 мес. Больные были отнесены к группе высокого риска развития рецидива, если число лейкоцитов крови на момент установления диагноза впервые выявленного ОПЛ было более $10 \times 10^9/\text{л}$. Остальные пациенты (лейкоциты менее $10 \times 10^9/\text{л}$) были отнесены к группе низкого риска.

Девяти больным АТО назначался во 2-й линии лечения рецидива, в 1-й линии им проводились следующие программы химиотерапии: интерферон α + ATRA [7] — 4 пациентам (3 молекулярных, 1 цитогенетический рецидив); 7+3 Ida — 4 больным костномозговыми рецидивами; курс НАМ — 1 больному цитогенетическим рецидивом, курс AIDA — 3 больным (2 костномозговых и 1 цитогенетический рецидив). Двум пациентам АТО назначался в 1-й линии лечения рецидива (1 костномозговой и 1 молекулярный рецидив). Экстрамедул-

лярных рецидивов, включая вовлечение центральной нервной системы, у описываемых нами больных не наблюдалось.

У 7 больных доза АТО была 0,1 мг/кг, у 4 — 0,15 мг/кг. Длительность индукции составила 14 дней у 3 пациентов, 24–35 дней — у 2, 60 дней — у 6 больных. С первого дня лечения 10 пациентов получали ATRA в дозе 45 мг/м², 1 больной — с 29-го дня курса. Поддерживающая терапия 10–14-дневными курсами АТО в сочетании с ATRA с интервалом 4 нед проводилась на протяжении 10–15 мес (см. табл. 1). Доза 0,1 мг/кг была назначена в соответствии с исследовательским протоколом «Арсеникум» [6], в котором также была предусмотрена длительность индукционного курса 60 дней, однако из-за ограниченной доступности препарата длительность индукции варьировала. Четырнадцатидневные курсы использовались только у больных молекулярными рецидивами. В последние годы была выбрана более распространенная доза АТО — 0,15 мг/кг.

Трем больным была выполнена трансплантация аллогенного костного мозга (алло-ТКМ) от родственных HLA-совместимых доноров. Были использованы следующие режимы кондиционирования: бусульфан + циклофосфамид — у 2 пациентов, флударабин + бусульфан + антитимоцитарный глобулин (режим пониженной интенсивности) — у 1 больного. Одному пациенту была выполнена трансплантация аутологичного костного мозга (ауто-ТКМ) с режимом кондиционирования тресульфан + циклофосфамид.

Результаты

Первые рецидивы ОПЛ у больных развились на сроках от 5 до 34 мес, медиана — 19 мес. Пять пациентов были отнесены к группе высокого риска, 6 — к группе низкого риска.

В лечении 3 молекулярных и 1 цитогенетического рецидива ОПЛ до назначения АТО программа, сочетающая интерферон α и ATRA, оказалась неэффективной у всех 4 больных. В лечении костномозговых рецидивов программа 7+3 (Ida) оказалась эффективной у 2 из 4 пациентов (длительность ремиссий — 9 и 6 мес). Программа AIDA в лечении 3 больных с цитогенетическим/костномозговым рецидивами оказалась эффективной только у 1 пациента с костномозговым рецидивом (длительность ремиссии 6 мес). С помощью химиотерапии по программе НАМ удалось достичь повторной цитогенетической ремиссии у 1 больного с цитогенетическим рецидивом, но молекулярной ремиссии достигнуто не было.

В ходе лечения АТО наблюдались нетяжелые осложнения у 6 пациентов, у 1 больной упорные, плохо купируемые боли в животе, тошнота и рвота послужили причиной отмены препарата (табл. 2).

Лечение молекулярных рецидивов ОПЛ 14-дневным курсом АТО с последующей поддерживающей терапией 2-недельными курсами АТО в течение 10–12 мес позволило достичь ремиссий продолжительностью

Таблица 1. Характеристика больных и терапия

№	Возраст/пол/ год диагностики рецидива ОПЛ	Группа риска	Продолжительность 1-й/ 2-й/3-й ремиссии и лечение первого острого периода	Молекулярный рецидив, лечение	Цитогенетиче- ский рецидив, лечение	Костномозговой рецидив, лечение
1	Л., 25 лет/ж/2001	В	19 мес/9 мес 7+3 + ATRA	Нет	Нет	1-й рецидив: 7+3 Ida + ATRA → ремиссия 2-й рецидив: АТО → ремиссия
2	Б., 24 года/ж/2007	Н	27 мес/24 мес 7+3 + ATRA	IFN + ATRA, б/э АТО, б/э	Нет	7+3 Ida + ATRA → ремиссия
3	М., 22 года/ж/2008	Н	27 мес 7+3 + ATRA	Нет	Нет	AIDA → молекулярная ремиссия не достигнута
4	М., 66 лет/м/2004	Н	24 мес/6 мес/89 мес 7+3 + ATRA, IFN + ATRA	2-й молекулярный рецидив АТО + ATRA → молекулярная ремиссия	Нет	AIDA → молекулярная ремиссия
5	Л., 46 лет/м/2007	Н	18 мес/89 мес 7+3 + ATRA	АТО → молекулярная ремиссия	Нет	Нет
6	П., 35 лет/м/2009	В	34 мес/36 мес 7+3 + ATRA	Нет	IFN + ATRA, б/э АТО → ремиссия	Нет
7	Р., 44 года/м/2011	Н	15 мес/36 мес 7+3 + ATRA	IFN + ATRA, б/э	Нет	7+3 Ida, б/э АТО → ремиссия
8	Д., 21 год/ж/2012	Н	15 мес/18 мес AIDA	Нет	Нет	7+3 Ida, б/э АТО → ремиссия
9	Ж., 33 года/м/2012	В	19 мес/12 мес/4 мес AIDA	IFN + ATRA, б/э	AIDA, б/э HAM — нет молекулярной ремиссии АТО → молекулярная ремиссия 12 мес	АТО → ремиссия (4 мес)
10	Л., 27 лет/м/2013	В	5 мес/16 мес AIDA	Нет	Нет	АТО → молекулярная ремиссия
11	С., 34 года/м/2012	В	10 мес AIDA	АТО, б/э	Нет	Нет

Примечание. В — группа высокого риска; Н — группа низкого риска; 7+3 — цитарабин + даунорубицин; ATRA — полностью трансретиноевая кислота; IFN — интерферон; AIDA — ATRA + идарубицин + митоксантрон + меркаптопурин и метотрексат в поддерживающей терапии; б/э — без эффекта; HAM — высокие дозы цитарабина + митоксантрон; 7+3 Ida — цитарабин + идарубицин.

57 и 89 мес у 2 из 3 больных. Лечение курсами АТО продолжительностью 24–35 дней 2 пациентов с костномозговыми рецидивами позволило достичь ремиссии у 1 больного продолжительностью 36 мес, он жив и находится в ремиссии. Терапия 60-дневными курсами АТО была эффективной у 5 из 6 пациентов, 4 из них живы и находятся в ремиссии (длительность ремиссий — 16, 19, 27, 57 мес). У одного из этих больных (цитогенетический рецидив) через год развился костномозговой рецидив ОПЛ, после 60-дневного курса в сочетании с ATRA удалось достичь короткой ремиссии — 4 мес. Больной умер через 10 мес в результате прогрессии заболевания.

Трем пациентам в состоянии молекулярной ремиссии выполнена алло-ТКМ, 2 из них живы и находятся в ремиссии. Умерло 5 больных: 1 — в ремиссии от ослож-

Таблица 2. Осложнения в ходе лечения АТО

Осложнение	Число больных
Удлинение QT-интервала	2
Гиперемия кожи	1
Сухость слизистых и кашель	1
Боли в животе, тошнота, рвота	1
Гипербилирубинемия	1

нений после алло-ТКМ, 3 — от прогрессии ОПЛ. Один пациент, страдавший ишемической болезнью сердца, с инфарктом миокарда в анамнезе, умер во сне, аутопсии не выполнялось, смерть наступила в ремиссии ОПЛ на сроке 72 мес. Ауто-ТКМ выполнена 1 больно-

му во 2-й молекулярной ремиссии. Этот пациент жив, у него сохраняется молекулярная ремиссия (табл. 3).

Из 5 пациентов группы высокого риска ремиссия была достигнута у 4. Двое из них живы в ремиссии продолжительностью 16 и 57 мес (1 пациенту выполнена ауто-ТКМ), у 2 развились повторные рецидивы, у 1 больного ремиссия не была достигнута. Из 6 пациентов группы низкого риска 3 живы в ремиссии (продолжительность 25, 57, 89 мес), в том числе 2 больных, которым была выполнена алло-ТКМ. В группе низкого риска 1 пациент умер в ремиссии, достигнутой на АТО, продолжительностью 80 мес и 1 больная умерла в ремиссии, достигнутой после трансфузии лимфоцитов донора, продолжительностью 24 мес. У 2 пациентов из группы низкого риска не было достигнуто ремиссии на терапии АТО в дозе 0,1 мг/кг курсами 14 и 24 дня. Повторных рецидивов после достижения ремиссии на терапии АТО у больных из группы низкого риска не было.

Обсуждение

После введения в практику лечения ОПЛ сочетания антрациклиновых антибиотиков и АТРА эффективность лечения впервые выявленных случаев ОПЛ стала исключительно высокой, и рецидивы стали сравнительно редки, однако их лечение остается сложной проблемой. В современной гематологии основной терапией рецидивов ОПЛ является АТО. Вероятность достижения повторных ремиссий составляет 80–91 % при использовании АТО как в качестве монотерапии, так и в сочетании с АТРА. Однако долгосрочные результаты остаются неудовлетворительными, почти в половине случаев развиваются повторные рецидивы, и 2–3-летняя общая выживаемость (ОВ) составляет 56–66 % [8–12]. Использование трансплантации аутологичных стволовых клеток у больных рецидивами ОПЛ во 2-й молекулярной ремиссии показывает обнадеживающие результаты, включая многоцентровые исследования, — 5–7-летняя ОВ может

Таблица 3. Результаты лечения рецидивов ОПЛ с использованием АТО

№	Длительность индукции АТО	Молекулярная ремиссия на АТО, статус	Доза АТО в индукции	Поддерживающая терапия: да/нет, длительность	АТО в поддерживающей терапии	Трансплантация костного мозга
1	35 дней	Да (на 14-й день), смерть в 3-м рецидиве	0,1 мг/кг	Да, 12 мес	0,1 мг/кг, 4-недельные курсы	Нет
2	14 дней, б/э 2 трансфузии лимфоцитов донора → ремиссия	Нет, смерть в 3-й ремиссии от реакции «трансплантат против хозяина»	0,1 мг/кг	Нет	Нет	Алло-ТКМ во 2-й ремиссии
3	24 дня + АТРА	Нет, смерть	0,1 мг/кг	Нет	Нет	Нет
4	14 дней	Да, умер во 2-й молекулярной ремиссии > 80 мес	0,1 мг/кг	Да, 10 мес	0,1 мг/кг, 2-недельные курсы	Нет
5	14 дней	Да (на 14-й день), жив во 2-й молекулярной ремиссии 89 мес	0,1 мг/кг	Да, 15 мес	0,1 мг/кг, 2-недельные курсы	Нет
6	60 дней + АТРА 14 дней	Нет (на 30-й день) Да (на 60-й день), жив 57 мес	0,15 мг/кг	Да, 12 мес	0,1 мг/кг, 2-недельные курсы	Нет
7	28 дней → б/э 21 день + АТРА 36 дней	Нет (на 28-й день) Да (на 64-й день), жив во 2-й ремиссии 36 мес	0,1 мг/кг	Нет	Нет	Алло-ТКМ после индукции ремиссии АТО + АТРА
8	60 дней	Да (на 60-й день), жива во 2-й ремиссии 25 мес	0,15 мг/кг	Да, 30 дней	0,15 мг/кг, 2-недельные курсы	Алло-ТКМ
9	60 дней	Нет (на 28-й день) Да (на 60-й день), ремиссия 12 мес, умер в 3-м рецидиве	0,15 мг/кг	Да, 12 мес	0,15 мг/кг, 2-недельные курсы	Нет
10	60 дней	Да (на 60-й день), жив во 2-й ремиссии 16 мес	0,15 мг/кг → 0,1 мг/кг	Да, 4+ мес	0,15 мг/кг, 2-недельные курсы	Ауто-ТКМ во 2-й молекулярной ремиссии
11	60 дней, 2 курса	Не достигнута молекулярная ремиссия, жив 10 мес	0,15 мг/кг	Нет	Нет	Нет

Примечание. Б/э — без эффекта.

составить 77–87 % [13–16]. В российском педиатрическом исследовании ОПЛ-2003 ОВ и бессобытийная выживаемость при использовании такого подхода в лечении рецидивов ОПЛ составили 93 и 76 % [17]. Существует также и проблема резистентности к лечению АТО. В частности, точечные мутации в домене В2 гена *PML* были выявлены в клетках ОПЛ у больных с рефрактерностью к АТО. Мутация приводит к нарушению связывания АТО с *PML*, что препятствует дальнейшей деградации *PML-RARA* [18]. Имеются данные об эффективности бортезомиба в сочетании с АТО в экспериментах *in vitro* и *in vivo* в клеточных линиях ОПЛ, рефрактерных к монотерапии, в том числе за счет индукции в клетках механизма аутофагии. Авторы этих экспериментов инициировали клиническое исследование сочетания бортезомиба и АТО у больных с рецидивами ОПЛ, было продемонстрировано быстрое достижение 2-й молекулярной ремиссии (медиана – 45 дней) у всех 11 включенных пациентов [19].

В нашем небольшом ретроспективном исследовании рецидивы ОПЛ были, как правило, поздние (медиана – 19 мес), что соответствует и мировому опыту при условии использования химиотерапии в сочетании с АТРА в лечении впервые выявленного ОПЛ [5, 12–14]. В отличие от поздних рецидивов других вариантов острых миелоидных лейкозов [20] программа 7+3 *Ida* малоэффективна. Программа интерферон α + АТРА неэффективна даже в лечении молекулярных рецидивов ОПЛ. АТО в нашем исследовании оказался эффективным у 7 из 11 пациентов. Тот факт, что из 5 больных, которым проводились 60-дневные курсы АТО (и у которых в результате была достигнута ремиссия), у 3 пациентов на сроке лечения 28–30 дней не был достигнут эффект, говорит о том, что длительность индукции должна составлять не менее 60 дней. У боль-

ных с рецидивами ОПЛ из группы высокого риска результаты лечения с использованием АТО без трансплантации костного мозга неудовлетворительные. Роль трансплантации костного мозга в лечении этой группы пациентов особенно значима. В группе низкого риска возможно достижение продолжительных ремиссий, в том числе и без выполнения трансплантации.

Остается не вполне понятной роль АТРА в сочетании с АТО. Возможно, сочетание АТО с АТРА является более эффективным методом лечения рецидивов ОПЛ, чем монотерапия АТО, хотя рандомизированных исследований, сравнивающих монотерапию АТО и сочетание его с АТРА в лечении рецидивов ОПЛ, проведено не было. В лечении случаев ОПЛ, резистентных к АТО, в будущем возможно использование новых препаратов, в частности сочетания АТО и бортезомиба.

В заключение следует сказать, что препарат АТО является высокоэффективным в лечении больных с рецидивами ОПЛ. Не может не вызывать сожаления то, что он до сих пор не зарегистрирован в России. Сегодня в каждом отдельном случае требуется специальное разрешение Минздрава России на ввоз незарегистрированного препарата. Тот факт, что рецидивы ОПЛ развиваются на поздних сроках наблюдения, говорит о необходимости длительного молекулярного мониторинга на протяжении нескольких лет у больных в 1-й ремиссии ОПЛ. Приоритетом лечения и молекулярных, и костномозговых рецидивов ОПЛ является достижение 2-й молекулярной ремиссии на терапии АТО в сочетании с АТРА длительностью 60 дней, консолидация АТО + АТРА (30–60 дней, 2–3 курса), выполнение затем ауто-ТКМ с последующей поддерживающей терапией АТО + АТРА 14-дневными курсами в течение 1 года.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sun H.D., Ma L., Hu X.C., Zhang T.D. Ai-Lin I treated 32 cases of acute promyelocytic leukemia. *Chin J Integr Chin West Med* 1992(Chinese);12:170.
2. Zhang P., Wang S.Y., Hu L.H. et al. Arsenic trioxide treated 72 cases of acute promyelocytic leukemia. *Chin J Hematol* 1996;2:58.
3. Zhou J. Arsenic trioxide: an ancient drug revived. *Chin Med J (Engl)* 2012;125(19):3556–60.
4. Alimoghaddam K. A review of arsenic trioxide and acute promyelocytic leukemia. *Int J Hematol-Oncol & Stem Cell Res* 2014;8(3):44–54.
5. Mathews V., Chendamarai E., George B. et al. Treatment of acute promyelocytic leukemia with single-agent arsenic trioxide. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2011;3(1):e2011056.
6. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Исаев В.Г. Программное лечение острых лейкозов. М., 2002. С. 88–101. [Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Isaev V.G. Program treatment of acute leukemia. М., 2002. Pp. 88–101. (In Russ.)].
7. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Исаев В.Г. Программное лечение острых лейкозов. М., 2002. С. 102–115. [Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Isaev V.G. Program treatment of acute leukemia. М., 2002. Pp. 102–15. (In Russ.)].
8. Shen Z.X., Chen G.Q., Ni J.H. et al. Use of arsenic trioxide (As_2O_3) in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL): II. Clinical efficacy and pharmacokinetics in relapsed patients. *Blood* 1997;89(9):3354–60.
9. Hu J., Shen Z.X., Sun G.L. et al. Long-term survival and prognostic study in acute promyelocytic leukemia treated with all-trans-retinoic acid, chemotherapy, and As_2O_3 : an experience of 120 patients at a single institution. *Int J Hematol* 1999;70(4):248–60.
10. Shigeno K., Naito K., Sahara N. et al. Arsenic trioxide therapy in relapsed or refractory Japanese patients with acute promyelocytic leukemia: updated outcomes of the phase II study and postremission therapies. *Int J Hematol* 2005;82(3):224–9.
11. Raffoux E., Rousselot P., Poupon J. et al. Combined treatment with arsenic trioxide and all-trans-retinoic acid in patients with relapsed acute promyelocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2003;21(12):2326–34.

12. Lengfelder E., Lo-Coco F., Ades L. et al. Arsenic trioxide-based therapy of relapsed acute promyelocytic leukemia: updated results of the European registry of relapsed APL (PROMYSE). *Blood* 2013;122(21):1406.
13. Thirugnanam R., George B., Chendamarai E. et al. Comparison of clinical outcomes of patients with relapsed acute promyelocytic leukemia induced with arsenic trioxide and consolidated with either an autologous stem cell transplant or an arsenic trioxide-based regimen. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15(11):1479–84.
14. Yanada M., Tsuzuki M., Fujita H. et al. Japan Adult Leukemia Study Group. Phase 2 study of arsenic trioxide followed by autologous hematopoietic cell transplantation for relapsed acute promyelocytic leukemia. *Blood* 2013;121(16):3095–102.
15. Fujita H., Asou N., Iwanaga M. et al. Role of hematopoietic stem cell transplantation for relapsed acute promyelocytic leukemia: a retrospective analysis of JALSG-APL97. *Cancer Sci* 2013;104(10):1339–45.
16. Pemmaraju N., Tanaka M.F., Ravandi F. et al. Outcomes in patients with relapsed or refractory acute promyelocytic leukemia treated with or without autologous or allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2013;13(4):485–92.
17. Байдильдина Д.Д., Масчан М.А., Скоробогатова Е.В. и др. Рецидивы острого промиелоцитарного лейкоза у детей: опыт терапии с применением триоксида мышьяка и трансплантации аутологичных гемопоэтических клеток. *Терапевтический архив* 2010;7:20–5. [Baydildina D.D., Maschan M.A., Skorobogatova E.V. et al. Recurrences of acute promyelocytic leukemia in children: experience with arsenic trioxide therapy and autologous hematopoietic cell transplantation. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive* 2010;7:20–5. (In Russ.)].
18. Goto E., Tomita A., Hayakawa F. et al. Missense mutations in *PML-RARA* are critical for the lack of responsiveness to arsenic trioxide treatment. *Blood* 2011;118(6):1600–9.
19. Ganesan S., Alex A.A., Chendamarai E. et al. Proteasome Activity is Dispensable for the Degradation of PML-RAR α : Efficacy of Bortezomib Along with Arsenic Trioxide in the Treatment of Arsenic Sensitive and Resistant Acute Promyelocytic Leukemia. *Blood* 2014;124(21):3741.
20. Sokolov A., Parovichnikova E., Savchenko V. et al. Long Remissions after Late Relapse of Acute Myeloid Leukemia (AML) with Idarubicin + Cytarabine Conventional Doses Treatment. In: *Acute Leukemias IX. Basic Research, Experimental Approaches and Novel Therapies*. W. Hiddemann, T. Buchner, J. Ritter et al. (eds.). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2003. Pp. 404–407.

Клинико-экономический анализ использования вориконазола для лечения инвазивного аспергиллеза в Российской Федерации

В.И. Игнатьева¹, М.В. Авксентьева^{1, 2}

¹Российская академия народного хозяйства и государственной службы при президенте РФ;

Россия, 119571, Москва, проспект Вернадского, 82, стр. 1;

²ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Минздрава России;

Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Контакты: Виктория Игоревна Игнатьева igrateva@hta-rus.ru

Введение. На основании данных клинических исследований вориконазол рекомендован в качестве препарата выбора при лечении инвазивного аспергиллеза (ИА) — распространенного инфекционного осложнения, возникающего у иммунокомпрометированных пациентов и характеризующегося тяжелым течением и высокой летальностью.

Целью настоящего исследования было проведение оценки затратной эффективности вориконазола по сравнению с другими препаратами, рекомендованными в российской практике для лечения ИА у взрослых пациентов, с позиции медицинской организации.

Материалы и методы. Для достижения целей настоящего исследования была построена модель по типу «дерева решений», в которой проводилось сравнение 3 альтернативных вариантов лечения ИА у взрослых пациентов, выделенных в зависимости от лекарственного препарата в 1-й линии терапии: 1) вориконазол, 2) каспифунгин или 3) липидный комплекс (ЛК) амфотерицина В. Эффективность оценивалась как вероятность выживания пациента в течение 14 нед с начала лечения. Учитывались затраты на лекарственные препараты и увеличение длительности госпитализации в связи с развитием серьезных нежелательных явлений. Значения параметров для модели были определены на основании опубликованных результатов клинических исследований, затраты рассчитывались на основании данных о ценах лекарственных препаратов в государственных закупках и средней стоимости койко-дня в системе обязательного медицинского страхования. Проведен вероятностный анализ чувствительности.

Результаты. В результате моделирования было показано, что использование вориконазола для лечения ИА является доминирующей стратегией по сравнению с использованием каспифунгина и ЛК амфотерицина В, обеспечивая сокращение затрат при достижении наибольшего эффекта. Вероятностный анализ чувствительности (1000 симуляций) показал устойчивость выявленной закономерности.

Заключение. Использование вориконазола для лечения ИА позволяет сохранить наибольшее число жизней при минимальных затратах по сравнению с другими препаратами, рекомендованными в российской практике.

Ключевые слова: инвазивный аспергиллез, фармакоэкономика, моделирование, эффективность затрат, вориконазол, каспифунгин, амфотерицин В, липидный комплекс амфотерицина В, анализ затрат, анализ эффективности, анализ чувствительности

DOI: 10.17650/1818-8346-2015-10-2-14-25

Clinical and economic analysis of voriconazole using for treatment of invasive aspergillosis in Russian Federation

V.I. Ignatieva¹, M.V. Avksentieva^{1, 2}

¹Russian Presidential Academy of National Economy and Public Administration; 82, Bldg. 1 Prosp. Vernadskogo, Moscow, 119571, Russia;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia; 8, Bldg. 2 Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia

Introduction. Based on clinical studies data voriconazole is recommended as the drug of choice for treatment of invasive aspergillosis (IA) — a wide-spread infectious complications occurring in immunocompromised patients and is characterized by severe clinical course and high mortality.

The aim of this study was to assess the cost-effectiveness of voriconazole compared to other preparations recommended in the Russian practice for the treatment of IA in adult patients.

Materials and methods. The authors constructed a «decision tree» type of model, which compared the three treatment alternatives for the IA in adult patients, depending on the drug in first-line therapy: 1) voriconazole, 2) caspofungin, or 3) amphotericin B lipid complex (LC). Efficacy was assessed as the probability of patient survival within 14 weeks of starting treatment. We took into account the drugs cost and an increase in the hospitalization duration due to the development of serious adverse events. The model parameters were determined on the basis of the published results of clinical studies, the costs were calculated on the basis of medicines prices in the public procurement and the average bed-day cost in system of obligatory health insurance. Probabilistic sensitivity analysis was performed.

Results. It has been shown that the use of voriconazole for treatment of IA is the dominant strategy compared to the use of caspofungin and amphotericin B LC, providing cost reduction while achieving maximum effect. Probabilistic sensitivity analysis (1000 simulations) showed stability of the revealed pattern.

Conclusion. The use of voriconazole in the treatment of IA allows to save the greatest number of lives at minimal cost compared to other preparations recommended in the Russian practice.

Key words: invasive aspergillosis, pharmacoeconomics, modeling, cost-effectiveness, voriconazole, caspofungin, amphotericin B, amphotericin B lipid complex, cost-benefit analysis, efficiency analysis, sensitivity analysis

Введение

Инвазивные микозы являются распространенным инфекционным осложнением, приводящим к значительному ухудшению состояния и высокой смертности среди иммунокомпрометированных пациентов, в особенности у больных с гемобластозами и солидными опухолями, реципиентов стволовых кроветворных клеток или органов, а также получающих иммуносупрессивную терапию (высокие дозы стероидов, факторы некроза опухоли и т. п.). По данным исследователей, в том числе на основании проведенных аутопсий, наиболее распространенной этиологической причиной инвазивных микозов являются грибы рода *Aspergillus* — как среди общей популяции, так и среди больных онкогематологическими заболеваниями и реципиентов стволовых клеток крови [1–3].

Было проведено всего несколько рандомизированных клинических испытаний (РКИ), изучавших эффективность лекарственных препаратов при инвазивном аспергиллезе (ИА). В одном из крупнейших из них (277 пациентов в модифицированной по намерению лечить популяции¹, для которой проводился анализ эффективности) было продемонстрировано превосходство вориконазола по сравнению с амфотерицином В в 1-й линии терапии [4, 5]. Вориконазол рекомендован в качестве препарата выбора при лечении ИА и в зарубежных, и в отечественных рекомендациях [5–9]. Российскими исследователями на основании изучения регистра больных ИА (445 пациентов, госпитализированных в период с 1998 по 2013 г. в различные стационары Санкт-Петербурга) было показано, что применение вориконазола в качестве антимикотической терапии было статистически значимым положительным прогностическим фактором при анализе 12-недельной выживаемости ($p = 0,002$).

Однако, учитывая ограниченность ресурсов в здравоохранении, а также тяжесть заболевания и высокую смертность, при выборе лекарственного препарата для лечения ИА необходимо принимать в расчет не только клиническую, но и экономическую эффективность терапии. Проведение клинко-экономического анализа помогает определить, какая стратегия лечения ИА позволяет достигнуть максимального эффекта на затраченные средства (т. е. определить затратную эффективность сравниваемых стратегий). Шесть лет назад были опубликованы результаты отечественного фармакоэкономического исследования вориконазола в сравнении с другими препаратами для лечения ИА, но происходящие в течение последних лет изменения в системе финансирования здравоохранения создают потребность в актуализации данных [10].

Целью настоящего исследования было проведение оценки затратной эффективности вориконазола по срав-

нению с другими препаратами, рекомендованными в российской практике для лечения ИА у взрослых пациентов, с позиции медицинской организации.

Материалы и методы

Для достижения цели настоящего исследования была построена модель по типу «дерева решений», в которой проводилось сравнение лечения ИА у взрослых пациентов 3 альтернативными вариантами, выделенными в зависимости от лекарственного препарата 1-й линии терапии: 1) вориконазол, 2) каспофунгин или 3) липидный комплекс (ЛК) амфотерицина В (рис. 1). Выбор препаратов для сравнения был обусловлен рекомендациями «Протокола лечения и профилактики кандидоза и аспергиллеза у взрослых больных лейкозами, лимфомами и депрессиями кроветворения» (далее Протокол). В этом документе вориконазол рекомендован в качестве препарата выбора, а каспофунгин и ЛК амфотерицина В являются альтернативными препаратами. В качестве альтернативного препарата также назван амфотерицин В, но при этом указано, что он может быть использован только в случае отсутствия в стационаре других препаратов, рекомендованных для лечения ИА [9]. Основываясь на этой рекомендации, амфотерицин В не был включен в основную модель.

Структура модели

В зависимости от препарата, с которого начинается лечение, в модели прогнозируется вероятность следующих исходов:

- достижение эффекта от лечения (выздоровления) на фоне терапии 1-й линии;
- смерть на фоне терапии 1-й линии;
- переход на 2-ю линию терапии в связи с низкой эффективностью 1-й линии (варианты лекарственной терапии 2-й линии определены на основании Протокола [9]);
- смерть на фоне терапии 2-й линии (см. рис. 1).

Общая длительность моделируемого периода составляет 14 нед.

Условия модели

Терапия препаратами 1-й линии проводится у всех больных в течение 2 нед. Допущение о длительности этого стартового периода было сделано на основании данных о предшествующей терапии в исследованиях, изучавших эффективность противогрибковых препаратов и их комбинаций при резистентном ИА или непереносимости терапии 1-й линии [11–14].

По окончании стартового периода принимается решение об эффективности терапии 1-й линии. Если препарат 1-й линии эффективен, он применяется еще в течение 4 нед, смертельных исходов у этих больных

¹Группа пациентов, включенных в исследование и прошедших рандомизацию, которые получили в ходе исследования хотя бы 1 дозу изучаемых препаратов и у которых наличие ИА в момент начала лечения было подтверждено специально созданным комитетом, проводившим анализ собираемых данных.



Рис. 1. Структура модели

не предполагается. Вероятность успешности 1-й линии была принята равной доле больных с полным или частичным ответом по результатам соответствующих клинических исследований, изучавших использование сравнимых препаратов в 1-й линии терапии ИА [4, 15, 16]. Суммарно длительность эффективной терапии 1-й линии составляет 6 нед, что соответствует минимальной рекомендованной длительности лечения при ИА [9].

Для пациентов, у которых 1-я линия оказалась неэффективной, учитывается вероятность смерти в течение стартового периода. Источником информации о вероятности смерти при применении вориконазола и каспофунгина послужили те же исследования, что использовались для оценки эффективности [4, 15]. В связи с тем, что данных о летальности больных на фоне терапии ЛК амфотерицина В обнаружено не было, вероятность этого события была принята равной таковой при использовании липосомального амфотерицина В (другого липидного препарата амфотерицина В). Эти сведения были извлечены из публикации по результатам РКИ эффективности разных режимов дозирования липосомального амфотерицина В в 1-й линии терапии ИА [17].

Средняя длительность терапии больных, умерших в течение стартового периода лечения, в модели составляет 1 нед.

Выжившие пациенты, у которых оказалась неэффективной терапия 1-й линии, переводятся на терапию 2-й линии.

Если больной получает в 1-й линии вориконазол, то во 2-й линии ему могут быть назначены комбинация вориконазол + каспофунгин, монотерапия каспофунгином или монотерапия ЛК амфотерицина В.

Если больной начинает лечение с каспофунгина, то во 2-й линии ему назначается комбинация вориконазол + каспофунгин, монотерапия позаконазолом или монотерапия ЛК амфотерицина В.

Больному, получающему в 1-й линии ЛК амфотерицина В, во 2-й линии назначается либо комбинация вориконазол + каспофунгин, либо монотерапия каспофунгином, либо монотерапия позаконазолом.

Вероятности выбора каждого из 3 возможных вариантов терапии 2-й линии в модели равны, поскольку Протокол [9] не рекомендует какой-либо вариант как предпочтительный.

При оценке эффективности терапии 2-й линии учитывается вероятность выживания этих больных спустя 12 нед после начала лечения. Источником информации о выживаемости послужили результаты опубликованных открытых мультицентровых исследований, изучавших эффективность соответствующих препаратов во 2-й линии терапии ИА [11, 12, 14]. Так же как и в случае с 1-й линией терапии, летальность на фоне применения ЛК амфотерицина В из-за отсутствия данных была спрогнозирована на основе сведений о летальности при применении липосомального амфотерицина В в группе пациентов с ИА в исследовании [18].

Вероятность развития серьезных нежелательных явлений (НЯ) в модели учитывается только с точки зрения влияния на возникновение дополнительных затрат. Влияние НЯ на исходы, в том числе на вероятность перехода на терапию 2-й линии, в модели не учитывается в связи с ограниченностью данных.

Расчет затрат

Общие затраты для каждой альтернативной терапии 1-й линии рассчитываются как сумма затрат на лекарственные препараты и затрат, обусловленных увеличением длительности пребывания в стационаре в связи с возникновением серьезных НЯ. Затраты на потребление других ресурсов в период госпитализации в модели не учитываются, поскольку считалось, что они будут равны для каждой альтернативной стратегии.

Дозировка лекарственных препаратов определялась на основании данных опубликованных исследований, использованных для построения модели, и рекомендаций, приведенных в Протоколе [9]. Средний вес больных был принят равным 70 кг. При расчетах предполагалось, что флаконы могут быть использованы для нескольких больных (не происходит потери неиспользованного остатка). Затраты рассчитывались на основании средней цены за 1 мг действующего вещества по данным о государственных закупках в Российской Федерации в 2014 г.

Затраты на лекарственную терапию для каждой альтернативы равнялись сумме затрат на терапию 1-й ли-

нии (в течение 6 нед для больных, у которых была эффективной 1-я линия; 1 нед — у умерших во время первого периода и 2 нед — у больных, перешедших на 2-ю линию) и затрат на терапию 2-й линии. Средняя длительность лечения каждым препаратом 2-й линии была определена на основании данных исследований, изучавших эффективность 2-й линии терапии при ИА [11–14, 16].

Затраты, обусловленные возникновением серьезных побочных эффектов, были рассчитаны на основе сведений об увеличении в таких ситуациях продолжительности госпитализации в среднем на 2,2 койко-дня (по данным исследования D.W. Bates et al. [19]). Средняя стоимость 1 койко-дня, оплачиваемого из средств обязательного медицинского страхования, была определена на основании информации о результатах выполнения Программы государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи на 2013 г. (наиболее актуальная информация, имевшаяся на момент проведения исследования) [20].

Значения параметров, использованных при построении модели, и источники информации о них показаны ниже в табл. 1 и 2.

Анализ чувствительности

Мы не включили в базовую модель стратегию, при которой в 1-й линии используется амфотерицин В, основываясь на рекомендации Протокола [9]. Однако российскими исследователями была выявлена достаточно большая частота использования амфотерицина

Таблица 1. Значения параметров, использованных для моделирования эффективности альтернативных стратегий лечения ИА

Параметры	Ворико-назол	Каспо-фунгин	ЛК амфотерицина В	Амфотерицин В	Комбинация каспофунгина и вориконазола	Позаконазол	Источник информации
Вероятность эффективности 1-й линии терапии	0,528	0,328	0,467	0,316	Н/и	Н/и	[4, 15, 16]
Вероятность смерти в течение первых 2 нед после начала лечения	0,09	0,115	0,084	0,12	Н/и	Н/и	[4, 15, 17, 24]
Вероятность перехода на 2-ю линию терапии	0,382	0,557	0,449	0,564	Н/и	Н/и	Расчетный показатель, рассчитанный как разница в вероятности эффективности терапии и гибели пациента
Вероятность развития серьезных побочных эффектов на фоне 1-й линии терапии	0,118	0,116	0,143	0,389	Н/и	Н/и	[4, 15, 16]
Вероятность смертельного исхода на 2-й линии терапии	Н/и	0,482	0,381	0,421	0,453	0,434	[4, 11, 12, 14, 18]
Вероятность развития побочных эффектов на 2-й линии терапии	Н/и	0,05	0,143	0,389	0,067	0,057	[4, 11, 12, 14, 16]

Примечание. Н/и — не используется при моделировании.

Таблица 2. Значения параметров, использованных для моделирования затрат для альтернативных стратегий лечения ИА

Параметры	Вориконазол	Каспофунгин	ЛК амфотерицина В	Амфотерицин В	Комбинация каспофунгина и вориконазола	Позаконазол	Источник информации
Режим введения	В/в 6 мг/кг веса дважды в первый день, 4 мг/кг веса дважды в день в течение 7 дней, в последующие дни орально по 400 мг в день	В/в 70 мг в первый день, 50 мг в последующие дни	В/в 5 мг/кг веса ежедневно	В/в 1 мг/кг веса ежедневно	В/в вориконазол 6 мг/кг веса дважды в первый день, 4 мг/кг веса дважды в день в последующие дни	Орально 800 мг в день	[4, 9, 11, 12, 14, 16]
Длительность первого периода	14 дней				Н/и	Н/и	[11, 12, 14]
Длительность последующего лечения в случае эффективности 1-й линии терапии	28 дней				Н/и	Н/и	Допущение на основании [9]
Длительность лечения у больных, умерших в течение первых 2 нед	7 дней				Н/и	Н/и	Допущение
Длительность лечения в рамках 2-й линии терапии, дни	Н/и	28	15	10	38,6	56	[6, 11, 12, 14, 16]
Стоимость 1 мг действующего вещества, руб.	26,88 — для в/в введения, 9,11 — таблетки	318,00 за флакон 70 мг, 350,86 за флакон 50 мг	150,31	2,39	Вориконазол — 26,88 Каспофунгин — 318,00 за флакон 70 мг, 350,86 за флакон 50 мг	11,25	Средневзвешенная цена по данным о государственных закупках
Среднее увеличение длительности госпитализации вследствие серьезного НЯ, койко-дни	2,2						[19]
Стоимость 1 койко-дня за средства обязательного медицинского страхования, руб.	Н/и	2165,6					[20]

Примечание. В/в — внутривенно; н/и — не используется при моделировании.

В для лечения ИА — порядка 17 %, в то время как ЛК амфотерицина В применялся лишь в единичных случаях [21]. Учитывая эти данные, в рамках проведения анализа чувствительности была построена дополнительная модель с аналогичной структурой, сравнивавшая назначение в качестве 1-й линии вориконазола, каспофунгина и амфотерицина В. При этом были рассмотрены 3 вероятных сценария перехода на 2-ю линию терапии после начала лечения вориконазолом или каспофунгином (рис. 2):

- **сценарий № 1** — возможен переход на ЛК амфотерицина В;
- **сценарий № 2** — нет перехода на амфотерицин В или его ЛК;
- **сценарий № 3** — переход на амфотерицин В.

После неуспешного применения амфотерицина В в 1-й линии во всех 3 сценариях во 2-й линии терапии с равной вероятностью применяются комбинация

каспофунгин + вориконазол, монотерапия каспофунгином или монотерапия позаконазолом.

Для стратегии с амфотерицином В значения параметров модели были определены на основании РКИ, сравнивавшего применение вориконазола и амфотерицина В в 1-й линии при ИА [4]. В остальном для моделирования используются те же значения параметров и затрат, что и в базовой модели (см. табл. 1 и 2).

На основании результатов дополнительного моделирования для каждого сценария рассчитывается показатель приращения затратной эффективности как отношение разницы в общих затратах между сравниваемыми стратегиями к разнице между ожидаемой выживаемостью пациентов, т. е. определяются дополнительные затраты в расчете на 1 спасенную жизнь.

Учитывая использование в модели данных из различных источников, а также возможную вариабельность значений параметров (отклонение значения, получен-



Рис. 2. Сценарии назначения 2-й линии терапии в дополнительной модели (сравнение с амфотерицином В)

ного при изучении выборки, от истинного популяционного значения), чтобы снизить неопределенность результатов моделирования, нами был проведен вероятностный анализ чувствительности (1000 симуляций). При выполнении данной части исследования мы следовали рекомендациям рабочей группы ISPOR² и A. Briggs et al. [22, 23]. Для каждого параметра были определены вид распределения и границы возможных значений на основании данных исследования, из которого извлекались значения для моделирования. Затем были проведены 1000 симуляций, в которых рассчитывались результаты моделирования при случайном выборе значений параметров. Результаты симуляций (разница в затратах и эффективности) были представлены графически.

Также в каждой симуляции для сравниваемых препаратов рассчитывался показатель чистой денежной выгоды³ для различных уровней готовности платить за спасенную жизнь (от 0 до 3,5 млн руб., шаг — 50000 руб.). Для каждого уровня готовности платить определялась вероятность признания данной стратегии затратно-эффективной как доля симуляций, в которых она обладала самым высоким показателем чистой денежной выгоды по сравнению с другими стратегиями.

Результаты

Основная модель

В основной модели, сравнивавшей затраты и эффективность 3 альтернативных стратегий с использованием вориконазола, каспофунгина и ЛК амфотерицина В в 1-й линии терапии ИА, средние затраты при использовании вориконазола были минимальными — 536 тыс. руб. на 1 пациента. Максимальные затраты требуются при использовании ЛК амфотерицина В — 1750 тыс. руб., а каспофунгин занял промежуточное место — средние затраты на 1 пациента составили 878 тыс. руб.

Вероятность выживания в течение 14 нед после начала терапии последовательно уменьшалась в ряду вориконазол (0,742), ЛК амфотерицина В (0,719) и каспофунгин (0,652). Таким образом, использование вориконазола оказалось доминирующей стратегией, позволяющей достигнуть максимального эффекта при минимальных затратах. Применение вориконазола в 1-й линии терапии при большей эффективности позволяет сэкономить 341,3 тыс. руб. в сравнении с каспофунгином и 1213 тыс. руб. в сравнении с ЛК амфотерицином В.

Основную долю затрат составили расходы на лекарственную терапию. Структура затрат была схожей

²International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research — Международное общество по фармакоэкономике и оценке исходов.

³Чистая денежная выгода рассчитывается по формуле $\lambda \times E - C$, где λ — порог готовности платить за единицу эффекта; E — достигаемый эффект; C — затраты при данной стратегии. Затратно-эффективной признается стратегия, при которой достигается наибольшая чистая денежная выгода.

для стратегий с использованием вориконазола и каспофунгина: более высокие затраты пришлось на препараты 2-й линии, в то время как при использовании ЛК амфотерицина В наибольшая доля затрат приходилась на 1-ю линию терапии (табл. 3).

При моделировании процесса лечения для когорты из 10 пациентов на разницу в затратах между стратегиями с использованием в 1-й линии терапии вориконазола и каспофунгина можно было бы дополнительно пролечить вориконазолом 6 пациентов, а на разницу между стратегиями с вориконазолом и ЛК амфотерицина В — 14 больных (табл. 4).

Анализ чувствительности в основной модели

При проведении вероятностного анализа чувствительности в основной модели вориконазол доминировал в 96 % симуляций по сравнению с каспофунгином и в 72 % симуляций по сравнению с ЛК амфотерицина В. Во всех симуляциях вориконазол был более экономичной стратегией (рис. 3).

Дополнительная модель

(использование амфотерицина В в 1-й линии)

В дополнительной модели во всех сценариях вероятность выживания была максимальной при использовании вориконазола (0,731–0,742) при затратах от 436,3 до 548,4 тыс. руб, а при использовании амфотерицина В — минимальной (0,623) при затратах 432,1 тыс. руб. Вероятность выживания при использовании каспофунгина в 1-й линии колебалась от 0,640 до 0,652, при этом затраты были самыми высокими во всех сценариях.

Затраты, обусловленные серьезными НЯ, в стратегии с использованием амфотерицина В были более чем в 2 раза выше, чем в сравниваемых стратегиях, отражая более высокую токсичность данного препа-

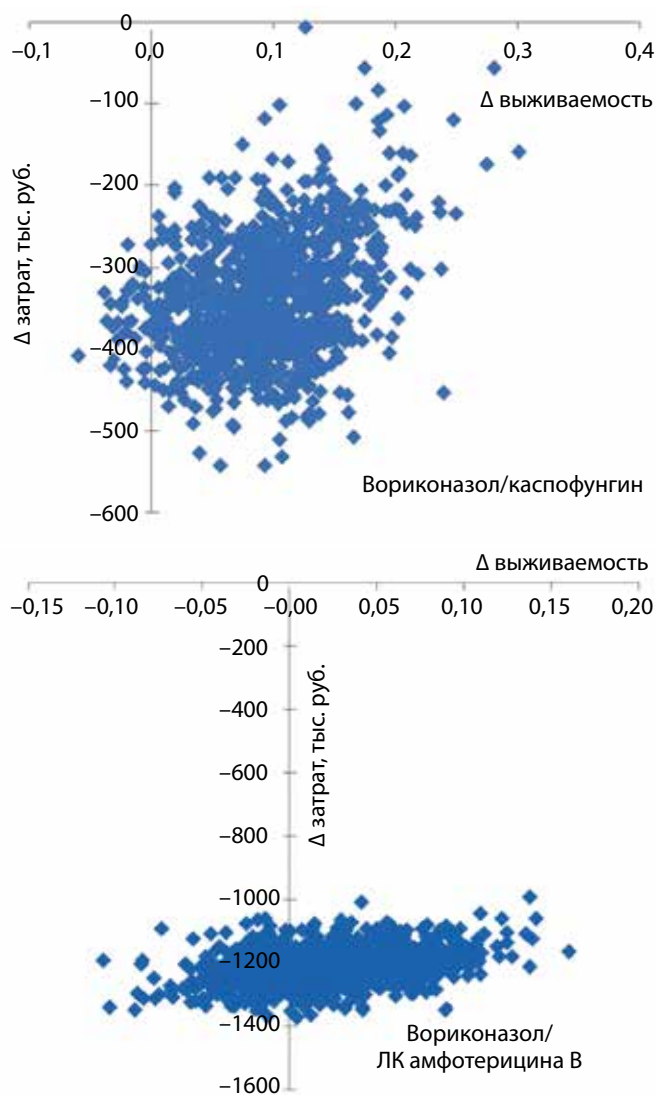


Рис. 3. Результаты вероятностного анализа чувствительности для основной модели лечения ИА (1000 симуляций)

Таблица 3. Средние затраты на 1 больного и вероятность выживания в основной модели лечения при ИА (сравнение с ЛК амфотерицина В)

Стратегия	Затраты, руб. (% итоговых затрат)				Вероятность выживания
	1-я линия терапии	2-я линия терапии	серьезные НЯ	итого	
Вориконазол	210 317 (39,21)	325 349 (60,65)	759 (0,14)	536 425 (100)	0,742
Каспофунгин	397 463 (45,29)	479 434 (54,62)	789 (0,09)	877 686 (100)	0,652
ЛК амфотерицина В	1 399 067 (79,94)	350 199 (20,01)	856 (0,05)	1 750 121 (100)	0,719

Таблица 4. Сравнение затрат на альтернативные стратегии при лечении ИА (моделирование для когорты из 10 пациентов)

Стратегия	Затраты на всех больных в когорте, руб.	Разница в затратах при сравнении со стратегией с использованием вориконазола, руб.	Число дополнительно пролеченных больных при использовании вориконазола
Вориконазол	5 364 255	Сравниваемая стратегия	Сравниваемая стратегия
Каспофунгин	8 776 859	3 412 604	6
ЛК амфотерицина В	17 501 211	12 136 956	14

Таблица 5. Средние затраты на 1 больного и вероятность выживания в дополнительной модели лечения при ИА (сравнение с амфотерицином В)

Стратегия	Затраты, руб. (% итоговых затрат)				Вероятность выживания
	1-я линия терапии	2-я линия терапии	серьезные НЯ	итого	
Сценарий № 1 – ЛК амфотерицина В во 2-й линии терапии после вориконазола и каспофунгина					
Вориконазол	210317 (39,21)	325349 (60,65)	759 (0,14)	536425	0,742
Каспофунгин	397463 (45,29)	479434 (54,62)	789 (0,09)	877686	0,652
Амфотерицин В	3679 (0,85)	426364 (98,67)	2062 (0,48)	432105	0,623
Сценарий № 2 – нет перехода на препараты амфотерицина В во 2-й линии терапии после вориконазола и каспофунгина					
Вориконазол	210317 (38,35)	337324 (61,51)	727 (0,13)	548369	0,731
Каспофунгин	397463 (44,36)	497795 (55,56)	717 (0,08)	895974	0,640
Амфотерицин В	3679 (0,85)	426364 (98,67)	2062 (0,48)	432105	0,623
Сценарий № 3 – амфотерицин В во 2-й линии терапии после вориконазола и каспофунгина					
Вориконазол	210317 (48,20)	225095 (51,59)	907 (0,21)	436320	0,737
Каспофунгин	397463 (54,40)	332176 (45,46)	1007 (0,14)	730646	0,644
Амфотерицин В	3679 (0,85)	426364 (98,67)	2062 (0,48)	432105	0,623

рата. Затраты на препараты 2-й линии терапии были выше, чем на препараты 1-й линии во всех случаях, за исключением использования каспофунгина при сценарии № 3. Однако, если в случае с вориконазолом и каспофунгином разница колебалась в пределах 10–20 %, то при использовании амфотерицина В затраты на терапию 2-й линии были более чем в 100 раз выше (табл. 5).

Дополнительные затраты на 1 спасенную жизнь при использовании вориконазола по сравнению с амфотерицином В колебались от 36,84 до 1071 тыс. руб. в зависимости от сценария (табл. 6).

Таблица 6. Дополнительные затраты в расчете на 1 спасенную жизнь при сравнении использования вориконазола и амфотерицина В в 1-й линии терапии ИА (результаты моделирования)

Показатели	Сценарий № 1	Сценарий № 2	Сценарий № 3
Разница в затратах на 1 больного, руб.	104 321	116 264	4215
Разница в вероятности выживания	0,120	0,109	0,114
Дополнительные затраты на 1 спасенную жизнь, руб.	872 725	1 071 248	36 838

Анализ чувствительности в дополнительной модели

При проведении вероятностного анализа чувствительности в дополнительной модели во всех сценариях вориконазол доминировал по сравнению с каспо-

фунгином в большинстве симуляций (94,9–96,4 %), неизменно оставаясь более предпочтительной ресурсосберегающей стратегией.

По сравнению с амфотерицином В вориконазол при сценариях № 1 и № 2 был более эффективной и дорогой стратегией более чем в 95 % симуляций, а при сценарии № 3 – был более дорогим и эффективным в 51,9 % и доминировал (был одновременно и менее затратной, и более эффективной альтернативой) в 47,5 % случаев (рис. 4).

На основании результатов симуляции для модели с использованием амфотерицина В был проведен анализ вероятности признания сравниваемых стратегий затратно-эффективными в зависимости от уровня готовности платить за спасенную жизнь на основании расчета чистой денежной выгоды. Было показано, что стратегия с использованием вориконазола имеет больше шансов быть признанной затратно-эффективной по сравнению со стратегией с использованием амфотерицина В в сценарии № 1 при пороговом значении готовности платить за спасенную жизнь в 900 тыс. руб., в сценарии № 2 – 1100 тыс. руб., в сценарии № 3 – уже при 50 тыс. руб. (рис. 5).

Обсуждение

В результате моделирования было показано, что использование вориконазола для лечения ИА является доминирующей стратегией по сравнению с использованием каспофунгина и ЛК амфотерицина В, обеспечивая сокращение затрат при достижении наибольшего эффекта. Так, при тех же затратах, которые потребовались бы, чтобы провести лечение 10 пациентов при применении каспофунгина в 1-й линии, можно было



Рис. 4. Результаты вероятностного анализа чувствительности для дополнительной модели лечения ИА (сравнение с амфотерицином В, 1000 симуляций)

пролечить 16 больных при использовании вориконазола, а на затраты для 10 пациентов в стратегии с ЛК амфотерицина В — 24 больных. При проведении вероятностного анализа чувствительности доминирование стратегии с использованием вориконазола сохранялось в большинстве симуляций.

В более раннем отечественном фармакоэкономическом исследовании 2009 г. также было продемонстрировано, что применение вориконазола для лечения ИА является одновременно более эффективным и менее затратным по сравнению с применением каспофунгина или ЛК амфотерицина В [10].

Следует отметить, что и в аналогичных зарубежных исследованиях было показано преимущество вориконазола. Так, в исследовании Н. Ostermann et al. вориконазол в 1-й линии терапии при ИА оказался более экономичным, чем липосомальный амфотерицин В [25]. В исследовании А. Dominguez-Gil et al. было продемонстрировано, что использование вориконазола при лечении ИА позволяет сократить затраты по сравнению с каспофунгином. Липосомальный амфотерицин В был исключен из анализа как заведомо более дорогая стратегия [26]. В исследовании,

изучавшем затратную эффективность вориконазола и липосомального амфотерицина В у реципиентов стволовых кроветворных клеток с позиции медицинской организации в Нидерландах, стратегии с использованием вориконазола также оказались доминирующими [27].

В сравнении с самым дешевым вариантом лечения ИА — амфотерицином В — вориконазол требует дополнительных затрат.

В течение почти 30 лет амфотерицин В являлся «золотым стандартом» лечения ИА, однако в настоящий момент отношение к этому препарату изменилось в связи с появлением более эффективных и безопасных средств. В отечественных рекомендациях указывается, что амфотерицин В следует использовать только в случае отсутствия в стационаре других рекомендованных препаратов [9]. В рекомендациях IDSA (Infectious Diseases Society of America, Американское общество инфекционных болезней) указывается на высокую токсичность амфотерицина В, приводящую к развитию почечной недостаточности и избыточной смертности, а сам препарат не рекомендован для лечения ИА [5]. В рекомендациях DGHO (Deutsche Gesellschaft

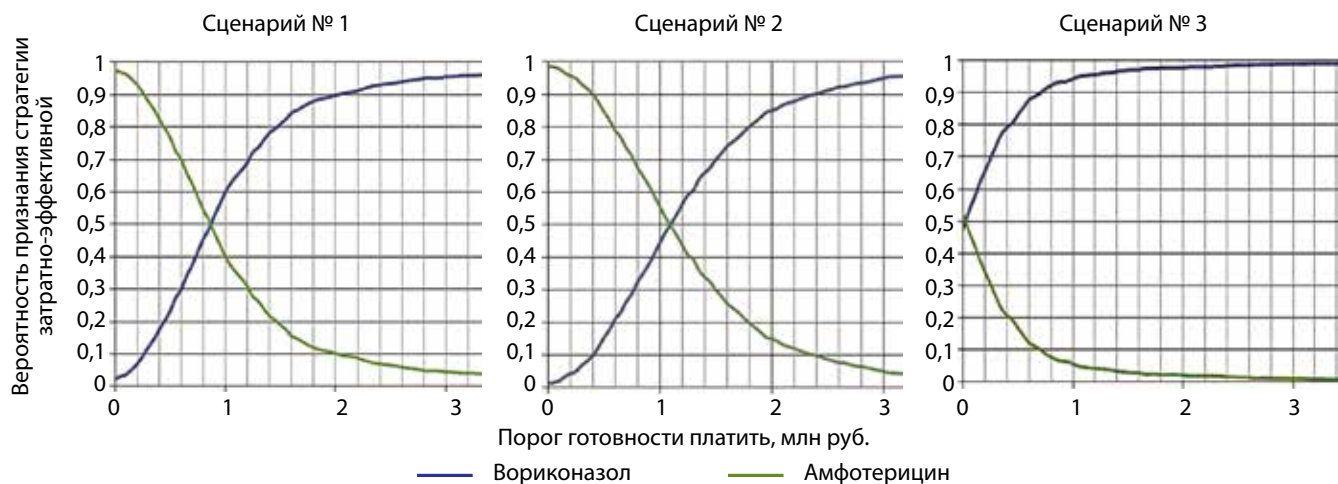


Рис. 5. Кривые вероятности признания альтернативных стратегий лечения ИА затратно-эффективными (результаты моделирования, дополнительная модель)

für Hämatologie und Medizinische Onkologie, Немецкое общество гематологии и терапевтической онкологии), опубликованных в 2014 г., решительно не рекомендуется использование амфотерицина В [8].

В рамках анализа чувствительности мы провели дополнительное моделирование исходов лечения ИА при использовании амфотерицина В в сравнении с вориконазолом и каспофунгином, поскольку амфотерицин В все еще используется в отечественной практике. В сценарии, где после использования каспофунгина и вориконазола был разрешен переход на амфотерицин В во 2-й линии терапии, затраты на стратегию с его использованием практически равны затратам на стратегию с использованием вориконазола: 432 и 436 тыс. руб. соответственно, несмотря на чрезвычайно низкую стоимость амфотерицина В. При этом вероятность выживания пациента при использовании амфотерицина В значительно ниже (0,623 и 0,737 соответственно). При вероятностном анализе чувствительности более чем в 40 % случаев стратегия с использованием вориконазола доминировала по отношению к стратегии с использованием амфотерицина В.

В 2 других сценариях, где переход на амфотерицин В во 2-й линии терапии не был разрешен, дополнительные затраты в расчете на 1 спасенную жизнь составили 872,7 и 1071,2 тыс. руб. Если предположить, что средняя ожидаемая продолжительность жизни у пациентов после успешного излечения ИА составляет 2,3 года (расчетная оценка в фармакоэкономическом исследовании A.J. Ament et al. [27] для реципиентов стволовых клеток крови на основании данных эпидемиологического исследования A. Wald et al. [3]), то дополнительные затраты в расчете на год спасенной жизни составят 379,4–465,7 тыс. руб. Это значительно ниже, чем пороговое значение готовности платить в 3 ВВП на душу населения за год жизни, рекомендуемое Всемирной организацией здравоохранения, которое в России в 2014 г. составило 1,48 млн руб. (расчет на основании данных Госкомстата). В сценарии, где во 2-й линии терапии разрешен переход на амфотерицин В, затраты на год спасенной жизни составят всего 16,02 тыс. руб.

Аналогичные результаты были получены в многочисленных зарубежных фармакоэкономических исследованиях. В 2 исследованиях, использовавших методику минимизации затрат, было показано, что общие затраты на лечение больных ИА при назначении вориконазола в 1-й линии терапии меньше или равны таковым при назначении амфотерицина В [28, 29]. В других исследованиях, изучавших затратную эффективность вориконазола по сравнению с амфотерицином В, или было показано сокращение затрат при использовании вориконазола (в США, Швейцарии, Канаде и Нидерландах), или была доказана затратная эффективность вориконазола (в Германии) [30–35]. В упоминавшемся ранее отечественном ис-

следовании также была показана затратная эффективность вориконазола по сравнению с амфотерицином В [10].

Ограничением нашего исследования является использование для моделирования данных из нескольких зарубежных исследований, обладающих различным методологическим качеством, что обусловлено ограниченностью доступной информации. Это является обычной практикой проведения клинко-экономического анализа в силу того, что включение в клиническое исследование больше 2 групп сравнения встречается чрезвычайно редко, в то время как для принятия решений в управлении здравоохранением требуется сравнение всех возможных альтернатив. Чтобы снизить возникающую в модели неопределенность, проводится вероятностный анализ чувствительности, позволяющий оценить влияние на полученный результат использованных значений параметров и его приближенность к «истинному» значению, что и было сделано в нашем исследовании.

Для ЛК амфотерицина В сведения о выживаемости были найдены только в исследовании, популяция пациентов в котором характеризовалась очень тяжелым состоянием и, по мнению авторов, значительно отличалась от типичной популяции больных гемобластомами. Летальность в этом исследовании была чрезвычайно высокой (до 89 %) при использовании и ЛК амфотерицина В, и липосомального амфотерицина В, существенно отличаясь от результатов других исследований для данного препарата. В то же время статистически значимых различий в частоте ответа и летальности для этих 2 липидных препаратов амфотерицина В выявлено не было [36]. На основании этих данных мы приняли решение использовать данные о выживаемости из других исследований липосомального амфотерицина В для моделирования альтернативы с применением ЛК амфотерицина В.

Результаты настоящего исследования и проведенного в его рамках вероятностного анализа чувствительности подтвердили экономическую целесообразность использования вориконазола в качестве препарата 1-й линии терапии при лечении ИА.

Выводы

В результате клинко-экономического моделирования было показано, что использование вориконазола для лечения ИА является доминирующей стратегией по сравнению с использованием каспофунгина и ЛК амфотерицина В, обеспечивая сокращение затрат при достижении наибольшего клинического эффекта. Так, применение вориконазола в 1-й линии терапии позволяет сэкономить до 341,3 тыс. руб. в сравнении с каспофунгином и 1213 тыс. руб. — в сравнении с ЛК амфотерицина В из расчета на 1 больного. В то же время применение вориконазола позволит достигнуть максимальной выживаемости больных, достигающей 74,2 %, в то время как выживаемость

на фоне терапии каспифунгином и ЛК амфотерицина В составляет 65,2 и 71,9 % соответственно.

Применение вориконазола за счет минимизации расходов на 2-ю линию терапии и компенсацию побочных эффектов в сравнении с амфотерицином В требовало сопоставимых затрат, целесообразность которых под-

тверждается достижением значительно более высоких показателей эффективности и безопасности лечения.

Таким образом, с точки зрения клинико-экономического анализа схема лечения ИА с использованием вориконазола как стартового препарата является оптимальной из сравниваемых альтернатив.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dignani M.C. Epidemiology of invasive fungal diseases on the basis of autopsy reports. F1000Prime Rep 2014;6:81.
2. Cornet M., Fleury L., Maslo C. et al. Epidemiology of invasive aspergillosis in France: a six-year multicentric survey in the Greater Paris area. J Hosp Infect 2002;51(4):288–96.
3. Wald A., Leisenring W., van Burik J.A., Bowden R.A. Epidemiology of *Aspergillus* infections in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation. J Infect Dis 1997;175(6):1459–66.
4. Herbrecht R., Denning D., Patterson T. et al. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. N Engl J Med 2002;347:408–15.
5. Walsh T.J., Anaissie E.J., Denning D.W. et al.; Infectious Diseases Society of America. Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2008;46(3):327–60.
6. Herbrecht R., Flückiger U., Gachot B. et al. Treatment of invasive *Candida* and invasive *Aspergillus* infections in adult haematological patients. Eur J Cancer (Suppl) 2007;5(2):49–59.
7. Maertens J., Marchetti O., Herbrecht R. et al. European guidelines for antifungal management in leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients: summary of the ECIL 3-2009 update. Bone Marrow Transplant 2011;46:709–18.
8. Mousset S., Buchheidt D., Heinz W. et al. Treatment of invasive fungal infections in cancer patients—updated recommendations of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). Ann Hematol 2014;93:13–32.
9. Протокол лечения и профилактики кандидоза и аспергиллеза у взрослых больных лейкозами, лимфомами и депрессиями кроветворения. В кн.: Программное лечение заболеваний системы крови: Сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2012. 1056 с. [The protocol of treatment and prevention of candidiasis and aspergillosis in adult patients with leukemia, lymphoma and hematopoiesis depression. In: Program treatment of blood diseases: Diagnostic and treatment protocols for hematological diseases. V.G. Savchenko (ed.). M.: Praktika, 2012. 1056 p. (In Russ.)].
10. Колбин А.С., Королева О.А., Климко Н.Н. Оценка эффективности затрат применения вориконазола для лечения инвазивного аспергиллеза. Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология 2009;3:46–55. [Kolbin A.S., Koroleva O.A., Klimko N.N. Evaluation of the cost-effectiveness of voriconazole for treatment of invasive aspergillosis. Farmacoeconomica. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologiya = Pharmacoeconomics. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoeconomics 2009;3:46–55. (In Russ.)].
11. Maertens J., Raad I., Petrikos G. et al. Efficacy and safety of caspofungin for treatment of invasive aspergillosis in patients refractory to or intolerant of conventional antifungal therapy. Clin Infect Dis 2004;39(11):1563–71.
12. Maertens J., Glasmacher A., Herbrecht R. et al. Multicenter, noncomparative study of caspofungin in combination with other antifungals as salvage therapy in adults with invasive aspergillosis. Cancer 2006;107(12):2888–97.
13. Walsh T.J., Hiemenz J.W., Seibel N.L. et al. Amphotericin B lipid complex for invasive fungal infections: analysis of safety and efficacy in 556 cases. Clin Infect Dis 1998;26(6):1383–96.
14. Walsh T.J., Raad I., Patterson T.F. et al. Treatment of invasive aspergillosis with posaconazole in patients who are refractory to or intolerant of conventional therapy: an externally controlled trial. Clin Infect Dis 2007;44(1):2–12.
15. Viscoli C., Herbrecht R., Akan H. et al. An EORTC Phase II study of caspofungin as first-line therapy of invasive aspergillosis in haematological patients. J Antimicrob Chemother 2009;64(6):1274–81.
16. Chandrasekar P.H., Ito J.I. Amphotericin B lipid complex in the management of invasive aspergillosis in immunocompromised patients. Clin Infect Dis 2005;40(Suppl 6):S392–400.
17. Cornely O., Maertens J., Bresnik M. et al. Liposomal amphotericin B as initial therapy for invasive mold infection: a randomized trial comparing a high-loading dose regimen with standard dosing (AmBiload trial). Clin Infect Dis 2007;44:1289–97.
18. Mills W., Chopra R., Linch D.C., Goldstone A.H. Liposomal amphotericin B in the treatment of fungal infections in neutropenic patients: a single-centre experience of 133 episodes in 116 patients. Br J Haematol 1994;86(4):754–60.
19. Bates D.W., Spell N., Cullen D.J. et al. The costs of adverse drug events in hospitalized patients; Adverse Drug Events Prevention Study Group. JAMA 1997;277(4):307–11.
20. Доклад о реализации Программы государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи в 2013 году. <http://www.rosminzdrav.ru/documents/8122-doklad-o-realizatsii-programmy-gosudarstvennyh-garantiy-besplatnogo-okazaniya-grazhdanam-medsinskoj-pomoschi-v-2013-godu> (дата обращения: 08.01.2015). [Report of implementation of state guarantees program of free medical care provision in 2013. <http://www.rosminzdrav.ru/documents/8122-doklad-o-realizatsii-programmy-gosudarstvennyh-garantiy-besplatnogo-okazaniya-grazhdanam-medsinskoj-pomoschi-v-2013-godu> (the date of handling: 08.01.2015). (In Russ.)].
21. Климко Н.Н., Шадривова О.В., Хостелиди С.Н. и др. Инвазивный аспергиллез: результаты многоцентрового исследования. Онкогематология 2014;2:13–9. [Klimko N.N., Shadrivova O.V., Khostelidi S.N. et al. Invasive aspergillosis: results of multicenter study. Onkogematologiya = Oncohematology 2014;2:13–9. (In Russ.)].
22. Caro J.J., Briggs A.H., Siebert U., Kuntz K.M.; ISPOR-SMDM Modeling Good Research Practices Task Force. Modeling good research practices – overview: a report of the ISPOR-SMDM Modeling Good Research Practices Task Force – 1. Value Health 2012;15(6):796–803.
23. Briggs A., Claxton K., Sculpher M.J. Decision modelling for health economic evaluation. Oxford: Oxford University Press, 2006.
24. Walsh T.J., Teppler H., Donowitz G.R. et al. Caspofungin versus liposomal

- amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with persistent fever and neutropenia. *N Engl J Med* 2004;351(14):1391–402.
25. Ostermann H., Solano C., Jarque I. et al. Cost analysis of voriconazole versus liposomal amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis among patients with haematological disorders in Germany and Spain. *BMC Pharmacol Toxicol* 2014;15:52.
26. Dominguez-Gil A., Martin I., Garcia Vargas M. et al. Economic evaluation of voriconazole versus caspofungin for the treatment of invasive aspergillosis in Spain. *Clin Drug Investig* 2007;27(3):197–205.
27. Ament A.J., Hubben M.W., Verweij P.E. et al. Economic evaluation of targeted treatments of invasive aspergillosis in adult haematopoietic stem cell transplant recipients in the Netherlands: a modelling approach. *J Antimicrob Chemother* 2007;60:385–93.
28. Wingard J., Herbrecht R., Mauskopf J. et al. Resource use and cost of treatment with voriconazole or conventional amphotericin B for invasive aspergillosis. *Transpl Infect Dis* 2007;9:182–8.
29. Lewis J.S., Boucher H.W., Lubowski T.J. et al. Cost advantage of voriconazole over amphotericin B deoxycholate for primary treatment of invasive aspergillosis. *Pharmacother* 2005;25(6):839–46.
30. Garbino J., Schnetzler G., Roberts C. Invasive aspergillosis: is treatment with “inexpensive” amphotericin B cost-saving if “expensive” voriconazole is only used on demand. *Swiss Medical Weekly* 2006;136(39–40):624–30.
31. Greene R.E., Mauskopf J., Roberts C.S. et al. Comparative cost-effectiveness of voriconazole and amphotericin B in treatment of invasive pulmonary aspergillosis. *Am J Health Syst Pharm* 2007;64:2561–8.
32. Jansen J.P., Meis J.F., Blijlevens N.M., van’t Wout J.W. Economic evaluation of voriconazole in the treatment of invasive aspergillosis in the Netherlands. *Curr Med Res Opin* 2005;21(10):1535–46.
33. Rotstein C., Laverdiere M., Marciniak A., Ali F. An economic evaluation of voriconazole versus amphotericin B for the treatment of invasive aspergillosis in Canada. *Can J Infect Dis* 2004;15(5):277–84.
34. Wenzel R., Del Favero A., Kibbler C. et al. Economic evaluation of voriconazole compared with conventional amphotericin B for the primary treatment of aspergillosis in immunocompromised patients. *J Antimicrob Chemother* 2005;55(3):352–61.
35. Jansen J.P., Kern W.V., Cornely O.A. et al. Economic evaluation of voriconazole versus conventional amphotericin B in the treatment of invasive aspergillosis in Germany. *Value Health* 2006;9(1):12–23.
36. Hachem R.Y., Boktour M.R., Hanna H.A. et al. Amphotericin B lipid complex versus liposomal amphotericin B monotherapy for invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancy. *Cancer* 2008;112(6):1282–7.

Первичный миелофиброз: собственный опыт и новое в диагностике и лечении

К.М. Абдулкадыров, В.А. Шуваев, И.С. Мартынкевич

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» Федерального медико-биологического агентства; Россия, 191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16

Контакты: Василий Анатольевич Шуваев shuvaev77@mail.ru

В статье подробно освещены литературные данные о последних достижениях в изучении патогенеза, новейших разработках в диагностике и терапии первичного миелофиброза (ПМФ). Ведущим механизмом патогенеза ПМФ в настоящее время считается активация JAK-STAT сигнального пути, обусловленная мутациями генов JAK2, CALR, MPL и др. Авторами приведены материалы собственных наблюдений об эпидемиологии, клинических проявлениях, результатах обследования и лечения 315 больных ПМФ. Наиболее частыми клиническими симптомами на момент диагностики были: анемия, лейкоцитоз, тромбоцитоз, спленомегалия, симптомы опухолевой интоксикации. Представлены диагностические критерии, наиболее актуальные прогностические шкалы, включающие цитогенетические и молекулярно-генетические особенности заболевания. Наиболее часто в исследуемой группе определялся промежуточный-1 риск заболевания. Представлен рекомендуемый алгоритм терапии ПМФ. Изложены методы лечения, результаты использования таргетных препаратов (ингибиторов янускиназы).

Ключевые слова: первичный миелофиброз, мутация в гене янускиназы, мутация в гене кальретикулина, прогностические шкалы, алгоритм лечения, руксолитиниб

DOI: 10.17650/1818-8346-2015-10-2-26-36

Primary myelofibrosis: own experience and news from diagnostic and treatment

K.M. Abdulkadyrov, V.A. Shuvaev, I.S. Martynkevich

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Federal Medical and Biological Agency; 16, 2nd Sovetskaya St., St. Petersburg, 191024, Russia

The newest advances in primary myelofibrosis (PMF) pathogenesis study, diagnostic and treatment approaches are presented in this article. The JAK-STAT signal pathway activation now recognized as main pathogenesis mechanism of PMF, it caused by JAK2, CALR, MPL genes mutations. Authors demonstrate their own data about epidemiology, clinical signs, diagnostic and treatment results of 315 PMF patients. The most frequent clinical symptoms are: anemia, leukocytosis, thrombocytosis, splenomegaly, constitutional symptoms. Diagnostic criteria, prognostic scales (including cytogenetic and molecular features) issues are reviewed. Intermediate-1 risk grade is in the most proportion of patients. The recommended PMF treatment algorithm is listed. The treatment methods, target drugs (Janus kinases inhibitors) trials results are discussed.

Key words: primary myelofibrosis, Janus kinase gene mutation, calreticulin gene mutation, prognostic scales, treatment algorithm, ruxolitinib

Введение

Первичный миелофиброз (ПМФ) — это хроническое миелопролиферативное новообразование, которое характеризуется фиброзом костного мозга, спленомегалией, экстрамедуллярным гемопоэзом. Источником опухолевого роста является клональное расстройство полипотентной гемопоэтической стволовой клетки.

История изучения ПМФ ведет свое начало от описания 2 случаев «лейкемии со странным костным мозгом» (*Fälle von Leukämie mit eigenthümlichem Blut-resp Knochenmarksbefund*), которые в 1879 г. дал G. Neuck [1]. В 1907 г. Н. Assmann впервые использовал термин «остеосклероз» [2]. W. Dameshek в 1951 г. среди миело-пролиферативных заболеваний выделил как самостоятельную нозологическую форму болезнь под названием «идиопатическая или агногенная миелоидная метаплазия» [3]. В последующем заболевание с лейкоцитозом, спленомегалией и фиброзом костного мозга

описывалось и называлось в разных странах как первичный остеосклероз/остеомиелофиброз, агногенная миелоидная метаплазия, хронический идиопатический миелофиброз, сублейкемический миелоз [4–8].

ПМФ — редкое заболевание, число впервые выявленных больных в год составляет приблизительно 1:100 000 населения. Соотношение женщины:мужчины 2:1, медиана возраста на момент диагностики заболевания равна 61,8 года. При анализе десятилетней динамики заболеваемости ПМФ в Санкт-Петербурге установлено, что ежегодная первичная заболеваемость колебалась от 0,72 до 1,56 и составила в среднем 1,06 на 100 000 населения [7, 9]. В США заболеваемость составляет 1,46:100 000 населения с пиком в возрасте 60–70 лет [10].

При написании данной работы использовались результаты исследований отечественных и зарубежных авторов, а также собственный опыт авторов по диагностике и лечению 315 больных ПМФ, наблюдаю-

щихся в Российском научно-исследовательском институте гематологии и трансфузиологии.

Этиология и патогенез

Этиология заболевания до сих пор не установлена. Ведущей гипотезой возникновения считается предрасположенность к болезни, которая реализуется под воздействием внешних факторов, повреждающих ген нормальной гемопоэтической клетки и приводящих к ее злокачественной трансформации [7, 11–14].

Молекулярно-генетические механизмы, приводящие к развитию ПМФ, широко изучаются в настоящее время. Известно, что у большинства больных ПМФ встречается точечная мутация в гене янускиназы (*JAK*) — перестройка *JAK2V617F* рецептора эритропоэтина или *CALR* (кальретикулин), либо более редкие мутации генов *MPL*, *TET2*, *ASXL1*, *CBL*, *IDH1/IDH2*, *LNK*, *EZH2*, *IKZF1/IKaros* [13, 15–17]. Перечисленные мутации не являются специфичными для ПМФ и имеют вторичный генез в цепи генетических событий. Вероятным молекулярно-генетическим механизмом развития болезни могут быть активация *JAK2* киназы, мутации в генах *CALR* или рецептора тромбопоэтина *MPL*, потеря функции гена *LNK* белка SH2D3, ингибирующей активность *JAK2*. Ключевым моментом патогенеза ПМФ является возникновение мутаций в генах *JAK-STAT* сигнального пути и рецептора тромбопоэтина *MPL*, что приводит к стимуляции пролиферации клеток.

Клональная миелопролиферация при ПМФ сопровождается вторичным воспалением с изменениями в строме костного мозга и патологической продукцией цитокинов. В развитие миелофиброза, остеосклероза и ангиогенеза при ПМФ вовлечены также трансформирующий фактор роста бета миелоидных предшественников (*TGF-β*), ростовой фактор, вырабатываемый тромбоцитами (*PDGEP*), и эндотелиальный сосудистый фактор роста (*VEGF*) [18]. Патологическая продукция цитокинов, хемокинов и металлопротеиназ может участвовать в нарушениях межклеточных взаимодействий нейтрофилов, моноцитов и мегакариоцитов, приводя к выходу *CD34*⁺-миелоидных предшественников и эндотелиальных клеток в периферическую кровь [19–21]. Важно также отметить, что концентрация провоспалительных цитокинов в крови при ПМФ повышена, что сопровождается симптомами опухолевой интоксикации и кахексией [22]. Повышение уровня интерлейкинов *IL-8*, *IL-10*, *IL-15* и экспрессии рецепторов к *IL-2* коррелирует с более низкими показателями общей выживаемости (*ОВ*) и выживаемости до бластной трансформации, что может быть обусловлено как более быстрой клональной эволюцией, так и ухудшением течения сопутствующих заболеваний [23].

Клинические проявления заболевания тесно связаны с его патогенезом. Так, повышенная продукция цитокинов, как уже было констатировано выше, приводит к развитию опухолевой интоксикации. Выход миелоидных предшественников в периферическую

кровь обуславливает появление очагов экстрамедуллярного кроветворения в печени и селезенке. Повышение количества лейкоцитов и тромбоцитов сопряжено с нарушением микроциркуляции и развитием тромбозов. Гепатоспленомегалия обуславливает повышение давления в системе воротной вены с возможностью развития синдрома портальной гипертензии. Нарушения микроциркуляции в сосудах приводят к ухудшению течения сопутствующих заболеваний и в первую очередь — сердечно-сосудистых. Прогрессирование фиброза костного мозга с развитием остеосклероза вызывает сокращение плацдарма кроветворения со всеми вытекающими последствиями: нарастают анемия с классическими проявлениями, лейкопения с увеличением риска инфекционных осложнений, тромбоцитопения с высокой вероятностью спонтанных кровотечений. Длительная пролиферация опухолевого клона приводит к появлению дополнительных мутаций и более высокой степени малигнизации, вследствие чего развивается бластный криз ПМФ.

Диагностика первичного миелофиброза

Клиническая картина при ПМФ характеризуется многообразием проявлений. Начальный период болезни у большинства больных протекает подчас бессимптомно. Признаки заболевания нередко обнаруживаются неожиданно при анализе крови при профилактических осмотрах или по поводу сопутствующей патологии. Начальные клинические проявления ПМФ не имеют патогномоничных симптомов и складываются из:

- синдрома опухолевой интоксикации — прогрессирующая слабость, не всегда соответствующая степени тяжести анемии, снижение аппетита, потеря веса, субфебрильная температура, потливость, боли в костях, суставах, кожный зуд, ухудшение течения сопутствующих заболеваний. Признаки данного синдрома можно выявить при внимательном сборе анамнеза у большинства больных;

- синдрома опухолевой пролиферации — боли и чувство тяжести в левом боку, связанные с увеличением размеров селезенки, которое можно определить при пальпаторном исследовании более чем у 90 % больных. Нередко обнаруживается также увеличение размеров печени. При длительном течении заболевания очаги экстрамедуллярного кроветворения выявляются в лимфатических узлах, позже в мягких тканях конечностей и др.;

- анемического синдрома — общая слабость, одышка, снижение толерантности к физической нагрузке, бледность кожи и слизистых оболочек, тахикардия, ухудшение течения сердечно-сосудистых заболеваний;

- тромботических осложнений — тромбозы и тромбозии сосудов различных органов и тканей, которые могут возникать даже при бессимптомном течении ПМФ и нередко служат поводом к обследованию и установлению диагноза;

- инфекционных осложнений — развитие оппортунистических или более тяжелое течение обычных инфекций;

- геморрагического синдрома — кровоточивость, петехии, кровоизлияния — может проявляться как при тромбоцитопении, так и при гипертромбоцитозе и вторичном дефиците фактора Виллебранда в связи с постоянной диссеминированной агрегацией тромбоцитов. Причиной геморрагических проявлений может быть и коагулопатия вследствие нарушения функции печени и развития портальной гипертензии.

Дебют ПМФ обычно наблюдается в возрасте 50–60 лет [5, 7, 9, 10]. Жалобы в начале заболевания либо отсутствуют, либо связаны с появлением болей в костях, проявлениями геморрагического синдрома. Селезенка, как правило, увеличена, плотная. Нередко наблюдается также увеличение размеров печени. При рентгенографии трубчатых костей выявляются склеротические изменения костной ткани, сочетающиеся иногда с очагами остеонекроза.

В анализах крови уровень гемоглобина в начале заболевания нормальный или несколько повышен. Анемия развивается обычно в терминальной стадии заболевания или обусловлена гемолизом. В периферической крови практически всегда обнаруживаются нормобласты. Число лейкоцитов на верхней границе нормы или умеренно повышено. В лейкоцитарной формуле отмечается сдвиг до молодых форм нейтрофилов. Количество тромбоцитов, как правило, повышено, достигая подчас $1000 \times 10^9/\text{л}$ и более с появлением в периферической крови осколков мегакариоцитов и гигантских форм тромбоцитов.

Стернальный пунктат часто оказывается «сухим» или значительно разведен периферической кровью. В трепанобиоптате наблюдается гиперплазия всех ростков миелоидного кроветворения — гранулоцитарного, эритроидного и мегакариоцитарного. Гранулопоэз представлен зрелыми или созревающими клетками — палочкоядерными, сегментоядерными нейтрофилами, метамиелоцитами, миелоцитами. Мегакариоцитопоэз усилен и характеризуется наличием скоплений мегакариоцитов в очагах фиброзной ткани с отчетливыми дегенеративными признаками пикноза и деформации ядер и микрогенерацией клеток. В гистологических препаратах костного мозга, наряду с участками гиперплазированной костномозговой ткани, обнаруживаются очаги фиброза, увеличивающиеся в динамике до полного замещения фиброзной тканью. При цитохимическом исследовании уровень активности щелочной фосфатазы нейтрофилов обычно повышен [5, 7–9, 24, 25].

С целью верификации диагноза «первичный миелофиброз» международной рабочей группой в 2007 г. разработаны диагностические критерии, утвержденные Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) и широко используемые в настоящее время для постановки этого диагноза [26, 27]. Критерии разделяются на большие и малые.

Большие критерии:

1. Пролиферация мегакариоцитов с признаками атипии в сочетании с ретикулиновым и/или коллагеновым фиброзом (при отсутствии фиброза изменения мегакариоцитов сопровождаются повышенной клеточностью, пролиферацией гранулоцитов, часто снижением эритропоэза).

2. Не соответствует критериям ВОЗ для диагностики хронического миелолейкоза, истинной полицитемии, миелодиспластического синдрома или других миелопролиферативных новообразований.

3. Обнаружение *JAK2V617F* или других клональных маркеров или отсутствие признаков реактивного миелофиброза.

Малые критерии:

1. Лейкоэритробластоз периферической крови.

2. Повышение уровня лактатдегидрогеназы.

3. Анемия.

4. Пальпируемая спленомегалия.

Для установления диагноза «первичный миелофиброз» необходимо наличие 3 больших и не менее 2 малых критериев [26, 27].

После открытия патогенетической роли мутаций в гене *CALR*, в 2014 г. был проведен пересмотр диагностических критериев, составлены предложения по новым критериям диагностики ПМФ, находящиеся в настоящее время на рассмотрении ВОЗ [14]. В новой редакции диагностические критерии ПМФ состоят из 3 больших и 3 малых критериев.

Большие критерии:

1. Пролиферация мегакариоцитов с признаками атипии в сочетании с ретикулиновым и/или коллагеновым фиброзом (при отсутствии фиброза изменения мегакариоцитов сопровождаются повышенной клеточностью, пролиферацией гранулоцитов, часто снижением эритропоэза).

2. Не соответствует критериям ВОЗ для диагностики хронического миелолейкоза, истинной полицитемии, миелодиспластического синдрома или других миелопролиферативных новообразований.

3. Обнаружение мутаций в генах *JAK2*, *CALR* или *MPL*.

Малые критерии:

1. Наличие клональных маркеров (например, аберрантного кариотипа) или отсутствие признаков реактивного фиброза костного мозга.

2. Наличие анемии или пальпируемой спленомегалии.

3. Наличие лейкоэритробластога периферической крови или повышение уровня лактатдегидрогеназы крови.

Для верификации диагноза «первичный миелофиброз» по вновь разработанным критериям требуется подтверждение 3 больших критериев или первого и второго больших критериев и всех 3 малых критериев [14].

Краеугольным камнем диагностики ПМФ является гистологическая оценка степени фиброза костного

мозга, проводить которую целесообразно по шкале Европейского консенсуса патоморфологов, представленной ниже [28]:

- MF-0 — редкие волокна ретикулина без пересечений, соответствующие нормальному костному мозгу;
- MF-1 — неплотная сеть ретикулина с множеством пересечений, особенно в периваскулярных зонах;
- MF-2 — диффузное увеличение плотности ретикулина с избыточными пересечениями, изредка с фокальными образованиями коллагена и/или фокальным остеосклерозом;
- MF-3 — диффузное увеличение плотности ретикулина с избыточными пересечениями с пучками коллагена, часто связанными со значительным остеосклерозом.

Микрофотографии костного мозга, соответствующие различным степеням миелофиброза, представлены на рис. 1.

В течении ПМФ выделяют 2 фазы: хроническую фазу и терминальную фазу бластной трансформации, или бластный криз. По гистологической характеристике в зависимости от степени выраженности фиброза костного мозга выделяют префибротическую и фиброзную стадии заболевания.

ПМФ может быть выявлен на любом этапе своего течения. Хроническая фаза является начальной стадией ПМФ и диагностируется у большинства (более 90 %) впервые выявленных больных. Наиболее часто встречающимися симптомами хронической фазы заболева-

ния являются повышение температуры тела, потеря массы тела, ночные поты, увеличение размеров селезенки и печени, лейкоцитоз, наличие нормобластов в периферической крови, сдвиг в лейкоцитарной формуле влево до молодых форм нейтрофилов [7, 25]. Диагностическим критерием бластного криза при ПМФ является наличие в периферической крови или в костном мозге $\geq 20\%$ бластных клеток.

Для изучения вероятной продолжительности жизни больных ПМФ в 2009 г. предложена Международная прогностическая система (International Prognostic Scoring System, IPSS) [29], включающая в себя факторы, достоверно влияющие на выживаемость больных: возраст, уровень гемоглобина, процент бластов в периферической крови и наличие симптомов опухолевой интоксикации. В прогностической системе используется балльная оценка, где каждому из признаков приписывается по 1 баллу. Международная прогностическая шкала (IPSS), позволяющая предсказать вероятную ОБ в момент постановки диагноза, представлена на рис. 2.

В 2010 г. система IPSS была модифицирована F. Passamonti et al., они присвоили 2 балла фактору уровня гемоглобина менее 100 г/л вместо 1 балла. Была также изменена классификация по группам риска соответственно баллам:

- 0 баллов — низкий риск;
- 1 или 2 балла — промежуточный-1;
- 3 или 4 — промежуточный-2;
- 5 или 6 баллов — высокий риск.

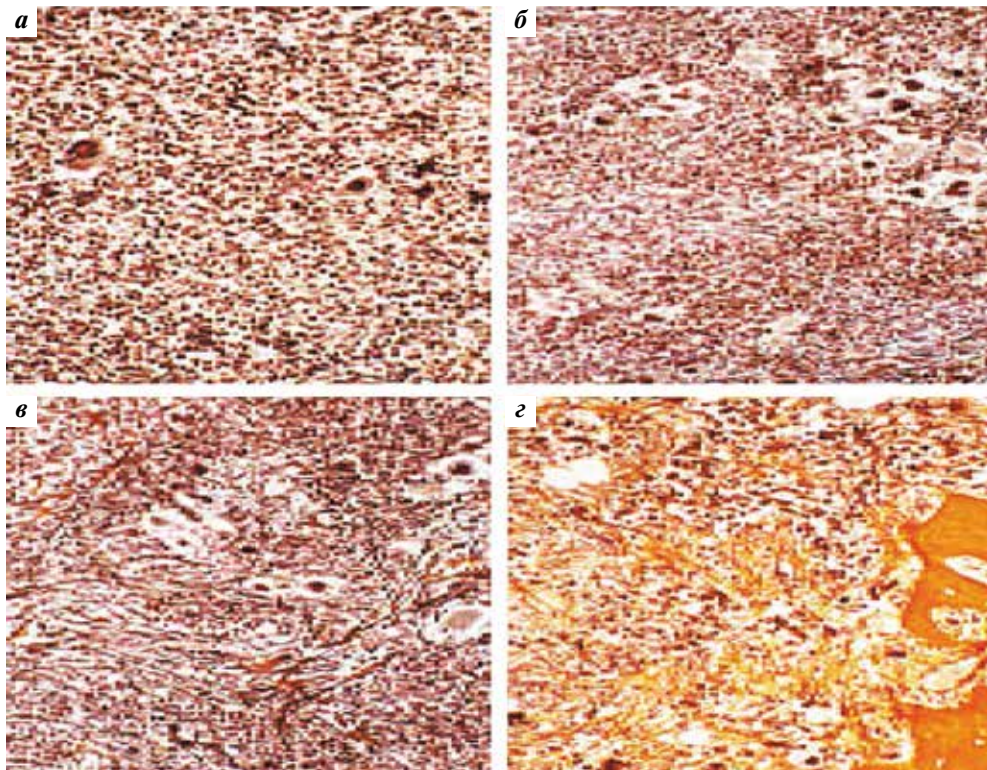


Рис. 1. Микрофотографии костного мозга, соответствующие различным степеням шкалы Европейского консенсуса патоморфологов (а — MF-0; б — MF-1; в — MF-2; г — MF-3). По J. Thiele et al. [28]

• International Prognostic Scoring System (IPSS)

- возраст > 65 лет
- гемоглобин > 100 г/л
- лейкоциты > $25 \times 10^9/\text{л}$
- бласты в периферической крови $\geq 1\%$
- симптомы опухолевой интоксикации (конституциональные)

0 – низкий	ОВ 11,3 года
1 – промежуточный-1	ОВ 7,9 года
2 – промежуточный-2	ОВ 4,0 года
≥ 3 – высокий	ОВ 2,3 года

Рис. 2. Определение групп риска ПМФ – система IPSS [29]

Модифицированная система Dynamic IPSS (DIPSS) способна предсказывать риск трансформации в любой момент подсчета, а не только при установлении диагноза [30].

Последующий анализ многоцентровых данных показал, что независимыми от IPSS и DIPSS прогностическими факторами выживаемости больных ПМФ также являются зависимость от гемотрансфузий [31], тромбоцитопения менее $100 \times 10^9/\text{л}$ [32] и цитогенетические аномалии (изолированные или 2 нарушения +8, 7/7q, i(17q), inv(3), 5/5q, 12p или перестройка 11q23, комплексный кариотип) [33]. С учетом этих данных N. Gangat et al. система стратификации была дополнена характеристикой кариотипа, уровнем тромбоцитов и трансфузионным статусом и апробирована на 793 пациентах [34]. Новая система стратификации, получившая наименование DIPSS+, позволила прогнозировать не только ОВ, но и время до фазы бластной трансформации. Вновь введенные дополнения к предыдущей системе IPSS представлены на рис. 3. Классификация по степени риска соответственно баллам по системе DIPSS+ следующая:

- 0 баллов – низкий риск;
- 1 балл – промежуточный-1;
- 2 или 3 балла – промежуточный-2;
- 4 балла или более – высокий риск.

Для облегчения подсчета в табл. 1 и 2 приведены системы IPSS, DIPSS и DIPSS+ с указанием балльной оценки признаков.

В связи с накоплением данных о прогностической роли молекулярно-генетических нарушений для выживаемости больных ПМФ, в 2014 г. была разработана Международная мутационная прогностическая шкала (Mutation-Enhanced International Prognostic Scoring System, MIPSS) [35]. Данная шкала обладает лучшей способностью по сравнению с предыдущими шкалами в определении ОВ и беспрогрессивной выживаемости при ПМФ. Методика определения прогноза по данной шкале и его результаты представлены в табл. 3 и 4.

• Dynamic International Prognostic Scoring System plus (DIPSS+)

- зависимость от гемотрансфузий
- тромбоцитопения < $100 \times 10^9/\text{л}$
- неблагоприятный кариотип (изолированные или 2 нарушения +8, 7/7q, inv(3), 5/5q, 12p или перестройка 11q23, комплексный кариотип)

0 – низкий	ОВ 15,4 года
1 – промежуточный-1	ОВ 6,5 года
2–3 – промежуточный-2	ОВ 2,9 года
≥ 4 – высокий	ОВ 1,3 года

Рис. 3. Группы риска ПМФ – система DIPSS+ (дополнения к системе IPSS) [34]

Таблица 1. Подсчет рисков по системам стратификации IPSS и DIPSS [30]

Признак	Количество баллов по системе стратификации риска	
	IPSS	DIPSS
Возраст старше 65 лет	1	1
Уровень гемоглобина < 100 г/л	1	2
Уровень лейкоцитов > $25 \times 10^9/\text{л}$	1	1
Бласты в периферической крови равны или составляют более 1 %	1	1
Наличие симптомов опухолевой интоксикации	1	1

Таблица 2. Подсчет риска по системе стратификации DIPSS+ [34]

Признак	Количество баллов по системе стратификации риска
Группа риска по DIPSS	
низкий	0
промежуточный-1	1
промежуточный-2	2
высокий	3
Зависимость от гемотрансфузий*	1
Уровень тромбоцитов < $100 \times 10^9/\text{л}$	1
Неблагоприятный кариотип (изолированные или 2 нарушения +8, 7/7q, i(17q), inv(3), 5/5q, 12p или перестройка 11q23, комплексный кариотип)	1

* – зависимость от гемотрансфузий определяется как наличие анемии, требующей трансфузии или переливания эритроцитосодержащих сред по поводу ПМФ в анамнезе.

Таблица 3. Подсчет риска по системе стратификации MIPSS [35]

Признак	Количество баллов по системе стратификации риска
Возраст старше 60 лет	1,5
Симптомы опухолевой интоксикации (конституциональные)	0,5
Гемоглобин < 100 г/л	0,5
Тромбоциты < 200 × 10 ⁹ /л	1,0
Тройной негативный статус (отсутствие мутаций в генах <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> , <i>MPL</i>)	1,5
Мутации в генах <i>JAK2</i> или <i>MPL</i>	0,5
Мутации в генах <i>ASXL1</i> или <i>SRSF2</i>	0,5

Таблица 4. Определение прогноза по системе стратификации MIPSS [35]

Риск по системе стратификации MIPSS	Количество баллов	Медиана ОВ, годы	Относительный риск смерти по отношению к группе низкого риска
Низкий	0–0,5	26,4	1,0
Промежуточный-1	1,0–1,5	9,7	4,7
Промежуточный-2	2,0–3,5	6,4	9,9
Высокий	4,0 и более	1,9	36,5

Данная шкала обладает самой высокой степенью предсказуемости, проста в подсчете. Обследование больного для определения риска по шкале MIPSS не требует инвазивных процедур — достаточно сбора анамнеза и взятия проб крови, при этом следует отметить, что пробы крови для молекулярно-генетического исследования могут храниться при температуре от +4 до +8 °С в течение длительного времени (до 2 нед), что облегчает их доставку для анализа.

Собственные данные

При написании статьи был проанализирован опыт диагностики и лечения 315 больных ПМФ, состоявших под наблюдением в Российском НИИ гематологии и трансфузиологии, в том числе 204 женщины и 111 мужчин (соотношение по полу — 2:1). Ежегодная первичная заболеваемость в Санкт-Петербурге колебалась от 0,72 до 1,56, в среднем 1,06 на 100 000 населения. Медиана возраста на момент установления диагноза составила 61,8 (16–83) года. Клинические проявления заболевания и их частота на момент установления диагноза представлены в табл. 5.

Распределение больных по степени выраженности фиброза костного мозга по результатам гистологического исследования трепанобиоптатов было следующим:

- 0 баллов — префибротическая стадия наблюдалась у 83 (26,7 %) больных;

Таблица 5. Клинические проявления ПМФ на момент диагностики заболевания

Симптомы	Частота, % (количество случаев)
Анемия	39,3 (124)
Лейкоцитоз	80 (252)
Тромбоцитоз	69,5 (219)
Лейкопения	4,4 (14)
Тромбоцитопения	10,2 (32)
Спленомегалия	71,4 (225)
Опухолевая интоксикация	33,3 (105)
Тромбозы	25,4 (80)
Портальная гипертензия	5,1 (16)
Кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода	1,6 (5)

- 1 балл — ретикулиновый фиброз у 63 (20,0 %) пациентов;
- 2 балла — очаговый коллагеновый фиброз у 94 (29,2 %) больных;
- 3 балла — диффузный коллагеновый фиброз у 75 (24,2 %) пациентов.

Цитогенетическое исследование клеток костного мозга было выполнено у 76 больных. Нормальный кариотип из них обнаружен у 55 (72,4 %); митозов не было получено у 6 (7,9 %) пациентов. Цитогенетические аномалии выявлены у 15 (19,7 %) больных. Характер генетических aberrаций был разнонаправленным, обнаруживались как структурные, так и количественные нарушения кариотипа. Комплексный кариотип при этом был выявлен у 2 больных.

Молекулярно-генетические исследования на наличие мутации *JAK2V617F* было выполнено у 69 больных. Мутация гена *JAK2V617F* была выявлена у 47 (68,1 %) пациентов.

Стратификация больных ПМФ по группам риска представлена в табл. 6.

Десятилетняя ОВ больных ПМФ составила 44,4 % с медианой 7,6 года. Прогрессирование болезни в фазу бластного криза за время наблюдения произошло у 18 (5,7 %) больных (медиана от постановки диагноза до бластной трансформации — 5,1 года).

Лечение больных первичным миелофиброзом

Целью терапии больных ПМФ является сдерживание прогрессирования заболевания и купирование его симптомов для улучшения качества жизни больных. Терапия хронической фазы ПМФ проводится, как правило, с помощью цитостатических лекарственных препаратов или препаратами интерферонов в виде монотерапии или их сочетанного использования. В фазе бластного криза лечение осуществляется по

Таблица 6. Распределение больных по группам риска по системам IPSS, DIPSS, DIPSS+

Система стратификации	Число больных, n (%) по группам риска			
	низкий	промежуточный-1	промежуточный-2	высокий
IPSS	85 (27,0)	121 (38,4)	45 (14,3)	64 (20,3)
DIPSS	85 (27,0)	147 (46,7)	58 (18,4)	25 (7,9)
DIPSS+	81 (25,7)	113 (35,9)	82 (26,0)	39 (12,4)

программам терапии острых лейкозов с учетом возраста и коморбидности больных. Для купирования анемии проводятся переливания эритроцитсодержащих сред. При наличии тромбоцитопении с риском развития жизнеугрожающих кровотечений прибегают к переливанию тромбоцитного концентрата. Лицам пожилого возраста с сердечно-сосудистыми заболеваниями должна проводиться соответствующая терапия. Инфекционные осложнения, часто возникающие на фоне лейкопении, требуют активной противомикробной терапии.

До окончания обследования при первоначальной постановке диагноза для коррекции лейкоцитоза и тромбоцитоза, особенно на фоне спленомегалии, используется гидроксикарбамид (Гидреа) в дозе 10–40 мг/кг/сут в зависимости от уровня лейкоцитов и тромбоцитов. После определения группы риска ПМФ должна применяться специальная адаптированная терапия [7, 8, 25, 36].

Основными факторами, влияющими на выбор варианта лечения, являются следующие:

- группа риска (по системам IPSS, DIPSS, DIPSS+, MIPSS);
- наличие и степень выраженности конституциональных симптомов и спленомегалии;
- возраст больного;
- наличие совместимых по системе HLA доноров и возможность выполнения аллогенной трансплантации костного мозга (алло-ТКМ) (гемопозитических стволовых клеток).

В общем виде рекомендуемый алгоритм лечения больных ПМФ приведен на рис. 4 [7, 36].

Следует учесть, что алло-ТКМ (гемопозитических стволовых клеток) с учетом возраста больных ПМФ, сопутствующих заболеваний и риска посттрансплантационной летальности может применяться у ограниченного числа пациентов, когда риск возникающих



Рис. 4. Алгоритм лечения больных ПМФ [7, 36]

осложнений меньше предполагаемого риска прогрессирования заболевания и вероятная продолжительность жизни может быть увеличена с помощью данного метода лечения.

Существенно ограничивают использование алло-ТКМ, которая остается единственным методом, позволяющим достичь полного гематологического, цитогенетического и молекулярного ответов, патогенетические особенности заболевания, связанные с поражением стромы костного мозга, обуславливающие плохое приживление трансплантата.

Медикаментозные препараты остаются основным средством лечения больных ПМФ. Данный вид терапии, хотя и не приводит к излечению, но, при правильном подходе, позволяет сдерживать прогрессирование заболевания и поддерживать качество жизни больных. Традиционными средствами, применяющимися для лечения ПМФ, являются цитостатики: гидроксикарбамид (гидреа), цитозар (цитарабин), меркаптопурин и др., которые назначаются, как правило, в качестве монотерапии в малых дозах, подобранных индивидуально с учетом эффективности и переносимости у каждого конкретного пациента. Так, гидроксимочевина назначается в дозе 10–40 мг/кг/сут, меркаптопурин — 1–2 мг/кг/сут, цитарабин — 10–20 мг/м²/сут 10–14 дней каждый месяц. Целью применения цитостатических средств является сдерживание пролиферации опухолевой ткани и контроль показателей крови [7].

Для лечения больных ПМФ используются также препараты интерферона альфа (альтевир, интрон А, реалдирон, роферон А, реаферон ЕС и др.), особенно у молодых пациентов. Наибольшая эффективность препаратов интерферона альфа наблюдается у больных в хронической фазе болезни. При бластном кризе ПМФ эффективность терапии указанными средствами не доказана. Сочетанные назначения цитостатических средств с препаратами интерферона альфа могут повысить эффективность и позволяют снизить дозы каждого препарата с улучшением переносимости [7].

С целью стимуляции эритропоэза, купирования анемии и уменьшения потребности в трансфузиях эритроцитов используются эритропоэзстимулирующие препараты (эритроestim, эпрекс, рекормон, аранесп и др.). Указанные средства используются с осторожностью, обусловленной предположениями о взаимодействии их с рецепторами опухолевых клеток, способствующих более быстрому прогрессированию опухоли и увеличению риска бластной трансформации. Препараты применяются в стандартных дозах 150 МЕ/кг 3 раза в неделю или 40 000 МЕ 1 раз в неделю с одинаковой эффективностью. Возможно также применение пролонгированных форм — дарбэпоэтин 500 мкг 1 раз в 3–4 нед. Общая эффективность введения эритропоэтинов составляет в среднем 56 % и длится около года. Вероятность ответа снижается при наличии трансфузионной зависимости и спленомегалии [37]. Уровень эн-

догенного эритропоэтина более 125 МЕ/л также предполагает низкую вероятность ответа.

Кортикостероидные гормональные препараты также используют при лечении больных ПМФ. Они имеют многогранный механизм действия в виде торможения межклеточной кооперации иммунной системы и снижения секреции цитокинов, уменьшения пролиферации фибробластов и образования соединительной ткани. Эти препараты модулируют обмен веществ с ограничением катаболизма, стимулируют апоптоз опухолевых клеток, уменьшают проявления аутоиммунизации к клеткам крови. Терапевтический эффект проявляется в виде быстрого (хотя нестойкого) уменьшения симптомов опухолевой интоксикации. Относительным противопоказанием к их применению является наличие сахарного диабета и остеопении [7].

В последние годы для лечения больных ПМФ используются иммуномодуляторы, к которым относятся талидомид, леналидомид и помалидомид. Из этой группы лечебных препаратов в Российской Федерации зарегистрирован только леналидомид (ревлидид). Механизм их действия основан на регуляции иммунной системы и блокировании ангиогенеза. Они способны также тормозить продукцию факторов некроза опухоли альфа и бета, других цитокинов (IL-1 бета, IL-6, IL-12, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор). Таким образом, предполагаемым механизмом их действия является торможение активности цитокиновых сигнальных путей. Иммуномодуляторы применяются как в виде монотерапии [8, 36], так и в комбинации с кортикостероидами. При монотерапии леналидомид используется в дозе 10–25 мг ежедневно постоянно в течение 21 дня 25-дневного цикла. Его комбинация с дексаметазоном или преднизолоном повышает эффективность лечения и снижает токсичность. Доза преднизолона — 0,5 мг/кг/сут или 15–30 мг/сут с постепенным уменьшением до минимально эффективной [24]. Использование леналидомида наиболее эффективно при наличии делеции 5q, анемии и спленомегалии [36]. Наиболее частыми гематологическими осложнениями использования ревлимида являются развитие нейтропении и тромбоцитопении. С учетом повышенного риска тромбозов при лечении иммуномодуляторами показан профилактический прием доз ацетилсалициловой кислоты. Применение препаратов-иммуномодуляторов категорически запрещается женщинам детородного возраста без адекватной контрацепции.

Арсенал лекарственных препаратов, используемых при лечении больных ПМФ, постоянно пополняется. Так, большие перспективы улучшения выживаемости и качества жизни больных связаны с недавно разработанными ингибиторами янускиназ — медикаментами, блокирующими активность JAK2-киназы. Данные лекарственные средства — первые препараты прицельного таргетного действия, направленные на ключевое звено патогенеза ПМФ — сигнальный путь JAK-STAT.

Эти препараты влияют и на мутантный (*JAK2V617F*) и на «дикий» тип *JAK*-киназ, что делает их эффективными и при лечении больных ПМФ с негативной мутацией *JAK2V617F* [38]. В России для лечения пациентов с ПМФ и миелофиброзом, развившимся на фоне истинной полицитемии (постполицитемическим) и эссенциальной тромбоцитемии (посттромбоцитемическим), зарегистрирован и разрешен к применению препарат Джакави (руксолитиниб) компании «Новартис Фарма». Рекомендуемая начальная доза Джакави составляет 15 мг 2 раза в день для пациентов с количеством тромбоцитов $100\text{--}200 \times 10^9/\text{л}$ и 20 мг 2 раза в день для пациентов с уровнем тромбоцитов $> 200 \times 10^9/\text{л}$. Максимальная доза составляет 25 мг 2 раза в день внутрь.

В двух международных многоцентровых рандомизированных клинических исследованиях COMFORT-I и COMFORT-II сравнения эффективности руксолитиниба с плацебо и стандартной клинической практикой было показано значительное преимущество руксолитиниба. У подавляющего большинства (97 %) больных ПМФ размеры селезенки уменьшились, целевое уменьшение объема селезенки на 35 % было достигнуто у 28–41,9 % пациентов, данный эффект оказался стойким у большинства больных. Также у практически всех исследуемых было достигнуто существенное уменьшение выраженности симптомов, прибавка массы тела, улучшение физической активности. У значительной части пациентов произошла нормализация количества лейкоцитов и тромбоцитов. Основным результатом исследований было уменьшение риска летального исхода при лечении руксолитинибом в 2 раза по сравнению как с плацебо, так и со стандартной клинической практикой [38–40]. Несмотря на высокую стоимость значительное преимущество в эффективности позволяет руксолитинибу превосходить традиционную терапию по показателям «стоимость — полезность» и «стоимость — эффективность» [41].

Несмотря на успехи, достигнутые при применении иммуномодуляторов и ингибиторов янускиназ, алло-ТГСК остается единственным методом, позволяющим достичь полного гематологического ответа. Существенным ограничением возможностей применения данного метода, как уже было отмечено выше, являются:

- патогенетические особенности заболевания, связанные с поражением стромы костного мозга, обуславливающие плохое приживление трансплантата;
- пожилой возраст значительной части больных;
- общая медиана длительности жизни пациентов при медикаментозном лечении сравнима с медианой выживаемости при алло-ТКМ.

Проведение алло-ТКМ может быть рекомендовано больным ПМФ промежуточного-2 и высокого риска по системам IPSS и DIPSS+ преимущественно молодого возраста при длительности заболевания не более 1–2 лет [7, 8, 25, 36].

При массивной спленомегалии с синдромом гиперспленизма, компрессией внутренних органов и сосудов и недостаточном эффекте медикаментозной терапии, нарастающей кахексии показана спленэктомия [2, 42].

У большинства больных после спленэктомии происходит уменьшение конституциональных симптомов и выраженности цитопении. ОВ пациентов после спленэктомии составляет около 2 лет и не влияет на общую продолжительность жизни больных ПМФ, при этом тромбоцитопения до спленэктомии является фактором, негативно влияющим на продолжительность жизни. Послеоперационная летальность достигает 5–10 %. Наиболее частым осложнением в послеоперационном периоде является тромбоз абдоминальных вен, кровотечения и инфекции, которые возникают у 30–50 % пациентов [43].

Длительное увеличение размеров печени и селезенки с очагами экстрамедуллярного кроветворения нередко приводит к развитию портальной гипертензии. Для профилактики жизненно опасных кровотечений из варикозно расширенных вен пищевода и желудка прибегают к хирургическим вмешательствам с целью наложения портальных анастомозов, снижающих портальную гипертензию. При выраженной спленомегалии применяется также лучевая терапия [8, 25].

Среди средств сопроводительной терапии чаще всего используются переливания компонентов крови. Трансфузии эритроцитов показаны при наличии анемического синдрома с уровнем гемоглобина 70 г/л и ниже, а при анемии на фоне сердечно-сосудистых заболеваний — 90 г/л. Неотложным показанием к переливанию концентрата тромбоцитов является уровень кровяных пластинок $10\text{--}20 \times 10^9/\text{л}$, особенно при фебрильной лихорадке, геморрагическом синдроме, инфекционных осложнениях. Внедрение эритропоэстимулирующих препаратов в последние годы привело к снижению объема гемотрансфузий при лечении больных ПМФ [7].

Применение трансфузий эритроцитов, оказывающих быстрый лечебный эффект, ведет к депонированию железа в печени, костном мозге и в других органах. После 20–25 переливаний эритроцитов, как правило, развивается вторичный гемосидероз с интерстициальным накоплением железа в органах и тканях. Перегрузка железом может быть скорректирована хелатерной терапией деферазироксом. Деферазирокс (эксиджад) назначается внутрь 1 раз в сутки, натощак, за 30 мин до еды в суточной дозе 20 мг/кг массы тела. Уменьшение гемосидероза костного мозга может улучшить и гемопоэз [7, 8, 36].

Лечение подавляющего большинства из 315 больных, наблюдавшихся в РосНИИГТ, проводилось с использованием монотерапии. Так, у 258 (81,9 %) пациентов применялась гидроксимочевина, у 66 (21,0 %) — препараты интерферона, кортикостероидные гормональные препараты — у 35 (1,1 %) больных. Спленэктомия выполнена у 10 (3,2 %) больных, а на-

ложение портокавальных анастомозов у 1 пациентки. Алло-ТКМ была выполнена у 1 больной [9].

Заключение

Представления о патогенезе ПМФ, диагностические и терапевтические возможности оказания помощи больным ПМФ в настоящее время качественно расширились. В диагностическом отношении следует подчеркнуть, что ПМФ до настоящего времени является тяжелым заболеванием с прогрессирующим увеличением опухолевой массы, развитием симптомов интоксикации (конституциональных симптомов) и очагов экстрамедуллярного кроветворения в печени, селезенке и других органах. В последние годы достигнуты значительные успехи в расшифровке молекулярно-генетических механизмов патогенеза ПМФ, в установлении роли JAK-STAT сигнального пути цитокинового каскада в становлении и развитии заболевания. Создана международная унифицированная система

критериев диагностики, прогноза, мониторинга и оценки ответа на лечение. В течении ПМФ выделяют хроническую фазу и фазу бластного криза, отражающие степень прогрессирования заболевания. Для определения прогноза и терапевтической тактики используются системы стратификации больных по группам риска — IPSS, DIPSS и DIPSS+. Существующие методы лечения ПМФ направлены на сдерживание прогрессирования заболевания, профилактику осложнений и купирование его проявлений. Вместе с тем в практику терапии ПМФ внедряются новые инновационные лекарственные препараты — иммуномодуляторы и ингибиторы янускиназ. Последние обладают таргетным, прицельным механизмом действия, направленным на коррекцию ключевого звена патогенеза ПМФ — сигнальный путь JAK2-STAT. Это дает основание надеяться на значительное повышение результатов лечения опухолевого процесса с повышением продолжительности и качества жизни больных ПМФ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Heuck G. Fälle von Leukämie mit eigenthümlichem Blut-resp Knochenmarksbefund. Virchows Arch (Pathol Anat) 1879;78.
2. Mesa R.A. How I treat symptomatic splenomegaly in patients with myelofibrosis. Blood 2009;113(22):5394–400.
3. Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes. Blood 1951;6(4):372–5.
4. Абдулкадыров К.М., Блинов М.Н., Щербак Е.Г. и др. Дифференциальная диагностика идиопатического миелофиброза и хронического миелолейкоза. Л., 1985. 26 с. [Abdulkadyrov K.M., Shcherbakova E.G. et al. Differential diagnosis of idiopathic myelofibrosis and chronic myeloid leukemia. L., 1985. 26 pp. (In Russ.)].
5. Абдулкадыров К.М. Клиническая гематология: справочник. СПб.: Питер-Принт СПб, 2006. 447 с. [Abdulkadyrov K.M. Clinical hematology: a handbook. St. Petersburg: Piter-Print SPb, 2006. 447 pp. (In Russ.)].
6. Абдулкадыров К.М. Хронический лейкоз-ретикулоз (некоторые вопросы патогенеза, клиники и лечения). Автореф. Дис. ... д-ра мед. наук. Л., 1973. 35 с. [Abdulkadyrov K.M. Chronic leukemia-reticulosis (some questions of pathogenesis, clinical picture and treatment). Dissert. D. Sci. L., 1973. 35 pp. (In Russ.)].
7. Абдулкадыров К.М., Шуваев В.А., Мартынкевич И.С. Критерии диагностики и современные методы лечения первичного миелофиброза. Вестник гематологии 2013;9(3):44–78. [Abdulkadyrov K.M., Shuvaev V.A., Martynkevich I.S. Diagnostic criteria and current treatment of primary myelofibrosis. Vestnik gematologii = Bulletin of Hematology 2013;9(3):44–78. (In Russ.)].
8. Vannucchi A.M. Management of myelofibrosis. ASH Education Program Book 2011;2011(1):222–30.
9. Shuvaev V., Abdulkadyrova A., Udaleva V. et al. Primary myelofibrosis — a survey based on the 20-years' experience of a single center. Haematologica 2013;98(Suppl. 1, June 2013):624.
10. Rollison D.E., Howlader N., Smith M.T. et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001–2004, using data from the NAACCR and SEER programs. Blood 2008;112(1):45–52.
11. Levine R.L., Wadleigh M., Cools J. et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. Cancer Cell;7(4):387–97.
12. Marty M.C. Critical review of pathogenetic mechanisms in myelofibrosis with myeloid metaplasia. Curr Hematol Rep 2003;2(3):257–63.
13. Vannucchi A.M., Guglielmelli P. Molecular pathophysiology of Philadelphia-negative myeloproliferative disorders: beyond JAK2 and MPL mutations. Haematologica 2008;93(7):972–6.
14. Tefferi A., Thiele J., Vannucchi A.M., Barbui T. An overview on CALR and CSF3R mutations and a proposal for revision of WHO diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms. Leukemia 2014;28(7):1407–13.
15. Tefferi A., Solberg L.A., Silverstein M.N. A clinical update in polycythemia vera and essential thrombocythemia. Am J Med 2000;109(2):141–9.
16. Klampfl T., Gisslinger H., Harutyunyan A.S. et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. N Engl J Med 2013;369(25):2379–90.
17. Nangalia J., Massie C.E., Baxter E.J. et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. N Engl J Med 2013;369(25):2391–405.
18. Tefferi A. Pathogenesis of myelofibrosis with myeloid metaplasia. J Clin Oncol 2005;23(33):8520–30.
19. Cho S.Y., Xu M., Roboz J. et al. The Effect of CXCL12 processing on CD34+ cell migration in myeloproliferative neoplasms. Cancer Res 2010;70(8):3402–10.
20. Schmitt A., Jouault H., Guichard J. et al. Pathologic interaction between megakaryocytes and polymorphonuclear leukocytes in myelofibrosis. Blood 2000;96(4):1342–7.
21. Massa M., Rosti V., Ramajoli I. et al. Circulating CD34+, CD133+, and vascular endothelial growth factor receptor 2 — positive endothelial progenitor cells in myelofibrosis with myeloid metaplasia. J Clin Oncol 2005;23(24):5688–95.
22. Verstovsek S., Kantarjian H., Mesa R.A. et al. Safety and efficacy of INCB018424, a JAK1 and JAK2 inhibitor, in myelofibrosis. N Engl J Med 2010;363(12):1117–27.
23. Tefferi A., Vaidya R., Caramazza D. et al. Circulating interleukin(IL) — 8, IL-2R, IL-12, and IL-15 levels are independently

prognostic in primary myelofibrosis: a comprehensive cytokine profiling study. *J Clin Oncol* 2011;29(10):1356–63.

24. Barbui T., Barosi G., Birgegard G. et al. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 2011;29(6):761–70.
25. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2013 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2013;88(2):141–50.
26. Tefferi A., Thiele J., Orazi A. et al. Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood* 2007;110(4):1092–7.
27. Vardiman J.W., Thiele J., Arber D.A. et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009;114(5):937–51.
28. Thiele J., Kvasnicka H.M., Facchetti F. et al. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica* 2005;90(8):1128–32.
29. Cervantes F., Dupriez B., Pereira A. et al. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 2008;113(13):2895–901.
30. Passamonti F., Cervantes F., Vannucchi A.M. et al. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood* 2009;115(9):1703–8.

31. Tefferi A., Siragusa S., Hussein K. et al. Transfusion-dependency at presentation and its acquisition in the first year of diagnosis are both equally detrimental for survival in primary myelofibrosis – prognostic relevance is independent of IPSS or karyotype. *Am J Hematol* 2010;85(1):14–7.
32. Patnaik M.M., Caramazza D., Gangat N. et al. Age and platelet count are IPSS-independent prognostic factors in young patients with primary myelofibrosis and complement IPSS in predicting very long or very short survival. *Eur J Haematol* 2010;84(2):105–8.
33. Hussein K., Pardanani A.D., Van Dyke D.L. et al. International Prognostic Scoring System – independent cytogenetic risk categorization in primary myelofibrosis. *Blood* 2009;115(3):496–9.
34. Gangat N., Caramazza D., Vaidya R. et al. DIPSS plus: a refined dynamic international prognostic scoring system for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. *J Clin Oncol* 2011;29(4):392–7.
35. Vannucchi A.M., Guglielmelli P., Rotunno G. et al. Mutation-Enhanced International Prognostic Scoring System (MIPSS) for primary myelofibrosis: an AGIMM & IWG-MRT project. *Blood* 2014;(56th ASH Annual Meeting and Exposition, San-Francisco, December 6–9, 2014):P405.
36. Tefferi A. How I treat myelofibrosis. *Blood* 2011;117(13):3494–504.
37. Huang J., Tefferi A. Erythropoiesis stimulating agents have limited therapeutic activity in transfusion-dependent patients with primary myelofibrosis regardless of serum erythropoietin level. *Eur J Haematol* 2009;83(2):154–5.
38. Yacoub A., Odenike O., Verstovsek S. Ruxolitinib: long-term management

- of patients with myelofibrosis and future directions in the treatment of myeloproliferative neoplasms. *Curr Hematol Malig Rep* 2014;9(4):350–9.
39. Cervantes F., Vannucchi A.M., Kiladjian J.-J. et al. Three-year efficacy, safety, and survival findings from COMFORT-II, a phase 3 study comparing ruxolitinib with best available therapy for myelofibrosis. *Blood* 2013;122(25):4047–53.
 40. Verstovsek S., Mesa R.A., Gotlib J. et al. A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis. *N Engl J Med* 2012;366(9):799–807.
 41. Шуваев В.А., Мартынкевич И.С., Абдулкадыров К.М. Клинические и экономические преимущества применения руксолитиниба по сравнению с традиционной терапией при лечении миелофиброза. Практическая фармакоэкономика. Том II. Онкология, онкогематология, психоневрология, ревматология, гинекология, бронхопульмонология, гастроэнтерология, трансплантология (научный сборник). М.: Фарм Медиа, 2013. С. 77–92. [Shuvaev V.A., Martynkevich I.S., Abdulkadyrov K.M. Clinical and economic advantages of ruxolitinib usage compared with traditional myelofibrosis therapy. Practical pharmacoeconomics. Volume II. Oncology, oncohematology, neurology, rheumatology, gynecology, pulmonology, gastroenterology, transplantation (scientific book). М.: Farm Media, 2013. Pp. 77–92 (In Russ.)].
 42. Quintás-Cardama A., Verstovsek S. Spleen deflation and beyond: The pros and cons of Janus kinase 2 inhibitor therapy for patients with myeloproliferative neoplasms. *Cancer* 2012;118(4):870–7.
 43. Kassam D., Thomas E.J. Morbidity and mortality of incidental splenectomy. *Can J Surg* 1977;20:209–14.

Профилактика нейтропении при химиотерапии миелостимуляторами пролонгированного действия

В. В. Птушкин¹⁻³, Н. В. Жуков^{1, 3}, В. И. Борисов⁴, С. В. Миненко², Ю. В. Ларина¹

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117198, Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С. П. Боткина» Департамента здравоохранения г. Москвы; Россия, 125284, Москва, 2-й Боткинский проезд, 5;

³ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1;

⁴ГБУЗ «Онкологический клинический диспансер № 1» Департамента здравоохранения г. Москвы; Россия, 105005, Москва, ул. Бауманская, 17/1

Контакты: Вадим Вадимович Птушкин vadimvadim@inbox.ru

Нейтропения и связанная с ней инфекция, приводящая к необходимости госпитализации и назначения антибиотиков, оказывает негативное влияние на проведение химиотерапии (ХТ). Необходимость сокращать дозы цитостатиков при развитии нейтропении приводит к снижению выживаемости у пациентов с гемобластомами и солидными новообразованиями. Начиная с 1990-х годов в клинике широко используются миелоцитокины — белки, ускоряющие восстановление нейтрофильного ростка гемопоэза после цитостатической ХТ и снижающие риск инфекции. Применение этих препаратов позволяет поддерживать запланированную дозоинтенсивность ХТ и повышает эффективность лечения. К недостаткам препаратов данной группы относилась необходимость их ежедневного парентерального введения на протяжении 7–10 дней. Разработка пролонгированных форм миелоцитокинов (пэгфилграстим и липэпфилграстим) решила эту проблему. Саморегулируемый клиренс миелоцитокинов пролонгированного действия позволил назначать их только 1 раз на курс ХТ. В наш анализ были включены результаты применения пэгфилграстима у 25 больных с гемобластомами (8 пациентов) и солидными новообразованиями (17 пациентов). Пролонгированный миелоцитокин показал высокую эффективность при вторичной профилактике нейтропении и инфекции, снизив ее риск на 82 %. У 8 больных раком молочной железы (РМЖ) однократное применение пэгфилграстима позволило безопасно провести дозоинтенсивную ХТ с укороченными интервалами между курсами (АС (доксорубицин, циклофосфамид) с интервалом 14 дней). Переносимость лечения была хорошей, случаев гиперлейкоцитоза отмечено не было. Недавно в Европе и Российской Федерации был зарегистрирован новый препарат группы пролонгированных миелоцитокинов — липэпфилграстим. Результаты 2 контролируемых исследований у пациентов с РМЖ (n = 410), получающих ХТ доксорубицином/доцетакселом, показали высокую эффективность препарата, не уступающую эффективности пэгфилграстима при сопоставимой переносимости.

Ключевые слова: химиотерапия, дозоинтенсивность, токсичность, нейтропения, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, пэгфилграстим, липэпфилграстим, Лонквекс®

DOI: 10.17650/1818-8346-2015-10-2-37-45

Prevention of neutropenia during chemotherapy by prolonged myelostimulatory preparations

V. V. Ptuskin¹⁻³, N. V. Zhukov^{1, 3}, V. I. Borisov⁴, S. V. Minenko², Yu. V. Larina¹

¹Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitriy Rogachev, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow, 117198, Russia;

²S. P. Botkin City Clinical Hospital; 5, 2nd Botkinskiy Pr-d, Moscow, 125284, Russia;

³N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow, 117997, Russia;

⁴Clinical Oncological Dispensary № 1, Moscow Healthcare Department; 17/1 Baumanskaya St., Moscow, 105005, Russia

Neutropenia and associated infection, resulting in hospitalization and use of antibiotics, has a negative effect on chemotherapy. The need to reduce the dose of cytotoxic drugs during neutropenia leads to lower survival rates in patients with hematological malignancies and solid tumors. Since 1990s myelocytokines — proteins that accelerate neutrophil recovery after cytostatic chemotherapy and reduce the risk of infection — is widely used in the clinical practice. The use of these drugs can support the planned dose intensity of chemotherapy and improves the treatment efficacy. The disadvantages of these drugs include the need for their daily parenteral administration for 7–10 days. The development of long-acting forms (pegfilgrastim and lippegfilgrastim) has solved this problem. Self-regulating clearance of prolonged forms allowed to use them only once on a chemotherapy course. Results of pegfilgrastim administration in 25 patients with hematological malignancies (8 patients) and solid tumors (17 patients) included in our analysis. Prolonged preparation showed high efficacy in secondary prophylaxis of neutropenia and infection decreasing the risk by 82 %. The single administration of pegfilgrastim allowed safe dose intensity chemotherapy with shorter intervals between courses (AC-14) in 8 patients with breast cancer. Tolerability was good; cases of hyperleukocytosis have not been reported. Recently in Europe and the Russian Federation a new drug from prolonged myelocytokine group — lippegfilgrastim — has been registered. The results of two controlled trials in patients with breast cancer (n = 410) receiving doxorubicin/docetaxel showed high efficacy of the drug as the pegfilgrastim with comparable tolerability.

Key words: chemotherapy, dose intensity, toxicity, neutropenia, granulocyte colony stimulating factor, pegfilgrastim, lippegfilgrastim, Lonkvex®

Пациенты, получающие миелосупрессивную химиотерапию (ХТ), имеют риск развития нейтропении и последующей инфекции (фебрильной нейтропении (ФН)). Критерием диагноза ФН является лихорадка (однократный подъем температуры $\geq 38,3^\circ\text{C}$ или $\geq 38,0^\circ\text{C}$ в течение > 1 ч) при нейтропении III или IV степени (абсолютное число нейтрофилов $< 1,0$ или $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$). Развитие ФН связано с ухудшением состояния пациента и повышением риска смертности, как правило, требует госпитализации и лечения антибиотиками, тем самым значительно увеличивая стоимость лечения [1–5] и снижая качество жизни больных. В исследовании Н. Кудерер и соавт. было показано, что смертность пациентов, госпитализированных в связи с ФН, составляет почти 10 % [2]. Существенны и дополнительные затраты на лечение. По данным ряда исследований, в 1989–2007 гг. число госпитализаций, связанных с развитием нейтропении у онкологических больных, в США колебалось в диапазоне 57000–103000 случаев в год [6]. При использовании данных 1995–2000 гг. средняя стоимость госпитализации в связи с ФН составляла 12372 доллара для пациентов с раком молочной железы (РМЖ), 18437 долларов для больных лимфомами и 38583 доллара для больных лейкозами [2]. В более позднем исследовании, анализировавшем затраты на лечение онкологических больных в 2005–2008 гг., было установлено, что стоимость госпитализации составила 18042 доллара для онкологических больных с глубокой нейтропенией, 22839 долларов для больных с нейтропенией и лихорадкой (ФН) и 27587 долларов для пациентов с нейтропенией и клиническими признаками инфекции (пневмония, отит и др.) [7]. Очевидно, что нейтропенические осложнения у больных, получающих ХТ, представляют собой значительную медицинскую и финансовую проблему.

Чтобы уменьшить риск подобных осложнений, врачи-химиотерапевты нередко снижают расчетные дозы препаратов. В нескольких исследованиях было показано, что в США и Австралии к подобной практике прибегает большая часть онкологов [8, 9]. В одном из масштабных исследований был проведен анализ реальных доз химиопрепаратов, полученных более чем 20000 пациентов с ранними стадиями РМЖ в практике онкологов США [8]. Основная цель исследования заключалась в оценке относительной дозовой интенсивности (ОДИ; отношение реальной дозы цитостатиков, полученных в единицу времени, к расчетной идеальной дозе) с определением доли больных, получивших менее 85 %. Вторая цель авторов заключалась в выявлении факторов, влияющих на снижение ОДИ, которые могли бы в последующем быть скорректированы. Данные были собраны ретроспективно на всей территории США путем общенационального опроса 1243 врачей-онкологов. Средний возраст пациентов в исследовании составил 52 года (от 11 до 90 лет), причем возраст 1/5 больных на момент постановки диаг-

ноза превышал 65 лет. Большинство пациенток (96 %) получили 1 из 5 общих схем ХТ: 14-дневная схема АС (доксорубицин, циклофосфамид), CMF (циклофосфамид, метотрексат, 5-фторурацил) – 21- и 28-дневные схемы и CAF (доксорубицин, циклофосфамид, 5-фторурацил) – 21- и 28-дневные схемы.

Средний показатель и медиана ОДИ составили 0,794 и 0,819 соответственно. У 41 % больных решение об уменьшении дозы было принято перед началом лечения, в то время как у остальных пациентов (59 %) снижение было незапланированным. Снижение дозы ≥ 15 % наблюдалось у 37 % больных, в то время как задержка ≥ 7 дней была отмечена у 25 % пациентов. В результате 56 % больных получили менее 85 % плановой дозоинтенсивности. При этом две трети пациентов старше 65 лет получили опасно сниженные дозы цитостатиков, т. е. дозоинтенсивность была ниже 85 % [8]. Плановое снижение ОДИ, чаще проводили пациентам, получавшим 28-дневные курсы CAF либо CMF. Пациентам, получавшим схемы CAF, чаще сокращали запланированное количество циклов лечения. Доля пациентов, получающих менее 85 % ОДИ, среди получавших режимы АС составила 65 %. Пожилые пациенты и пациенты с избыточной массой тела чаще получали ОДИ менее 85 % ($p < 0,0001$). Первичная профилактика миелоидными колониестимулирующими факторами (КСФ) статистически значимо ассоциировалась с повышением ОДИ ($p = 0,001$) [8].

Таким образом, полученные авторами данные свидетельствуют о том, что почти у двух третей пациентов имело место существенное снижение ОДИ ХТ. Подобные наблюдения вызывают озабоченность в связи с накоплением доказательств, подтверждающих важность поддержания полной стандартной дозы цитостатиков для пациентов с химиочувствительными и потенциально излечимыми злокачественными опухолями, такими как лимфомы, ранний РМЖ (не метастатический), герминогенные опухоли. По данным метаанализа международной исследовательской группы по анализу эффективности адъювантной ХТ при РМЖ (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group), проведение адъювантной ХТ при ранних стадиях РМЖ позволяет снизить годовой риск рецидива и смерти у пациентов в возрасте до 70 лет на 23,5 и 14,3 % [10]. Принципиально важным при адъювантной ХТ раннего РМЖ является поддержание полной запланированной дозоинтенсивности. Результаты отдельных исследований и метаанализов свидетельствуют о том, что существует порог ОДИ, снижение которого существенно ухудшает или даже полностью нивелирует положительный клинический эффект ХТ [10–13]. В 2 крупных исследованиях Дж. Бонадонна и соавт. было показано, что при медиане наблюдения 20 и 30 лет пациенты, получавшие адъювантную ХТ, имели значительно лучшие показатели безрецидивной выживаемости (относительный риск рецидива – 0,71; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,56–0,90; $p = 0,004$ и скорректирован-

ный относительный риск — 0,65; 95 % ДИ 0,51–0,83; $p < 0,001$) и общей выживаемости (ОВ) (относительный риск смерти — 0,78; 95 % ДИ 0,62–0,99; $p = 0,04$ и скорректированный относительный риск — 0,76; 95 % ДИ 0,60–0,97; $p = 0,03$) [14, 15]. При этом поддержание ОДИ в интервале 65–84 %, т. е. ниже 85 %, к 10-му году после лечения коррелировало со снижением ОВ практически на 20 % по сравнению с больными, получившими ХТ с ОДИ выше 85 %. Адьювантная ХТ с ОДИ ниже 65 % практически не оказывала позитивного влияния на исход лечения.

В крупном клиническом исследовании CALGB 8541 у пациентов с операбельным РМЖ Д. Будман и соавт. [16] после периода наблюдения в 9 лет показали, что выживаемость без признаков заболевания и ОВ были выше у пациентов, получивших режим САФ с большей ОДИ. К. Майерс и соавт. [17] показали тенденцию к улучшению результатов лечения у пациентов, получавших СМФ, при развитии более глубокой миелосупрессии во время лечения, что косвенно отражает большую интенсивность терапии. В последние годы значительно чаще стали применяться режимы адьювантной ХТ РМЖ, включающие таксаны и трастузумаб — моноклональное антитело к рецептору эпидермального фактора роста на мембране клеток РМЖ. Эти режимы могут оказывать большее миелосупрессивное действие в сравнении с традиционными режимами САФ и АС. В работе Р. Бретцель и соавт. [18] было подтверждено, что максимальное снижение ОДИ ХТ характерно для режимов с доцетакселом и паклитакселом (доцетаксел/циклофосфамид/трастузумаб, АС-паклитаксел/трастузумаб), а также для режимов с укороченными интервалами (АС-14, АС-паклитаксел). Самыми частыми причинами снижения доз препаратов и увеличения интервалов между курсами были нейтропения и недисциплинированное отношение к лечению пациентов. Значительное снижение ОДИ в исследовании отмечено для каждого 8-го пациента. Авторы отмечают, что успеха при поддержании плановой дозоинтенсивности они добились, проводя скрининг факторов риска нейтропии и инфекции перед ХТ с целью раннего назначения миелоцитокинов. Уменьшение ОДИ вызывает особую озабоченность у пожилых пациентов, у которых чаще развивается нейтропения [19, 20], что, в свою очередь, приводит к более тяжелым клиническим последствиям, таким как инфекция. Было показано, что у пожилых женщин с РМЖ чаще, чем у молодых, имеет место снижение ОДИ лечения [21], несмотря на тот факт, что они в равной степени с более молодыми выигрывают в показателях выживаемости от проведения адьювантной ХТ [22]. Это делает особенно актуальным применение стратегий, направленных на поддержание стандартной ОДИ в данной группе пациентов, в частности, использование миелоидных КСФ.

Сходным образом обстоят дела и в гематологии. По различным данным, до 73 % больных неходжкин-

скими лимфомами (НХЛ) получали отсрочку очередного введения цитостатиков на 7 и более дней в связи с нейтропенией. В еще большей степени эти факты характерны для лечения пожилых пациентов. В ряде исследований было показано, что больные лимфомами в возрасте старше 60 лет, а особенно старше 70 лет, имеют значительно более высокий риск развития нейтропии и тяжелой инфекции при проведении курсов ХТ средней интенсивности типа СНОР в сравнении с молодыми пациентами. Так, в одной из работ на материале 577 больных НХЛ было показано, что возраст старше 65 лет ассоциируется с более высокой необходимостью госпитализаций для лечения ФН (28 % против 16 %; $p < 0,05$) и снижением ОДИ лечения менее 80 % (33 % против 15 %; $p < 0,05$) [23]. В анализе Р. Эпельбаум и соавт. было показано, что снижение ОДИ менее 70 % у пациентов с диффузной крупноклеточной лимфомой ассоциируется с существенно меньшей 5-летней ОВ (80 % против 30 %; $p = 0,00001$) [24]. Даже относительно незначительное снижение ОДИ на 10 % негативно влияет на показатели ОВ пациентов с этим вариантом лимфопрлиферации. В исследовании Р. Петтенджел и соавт. отношение рисков погибнуть в группе больных с ОДИ менее 90 % было в 1,8 раза выше, чем в группе пациентов, получивших лечение с дозовой интенсивностью ХТ выше 90 % от расчетной [25]. Таким образом, сокращение ОДИ может поставить под угрозу долговременные результаты ХТ. В настоящее время большинство врачей стараются придерживаться принятого критерия Дж. Бонадонна и соавт. [15], показавших, что ОДИ менее 85 % запланированной является критической и ведет к значимому снижению результатов лечения.

Основным методом предотвращения развития или сокращения длительности глубокой нейтропии после цитостатической ХТ является назначение миелоцитокинов — белков, специфически стимулирующих клетки-предшественники гемопоэза миелоидной направленности и ускоряющих продукцию нормальных нейтрофилов. Применение этих белков (гранулоцитарного (Г-КСФ) и гранулоцитарно-макрофагального факторов роста (ГМ-КСФ)) стало широко использоваться при лечении цитостатиками с начала 1990-х годов после появления их рекомбинантных форм. Клинические исследования подтвердили тот факт, что миелоцитокины снижают длительность и глубину нейтропии после ХТ. В 2 самых крупных из них, использовавших Г-КСФ (филграстим) после интенсивной ХТ доксорубицином, циклофосфамидом и этопозидом у 328 больных мелкоклеточным раком легких, было показано достоверное снижение частоты развития ФН во время первого курса (с 57 до 28 %; $p < 0,001$). Защитное действие Г-КСФ сохранялось на всех последующих курсах ХТ и позволило суммарно в 2,8 раза (американское исследование) и в 2,1 раза (европейское исследование) уменьшить число больных ФН по сравнению с контрольной группой [26, 27]. Необходимость в по-

вторных госпитализациях и потребность в антибиотикотерапии в группе пациентов, получавших Г-КСФ, также снизилась почти в 2 раза. Высокая эффективность препаратов Г-КСФ была показана и в группе больных гемобластозами, получающих ХТ. В исследовании Гиссельбрехт и соавт. [28] 162 пациента с НХЛ, получавших ХТ по схеме VAPEC-B (доксорубин, циклофосфамид, винкристин, этопозид, метотрексат, преднизолон) были рандомизированно разделены на получение плацебо или Г-КСФ (ленограстим). На протяжении 4 курсов лечения медиана длительности глубокой нейтропении была в несколько раз ниже в группе больных, получавших миелоцитокин. Это привело к сокращению частоты развития документированной инфекции (18,5 % против 34 %; $p < 0,05$), тяжелой инфекции (25 % против 49 %; $p < 0,001$), длительности госпитализаций (5,3 дня против 10 дней; $p < 0,05$) и длительности антибиотикотерапии (6 дней против 11,8 дня; $p < 0,002$) [28].

Г-КСФ также может использоваться для увеличения интенсивности терапии. Данный вид лечения (дозоинтенсивная ХТ, dose-dense therapy), предусматривающий введение цитостатиков с укороченными за счет использования Г-КСФ интервалами, достаточно широко применяется для адъювантного и неоадъювантного лечения РМЖ. Так, например, дозоинтенсивный режим (4 цикла АС и 4 введения паклитаксела с интервалом 14 дней между всеми циклами) согласно рекомендациям Национальной противораковой сети США (NCCN) является одним из предпочтительных адъювантных режимов, не содержащих трастузумаб [29].

До недавнего времени в клинической практике имелись следующие препараты, относящиеся к данной группе: филграстим (негликозилированный Г-КСФ) и ленограстим (гликозилированный Г-КСФ). Их назначение с целью профилактики предусматривало ежедневное подкожное введение от момента окончания ХТ (как правило, через 24 ч после введения цитостатиков) до восстановления уровня нейтрофилов после прохождения надира (точки минимального уровня нейтрофилов). Потребность в ежедневном введении обусловлена быстрым выведением Г-КСФ почками. В настоящее время к данной группе добавилась новая форма Г-КСФ, в которой филграстим конъюгирован с полиэтиленгликолем (ПЭГ) — пэгфилграстим. Пэгфилграстим обладает гораздо меньшим почечным клиренсом, что позволяет ему дольше циркулировать в крови. Клиренс пэгфилграстима осуществляется при связывании его с рецепторами нейтрофилов, что делает этот процесс саморегулирующимся: при нейтропении в крови сохраняются высокие концентрации пэгфилграстима, обеспечивающие его терапевтическое действие, однако по мере увеличения числа нейтрофилов его концентрация быстро падает [30].

Несмотря на то что препарат был зарегистрирован относительно недавно, степень доказанности его эффективности и безопасности как минимум не меньше,

чем для предшествующих препаратов этой группы, и основывается на результатах контролируемых рандомизированных исследований. Оценке эффективности и безопасности пэгфилграстима было посвящено самое большое до настоящего времени рандомизированное исследование в области профилактического использования Г-КСФ. Четыреста девяносто три больных ранним РМЖ, получающие адъювантную терапию доцетакселом в дозе 100 мг/м² каждые 3 нед, были рандомизированы на получение пэгфилграстима или плацебо [31]. Использование пэгфилграстима позволило значительно снизить частоту развития ФН (1 % против 17 % в группе плацебо), госпитализации (1 % против 14 %) и применения внутривенных антибиотиков (2 % против 10 %). В ряде рандомизированных исследований также было показано, что пэгфилграстим как минимум не менее эффективен, чем филграстим, и у больных гемобластозами [32], а по некоторым данным может оказаться даже более эффективным, чем предыдущие препараты этой группы. В ретроспективном исследовании Г. Минквитц [33] сравнивалась эффективность пэгфилграстима ± ципрофлоксацин с другими часто используемыми методами профилактики ФН (ципрофлоксацин или непегилированные Г-КСФ) у 1256 больных локализованным РМЖ, получавших адъювантную терапию с использованием режима ТАС (доксорубин, циклофосфамид и доцетаксел; каждые 3 нед). Частота развития ФН у пациентов, получавших пэгфилграстим с ципрофлоксацином или без него (5 и 7 % соответственно), оказалась статистически значимо меньше ($p < 0,01$), чем у больных, получавших ципрофлоксацин (22 %) или непегилированные Г-КСФ (18 %). Схожие результаты (снижение частоты ФН с 24 % в группе непегилированного Г-КСФ до 11 % в группе пэгфилграстима) были получены и в другом ретроспективном исследовании, включившем 186 больных с различными солидными опухолями и немиелоидными гематологическими новообразованиями [34].

До последнего времени оставался открытым вопрос о том, насколько позитивные эффекты миелоцитокинов, позволяющие поддерживать запланированную интенсивность ХТ, транслируются в улучшение долговременных результатов лечения. Влияние профилактического назначения миелоцитокинов на показатели выживаемости оценивалось во многих работах. Метаанализ 25 рандомизированных контролируемых исследований был проведен Н. Кудерер и соавт. [35]. В эти исследования суммарно были включены 6058 и 6746 пациентов соответственно для получения ХТ с первичной профилактикой Г-КСФ или без нее. При среднем сроке наблюдения в 60 мес 1845 случаев смерти больных было зарегистрировано в группе Г-КСФ и 2099 случаев в контрольной группе, отношение рисков — 0,897 (95 % ДИ 0,857–0,938; $p < 0,001$). Бóльшее снижение смертности было отмечено в более крупных исследованиях ($p = 0,05$) и исследованиях, в которых

проводилась ХТ большей интенсивности ($p = 0,012$). Абсолютное сокращение летальности в группе больных РМЖ составило 3,40 % (95 % ДИ 2,01–4,80 %; $p < 0,001$). В то же время в ряде исследований было показано увеличение риска развития острого миелолейкоза или миелодиспластического синдрома у женщин, получающих адъювантную ХТ РМЖ с поддержкой миелоцитокинами. Возможно, это связано с назначением им более высоких доз цитостатиков в сравнении с пациентами, не получающими миелоцитокинов. В то же время в долгосрочных наблюдениях за больными, получавшими ХТ с укороченными интервалами и Г-КСФ (дозоплотностные режимы), где суммарная доза цитостатиков соответствовала режимам со стандартными интервалами без Г-КСФ, не было показано различий в риске развития лейкоза между получавшими и не получавшими Г-КСФ пациентами [36]. Это позволяет сделать вывод о том, что увеличение риска лейкозов скорее связано с повышением суммарной дозы цитостатиков, а не с действием Г-КСФ. В любом случае, абсолютный риск этого осложнения является низким (1,8 % в группе Г-КСФ по сравнению с 0,7 % в группе без миелоцитокинов в течение 48 мес наблюдения) и, следовательно, выгода от профилактического назначения миелоцитокинов по показателям ОВ в несколько раз превосходит возможность ее снижения вследствие осложнений.

Широкому применению миелоцитокинов для профилактики нейтропении и инфекции после ХТ препятствует их высокая стоимость. Эта проблема является острой практически для всех стран, и ее решение развивается в нескольких направлениях. С одной стороны, разрабатываются модели выявления групп высокого риска, позволяющие сделать назначение Г-КСФ направленным, сократив группу профилактики за счет исключения пациентов с низкой вероятностью развития осложнений нейтропении. В одном из исследований [37] пациенты с диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ) были разделены на 3 группы в зависимости от снижения уровня альбумина (ниже 35 г/л), повышения лактатдегидрогеназы (выше нормы) и наличия опухолевого поражения костного мозга. При отсутствии вышеперечисленных признаков риск развития ФН составил 2,2 %, а при наличии всех 3 показателей — 72,2 %. В другом исследовании было предложено назначать Г-КСФ больным РМЖ после адъювантной ХТ в том случае, если на первом курсе ХТ (АС, САФ, CMF) было отмечено снижение нейтрофилов крови менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$ [38]. Больным, не входящим в группу высокого риска (без глубокого снижения нейтрофилов на первом курсе), Г-КСФ назначали только при развитии инфекции или необходимости отсрочки введения цитостатиков вследствие нейтропении. Это позволило на 50 % увеличить долю больных, получивших лечение с интенсивностью более 85 %, по сравнению с контрольными данными крупных популяционных исследований. Госпитализация вследствие ФН

потребовалась в 7,1 % случаев группы контроля и лишь в 2,7 % — в группе филграстима (0,9 % больных низкого риска и 3,9 % — высокого риска).

Другим направлением поиска возможности сокращения стоимости миелоцитокинов и повышения их доступности является создание биоаналогов, которые были бы дешевле оригинальных рекомбинантных белковых молекул. В то же время биоаналоги, как и оригинальные молекулы, продуцируются живыми клетками, что создает серьезные трудности в достижении их идентичности, что практически невозможно. Крайне сложная структура молекулы белка, связанная в целом ряде случаев с дополнительными молекулами полисахаридов, в процессе производства встречается с различными способами клонирования, трансфекции, наработки, элюции и последующей очистки продукта. Для того чтобы исключить риск недостатка эффективности или повышения токсичности лечения этими препаратами, Европейским союзом разработаны специальные правила регистрации данной категории лекарственных средств. Они включают регламенты по применяемым методикам для определения качества биопродукта, подробное описание требований к доклиническим и клиническим исследованиям в зависимости от его специфических свойств, а также требования по фармаконадзору [39]. В Российской Федерации (РФ) в настоящее время не существует аналогичных правил, регулирующих обращение данной категории препаратов. С другой стороны, именно в РФ существует высокая потребность наиболее рационально использовать ограниченные материальные ресурсы, направленные на лекарственное обеспечение онкологических больных.

В РФ существует более 10 биоаналогов Г-КСФ короткого действия, но до последнего времени был лишь 1 оригинальный препарат Г-КСФ пролонгированного действия — пэгфилграстим. Недавно в странах Евросоюза и в России был зарегистрирован еще один оригинальный Г-КСФ длительного действия — липэгфилграстим (Лонквекс®). Благодаря сочетанию уникальной структуры и собственных характеристик фармакокинетики и фармакодинамики, липэгфилграстим можно считать новым препаратом. Он также представляет собой конъюгат молекулы Г-КСФ (филграстим) и высокомолекулярной основы — ПЭГ, связанных углеводной молекулой. Основанием для регистрации в рамках требований ЕМА послужили помимо доклинических исследований результаты его клинического применения. В одном из таких исследований была определена оптимальная однократная фиксированная доза липэгфилграстима в сравнении со стандартной рекомендованной дозой пэгфилграстима 6,0 мг при профилактике нейтропении и инфекции после миелосупрессивной ХТ у больных РМЖ. Исследование II фазы было проведено у 208 пациенток, не получавших ранее ХТ [40]. Больные были рандомизированно разделены на 2 группы. В 1-й из них после ХТ назначался липэгфилграстим в дозе 3,0; 4,5 или 6,0 мг, а во 2-й — пэгфилгра-

стим в дозе 6,0 мг однократно. Пролонгированный Г-КСФ вводили подкожно на 2-й день после окончания каждого курса ХТ (доксорубин/доцетаксел в 1 день с интервалом 3 нед на протяжении 4 циклов). Основным оцениваемым параметром была продолжительность глубокой нейтропении в цикле 1. У пациентов, получавших липэгфилграстим, минимальная продолжительность нейтропении отмечена при применении самой высокой дозы миелостимулятора. Средняя продолжительность глубокой нейтропении составила 0,76 дня в группе липэгфилграстима в дозе 6,0 мг и 0,87 дня в группе пэгфилграстима в дозе 6,0 мг без каких-либо существенных различий между группами. Результатом применения липэгфилграстима в дозе 6,0 мг было достижение более высокого абсолютного содержания нейтрофилов в точке максимального падения, более короткий период восстановления абсолютного содержания нейтрофилов и сходный профиль безопасности и переносимости по сравнению с пэгфилграстимом 6,0 мг. Авторы делают вывод о том, что 6,0 мг липэгфилграстима являются оптимальной дозой для пациентов с РМЖ и обеспечивают поддержку нейтрофилов эквивалентно пэгфилграстиму в стандартной фиксированной дозе 6,0 мг.

Также было проведено двойное слепое рандомизированное исследование III фазы по сравнению эффективности и безопасности липэгфилграстима и пэгфилграстима после ХТ доксорубином/доцетакселем в группе больных РМЖ, ранее не получавших ХТ [41]. Исследование статистически было спланировано так, чтобы подтвердить гипотезу о не меньшем эффекте липэгфилграстима в сравнении с пэгфилграстимом. В исследование были включены пациентки с РМЖ высокого риска II, III или IV стадий и абсолютным числом нейтрофилов $\geq 1,5 \times 10^9/\text{л}$. Больных рандомизированно подразделяли на получение 1 подкожной инъекции липэгфилграстима 6,0 мг ($n = 101$) или пэгфилграстима 6,0 мг ($n = 101$) на 2-й день каждого 21-дневного цикла ХТ (максимально 4 цикла). Основным критерием эффективности была длительность тяжелой нейтропении во время цикла 1. Средняя продолжительность тяжелой нейтропении для групп липэгфилграстима и пэгфилграстима составила 0,7 и 0,8 дня соответственно ($\lambda = -0,218$ [95 % ДИ 0,498–0,062]; $p = 0,126$), умеренная нейтропения наблюдалась у 56 и 49 % пациенток групп липэгфилграстима и пэгфилграстима соответственно. ФН имела место у 3 больных, получивших пэгфилграстим (все в цикле 1), и ни у одной из получавших липэгфилграстим. Осложнения, связанные с применением препаратов, были зарегистрированы в 28 и 26 % случаев в группах больных, получавших липэгфилграстим и пэгфилграстим соответственно. Авторы делают вывод о том, что применение липэгфилграстима в дозе 6,0 мг столь же эффективно, как и применение пэгфилграстима с целью уменьшения частоты нейтропении у больных РМЖ, получающих миелосупрессивную ХТ.

Появление пролонгированной формы Г-КСФ в отечественной практике встретило некоторые опасения в отношении риска избыточной стимуляции гемопоэза и сопутствующих этому осложнений (гиперлейкоцитоз, костные боли, гриппоподобный синдром) при использовании данного препарата, так как в отличие от Г-КСФ короткого действия, введение которого может быть прекращено в любой момент, вся доза пэгфилграстима вводится одномоментно. Нами было проведено небольшое исследование по профилактике развития ФН после цитостатической ХТ у гематологических и онкологических больных с целью получения собственного клинического опыта по эффективности и токсичности пэгфилграстима, результаты которого были доложены на научно-практической конференции «Современная гематология: проблемы и решения» в 2009 г. в Москве и представлены в тезисах. Всего в исследование было включено 25 больных (3 мужчины, 22 женщины), страдавших различными гематологическими и солидными (местно-распространенный и метастатический РМЖ — 14, остеогенная саркома — 1, герминогенная опухоль — 1 и рак яичников — 1) новообразованиями. Медиана возраста больных составила 52 года (от 28 до 72 лет). Включение больных проводилось на базе Московского онкологического диспансера № 1, ГКБ им С.П. Боткина и Московской городской онкологической больницы № 62. Пэгфилграстим вводили в дозе 6,0 мг подкожно через 24 ч после окончания ХТ. У пациентов оценивали уровень лейкоцитов и нейтрофилов на 7-е и 14-е сутки от момента начала ХТ, а также перед началом очередного (последующего) курса лечения. Безопасность использования пэгфилграстима оценивалась у всех больных. В зависимости от цели применения пэгфилграстима больные были разделены на 3 группы.

В 1-ю группу были включены 8 больных гемобластомами (ДВКЛ — 5, фолликулярная лимфома — 1, острый лимфобластный лейкоз — 2), медиана возраста 58,5 (28–71) года. На фоне курса лечения, предшествовавшего включению в исследование (СНОР или R-СНОР — 5 пациентов, блоки высокодозной полиХТ протоколов BFM — 3), у всех больных отмечалась нейтропения $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$, потребовавшая отсрочки начала очередного курса лечения на 7–14 дней. У 5 пациентов нейтропения сопровождалась развитием инфекции. В рамках исследования всем больным проводился курс ХТ, аналогичный предшествующему, с последующим введением пэгфилграстима. Использование Г-КСФ пролонгированного действия позволило эффективно предотвратить развитие глубокой нейтропении, нейтропенической инфекции у большинства больных данной группы. Лишь у 1 из 8 пациентов отмечалось снижение уровня нейтрофилов $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$, в то время как на предшествующем курсе лечения (без поддержки пэгфилграстимом) нейтропения $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$ отмечалась у всех больных. У этого же пациента отмечался эпизод ФН, потребовавший назначения парен-

теральных антибиотиков. Таким образом, при использовании пэгфилграса ФН развилась у 1 больного, в то время как на предшествующем курсе лечения ФН (нейтропеническая инфекция) отмечалась у 5 пациентов. Инфекционные осложнения или подозрение на инфекцию в период терапии с использованием пэгфилграса имелись у 3 из 8 пациентов, без использования пэгфилграса у 5 (62,5 %) из 8. Применение пэгфилграса позволило выдержать запланированные интервалы между курсами у 6 из 8 больных, в то время как после предшествующего курса (без использования пэгфилграса) интервалы между циклами были увеличены у всех больных. Терапию пэгфилграсом хорошо переносили все пациенты, лишь у 1 из них отмечались умеренные кратковременные боли в поясничной области и ломота в костях, что было оценено исследователем как осложнения, связанные с введением исследуемого препарата. Случаев выраженного повышения числа лейкоцитов в крови отмечено не было.

Во 2-ю группу вошли 8 больных местно-распространенным РМЖ. Медиана возраста больных составила 54 (40–63) года. Пациенткам проводилась дозоинтенсивная неоадъювантная ХТ (цисплатин 50 мг/м², доксорубин 50 мг/м², винорелбин 25 мг/м² каждые 14 дней). Целью введения пэгфилграса в данной группе являлось поддержание запланированной высокой интенсивности лечения. На момент включения больные уже получили от 1 до 3 курсов ХТ с поддержкой Г-КСФ короткого действия (филграсим) в дозе 5 мкг/кг ежедневно до восстановления лейкоцитов для соблюдения укороченных интервалов между курсами. Несмотря на использование филграса, у всех больных в интервале между курсами была отмечена нейтропения < 1,0 × 10⁹/л. В рамках исследования пациентам проводили аналогичный курс ХТ с заменой Г-КСФ короткого действия на пэгфилграсим 6,0 мг подкожно через 24 ч после окончания введения цитостатиков. Применение данного препарата позволило провести курс лечения с запланированным 14-дневным интервалом всем больным. Ни у одного из пациентов, получавших пэгфилграсим, не было отмечено нейтропии < 1,0 × 10⁹/л, в то время как на предшествующих курсах лечения с поддержкой филграса она отмечалась у 100 % больных. Также не было отмечено эпизодов инфекции и/или лихорадки. Побочных эффектов, связанных с введением пэгфилграса, выявлено не было. Не было отмечено и случаев выраженного лейкоцитоза.

В 3-ю группу было включено 9 больных в возрасте 30–72 года, медиана — 50 лет, страдавших распространенными солидными опухолями (РМЖ — 6, остеогенная саркома — 1, герминогенная опухоль — 1 и рак яичников — 1) с развитием глубокой нейтропии при проведении стандартных курсов ХТ средней или малой интенсивности (FAC — 2 пациента, доксорубин/доцетаксел — 3 пациента, цисплатин/доксорубин —

2 пациента, цисплатин/этопозид и карбоплатин — по 1 пациенту). Целью использования пэгфилграса в этой группе была профилактика развития нейтропии и нейтропенической инфекции, а также соблюдение режима лечения. Несмотря на то, что у всех пациентов, включенных в данную группу, в результате предшествующих курсов лечения развилась нейтропения < 1,0 × 10⁹/л, введение пэгфилграса позволило предотвратить ее, а также развитие инфекционных осложнений у большинства больных. Эффект пэгфилграса сохранялся как на первом, так и на втором курсе лечения. При введении пэгфилграса лишь у 1 пациента отмечалось снижение уровня нейтрофилов < 1,0 × 10⁹/л, у этого же пациента отмечалось однократное снижение уровня нейтрофилов < 0,5 × 10⁹/л (на втором курсе лечения). Ни у одного из больных не развилась ФН или нейтропеническая инфекция. Один пациент прекратил участие в исследовании после первого курса ХТ в связи с тромбоцитопенией, потребовавшей редукции доз цитостатиков. Остальные больные получили оба цикла ХТ в запланированных дозах без увеличения интервала. Осложнения, потенциально связанные с введением пэгфилграса (боль в месте инъекции и боль в пояснице), были отмечены лишь у 1 пациента, имели малую выраженность и кратковременную продолжительность. Был отмечен 1 эпизод гиперлейкоцитоза до 60,5 × 10⁹/л, однако он не привел к клинически значимым последствиям.

Таким образом, применение пролонгированной формы Г-КСФ в реальной клинической практике позволило достичь основных целей, поставленных при использовании Г-КСФ у больных, получающих противоопухолевую терапию: поддержание запланированной интенсивности лечения, профилактика развития инфекционных осложнений на фоне нейтропии, увеличение дозовой интенсивности лечения (при необходимости). У подавляющего большинства пациентов, включенных в исследование, удалось избежать не только развития нейтропенической инфекции, но даже глубокого снижения уровня нейтрофилов, лишь 2 из 25 больных потребовалось увеличение интервала между циклами ХТ по причинам, связанным с нейтропией и/или инфекционными осложнениями. Особенно важным это представляется именно в условиях, когда, с одной стороны, все чаще требуется использование стационар-замещающих технологий, а с другой, система экстренной госпитализации больных с тяжелыми осложнениями лечения малодоступна. Во многих случаях неуверенность в возможности своевременного назначения адекватного лечения нейтропенической инфекции приводит к значимому снижению интенсивности противоопухолевой терапии. Более того, иногда дозы химиопрепаратов редуцируются даже не на курсах, следующих за эпизодом глубокой нейтропии или нейтропенической инфекции, а исходно — просто из опасения, что подобные осложнения

могут иметь место даже после первого курса лечения. Возможно, подобный подход вполне обоснован, если проводится паллиативное лечение в «классическом» его понимании — терапия, направленная на сохранение качества жизни без значительного увеличения ее продолжительности (химиорезистентные опухоли, пациенты, уже практически исчерпавшие терапевтические возможности). Однако в случаях, когда целью терапии является значительное продление жизни, а тем более излечение, отдаленные отрицательные последствия (снижение выживаемости) «профилактики» нейтропенической инфекции с помощью снижения интенсивности лечения могут даже перевешивать немедленный выигрыш от уменьшения частоты осложнений.

Результаты нашего небольшого исследования не подтвердили опасений частого развития осложнений в виде гиперлейкоцитоза и болевого синдрома. Использование пэгфилграстима не сопровождается побочными эффектами, нехарактерными для непегелированных видов Г-КСФ. Отмеченные нежелательные явления: боли в костях, в месте инъекции, лейкоцитоз, развивающийся до прохождения точки минимального падения лейкоцитов, не отличались от побочных эффектов данного класса препаратов ни по частоте раз-

вития, ни по тяжести течения, что согласуется с данными зарубежных клинических исследований [26, 27].

Заключение

Возможность однократного введения Г-КСФ длительного действия (липэгфилграстима и пэгфилграстима) после курса ХТ позволяет избежать необходимости проведения пациентами и/или их родственниками подкожного введения препаратов, возможных ошибок в дозировке, способе введения и соблюдении режима при амбулаторном лечении, а также нецелесообразных госпитализаций больного для ежедневного введения Г-КСФ в случае, если амбулаторное введение не может быть выполнено больным или патронажной медсестрой. Пациентов вне зависимости от места нахождения (в стационаре или амбулаторно) использование Г-КСФ длительного действия (липэгфилграстима и пэгфилграстима) избавляет от многократных подкожных инъекций. Пролонгированные формы Г-КСФ нашли широкое применение во всем мире и в такой стране, как США, являются предпочтительными и наиболее широко применяемыми. Появление большего количества доступных препаратов Г-КСФ длительного действия в нашей стране создает условия для проведения более эффективной и безопасной ХТ.

ЛИТЕРАТУРА

- Mayordomo J.I., López A., Viñolas N. et al.; ENIA Study Group. Retrospective cost analysis of management of febrile neutropenia in cancer patients in Spain. *Curr Med Res Opin* 2009;25(10):2533–42.
- Kuderer N.M., Dale D.C., Crawford J. et al. Mortality, morbidity, and cost associated with febrile neutropenia in adult cancer patients. *Cancer* 2006; 106(10):2258–66.
- Elting L.S., Lu C., Escalante C.P. et al. Outcomes and cost of outpatient or inpatient management of 712 patients with febrile neutropenia. *J Clin Oncol* 2008; 26(4):606–11.
- Courtney D.M., Aldeen A.Z., Gorman S.M. et al. Cancer-associated neutropenic fever: clinical outcome and economic costs of emergency department care. *Oncologist* 2007;12(8):1019–26.
- Caggiano V., Weiss R.V., Rickert T.S., Linde-Zwirble W.T. Incidence, cost, and mortality of neutropenia hospitalization associated with chemotherapy. *Cancer* 2005;103(9):1916–24.
- Kozma C.M., Dickson M., Chia V. et al. Trends in neutropenia-related inpatient events. *J Oncol Pract* 2012;8(3):149–55.
- Schilling M.B., Parks C., Deeter R.G. Costs and outcomes associated with hospitalized cancer patients with neutropenic complications: A retrospective study. *Exp Ther Med* 2011;2(5):859–66.
- Lyman G.H., Dale D.C., Crawford J. Incidence and predictors of low dose-intensity in adjuvant breast cancer chemotherapy: a nationwide study of community practices. *J Clin Oncol* 2003;21(24):4524–31.
- Mayers C., Panzarella T., Tannock I.F. Analysis of the prognostic effects of inclusion in a clinical trial and of myelosuppression on survival after adjuvant chemotherapy for breast carcinoma. *Cancer* 2001;91(12):2246–57.
- Adjuvant therapy for breast cancer. NIH Consensus Statement 2000;17(4):1–35.
- Henderson I.C., Berry D.A., Demetri G.D. et al. Improved outcomes from adding sequential paclitaxel but not from escalating doxorubicin dose in an adjuvant chemotherapy regimen for patients with node-positive primary breast cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:976–83.
- Wood W.C., Budman D.R., Korzun A.H. et al. Dose and dose intensity of adjuvant chemotherapy for stage II, node-positive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1994;330:1253–9.
- Chang J. Chemotherapy dose reduction and delay in clinical practice: Evaluating the risk to patient outcome in adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Eur J Cancer* 2000;36(Suppl 1):S11–4.
- Bonadonna G., Valagussa P., Moliterni A. et al. Adjuvant cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil in node-positive breast cancer: The results of 20 years of follow-up. *N Engl J Med* 1995;332:901–6.
- Bonadonna G., Moliterni A., Zambetti M. et al. 30 years' follow up of randomized studies of adjuvant CMF in operable breast cancer: Cohort study. *BMJ* 2005;330:217–22.
- Budman D.R., Berry D.A., Cirincione C.T. et al. Dose and dose intensity as determinants of outcome in the adjuvant treatment of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1205–11.
- Mayers C., Panzarella T., Tannock I.F. Analysis of the prognostic effects of inclusion in a clinical trial and of myelosuppression on survival after adjuvant chemotherapy for breast carcinoma. *Cancer* 2001;91:2246–57.
- Bretzel R.L., Cameron R., Gustas M. et al. Dose intensity in early-stage breast cancer: a community practice experience. *J Oncol Pract* 2009;5(6):287–90.
- Crivellari D., Bonetti M., Castiglione-Gertsch M. et al. Burdens and benefits of adjuvant cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil and

- tamoxifen for elderly patients with breast cancer: The International Breast Cancer Study Group trial VII. *J Clin Oncol* 2000;18:1412–22.
20. Dees E.C., O'Reilly S., Goodman S.N. et al. A prospective pharmacologic evaluation of age-related toxicity of adjuvant chemotherapy in women with breast cancer. *Cancer Invest* 2000;18:521–9.
21. Extermann M., Balducci L., Lyman G.H. What threshold for adjuvant therapy in older breast cancer patients? *J Clin Oncol* 2000;18:1709–17.
22. Balducci L., Yates J. General guidelines for the management of older patients with cancer. *Oncology (Williston Park)* 2000;14(11A):221–7.
23. Morrison V.A., Picozzi V., Scott S. et al. The impact of age on delivered dose intensity and hospitalization for febrile neutropenia in patients with intermediate-grade non-Hodgkin's lymphoma receiving initial chop chemotherapy: a risk factor analysis. *Clin Lymphoma* 2001;2:47–56.
24. Epelbaum R., Faraggi D., Ben-Arie Y. et al. Survival of diffuse large cell lymphoma. *Cancer* 1990;66:1124–9.
25. Pettengell R., Bosly A., Bron D. Association of reduced dose intensity and survival in lymphoma patients receiving CHOP 21 chemotherapy. *Haematologica* 2006;91(Suppl 1):69; abstr. 185.
26. Crawford J., Ozer H., Stoller R. et al. Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 1991;325:164–70.
27. Trillet-Lenoir V., Green J., Manegold C. et al. Recombinant granulocyte colony stimulating factor reduces the infectious complications of cytotoxic chemotherapy. *Eur J Cancer* 1993;29A(3):319–24.
28. Gisselbrecht C., Haioun C., Lepage E. et al. Placebo-controlled phase III study of lenograstim (glycosylated recombinant human granulocyte colony-stimulating factor) in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: factors influencing chemotherapy administration. *Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. Leuk Lymphoma* 1997;25(3–4):289–300.
29. NCCN version 2.2015. <http://www.nccn.org/>.
30. Roskos L.K., Yang B., Schwab G. et al. A cytokinetic model of r-metHuGCSF-SD/01(SD/01) mediated granulopoiesis and the “self-regulation” of SD/01 elimination in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. *Blood* 1998;92(Suppl 1):507a(abstr.).
31. Green M.D., Koelbl H., Baselga J. et al. A randomized double-blind multicenter phase III study of fixed-dose single-administration pegfilgrastim versus daily filgrastim in patients receiving myelosuppressive chemotherapy. *Ann Oncol* 2003;14:29–35.
32. Vose J.M., Crum M., Lazarus H. et al. Single dose pegfilgrastim (SD/01) is as effective as daily filgrastim following ESHAP chemotherapy for subjects with non-Hodgkin's lymphoma or Hodgkin's disease: results of a randomized, open label study. *Blood* 2001;98:799a(abstr. 3322).
33. von Minckwitz G., Kümmel S., du Bois A. et al. Pegfilgrastim ± ciprofloxacin for primary prophylaxis with TAC (docetaxel/doxorubicin/cyclophosphamide) chemotherapy for breast cancer. Results from the GEPARTRIO study. *Ann Oncol* 2008;19(2):292–8.
34. Almenar D., Mayans J., Juan O. et al. Pegfilgrastim and daily granulocyte colony-stimulating factor: patterns of use and neutropenia-related outcomes in cancer patients in Spain – results of the LEARN Study. *Eur J Cancer Care* 2009;18(3):280–6.
35. Kuderer N.M., Dale D.C., Crawford J. et al. Impact of primary prophylaxis with granulocyte colony-stimulating factor in febrile neutropenia and mortality in adult cancer patients receiving chemotherapy: a systematic review. *J Clin Oncol* 2007;25:3158–67.
36. Lyman G., Dale D., Wolff D.A. et al. Acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome in randomized controlled clinical trials of cancer chemotherapy with granulocyte colony-stimulating factor: a systematic review. *J Clin Oncol* 2010;28:2914–24.
37. Intragumtornchai T., Sutheesophon J., Sutcharitchan P. et al. A predictive model for life-threatening neutropenia and febrile neutropenia after the first course of CHOP chemotherapy in patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2000;37:351–36.
38. Silber J.H., Fridman M., Shpilsky A. et al. Modeling the cost-effectiveness of granulocyte colony-stimulating factor use in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 1998;16(7):2435–44.
39. EMEA. Guideline on similar biological medicinal products, 2005.
40. Buchner A., Elsasser R., Bias P. et al. A randomized, double-blind, active control, multicenter, dose-finding study of lipegfilgrastim (XM22) in breast cancer patients receiving myelosuppressive therapy. *Breast Cancer Res Treat* 2014;148(1):107–16.
41. Bondarenko I., Gladkov O.A., Elsaesser R. et al. Efficacy and safety of lipegfilgrastim versus pegfilgrastim: a randomized, multicenter, active-control phase 3 trial in patients with breast cancer receiving doxorubicin/docetaxel chemotherapy. *BMC Cancer* 2013;13:386.

Лабораторные возможности дифференциальной диагностики анемий

Л.М. Мещерякова¹, А.А. Левина², М.М. Цыбульская², Т.В. Соколова²

¹ФГБУ ГНЦ Минздрава России; Россия, 125167, Москва, Новый Зыковский проезд, 4а;

²Амбулаторно-поликлинический центр ГБУЗ «Городская поликлиника № 62» Департамента здравоохранения г. Москвы; Россия, 125167, Москва, Красноармейская ул., 18

Контакты: Людмила Михайловна Мещерякова ludmilagem@mail.ru

В статье приведены лабораторные показатели, с помощью которых проводится современная дифференциальная диагностика анемий. При этом учитывается широкий спектр лабораторных анализов, включающий исследования ферритина сыворотки, ферритина эритроцитов, железа сыворотки, общей железосвязывающей способности сыворотки, насыщения трансферрина железом, трансферрина, трансферриновых рецепторов, витамина B₁₂ сыворотки, витамина B₁₂ эритроцитов, фолатов сыворотки, фолатов эритроцитов, гепсидина, HIF-1 (hypoxia-inducible factor-1, индуцируемый гипоксией фактор 1), эритропоэтина, иммуноглобулинов на эритроцитах и др. Совокупность анализа этих исследований помогает точно поставить диагноз и назначить адекватную терапию.

Ключевые слова: анемия, клиника анемий, лабораторная диагностика, железодефицитная анемия, B₁₂-дефицитная анемия, фолат-дефицитная анемия, анемии хронических воспалительных заболеваний

DOI: 10.17650/1818-8346-2015-10-2-46-50

Laboratory capacity of differential anemia diagnosis

L. M. Meshcheryakova¹, A. A. Levina², M. M. Tsybulskaia², T. V. Sokolova²

¹Hematological Research Center, Ministry of Health of Russia; 4a Novyy Zykovskiy Pr-d, Moscow, 125167, Russia;

²Outpatient center, City Polyclinic № 62, Moscow Healthcare Department; 18 Krasnoarmeyskaya St., Moscow, 125167, Russia

The paper presents the laboratory values by which modern differential diagnosis of anemias can be performed. This takes into account a wide range of laboratory tests, including: serum ferritin, erythrocyte ferritin, serum iron, total serum iron binding capacity, iron transferrin saturation, transferrin, transferrin receptor, serum vitamin B₁₂, erythrocyte vitamin B₁₂, serum folate, erythrocyte folate, hepsidin, HIF-1 (hypoxia-inducible factor-1), immunoglobulins on erythrocytes end others. The combination of these studies helps to accurate diagnosis and appropriate therapy.

Key words: anemia, anemia clinical signs, laboratory diagnostics, iron deficiency anemia, B₁₂-deficiency anemia, folate deficiency anemia, anemia of chronic inflammatory diseases

Введение

Комплексная современная лабораторная диагностика анемий дает возможность проводить их дифференцировку, что способствует правильному установлению диагноза и назначению соответствующей адекватной терапии.

Наиболее распространенными являются анемии, вызываемые дефицитом железа, витамина B₁₂, фолиевой кислоты, а также анемии воспаления. Однако в связи с тем, что нередко больным анемиями проводят частичное обследование (сывороточное железо (СЖ) или витамин B₁₂ и фолаты в сыворотке), им трудно поставить диагноз и у этих пациентов встречаются диагностические и тактические ошибки. В связи с этим разработка и внедрение современных информативных методов для надежной дифференциальной диагностики анемий актуальны для клинической практики.

Анемия — заболевание, проявляющееся снижением содержания гемоглобина в единице объема крови, нередко сопровождающееся уменьшением числа эритроцитов [1].

Наиболее распространенной формой анемии является железодефицитная анемия (ЖДА). В настоящее время разработаны как методы диагностики этой формы анемии, так и пути ее коррекции. Основной причиной ЖДА является алиментарная недостаточность, но примерно в 4–5 % случаев причиной служит не алиментарный фактор; это могут быть кровотечения, скрытые и явные, глистная инвазия, генетические изменения (например, целиакия) и др. [2].

Синдром ЖДА характеризуется ослаблением эритропоэза из-за дефицита железа вследствие несоответствия между его поступлением и потреблением, снижением наполнения гемоглобина железом с последующим уменьшением содержания гемоглобина в эритроците.

Следует отметить, что большое значение для гомеостаза железа имеет процесс всасывания его в тонком кишечнике. Всасывание железа происходит в клетках эпителиального слоя дуоденального отдела кишечника — в энтероцитах, которые являются высокоспециализированными клетками, координирующими аб-

сорбцию и транспорт железа ворсинками. Поддержание баланса железа связано с жизненным циклом энтероцита, начинающегося с родоначальных молодых клеток, находящихся в крипте и преобразующихся в зрелые энтероциты на кончиках ворсинок [3]. В энтероцитах происходит синтез новых, необходимых организму белков, ответственных за абсорбцию, хранение и транспорт пищевого железа. Регуляция абсорбции железа происходит в 2 слоях мембраны внутреннего эпителия на апикальной и базолатеральной мембранах. Апикальная мембрана специализирована для транспорта гема и двухвалентного железа, а базолатеральная служит местом перехода железа в кровоток для дальнейшего его использования организмом. Железосвязывающие белки продуцируются энтероцитами в соответствии с запросами организма. Продолжительность жизни энтероцита составляет 3–4 дня. Энтероцит получает сигналы от различных тканей организма, увеличивая абсорбцию железа, когда его запасы снижаются ниже критического уровня, пока не произойдет насыщения железом; после этого происходит восстановление внутреннего эпителия и абсорбция железа снижается.

На основании многочисленных экспериментов доказано, что универсальным отрицательным регулятором метаболизма железа является антибактериальный пептид гепсидин (ГП) [3]: он оказывает блокирующее действие на любой транспорт железа из разных клеток и тканей, включая энтероциты, макрофаги, плаценту и др.

Диагностика ЖДА разработана достаточно хорошо. Установлено, что поскольку при ЖДА снижаются запасы железа в организме, то определение СЖ, общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС), насыщения трансферрина железом (НТЖ) и ферритина должно быть показательным. В классическом случае при ЖДА уровни СЖ, ГП, эритроцитарного ферритина (ЭФ) и НТЖ значительно ниже нормы, а значения трансферрина (Тф), ОЖСС, индуцируемого гипоксией фактора 1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1), эритропоэтина (ЭПО), двухвалентного металлопротеина-1 (DMT-1), ферропортина (ФРТ) и трансферриновых рецепторов (ТФР) повышены.

Однако на практике довольно часты низкие показатели ЭПО и HIF-1 при ЖДА, что свидетельствует о застарелой форме анемии и адаптации организма к этому состоянию. При такой анемии возникают трудности в лечении, и требуется использование препаратов ЭПО.

Следующей значительной группой анемий являются анемии хронических воспалительных заболеваний (АХВЗ). Они требуют применения специфической терапии, и поэтому их надо точно дифференцировать от ЖДА.

К АХВЗ относятся анемии при онкологических и гематологических заболеваниях, а также различных нарушениях метаболических процессов [4]. Данная форма анемии возникает как ответ организма на ин-

фекционный или воспалительный стимул, не давая ему железа, необходимого для синтетических процессов. Поэтому проведение ферротерапии в данном случае не только не приносит пользы, но может нанести вред. В связи с этим важна дифференциальная диагностика, основанная на определении показателей метаболизма железа. В отличие от ЖДА при АХВЗ значения СЖ и НТЖ находятся в пределах нормы, сывороточный ферритин (СФ) чаще всего повышен, ТфР и ЭПО в норме. Исходя из функциональной роли ГП, можно ожидать, что при АХВЗ его уровень должен быть повышен, что и наблюдается в большинстве случаев. Однако установлено, что значения ГП зависят от уровня гемоглобина и при снижении гемоглобина менее 60 г/л показатели ГП падают, поскольку существующий приоритет процессов в организме делает потребности эритропоэза преобладающими над антибактериальной и антигемосидерозной функциями. Поэтому, несмотря на последние успехи в биохимии, для дифференциальной диагностики остается очень важным соотношение НТЖ и ОЖСС.

Анемия также может быть вызвана недостаточностью витаминов B_{12} , фолата и др. Использование комплекса лабораторных методов, включающих исследование витамина B_{12} и фолата не только в сыворотке крови, но и в эритроцитах, позволяет правильно оценить метаболизм этих витаминов, что может быть основой дифференциальной диагностики этих форм анемий.

Одним из важных дифференцировочных показателей является уровень ЭФ, который повышается при B_{12} - и фолат-дефицитных анемиях, что указывает на неэффективный эритропоэз.

Аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА) характеризуется аутосенсibilизацией эритроцитов иммуноглобулинами, что вызывает их преждевременное разрушение (гемолиз) [5]. Контроль иммунного ответа, в том числе «аутоагрессии», осуществляется совокупностью взаимосвязанных регуляторных систем, среди которых одним из важнейших звеньев является система цитокинов, макрофагальная система и непосредственно связанный с ними метаболизм железа. Именно поэтому знание значений показателей обмена железа при данной форме анемии очень важно. При АИГА уровни СЖ и СФ чаще всего находятся в пределах нормы, значения ОЖСС и ЭФ практически всегда в норме, так как при АИГА эритропоэз является эффективным. Уровень ГП при резком снижении гемоглобина во время гемолитического криза снижается в 3–5 раз относительно нормы. При частичной ремиссии, когда анемия купирована, но уровень иммуноглобулинов на поверхности эритроцитов остается высоким, значения ГП превышают норму в 5–10 раз [6]. Видимо, в первом случае в организме приоритетное значение имеет эритропоэз, поэтому уровень ГП должен быть низким, чтобы железо могло поступать для выполнения синтетических процессов; во втором случае основное значение имеет борьба с возможным

гемосидерозом, и ГП должен быть высоким, чтобы предотвратить этот процесс. Однако основным дифференцирующим фактором при гемолизе являются значения иммуноглобулинов G, A и M на поверхности эритроцитов.

Причинами возникновения анемий может быть наличие гельминтов в организме. Следует сказать, что гельминтозы — наиболее распространенное паразитарное заболевание человека, вызываемое различными представителями низших червей-гельминтов. Возбудители паразитарной патологии человека относятся к 2 видам гельминтов: круглые черви *Nemathelminthes* (класс *Nematoda*), плоские черви *Plathelminthes* (класс ленточных червей *Cestoidea* и сосальщиков *Trematoda*) и включают более 280 видов; из них наиболее широкое распространение имеют примерно 50 видов, а на территории России встречаются около 20 видов гельминтов. В зависимости от биологических особенностей паразитов и путей их распространения различают 3 основные группы гельминтозов: геогельминтозы, контактные (контагиозные) и биогельминтозы.

Многие гельминтозы сопровождаются изменениями со стороны крови. В особенности это характерно для дифиллоботриоза (пернициозоподобная анемия), а также для анкилостомидозов, стронгилоидоза и трихинеллеза (гипохромная анемия). Кроме того, продукты обмена паразитов, попадая в кровь хозяина, вызывают сенсibilизацию организма и различные аллергические проявления в виде местных или общих реакций. В результате у больных наблюдаются эозинофилия, кожные высыпания, субфебрильная температура, астматические приступы, профузные поносы. Продукты обмена и распада гельминтов оказывают токсическое действие и вызывают изменения в надпочечниках, щитовидной железе, половых железах. Под влиянием полостной жидкости аскарид нарушается свертываемость крови, что приводит к кровоизлияниям в различные органы [7–9].

В случае наличия контактов с животными, увеличения уровня эозинофилов в периферической крови, значительного повышения уровня ГП без других аномалий в показателях обмена железа целесообразно провести обследование на гельминты путем исследования антител.

Причиной возникновения анемии может быть целиакия (глутеновая энтеропатия) — мультифакторное заболевание, нарушение пищеварения, вызванное повреждением ворсинок тонкой кишки некоторыми пищевыми продуктами, содержащими определенные белки — глютен (клейковина) и близкими к нему белками злаков (авенин, гордеин и др.) — в таких злаках, как пшеница, рожь, ячмень, овес. Целиакия имеет смешанный аутоиммунный, аллергический, наследственный генез, наследуется по аутосомно-доминантному типу.

В случае, когда причину анемии трудно установить, целесообразно провести проверку антител к антиглиадину (целиакия).

Цель работы — изучение и анализ лабораторных возможностей дифференциальной диагностики анемий.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находилось 158 пациентов в возрасте от 20 до 64 лет. Из них 36 (22,8 %) составили больные АХВЗ, 65 (41,1 %) — больные ЖДА, 22 (13,9 %) — V_{12} -дефицитной анемией, 12 (7,6 %) — β -талассемией, 14 (8,9 %) — АИГА, 5 (3,2 %) пациентов с целиакией и 4 (2,52 %) человека с подозрением на гельминтозы.

Также было обследовано 105 детей в возрасте от 5 до 15 лет с инфекционно-воспалительными заболеваниями. Диагнозы были верифицированы стандартными клиничко-лабораторными методами.

Группу сравнения составили 38 здоровых взрослых доноров, чьи показатели использовались в качестве контрольных значений (условная норма).

Проводили определение следующих показателей: СФ, ЭФ, СЖ, ОЖСС, Тф, ТфР, ГП, ФРТ, HIF-1a, ДМТ-1, витаминов V_{12} и фолиевой кислоты в сыворотке и эритроцитах. Также определяли антиглиадиновые антитела и антитела к гельминтам. Для подтверждения гемолиза определяли иммуноглобулины классов G, A и M.

СЖ и ОЖСС определяли колориметрическим методом. При определении Тф использовали метод радиальной диффузии с моноспецифической антисывороткой. Витамин V_{12} и фолиевую кислоту определяли конкурентным иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител. ГП, HIF-1a, ДМТ-1 и ФРТ определяли прямым иммуноферментным методом с моноспецифическими антисыворотками.

Результаты и обсуждение

При обследовании больных ЖДА выявлено значительное снижение уровней СФ, ЭФ, СЖ и ГП, значений Тф и ТфР у большинства больных в 2–3 раза (табл. 1). Кроме того, у больных ЖДА значения ДМТ-1 оказались вдвое выше нормы ($19,2 \pm 5,2$ пкг/мл) ($p < 0,0003$), поскольку при дефиците железа организму необходимо, чтобы всасывалось как можно больше железа. Низкое содержание ГП, характерное для ЖДА, обеспечивает возможность большего захвата железа в кишечнике. Уровень ФРТ у данных пациентов также значительно повышен ($27,1 \pm 4,8$ пкг/мл), что дает возможность увеличенного доступа железа в кровотоки.

Больные АХВЗ в большинстве случаев имеют нормальный уровень СЖ, ОЖСС, Тф и ТфР. Однако значения СФ и ГП у этих пациентов различаются в зависимости от стадии процесса и уровня гемоглобина. В связи с этим больные АХВЗ были разделены на 2 группы: 1-я — пациенты со значительно повышенным уровнем ГП и 2-я — больные с почти нормальным уровнем ГП.

У всех больных АХВЗ концентрации как ДМТ-1, так и ФРТ повышены в 1,5–5 раз по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,00001$), что является причиной депонирования железа в тканях.

Таблица 1. Показатели метаболизма железа и регуляторных белков при анемиях различной этиологии

Группа больных		СЖ, мкм/л	ОЖСС, мкм/л	СФ, мкг/л	ЭФ, мкг/гНв	ГП, рг/мл	НIF-1a, нг/мл	ДМТ-1, нг/мл	ФРТ, нг/мл
ЖДА ($n = 65$)		$10 \pm 2,1$	78 ± 12	$14 \pm 3,1$	$4,5 \pm 2,8$	23 ± 3	$12 \pm 5,2$	$19 \pm 4,8$	$15 \pm 3,2$
АХВЗ ($n = 36$)	ГП ≥ 100 ($n = 19$)	$23 \pm 7,6$	$65 \pm 7,8$	$650 \pm 158,9$	$6,9 \pm 2,5$	387 ± 73	$9,8 \pm 5,1$	$9,3 \pm 2,0$	$16,5 \pm 4,1$
	ГП < 100 ($n = 17$)	$19,3 \pm 3$	$66,9 \pm 5$	276 ± 87	$7,7 \pm 3,8$	87 ± 9	$8,7 \pm 4,1$	$19,3 \pm 3,7$	$30,5 \pm 5,8$
АИГА ($n = 14$)	Гемолиз ($n = 14$)	$25 \pm 7,9$	$59,8 \pm 5,5$	435 ± 34	$9,8 \pm 3,3$	$35 \pm 5,8$	$12,9 \pm 4,4$	$39,5 \pm 5,1$	$30 \pm 7,0$
	Ремиссия ($n = 14$)	$19,6 \pm 5,7$	$60,6 \pm 5,7$	459 ± 39	$8,9 \pm 3,7$	487 ± 23	$9,8 \pm 2,9$	$21 \pm 4,4$	$33 \pm 6,8$
В-талассемия ($n = 12$)		$40,9 \pm 8,9$	65 ± 12	459 ± 22	$358 \pm 75,9$	369 ± 76	$27 \pm 7,9$	—	—
В ₁₂ - и фолат-дефи- цитная анемия ($n = 22$)		38 ± 12	55 ± 15	436 ± 120	288 ± 87	489 ± 120	$30 \pm 7,9$	—	—
Целиакия ($n = 5$)		$7,5 \pm 3,3$	$60,6 \pm 5,5$	$66,3 \pm 8,7$	$5,6 \pm 1,7$	327 ± 44	$12,2 \pm 2,8$	—	—
Гельминтозы ($n = 4$)		$14 \pm 4,8$	$65 \pm 7,9$	$59 \pm 9,8$	$4,4 \pm 1,2$	287 ± 34	$7,7 \pm 2,8$	—	—
Здоровые добро- вольцы ($n = 38$)		$18,9 \pm 5$	$66 \pm 5,8$	$60,1 \pm 10,5$	$5,4 \pm 1,6$	$50,9 \pm 10,4$	$4,5 \pm 1,9$	$4,5 \pm 1,2$	$3,1 \pm 0,7$

У больных АХВЗ 1-й группы (высокие значения ГП) уровень ДМТ-1 в 2 раза ниже ($9,3 \pm 1,6$ пкг/мл), чем у пациентов 2-й группы (низкие значения ГП). Та же зависимость наблюдается и в отношении ФРТ: при высоких значениях ГП концентрация ФРТ в 2 раза ниже ($16,8 \pm 4,0$ пкг/мл) ($p < 0,007$), чем при низком уровне ГП ($30,9 \pm 5,8$ пкг/мл). Можно предположить, что связано это с тем, что и ФРТ, и ДМТ-1 усиленно экспрессируются в ответ на увеличенное количество железа и/или воспалительный стимул. Повышенные значения этих белков при АХВЗ отражают, с одной стороны, стремление организма связать свободное железо, а с другой — передать железо в плазму для участия в синтетических процессах.

При АИГА уровни СЖ и СФ чаще всего в пределах нормы, но в зависимости от состояния больного могут быть и повышенными, и сниженными. Значения ОЖСС и ЭФ практически всегда в норме, поскольку при АИГА эритропоэз является эффективным. Уровень ГП при резком снижении гемоглобина во время гемолитического криза снижается в 3–5 раз относительно нормы. При частичной ремиссии, когда анемия купирована, но уровень иммуноглобулинов на поверхности эритроцитов остается высоким, значения ГП превышают норму в 5–10 раз. По всей видимости, в первом случае приоритетное значение имеет эритропоэз, поэтому уровень ГП должен быть низким, чтобы железо могло поступать для выполнения синтетических процессов. Во втором случае основное значение приобретает борьба с возможным гемосидерозом, и ГП должен быть высоким, чтобы предотвратить этот процесс.

Уровень НIF также изменяется в зависимости от значений гемоглобина и соответственно от гипоксии в органах и тканях. При низких значениях гемоглобина показатели НIF возрастают, в результате чего начинается увеличенный синтез ЭПО, а повышение гемоглобина ведет к снижению НIF.

У больных АИГА как во время гемолитического криза, так и в период частичной ремиссии уровень ДМТ-1 значительно повышен ($p < 0,0005$), что, видимо, можно объяснить распадом эритроцитов и появлением свободного железа, которое должно быть связано.

Значения ФРТ повышены как во время гемолитического криза, так и в период частичной ремиссии, что обеспечивает выход в кровоток большого количества железа. Однако благодаря повышенной концентрации ГП, который связывает ФРТ, в кровоток во время ремиссии оно не попадает, что и предохраняет организм от перегрузки железом у больных данной группы. Это было давно замечено в клинической практике, но патофизиологического объяснения данному феномену не находилось.

В-талассемия — тяжелое наследственное заболевание, в основе которого лежит нарушение синтеза β-цепей гемоглобина. При большой талассемии нарушения в обмене железа фатальны для пациента: происходит резкое увеличение СЖ, СФ, ЭФ, которые ведут к гемохроматозу и разрушению органов и тканей. При малой форме талассемии как показатели обмена железа, так и морфологические очень сходны с данными при ЖДА. Одним из главных отличий яв-

ляются значения ЭФ, поскольку при ЖДА его уровень понижен, а при β -талассемии — повышен.

При B_{12} - и фолат-дефицитных анемиях уровни СЖ и СФ в большинстве случаев повышены, а при истинных ЖДА резко увеличены значения витамина B_{12} и реже фолиевой кислоты, которые нормализуются после адекватной терапии. Особенно следует обратить внимание на значительное повышение ЭФ при B_{12} -зависимой анемии, что объясняется неэффективным эритропоэзом. Однако довольно часто наблюдаются случаи сочетанного дефицита железа, витамина B_{12} и фолиевой кислоты.

Для наблюдавшихся нами больных целиакией характерно было снижение уровня СЖ и повышение значений ГП.

У больных гельминтозами обращает наибольшее внимание повышение уровня ГП.

При обследовании детей с инфекционно-воспалительными заболеваниями (табл. 2) было выявлено, что наибольшее повышение уровня ГП наблюдается при бактериальных инфекциях — в 2–2,5 раза по сравнению с больными вирусными инфекциями и в 4–5 раз

по сравнению с нормой. Значения ДМТ-1 повышены по сравнению с нормой в 1,5 раза в обеих группах, а уровень ФРТ значительно повышен только у больных вирусной инфекцией (в 4–5 раз). Вероятно, это связано с тем, что высокая концентрация ГП при бактериальных заболеваниях препятствует выходу повышенного количества железа в кровоток, интернализируя ФРТ, несмотря на то что организму требуется железо, и для предотвращения развития его дефицита происходит увеличение индукции ДМТ-1.

Таблица 2. Значения регуляторных белков у детей с инфекционно-воспалительными заболеваниями

Вид инфекции	ДМТ-1, нг/мл	ФРТ, нг/мл	ГП, рг/мл	Ферритин, нг/мл
Бактериальная (n = 67)	8,3 ± 2,9	7,8 ± 2,7	179 ± 33	87 ± 29
Вирусная (n = 38)	8,5 ± 2,8	8,9 ± 3	65 ± 19	67 ± 20
Норма	5,5 ± 0,9	3,5–65	40–60	35–65

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев П.А. Анемический синдром в клинической практике. М.: Ньюдиамед, 2001. С. 168. [Vorobyev P.A. Anemia syndrome in clinical practice. M.: Nyudiamed, 2001. P. 168. (In Russ.)].
2. Руководство по гематологии в 3 т. Под ред. А.И. Воробьева. 3-е изд. М.: Ньюдиамед, 2002–2004. [Guidelines for Hematology in 3 volumes. A.I. Vorobyev (ed.). 3rd edition. M.: Nyudiamed, 2002–2004. (In Russ.)].
3. Detivaud L., Nemeth E., Boudjema K. Hepsidin levels in humans are correlates with hepatic iron stores, hemoglobin levels and hepatic function. Blood 2005;106(2):746–8.
4. Papanikolaou G., Tzilianov M., Christakis J.I. Hepsidin in iron overload disorders. Blood 2005;10:4103–5.
5. Подберезин М.М., Левина А.А., Цыбульская М.М., Пивник А.В. Иммуноферментный метод определения иммуноглобулинов на поверхности эритроцитов, диагностическое и клиническое значение. Проблемы гематологии 1997;2:24–9. [Podberезin M.M., Levina A.A., Tsybul'skaya M.M., Pivnik A.V. ELISA determination of immunoglobulins on the surface of red blood cells, diagnostic and clinical significance. Problemy gematologii = Problems of Hematology 1997;2:24–9. (In Russ.)].
6. Wang G.L., Yiang B.H., Rue E.A., Semenza G.L. Hipoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O_2 tension. Proc Natl Acad Sci USA 1995;92(12):5510–4.
7. Практическая паразитология. Под ред. Д.В. Виноградова-Волжинского. Л.: Медицина, 1977. 302 с. [Practical Parasitology. D.V. Vinogradov-Volzhinskiy (ed.). L.: Medicine, 1977. 302 p. (In Russ.)].
8. Озерецковская Н.Н., Зальков Н.С., Тумольская Н.И. Клиника и лечение гельминтозов. М.: Медицина, 1984. 183 с. [Ozeretskovskaya N.N., Zalkov N.S., Tumolskaya N.I. The symptoms and treatment of helminthiasis. M.: Medicine, 1984. 183 p. (In Russ.)].
9. Сопрунов Ф.Ф. Гельминтозы человека. М.: Медицина, 1985. 308 с. [Soprunov F.F. Helminthiasis person. M.: Medicine, 1985. 308 p. (In Russ.)].

Микрофлора ротовой полости детей с онкогематологическими заболеваниями

М.Ф. Вечерковская, Г.В. Тец, Б.В. Афанасьев, В.В. Тец

ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8

Контакты: Виктор Вениаминович Тец vtetzy@yahoo.com

Целью работы было комплексное изучение микрофлоры ротовой полости здоровых детей и детей с онкогематологическими заболеваниями, основанное на исследовании состава смешанных микробных биопленок, выделении и идентификации новых, ранее неизвестных микроорганизмов.

Материал для исследования получен у детей в возрасте от 2 до 10 лет с онкогематологическими заболеваниями в стадии ремиссии и в группе сравнения у учеников школ и воспитанников детских садов г. Санкт-Петербурга. В работе использованы микробиологические, биохимические и молекулярно-генетические методы исследования, включая электронную микроскопию, протеомный анализ, секвенирование и аннотацию полного генома.

Из смешанных микробных биопленок, полученных из слюны здоровых и больных детей, выделили в виде чистых культур и идентифицировали по биохимической активности представителей 23 родов микроорганизмов. В микрофлоре детей с онкогематологическими заболеваниями выявлен неизвестный ранее вид стрептококков с большим числом генов антибиотикоустойчивости и патогенности. Выявлены различия в составе микробиоты ротовой полости здоровых детей и детей с онкогематологическими заболеваниями в стадии ремиссии. Микробиота детей с онкогематологическими заболеваниями содержит больше генов, контролирующих антибиотикоустойчивость. Также в ее составе обнаружены ранее неизвестные бактерии рода *Streptococcus*.

Ключевые слова: онкогематологические заболевания, дети, микробиота, ротовая полость, неизвестные ранее бактерии, биопленки

DOI: 10.17650/1818-8346-2015-10-2-51-57

Oral microflora in children with hematologic malignancies

M.F. Vecherkovskaya, G.V. Tets, B.V. Afanasiev, V.V. Tets

Acad. I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Ministry of Health of Russia; 6–8 L'va Tolstogo St., St. Petersburg, 197022, Russia

The goal was a comprehensive study of oral microflora in healthy children and those with hematologic malignancies, based on the analysis of mixed microbial biofilms composition, isolation and identification of new previously unknown microorganisms.

The material was obtained in children with hematological diseases in remission, 2–10 years aged, and for the control group from St. Petersburg schoolchildren and in kindergartens. We used microbiological, biochemical and molecular genetic methods, including electron microscopy, proteomic analysis, sequencing and complete genome annotation.

Microorganisms of 23 genera isolated as pure cultures and identified by biochemical activity from mixed microbial biofilm derived from saliva of healthy and sick children. In microflora of children with hematologic malignancies a previously unknown type of streptococci with a large number of antibiotic resistance genes was revealed. Differences in oral microbiota composition of healthy children and children with hematological diseases in remission were revealed. The microbiota of children with hematologic malignancies contains more genes controlling antibiotic resistance. Also, it was observed previously unknown bacterium of the genus *Streptococcus*.

Key words: oncohematological malignancies, children, microbiota, oral cavity, previously unknown bacteria, biofilms

Введение

Современные данные указывают на огромную роль микрофлоры в качестве важнейшего «органа» гомеостаза, влияющего на развитие хозяина, его физиологию и морфогенез [1]. Несмотря на это, микробиота человека остается недостаточно изученной, что в значительной степени связано с существованием микробных биопленок и наличием в их составе неизвестных науке бактерий, обозначаемых как «некультивируемые» и «пока не культивируемые». Условия, необходимые для роста таких бактерий, пока считаются невозпроизводимыми в лабораторных условиях [2]. Одной из наиболее доступных для изучения является микрофлора

ротовой полости, которая представляет собой обширную экосистему [3]. Установлено, что колонизация слизистой ротовой полости условно-патогенными и патогенными бактериями в значительной степени повышает вероятность возникновения не только местных патологических изменений, но и служит причиной формирования различных соматических заболеваний.

Несмотря на очевидную актуальность, проблема распространения условно-патогенных и патогенных бактерий при различной патологии, в том числе у детей с онкогематологическими заболеваниями в условиях применяемой терапии, остается практически не исследованной.

Комплексное изучение микрофлоры ротовой полости у здоровых детей и детей с онкогематологическими заболеваниями, основанное на исследовании состава смешанных микробных биопленок, выделения и идентификации новых, ранее неизвестных микроорганизмов является целью настоящего исследования.

Материалы и методы

Материал для исследования собирали у детей 2 групп в возрасте от 2 до 10 лет. В 1-ю группу входили пациенты с онкогематологическими заболеваниями в стадии ремиссии, не получавшие антибиотиков в течение последних 3 мес, со схожими протоколами лечения основного заболевания, находившиеся на лечении в дневном стационаре НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой. Вторая группа включала учеников начальных классов школ и воспитанников детских садов г. Санкт-Петербурга.

Питательные среды: LB, Мюллера–Хинтона, Шедлера, колумбийский, бруцелла-агары и бульоны (bio-Merieux, Франция и Oxoid, Великобритания).

Диски с антибиотиками для определения чувствительности к 18 антибактериальным препаратам (HiMedia, Индия, НИЦФ РФ).

Культивирование микроорганизмов проводили в аэробных и анаэробных условиях в течение 18–120 ч при температурах 35 и 37 °C в обычной атмосфере и с использованием CO₂-инкубатора MCO-19AC (Sanyo, Япония) и газогенераторных пакетов GENbag anaer (bio-Merieux, Франция).

Идентификация выделенных микроорганизмов выполнялась с учетом тинкториальных, морфологических, культуральных и биохимических свойств [4], а также по секвенированной последовательности гена 16S рибосомальной РНК (рРНК) и полногеномного секвенирования генома.

Изучение морфологии колоний и клеток с помощью микроскопа Axiostar plus (Carl Zeiss, Германия), оснащенного иммерсионным объективом A-Plan 100×/1,25, окуляр 10× (Carl Zeiss, Германия). Макро и микрофотографии получали с помощью фотоаппарата Canon EOS 60D (Canon, Япония) с адаптером Photo adjustment 1,6× for Zeiss microscopes (Askania Mikroskop Technik Rathenow GmbH, Германия).

Электронная микроскопия выполнена на микроскопах JEM-100S (Jeol, Япония) при инструментальном увеличении ×1000–5000 и Libra100 (Carl Zeiss, Германия).

Определение биохимической активности микроорганизмов проводили с помощью системы Vitek 2 (bio-Merieux, Франция).

Идентификация бактерий по протеому бактериальной клетки выполнялась при помощи масс-спектрометрии MALDI-TOF/TOF с пробоподготовкой на микротитрационных планшетах AnchorChip (Bruker Corporation, США) с идентификацией относительно MALDI

Biotyper Database (Bruker Taxonomy Tree) (Bruker Corporation, США).

Идентификация бактерий по нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК проводилась с использованием баз данных HOMD 16S rRNA RefSeq v13.2, SILVA release 115 SSU Ref., NCBI 16S rRNA/WGS/Reference genomic sequences/nucleotide collection при помощи алгоритма megablast (blast v 2.2.28) [5]. Результаты поиска оценивали при помощи программы CLUSTALW [6].

Чувствительность бактерий к антибиотикам определяли на плотной питательной среде диско-диффузионным методом и с помощью системы Vitek 2 с использованием идентификационных карт AST (bio-Merieux, Франция).

Отбор единичных бактериальных клеток из смешанных сообществ методом лазерной микродиссекции проводили с использованием системы PALM MicroBeam (Carl Zeiss, Германия) под контролем видеокамеры, роботизированной системы контроля лазера PALM RoboSoftware v 4.6.

Материалы для выделения ДНК и праймеры. Для выделения геномной ДНК бактерий фенол-хлороформным методом [7] использовали: фенол жидкий, уравновешенный 10 мМ трис-HCl pH 8,0, 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (Sigma-Aldrich, США); хлороформ, стабилизированный этанолом (Sigma-Aldrich, США); протеиназу К из *Tritirachium album* (Amresco, США); лизоцим из яичного белка (Amresco, США). Праймеры «универсальные» для амплификации гена 16S рРНК: прямой – 27F 5'-AGAGTTTGGATCA TGGCTCAG-3', обратный – 1492R 5'-CGGTTACCT TGTTACGACTT-3' [8] (Евроген, Россия).

Секвенирование гена 16S рРНК проводили с помощью набора BigDye TM Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystem, США) и автоматического секвенатора ABI Prism Genetic Analyzer 3730XL (Applied Biosystems, США), а также программного пакета Sequencing Analysis 5.3.1 (Applied Biosystems, США).

Алайнмент гена 16S рРНК и проверка сиквенса на формирование химер выполнены с использованием программ Geneious R8 (Biomatters Ltd., США), DECIPHER [9] и UCHIME [10].

Построение дендрограмм для филогенетического анализа выполнено на основе баз данных HOMD 16S rRNA RefSeq v13.2, SILVA release 115 SSU Ref., NCBI refseq_rna/WGS/Reference genomic sequences/nucleotide collection, алгоритма megablast и программы CLUSTALW, а также метода neighbour-joining [11]. Дендрограммы строили в программе ARB [12] или Geneious R8 (Biomatters Ltd., США), с использованием приложения PhyML [13].

Сиквентс генома бактерий проведен набором TruSeq Rapid Cluster Kit – Paired-End and Single-Read (Illumina, США) согласно инструкции производителя, на секвенаторе Illumina HiSeq 2500 (Illumina, США) при конверсии исходных данных в fastq-формат с помощью программы BaseSpace (Illumina, США).

Сборка геномов бактерий выполнена с использованием программ Velvet v 1.2.10 [14], Mauve [15] с ресеквенированием участков, содержащих пробелы.

Аннотация генома в предварительном варианте сделана с помощью сервера RAST [16], полная — вручную с использованием программ GeneMarks [17], Infernal [18] и баз Rfam [19], Pfam [20], UniProt [21].

Статистическую обработку данных проводили с использованием интерактивного языка высокого уровня Octave [22] (критерии Стьюдента и Краскела—Уоллиса).

Результаты и обсуждение

Изучение состава микрофлоры ротовой полости здоровых детей и детей с онкогематологическими заболеваниями в стадии ремиссии проводили в одинаковых условиях с использованием стандартизованного набора описанных методов. В исследуемом материале обеих групп преобладали грамположительные кокки. В слюне здоровых детей было выявлено большее разнообразие морфотипов бактерий, также у них чаще встречались ветвистые и извитые формы, коккобациллы и грамтрицательные кокки. Клетки дрожжеподобных грибов встречались в половине мазков из слюны детей с онкогематологическими заболеваниями в стадии ремиссии и не встречались у здоровых детей.

При высевах исследуемого материала на питательные среды были получены многочисленные смешанные биопленки. По морфологии они были похожи на обычные изолированные колонии, образованные бактериями одного вида. Подобные смешанные микробные сообщества были нами ранее получены искусственным путем [23, 24]. Микроскопия мазков, приготовленных из этих биопленок, показала, что каждая из них содержит от 2 до 8 различных бактерий. В результате последовательных рассевов часть сме-

шанных биопленок удалось разделить и получить из них чистые культуры бактерий, пригодные для идентификации. В то же время большинство смешанных биопленок в использованных условиях разделить не удалось, образующие их бактерии росли только вместе. Это можно объяснить выраженной взаимозависимостью микробов, при которой внутри биопленок происходит обмен жизненно важными факторами, которые тот или иной микроорганизм не в состоянии продуцировать сам и которые отсутствуют в использованных питательных средах. Очевидно, что такие бактерии, относятся к «пока не культивируемым», поскольку имеющиеся методы не позволяют воспроизвести все условия, требующиеся данным микроорганизмам для роста в виде чистых культур.

Некоторые бактерии росли только в присутствии грибов. Такой симбиоз хорошо известен. Взаимодействие между грибами и патогенными бактериями привлекает большое внимание ученых, поскольку известно, что такие смешанные биопленки особенно устойчивы к воздействию противомикробных препаратов [25].

По результатам сравнения числа видимых и культивируемых бактерий слюны здоровых и больных детей можно заключить, что около 70 % микроорганизмов, выявленных при микроскопии, можно отнести к «пока не культивируемым», что соответствует современным результатам, получаемым при использовании различных методов.

Путем рассева смешанных микробных биопленок, полученных из слюны здоровых и больных детей, удалось выделить в виде чистых культур и идентифицировать по биохимической активности представителей 23 родов микроорганизмов. Среди них: 8 родов аэробных, 14 родов анаэробных бактерий и представители дрожжеподобных грибов рода *Candida* (рис. 1 и 2).

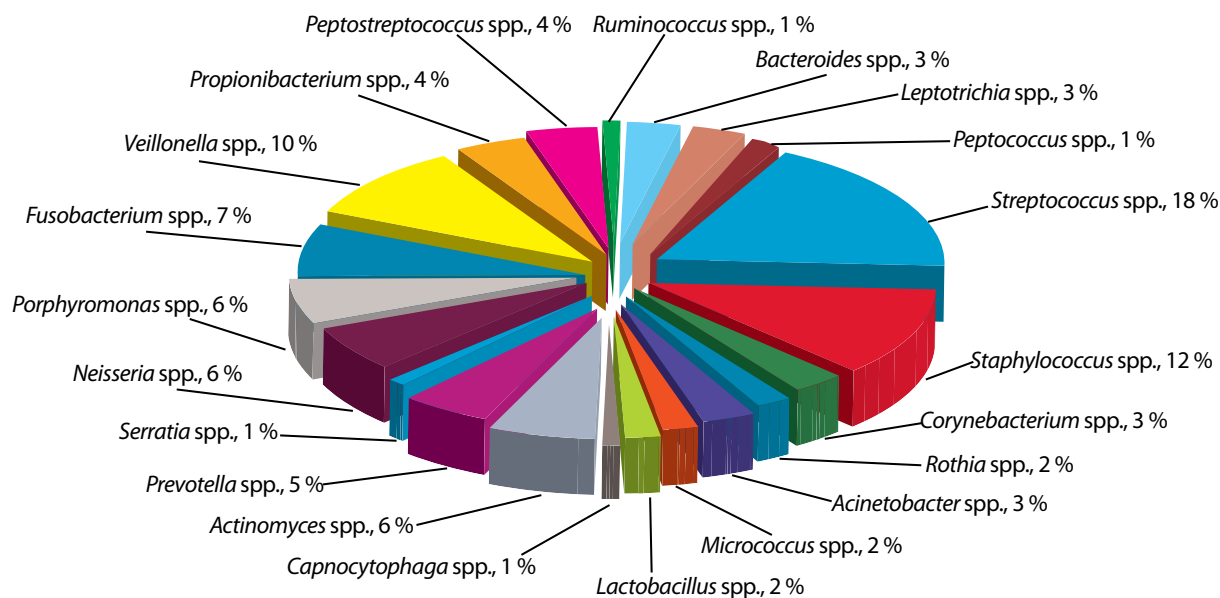


Рис. 1. Бактерии, выделенные из слюны здоровых детей

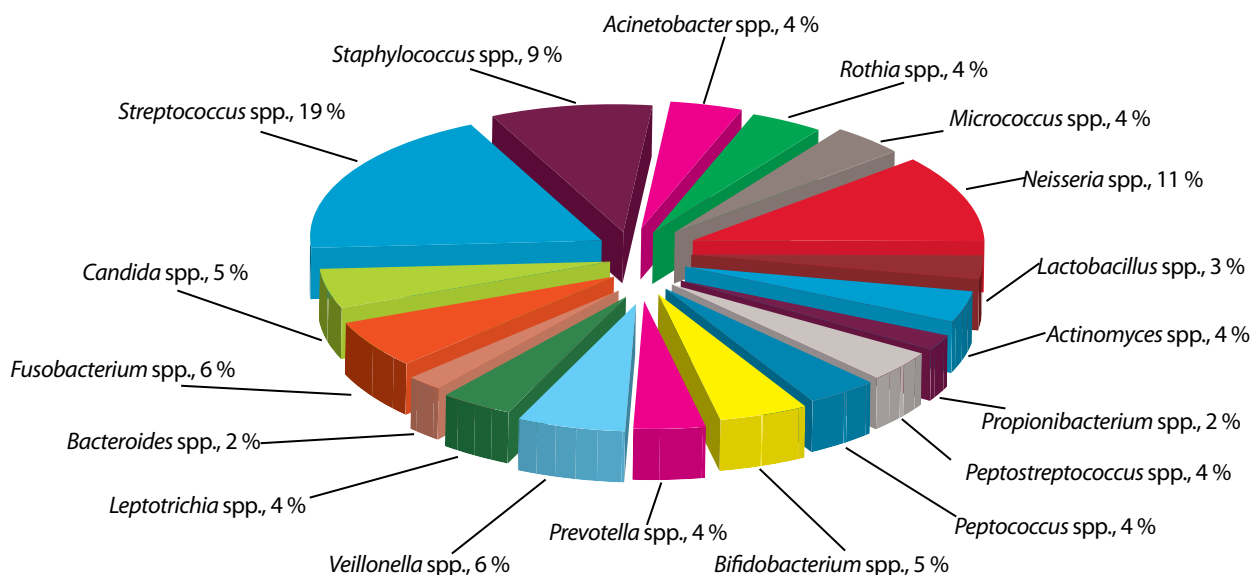


Рис. 2. Микроорганизмы, выделенные из слюны детей с онкогематологическими заболеваниями в стадии ремиссии

Поскольку в биопленках формируются условия для облегченного обмена генетической информацией, в том числе и генами, отвечающими за устойчивость к противомикробным препаратам [26], определение чувствительности к антибиотикам микроорганизмов, идентифицированных в слюне, позволяет сформировать представление о распространенности устойчивости к противомикробным препаратам среди детей.

Полученные результаты свидетельствуют о существовании различий распространения антибиотикоустойчивости в микрофлоре здоровых и больных детей. В микробиоте последних обнаружено повышенное по сравнению со здоровыми детьми содержание устойчивых клонов. Так, в микрофлоре больных детей были бактерии, устойчивые к амикацину, меропенему, эритромицину, рокситромицину. В микробиоте здоровых детей такие штаммы отсутствовали. Вероятно, это связано с длительным применением противомикробных препаратов у детей с онкогематологическими заболеваниями в период лечения. Следует отметить, что распространение генов антибиотикоустойчивости среди представителей нормальной микрофлоры представляет потенциальную опасность, поскольку в микробиоте, идентифицированной в ротовой полости обследованных детей, обнаружены в том числе и условно-патогенные микроорганизмы.

Среди биопленок, полученных из слюны 6 детей с онкогематологическими заболеваниями в стадии ремиссии, были выявлены микробные сообщества, в которых преобладали грамположительные кокки. Эти сообщества имели воспроизводимый рост на использованных средах, что дало возможность их детального изучения. С помощью лазерной микродиссекции из этих кокков была выделена ДНК, получены и секвенированы гены *16S* рРНК. В результате установлено, что во всех образцах исследуемые грамположительные кокки имели идентичную последовательность гена,

кодирующего *16S* рРНК, сходную с таковой у некоторых стрептококков, в частности *Streptococcus oralis* (Uo5) NCBI FR720602 [27], *Streptococcus mitis* (B6) EMBL FN568063 [28], *Streptococcus pneumoniae* (R6) GenBank AE007317 [29], *Streptococcus pseudopneumoniae* IS7493 GenBank CP002925 [30].

Для определения родственных отношений изучаемой и известных бактерий были построены дендрограммы, отражающие родство с различными грамположительными стрептококками, данные о которых находятся в базах *refseq_rna* (NCBI) и *HOMD* (Human Oral Microbiome Database, База микробиомов полости рта человека). По результатам сравнения гена *16S* рРНК были получены противоречивые данные, в связи с чем в дальнейшем мы ориентировались на результаты сравнения с данными базы *HOMD*, поскольку последняя признана наиболее полным ресурсом данных о составе микрофлоры полости рта человека [31] (рис. 3).

Наиболее близкородственным к изолированному нами штамму оказался некультивируемый *Streptococcus* sp. HOT_487 Entrez Link AY349414, при этом полного родства с ним обнаружено не было.

Для дальнейшего изучения наш штамм был изолирован путем культивирования на различных средах в аэробных и анаэробных условиях и изучен микробиологическими и биохимическими методами.

По данным световой микроскопии, эти бактерии представляют собой относительно крупные овальные грамположительные кокки, расположенные одиночно, парами или цепочками, состоящими из 3–4 бактерий. На электронограммах видно, что строение их клеточной стенки типично для грамположительных бактерий (рис. 4).

При изучении биохимических свойств выделенного штамма с использованием системы Vitek 2 (bioMérieux) и идентификационной карты GP (грамположительные

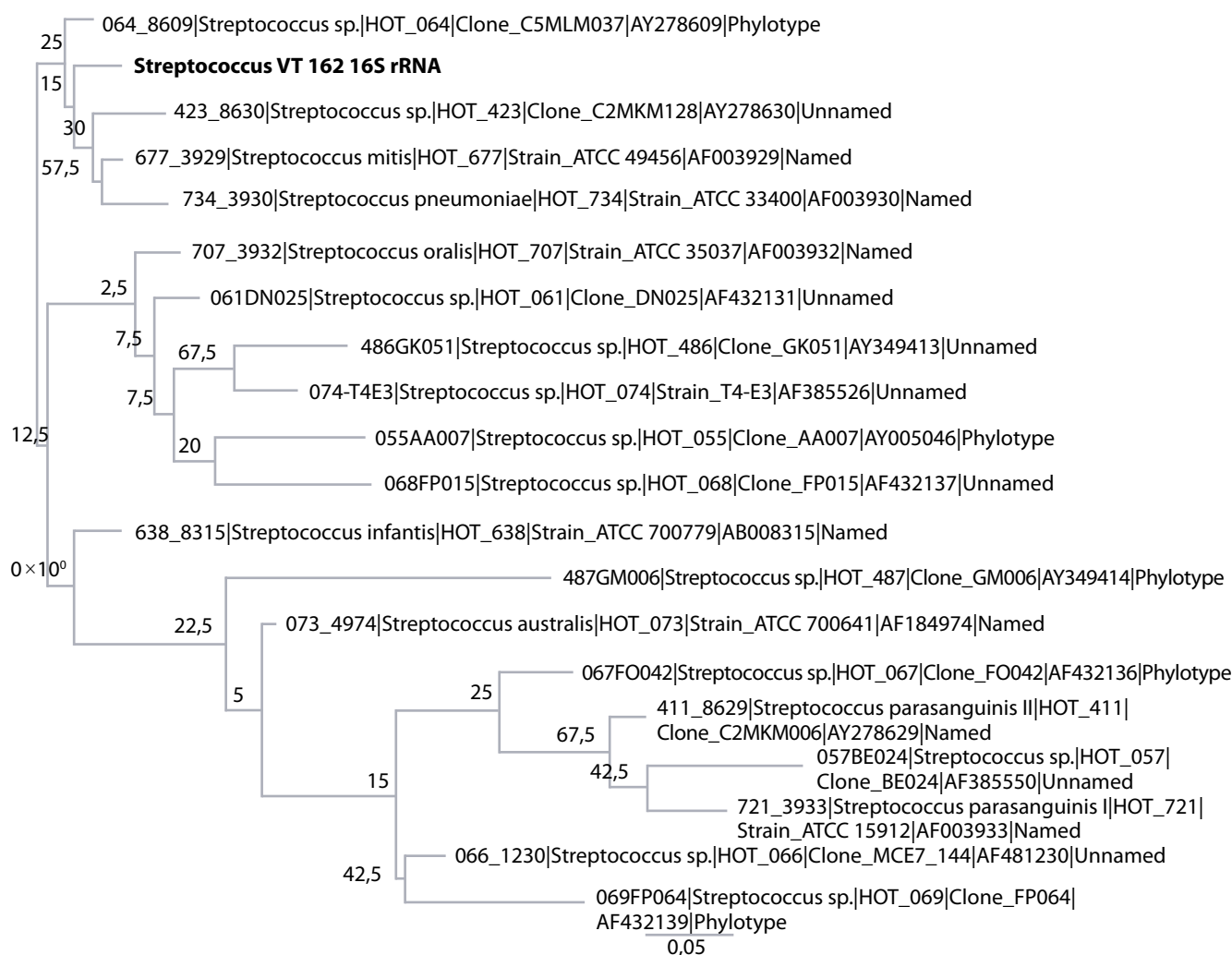


Рис. 3. Дендрограмма, построенная на основе базы HMD

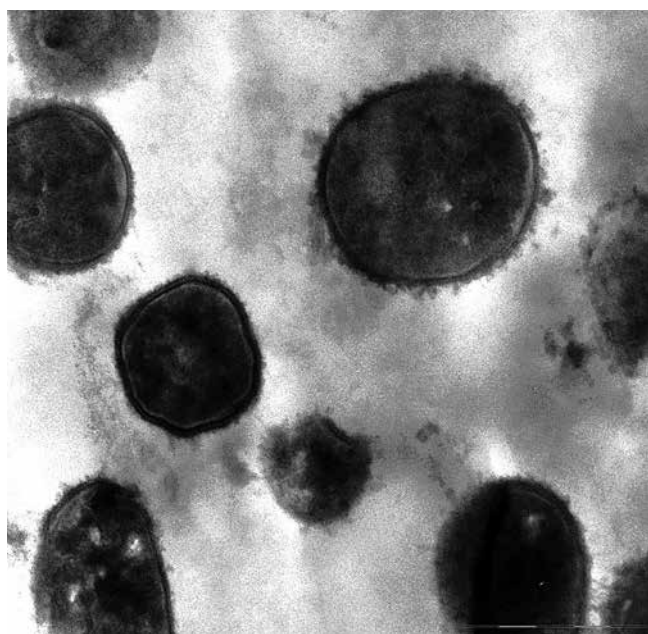


Рис. 4. Электронограмма грамположительных кокков, полученных в виде чистой культуры из биопленок, выделенных из слюны детей с онкогематологическими заболеваниями в стадии ремиссии

кокки), производящими исследование относительно 364 различных видов грамположительных кокков, микроорганизм был идентифицирован как *Granulicatella adiacens*. По результатам MALDI-TOF масс-спектрометрии, при которой полученные характеристики сравнивались с данными более чем 4000 видов бактерий [32], штамм был идентифицирован как *Streptococcus oralis*. При этом использованные анализаторы указывали на низкую достоверность дискриминации, не позволяющую точно идентифицировать микроб среди имеющихся в базе. Таким образом, по данным сиквенса 16S рНК, биохимического и протеомного анализов микроб точно идентифицировать не удалось. При этом следует учитывать имеющиеся в литературе данные, что среди ряда стрептококков выявлены тесные взаимоотношения и даже между *Streptococcus pneumoniae* и стрептококками группы *Mitis*, в частности сиквенс гена, кодирующего 16S рНК *Streptococcus mitis* и *Streptococcus oralis*, совпадает на 99 %, хотя сходство сиквенсов полных геномов этих бактерий составляет приблизительно 60 % [33].

В связи с этим был проведен полногеномный сиквенс изолированного штамма. В результате установ-

лен его размер, составляющий 2 045 418 п. о. с содержанием G+C, равным 41,1 %. Аннотация генома, проведенная вручную и с помощью сервера RAST, показала, что геном содержит 1935 белок-кодирующих последовательностей со средней длиной 909 п. о. Среди них были идентифицированы гены транспортеров, ассоциированных с полирезистентностью к противомикробным препаратам семейств ABC (ATP binding cassette), MATE (Multidrug and Toxic compound Extrusion), MFS (Major Facilitator Superfamily), DMT (Drug Metabolite Transporter), ген *vanZ*, связанный с устойчивостью к тейкопланину (антибиотик, относящийся к группе гликопептидов), гены бета-лактамаз класса A, фактора вирулентности MviN, адгезинов и экзотоксина — гемолизина III, а также гены белков биосинтеза капсулы CpsC и CpsI. Обращает на себя внимание, что некоторые гены антибиотикоустойчивости, обнаруженные в геноме данного штамма, не экспрессируются в условиях, использованных в данном исследовании.

Результаты виртуальной ДНК-ДНК гибридизации также свидетельствуют о сходстве изолированного штамма с бактериями рода *Streptococcus*, но он не может быть отнесен ни к одному из известных видов. Таким образом, по данным анализа полного генома изолированного

штамма можно заключить, что больше всего он похож на таковой у представителей рода *Streptococcus*, но принадлежит бактериям неизвестного пока вида.

Проведенные исследования показали, что существуют различия в составе микробиоты ротовой полости здоровых детей и детей с онкогематологическими заболеваниями в стадии ремиссии. Бактерии микробиоты детей с онкогематологическими заболеваниями содержат больше генов, контролирующих антибиотикоустойчивость. Кроме того, в составе их микробиоты обнаружены ранее неизвестные бактерии, которые после комплексного изучения были идентифицированы как представители неизвестного ранее вида стрептококков. Геном этих бактерий содержит гены, присущие патогенным и условно-патогенным бактериям, в первую очередь, кодирующие экзотоксин — гемолизин, адгезины и антибиотикоустойчивость. Обращает на себя внимание наличие большого числа генов, кодирующих устойчивость к широкому спектру лечебных препаратов, включая сравнительно редко применяемые пептидные препараты типа тейкопланина. Наличие большого количества генов устойчивости к различным препаратам у бактерии в микрофлоре детей позволяет предполагать, что данный штамм персистирует и передается среди больных онкогематологическими заболеваниями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sommer F., Bäckhed F. The gut microbiota — masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol* 2013;11:227–38.
2. Epstein S. *Microbiology monographs*. Springer Berlin Heidelberg, 2009. Pp. 10, 131–159.
3. Zaura E., Keijser B.J.F., Huse S.M., Crielaard W. Defining the healthy “core microbiome” of oral microbial communities. *BMC Microbiol* 2009;9:259.
4. David B., Richard C. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1–5. Springer, 2012.
5. Altschul S.F., Gish W., Miller W. et al. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 1990;215:403–10.
6. Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 2007;23:2947–4.
7. Миллер Д. Эксперименты в молекулярной генетике. М.: Мир, 1976. 440 с. [Miller D. *Experiments in molecular genetics*. M.: Mir, 1976. 440 p. (In Russ.)].
8. Frank J.A., Reich C.I., Sharma S. et al. Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. *Appl Environ Microbiol* 2008;74:2461–70.
9. Wright E.S., Yilmaz L.S., Noguera D.R. DECIPHER, a search-based approach to chimera identification for 16S rRNA sequences. *Appl Environ Microbiol* 2012;78:717–25.
10. Edgar R.C., Haas B.J., Clemente J.C. et al. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* 2011;27:2194–200.
11. Wiley E.O., Lieberman B.S. *Phylogenetics: theory and practice of phylogenetic systematics*. John Wiley & Sons Inc., 2011. Available at <http://www.wiley.com>.
12. Ludwig W., Strunk O., Westram R. et al. ARB: a software environment for sequence data. *Nucleic Acids Res* 2004;32:1363–71.
13. Guindon S., Dufayard J.F., Lefort V. et al. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst Biol* 2010;59:307–21.
14. Zerbino D.R. Using the Velvet de novo assembler for short-read sequencing technologies. *Curr Protoc Bioinformatics* 2010; chapter 11, unit 11.5.
15. Darling A.E., Mau B., Perna N.T. ProgressiveMauve: multiple genome alignment with gene gain, loss and rearrangement. *PLoS ONE* 2010;5:e11147.
16. Aziz R.K., Bartels D., Best A.A. et al. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. *BMC Genomics* 2008;9:75.
17. Besemer J., Lomsadze A., Borodovsky M. GeneMarkS: a self-training method for prediction of gene starts in microbial genomes. Implications for finding sequence motifs in regulatory regions. *Nucleic Acids Res* 2001;29:2607–18.
18. Nawrocki E.P., Eddy S.R. Infernal 1.1: 100-fold faster RNA homology searches. *Bioinformatics* 2013;29:2933–5.
19. Burge S.W., Daub J., Eberhardt R. et al. Rfam 11.0: 10 years of RNA families. *Nucleic Acids Res* 2013;41: D226–32.
20. Finn R.D., Bateman A., Clements J. et al. Pfam: the protein families database. *Nucleic Acids Res* 2014;42:D222–30.
21. UniProt Consortium. Activities at the Universal Protein Resource (UniProt). *Nucleic Acids Res* 2014;42:D191–8.
22. Eaton J.W., Bateman D., Hauberg S. A high-level interactive language for numerical computations (gnu.org, 2011).
23. Tetz V.V. Colony-like communities of bacteria. *Microbios* 1994;80:63–5.
24. Tetz V.V. Formation and structure of mixed bacterial communities. *APMIS* 1999;107:645–54.
25. Morales D.K., Hogan D.A. *Candida albicans* interactions with bacteria in the

context of human health and disease. PLoS Pathog 2010;6:e1000886.

26. Molin S., Tolker-Nielsen T. Gene transfer occurs with enhanced efficiency in biofilms and induces enhanced stabilisation of the biofilm structure. Curr Opin Biotechnol 2003;14:255–61.

27. Reichmann P., Nuhn M., Denapaite D. et al. Genome of *Streptococcus oralis* strain Uo5. J Bacteriol 2011;193: 2888–9.

28. Denapaite D., Brückner R., Nuhn M. et al. The genome of *Streptococcus mitis* B6 –

what is a commensal? PLoS One 2010;5:e9426.

29. Hoskins J., Alborn W.E. Jr, Arnold J. et al. Genome of the bacterium *Streptococcus pneumoniae* strain R6. J Bacteriol 2001;183:5709–17.

30. Shahinas D., Tamber G.S., Arya G. et al. Whole-genome sequence of *Streptococcus pseudopneumoniae* isolate IS7493. J Bacteriol 2011;193:6102–3.

31. Chen T., Yu W.H., Izard J. et al. The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral

microbe taxonomic and genomic information. Database (Oxford), 2010; baq013.

32. Schmitt B.H., Cunningham S.A., Dailey A.L. et al. Identification of anaerobic bacteria by Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry with on-plate formic acid preparation. J Clin Microbiol 2013;51:782–6.

33. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 3: The Firmicutes. Springer, 2009.

О гемопоэтических свойствах рибонуклеиновой кислоты лимфоцитов периферической крови больных истинной полицитемией и здоровых доноров

А.Г. Бабаева¹, Н.М. Геворкян², Н.В. Тишевская³, Л.Л. Головкина⁴, Ю.О. Муратова⁴, А.А. Рагимов⁵

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»; Россия, 117418, Москва, ул. Цюрупы, 3;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича»;

Россия, 119121, Москва, ул. Погодинская, 10, стр. 8;

³ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России;

Россия, 454092, Челябинск, ул. Воровского, 64;

⁴ФГБУ ГНЦ Минздрава России; Россия, 125167, Москва, Новый Зыковский проезд, 4а;

⁵Центр крови ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России; Россия, 119435, Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4

Контакты: Нина Михайловна Геворкян gevorkiann@yandex.ru

Суммарная рибонуклеиновая кислота (РНК), выделенная из лимфоцитов периферической крови доноров и лимфоцитов больного истинной полицитемией, стимулирует гемопоэз у крыс с токсической апластической анемией, развившейся в результате введения бензола. Суммарная РНК лимфоцитов больного истинной полицитемией оказывает более выраженное действие на эритроидный, миелоидный и мегакариоцитарный ростки кроветворения, чем суммарная РНК донорских лимфоцитов. Наибольший стимулирующий эффект препаратов РНК наблюдается начиная с 21-х суток после начала эксперимента. Суммарная РНК лимфоцитов больного истинной полицитемией в значительной степени активизирует эритропоэз, способствуя восстановлению количества ретикулоцитов у животных с апластической анемией до нормальных значений.

Ключевые слова: гемопоэз, эритремия, истинная полицитемия, патогенез, лимфоциты периферической крови, суммарная рибонуклеиновая кислота, человек, крыса

DOI: 10.17650/1818-8346-2015-10-2-58-62

About hematopoietic properties of peripheral blood lymphocytes RNA from patients with polycythemia vera and healthy donors

A.G. Babaeva¹, N.M. Gevorkyan², N.V. Tishevskaya³, L.L. Golovkina⁴, Yu.O. Muratova⁴, A.A. Ragimov⁵

¹Research Institute of Human Morphology; 3 Tsyurupy St., Moscow, 117418, Russia;

²V.N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry; 10, Bldg. 8 Pogodinskaya St., Moscow, 119121, Russia;

³South Ural State Medical University, Ministry of Health of Russia; 64 Vorovskogo St., Chelyabinsk, 454092, Russia;

⁴Hematological Research Center, Ministry of Health of Russia; 4a Novyy Zykovskiyy Pr-d, Moscow, 125167, Russia;

⁵Blood Center, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia;

2, Bldg. 4 Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, 119435, Russia

Total RNA isolated from peripheral blood lymphocytes of donor and patient with polycythemia, stimulates hematopoiesis in rats with toxic aplastic anemia due to benzene administration. Total RNA of lymphocytes from polycythemia patient has a more pronounced effect on the erythroid, myeloid and megakaryocytic hematopoiesis comparing to total RNA from donor lymphocytes. The greatest stimulatory effect of RNA observed after 21 days from the start of experiment. Total RNA of lymphocytes from polycythemia patient largely activates erythropoiesis promoting restoration of reticulocyte count in animals with aplastic anemia.

Key words: hematopoiesis, erythremia, polycythemia vera, pathogenesis, peripheral blood lymphocytes, total RNA, human, rat

Введение

Ранее нами было установлено, что в механизме реализации морфогенетической функции лимфоидных клеток ключевую роль играет рибонуклеиновая кислота (РНК) этих клеток. В частности, показано, что суммарная РНК, выделенная из лимфоидных клеток селезенки анемизированных крыс, в зависимости от фазы восстановительного процесса в кроветворной ткани приобретает способность стимулировать или ингибировать эритропоэз в культуре эритробластиче-

ских островков костного мозга [1, 2]. Эти работы стали первым шагом на пути к пониманию того, как именно Т-лимфоциты контролируют процесс восстановления эритропоэза. Эксперименты *in vitro* позволили нам ответить на главный вопрос: обладает ли суммарная РНК лимфоидных клеток такими же функциональными свойствами, какие присущи самим лимфоцитам в момент выделения их из организма. Очевидно, что за полученными нами данными должна последовать серия исследований, направленных не только на ре-

шение сложных задач изучения вне- и внутриклеточных механизмов передачи информации от Т-лимфоцитов к другим соматическим клеткам, но и на подтверждение целого ряда предположений.

При планировании данной работы нам хотелось получить ответы на следующие вопросы, которые очень важны для дальнейшего развития проблемы в целом.

1. Только ли суммарная РНК лимфоидных клеток селезенки обладает морфогенетической активностью, или это общее свойство суммарной РНК всех лимфоцитов, в частности лимфоцитов периферической крови?

2. Проявляются ли морфогенетические эффекты суммарной РНК лимфоцитов только в отношении эритропоэза, или они касаются всех ростков кроветворения?

3. Проявляются ли морфогенетические свойства суммарной РНК лимфоцитов только в системе *in vitro*, или они могут реализоваться в условиях целостного организма?

4. Только ли компенсаторная реакция эритроидной ткани индуцирует морфогенетическую функцию лимфоцитов, и способны ли другие процессы, сопровождающиеся усиленной пролиферацией эритроидных клеток, влиять на морфогенетическую активность лимфоидных клеток?

5. В какой мере ксеногенная суммарная РНК лимфоцитов способна воспроизводить их контролируемую морфогенез функцию?

Материалы и методы

Работа выполнена на 25 белых беспородных крысах-самках массой 120–140 г. Эксперименты проведены в соответствии с этическими нормами и рекомендациями по гуманизации работы с лабораторными животными, отраженными в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, принятой в 1985 г. в Страсбурге. Все манипуляции с животными производили под эфирным наркозом, эвтаназию грызунов осуществляли путем цервикальной дислокации, также проводимой под эфирным наркозом. Для создания модели гипопластической анемии интактным крысам подкожно трижды с интервалом 7 дней вводили равную по объему смесь бензола и стерильного растительного масла, при этом доза бензола составляла 0,05 мл/100 г массы тела животного. Через 35 дней после последней инъекции бензола в периферической крови крыс отмечалось значительное снижение количества эритроцитов, ретикулоцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, что свидетельствовало о развившейся гипоплазии всех ростков кроветворения в костном мозге. После анализа показателей периферической крови животные были случайным образом разделены на 3 группы. В качестве источника суммарной РНК в работе были использованы лимфоциты периферической крови 5 здоровых доноров и 1 больного истинной полицитемией. Больному Б., 1966 г. р., диагноз истинной полицитемии (называемой также эритремией или болезнью Вакеза) ПА стадии был поставлен

в 2010 г. в поликлиническом отделении Гематологического научного центра Минздрава России (Москва) на основании характерных жалоб, клинических анализов крови и цитологического исследования костного мозга. За время болезни ему дважды проводили эритроцитозферез и трижды — кровопускания в объеме 500 мл. В момент взятия лимфоцитов для нашего исследования результаты клинического анализа крови больного Б. были следующими: 160 г/л гемоглобина, $6,5 \times 10^{12}$ /л эритроцитов, $8,2 \times 10^9$ /л лейкоцитов, 210×10^9 /л тромбоцитов, гематокрит 53 %, скорость оседания эритроцитов 2 мм/ч. Лимфоциты доноров и больного истинной полицитемией получали путем центрифугирования цельной крови в смеси фикола и верографина с градиентом плотности 1,077. Суммарную РНК из лимфоцитов выделяли методом гуанидин тиоцианат-фенол-хлороформной экстракции по Хомчинскому. Животным опытных групп однократно внутривенно был введен препарат суммарной РНК смешанных лимфоцитов периферической крови доноров (группа РНК-1) или больного истинной полицитемией (группа РНК-2) из расчета 30 мкг/100 г веса крысы. Животным контрольной группы также внутривенно было введено по 0,1 мл 0,9 % раствора NaCl. Количество эритроцитов и лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева, число тромбоцитов — в мазке крови, кровь для подсчета ретикулоцитов окрашивали бриллиантовым крезиловым синим. Полученные результаты обрабатывались стандартными методами описательной статистики с расчетом средних значений, ошибки среднего, доверительных интервалов, стандартного отклонения. Сравнения групп проводились методами непараметрической статистики с использованием критериев Манна–Уитни и Вилкоксона. Различия считались статистически значимыми при вероятности ошибки первого рода $< 0,05$.

Результаты и обсуждение

Динамика изменений количества форменных элементов крови, наблюдаемая у крыс с бензольной анемией без какого-либо воздействия (контроль), а также происходящая под влиянием однократного введения испытуемых препаратов суммарной РНК, представлена в таблице. К началу эксперимента (через 35 дней после окончания введения бензола) количество всех форменных элементов крови у животных резко снизилось: число эритроцитов уменьшилось в 1,8 раза, ретикулоцитов — в 7,2 раза, лейкоцитов — в 4,6 раза, тромбоцитов — в 5,3 раза.

Через 5 сут после введения суммарной РНК лимфоцитов здоровых доноров или больного истинной полицитемией в периферической крови животных обеих опытных групп отмечалось достоверное увеличение количества ретикулоцитов в сравнении с контрольными значениями. К 10-м суткам, помимо дальнейшего увеличения числа ретикулоцитов, в крови подопытных животных обеих групп начался рост количества лейкоцитов, а также числа тромбоцитов в груп-

Влияние препаратов РНК лимфоцитов доноров и лимфоцитов больного истинной полицитемией на количество форменных элементов в крови крыс с бензольной анемией

Группа	Ретикулоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	Эритроциты ($\times 10^{12}/\text{л}$)	Лейкоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	Тромбоциты ($\times 10^9/\text{л}$)
Интактные животные ($n = 10$)	$46,7 \pm 3,2$	$9,8 \pm 1,5$	$11,5 \pm 1,1$	$468,6 \pm 23,2$
Бензольная анемия ($n = 15$)	$6,4 \pm 0,3$	$5,5 \pm 0,2$	$2,5 \pm 0,1$	$87,7 \pm 2,8$
5-е сутки после введения суммарной РНК				
Контроль ($n = 5$)	$6,6 \pm 0,5$	$5,5 \pm 0,2$	$2,5 \pm 0,05$	$86,8 \pm 2,2$
РНК-1 ($n = 5$)	$10,8 \pm 0,6^*$	$5,8 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,05$	$91,0 \pm 1,7$
РНК-2 ($n = 5$)	$11,4 \pm 0,7^*$	$5,7 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,1$	$93,8 \pm 1,9$
10-е сутки после введения суммарной РНК				
Контроль ($n = 5$)	$6,8 \pm 0,4$	$5,7 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,07$	$90,0 \pm 3,2$
РНК-1 ($n = 5$)	$13,2 \pm 0,6^*$	$5,9 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,07^*$	$98,8 \pm 1,4$
РНК-2 ($n = 5$)	$15,6 \pm 0,5^*$	$5,9 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,06^*$	$106,0 \pm 2,1^*$
16-е сутки после введения суммарной РНК				
Контроль ($n = 5$)	$7,6 \pm 0,5$	$5,6 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,1$	$91,6 \pm 4,0$
РНК-1 ($n = 5$)	$12,2 \pm 0,7^*$	$6,0 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,08^*$	$113,8 \pm 2,6^*$
РНК-2 ($n = 5$)	$22,0 \pm 1,3^{*\Delta}$	$6,1 \pm 0,2$	$3,8 \pm 0,07^{*\Delta}$	$143,4 \pm 3,2^{*\Delta}$
21-е сутки после введения суммарной РНК				
Контроль ($n = 5$)	$11,0 \pm 0,6$	$5,5 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,09$	$109,2 \pm 4,6$
РНК-1 ($n = 5$)	$17,0 \pm 1,3^{*\Delta}$	$6,2 \pm 0,1^*$	$3,5 \pm 0,1^*$	$125,2 \pm 3,3^{*\Delta}$
РНК-2 ($n = 5$)	$46,1 \pm 3,2^{*\Delta}$	$8,2 \pm 0,2^{*\Delta}$	$4,1 \pm 0,2^{*\Delta}$	$266,0 \pm 16,2^{*\Delta}$
25-е сутки после введения суммарной РНК				
Контроль ($n = 5$)	$13,4 \pm 1,1$	$5,6 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,08$	$109,0 \pm 3,5$
РНК-1 ($n = 5$)	$21,6 \pm 1,4^{*\Delta}$	$6,1 \pm 0,1^*$	$4,2 \pm 0,2^*$	$148,8 \pm 4,1^{*\Delta}$
РНК-2 ($n = 5$)	$48,0 \pm 2,1^{*\Delta}$	$8,5 \pm 0,2^{*\Delta}$	$5,9 \pm 0,3^{*\Delta}$	$328,4 \pm 14,9^{*\Delta}$
30-е сутки после введения суммарной РНК				
Контроль ($n = 5$)	$14,2 \pm 1,4$	$6,5 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,2$	$117,0 \pm 5,4$
РНК-1 ($n = 5$)	$29,8 \pm 1,7^{*\Delta}$	$7,6 \pm 0,3^*$	$4,7 \pm 0,3^*$	$201,2 \pm 12,6^{*\Delta}$
РНК-2 ($n = 5$)	$51,2 \pm 3,2^{*\Delta}$	$9,1 \pm 0,4^{*\Delta}$	$7,9 \pm 0,3^{*\Delta}$	$401,4 \pm 9,2^{*\Delta}$
36-е сутки после введения суммарной РНК				
Контроль ($n = 5$)	$12,2 \pm 1,2$	$6,0 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,2$	$107,8 \pm 5,5$
РНК-1 ($n = 5$)	$28,4 \pm 2,3^*$	$8,1 \pm 0,2^*$	$4,4 \pm 0,3^*$	$223,8 \pm 5,3^*$
РНК-2 ($n = 5$)	$46,8 \pm 2,5^{*\Delta}$	$8,7 \pm 0,3^*$	$9,1 \pm 0,4^{*\Delta}$	$413,4 \pm 10,2^{*\Delta}$
45-е сутки после введения суммарной РНК				
Контроль ($n = 5$)	$15,8 \pm 1,7$	$5,8 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,2$	$129,6 \pm 5,1$
РНК-1 ($n = 5$)	$29,0 \pm 2,4^*$	$7,6 \pm 0,1^*$	$5,0 \pm 0,3^*$	$327,8 \pm 14,2^*$
РНК-2 ($n = 5$)	$39,2 \pm 1,7^{*\Delta}$	$7,9 \pm 0,2^*$	$8,5 \pm 0,3^{*\Delta}$	$436,8 \pm 24,4^{*\Delta}$

Примечание. * — наличие достоверных различий между показателями животных контрольной группы и опытных групп, получивших препараты РНК ($p < 0,05$); Δ — наличие достоверных различий между показателями опытных групп животных, получивших препараты РНК-1 и РНК-2 ($p < 0,05$); Δ — достоверность различий по отношению к предыдущему сроку наблюдения ($p < 0,05$).

пе крыс, получивших суммарную РНК, выделенную из лимфоцитов больного истинной полицитемией. В последующие сроки наблюдения различия в активности исследуемых препаратов суммарной РНК проявились в полной мере. Начиная с 21-х суток наблюдения количество форменных элементов у подопытных животных обеих групп достоверно превышало контрольные значения. Однако прирост показателей в группе крыс, получивших суммарную РНК лимфоцитов больного истинной полицитемией, был значительно больше и достоверно отличался от числа форменных элементов в крови животных, которым была произведена инъекция суммарной РНК лимфоцитов доноров. Важно отметить, что наиболее значимые различия в стимулирующем эффекте препаратов суммарной РНК наблюдались после 21-х суток воздействия препаратов. В этот период по числу ретикулоцитов, лейкоцитов и тромбоцитов крысы группы РНК-2 превосходили группу РНК-1 почти в 2 раза, что свидетельствует об особенно ярко выраженной активности препарата РНК-2 в этот отрезок времени. Обращает на себя внимание тот факт, что эритроидный росток кроветворения оказался наиболее чувствительным к действию суммарной РНК, выделенной из лимфоцитов больного истинной полицитемией. Так, уже к 21-му дню эксперимента количество ретикулоцитов в крови крыс группы РНК-2 достигло показателей интактных животных, т. е. физиологического уровня воспроизводства эритроидных клеток. Количество эритроцитов в периферической крови подопытных животных превышало контрольные значения в обеих группах также после 21-х суток, а на 30-е сутки показатели группы РНК-2 достоверно отличались от показателей в группе РНК-1. В связи со столь бурной регенерацией клеток костного мозга, наблюдаемой у животных группы РНК-2, у нас возникло опасение, не приведет ли введение суммарной РНК лимфоцитов больного истинной полицитемией к индукции неуправляемой пролиферации гемопоэтических клеток. Однако анализ количества форменных элементов в крови этой группы крыс в последующие сроки (после 45-х суток) показал, что ни одна из гемопоэтических линий не превысила уровни нормальных показателей периферического звена гемопоэза. Так, на 57-е и 70-е сутки после однократного введения препаратов суммарной РНК число ретикулоцитов в обеих опытных группах составляло в среднем $32 \times 10^9/\text{л}$, количество эритроцитов — $7,6 \times 10^{12}/\text{л}$, лейкоцитов — $8,5 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов — $420 \times 10^9/\text{л}$. Эти значения хотя и были достоверно больше показателей контрольной группы животных, но все же не превышали уровень форменных элементов у интактных крыс.

Механизм влияния суммарной РНК лимфоцитов периферической крови пациента с истинной полицитемией на гемопоэз крыс с гипоплазией костного мозга может быть связан, в частности, с изменением спектра молекул внеклеточного матрикса. Показано, что

в лимфоцитах больных эритремией усилена экспрессия мРНК фибронектина [3], который вместе с протеогликанами и гликозаминогликанами поддерживает в костном мозге гемопоэз-индуцирующее микроокружение [4–6]. На прямую связь стимулирующего действия РНК с секрецией гликозаминогликанов указывают данные, полученные при изучении регенерата костной ткани. Так, у животных с переломами трубчатых костей через 2 нед после введения суммарной РНК в межклеточном веществе регенерирующего участка отмечалось значительное увеличение количества этих полисахаридов [7]. Ранее были получены данные о том, что и компенсаторный ответ кроветворной ткани связан с увеличенным синтезом хондроитинсульфата, гепарансульфата и дерматансульфата [8–10].

О возможной роли Т-лимфоцитов в патогенезе истинной полицитемии упоминается и в работах других исследователей. Так, были получены данные о том, что в крови больных истинной полицитемией существенно увеличивается количество регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) фенотипа $\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{FOXP3}^+$, обладающих более выраженной функциональной активностью по сравнению с Treg здоровых доноров [11], что, по мнению авторов, является основной причиной дисбаланса в системе Т-клеточного иммунитета при данной патологии. Дисбаланс Т-клеточного звена и в нашем исследовании наблюдался у больного истинной полицитемией, из лимфоцитов которого была получена суммарная РНК. Популяционный анализ Т-клеток больного Б. выявил у него увеличение содержания Т-лимфоцитов фенотипа $\text{CD3}^+\text{CD45}^+\text{CD4}^+$ до 62,3 % (при норме 31–49 %) и Т-лимфоцитов фенотипа $\text{CD3}^+\text{CD45}^+\text{CD8}^+$ до 35 % (при норме 12–30 %). Группа американских онкогематологов показала, что Т-лимфоциты больных истинной полицитемией, в отличие от нормальных Т-лимфоцитов, синтезируют интерлейкин-11, который в комбинации с интерлейкином-3 является одним из главных стимуляторов пролиферации клеток-предшественниц гемопоэза. Кондиционированная среда, полученная при культивировании Т-лимфоцитов пациентов с истинной полицитемией, способствовала формированию в культуре эритроидных и мегакариоцитарных колоний из стволовых CD3^+ -клеток пуповинной крови [12]. Эти работы согласуются с полученными нами результатами и подтверждают нашу точку зрения о том, что нарушения эритропоэза при эритремии являются следствием дисфункции именно Т-лимфоцитов, играющих, по-видимому, существенную роль в патогенезе данного заболевания. Однако и в здоровом организме стимуляция эритроидного ростка кроветворения находится под контролем Т-лимфоцитарного звена. Оказалось, что не только стимуляция выработки эритропоэтина в почках при гипоксии [13] способствует ускоренному созреванию и выходу ретикулоцитов в кровяное русло. При моделировании условий высокогорья, аналогичных нахождению на уровне 6000 м над уровнем моря,

в костном мозге мышей значительно увеличивалось количество Т-хелперов фенотипа Th2. *In vitro* эти костномозговые CD4⁺ Т-клетки активно стимулировали пролиферацию и дифференцировку эритроидных клеток-предшественников и эритробластов [14], что, с нашей точки зрения, является еще одним подтверждением участия Т-лимфоцитов в патогенезе полицитемии.

Выводы

Подводя итог полученным нами данным, можно с полной определенностью заключить: суммарная РНК лимфоцитов периферической крови обладает, так же как и лимфоидные клетки селезенки, выраженной морфогенетической активностью, которая проявляется в ее способности стимулировать гемопоэз у животных-реципиентов другого вида, что сви-

детельствует об отсутствии ксеногенного ограничения в действии препарата. Это активирующее гемопоэз действие суммарной РНК лимфоцитов больных истинной полицитемией примерно вдвое выше, чем суммарной РНК лимфоцитов здоровых доноров. Действие препаратов РНК начинается быстро и продолжается длительное время, не переходя при данном режиме введения границ нормальных значений исследованных показателей периферической крови. В то же время чрезвычайно важны полученные нами сведения об активности суммарной РНК лимфоцитов здоровых доноров как факт непосредственного участия системы лимфоидной регуляции в контроле гемопоэтической функции. По нашему убеждению, нарушение эритропоэза при эритремии является следствием дисфункции именно Т-лимфоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Комарова И.А. Влияние препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки крыс на эритропоэз *in vitro*. Клиническая и экспериментальная морфология 2014;4(12):35–9. [Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Komarova I.A. Effects of preparations of total RNA from lymphoid cells of rat spleen on *in vitro* erythropoiesis. Klinicheskaya i eksperimentalnaya morfologiya = Clinical and Experimental Morphology 2014;4(12):35–9. (In Russ.)].
2. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Комарова И.А. Влияние препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки на эритропоэз в культуре эритробластических островков крыс с полицитемией. Клиническая и экспериментальная морфология 2014;4(12):40–3. [Babaeva A.G., Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Komarova I.A. Influence of preparations of total RNA from splenic lymphoid cells on erythropoiesis in the culture of erythroblastic islets from rats with polycythemia. Klinicheskaya i eksperimentalnaya morfologiya = Clinical and Experimental Morphology 2014;4(12):40–3. (In Russ.)].
3. Kulinich A.O., Minchenko D.O., Maslak H.S. et al. Fibronectin-1 expression in lymphocytes of patients with erythremia. Ukr Biokhim Zh 2010;82(4):53–9.
4. Tsai S., Patel V., Beaumont E. Differential binding of erythroid and myeloid progenitors to fibroblasts and fibronectin. Blood 1987;69(6):1587–99.
5. Tada T., Fukuta K. Expression of cell adhesion molecules at the collapse and recovery of haematopoiesis in bone marrow of mouse. Anat Histol Embryol 2010;39(5):403–10.
6. Харченко М.Ф., Рыбакова Л.П., Корнилова Н.В., Захаров Ю.М. Роль гликозаминогликанов и протеогликанов в гемопоэзе и физиологических функциях клеток крови. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова 1996;82(5–6):18–25. [Kharchenko M.F., Rybakova L.P., Kornilova N.V., Zakharov Yu.M. The role of glycosaminoglycans and proteoglycans in hematopoiesis and physiological functions of blood cells. Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova = I.M. Sechenov Russian Physiological Journal 1996;82(5–6):18–25. (In Russ.)].
7. Белоус А.М., Годин В.П., Панков Е.А. Экзогенные нуклеиновые кислоты и восстановительные процессы. М.: Медицина, 1974. 200 с. [Belous A.M., Godin V.P., Pankov E.A. The exogenous nucleic acid and regenerative processes. M.: Medicine, 1974. 200 p. (In Russ.)].
8. Корнилова Н.В., Захаров Ю.М., Рассохин А.Г. О возможной роли кислых гликозаминогликанов в поддержании эритропоэза в эритробластических островках костного мозга. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова 1994;80(3):83–7. [Kornilova N.V., Zakharov Yu.M., Rassokhin A.G. The possible role of acidic glycosaminoglycans in maintaining erythropoiesis in the bone marrow erythroblastic islands. Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova = I.M. Sechenov Russian Physiological Journal 1994;80(3):83–7. (In Russ.)].
9. Харченко М.Ф., Корнилова Н.В., Захаров Ю.М., Битюкова Е.С. Гликозаминогликаны эритробластических островков костного мозга крыс. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова 1994;80(11):32–6. [Kharchenko M.F., Kornilova N.V., Zakharov Yu.M., Bitukova E.S. Glycosaminoglycans in erythroblastic islands of rat bone marrow. Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova = I.M. Sechenov Russian Physiological Journal 1994;80(11):32–6. (In Russ.)].
10. Харченко М.Ф., Корнилова Н.В., Захаров Ю.М., Битюкова Е.С. Гликозаминогликаны эритробластических островков при угнетении и последующей стимуляции эритропоэза. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова 1995;81(7):141–4. [Kharchenko M.F., Kornilova N.V., Zakharov Yu.M., Bitukova E.S. Glycosaminoglycans of erythroblastic islands in the depression and the subsequent stimulation of erythropoiesis. Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova = I.M. Sechenov Russian Physiological Journal 1995;81(7):141–4. (In Russ.)].
11. Zhao W.B., Li Y., Liu X. et al. Involvement of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in the pathogenesis of polycythemia vera. Chin Med J 2008;121(18):1781–6.
12. Ishii T., Zhao Y., Shi J. et al. T cells from patients with polycythemia vera elaborate growth factors which contribute to endogenous erythroid and megakaryocyte colony formation. Leukemia 2007;21(12):2433–41.
13. Захаров Ю.М., Тишевская Н.В., Шевяков С.А. и др. Антигипоксические и протекторные свойства эритропоэтина. Медицинская наука и образование Урала 2008;9(2):40–3. [Zakharov Yu.M., Tishevskaya N.V., Shevyakov S.A. et al. Antihypoxic and protective properties of erythropoietin. Meditsinskaya nauka i obrazovanie Urala = Urals Medical Science and Education 2008;9(2):40–3. (In Russ.)].
14. Li P., Zheng S.J., Jiang C.H. et al. Th2 lymphocytes migrating to the bone marrow under high-altitude hypoxia promote erythropoiesis via activin A and interleukin-9. Exp Hematol 2014;42(9):804–15.

Сравнительная характеристика методов заготовки и клинического применения аферезных концентратов тромбоцитов с использованием добавочного раствора

О.В. Карпова¹, И.В. Образцов¹, П.Е. Трахтман¹, А.А. Игнатова¹, М.А. Пантелеев¹⁻³, С.А. Румянцев^{1, 4, 5}

¹ФГБУ ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России; Россия, 117198, Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» РАН;

Россия, 119991, Москва, Ленинский просп., 38А, корп. 1;

³ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119234, Москва, ул. Ленинские горы, 1

⁴ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1;

⁵ФГАУ ВПО «Московский физико-технический институт (государственный университет)»;

Россия, 141700, Московская область, Долгопрудный, Институтский пер., 9;

Контакты: Оксана Викторовна Карпова ovk_67@mail.ru

Использование концентратов тромбоцитов (КТ) нашло повсеместное применение в области онкологии, онкогематологии и трансплантации костного мозга. Одной из основных задач клинической трансфузиологии является разработка и совершенствование технологий, направленных на улучшение качества и безопасности КТ. К таким технологиям относится, в частности, применение добавочных растворов (ДР). Существенными достоинствами этого подхода являются: снижение риска иммунных и неиммунных трансфузионных реакций, повышение качества инактивации патогенов, а также улучшение клинического эффекта трансфузий КТ после хранения. На сегодняшний день предложено большое количество различных ДР и методик их использования. В настоящем обзоре систематизированы современные данные о возможностях применения различных ДР и преимуществах их использования в клинической практике.

Ключевые слова: концентрат тромбоцитов, добавочный раствор, PAS-B, PAS-C, PAS-D, PAS-E, PAS-F, M-sol, Setosol, PAS-G, функциональная активность тромбоцитов

DOI: 10.17650/1818-8346-2015-10-2-63-68

Comparison of harvesting methods and clinical application of apheresis platelet concentrates with additive solution

O. V. Karpova¹, I. V. Obraztsov¹, P. E. Trakhtman¹, A. A. Ignatova¹, M. A. Panteleev¹⁻³, S. A. Rumyantsev^{1, 4, 5}

¹Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitriy Rogachev, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow, 117198, Russia;

²Theoretical Problems Center of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences; 38A, Bldg. 1 Leninskiy Pros., Moscow, 119991, Russia;

³M.V. Lomonosov Moscow State University; 1 Leninskie Gory St., Moscow, 119234, Russia

⁴N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow, 117997, Russia;

⁵Moscow Institute of Physics and Technology (State University); 9 Institutskiy per., Dolgoprudnyy, Moscow Region, Russia, 141700;

Platelet concentrates (PC) are used worldwide in the fields of oncology, oncohaematology and bone marrow transplantation. One of the main tasks of clinical transfusiology is the development and improvement of technologies aimed to increase quality and safety of PC. In particular, such technologies are represented by using of platelet additive solutions (PAS). The main advantages of this approach are: a reduction of immune and non-immune transfusion reactions risk, an improvement of pathogen inactivation quality and enhancing a clinical effect of PC transfusions after storage. Numerous different PAS and methodologies of their application are suggested to date. In this review we have described and classified recent data on different PAS and the benefits of their clinical application.

Key words: platelet concentrates, platelet additive solutions, PAS-B, PAS-C, PAS-D, PAS-E, PAS-F, M-sol, Setosol, PAS-G, trombocyte function

Сегодня трансфузии аллогенных концентратов тромбоцитов (КТ) используются у детей с онкогематологическими заболеваниями для профилактики или купирования геморрагического синдрома, развившегося вследствие тромбоцитопении или тромбоцитопатии. Указанные осложнения характерны для различных заболеваний кроветворной системы, а так-

же являются следствием миелотоксического воздействия цитостатиков и/или лучевой терапии [1]. Интенсивность и агрессивность современных протоколов химиотерапии, широкое внедрение технологий трансплантации гемопоэтических стволовых клеток делают донорский КТ самым востребованным компонентом крови.

В США за период с 1971 по 1980 г. число переливаний КТ увеличилось с 410 000 до 2 860 000 доз в год (на 59,8 %), а с 1980 по 1986 г. — еще на 19,1 % [2]. В 2003 г. в России было заготовлено 2 843 616 доз крови, 190 834 дозы тромбоцитов (6,7 %), в 2011 г. — 2 212 398 доз крови, 530 294 дозы тромбоцитов (24,0 %). Таким образом, доля полученных тромбоцитов увеличилась в 3,57 раза, несмотря на снижение количества донаций [3]. Необходимость совершенствования технологии заготовки КТ обусловлена задачей минимизации риска трансфузионных реакций и максимальной стандартизации качества переливаемых компонентов крови [4, 5].

К основным проблемам безопасности проводимой трансфузионной терапии относятся: ограниченный объем панели скрининга патогенов (включающей в Российской Федерации только вирусы гепатитов В и С, вирус иммунодефицита человека, а также серологические реакции на сифилис), риск потенциальной бактериальной контаминации и развития негемолитических (фебрильных) трансфузионных реакций, связанных с аллогенными донорскими лейкоцитами и белками плазмы [6–12]. Указанные проблемы нельзя решить окончательно, поэтому необходимо использовать максимальные возможности для сведения посттрансфузионных рисков к минимуму.

Неинфекционные иммунологические трансфузионные осложнения обусловлены присутствием в компонентах крови жизнеспособных аллогенных лейкоцитов, сохраняющихся в следовых количествах после процедуры фильтрации донорской крови. К таким осложнениям относят: лихорадочные негемолитические реакции, острое поражение легких, связанное с переливанием, аллоиммунизацию к лейкоцитарным антигенам, формирование рефрактерности к трансфузиям КТ, болезнь «трансплантат против хозяина» [13–17]. Доказана роль донорских лейкоцитов в развитии полиорганной недостаточности у больных, получавших массивные гемотрансфузии [18].

Поэтому на сегодняшний день крайне актуален поиск оптимальных способов заготовки и методов обработки компонентов крови с целью минимизации риска посттрансфузионных реакций (иммунного и неиммунного генеза). Особенно важен этот вопрос в отношении больных с иммуносупрессией [19, 20].

В последнее десятилетие на фоне роста количества заместительных трансфузий [21–24] все больший интерес представляет заготовка КТ с применением добавочных растворов (ДР) для снижения риска развития негемолитических посттрансфузионных реакций. Кроме того, использование ДР при заготовке КТ способствует сохранению функциональной активности тромбоцитов при длительных сроках хранения [25–27]. Взвешивающие растворы специально созданы для стандартизации оптических свойств КТ, что необходимо для повышения надежности инактивации вирусов.

Процедура заготовки и хранения тромбоцитов приводит к выраженным изменениям их морфологических и функциональных характеристик, что в свою очередь ведет к снижению терапевтической эффективности трансфузионной терапии [28, 29]. Это явление известно как «повреждение тромбоцитов при хранении» (platelets storage lesion, PSL). Применяемые способы заготовки и обработки компонентов крови должны обеспечивать максимальное сохранение функциональной активности и жизнеспособности выделенных клеток крови при гемотрансфузиях.

Существуют различные методы получения КТ: из цельной крови и методом афереза. За последние годы во многих изданиях было опубликовано множество результатов исследований, посвященных анализу различных методик заготовки КТ. Эффективность разных технологий заготовки КТ рассматривают не только с точки зрения качества, эффективности и безопасности продуктов крови, но и с точки зрения проблемы безопасности доноров и производительности пунктов взятия крови. В современной трансфузиологии отработаны 3 различных метода сбора тромбоцитов: тромбоциты из лейкоцитарной пленки (ТЛП), тромбоциты из обогащенной тромбоцитами плазмы (ТОТП) и тромбоциты от одного донора (ТОД), которые могут быть собраны с помощью различных систем афереза [30].

Метод получения ТЛП основан на получении целевых клеток путем жесткого центрифугирования отдельных доз цельной крови на высоких скоростях, после чего происходит разделение на эритроциты, плазму и лейкоцитарную пленку. После этого объединяют от 4 до 6 лейкоцитарных пленок и центрифугируют на небольшой скорости. Это позволяет удалить оставшиеся лейкоциты и получить один общий КТ. Этот метод был разработан исследователями из Нидерландов и Швеции [31] и в основном используется в Европе и последнее время в Канаде.

ТОТП получают путем первичного мягкого центрифугирования отдельных доз цельной крови на низких скоростях, в результате чего отделяется обогащенная тромбоцитами плазма. Затем тромбоциты, находящиеся в обогащенной тромбоцитами плазме, сепарируются от плазмы на высокой скорости, в результате чего большая часть плазмы удаляется. Полученные тромбоциты хранятся отдельно или объединяются по 4–6 единиц для получения 1 дозы тромбоцитов. Метод ТОТП используется главным образом в США, Восточной Европе, на Среднем Востоке и в Азии.

Под ТОД понимают КТ из одной или нескольких терапевтических доз, собранный в течение одной кроводачи от одного донора. ТОД получают с использованием различных технологий афереза. В табл. 1 приведен обзор современных аферезных технологий и перечислены принципы действия каждой из них.

Преимущества ТОД по сравнению с ТЛП (снижение потребности в переливании крови, меньшее воздействие на пациента, сбор тромбоцитов, соответствующий

Таблица 1. Технологии тромбоцитафереза

Технология	Производитель	Непрерывный/прерывистый поток в центрифугу	Сепарационная камера	Лейкоредукция	Наличие повторного суспендирования тромбоцитов после сбора
Trima Accel	TerumoBCT, Lakewood, CO, США	Непрерывный	Круглая	Технология флюидизированного слоя частиц (камера ЛРС)	Нет
Amicus	Fenwal, Lake Zurich, IL, США	Непрерывный	Ленточная	Элютриация	Да
MCS+	Haemonetics, Braintree, MA, США	Прерывистый	Сосуд Лэтхэма	Проточная фильтрация	Нет

щих антителам HLA) также относятся и к сравнению ТОД и ТОТП.

Новым направлением в современной трансфузиологии является заготовка КТ с пониженным содержанием плазмы (КТПСП). Этот способ заготовки можно рассматривать как один из способов заготовки компонентов крови с целью уменьшения частоты трансфузионных реакций, связанных с биоактивными компонентами плазмы.

В соответствии с определением Европейского директората по качеству медицинских препаратов (EDQM), КТПСП – это компоненты крови, полученные посредством афереза ТОД с использованием оборудования для автоматической сепарации клеток, с содержанием тромбоцитов в терапевтически эффективной дозе, суспендированных в смеси из плазмы (30–40 %) и раствора для хранения (60–70 %) [32]. Такие КТ оказались в центре внимания по нескольким причинам: увеличение потребности индустрии фракционирования в свежемороженой плазме, стремление уменьшить частоту трансфузионных реакций, связанных с биоактивными компонентами плазмы, и введение современных технологий снижения патогенности в обработку

компонентов крови для повышения безопасности трансфузии [21, 33–35].

Эффект содержания плазмы был изучен, а результаты опубликованы [36, 37]. Ряд исследователей пришли к выводу, что содержание плазмы ниже 30 % соответствует приемлемому качеству тромбоцитов с добавлением раствора для хранения (PAS) [21, 38, 39]. Тем не менее подготовка тромбоцитов для хранения в растворе PAS обычно осуществляется при содержании плазмы выше 30 % [40].

По данным ряда исследований, опубликованных в последние годы, выбор ДР оказывает влияние на качественные характеристики КТ *in vitro*. Для компенсации этого влияния были предложены вновь разработанные растворы с содержанием калия и магния, которые помогают сохранить функцию тромбоцитов [25, 27, 41]. Недавно были опубликованы исследования составов с содержанием глюкозы и бикарбонатов [42]. Эти растворы разработаны для хранения КТ с содержанием плазмы менее 20 %. На данный момент использование этих растворов остается на стадии исследования. В табл. 2 и 3 представлен обзор различных растворов для хранения, указанных в соответствии

Таблица 2. Имеющиеся в продаже консерванты, используемые для хранения тромбоцитов с содержанием плазмы 30–40 %, и их состав (ммоль/л) [43]

Код продукта ISBT	PAS-B	PAS-C	PAS-D	PAS-E	PAS-F
Альтернативные названия	PAS II; T-sol	PAS III; Intersol	Composol	PAS-IIIM; SSP+; T-PAS+	Isoplate
Производитель	Baxter	Fenwal	Fresenius	MacoPharma, Terumo BCT	Terumo BCT
Натрий	176	192	173	184	141
Хлорид	116	77	98	77	98
Ацетат	30	33	27	33	27
Глюконат	0	0	23	0	23
Фосфат	0	28	0	28	1
Цитрат	10	11	11	11	0
Калий	0	0	5	5	5
Магний	0	0	1,5	1,5	1,5

Таблица 3. Экспериментальные консервирующие растворы с содержанием глюкозы/бикарбонатов для хранения тромбоцитов с содержанием плазмы менее 20 % и их состав (ммоль/л) [44, 45]

	M-sol	Setosol	PAS-G
Натрия хлорид	77,0	110,0	110,0
Калия хлорид	3,0	4,0	5,0
Магния хлорид/сульфат	1,6	3,0	3,0
Натрия бикарбонат	44,0	10,0	26,4
Глюкоза	15,0	14,0	30,0
Натрия ацетат	21,0	15,0	15,0
Тринатрия цитрат	9,4	5,0	0
Лимонная кислота	4,8	0	7,5
Натрия фосфат	0	7,5	4,0
Кальция хлорид	1,0	0	0

с кодом продукта Международного общества переливания крови (ISBT) (ISBT 128, версия 4.33.0, 2014).

Аппаратный тромбоцитаферез обеспечивает более высокую и более унифицированную производительность. Это подтверждают данные о более высоких посттрансфузионных показателях (абсолютный прирост тромбоцитов и скорректированный прирост тромбоцитов (СПТ)), а также данные о более длинных интервалах между переливаниями [10, 46, 47], несмотря на то, что клиническая значимость этих данных остается неопределенной.

Метод афереза позволяет получить компоненты, подобранные по антигенам HLA I класса или антигенам HPA для конкретных пациентов. Такие продукты являются предпочтительными при лечении резистентных пациентов с лейкоцитарными антителами HLA или HPA [25, 46].

Необходимо подчеркнуть, что ни одно клиническое исследование не выявило значимых различий в купировании геморрагического синдрома после переливания ТОД, собранных различными методами. По данным исследования сравнения систем Amicus 2.51 и Trima Accel 5.0, различий в показателях СПТ после переливания КТ взрослым гематологическим пациентам не обнаружено, однако это не было первичной областью исследования, и количество гемотрансфузий было слишком незначительным [48]. По данным исследования у детей, процедура афереза может повлиять на значение СПТ, но неясно, не связаны ли эти различия с раствором, добавляемым к тромбоцитам (PAS II) [49]. После переливания тромбоцитов, хранящихся в растворе PAS II, отмечен более низкий показатель СПТ, чем при хранении тромбоцитов в плазме, без различий в риске кровотечений [33, 36]. Это может быть связано с истощением запасов глюкозы или недостаточной буферной емкостью PAS II у тромбоци-

тов, полученных в результате тромбоцитафереза высокой производительности [49].

Результаты последнего исследования, выполненного одним из авторов, также указывают на влияние тромбоцитафереза высокой производительности на показатель СПТ после переливания тромбоцитов, хранящихся в PAS II, по сравнению с теми, что хранились в плазме [23]. Тем не менее остается неясным, применим ли этот вывод ко всем системам сбора ТОД. При этом хранение в растворе PAS уменьшает частоту развития трансфузионных реакций [36], однако исследований по выявлению различий между системами сбора тромбоцитов не проводилось.

Адекватный гемостатический эффект при клиническом использовании КТ зависит от оценки параметров биологической полноценности клеток [50].

Предельный срок хранения КТ определяется интенсивностью образования лактата и потребления глюкозы и буферной емкостью среды хранения тромбоцитов. Определение этих параметров, мониторинг pH позволяют оценить качество тромбоцитов в процессе хранения.

pH среды, в которой хранятся переливаемые тромбоциты, является интегральным показателем их жизнеспособности. Значение pH может служить косвенным индикатором бактериальной контаминации КТ. При снижении pH раствора жизнеспособность тромбоцитов падает. H. Gulliksson показывает, что уровень pH в процессе хранения КТ с ДР снижается быстрее, чем в КТ, заготовленных в плазме. Автор объясняет это истощением буферной емкости при использовании плазмозамещающей технологии заготовки КТ [51]. В противовес этому Y. Sweeney et al. утверждают, что при внесении ДР значения pH увеличивались или оставались неизменными [52]. S.J. Wagner et al. показали менее интенсивное снижение pH в КТ с добавлением ДР по сравнению с КТ в плазме [53].

В процессе хранения КТ, заготовленных классическим способом или с применением ДР, отмечается высокая метаболическая активность тромбоцитов. При сравнительной оценке скорости метаболических процессов в обеих группах КТ отмечается снижение метаболизма в КТ–ДР, что проявляется уменьшением скорости потребления глюкозы и образования лактата в динамике по сравнению с КТ–плазма [53, 54]. Это обуславливает снижение уровня экспрессии маркеров активации и апоптоза в аферезных КТ с ДР [55]. При этом меньший уровень экспрессии указанных маркеров может быть основанием для прогнозирования большей эффективности тромбоцитов *in vivo*. Но G. Andreu et al. [56] в своем исследовании показали отсутствие корреляции между активационными параметрами тромбоцитов (*in vitro*) и свойствами *in vivo*. По их мнению, на основании определения скорректированного прироста тромбоцитов и посттрансфузионного выхода тромбоцитов преимуществ какой-либо технологии не было выявлено — в течение 2 лет они исследовали

трансфузии 4287 доз КТ. В этом же исследовании доказано, что использование ДР снижает частоту посттрансфузионных аллергических реакций, особенно при переливании аферезных КТ.

По мнению большинства исследователей, маркеры активации тромбоцитов являются важными показателями *in vitro* качества тромбоцитов (их жизнеспособности и функциональной активности). Функциональное состояние переливаемых тромбоцитов имеет первоочередное значение для купирования геморрагического синдрома (остановки кровотечения) [57, 58]. Исследование *in vitro* маркера активации в КТ поможет прогнозировать его посттрансфузионные свойства. Доказана обратная корреляция экспрессии Р-селектина с величиной посттрансфузионного восстановления тромбоцитов через 15–60 мин после трансфузии и величиной СПТ через 1 ч после переливания [59]. Важным прогностическим признаком функциональной

активности и жизнеспособности тромбоцитов после трансфузии является определение связывания аннексина V с фосфатидилсерином [60]. Было доказано, что в процессе хранения клетки меньше активируются при заготовке КТ в ДР, чем в плазме, и уровень экспрессии маркера апоптоза также ниже, чем в КТ–плазма.

Можно сделать вывод, что при стандартной заготовке аферезных КТ могут быть использованы оба способа заготовки: классический — в 100 % плазме и с ДР — в минимальном соотношении 1:3 (30 % плазмы и 70 % ДР).

Таким образом, метод заготовки аферезных КТ с ДР должен быть широко внедрен в педиатрическую практику и стать приоритетным способом заготовки КТ, поскольку такой метод заготовки обеспечивает лучшую сохранность тромбоцитов и снижает вероятность развития негемолитических посттрансфузионных реакций у пациентов на фоне роста числа заместительных трансфузий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Румянцев А.Г., Аграненко В.А. Гемотрансфузионная терапия в педиатрии и неонатологии: Руководство для врачей. М.: МАКС Пресс, 2002. 644 с. [Rumyantsev A.G., Agranenko V.A. Transfusion therapy in pediatrics and neonatology: Physicians Guide. M.: MAX Press, 2002. 644 p. (In Russ.).]
2. Slichter S.J., Kaufman R.M., Assmann S.F. et al. Dose of prophylactic platelet transfusions and prevention of hemorrhage. N Engl J Med 2010;362:600–13.
3. Жибурт Е.Б., Мадзаев С.Р. Заготовка и переливание тромбоцитов. М., 2013. С. 116. [Zhiburt E.B., Madzaev S.R. Harvesting and transfusions of platelet. M., 2013. P. 116. (In Russ.).]
4. Донсков С.И., Липатова И.С. Аллоиммунизация антигенами эритроцитов — глобальный популяционный процесс. Гематологический научный центр РАМН РФ. Вестник службы крови России 2001;3:18. [Donskov S.I., Lipatova I.S. Erythrocyte antigens alloimmunization — the global population process. Hematology Research Center of Russian Academy of Medical Science of the Russian Federation. Vestnik sluzhby krovi Rossii = Bulletin of Russian Blood Service 2001;3:18. (In Russ.).]
5. Филатов Ф.П., Голосова Т.В. Общие принципы национальной концепции вирусной безопасности гемотрансфузий. Гематология и трансфузиология 2001;3:84–6. [Filatov F.P., Golosova T.V. The general principles of the national concept of blood transfusions viral safety. Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiologia 2001;3:84–6. (In Russ.).]
6. Абдулкадыров К.М., Бубнова Л.Н. Влияние гемокомпонентной терапии на иммунный статус различных категорий пациентов. Медицинская технология. СПб., 2010. С. 17. [Abdulkadyrov K.M., Bubnova L.N. Influence of blood components transfusion on the immune status of different subgroups of patients. Medical technology. St. Petersburg, 2010. P. 17. (In Russ.).]
7. Глазанова Т.В., Розанова О.Е., Павлова И.Е. Влияние гемокомпонентной терапии на иммунный статус пациентов с заболеваниями системы крови. Биомедицинский журнал Medline.ru 2011;12:1197–206. [Glazanova T.V., Rozanova O.E., Pavlova I.E. Influence blood components transfusion on the immune status of patients with hematological diseases. Biomeditsinskiy zhurnal Medline.ru = Biomedical Journal Medline.ru 2011;12:1197–206. (In Russ.).]
8. AABB — Association Bulletin #12-04 — Recommendations to Address Residual Risk of Bacterial Contamination of Platelets, October 4, 2012.
9. Corash L. Bacterial contamination of platelet components: potential solutions to prevent transfusion-related sepsis. Expert Rev Hematol 2011;4(5):509–25.
10. Kleinman S., Reed W., Stassinopoulos A. A patient-oriented risk-benefit analysis of pathogen-inactivated blood components: application to apheresis platelets in the United States. Transfusion 2013;53(7):1603–18.
11. Sharm S.P. Dengue outbreak affects more than 7000 people in Nepal. BMJ 2010;341:c5496.
12. Stramer S., Hollinger F., Katz L. et al. Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. Transfusion 2009;49 Suppl 2:1S–29S.
13. Geiger T.L., Howard S.C. Acetaminophen and diphenhydramine premedication for allergic and febrile nonhemolytic transfusion reactions: good prophylaxis or bad practice? Transfus Med Rev 2007;21(1):1–12.
14. Hendrickson J.E., Hillyer C.D. Noninfectious serious hazards of transfusion. Anesth Analg 2009;108(3):759–69.
15. Pelszynski M.M., Moroff G., Luban N.L. et al. Effect of gamma irradiation of red blood cell units on T-cell inactivation as assessed by limiting dilution analysis: implications for preventing transfusion-associated graft-versus-host disease. Blood 1994;83(6):1683–9.
16. Rebutta P. A mini-review on platelet refractoriness. Haematologica 2005;90(2):247–53.
17. Seftel M.D., Growe G.H., Petraszko T. et al. Universal prestorage leukoreduction in Canada decreases platelet alloimmunization and refractoriness. Blood 2004;103(1):333–9.
18. Silliman C.C., Voelkel N.F., Allard J.D. et al. Plasma end lipids from stored packed red blood cells cause acute lung injury in an animal model. J Clin Invest 2003;101(7):458–67.
19. McCullough J. Pathogen inactivation: a new paradigm for blood safety. Transfusion 2007;47(12):2180–4.
20. Morel P.C. The French Experience in the Prevention of Transfusion Incidents due to Bacterial Contamination. Bacterial Contamination of Platelets Workshop, Food and Drug Administration, Washington, 1999.

21. Azuma H., Hirayama J., Akino M. et al. Reduction in adverse reactions to platelets by the removal of plasma supernatant and resuspension in a new additive solution (M-sol). *Transfusion* 2009;49:214–8.
22. de Wildt-Eggen J., Nauta S., Schrijver J.G. et al. Reactions and platelet increments after transfusion of platelet concentrates in plasma or an additive solution: a prospective randomized study. *Transfusion* 2000;40:398–403.
23. Fontana S., Summermatter R., Vogt M. et al. Comparison of the transfusion efficacy of multiple dose Amicus platelet concentrates collected in plasma or PASII additive solution. *Vox Sang* 2011;101s1:135.
24. Goodrich R.P., Edrich R.A., Goodrich L.L. et al. The Antiviral and Antibacterial Properties of Riboflavin and Light: Applications to Blood Safety and Transfusion Medicine. E. Silva, A.M. Edwards (eds.). *Flavins: Photochemistry and Photobiology*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge UK, 2006. Pp. 83–113.
25. Murphy M.F., Waters A.H. Clinical aspects of platelet transfusions. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1991;2(2):389–96.
26. Procházková R., Andrys C., Hubácková L., Krejssek J. Markers of platelet activation and apoptosis in platelet concentrates collected by apheresis. *Transfus Apher Sci* 2007;37(2):115–23.
27. Tynngard N., Trinks M., Berlin G. *In vitro* properties of platelets stored in three different additive solutions. *Transfusion* 2012;52:1003–9.
28. Holme S. Storage and quality assessment of platelets. *Vox Sang* 1998;74(2):207–16.
29. Hitzler W.E. [Single-donor (apheresis) platelets and pooled whole-blood-derived platelets – significance and assessment of both blood products]. *Clin Lab* 2014;60(4):S1–39.
30. Hillyer C.D., Shaz B., Zimring J., Abshire T. Component preparation and manufacturing. In: *Transfusion medicine and emostasis: clinical and laboratory aspects*. Elsevier, First Edition, 2009. Pp. 45–51.
31. Murphy S. Platelets from pooled buffy coats: an update. *Transfusion* 2005;45:634–7.
32. Council of Europe, Guide to the Preparation, Use and Quality-Assurance of Blood Components, 2013, 17th Edition, Council of Europe Press, Strasbourg, France. P. 335.
33. Kerkhoffs J.L., Eikenboom J.C., Schipperus M.S. et al. A multicenter randomized study of the efficacy of transfusions with platelets stored in platelet additive solution II versus plasma. *Blood* 2006;108:3210–5.
34. Marschner S., Goodrich R. Pathogen Reduction Technology Treatment of Platelets, Plasma and Whole Blood Using Riboflavin and UV Light. *Transfus Med Hemother* 2011;38(1):8–18.
35. Rebibo D., Simonet M., Hauser L. Introduction of platelet additive solution in platelet concentrates: towards a decrease of blood transfusion reactions. *Transfus Clin Biol* 2008;15:289–93.
36. de Wildt-Eggen J., Gulliksson H. *In vivo* and *in vitro* comparison of platelets stored in either synthetic media or plasma. *Vox Sang* 2003;84(4):256–64.
37. Gulliksson H. Storage of platelets in additive solutions: a multicentre study of the *in vitro* effects of potassium and magnesium. *Vox Sang* 2003;85:199–205.
38. Hirayama J., Azuma H., Fujihara M. et al. Storage of platelets in a novel additive solution (M-sol), which is prepared by mixing solutions approved for clinical use that are not especially for platelet storage. *Transfusion* 2007;47:960–5.
39. Wagner S.J., Skripchenko A., Myrup A. et al. Calcium is a key constituent for maintaining the *in vitro* properties of platelets suspended in the bicarbonate-containing additive solution M-sol with low plasma levels. *Transfusion* 2010;50:1028–35.
40. Johnson L., Winter K.M., Hartkopf-Theis T. et al. Evaluation of the automated collection and extended storage of apheresis platelets in additive solution. *Transfusion* 2012;52:503–9.
41. Vasconcelos E. Quality of platelet concentrates derived by platelet rich plasma, buffy coat and apheresis. *Transfus Apher Sci* 2003;29(1):13–6.
42. Bock M., Rotrig S., Kunz D. et al. Platelet concentrates derived from buffy coat and apheresis: biochemical and functional differences. *Transfus Med* 2002;12:317–24.
43. Dumont L., Larry J., Jose A. et al. *In vitro* and *in vivo* quality of leukoreduced apheresis platelets stored in a new platelet additive solution. *Transfusion* 2013;53:972–80.
44. Metcalfe P., Williamson L.M., Reutlingsperger C.P. et al. Activation during preparation of therapeutic platelets affects deterioration during storage: a comparative flow cytometric study of different production methods. *Br J Haematol* 1997;98(1):86–95.
45. Vassallo R.R. Rossi's Principles of Transfusion Medicine, Fourth Edition. Chapter 12. Preparation, Preservation, and Storage of Platelet Concentrates: Platelet Additive Solutions (Synthetic Storage Solutions). T.L. Simon, E.L. Snyder, B.G. Solheim et al. (eds.). Singapore: Wiley-Blackwell, 2009. Pp. 187–98.
46. Folléa G. Homologous platelet concentrates: products available and utilization rules in oncology and haematology. *Hematologie* 2004;10:233–44.
47. Norol F. Platelet transfusion: a dose-response study. *Blood* 1998;92:1448–53.
48. Fontana S., Mordasini L., Keller P., Taleghani B. Prospective, paired crossover comparison of multiple, single-needle plateletpheresis procedures with the Amicus and Trima Accel cell separators. *Transfusion* 2006;46(11):2004–10.
49. Julmy F., Ammann R.A., Mansouri T.B. et al. Effects of high-yield thrombocytapheresis on the quality of platelet products. *Transfusion* 2008;48(3):442–50.
50. Шевченко Ю.Л., Жибурт Е.Б. Безопасное переливание крови: руководство для врачей. СПб.: ПИТЕР, 2000. 320 с. [Shevchenko Yu. L., Zhiburt E. B. Safe blood transfusion: Physicians Guide. St. Petersburg: PITER, 2000. 320 p. (In Russ.)].
51. Gulliksson H. Platelets storage media. *Transfus Apher Sci* 2001;24(3):241–4.
52. Sweeney J., Kouttab N., Holme S. et al. Storage of platelets-rich plasma-derived platelets concentrates pools in plasma and additive solution. *Transfusion* 2006;46(5):835–40.
53. Wagner S.J., Myrup A., Awatefe H. et al. Maintenance of platelets *in vitro* properties during 7-day storage in M-sol with a 30-hour interruption of agitation. *Transfusion* 2008;48(12):2501–607.
54. Sandgren P., Mayaudon V., Payrat J.-M. et al. Storage of buffy-coat-derived platelets in additive solutions: *in vitro* effects on platelets stored in reformulated PAS supplied by a 20 % plasma carry-over. *Vox Sang* 2010;98:415–22.
55. Diedrich B., Sandgren P., Jansson B. *In vitro* and *in vivo* effects of potassium and magnesium on storage up to 7 days of apheresis platelet concentrates in platelet additive solution. *Vox Sang* 2008;94(2):96–102.
56. Andreu G., Vasse J., Hervé F. et al. Introduction of platelet additive solutions in transfusion practice. Advantages, disadvantages and benefit for patients. *Transfus Clin Biol* 2007;14(1):100–6.
57. Жибурт Е.Б., Вергопуло А.А., Губанова М.Н., Копченко Т.Г. Эффективность донорства крови и тромбоцитов в субъектах Российской Федерации. *ГлавВрач* 2009;2:23–9. [Zhiburt E. B., Vergopulo A. A., Gubanova M. N., Kopchenko T. G. The efficacy of blood and platelets donation in the Russian Federation. *GlavVrach* = Head Physician 2009;2:23–9. (In Russ.)].
58. Rezza G., Nicoletti L., Angelini R. et al. Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *Lancet* 2007;370(9602):1840–6.
59. Rinder H.M., Murphy M., Mitchell J.G. et al. Progressive platelet activation with storage: evidence for shortened survival of activated platelets after transfusion. *Transfusion* 1991;31(5):409–14.
60. Cookson P., Sutherland J., Turner C. et al. Platelet apoptosis and activation in platelet concentrates stored for up to 12 days in plasma or additive solution. *Transfus Med* 2010;20(6):392–402.

Информация для авторов

Уважаемые коллеги!

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

1. Статья должна быть представлена в электронном виде (в отдельных файлах: текст статьи со списком литературы, таблицы, графики, рисунки, подписи к рисункам, резюме).

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, **его (их) полный адрес с указанием индекса**.

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; **для оригинальных статей – структурированное резюме** (введение, материалы и методы, результаты и т. д.). **Объем резюме – 1500–5000 знаков с пробелами. Количество ключевых слов должно составлять от 10 до 50.**

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 при-

водятся 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 желательно **не более 20–25** источников, в обзорах литературы – **не более 60**.

7. Представление в редакцию ранее опубликованных статей не допускается.

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

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

Все поступающие статьи рецензируются.

Присланные материалы обратно не возвращаются.

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

Авторы могут присылать свои материалы по адресу: 115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24, стр. 15 либо по электронной почте на адрес редакции: tvk@abvpress.ru с обязательным указанием названия журнала.



Издательский дом «АБВ-пресс» специализируется на выпуске периодической научной медицинской литературы, книгопечатной продукции, создании и поддержке сайтов медицинского направления

НАШИ ЖУРНАЛЫ и ГАЗЕТЫ



НАШИ КНИГИ



Книги и наши издания
можно заказать и приобрести
в редакции по адресу:
г. Москва, Каширское ш., 24,
стр. 15
и по телефону:
+7 (499) 929-96-19.
Адрес электронной почты:
abv@abvpress.ru

НАШИ САЙТЫ



www.abvpress.ru



www.oncoproct.ru



www.roou.ru



www.hnonco.ru



www.netoncology.ru



www.urotoday.ru



www.neuromuscular.ru



www.breastcancersociety.ru

ТЕПЕРЬ ВЫ МОЖЕТЕ СДЕЛАТЬ БОЛЬШЕ ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ С ХМЛ!

СПРАЙСЕЛ® в дозе 100 мг *:

- достижение более быстрого и глубокого ответа, чем на иматинибе ¹
- благоприятный профиль безопасности при длительном применении ^{1,2}
- удобство однократного приема и приверженность пациентов лечению ^{2,3}

СПРАЙСЕЛ® ПРЕВОСХОДСТВО В ЭФФЕКТИВНОСТИ с самого начала!

1-я линия терапии ХМЛ в ХФ

* по сравнению с иматинибом 400 мг 1 раз в сутки

1. Jorge E. Cortes, MD1, Andreas Hochhaus, MD2, Dong-Wook Kim et al. ASH 2013, abstr. 653

2. Shah N et al. ASCO 2012; Abstr. 6506;

3. Спрайсел®. Инструкции по медицинскому применению: ноябрь 2013; январь 2014

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ:³

- Впервые выявленный хронический миелолейкоз в хронической фазе;
- Хронический миелолейкоз в хронической фазе, фазе акселерации или фазе миелоидного или лимфоидного бластного криза при резистентности или непереносимости предыдущей терапии, включая иматиниб;
- Острый лимфобластный лейкоз с положительной филадельфийской хромосомой при резистентности или непереносимости предыдущей терапии.

 Bristol-Myers Squibb

Россия, 105064, Москва, ул. Земляной Вал, д. 9
Тел.: +7 (495) 755-92-67, факс: +7 (495) 755-92-62

SPRYCEL®
dasatinib

ГАЗИВА® – единственное антитело с подтвержденным превосходством над препаратом МабТера® в первой линии терапии хронического лимфолейкоза (ХЛЛ)¹

ГАЗИВА® демонстрирует увеличение медианы
выживаемости без прогрессирования (ВБП)
при применении в комбинации с хлорамбуцилом
по сравнению с МабТера® + хлорамбуцил
(29,2 месяцев по сравнению с 15,4 месяцами)¹



РАЗРАБОТАН ДЛЯ ПРЕВОСХОДСТВА

1. Goede V et al. N Engl J Med 2014; 370:1101-1110

Торговое наименование: Газива® (Gazyva®). **Международное непатентованное название:** Обинутузумаб (Obinutuzumab). **Регистрационный номер:** ЛП-002867. **Лекарственная форма:** Концентрат для приготовления раствора для инфузий. **Состав.** 1 флакон содержит: действующее вещество: обинутузумаб – 1000 мг; вспомогательные вещества: L-истидин – 57,6 мг, L-истидина гидрохлорид моногидрат – 89,6 мг, допрегалоза дигидрат – 632,0 мг, полиоксанер 188 – 8,0 мг, вода для инъекций до 40 мл. 1 мл концентрата содержит 25 мг обинутузумаба. **Показания к применению.** В комбинации с хлорамбуцилом у пациентов с ранее не леченным хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ). **Противопоказания.** Повышенная чувствительность (опосредованная IgE) к обинутузумабу и к другим компонентам препарата. Возраст до 18 лет (эффективность и безопасность применения у детей не установлены). Беременность и период грудного вскармливания. Активный гепатит В и/или другие инфекции в активной фазе. Почечная недостаточность с КК ≤ 30 мл/мин. **С осторожностью.** Нарушение функции печени. Хронические и рецидивирующие инфекции в анамнезе. **Способ применения и дозы.** Инфузии препарата Газива® следует проводить под тщательным наблюдением медицинского специалиста, имеющего опыт лечения анафилаксии, при наличии доступа к средствам для оказания экстренной помощи. **Препарат Газива® вводят только внутривенно (в/в) капельно, через отдельный катетер! Вводить препарат в/в струей или болюсно нельзя!** Подготовка препарата к введению должна проводиться в асептических условиях, так как препарат Газива® не содержит антимикробных консервантов. Разведение препарата Газива® должно проводиться высококвалифицированным медицинским персоналом. Для введения препарата Газива® следует использовать только 0,9% раствор натрия хлорида. Не следует использовать другие растворители, в частности раствор декстрозы (5%). **Совместимость.** Препарат Газива® в виде раствора с концентрацией 0,4 мг/мл – 20 мг/мл совместим с инфузионными пакетами из поливинилхлорида, полиэтилена, полипропилена или полиолефина, с инфузионными системами из поливинилхлорида, полиуретана или полиэтилена, со встраиваемыми фильтрами из полиэфирсульфона, 3-х ходовым запорным краном из поликарбоната, с катетерами из полиэфируретана. Раствор препарата Газива® нельзя замораживать и встряхивать. **Режим дозирования.** Рекомендованная доза препарата Газива® составляет 1000 мг в/в в день 1–2, день 8 и день 15 1-го 28-дневного цикла и далее 1000 мг в/в в день 1 каждого последующего 28-дневного цикла (циклы 2–6). Введение первой дозы препарата Газива® в первом цикле терапии следует разделить на два этапа: день 1 – 100 мг; день 2 – 900 мг. В том случае, если во время первой инфузии (100 мг препарата Газива®) не потребовалось снизить скорость или прервать введение препарата, вторую инфузию (900 мг препарата Газива®) можно проводить в тот же день. Следует строго соблюдать рекомендуемую скорость инфузии и обеспечить медицинское наблюдение за пациентом. Если первую инфузию пришлось прервать или изменить ее скорость, проводить вторую инфузию в тот же день нельзя. **Длительность лечения.** 6 циклов, продолжительность каждого цикла – 28 дней. **Пропуск дозы.** При пропуске запланированной дозы необходимо ввести препарат как можно раньше; не следует ждать следующего запланированного введения. Между введениями следует выдерживать рекомендуемый интервал. **Коррекция дозы.** Изменение дозы препарата Газива® не рекомендуется. Пожилой и старческий возраст. Коррекции дозы у пациентов пожилого и старческого возраста не требуется. Дети. Эффективность и безопасность препарата Газива® у детей и подростков младше 18 лет не установлена. Нарушение функции почек. Коррекции дозы препарата Газива® у пациентов с нарушением функции почек (клиренс креатинина КК) > 30 мл/мин не требуется. Эффективность и безопасность препарата Газива® у пациентов с КК ≤ 30 мл/мин не установлена. Нарушение функции печени. Эффективность и безопасность препарата Газива® у пациентов с нарушением функции печени не установлены. **Побочное действие.** Ниже приведены нежелательные реакции, наблюдавшиеся в клинических исследованиях с большей частотой (разница $\geq 2\%$) на фоне терапии препаратом Газива® в комбинации с хлорамбуцилом, по сравнению с таковой на фоне терапии только хлорамбуцилом или на фоне комбинированной терапии хлорамбуцилом и ритуксимабом. Нежелательные реакции сгруппированы в соответствии с классами систем органов медицинского словаря для нормативно-правовой деятельности MedDRA. Для описания частоты нежелательных реакций используется следующая классификация: очень частые ($\geq 1/10$), частые ($\geq 1/100$ и $< 1/10$), нечастые ($\geq 1/1000$ и $< 1/100$) и очень редкие ($< 1/1000$), включая единичные случаи. Травмы, отравления и осложнения манипуляций: очень часто – инфузионные реакции. Нарушения со стороны системы крови и лимфатической системы: очень часто – нейтропения, тромбоцитопения, анемия; часто – лейкопения. Нарушения со стороны сосудов: часто – повышение артериального давления. Нарушения со стороны сердца: часто – фибрилляция предсердий. Инфекционные и паразитарные заболевания: часто – инфекции мочевыводящих путей, герпес слизистой оболочки полости рта, ринит, назофарингит, фарингит. Общие расстройства и нарушения в месте введения: очень часто – повышение температуры тела. Нарушения со стороны дыхательной системы, органов грудной клетки и средостения: часто – кашель. Нарушения обмена веществ и питания: часто – синдром лизиса опухоли, гиперурикемия. Нарушения со стороны скелетно-мышечной и соединительной ткани: часто – артралгия, боль в спине, скелетно-мышечные боли в грудной клетке. Нарушения со стороны лабораторных показателей: часто – снижение числа лейкоцитов, снижение числа нейтрофилов, увеличение массы тела. Доброкачественные, злокачественные и неутонченные новообразования (включая кисты и полипы): часто – плоскоклеточная карцинома кожи. Нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта: очень часто – диарея; часто – запор. Нарушения со стороны кожи и подкожных тканей: часто – алопеция.

2015–1079, май 2015

ГАЗИВА®
обинутузумаб

ЗАО «Рош-Москва»
Официальный дистрибьютор
«Ф.ХOFFMANN-ЛЯ РОШ ЛТД.» (Швейцария)
Россия, 107031 Москва
Трубная площадь, дом 2
Бизнес-центр «Неглинная Плаза»
Тел.: +7 (495) 229-29-99
Факс: +7 (495) 229-79-99
www.roche.ru

